

Univerzita Karlova v Praze

Pedagogická fakulta

**Analýza vybraných léčiv pomocí
TLC chromatografie jako námět
pro laboratorní cvičení**

Bc. Petr Menzel

Katedra chemie a didaktiky chemie

Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Karel Kolář, CSc.

Studijní program: Specializace v pedagogice – Chemie se
zaměřením na vzdělávání a Výchova ke zdraví se zaměřením
na vzdělávání

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci sepsal samostatně a použitou literaturu řádně odcitoval.

V Praze dne 14. 8. 2018.



Bc. Petr Menzel

Odbornou korekturu provedl: prof. Ing. Karel Kolář, CSc.

Jazykovou korekturu provedla: Mgr. Hana Fischlová

Poděkování

Za trpělivost při psaní této práce děkuji své rodině a především své přítelkyni. Za kvalitní odborné vedení a inspirativní a podněcující přístup děkuji svému vedoucímu práce panu profesorovi Karlovi Kolářovi. Děkuji také společnosti ChemAxon Ltd. za poskytnutí bezplatné licence softwaru MarvinSketch, kterým jsou kresleny chemické vzorce v této práci.

Abstrakt

Práce si klade za cíl zprostředkovat analýzu chromatografie na tenké vrstvě prostřednictvím léčiv běžně se vyskytujících v domácnostech (analgetika-antipyretika) žákům středních škol a gymnázií, případně i studentům vysokých škol. Za tímto účelem byly navrženy laboratorní úlohy, které se snaží pokrýt všechny stupně Bloomovy pyramidy tak, aby byl edukační potenciál co možná nejvyšší. S tím úzce souvisí téma expirace léčiv a nakládání s nimi. Žáci a studenti by si měli z těchto úloh odnést jak kompetence znalostní, dovednostní, tak i kompetence postojové.

Klíčová slova: tenkovrstvá chromatografie; TLC; chromatografie ve výuce; edukační experiment; expirace léků; nakládání s léky; analgetika-antipyretika, kyselina acetylsalicylová, paracetamol

Abstract

The paper aims to mediate thin film chromatography analysis by means of drugs commonly found in households (analgesic-antipyretics) to secondary school and grammar students, or to college students. For this purpose, laboratory tasks have been designed to cover all levels of the Bloom pyramid so that the educational potential is as high as possible. This is closely related to the topic of drug expiration and treatment. Pupils and students should take on both the competences of knowledge, skills, and attitudes.

Keywords: thin layer chromatography; TLC; chromatography in education; educational experiment; expiratory medication; drug handling; analgesic-antipyretics, acetylsalicylic acid, paracetamol

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Teoretická část	9
2.1 Jiná analgetika a antipyretika	9
2.1.1 Kyselina acetylsalicylová a deriváty	13
2.1.1.1 ASPIRIN.....	14
2.1.1.2 ACYLPYRIN.....	16
2.1.1.3 ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY	16
2.1.1.4 ANOPYRIN 400 MG	17
2.1.1.5 ACYLCOFFIN	17
2.1.2 Pyrazolony.....	17
2.1.3 Anilidy	18
2.1.3.1 PARALEN 500	19
2.1.3.2 PANADOL NOVUM	20
2.1.3.3 PANADOL EXTRA.....	20
2.1.3.4 ACIFEIN	21
2.1.3.5 THOMAPYRIN.....	22
2.1.4 Jiná analgetika a antipyretika	22
2.1.5 Další látky nacházející se ve vybraných léčivech	22
2.2 Chromatografie jako analytická metoda.....	35
2.3 Chromatografie na tenké vrstvě.....	39
2.3.1 Retardační faktor	46
2.3.2 Další pojmy a parametry vztahující se k TLC	47
2.3.3 Využití TLC pro analýzu léčiv.....	48
2.4 Léčiva a tenkovrstvá chromatografie ve výuce	58
2.4.1 Výuková aplikace na ZŠ, SŠ a VŠ	58
2.4.2 Projektově orientovaná výuka.....	59

2.5 Expirace léků	62
2.5.1 Testování stability léků	66
2.5.2 Využívání léků po době expirace	68
2.5.2.1 Anketa v ČR a její výsledky	70
3 Experimentální část	76
3.1 Použitá léčiva	76
3.2 Použité chemikálie	77
3.3 Použitá laboratorní a přístrojová technika	78
3.4 Metodika a vyhodnocení chromatogramů	96
3.4.1 TLC analýza léčiva ASPIRIN	98
3.4.2 TLC analýza léčiva ACYLPYRIN	99
3.4.3 TLC analýza léčiva ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY	100
3.4.4 TLC analýza léčiva ANOPYRIN 400 MG	101
3.4.5 TLC analýza léčiva ACYLCOFFIN	102
3.4.6 TLC analýza léčiva PARALEN 500	103
3.4.7 TLC analýza léčiva PANADOL NOVUM	104
3.4.8 TLC analýza léčiva PANADOL EXTRA	105
3.4.9 TLC analýza léčiva ACIFEIN	106
3.4.10 TLC analýza léčiva THOMAPYRIN	108
4 Výsledky a diskuze	111
5 Závěr	116
6 Citovaná literatura	117
7 Přílohy	149

1 Úvod

Cílem této práce bylo seznámení žáků a studentů s léčivými látkami, která se běžně nacházejí v jejich domácnostech, jako s něčím, co může být také objektem jejich zájmu při studiu chemie a zároveň, aby tato vybraná léčiva poznali a pochopili, že se nejedná jen o „zázračné“ tablety pro případ jejich zdravotních problémů, ale také chemické sloučeniny, které mají své dobré a špatné vlastnosti, a ke kterým je třeba přistupovat s náležitým respektem. K tomuto poznávání léčiv byla zvolena velice názorná a realizačně ve školním prostředí akceptovatelná metoda tenkovrstvé chromatografie, přičemž byl kladen důraz na to, aby byly voleny takové postupy a chemikálie, které budou právě tomuto záměru vyhovovat. Vedle toho bylo zvoleno v rámci teorie jedno z významných témat, které je spojeno s léčivými látkami používanými v domácnostech. Tím je expirační doba a nakládání s léčivými látkami po skončení doby jejich použitelnosti. Bližší poznání léků pomocí tenkovrstvé chromatografie je završeno vypracováním experimentálních úloh, které umožňují žákům a studentům přesvědčit se, že léčiva skutečně obsahují deklarované účinné látky.

VAROVÁNÍ: Autor textu nedoporučuje používat léky po době expirace a zříká se jakékoliv právní odpovědnosti. Tento text obsahuje poslední známá doporučení k užívání vybraných léčiv, ale tím se nestává žádným doporučujícím návodem. Vždy je třeba postupovat dle příbalové informace daného léčiva a doporučení lékaře. V některých případech se na chromatogramech vyskytly stopy sloučenin, které jsou například produktem chemických přeměn účinné látky. Autor tohoto textu tím nemá na mysli, že by léčiva obsahovala jiné složky než ty, které jsou garantovány výrobcem.

2 Teoretická část

Jak již bylo řečeno v úvodu, práce se zabývá vybranými léčivy, která jsou běžná v domácnostech. Z těchto léčiv byla zvolena některá ze skupiny analgetik a antipyretik s obsahem kyseliny acetylsalicylové, paracetamolu a kofeinu. V další části textu je pojednáno o tenkovrstvé chromatografii. Jedna z kapitol se detailně věnuje využití tenkovrstvé chromatografie v analýze léčiv. Protože cílem této práce bylo vytvořit ze získaných laboratorních výsledků edukační chemické pokusy pro studenty a žáky, tak částečně se teoretická část věnuje badatelsky orientované výuce ve vztahu k výskytu tenkovrstvé chromatografie napříč stupni vzdělávacího systému. Nakládání s léčivy po době jejich expirace je velice lákavým tématem, které může vytvořit základ pro produktivní diskuzi a polemiku. S tímto záměrem byl proveden i anketní průzkum v rámci české populace, jehož výsledky jsou dostupné v textu této práce. V rámci zmíněného teoretického rozboru a následné experimentální části s přihlédnutím k badatelsky orientované výuce a Bloomově taxonomii byla vytvořena zadání experimentálních úloh.

2.1 Jiná analgetika a antipyretika

Nejprve je nutné zařadit systematicky „jiná analgetika a antipyretika“¹, kterým je pozornost věnována dále v této práci. Větvení a dělení všech ostatních skupin léčiv je velmi komplikované, a proto mu zde není věnován větší prostor. Rozdělení níže znázorňuje postavení těchto typů analgetik v rámci hlavních ATC skupin a jejich podskupin:

- A: trávicí systém – Léčiva, která využívají stomatologové, léčiva proti zvracení, léčiva k terapii jaterních onemocnění, léčiva proti zácpě, různé vitaminové suplementy, povzbuzovače chuti, léčiva k terapii diabetu a další.
- B: krev a krevtovorné orgány – Léčiva bránící koagulaci (lidově srážení) krve, léčiva sloužící jako krevní náhrady a další.
- C: kardiovaskulární systém - Léčiva na udržení správného tlaku krve, léčiva k podpoře močení, léčiva podávaná při srdečních problémech a další.
- D: dermatologika – Léčiva potlačující plísňová a houbová onemocnění, obecně léčiva k podpoře hojení ran a další.

¹ Tento pojem vychází ze systému ATC.

- G: urogenitální trakt a pohlavní hormony – Léčiva obsahující pohlavní hormony, léčiva sloužící při podpoře léčby vylučovacího systému a další.
- H: systémová hormonální léčiva kromě pohlavních hormonů a insulinů – Všechna možná léčiva nastupující jako náhrada některého z fyziologických hormonů vyjma zmíněných a další.
- J: antiinfektiva pro systémovou aplikaci – Léčiva například v podobě vakcín a takové přípravky, které jsou schopné potlačit virovou, bakteriální, plísňovou nebo houbovou infekci, které jsou systémově působící a další.
- L: cytostatika a imunomodulační léčiva – Léčiva využívaná především v onkologické léčbě a další.
- M: muskuloskeletární systém – Léčiva sloužící k relaxaci svalové hmoty, protirevmatická léčiva a další.
- **N: nervový systém** – Léčiva sloužící k anestezii, potlačení bolesti, při léčbě Parkinsonovy nemoci a jiná léčiva nervového systému a další.
 - N01 Anestetika
 - **N02 analgetika**
 - N02A Opioidní analgetika (anodyna)
 - **N02B jiná analgetika a antipyretika**
 - N02BA kyselina salicylová a deriváty
 - N02BA01 kyselina acetylsalicylová
 - N02BA51 kyselina acetylsalicylová, kombinace kromě psycholeptik
 - N02BB pyrazolony
 - N02BE anilidy
 - N02BE01 paracetamol
 - N02BE51 paracetamol, kombinace kromě psycholeptik
 - N02BG jiná analgetika a antipyretika
 - N02C Antimigrenika
 - Antiepileptika
 - Antiparkinsonika
 - Psycholeptika
 - Psychoanalytika

- Jiná léčiva nervového systému
- P: antiparazitika, insekticidy a repelenty – Léčiva sloužící k likvidaci parazitů a hmyzu a další.
- Q: veterinární přípravky – Různé skupiny léčiv podobných uvedeným již dříve, ale určených k aplikaci zvířatům.
- R: respirační systém – Léčiva, která využíváme při nachlazení, léčiva proti pylovým alergiím a další.
- S: smyslové orgány – Léčiva sloužící v případě očních a ušních chorob a další.
- V: různé přípravky – Vše další výše neuvedené, včetně některých homeopatik, což je specifická podskupina v České republice. [1]

Bolest většinou signalizuje určité poškození tkáně. Jedná se o varovný fyziologický mechanismus organismu. U toho je třeba si uvědomit, že bolest je něco, co je silně subjektivní a každý jedinec ji vnímá jinak. V ojedinělých případech existují jedinci, kteří mají ztrátu vnímání bolesti. Obecné označení pro volná nervová zakončení, která slouží jako receptory bolesti je nociceptor. Ty vytvářejí celý nociceptivní systém. Bolest může nabývat různých charakteristik a podle toho se dá systematizovat. Nejtypičtějším dělením bolesti je na bolest akutní a bolest chronickou, dle doby jejího působení. [2]

Analgetika jsou v nejobecnější rovině taková léčiva, která snižují vnímání bolesti organismu. Vedle účinků analgetických mají tato léčiva i účinky protizánětlivé, antipyretické (tedy snižující teplotu organismu vlivem působení na termoregulační centrum v hypothalamu a přebytečné teplo se z těla odvede v rámci vazodilatace kůže – zde je třeba si uvědomit, že nemohou snížit běžnou tělesnou teplotu) a zasahují do syntézy kyseliny arachidonové. Poslední zmíněné způsobuje ve svém důsledku snížení syntézy prostaglandinů a leukotrienů a tím mají tato léčiva vliv například na zmírnění projevů zánětu. Dříve se analgetika dělila především na centrální a periferní, dle místa jejich účinku. Podle posledních poznatků původně označovaná jako periferní, tak i ta centrální mají své receptory i v místech, o kterých se dříve nevědělo a tedy toto dělení pozbývá svého významu. Opioidní analgetika většinou na rozdíl od neopioidních se stávají návykovými, ovlivňují dechové centrum a působí obstipaci (zácpu). Dále pozornost práce směřuje pouze k neopioidním analgetikům. První skupinou jsou **antipyretická analgetika** (též

nesteroidní antirevmatika, nesteroidní antiflogistika, analgetika široké spotřeby). Z chemického hlediska sem řadíme aromatické nebo dusíkaté heteroaromatické sloučeniny s kyslíkem nebo dusíkem. Léčiva v této skupině mají kyselý charakter a jejich disociační konstanta se pohybuje v rozmezí $pK_a = 3,5 - 5,0$. Díky této kyselosti nabývají vlastností, které jim dávají možnost vázat se na bílkoviny v krvi, vstupovat do buněk a působit tak protizánětlivě. V rámci zánětu jsou schopna zasahovat téměř do všech patofyziologických kroků jeho vzniku a průběhu. Dovedou také inhibovat metabolismus pojiva a ovlivňovat metabolismus kolagenu. Patří sem například: ibuprofen, kyselina acetylsalicylová, diklofenak, indometacin nebo piroxikam. Druhou skupinou jsou **nekyselá antipyretická analgetika**, která nemají kyselé vlastnosti jako předešlá skupina a tudíž nemají schopnost potlačovat zánět. Do této skupiny patří: paracetamol, metamizol, fenazon a jiné pyrazolové deriváty. Třetí skupinou jsou taková analgetika, která nemají **ani antiflogistické a ani antipyretické vlastnosti**. Ta analgetika, která mají antipyretické účinky, tak všechna působí v rámci inhibice cyklooxygenázy s tím rozdílem, že každé léčivo trochu jiným mechanismem. Analgetické účinky jsou u kyselých antipyretických analgetik dány tím, že se akumulují v periferní tkáni v místě vzniku bolesti, snižují vznik látek, které podporují bolestivou odezvu a snižují hranice, při které organismus bolest vnímá. Nekyselá antipyretická analgetika naopak působí většinou v centrálním nervovém systému (zadní rohy míšni a mozek) a blokují zde opět cyklooxygenázu a vnímání bolesti organismem. [3] Jako všechna léčiva, tak i analgetika mají své nežádoucí účinky. Nežádoucí účinky používání analgetik (**Graf 1**) jsou především vliv na trávicí ústrojí (gastrointestinální potíže, nevolnost, zvracení, žaludeční vředovatění, mikrokrvácení, průjemy, zácpy), které se vyskytují s incidencí až 10 %, vyvolání hypersenzitivní reakce (přecitlivělost, alergické kožní reakce, astma), které se vyskytují s incidencí do 5 %, agregace trombocytů (což způsobuje ve svém důsledku prodloužení doby krvácení), která se vyskytuje s incidencí 100 %, vliv na ledviny (poškození ledvin retencí soli a tekutin, někdy i jiná vážnější poškození), které se vyskytuje s incidencí 5 %, Reyeův syndrom², zvýšení hladiny kyseliny močové, vliv na kostní dřeň a játra (poškození buněk), vliv

² Reyeův syndrom je geneticky podmíněný syndrom (encefalopatie + tuková nekróza jater + kóma), který je spouštěn podáním léků s kyselinou acetylsalicylovou. V případě časně diagnostiky a použití podpůrné léčby je mortalita 30 %. U dětí až do puberty se nedoporučuje podávat léčiva obsahující kyselinu acetylsalicylovou. [190] Zároveň užívání obecně léčiv bránících agregaci krevních destiček ve 3. trimestru těhotenství může vést k předčasnému uzavření ductus arteriosus Botalli, k prodloužení těhotenství a zvýšení rizika krvácení novorozence i matky během porodu. [191]

na centrální nervový systém (závratě, bolesti hlavy, při předávkování riziko poruchy sluchu a zraku, kóma). [4, 5 s. 185]

2.1.1 Kyselina acetylsalicylová a deriváty

Do této větve patří kyselina acetylsalicylová; aloxiprin; cholin-salicylát; natrium-salicylát; salicylamid; salsalát; ethenzamid; morfolinium-salicylát; dipyroceryl benorilát; diflunisal; kalium-salicylát; guacetisal; vápenatá sůl karbasalátu, imidazol-salicylát; kyselina acetylsalicylová, kombinace kromě psycholeptik; salicylamid, kombinace kromě psycholeptik; ethenzamid, kombinace kromě psycholeptik; dipyroceryl, kombinace kromě psycholeptik; vápenatá sůl karbasalátu, kombinace kromě psycholeptik; kyselina acetylsalicylová, kombinace s psycholeptiky; salicylamid, kombinace s psycholeptiky; ethenzamid, kombinace s psycholeptiky; dipyroceryl, kombinace s psycholeptiky. [1] Strukturní vzorce uvedených léčiv jsou na obrázku (**Obrázek 2**), kde je dobře patrná společná a opakující se základní struktura.

Kyselina acetylsalicylová, systematický název kyselina 2-acetyloxybenzoová (**Obrázek 1**) je acetylovaná aromatická hydroxykyselina, jejíž hlavním biologickým účinkem je blokáda enzymu cyklooxygenázy. Aniž by se vědělo o těchto enzymatických pochodech a bylo známo cokoliv detailnějšího, tak se její vlastnosti využívaly ve starověkém Řecku nebo starobylém Egyptě. Tam se používal odvar z vrbové kůry (Cortex salicis), v níž se základ této látky nachází – kyselina salicylová. Kyselina se ale nachází také v jasmínu, fazolích, hrášku, jeteli a v mnohých trávách a stromech. Znovuobjevení nastalo v 18. století Edwardem Stonem. Ten popsal výrazné zlepšení zdravotního stavu u 50 pacientů po požití právě odvarů z vrby. Teprve v roce 1829 (podle jiných zdrojů 1823) se podařilo provést extrakci vlastní kyseliny salicylové francouzskému badateli Henrimu Lerouxovi. V té době se spojovaly dezinfekční účinky této kyseliny s jejími dalšími léčebnými účinky, protože zde stál předpoklad horečky jako výhradně infekční nemoci [5 s. 185]. Hermann Kolbe v roce 1874 syntetizoval čistou salicylovou kyselinu a proběhla řada ne příliš úspěšných pokusů, pro klinické využití, které byly provázeny množstvím vedlejších účinků. Vlastnosti této kyseliny jsou přítomné výhradně v poloze *ortho* karboxylové skupiny a karboxylové skupiny [5 s. 189]. Následně v roce 1897 Felix Hoffmann syntetizoval pomocí esterifikace kyselinu acetylsalicylovou, a tak je

připravována dodnes. O dva roky později v roce 1899 společnost Bayer patentuje lék pod názvem Aspirin®, což je ve své podstatě čistá kyselina acetylsalicylová v lékové formě. Kyselina acetylsalicylová se vyrábí acetylací kyseliny salicylové acetanhydridem za přítomnosti mnoha katalyzátorů a rozpouštědel [5 s. 192], což je vidět na obrázku (**Obrázek 3**), a jako odpadní produkt vzniká kyselina octová. V roce 1955 napsal Berton Roueché, „že není na světě země, kde by byl neznámý, neoceňovaný nebo nedostupný“, při čemž měl na mysli právě zmíněné léčivo. V České republice se od roku 1922 vyrábí generikum Acylpyrin®, jehož výroba započala v Lučebních závodech v Kolíně pod vedením ředitele Ing. Antonína Pavce. Ten byl zároveň během období první republiky předsedou Sdružení československých chemických průmyslů. Léčiva s obsahem kyseliny acetylsalicylové především brání agregaci trombocytů, snižují riziko infarktu myokardu, což popsal poprvé v roce 1948 lékař Lawrence Craven z Kalifornie na základě pozorování svých pacientů, a vzniku iktů při nízké pravidelné denní dávce. Jako nežádoucí účinek těchto léčiv je vznik Reyeova syndromu u dětí, ke kterému povětšinou dochází při virových infekcích s horečkou nebo varicelle. Za objev mechanismu účinku tohoto léčiva získali Nobelovu cenu v roce 1982 vědci: Sune K. Bergström, Bengt I. Samuelsson and John R. Vane. [6–9] Kyselina acetylsalicylová tvoří bílé krystalky, s teplotou tání 131 až 137 °C, s $pK_a = 3,5$ a je dobře rozpustná v ethanolu a acetonu. [5 s. 192]

2.1.1.1 ASPIRIN

Jedná se o léčivo v lékové formě tablety, která je bílá, kulatá a má v průměru 12 mm. Tableta má na jedné své straně nápis „ASPIRIN 0,5“ a na druhé straně je znak výrobce společnosti BAYER. Název se skládá ze tří částí „A“ značí, že se jedná o „acetylsalicylovou kyselin“, „spir“ vychází z názvu rostliny Spirea ulmaria (česky tužebník jilmový) a „in“ je v té době běžná koncovka pro léčiva [10]. V dnešní literatuře se často pro kyselinu acetylsalicylovou používá název aspirin, což vzhledem k přítomnosti dalších látek v léčivu nemusí být zcela přesné označení. Jedna tableta obsahuje 500 mg účinné látky kyseliny acetylsalicylové. Z pomocných látek je zde přítomná celulóza a kukuřičný škrob. Léčivo slouží k tlumení bolesti hlavy, zubů, krku, svalů, kloubů, zad, při lehčí artritidě a bolestech provázejících menstruaci. Léčivo ulevuje od symptomatických projevů bolesti a horečky při chřipce nebo jiném zánětlivém onemocnění horních cest dýchacích. Vzhledem

k dříve uvedeným informacím je zakázáno toto léčivo podávat v České republice dětem a dospívajícím do 16 let věku v průběhu horečnatého onemocnění. Aplikace je per os a tablety se podávají po konzumaci jídla a mělo by dojít k dostatečnému přísunu tekutin po jejich požití. Jako veškerá léčiva, tak i toto léčivo nevyjímaje, je třeba posuzovat v případě užívání dalších léčiv s ohledem na jeho možné vedlejší účinky, které mohou být takto podpořeny ve své manifestaci. Zde lze hovořit především o léčivech, která způsobují snížení koagulačních vlastností krve, narušujících sliznici gastrointestinálního traktu (nepřímo tak působí i požívání alkoholu díky svým synergickým drahám metabolismu s kyselinou acetylsalicylovou) a snižujících funkčnost vylučovacího systému. Toto léčivo prostupuje placentou. V průběhu prvního trimestru těhotenství může mít užívání tohoto léčiva i teratogenní účinky. Během kojení léčivo přechází do mateřského mléka. Kyselina acetylsalicylová se po podání rychle resorbuje a mění se na svůj aktivní metabolit kyselinu salicylovou. Absorbuje se 80 až 100 % léčiva, ale vzhledem k částečné hydrolýze a efektu prvního kontaktu v játrech, kde dojde k další degradaci léčiva, tak biologická dostupnost léčiva značně klesá [11]. Jak kyselina acetylsalicylová, tak i kyselina salicylová jsou vázány na plazmatické bílkoviny a distribuovány po celém organismu. Během metabolizace kyseliny salicylové v játrech vzniká vícero odpadních produktů, mezi které patří: kyselina salicylurová, salicylfenolglukuronid, salicylacetylglukuronid, kyselina gentisová a kyselina gentisurová. Vylučování je zprostředkováno především ledvinami. [12] Vyskytuje se ve formě bílých krystalků, bílého krystalického prášku nebo granulí. Nemá žádnou vůni ani zápach, někdy lze ovšem vycítit lehkou kyselost. Bod tání je přibližně 143 °C. Se vzdušnou vlhkostí dochází snadno k hydrolýze na kyselinu salicylovou a acetát, proto je třeba toto brát v potaz i během skladování. [11] Mezi nejnovější poznatky ohledně možností využití tohoto léčiva jsou informace o tom, že jeho malé množství v pravidelných dávkách ve starším věku může vést ke snížení možných cévních příhod a prodloužit tak dobu dožití ve zdraví. Tyto výzkumy se většinou označují pod zkratkou ASPRE (aspirin snižující riziko cévních příhod ve stáří; aspirin in reducing events in the elderly). [13] Balení léčiva je zachyceno na fotografii (**Fotografie 1**).

2.1.1.2 ACYLPYRIN

Léčivo ACYLPYRIN se vyrábí od roku 1922 a jeho duchovním otcem byl již dříve známý Ing. Antonín Pavec [6]. Dnes ho nalézáme v lékárnách v podobě bílých až slabě našedlých tablet. Uprostřed tablety je půlící rýha na jedné straně a na druhé straně je vyobrazen název léčiva. Jedna tato tableta obsahuje 500 mg účinné látky kyseliny acetylsalicylové a jako pomocné látky bramborový škrob a mastek. Vzhledem k tomu, že se v podstatě jedná o léčivo téměř shodné se svou originální předlohou, tedy ASPIRINEM, tak i jeho terapeutická indikace je shodná. Léčivo se užívá především na tlumení bolesti různého původu, ať již se jedná o bolest hlavy, kloubů nebo svalů, které provázejí chřipková onemocnění a záněty horních cest dýchacích. Opět je zde shodné riziko pro děti a mladistvé do 16 let věku, u kterých může dojít při užití k projevům Reyeova syndromu a s tím až k úmrtí. Léčivo se doporučuje užívat během konzumace jídla nebo po ní, aby se snížilo riziko poškození žaludeční sliznice. Po požití se doporučuje při vyšších dávkách zapíjení alkalickou minerální vodou. Vedlejší účinky a možné rizikové interakce s dalšími léčivy jsou naprosto shodné s dříve zmíněným ASPIRINEM. [14] Balení léčiva je zachyceno na fotografii (*Fotografie 2*).

2.1.1.3 ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY

Léčivo s obsahem účinné látky kyseliny acetylsalicylové v množství 500 mg, a navíc obohacené o ochrannou vrstvu obalu, která pomáhá k tomu, aby došlo k uvolnění dané složky až v ideálním místě pro vstřebání. Tableta je také koncipována tak, aby tvořila malé částice léčivé látky a efervescentní složky. To zajišťuje mnohem lepší rozpuštění a absorpci. To je 4x rychlejší vstřebání než v případě samostatného podání kyseliny acetylsalicylové v konvenční tabletě léčiva ASPIRIN. Jako pomocné látky v tabletě slouží v jejím jádru koloidní bezvodý oxid křemičitý a uhličitan sodný. Pomocné látky v obalové vrstvě tablety jsou karnaubský vosk, hypromelosa a zinkum-stearát. Tablety jsou bílé, kulaté, bikonvexní s průměrem 12 mm a na jedné ze stran je nápis „BA 500“ a na další straně je značka společnosti Bayer v podobě kříže. Léčivo slouží k symptomatické léčbě horečky spojení s bolestmi nebo jiné střední až silné bolesti. Vedlejší účinky a účinky spojené s užíváním v kombinaci s jinými přípravky nebo s určitými zdravotními stavy jsou opět totožné s původním léčivem ASPIRIN. [15] Balení léčiva je zachyceno na fotografii (*Fotografie 3*).

2.1.1.4 ANOPYRIN 400 MG

Léčivo ve formě bílých tablet, které jsou kulaté a na obou stranách ploché. Díky rýze na jedné ze stran je možné tabletu rozdělit na dvě poloviční dávky. Jedna tableta obsahuje 400 mg kyseliny acetylsalicylové a pomocné látky, kterými jsou kukuřičný škrob, mastek, glycin, celulosový prášek a mikrokrystalická celulóza. Přítomnost kyseliny acetylsalicylové vylučuje užití pro děti do 16 let věku. Léčivo se používá především pro symptomatickou léčbu akutních respiračních onemocnění chřipkového charakteru, ale lze jej použít samozřejmě i na další tlumení bolestí. Vedlejší účinky a další komplikace spojené s užíváním jsou typické pro léčiva s kyselinou acetylsalicylovou (teratogenita v třetím trimestru, zvyšování krvácivosti, renální a hepatální poškození atd.). [16] Balení léčiva je zachyceno na fotografii (*Fotografie 4*).

2.1.1.5 ACYLCOFFIN

Léčivo nacházíme v podobě bílé tablety s dělicí rýhou na jedné straně, které umožňuje rozdělení na dvě stejné poloviční dávky. Tablety jsou na hranách zkosené a jsou ploché. Kyselina acetylsalicylová (450 mg) jako účinná látka vylučuje užití tohoto léčiva dětmi do věku 16 let. Pro zvýšení efektivity je zde přítomen kofein v obsahu 50 mg. V tabletě se nachází pomocné látky, kterými jsou bramborový škrob a mastek. Léčivo slouží k tlumení bolesti mírné až střední intenzity různého původu a zejména způsobené akutními respiračními onemocněními chřipkového charakteru. Vedlejší účinky a další komplikace spojené s užíváním kombinují jak ty spojené s léčivem s kyselinou acetylsalicylovou (teratogenita v třetím trimestru, zvyšování krvácivosti, renální a hepatální poškození atd.), tak s léčivem, ve kterých nacházíme kofein (nervozita, podrážděnost, nespavost, bušení srdce). [17] Balení léčiva je zachyceno na fotografii (*Fotografie 5*).

2.1.2 Pyrazolony

Do této větve léčiv patří fenazon; sodná sůl metamizolu; aminofenazon; propyfenazon; nifenazon; fenazon, kombinace kromě psycholeptik; metamizol sodný, kombinace kromě psycholeptik; aminofenazon, kombinace kromě psycholeptik; propyfenazon, kombinace kromě psycholeptik; fenazon, kombinace

s psycholeptiky; metamizol sodný, kombinace s psycholeptiky; aminofenazon, kombinace s psycholeptiky; propyfenazon, kombinace s psycholeptiky. [1]

Kyselinu salicylovou, která se získávala jako odvar vrbové kůry v 17. století nahradila kůra chinovníku (*Cortex chinae*), jejíž účinky byly silnější. V tomto ohledu byl významný chemik jménem Ludwig Knorr, který připravil kondenzací fenyldiazinu s octanem ethylnatým látku, kterou nazval oxylmethylchinin. Tu považoval za syntetický derivát chininu. Antipyretické účinky zvýšil N-alkylací. O řadu let později určil správnou konstituci a jako 1-fenyl-2,3-dimethylpyrazolon a dal jí název Antipyrin. [5 s. 185–186]

2.1.3 Anilidy

Do této větve patří: paracetamol; fenacetin; buctin; propacetamol; paracetamol, kombinace kromě psycholeptik; fenacetin, kombinace kromě psycholeptik; buctin, kombinace kromě psycholeptik; paracetamol, kombinace s psycholeptiky; fenacetin, kombinace s psycholeptiky; buctin, kombinace s psycholeptiky. [1] Struktura těchto látek je vidět na obrázku, na kterém jsou jejich strukturální vzorce (**Obrázek 5**).

Paracetamol, také acetaminophen, systematicky *N*-(4-hydroxyfenyl)acetamid (**Obrázek 4**), je metabolit fenacetinu, jehož příprava je na obrázku (**Obrázek 6**), který je mnohem méně nefrotoxickejší. Paracetamol je považován za nejbezpečnější analgetikum ze skupiny analgetik-antipyretik, pokud se užívá v terapeutických dávkách. Je ale výrazně hepatotoxický v případě předávkování³. [2, 7] Vyrábí se z *p*-nitrofenolu redukcí a acetylací, což je vidět na obrázku (**Obrázek 7**). Je možné jej také získávat biotechnologickou cestou z anilinu působením geneticky upravených mikroorganismů. Jedná se o bílou, krystalickou látku, s teplotou tání 169-170,5 °C, dobře rozpustnou v ethanolu, dimethylformamidu, acetonu a ethylacetátu. [5 s. 189] V terapeutických dávkách metabolit z jater eliminuje glutathion, který se ovšem v nadměrném množství paracetamolu vyčerpá a následně toxické metabolity začnou poškozovat jaterní tkáň (**Obrázek 8**). [18] V moči dospělého člověka se nachází jako metabolit acetaminophen glukuronid (55 %), acetaminophen sulfát (30 %), nemetabolizovaný acetaminophen (4 %) a acetaminophen konjugovaný

³ Jako antidotum se používá acetylcystein. [7] Klinický projev hepatotoxicity se manifestuje při dávkách nad 5 g za den. Toxická dávka je nad 7 g za den a může vyvolat jaterní nekrózu. Toxicita se zvyšuje konzumací ethanolu. [2 s. 43]

s cysteinem (4 %). [19] Ve Spojených státech amerických musela místní autorita Poradní výbor Spojených států amerických Úřadu pro kontrolu potravin a léčiv nastavit opatření ke snížení užívání léčiv s paracetamolem. Hlavním důvodem byl fakt, že jaterní selhání, která vedou v některých případech až k transplantaci jater, byla zcela běžně zapříčiněna právě nadměrným užíváním tohoto léčiva. [20] Samotný základ této struktury anilin má antipyretické účinky. Je ale natolik toxický, že ho není možné použít. [5 s. 187] Poprvé byl syntetizován Harmonem Northropem Morseem v roce 1877 [21]. Klinické počátky spadají do roku 1893, kdy byl poprvé použit Josephem von Meringem. Léčivo nezískalo v té době ovšem žádné komerční využití. Prodejního úspěchu se dočkalo ve světě v roce 1950 ve Spojených státech amerických a v roce 1956 v Austrálii. První se začala prodávat kombinace paracetamolu, aspirinu a kofeinu a léčivo neslo název Triogesic. Během dalších let se objevovalo mnoho podezření, která se týkala toho, že v té době používaná analgetika s sebou nesou toxické vlastnosti. Následně v roce 1966 došlo k vědeckému ověření hepatotoxicity paracetamolu v případech, jak bylo uvedeno výše. Jako klíčový moment pro toto léčivo lze brát 80. léta 20. století, kdy došlo k objevení Reyeova syndromu způsobovaného preparáty s kyselinou acetylsalicylovou u dětí. Tím se paracetamol stal lékem první volby právě v pediatrii při léčbě bolesti a zvýšené teplotě. [22] Některé výzkumy ukazují, že jeho užívání v malých dávkách při kostní artritidě vede k význačnému symptomatickému zlepšení u těchto pacientů. Hlavní předností tohoto léčiva je efektivnost, bezpečnost a jeho pořizovací cena. [20]

2.1.3.1 PARALEN 500

Léčivo ve formě tablet s rozměry 18 mm a 8 mm. Uprostřed tablety je půlící rýha, která umožňuje rozdělit léčivo na dvě stejně veliké poloviční dávky. Tableta je bílá a na jedné straně je nápis PARALEN. Jedna tableta obsahuje 500 mg účinné látky paracetamolu a jsou zde přítomné tyto pomocné látky: předbobtnalý kukuřičný škrob, povidon 30, sodná sůl karamelosy a kyselina stearová. Léčivo se indikuje především u akutních bakteriálních a virových infekcí, bolestí zubů, hlavy, neuralgických bolestí, bolestech svalů, bolestech kloubů na podkladě nezánettivé příčiny, bolesti z oblasti žeber a při bolestivé menstruaci. Na rozdíl od léčiv s účinnou látkou kyselinou acetylsalicylovou je možné tento přípravek podávat dětem do 6 let. Pro mladší děti je určena varianta tohoto léčiva s nižší koncentrací

paracetamolu v lékové formě čípku nebo suspenze. I přes možné hepatotoxické účinky není omezeno podávání léčiva osobám, které trpí jaterními onemocněními, která jsou stabilizována. Je ovšem třeba velice důkladně dodržovat předepsané dávky, aby nedošlo k předávkování. Dlouhodobá konzumace alkoholických nápojů spolu s užíváním léčiva vede k výraznému riziku poškození jaterní tkáně. Při předávkování léčivem kromě poškození jater hrozí i akutní tubulární nekróza ledvin. Paracetamol dosahuje maximální plazmatické koncentrace již během 30 až 60 minut a v podstatě se všechen absorbuje v gastrointestinálním traktu. V těle se dostává do slin, mateřského mléka, prochází placentární bariérou k plodu a prochází hematoencefalickou bariérou do mozku. [23] Balení léčiva je zachyceno na fotografii (**Fotografie 6**).

2.1.3.2 PANADOL NOVUM

Léčivo v lékové formě obalené tablety, která má na jedné straně dělicí rýhu a straně druhé ®. Jedna tableta obsahuje 500 mg účinné látky paracetamolu a pomocné látky zde jsou předbobtnalý kukuřičný škrob, uhličitan vápenatý, kyselina alginová, krospovidon typ A, povidon 25, magnesium-stearát, koloidní bezvodý oxid křemičitý, směs sodných solí parabenů (E 215, E 217, E 219), karnaubský vosk, potahová soustava Opadry YS-17003 bílá (oxid titaničitý, hypromelosa, makrolog, polysorbát 80). Terapeutické použití je pro tlumení bolestí různých původů, včetně migrény a symptomatickou léčbu horečky. Rizika z předávkování jsou shodná s ostatními přípravky obsahujícími paracetamol. Technologie obalené tablety dává o 32 % rychlejší schopnost se vstřebat v prvních 60 minutách než u konvenčního léčiva. [24] Balení léčiva je zachyceno na fotografii (**Fotografie 7**).

2.1.3.3 PANADOL EXTRA

Léčivo v lékové formě tablety v podobě tobolky. Na jedné straně je Δ +. Jedna tableta obsahuje 500 mg paracetamolu a 65 mg kofeinu. Z pomocných látek je zde předbobtnalý škrob, kukuřičný škrob, povidon 25, kalium-sorbát, mastek, kyselina stearová (95%) a sodná sůl kroskarmelosy (typ A). V potahové vrstvě se nachází hypromelosa a triacetin. Léčivo by se mělo uchovávat v prostředí do teploty 25 °C. Přítomný kofein v tomto léčivu zvyšuje jeho analgetické vlastnosti. Působí totiž na centrální nervový systém a může snížit deprese, které jsou s bolestmi často spojené.

Kombinace paracetamolu s kofeinem je dle studií 1,37 krát účinnější než samostatné použití. [25] Balení léčiva je zachyceno na fotografii (**Fotografie 8**).

2.1.3.4 ACIFEIN

Jedná se o léčivo ve formě tablety, která v sobě kombinuje tři účinné komponenty, kterými jsou kyselina acetylsalicylová v množství 250 mg, paracetamol v množství 200 mg a kofein v množství 50 mg. Dále jsou v tabletě pomocné látky glycin, kukuřičný škrob, mastek a hypromelosa. Tableta je bílá a má zkosené hrany. Na jedné straně tablety je rýha, která ovšem neslouží k půlení tablety za účelem snížení dávky, ale s cílem usnadnit polykání v menších celcích. I když se jedná o přípravek v kategorii přípravků s paracetamolem, tak obsahuje zároveň kyselinu acetylsalicylovou, a proto není možné toto léčivo podávat dětem a mladistvým do věku 16 let. Vedlejší účinky a další komplikace spojené s užíváním kombinují jak ty spojené s léčivy obsahující kyselinu acetylsalicylovou (teratogenita v třetím trimestru, zvyšování krvácivosti, renální a hepatální poškození atd.) a léčivy s obsahem paracetamolu (hepatální poškození při předávkování). Vzhledem k tomu, že přípravek obsahuje i kofein, tak by nemělo docházet ke konzumaci potravin a nápojů, které kofein obsahují také. Nadměrná akumulace zdrojů kofeinu může vést k nervozitě, podrážděnosti, nespavosti, bušení srdce. Vliv na srdce se může projevit u osob, které trpí srdečními obtížemi. Léčivo se absorbuje velice rychle. Již po 14 minutách dosahuje maximální plazmatické koncentrace kyseliny acetylsalicylové. Kyselina acetylsalicylová se metabolizuje na kyselinu salicylovou, kyselinu salicyluronovou a kyselinu gentisovou. Paracetamol se metabolizuje na konjugát glukorinidu (55 %), konjugát sulfátu (30 %), konjugát kyseliny merkapturové (4 %), konjugát cysteinu (4 %) a další neidentifikovatelné metabolity (7 %). Kofein se metabolizuje oxidací a demethylací. Dle mezinárodní expertní skupiny složení z řady odborníků různých profesí se došlo k závěru, že kombinace kyseliny acetylsalicylové, paracetamolu a kofeinu nezvyšuje rizika užívání těchto léčiv oproti užívání léčiv jen s jednou složkou [26, 27]. Zároveň tato skupina došla k závěru, že kofein v těchto léčivech nemá návykový efekt, který by vedl k tendenci užívat analgetika s jeho obsahem návykově. [28] Balení léčiva je zachyceno na fotografii (**Fotografie 9**).

2.1.3.5 THOMAPYRIN

Léčivo v lékové formě bílé, kulaté, ploché tablety, která má zkosené hrany a na jedné straně půlicí rýhu. Na druhé straně je označeno nápisem THOMAPYRIN. Dělicí rýha slouží k rozdělení tablety na dvě stejné poloviční dávky léčiva. Jedna tableta obsahuje 250 mg kyseliny acetylsalicylové, 200 mg paracetamolu a 50 mg kofeinu. Pomocnými látkami zde jsou kukuřičný škrob, monohydrát laktózy a kyselina stearová (50%). Léčivo obsahuje kyselinu acetylsalicylovou a je tedy vyloučeno podávání dětem a mladistvým do věku 16 let. Kombinace všech tří účinných složek zvyšuje efektivitu o 40 % a čas k dosažení poloviční úlevy od bolesti je o 15 minut kratší než při použití účinných látek samostatně. [29] Balení léčiva je zachyceno na fotografii (*Fotografie 10*).

2.1.4 Jiná analgetika a antipyretika

Do této větve léčiv patří rimazolium; glafenin; floktafenin; viminol; nefopam; flupirtin; zikonotid; methoxifluran; kanabinoidy. [1]

2.1.5 Další látky nacházející se ve vybraných léčivech

Kofein je název, který pochází od rostliny kávovník arabský (*Coffea arabica*) a jedná se o alkaloid se systematickým názvem 1,3,7-trimethyl-3,7-dihydro-1H-purin-2,6-dion (*Obrázek 9*) nebo semitriviálním názvem 1,3,7-trimethylxanthin. Do léčiv se přidává s cílem zvýšit jejich efektivitu. [17, 25, 28, 29, 30 s. 370] Kofein prochází placentární bariérou a může tak působit na vyvíjející se plod. Bylo prokázáno, že teratogenní vliv na plod je v případě testování na potkanech. U člověka nebyl prokázán žádný teratogenní vliv kofeinu. Bylo ovšem zjištěno, že může dojít k synergii kofeinu s alkoholem nebo tabákovými produkty, která vede k maternálně-fetální vazokonstrikci a může tak dojít k poškození plodu. [31] Jakákoliv konzumace kofeinu během těhotenství vede v následném životě těchto dětí k rozvoji jejich nadměrné hmotnosti nebo obezité. [32] Je třeba mít na paměti při užívání léčiv s obsahem kofeinu, že kofein je přítomen i v mnohých nápojích, které běžně konzumujeme. Kofein nalezneme samozřejmě v kávě (až 70 mg/100 ml nápoje), v čaji (až 20 mg/100 ml nápoje), v kolových nápojích (až 19 mg/100 ml nápoje) nebo v energetických nápojích (až 333 mg/100 ml nápoje). [33]

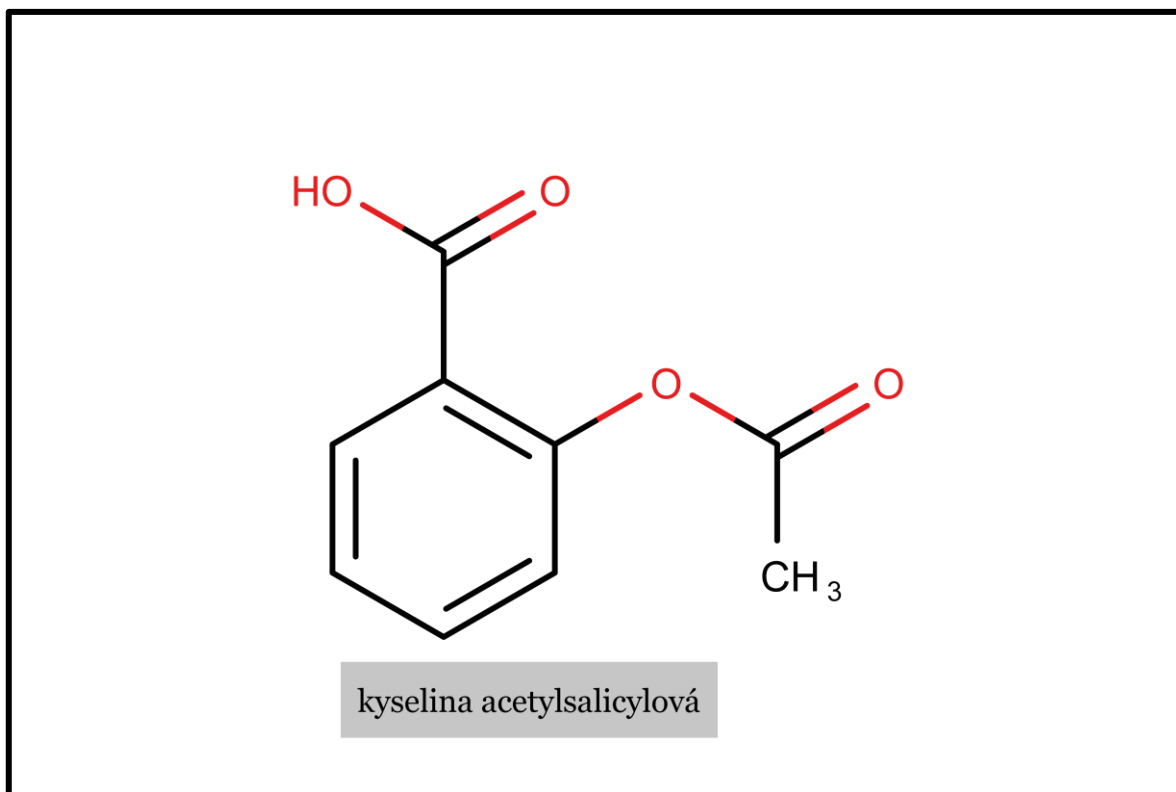
Celulóza je polysacharid skládající se z jednotlivých molekul glukózy (**Obrázek 9**), který je nerozpustný ve vodě a pro většinu savců je celuloza nestravitelná⁴. Teprve až mikroorganismy, které jsou schopné štěpit její vazby, vytváří energeticky potenciální zdroj z této látky. V potravinářském a farmaceutickém průmyslu se vyskytuje ve dvou základních formách jako mikrokrytalická celulóza E460(i) a prášková celulóza E460(ii). Mikrokrytalická celulóza se využívá především jako nízkoenergetické pro člověka nestravitelné plnidlo, jako nosič (olejů, aromatických látek), emulgátor, zahušťovadlo, protispékavá látka, stabilizátor pěn, náplň do žvýkaček nebo právě v našem případě plnidlo tablet. Prášková celulóza má spíše využití v potravinářství a to především v cukrářství. Celulóza se získává ze dřeva extrakcí, deligninací, od ostatních jeho součástí. To probíhá obvykle způsobem, při kterém se dřevěné štěpky vaří s hydroxidy a sulfidy, většinou sodnými. Na závěr dochází k vybělení buničiny pomocí peroxidu nebo oxidem chloričitým. Tak se získává jako produkt buněčná celulóza (takzvaná buničina), která následně může být vystavena působení kyseliny chlorovodíkové, aby se získala krystalická celulóza. Pokud je cílem získat práškovou celulózu, tak je potřeba provést mechanické narušení a pročištění buněčné celulózy. [30 s. 143, 34–36] V léčivech, která jsou předmětem zájmu této práce, tak můžeme najít například celulosový prášek nebo mikrokrytalickou celulosu.

Škrob je zásobní polysacharid rostlin skládající se z glukózových podjednotek (**Obrázek 9**), které vytváří dva základní celky – amyulóza (α -D(1→4)), které je 15 – 20 %, amylopektin (α -D(1→4) a α -D(1→6)), kterého je 80 – 85 %. Existuje vícero typů škrobu s různými vlastnostmi, které jsou dány především poměrem právě zmíněných celků. Využití se nachází v potravinářském průmyslu k zahušťování potravin a úpravě textury potravin, v textilním průmyslu, papírenském průmyslu, chemickém a biochemickém průmyslu a samozřejmě ve farmaceutických výrobcích. Při výrobě léčiv slouží především jako excipientum (pojivo, plnivo, rozvolňovadlo) a dnes se i nově využívá jako pomocná látka v léčivech s postupným uvolňováním. [30 s. 143, 37] V léčivech, která jsou předmětem zájmu této práce, můžeme nalézt bramborový škrob, předbobtnalý kukuřičný škrob, předbobtnalý škrob nebo kukuřičný škrob.

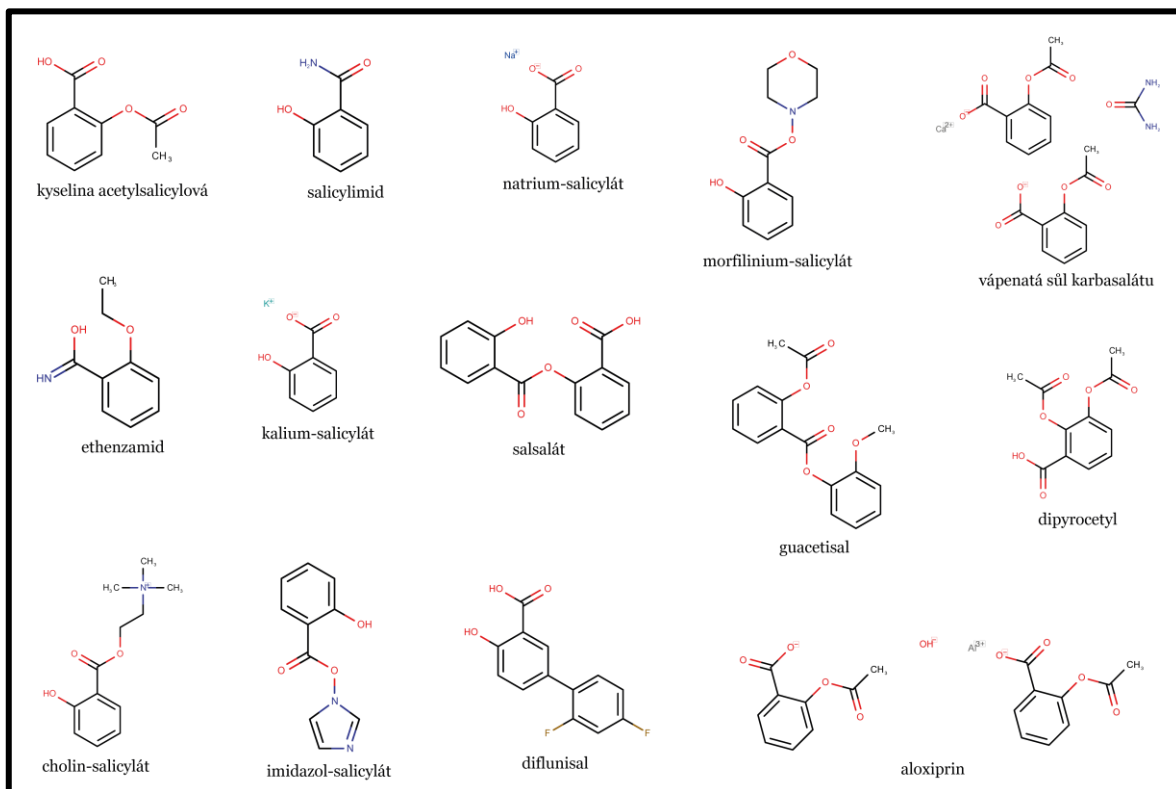
⁴ Celuloza je „stravitelná“ některými mikroorganismy, které jsou přítomné ve střevech býložravců. Ovšem v omezené míře tento proces může probíhat i u člověka. [30 s. 143]

Dalšími pomocnými látkami ve vybraných léčivech jsou: mastek, koloidní bezvodý oxid křemičitý, uhličitan sodný, karnaubský vosk, hypromelosa, zinkum-stearát, povidon 25, povidon 30, sodná sůl karmelosy, kyselina stearová, uhličitan vápenatý, kyselina alginová, krosopovidon typ a, magnesium-stearát, koloidní bezvodý oxid křemičitý, směs sodných solí parabenů (e 215, e 217, e 219), karnaubský vosk, potahová soustava opadry ys-17003 bílá (oxid titaničitý, hypromelosa, makrolog, polysorbát 80), kalium-sorbát, kyselina stearová (95%), kyselina stearová (50%), sodná sůl kroskarmelosy (typ a), triacetin, glycin (kyselina aminoctová), monohydrát laktózy.

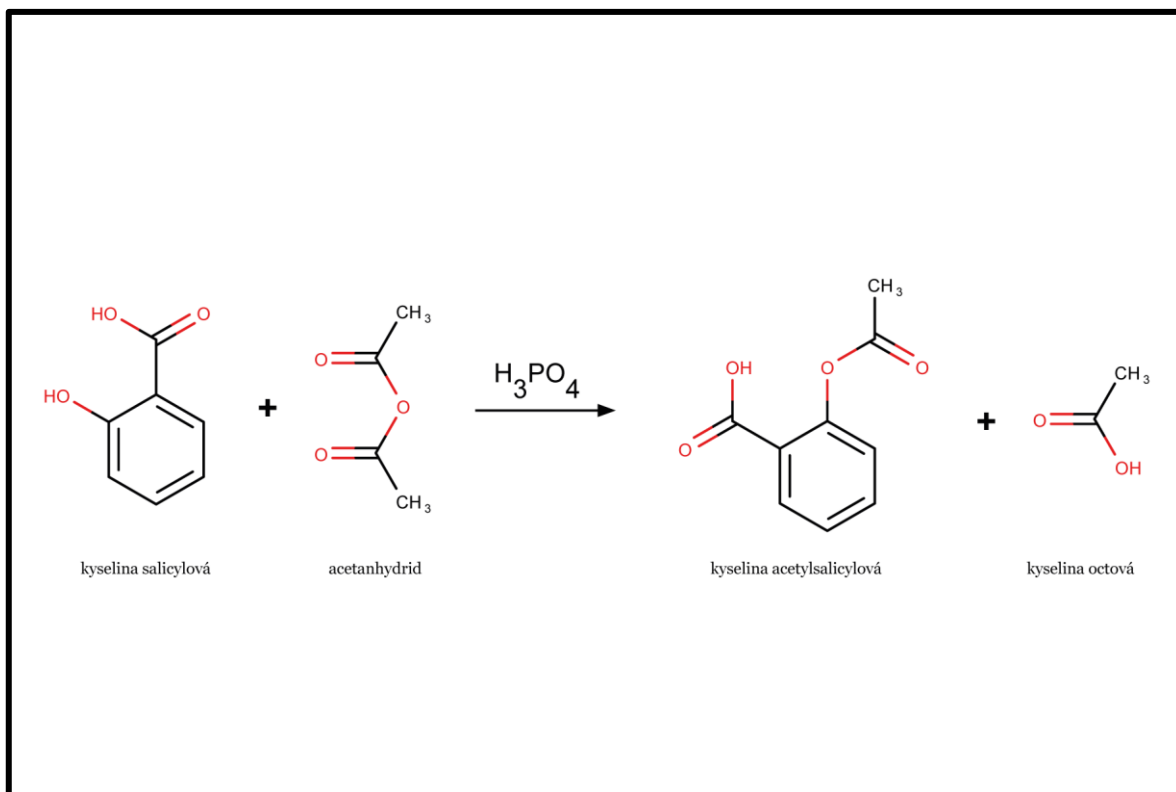
Obrázek 1 – Kyselina acetylsalicylová; vlastní dílo



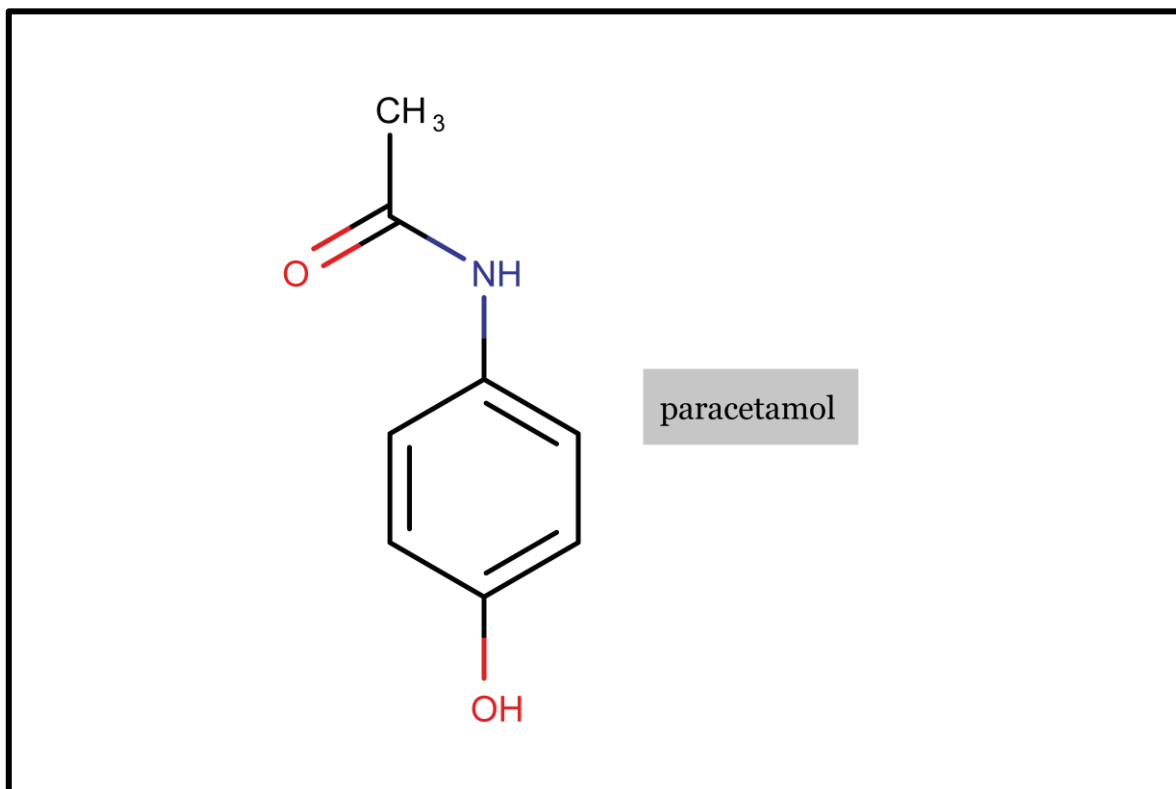
Obrázek 2 – Strukturní vzorce skupiny No2BA kyselina salicylová a deriváty; vlastní dílo



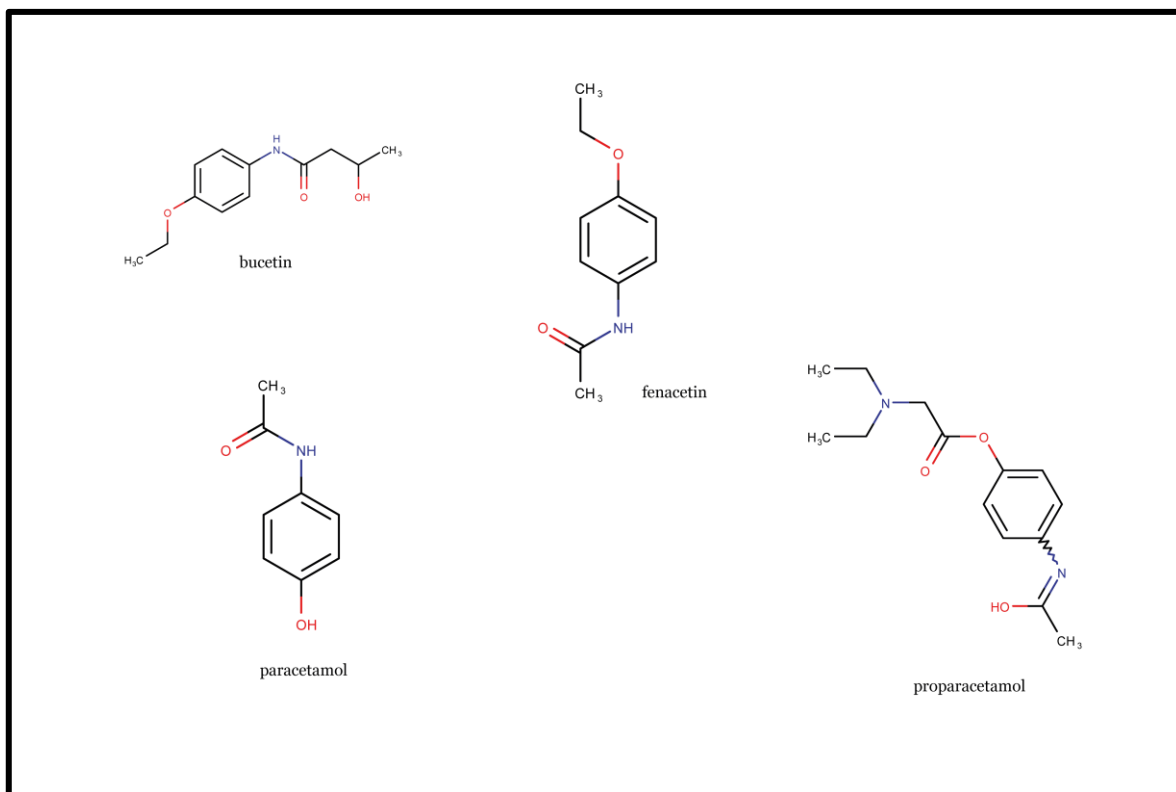
Obrázek 3 – Výroba kyseliny acetylsalicylové; vlastní dílo



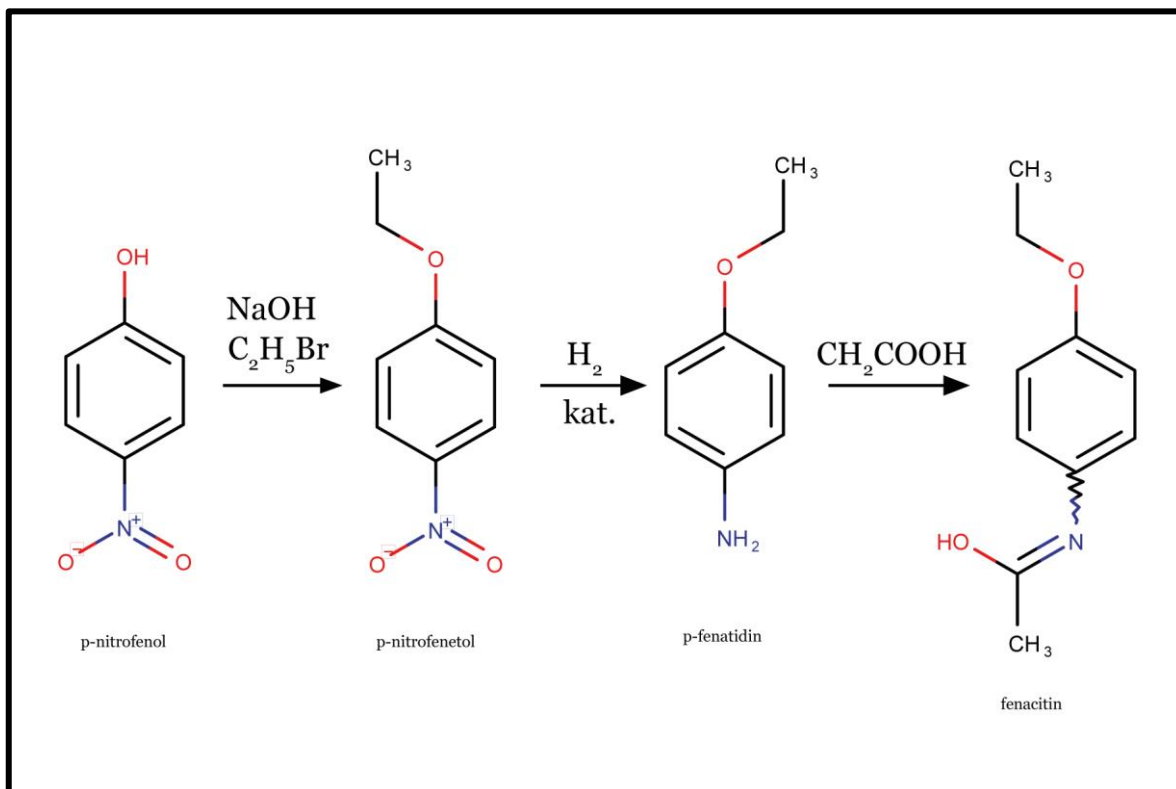
Obrázek 4 – Paracetamol; vlastní dílo



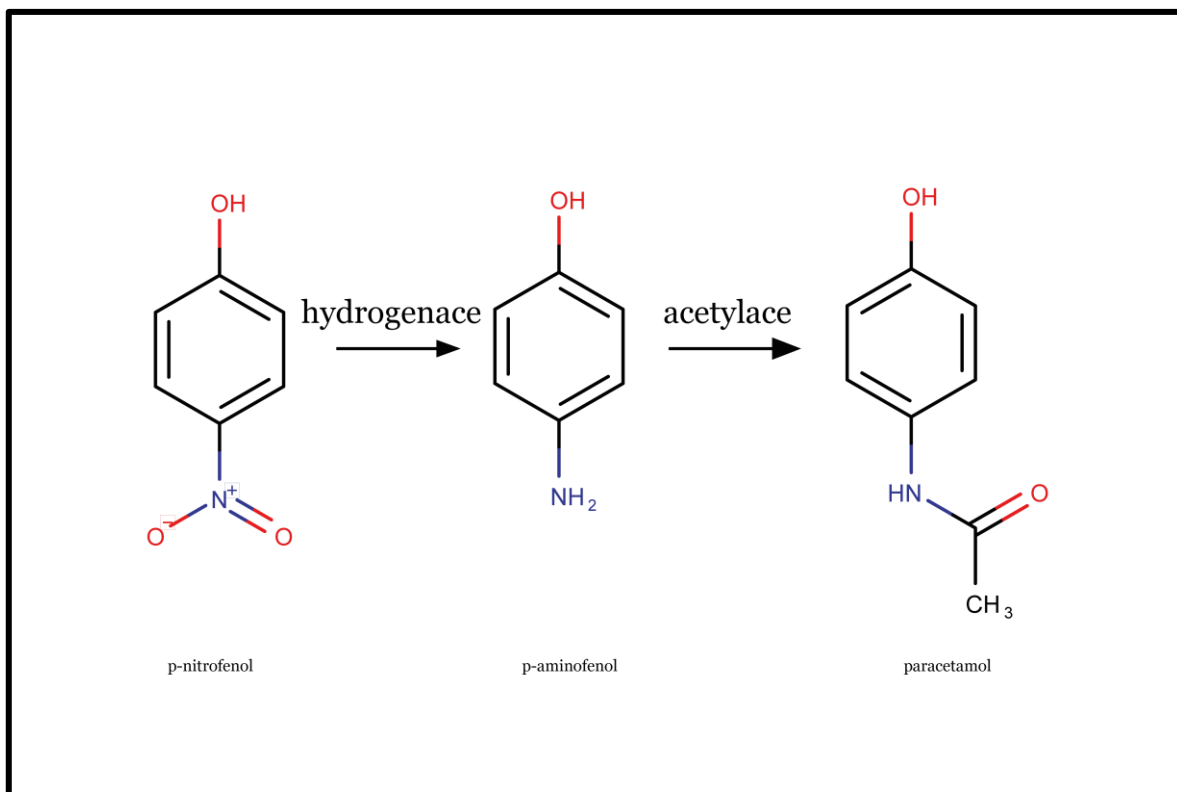
Obrázek 5 – Strukturní vzorce skupiny NO₂BE paracetamol a deriváty; vlastní dílo



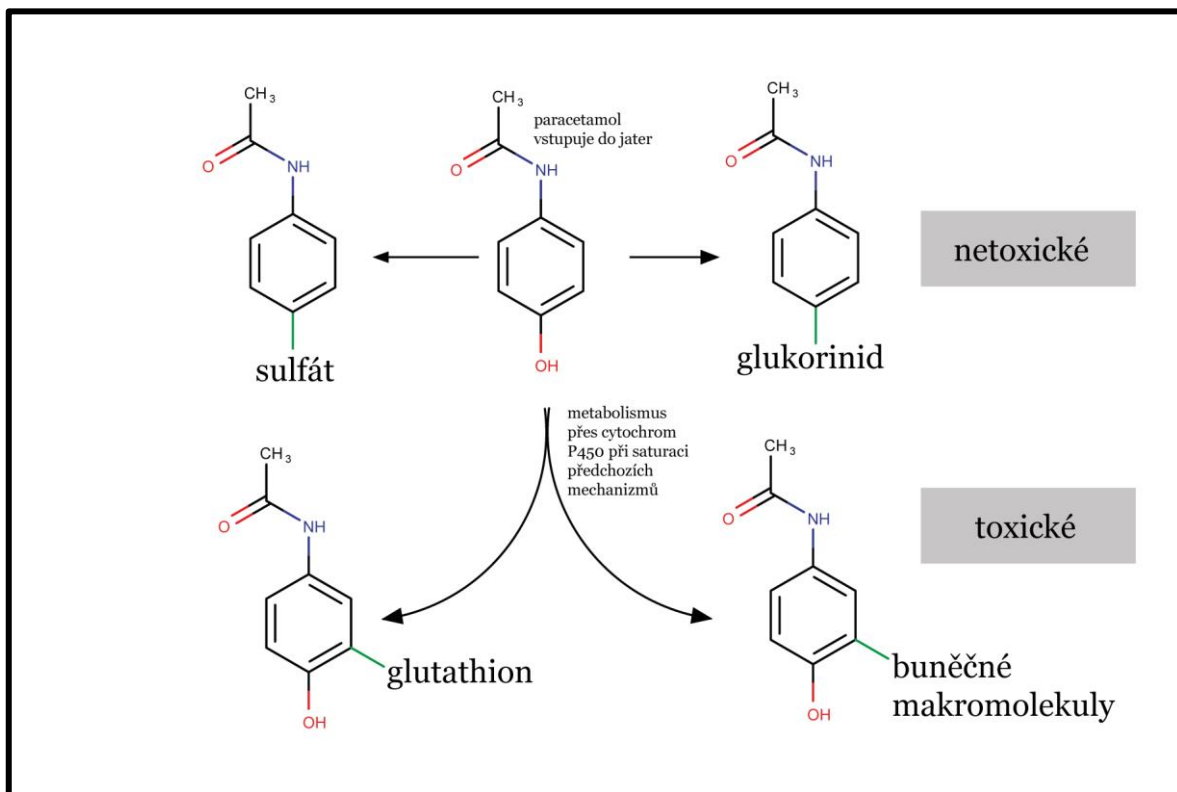
Obrázek 6 – Příprava fenacetinu; podle [5 s. 189]



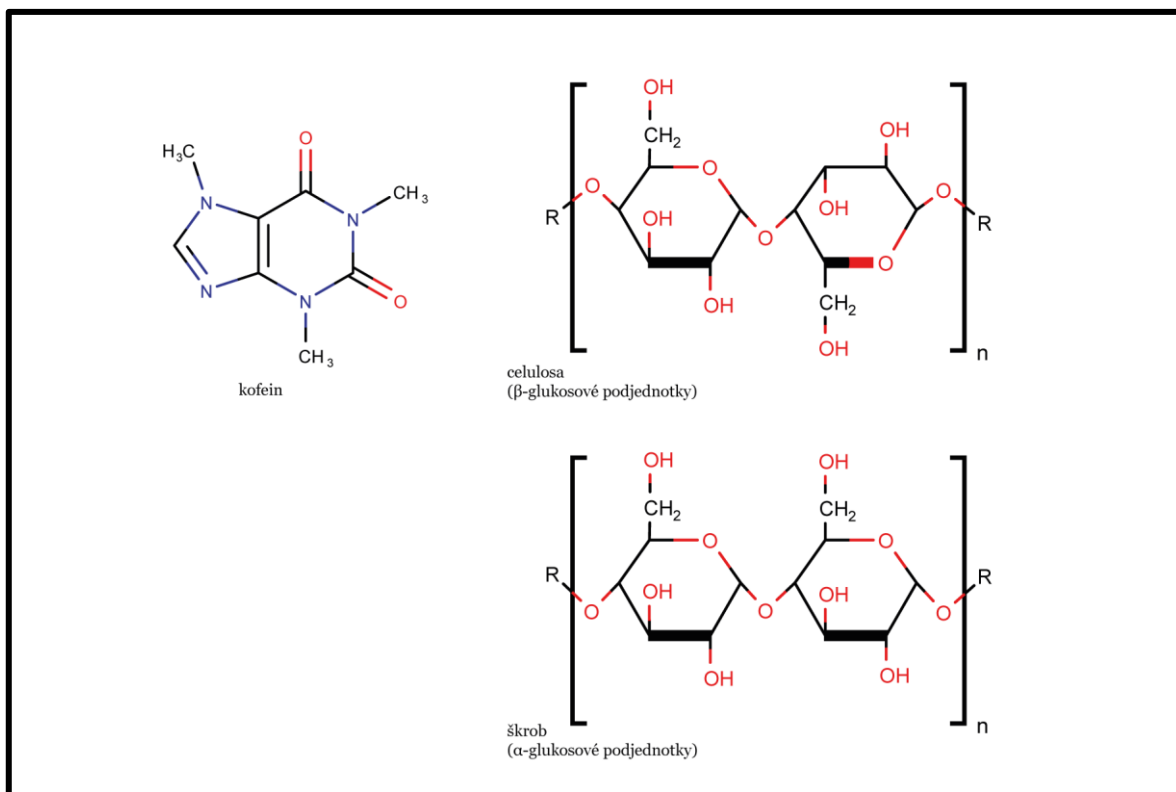
Obrázek 7 – Výroba paracetamolu; vlastní dílo



Obrázek 8 – Toxický metabolismus paracetamolu při přesycení; podle [18 s. 26]



Obrázek 9 – Kofein, škrob, celuloza; vlastní dílo



Fotografie 1 – Balení léčiva ASPIRIN; vlastní dílo



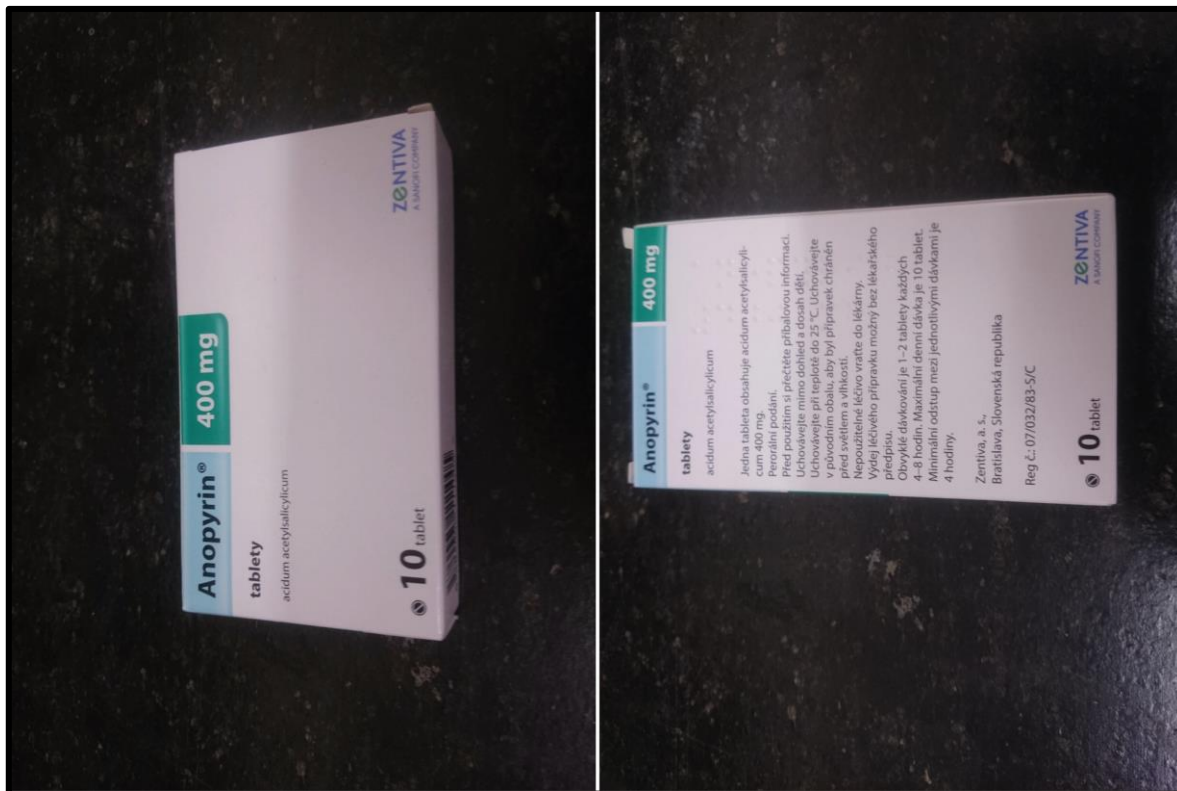
Fotografie 2 – Balení léčiva ACYLPYRIN; vlastní dílo



Fotografie 3 – Balení léčiva ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY; vlastní dílo



Fotografie 4 – Balení léčiva ANOPYRIN; vlastní dílo



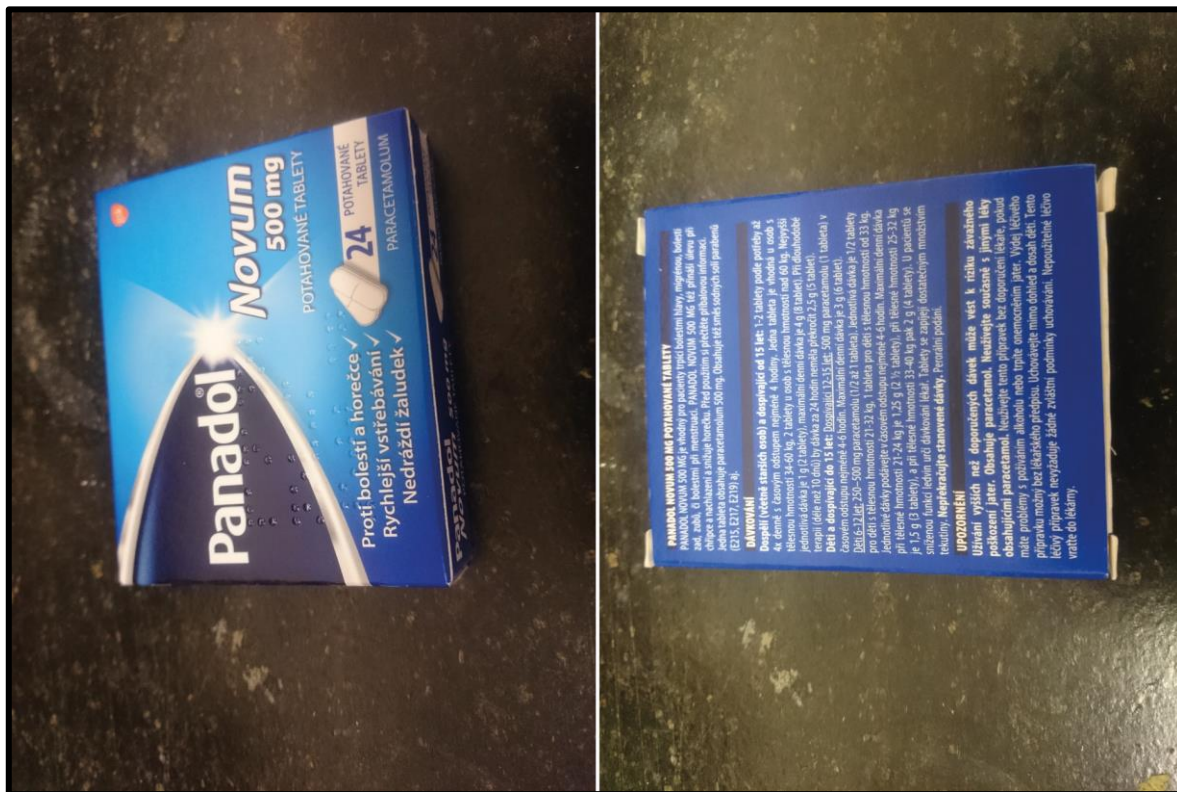
Fotografie 5 – Balení léčiva ACYLCOFFIN; vlastní dílo



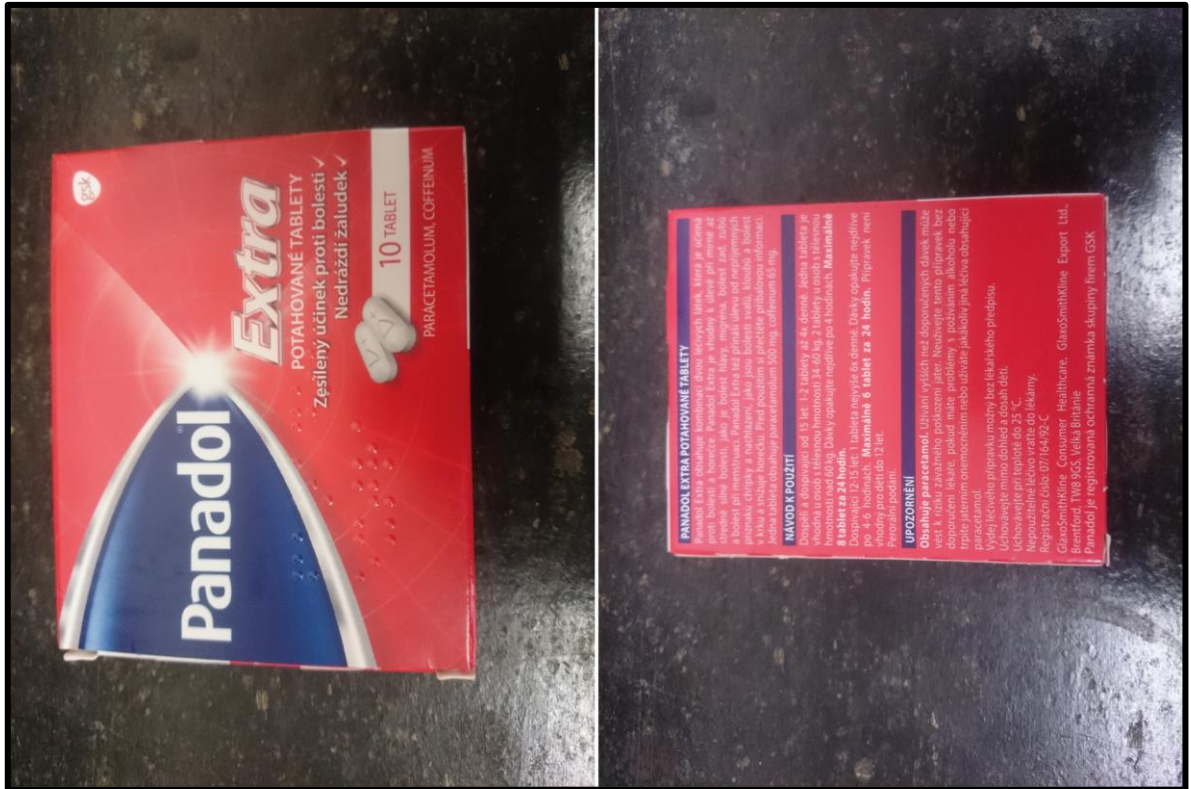
Fotografie 6 – Balení léčiva PARALEN 500; vlastní dílo



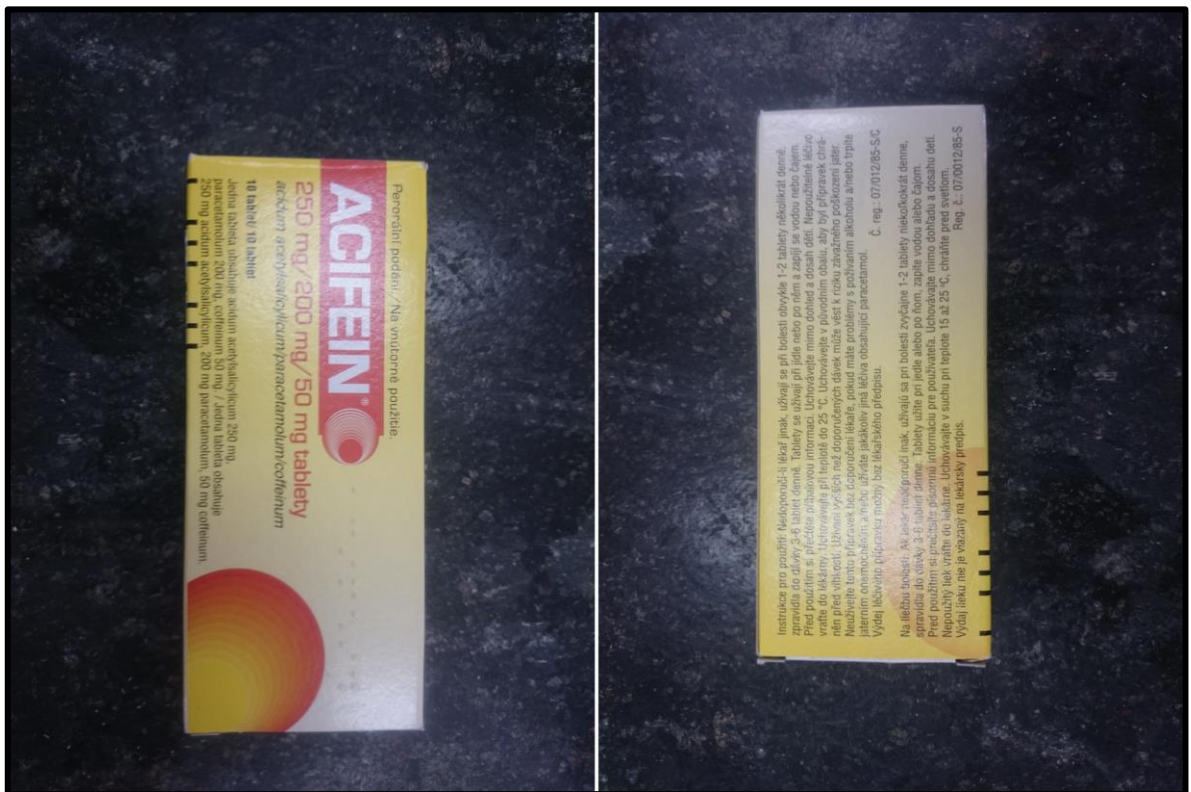
Fotografie 7 – Balení léčiva PANADOL NOVUM; vlastní dílo



Fotografie 8 – Balení léčiva PANADOL EXTRA; vlastní dílo



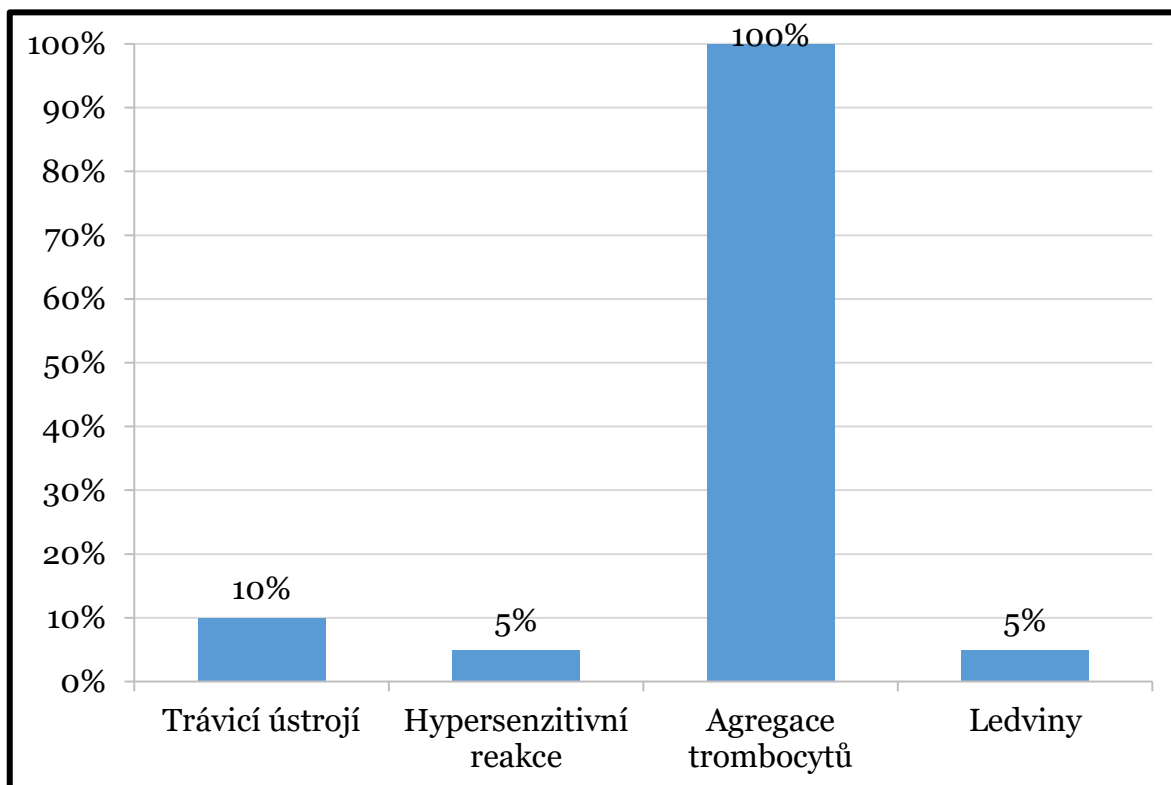
Fotografie 9 – Balení léčiva ACIFFEIN; vlastní dílo



Fotografie 10 – Balení léčiva THOMAPYRIN; vlastní dílo



Graf 1 – Incidence nežádoucích účinků analgetik; podle [4]



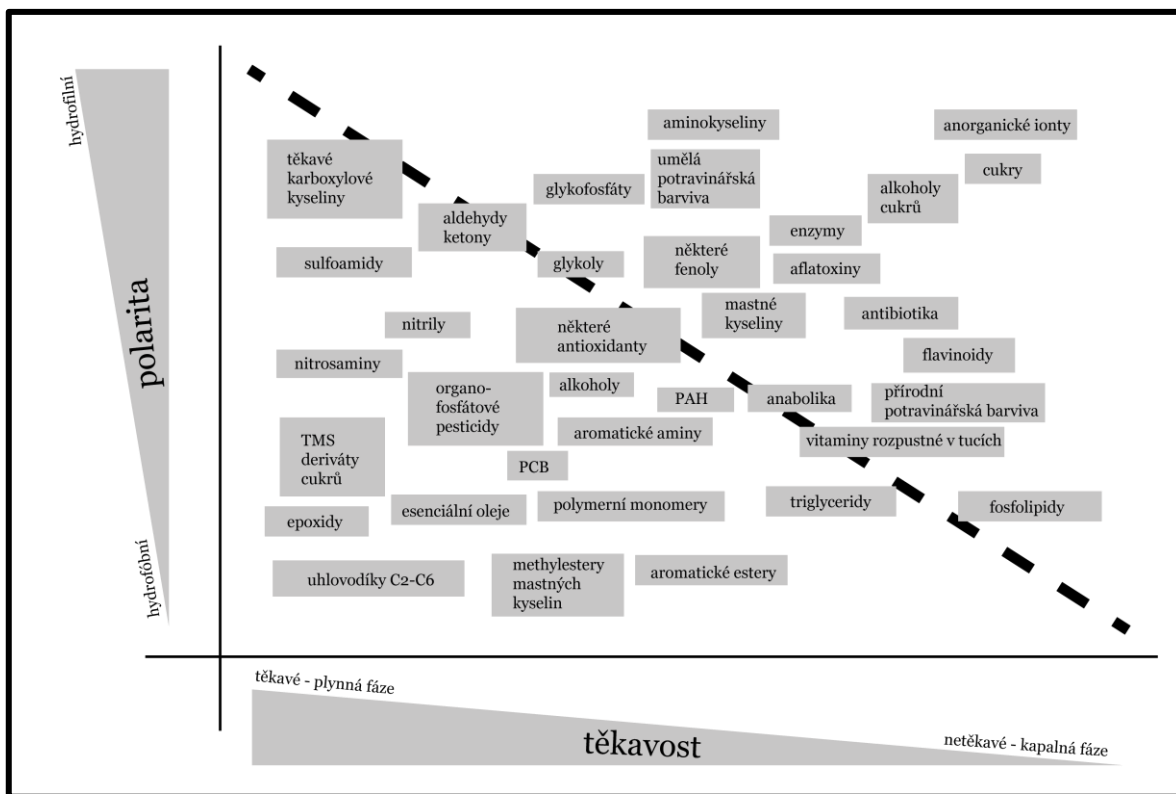
2.2 Chromatografie jako analytická metoda

Chromatografie je separační metoda, která se využívá v oblasti kvalitativní analýzy a kvantitativní analýzy. Metoda slouží přímo k analýze nebo jako preparativní metoda pro další návazné postupy. Jedná se o selektivní rozdělení složek směsi za pomoci dvou fází – mobilní (pohyblivé) a stacionární (nepohyblivé). Chromatografie tedy slouží ke studiu různých směsí a roztoků, přičemž je schopna tyto rozdělit na jejich jednotlivé složky. Takto získané základní látky směsí mohou být dále studovány. Pojem chromatografie pochází pravděpodobně z Ruska okolo roku 1900. Zde Mikhail Semyonovich Tswett⁵ jako botanik studoval barevné materiály ze světa rostlin [38]. Možná odtud poté pochází právě název pro tuto metodu „chromatografie“, což můžeme do českého jazyka volně přeložit jako „barvopsaní“. Během separace vznikají opakovaně rovnovážné stavy mezi látkami ze separované směsi a oběma fázemi (na základě rozdílné adsorpce, rozdělování, výměny iontů, efektu molekulárního síta a jiných principů, ať již na základě fyzikálních nebo chemických procesů). Opakovaně dochází k těmto dějům, což vede k rozdílu v distribučních konstantách jednotlivých složek směsi. V důsledku tohoto je prostup některých látek pomalejší a jiných naopak rychlejší, a tak dojde k jejich oddělení. Síla, jakou stacionární fáze zpomaluje jednotlivé látky, se nazývá retence. Z této retence následně dle typu chromatografie vyplývají hodnoty retenčních časů nebo vzdáleností. To znamená jinými slovy, jak dlouho nebo s jakou obtížností trval dané složce průchod příslušnou chromatografickou soustavou. V následující tabulce (**Tabulka 1**) je uveden základní přehled různých chromatografických metod s rozřazením podle výše zmíněných fází a s uvedením zkratk, které se pro tyto metody světově využívají. Různé metody jsou vhodné pro různé chemické látky v závislosti na jejich charakteru. Podstatnými vlastnostmi, podle kterých se vybírá metoda, která bude k separaci využita, jsou polarita (hydrofilní látky, hydrofobní látky) a těkavost (dobře těkavé látky a netěkavé látky). Základní přehled těchto vlastností ve vztahu k výběru separační techniky pro příslušné látky je znázorněn na obrázku (**Obrázek 10**). Ve velice zjednodušeném pohledu můžeme metody rozdělit na sloupcové a plošné. Do metod sloupcových bychom mohli řadit například chromatografii plynovou nebo kapalinovou a do

⁵ Některé zdroje jméno píší jako Tswet, Tsvet, Cvet [48 s. 9]. Dle množství užití se jeví jako nejvhodnější překlad Tswett. Celé jméno psáno azbukou: Михаил Семёнович Цвет.

metod plošných právě chromatografii na papíře nebo tenké vrstvě, kterou se budeme dále v textu zabývat. Chromatografie se postupně rozšířila do celého světa. Největší rozkvět nastal v 80. letech 20. století v důsledku zvyšujícího se zájmu o chemii, biologii, medicínu, farmacii, klinickou chemii, průmyslové obory a obory studující životní prostředí. V roce 1952 byla udělena jedna z Nobelových cen za počiny v chromatografii a to A. J. P. Martinovi s R. L. M. Syngem. Dnes se jedná o nenahraditelnou techniku téměř každé laboratoře, ať se již jedná o chromatografii plynovou, kapalinovou, na tenké vrstvě, na papíře nebo jinou specifickou metodu. [39, 40, 41 s. 1–103, 42 s. 9–12, 43]

Obrázek 10 – Výběr separační metody; podle [39 s. 3]



Tabulka 1 – Přehled chromatografických metod; podle [44 s. 26, 45, 46, 47 s. 201]

Mobilní fáze	Stacionární fáze	Název metody	Zkratka
Plyn	Pevná látka	Plynná adsorpční chromatografie	GSC
		Molekulová síta	
	Kapalina	Plynná rozdělovací chromatografie	GLC
Superkritická kapalina	Pevná látka	Pěnová chromatografie	FC
		Superkritická fluidní chromatografie	SFC
Kapalina	Tuhá látka	Adsorpční kapalinová chromatografie	LSC
		Vylučovací chromatografie	SEC nebo EC
			Iontově výměnná chromatografie

Mobilní fáze	Stacionární fáze	Název metody	Zkratka
		Afinitní chromatografie	AC
		Reverzní chromatografie	RPC
		Kapilární elektrochromatografie	CEC
		Chromatografie na papíře	PC
		Chromatografie na tenké vrstvě	TLC
		Kolonová chromatografie	CC
	Kapalina	Chromatografie kapalina-kapalina	LLC
		Micelární elektrokinetická chromatografie	MEKC
		Gelová filtrace	GFC
		Gelová permeační chromatografie	GPC

2.3 Chromatografie na tenké vrstvě

Chromatografie na papíře (PC – Paper Chromatography) je nejstarší chromatografickou technikou, která se užívá v klinické chemii. První práce se nachází v textech Izmailova a Švajberové Kvapkové z roku 1938, kteří metodu využívali ke kvalitativním důkazům tinktur v 7. ruském lékopise [48 s.10]. V základě se jedná o techniku kapalinové chromatografie, která je v plošném uspořádání. Základem je chromatografický papír, přičemž je princip u papírové i tenkovrstvé chromatografie (TLC – thin layer chromatography) je podobný. [49] Původně se obě metody označovaly jako plošná chromatografie (PC – Planar chromatography). Toto společné označení se příliš neujalo ze dvou důvodů. Prvním je fakt, že chromatografie na papíře se dnes již téměř nevyužívá a druhý problém je v již všeobecně známé zkratce PC, která je celosvětově známá jako „personal computer“, tedy osobní počítač. Všeobecnou konvencí bylo přijato, že dnes pojem TLC označuje všechny metody a jejich formy, které zahrnují manuální, poloautomatické operace na běžné, vysokoúčinné nebo jinak upravené tenké vrstvě. TLC byla dlouhá desetiletí přední metodou v chemické analýze s velmi dobrým využitím v praxi. Vrcholu zaznamenala TLC v momentu, kdy se začaly využívat již předpřipravené speciální tenké vrstvy. [50 s. 1]

TLC se volí tam, kde vzorky jsou netěkavé nebo mají nízkou těkavost; vzorky jsou silně polární, středně polární, nepolárního nebo iontového charakteru; pokud je třeba analyzovat velké množství vzorků současně, levně a ve velmi krátkém časovém úseku; analyzované vzorky by mohly poškodit kolonu u kapalinové chromatografie nebo plynové chromatografie; použité rozpouštědlo by mohlo poškodit výplň kolony; analýza pomocí kapalinové nebo plynové chromatografie není proveditelná nebo jen s malou detekční schopností; pokud je potřeba sledovat všechny komponenty, ať již zůstanou na startu nebo se posunují směrem k čelu; pokud je potřeba každou oddělenou složku vzorku zvlášť dále analyzovat (především v případě drogového screeningu); je analýza prováděna v nedostupnosti zdroje elektřiny. Na základě těchto požadavků vyplývají oblasti, ve kterých se TLC hojně využívá. Farmaceutický průmysl takto kontroluje čistotu svých produktů, určuje, o které se jedná a stanovuje koncentrace aktivních složek léků. Klinická chemie, forenzní chemie a biochemie určuje aktivní metabolity v biologických procesech, při diagnóze metabolických poruch (například fenylketonurie, cystinurie, nemoc

javorového sirupu u novorozenců). Kosmetický průmysl využívá této metody při výrobě barev na vlasy, prezervativů, povrchově aktivních látek, mastných kyselin a součástí parfémů. Potravinářský průmysl potřebuje analyzovat pesticidy ve vodě, rezidua v zelenině a mase, zakázaná aditiva v potravinách. Při ochraně životního prostředí se analyzují podzemní vody, určují se polévaté částice nebo rozpadové produkty z azobarviv použitých v textilním odvětví. V následujícím grafu je vidět přibližné rozložení využití TLC v různých odvětvích v letech 1993 až 1994 (**Graf 2**).

Mechanismus spočívá v tom, že při průchodu rozpouštědla papírem, nebo vrstvou u tenkovrstvé chromatografie, dochází k oddělení (separaci látek). Na tenkou vrstvu je potřeba zanechat místa, kde jsou aplikovány vzorky, které chceme rozdělit. Po odpaření rozpouštědla tuto vrstvu vložíme do chromatografické komory. Zde je nezbytné, aby byla komora nasycena parami stacionární i mobilní fáze. Celá metoda spočívá v tom, že stacionární fáze je pevně poutána na vrstvě a mobilní fáze protéká skrze ni a unáší jednotlivé složky zkoumaného vzorku různou rychlostí. To, jak rychle se nechá unášet daná složka, je dáno její distribuční konstantou, která vyplývá z Nernstova rozdělovacího zákona (**Rovnice 3**), ve které $[A]_s$ je koncentrace látky ve stacionární fázi a $[A]_m$ je koncentrace látky v mobilní fázi. Z této rovnice vyplývá, že K_D je se pohybuje nad a pod hodnotu 1. Čím je K_D menší, tím rychleji prostupuje látka danou vrstvou a naopak. Uspořádání aparatury tenkovrstvé chromatografie, případně chromatografie na papíře, může být v podobě sestupné anebo v podobě vzestupného vyvíjení (*Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.*). Možná jsou i jiná ne příliš častá uspořádání, kterými mohou být horizontální, radiální, opakované, frakcionované, dvourozměrné, vícerozměrné, vyvíjení na přetečení, tvarované papíry, vyvíjené v odstředivém poli nebo zcela jiné vyvíjení, dle specifik daného pracoviště. Vlastní komoru je možné zakoupit jako specializovaný laboratorní materiál. Ovšem pro laboratoře, které jsou méně finančně zajištěny, je možnost využít improvizace (zkumavka, dvě kádinky na sobě, akvária, květy, Petriho misky, exsikátory, prachovnice nebo dokonce i zavařovací sklenice od okurek). Zásadní je, aby takto sestavená komora minimalizovala úniky par rozpouštědla a zajistila možnost vyrovnání se koncentrací v uzavřeném systému, nebo se mu alespoň stav blížil. Existují tři označení přístupu k sycení komory: NS = normální sycení, při kterém se neprovádí žádné speciální kroky, CS = částečné sycení, které se provede například tím, že se do mobilní fáze částečně ponoří filtrační papír a S = úplné

sycení, které se provádí v komorách, ve kterých je minimalizován prostor mezi dvěma skly, mezi nimiž je umístěna vrstva. Po příslušné době se vyjme chromatogram z komory a označí se místa separovaných složek, čelo vyvíjení a případně další místa. Nejprve je nutné nechat vysušit mobilní fázi a následně můžeme provést detekci. Aby měla celá metoda úspěch, je třeba zvolit takovou stacionární fázi, která je vhodná k mobilní fázi. Takto dobře zvolená media zajistí, aby se distribuční konstanty hledaných složek od sebe dostatečně lišily a mohlo tak dojít k jejich rozdělení v průběhu separace. [42 s. 12–13, 17–23, 46–48, 48 s. 51–54, 49]

Chromatografický papír je čistý celulózový papír, který je vyroben z lintersových vláken, což znamená, že se vyrábí z bavlněných zbytků. Papír je náchylný na vnější podmínky a musí se odborně skladovat, aby se vyloučila interakce se vzdušnou vlhkostí nebo zachycení látek ze vzduchu, které by mohli zkreslovat následná měření. Takovýto papír dovede absorbovat 5 až 20% vody (uvažováno v hmotnostních procentech). Existují také modifikované chromatografické papíry, jako příklad lze uvést acetylovaný (slouží dělení lipofilních látek) a papíry upravené pro iontovou výměnu. Základními vlastnostmi papíru jsou rychlost průtoku mobilní fáze; kapacita papíru a jeho mechanická pevnost; přítomnost stopových nečistot. Na rychlosti průtoku mobilní fáze závisí výsledek. Čím pomalejší průtok je, tím jsou výsledné skvrny ostřejší a lépe oddělené. Čím hůře dělitelné složky jsou, tím vhodnější je volit papír s pomalejším průtokem mobilní fáze. Papíry s vyšší kapacitou se volí tam, kde je třeba nanášet větší množství vzorků nebo se vlastní papír impregnuje vodnými roztoky anorganických solí nebo roztoky organických zakotvených fází v těkavých rozpouštědlech. V případě přítomnosti stopových nečistot, zejména aminokyselin, cukrů, tuků, látek kyselé povahy, hrozí významné riziko zkreslení výsledků měření. Především látky kyselé povahy u acidobazické detekce mohou hrát velkou roli. Běžné systému využívané v praxi jsou následující:

- **Voda** jako stacionární fáze + **organické rozpouštědlo** jako mobilní fáze. Může být zvolena soustava, která má stacionární fázi v podobě vody, která je pevně vázána na celulózu (nabývá charakteru gelu). Mobilní fázi v takové soustavě je povětšinou směs nižšího alkoholu (propanol, butanol) s vodou. Pokud jsou ve vzorku slabé kyseliny, slabé zásady nebo jejich soli, tak je třeba do mobilní fáze přidat třetí složku, která potlačí hydrolyzu a podpoří nebo

potlačí disociaci. Zde se většinou používá amoniak (koncentrovaný), kyselina octová (25%), kyselina chlorovodíková (koncentrovaná).

- **Polární organická rozpouštědla** jako stacionární fáze + **směsi nerozpustné** v těchto polárních organických rozpouštědlech jako mobilní fáze. Vhodnými organickými rozpouštědly jsou zde formamid, dimethylformamid, ethylenglykolmonoacetát nebo dimethylsulfoxid. Ty jsou doplněny mobilní fází v podobě hexanu, cyklohexanu, benzenu, toluenu, chloridu uhličitého, diisopropyletheru, ethylacetátu nebo chloroformu.
- **Nepolární organické látky** jako stacionární fáze + **polární organická rozpouštědla** jako mobilní fáze. Také nazýváno jako soustava s obrácenou fází⁶, což je zřejmé, pokud ji porovnáte s výše zmíněnou předchozí soustavou. Vhodnými nepolárními organickými látkami jsou parafinový olej, petrolej, silikonové oleje, dodekanol (laurylalkohol), oktylalkohol, 1-bromnaftalen. Za organická rozpouštědla, která jsou polární, se často využívají roztoky methanolu, ethanolu, ecetonu, acetonitrilu, kyseliny octové, ledová kyselina octová, formamidu nebo dimethylformamidu. [42 s. 13–14, 23–26, 49]

Tenká vrstva je většinou v podobě silikagelu, oxidu hlinitého křemeliny, škrobu, práškového polyamidu, celulosy, acetylované celulosy, měničů iontů, různých pórovitých a organických polymerů, gely. Důležitá je zde velikost zrn a jejich pórovitost, která se pohybuje v rozmezí od 30 do 50 μm . Nejmenší částice se používají u HPTLC (vysokoúčinná tenkovrstvá chromatografie; High-performance thin-layer Chromatography), která umožňuje mnohokrát více vzorků než konvekčním postupem a vzorky jsou zde nanášeny pomocí platiniridiových kapilár ($25 \times 10^{-9}\text{l}$) nebo pomocí mikrometrických stříkaček. Pórovitosti je hlavní vlastnost takzvaných molekulových sít. Další důležitou vlastností je aktivita. Ta se týká především silikagelu a oxidu hlinitého. Tu lze zvýšit zahřátím vrstvy nebo naopak snížit zchlazením. Čím vyšší aktivita, tak tím více poutá daná vrstva látky, proto je třeba zajistit vyšší aktivitu u méně polárních sloučenin. Rozdíl v použití tenké vrstvy od papíru je poměrně malý. Zásadní je především to, že vše s vyvíjením spojené je mnohokrát menší a vrstva se liší od papíru v tom, že se jedná o podložku (skleněná

⁶ V obrácené fázi dochází k opačnému pořadí separace složek vzorku v rámci chromatogramu. Nejmenší retardační faktor zde mají látky, které jsou nejméně polární. [49]

deska, hliníková fólie, plastová fólie) a na které je umístěn sorbent stacionární fáze. V minulosti se tyto vrstvy připravovaly v laboratořích, ale dnes se prakticky bez výjimky kupují hotové (hydrofobizovaný silikagel, chirální tenké vrstvy).

- Látky rozpustné v organických rozpouštědlech jsou většinou děleny pomocí silikagelu (neutrální, kyselé látky) nebo oxidu hlinitého (neutrální, zásadité látky). Jako mobilní fáze se používají různé nepolární lipofilní rozpouštědla: parafinový olej, hexan, cyklohexan, chlorid uhličitý, benzen, dichlormethan, chloroform, diethylether, butan-1-ol, pyridin, aceton nebo propanol.
- Látky rozpustné ve vodě jsou většinou děleny pomocí práškového polyamidu (práškové celulózy). Za mobilní fázi se dá zvolit kyselina octová, methanol, voda, formamid. [42 s. 32–43, 48–49, 51]

Nanášení na tenkou vrstvu nebo na chromatografický papír se provádí následovně. Je třeba zvolit vhodnou velikost média. V dnešní době je možné zakoupit potřebné velikosti nebo je možné z větších celků oddělit potřebný rozměr. Zvláště u tenkých vrstev existují speciální nářadí k rozdělení vrstvy bez rizika poškození stacionární fáze, ale lze s dávkou opatrnosti vrstvu rozdělit i za pomoci obyčejných ostrých nůžek [52 s. 29–30]. Minimální vzdálenost dráhy chromatogramu je většinou 10 cm. Vzorky by měly být nanášeny 2 cm od okraje a mezi nimi samotnými by měla být vzdálenost alespoň 1,5 cm. Místo, kde se bude nanášet vzorek, se označí čarou, kterou nazýváme start. Po dokončení vyvíjení se označí čarou místo, kam došlo rozpouštědlo a tato druhá čára se nazývá čelem chromatogramu. Start chromatogramu nesmí být ponořen v rozpouštědle a čelo chromatogramu nesmí přesáhnout horní okraj vrstvy nebo papíru. Ideálně by měla tato vrstva být vyjmuta při dosažení 0,5 cm od horního okraje. Na vrstvu se nanáší přibližně 2 až 20 μl s koncentrací 0,1 až 5 %. Nanášení se provádí mikropipetami nebo mikrokapilárami. Ty lze zakoupit nebo si je vyrobit v laboratoři tažením skleněné trubičky nad kahanem a následným odlomením konce [48 s. 50]. Nanesený vzorek je třeba nechat důkladně zbavit rozpouštědla, ve kterém byl připraven roztok pro nanesení. U dobře těkavých rozpouštědel postačuje počkat, u méně těkavých rozpouštědel je vhodné použít proud teplého vzduchu nebo infračervené osvětlení. I zde je třeba brát v potaz, že takové vysoušení může vést k poškození stacionární fáze vrstvy nebo degradaci vzorku. U tenké vrstvy je třeba k nanášení přistupovat ještě mnohem

pečlivěji než u papíru, protože tenká vrstva je mnohem více citlivá. V případě nanesení příliš velkého množství vzorku dochází k tomu, že se výsledná skvrna táhne od startu více či méně a nevytváří požadovaný ohraničený kruhovitý tvar. [42 s. 15–23, 43–48]

V okamžiku kdy je chromatogram plně k dispozici, je třeba provést detekci. Existují tři základní způsoby detekce. Prvním z nich je fyzikální způsob detekce, který spočívá ve využití viditelného, ultrafialového nebo infračerveného světla, které dopadá na chromatogram. Pozorovatel tak může sledovat vzniklé výsledky na základě charakteru separovaných složek vzorku. Některé látky samy projevují fluorescenční vlastnosti s typickým barevným odstínem nebo jsou přímo barevné, jiné látky naopak fluorescenci zhášejí. Zhášení fluorescence je možné zvýraznit slabým roztokem fluoreskující látky. Některé tenké vrstvy v sobě obsahují fluorescenční indikátor a tím významně usnadňují detekci. Druhou možností detekce je využití chemických metod, ve kterých je na chromatogram aplikováno vhodné detekční čidlo, které vyvolá barevnou reakci. Tato aplikace se provádí buď jemným postříkem, protažením parami nebo namočením. Jako detekční činidla se často využívají kyselina dusičná, kyselina sírová, roztok dichromanu sodného nebo manganistanu draselného. Tenká vrstva je odolnější a na rozdíl od papíru toto snese. Nejzákladnější detekcí je postřík nebo vystavení par v uzavřeném prostoru 1% roztokem jodu v ethanolu. Výhodou jodové detekce je to, že po čase jod z vrstvy opět vyprchá. Po tomto kroku se většinou vrstva vysouší. Zde je třeba být na pozoru, aby nedošlo ke zničení vrstvy karbonizací při přílišné teplotě. Třetí okruh metod detekce zahrnuje všechny nezmíněné možnosti. Mezi ně patří například detekce za využití růstu mikroorganismů. Toho se dá využít například při separaci antibiotik. Při kultivaci kolonie dojde v místech očekávaného léčiva k potlačení růstu. Další možností je postříkat chromatogram roztokem škrobu a po určité době roztokem jodu. Pokud došlo k rozkladu škrobu bakteriemi, tak v těchto místech nedojde k barevné reakci. Dále jsou okrajově používány jiné metody, vyplývající ze specifických vlastností separovaných složek. Jako příklad lze uvést látky bránící korozi. K nim se přitiskne korodující materiál, a pokud dojde k potlačení koroze, tak je látka identifikována. [42 s. 27–28, 48 s. 54–58, 49]

Při prvním pohledu na chromatogram sledujeme tvar a umístění jednotlivých skvrn. Ideální je skvrna kruhovitá a ostře ohraničená. Při vysokém R_F se více projevuje

difúze do stran a výsledná skvrna nabývá na svém průměru. Některé atypické tvary skvrn jsou ovšem zcela v pořádku a jsou typické pro určité typy sloučenin (**Obrázek 12**). Hodnocení chromatogramu může být kvalitativní nebo kvantitativní. V některých případech lze použít chromatografii, především tu na papíře, k preparativnímu dělení, a tak získávání čistých složek ze směsi. **Kvalitativní hodnocení** využívá především polohy separované složky na chromatogramu, která je měřena moci retardačního faktoru (R_F) a chování dané složky při detekci, jako jsou například zbarvení skvrny nebo fluorescence. Kvantitativní hodnocení může probíhat buďto nepřímým postupem nebo přímým postupem. Nepřímý postup znamená, že nejprve je provedena extrakce látky z vrstvy samotné. Následně je získaná látka sledována spektrofotometricky v ultrafialovém, viditelném, případně infračerveném světle. Přímé hodnocení probíhá ihned na vrstvě pomocí denzitometrického měření hustoty a plochy skvrny, případně přímou fluorimetrií⁷. **Kvantitativní hodnocení** je složitější a často ho provází řada chyb měření. Možnosti jak hodnotit množství separované látky jsou: vizuální hodnocení tmavosti a velikosti skvrn; přístrojové hodnocení tmavosti a velikosti skvrn; spektrofotometrické porovnávání se standardem; planimetrie (změření obsahu skvrny); zvážení vystřižené skvrny na vrstvě; analýza po eluci, při které se extrahuje separovaná látka z vrstvy a dále se hodnotí. Na vlastní chromatogram se píše měkkou obyčejnou tužkou, aby nedošlo k poškození vlastní vrstvy. Takto vyhodnocený a popsáný chromatogram je sám nejlepším uchovatelem dané informace. Je ho ovšem třeba uchovávat v dostatečně vhodném prostředí, které brání poškození. V některých případech je možné chromatogram impregnovat rychleschnoucím bezbarvým lakem pro vyšší trvanlivost. Chromatogram je možné překreslit do laboratorního deníku nebo ho vyfotografovat. Databáze všech výsledků a její systematické třídění je typické pro každé laboratorní pracoviště. V dnešní době existují již přístroje, které celý proces od přípravy vzorků, až po uložení chromatogramu do databáze provádí automatizovaně. [42 s. 30–31, 55–56, 62–68, 48 s. 58–71, 49]

⁷ Metoda detekce i minimálního množství přítomnosti látky. V případě ozáření zjišťovaná látka ta sama začne vydávat záření, které můžeme detekovat. [192]

2.3.1 Retardační faktor

Retardační faktor (R_F), též někdy označován jako retenční faktor [53], je mezi jednotlivými složkami oddělenými pomocí TLC porovnatelný parametr, který je vyjádřený podílem mezi vzdáleností separované složky od startu (Z_S) a vzdáleností startu a čela chromatogramu ($Z_F - Z_0$) (**Rovnice 1**). Rychlost postupu složky vzorku tenkou vrstvou nebo papírem je charakteristická a určuje výslednou polohu skvrny na chromatogramu. Je třeba mít ovšem na paměti, že toto platí pouze za striktního dodržení stejných laboratorních podmínek (teplota, změny ve složení mobilní fáze, chyby v přípravě, stárnutí roztoku, obsah zakotvení fáze v papíře nebo tenké vrstvě, vzdálenost startu a hladiny rozpouštědla, druh papíru nebo tenké vrstvy, stupeň sycení vyvíjecí komory, způsob vyvíjení, přítomnost dalších látek, aktivita tenké vrstvy, tloušťka vrstvy, délka dráhy vzorku, hladina rozpouštědla, velikost a tvar komory, impregnace vrstvy a mnoho dalších proměnných). To ovšem v běžné praxi je zcela vyloučeno. Problém není v případě chemicky podobných složek, které v případě změny vnějších podmínek mění R_F ve vzájemných poměrech a tím je zachována jistá reprezentovatelnost výsledků. Pokud se ovšem jedná o látky různého charakteru, tak může v určitých situacích dojít i k převrácení pořadí skvrn na výsledném chromatogramu! Proto nelze R_F dané látky považovat za konstantu. Tento faktor nám navíc nedává žádné další informace o tom, jaký proces probíhal na úrovni chromatografie, ale pouze poziční umístění dané složky. Jeho hodnota se pohybuje v uzavřeném intervalu od 0⁸ až 1. Jeho hodnota pro vzorky by se měla pohybovat v rozmezí 0,30 až 0,70. Tento faktor vychází většinou v desetinných číslech, tak byla pro jeho přehlednější zobrazení zavedena veličina hR_F , která vyjadřuje stonásobek R_F . Tato upravená hodnota se pohybuje v rozmezí celých čísel od 0 až 100. Vzhledem k velkému využití počítačových programů při vyhodnocování chromatografie se začala tato veličina užívat v podobě pro záznam jednodušší hR_F , aniž by se „f“ dávalo do dolního indexu. Nejedná se tedy v textech, ve kterých se s tímto výrazem dá setkat, o chybu, nýbrž o konvenci. Vzhledem k tomu, že vznikají různě velké skvrny složek separovaných na základě TLC, tak se tato vzdálenost horního okraje a dolního okraje skvrny označuje jako rozpětí skvrny, případně jako hR_F rozpětí. Pro možnost porovnávat jednotlivé chromatogramy mezi sebou byl

⁸ V případě $R_F = 0$ by znamenalo, že se daná složka neodchýlila od startu chromatogramu, takže nelze zcela jistě říci, zda došlo k separaci ze směsi nebo těchto složek zde zůstalo více.

zaveden takzvaný standardní retardační faktor R_{st} , který se vypočte jako podíl vzdálenosti vzorku od startu a vzdálenosti standardu od startu (**Rovnice 2**). Používání této hodnoty se ovšem neosvědčilo v praxi a je zde většinou využití porovnání pomocí hR_F [54 s. 65]. Spíše se v praxi dá lépe využít porovnávání pomocí vnitřních standardů na chromatogramu. To se provede tak, že jsou zvoleny nejčastěji se vyskytující skvrny v průběhu celého rozložení od startu k čelu a ty jsou zvoleny jako vnitřní standard pro každé měření. Všechny výše zmíněné vzdálenosti jsou souhrnně vyobrazeny na následujícím schématu (**Obrázek 11**). Prakticky těžce v dnešní době použitelnou hodnotou je logaritmický retardační faktor R_M (**Rovnice 4**), který umožňuje pro strukturálně podobné sloučeniny s homologickými přírůstků dopočítat hodnotu R_F . Zde ovšem existuje i řada výjimek a hodnoty se doporučuje počítat jen v rozmezí retardačního faktoru od 0,20 do 0,75. [42 s. 29–30, 54–55, 58, 68–74, 50 s. 4–7, 55 s. 127]

2.3.2 Další pojmy a parametry vztahující se k TLC

Rozpouštědlo označuje v TLC vyvíjecí látku nebo směs, která je hnací silou pro separaci na tenké vrstvě nebo chromatografickém papíru, také označováno jako mobilní fáze nebo eluent. **Migrační vzdálenost** je vzdálenost středu vzniklé skvrny na chromatogramu od startu, někdy také označována jako vzdálenost doběhu, výška doběhu, vyvíjecí vzdálenost. **Vyvíjecí čas** je čas, po který probíhá separace od vložení tenké vrstvy nebo chromatografického papíru do rozpouštědla po konečnou separaci. **Derivatizační činidlo** je jiné označení pro detekční činidlo [56], které slouží k detekci separované složky na chromatogramu. **Fluorescenční zhášení** (quenching [57]) nastává v momentu, pokud tenká vrstva obsahuje UV-aktivní komponenty, které způsobí, že separované složky, které by byly fluorescenčně aktivní, jsou vidět jako černé nebo tmavé skvrny na světlém pozadí. **Efektivita separace** vyjadřuje, jak úspěšně došlo k separaci směsi v dané soustavě TLC. Pokud je rozptyl skvrn malý nebo jsou přes sebe, znamená to, že efektivita separace byla nízká a obráceně. **Selektivita** znamená v případě TLC to, jakým způsobem a jak silně dochází k interakci mezi vzorkem a stacionární fází (ΔhR_F) ve zvolené TLC soustavě. [50 s. 7]

2.3.3 Využití TLC pro analýzu léčiv

Analýza léčiv je velmi široké téma, které zahrnuje například identifikaci léčiva, určení konformity, kontrolu kvality výroby, kvantitativní zhodnocení, rozkladové studie, analýzu cizích příměsí, škodlivých látek, toxinů, pesticidů a mnoho dalšího. Tato práce se zabývá pouze základní didakticky vhodnou analýzou vybraných léčiv pomocí tenkovrstvé chromatografie, přičemž je zaměřeno na účinné látky v nich. U podobných analýz v laboratorním prostředí se většinou používají dvou až čtyřkomponentní mobilní fáze, které často zahrnují vysoce toxické látky, například chloroform. V této kapitole bude pojednáno o využití tenkovrstvé chromatografie při analýze léčiv právě se zaměřením na aktivní složky s ohledem na přídatné látky v léčivech. Při analýze se běžně využívají rozdílné mechanismy separace na tenké vrstvě dle typu rozpouštědla a typu vrstvy. Následná identifikace může být založena na vizuální stránce, přirozené barvě, fluorescenci nebo barevných změnách po impregnaci vrstvy. Hlavní výhodou, proč je tenkovrstvá chromatografie stále tak oblíbenou metodou je to, že se jedná o metodu finančně nenáročnou, na rozdíl od mnoha jiných nevyžaduje žádné rozsáhlé vybavení a je jí v podstatě možné provádět v jakékoliv laboratoři na této planetě. K největšímu rozvoji došlo se zavedením okolo roku 1975 HPTLC a hmotnostní spektrometrie. [52 s. 3, 7, 26, 55 s. 131, 58]

Vztah závislosti mezi strukturou a retencí vzorku se označuje jako QSRR model (kvantitativní strukturně-retenční vztah; quantitative structure-retention relationship) a popisuje vztah mezi chemickou strukturou analytu a jeho retencí při chromatografování. V roce 2000 sestavili vědci, na základě v té době dostupných údajů, přehled této závislosti zhruba pro 1800 sloučenin. V dnešní době existují počítačové programy, které toto dovedou na základě komplikovaných matematických vztahů vypočítat. Mezi základní parametry patří počet uhlíků v molekule; molární hmotnost; polarizovatelnost; existence Van der Waalsových sil; rozpustnost; celková energie; geometrie molekuly; pKa; teplota tání, teplota varu; dipólový moment a mnoho dalších. Počet parametrů je ze své podstaty nekonečný. [52 s. 11–14]

V analýze léčiv se dnes vždy využívají komerčně dostupné a vyráběné tenké vrstvy. Původně po domácku připravované vrstvy v laboratořích se dnes již prakticky nevyplatí ani po finanční stránce a navíc mohou vykazovat nepřesnosti při měření,

kteře jsou v pŕípadě lěčiv zásadní. Jako základní deska se u vrstev používá borosilikátové sklo, o poznání lehčí hliník (díky tomu získal prvenství v screeningových metodách) nebo polymerní polytereftalát. Většina sorbentů vyžaduje použití další látky, která by je poutala k zmíněné základní desce. Klasicky se k tomuto používala sádra (G⁹ vrstvy) nebo hemihydrát síranu vápenatého. Takto pŕipravené vrstvy vyžadují velkou opatrnost pŕi manipulaci s nimi. Byly vynalezeny ale také vrstvy, které žádnou vaznou látku neobsahují (H¹⁰ vrstvy), ale i zde se jedná o velice křehké vrstvy. V polovině 60. let 20. století se začaly pŕipravovat vrstvy s polymerními vazebnými složkami (polyvinylalkohol nebo polyvinylpyrolidon), které byly navrženy tak, aby byly co nejvíce inertní. Ač bylo vytvořeno k dnešním dnům mnoho nových typů vrstev, tak farmaceutické společnosti, které lěčiva testují, setrvávají na klasických vrstvách typu G a H. Vrstvy dnes běžně obsahují fluorescenční indikátory, kterými jsou nejčastěji pro UV 254 (alkalický zemní wolfram, který je stabilní v kyselinách a dává bílé světlo; hořčíkem aktivovaný silikát zinku, který není stabilní v kyselinách a dává zelené světlo). Pŕi analýze lěčiv se běžně využívá schopnosti látek, které mají ve své chemické struktuře dvojité vazby nebo aromatický kruh, zhaset fluorescenci. Tím na místech, kde se vyskytují na chromatogramu, vznikají tmavé skvrny. [52 s. 23–25] Metodu lze provádět plně manuálně, což je na jedné straně určitě výhoda, ale pŕi větším množství opakujících se vzorků to není ideální řešení. V dnešní době proto existuje mnoho polomanuálních zařizení, až po plně automatizované stroje, které provedou i vlastní datové zpracování výsledků. [52 s. 131–146] Pŕevedení výsledků do počítačových dat je jeden z nejzásadnějších kroků pŕi farmaceutické analýze lěčiv. Existují čtyři systémy na trhu pro kvantitativní vyhodnocení výsledků tenkovrstvé chromatografie skener s jednou délkou vlny, skener s diodovým polem, kamera se zařizemím s vázanými náboji (CCD – charge-coupled device) a plochý skener. [52 s. 171] K detekci a identifikaci analytů se používají metody a postupy tak, jak jsou typické pro tenkovrstvou chromatografii, od fyzikálních, pŕes chemické až biologické. Sumarizace těchto metod využívaných pŕi analýze lěčiv je na obrázku (**Obrázek 13**). [52 s. 194] Ve vyspělých zemích se pro pŕípravu a kontrolu lěčiv využívá vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Ta s sebou nese vysoké náklady na

⁹ Anglicky sádry „gypsum“.

¹⁰ Anglicky vysoce čisté „high purity“.

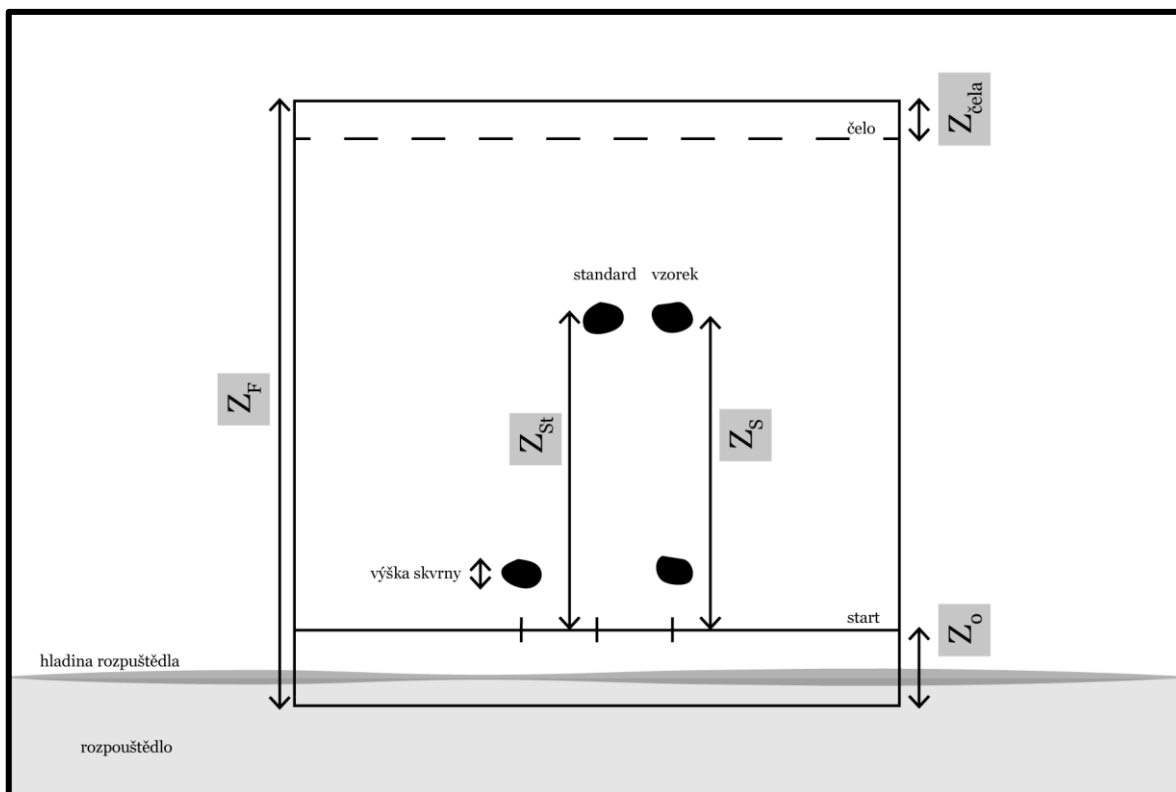
vybavení a pořízení zařízení a také potřebu zkušeného a vysoce vzdělaného personálu. I když jsou takto získané výsledky vyšší kvality, tak v rozvojových zemích je kvalita získaná prací s tenkovrstvou chromatografií dostačující. V roce 1989 publikoval Paul Flinn a další jeho spolupracovníci metodu pro rychlou analýzu léčiv pomocí tenkovrstvé chromatografie, která měla za cíl zhodnotit kvalitu léčiv bez možnosti využít laboratoř. Metoda po dalších vylepšeních získala název Speedy TLC Kit [59] Na základě tohoto byl v roce 1997 na trh uveden Německým farmaceutickým zdravotním fondem, dnes světový (GPHF – Global Pharma Health Fund), Minilab jako zařízení pro rozvojové země. Ten nevyžaduje ke své funkci ani laboratoř, ani přístup k elektrické energii. V následujících letech se zařízení rozšířilo do více než 80¹¹ málo rozvinutých zemí světa. Zařízení tak dalo šanci lidem v těchto zemích se bránit přílivu falešných léčiv, která zaplavují zdejší trhy. [52 s. 248–263]

Analýza léčiv může probíhat také v kriminalistice při zabavení látek, které je třeba identifikovat. V tomto oboru rychlost a jednoduchost metody hraje primární úlohu, protože je často třeba identifikovat bezprostředně v terénu. V tomto ohledu byly vynalezeny systémy zařízení, které využívají k extrakci mikroextrakci za pomoci ultrazvuku. [60–62] Analýzu pomocí TLC lze využít například i u drogově závislých na heroinu k identifikaci této návykové látky v moči. [63] Tenkovrstvá chromatografie umožňuje také provádět poměrně rychle, levně a kvalitně screeningové epidemiologické studie drogových závislostí. [64]

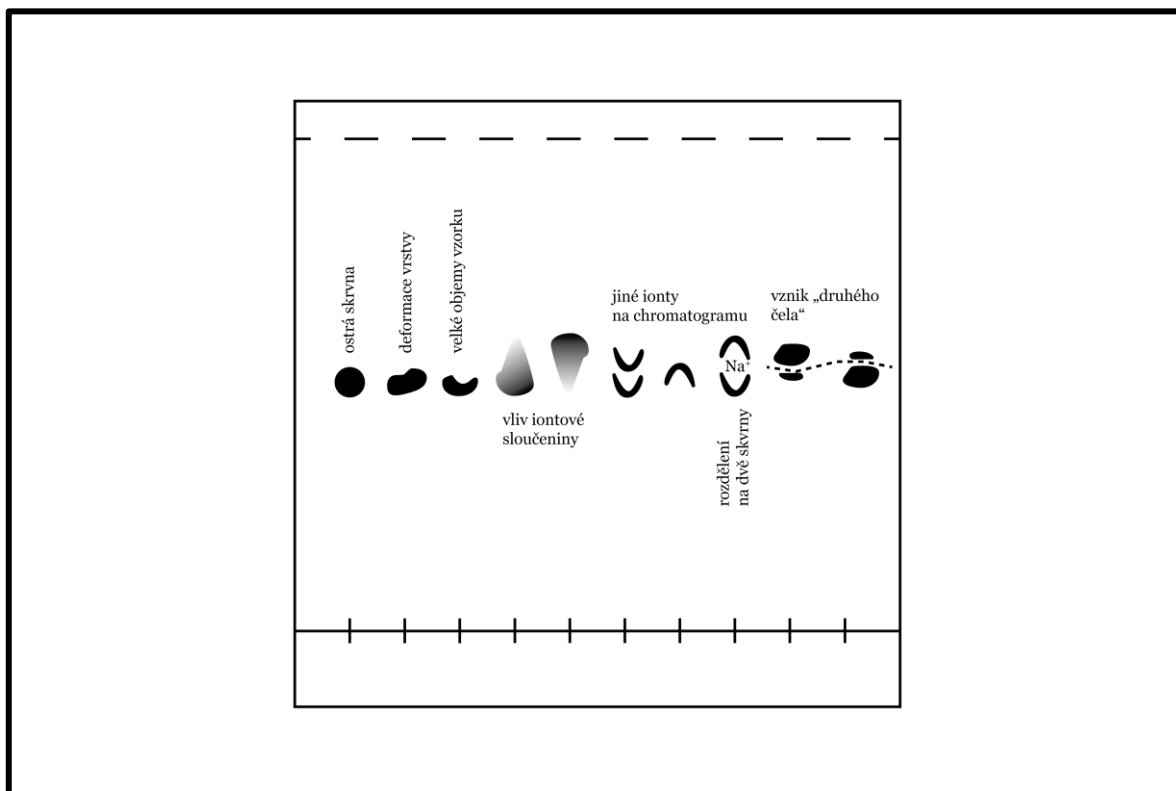
Při laboratorní tenkovrstvé chromatografii se většinou používají tenké vrstvy se silikagelem a fluorescenční detekční komponentou, jako mobilní fáze se využívá vody, methanolu, kyseliny octové, chloroformu, toluenu, amoniaku a dalších sloučenin. Tabulka s přehledem metod (**Tabulka 2**) užívaných při analýze analgetik-antipyretik tvoří výčet dostupný v literatuře. Existuje ovšem s jistotou mnoho dalších kombinací a méně či více složitých soustav, kterou jsou známy jen konkrétním laboratořím a nepublikují se.

¹¹ V roce 2018 se jedná o 97 zemí. [193]

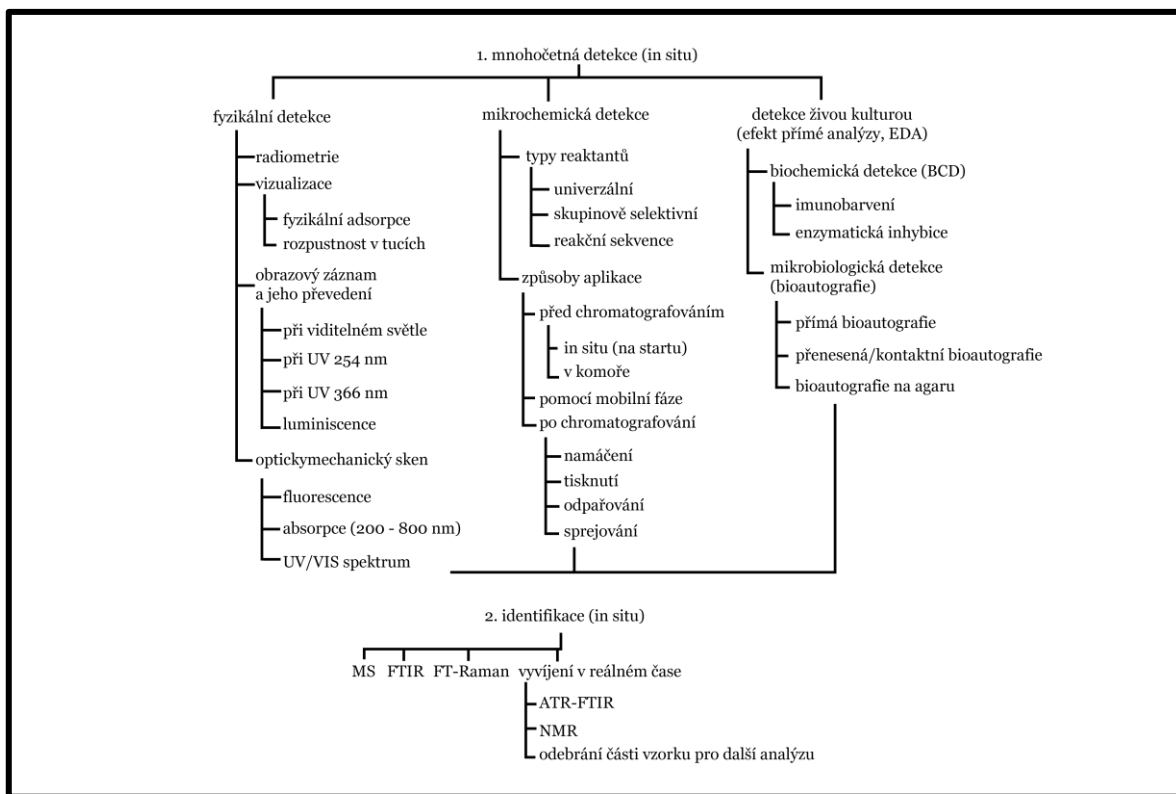
Obrázek 11 – Přehled vzdáleností na chromatogramu; inspirováno podle [50 s. 6]



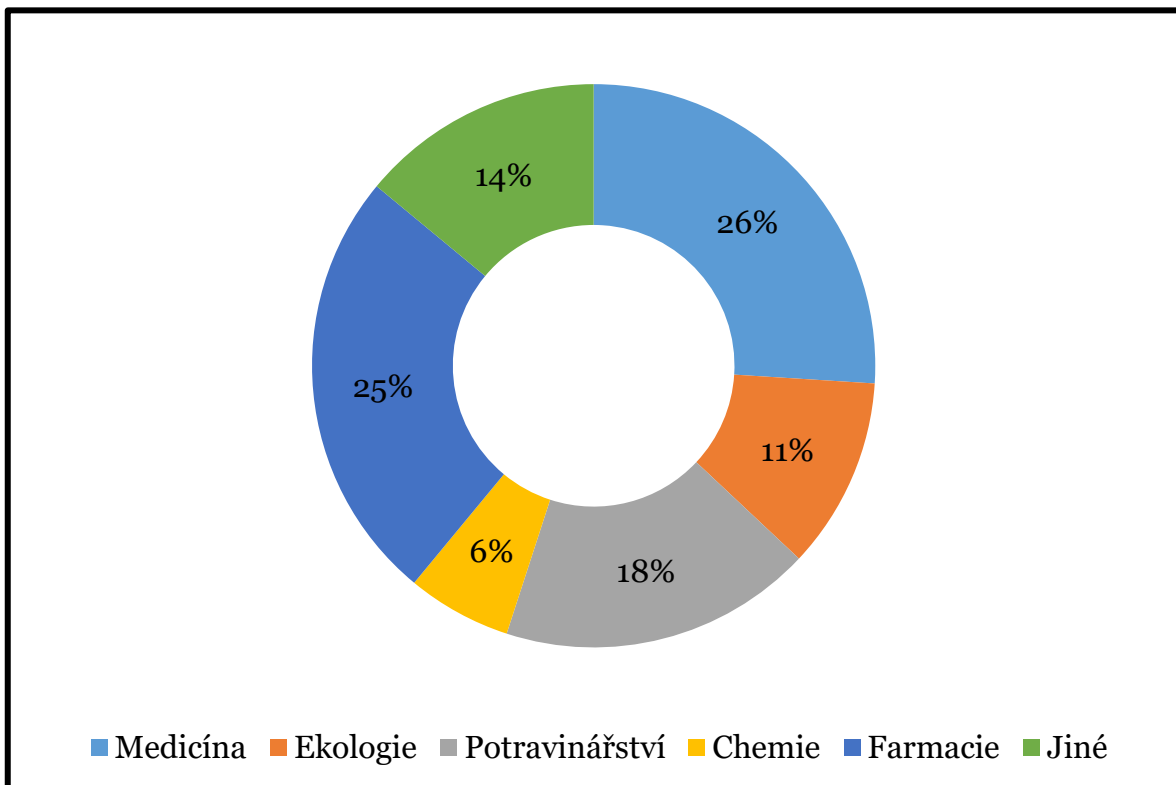
Obrázek 12 – Různost tvaru skvrn na chromatogramu; podle [42 s. 30]



Obrázek 13 – Detekce a identifikace TLC při analýze léčiv; podle [52 s. 194]



Graf 2 – Oblasti využití TLC v letech 1993 až 1994; podle [50 s. 4]



Rovnice 1 – Výpočet retardačního faktoru; podle [50 s. 4]

$$R_F = \frac{Z_{S(St)}}{Z_F - Z_0 - Z_{čela}}$$

Rovnice 2 – Výpočet standardního retardačního faktoru; podle [50 s. 5]

$$R_{St} = \frac{Z_S}{Z_{St}}$$

Rovnice 3 – Nernstův rozdělovací zákon; podle [42 s. 13]

$$K_D = \frac{[A]_S}{[A]_M}$$

Rovnice 4 – Logaritmický retardační faktor; podle [42 s. 69]

$$R_M = \log\left(\frac{1}{R_F} - 1\right)$$

Tabulka 2 – Vybrané soustavy TLC některých analgetik-antipyretik; podle [52 s. 339–344]

Léčivo	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Způsob detekce	Původní text
acetaminophen	TLC silikagel s detekcí v roztoku KI	ethylacetát, methanol, hydroxid amonný v poměru 24 : 3 : 1	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)	[65 s. 106–107]
aspirin	HPTLC silika gel 60 F ₂₅₄	n-butylether, n-hexan, kyselina octová v poměru 20 : 4 : 1	postřík detekčním činidlem	[66]
aspirin	HPTLC silika gel G 60 F _{254s} nanesenou 2% (w/v) kyselinou boritou v ethanolu	chloroform, methanol, amoniak, voda v poměru 120 : 75 : 2 : 6	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)	[67]
aspirin	RP-18W HPTLC F _{254S}	TLC and podtlaková elektrochromatografie (PPEC), acetonitril (15%) s pufovaným pH 3,8, acetonitril (60%) s pufovaným pH 3,8, polarizační potenciál 2,0 kV,	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)	[68]

Léčivo	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Způsob detekce	Původní text
		acetonitril (30%) s pufovaným pH 3,0, polarizační potenciál 1,5 kV		
Aspirin	TLC s fluorescenčním čínidlem	cyklohexan, eceton v poměru 40 : 50	UV ($\lambda =$ 366 nm)	[48 s. 165]
Aspirin	TLC s fluorescenčním čínidlem	cyklohexan, chloroform, ledová kyselina octová v poměru 40 : 50 : 10	UV ($\lambda =$ 366 nm)	[48 s. 165]
Aspirin	TLC s fluorescenčním čínidlem	cyklohexan, chloroform, pyridin v poměru 20 : 60 : 5	UV ($\lambda =$ 366 nm)	[48 s. 165]
Aspirin	TLC s fluorescenčním čínidlem	dimethylketon	UV ($\lambda =$ 366 nm)	[48 s. 165]
Aspirin	TLC s fluorescenčním čínidlem	hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm, 365 nm)	[69]
Aspirin	TLC s fluorescenčním čínidlem	hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 45 : 50 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm, 365 nm)	[69]
ibuprofen	HPTLC silika gel 60 F ₂₅₄	butanol, ethylacetát, ledová kyselina octová, voda v poměru 7 : 4 : 2 : 2	UV ($\lambda =$ 254 nm)	[70]
ibuprofen	HPTLC silika gel 60 F ₂₅₄	propanol, ethylacetát, amoniak, voda v poměru 4 : 3 : 2 : 1	UV ($\lambda =$ 254 nm)	[71]
ibuprofen	NP-TLC silika gel 60 F ₂₅₄	chloroform, methanol, amoniak (25%) v poměru 6,7 : 2,5 : 0,8	UV ($\lambda =$ 254 nm)	[72]
ibuprofen	NP-TLC silika gel 60 F ₂₅₄	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 15 : 5 : 0,7	UV ($\lambda =$ 200 nm)	[73]

Léčivo	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Způsob detekce	Původní text
ibuprofen	RP-18 F ₂₅₄	methanol, voda v poměru 9 : 1	UV ($\lambda = 224 \text{ nm}$)	[71]
ibuprofen	RP-2 F ₂₅₄ , RP-8 F _{254s} , RP-18, F _{254s}	methanol, voda v různých poměrech	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)	[74]
ibuprofen	RP-TLC	β -Cyklodextrin, methanol v poměru 15 : 1	UV ($\lambda = 222 \text{ nm}$)	[75]
ibuprofen	TLC silika gel 60 F ₂₅₄	toluen, ethylacetát, ledová kyselina octová v poměru 17 : 13 : 1	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)	[76]
kofein	TLC s AlO ₃	chloroform, ethanol, ledová kyselina octová v poměru 95 : 2,5 : 2,5	vodný roztok I ₂ a KI	[48 s. 161– 162]
kofein	TLC s AlO ₃	chloroform, cyklohexan, ledová kyselina octová, ethanol v poměru 80 : 10 : 5 : 5	vodný roztok I ₂ a KI	[48 s. 161– 162]
kofein	TLC s AlO ₃	benzen, ether, ledová kyselina octová, methanol v poměru 30 : 15 : 4,5 : 0,25	vodný roztok I ₂ a KI	[48 s. 161– 162]
kofein	TLC s AlO ₃	pentan, diizopropylether, ledová kyselina octová v poměru 60 : 40 : 5	vodný roztok I ₂ a KI	[48 s. 161– 162]
kofein	TLC s AlO ₃	benzen, 1,4-dioxan, ledová kyselina octová v poměru 70 : 26 : 4	vodný roztok I ₂ a KI	[48 s. 161– 162]
kofein	TLC s AlO ₃	benzen, methanol, ledová kyselina octová v poměru 40 : 5,5 : 4,5	vodný roztok I ₂ a KI	[48 s. 161– 162]

Léčivo	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Způsob detekce	Původní text
kofein	TLC s AlO ₃	benzen, 1,4-dioxan, ledová kyselina octová v poměru 90 : 25 : 4	vodný roztok I ₂ a KI	[48 s. 161–162]
kofein	TLC s AlO ₃	ethanol, voda, amoniak (25%) v poměru 25 : 3 : 0,25	vodný roztok I ₂ a KI	[48 s. 161–162]
NSAID	RP-TLC F _{254S}	voda, methanol, kyselina octová (50 mM), acetát sodný (nebo chlorid sodný)	UV (λ = 254 nm)	[77]
paracetamol	HPTLC silika gel 60 F ₂₅₄	toluen, 2-propanol, kyselina octová v poměru 8 : 1 : 1	UV (λ = 236 nm)	[78]
paracetamol	HPTLC silika gel 60 F ₂₅₄	toluen, aceton, methanol v poměru 8 : 1 : 1	UV (λ = 263 nm)	[79]
paracetamol	HPTLC silika gel 60 F ₂₅₄	n-hexan, ethylacetát, ledová kyselina octová v poměru 5 : 5 : 0,2	UV (λ = 223 nm)	[80]
paracetamol	HPTLC silika gel 60 F ₂₅₄	toluen, aceton, methanol, kyselina mravenčí v poměru 5 : 2 : 2 : 0,01	UV (λ = 274 nm)	[81]
paracetamol	HPTLC silika gel 60 F ₂₅₄	ethylacetát, methanol, toluen, ledová kyselina octová v poměru 7 : 2,5 : 1 : 0,5	UV (λ = 270 nm)	[82]
paracetamol aspirin	HPTLC silika gel F ₂₅₄	methanol, benzen, ethylacetát, ledová kyselina octová v poměru 0,36 : 5,6 : 4,0 : 0,04	UV (λ = 210 nm)	[83]
paracetamol	HPTLC silika gel G 60 F ₂₅₄	toluen, ethylacetát, kyselina octová v poměru 6 : 4 : 0,2	UV (λ = 256 nm)	[84]

Léčivo	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Způsob detekce	Původní text
paracetamol	RP-HPTLC-W18 F _{254S}	methanol, ledová kyselina octová, voda v poměru 25 : 4,3 : 70,7	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)	[85]
paracetamol	TLC s fluorescenčním činidlem	dimethylketon	UV ($\lambda = 366 \text{ nm}$)	[48 s. 165]
paracetamol	TLC s fluorescenčním činidlem	cyklohexan, eceton v poměru 40 : 50	UV ($\lambda = 366 \text{ nm}$)	[48 s. 165]
paracetamol	TLC s fluorescenčním činidlem	cyklohexan, chloroform, ledová kyselina octová v poměru 40 : 50 : 10	UV ($\lambda = 366 \text{ nm}$)	[48 s. 165]
paracetamol	TLC s fluorescenčním činidlem	cyklohexan, chloroform, pyridin v poměru 20 : 60 : 5	UV ($\lambda = 366 \text{ nm}$)	[48 s. 165]
paracetamol	TLC s fluorescenční čtecí deskou	n-hexan, ethylacetát, ethanol v poměru 2,5 : 1,5 : 0,4	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)	[86]
tableta s kyselinou acetylsalicylovou	TLC silikagel F ₂₅₄	toluen, ethylacetát, kyselina octová v poměru 17 : 13 : 1	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)	[65 s. 11–12]

2.4 Léčiva a tenkovrstvá chromatografie ve výuce

2.4.1 Výuková aplikace na ZŠ, SŠ a VŠ

Téma tenkovrstvé chromatografie se vyskytuje především v rámci některých závěrečných prací zaměřených na chromatografii ve výuce chemie (chromatografie na křídě, papírová chromatografie s filtračním papírem, chromatografie na silufolu, chromatografie na kruhovém filtračním papíru, chromatografie na pruhu bavlněné látky, chromatografie kávových filtrů spojená s výrobou motýlů, chromatografie inkoustů do plnicích per, identifikace methyloranže, thymolftaleinu, methylčerveně a thymolové modři, barviva z lentilek, barvy na vajíčka, chromatografie rostlinných barviv, chromatografie bezbarvé směsi ...), které staví tyto metody na učebnicích chemie pro základní, střední a vysoké školy. Literatura, ve které je dostupné téma plošné tenkovrstvé chromatografie ve výuce chemie:

- Analytická separace látek (Churáček 1990)
- Bibliografie papírové chromatografie a přehled použití (Macek 1960)
- Bioorganická chemie (Vodrážka 1991)
- Demonstrace reakcí anilinu s využitím tenkovrstvé chromatografie (Kolář 1995)
- Chemie 8: příručka učitele: pro základní školy a víceletá gymnázia (Doulík 2006)
- Chemie pro 8. ročník základní školy a nižší ročníky víceletých gymnázií I: s komentářem pro učitele (Karger 1999)
- Chemie pro střední školy 1a (Eisner 1996, překlad Kratochvíl)
- Chemie pro střední školy - 2b (Amann 2000, překlad Svoboda 2000)
- Chromatografia na tenkých vrstvách vo farmácii a v klinickej biochémií (Šaršúnová 1977)
- Chromatografické dělení rostlinných barviv (Geraskina 1982)
- Chromatografické metody (Šimek 1972)
- Inspirace z českého lékopisu pro praktickou výuku chemie na střední škole (Mašláňová 2017)
- Laboratorní cvičení k učebnici Chemie na každém kroku (Bílek 2000)
- Laboratorní technika (Fisher 2001)

- Laboratorní technika organické chemie (Kvíčala 1998)
- Laboratorní technika organické chemie (Keil 1963)
- Laboratorní technika pro 4. ročník gymnázií (Kozáková 1998)
- Papírová a tenkovrstvá chromatografie organických sloučenin. Laboratorní příručka (Gasparič 1981)
- Poznáváme chemii: učebnice pro základní školy a nižší ročníky víceletých gymnázií. 3. Sešit (Novotný 1996)
- Praktikum a analytické metody vo fyziologii rostlín (Erdelský 1979)
- Praktikum z organické chemie (Trnka 1989)
- Příručka laboratorních chromatografických metod (Mikeš 1961)
- Reakční chromatografie v organické analýze (Komárek 1989)
- „různé internetové zdroje a návody“
- Seminář a praktikum z chemie pro 2. stupeň základní školy (Klečková 2003)
- Separační metody v chemii (filtrace, destilace, extrakce, chromatografie, sublimace) (Akademie věd ČR 2015)
- Tenkovrstvá chromatografie ve výuce chemie (Kolář 1996)
- Vybrané laboratorní metody. Učebnice pro zdravotnické školy (Bilyk 1988)
- Základy chemie 1 (Pro 2. stupeň základní školy, nižší ročníky víceletých gymnázií a střední školy) (Beneš 1993) [87–92]

Analýzy jsou většinou zaměřeny na barviva různého druhu. Detekce se tedy provádí pouhým zrakem. Vyvíjení těchto soustav trvá většinou poměrně dost času.

Nejrozsáhlejší prací, která se věnuje čistě chromatografii na tenké vrstvě s ohledem na léčiva, je práce Školní chemické experimenty inspirované českým lékopisem od autorky Heleny Mašláňové. [93]

2.4.2 Projektově orientovaná výuka

Projektové vyučování je aplikace tvorby projektů do vzdělávacího systému školy. Projekt je sám o sobě v různých pohledech promyšlený a systematický postup s cíli, jakými mohou být tvorba něčeho, organizování, řešení a podobně. Ve školním prostředí tuto činnost můžeme modifikovat na tvorbu učebních pomůcek, organizaci besedy, prezentaci na zlepšení prostředí třídy. To vše se smyslel vytvářet nové hodnoty nebo vyřešit aktuální problémy. [94 s. 1] Projektová metoda výuky je

jednou z aktivizačních metod. Ty mají za přednost, že podněcují zájem o učení, podporují a rozvíjejí u žáků intenzivní myšlení, jednání a prožívání. To vše dohromady podporuje uvědomělé učení, samostatnost, flexibilitu a kreativní myšlení. [95 s. 57–59] Metoda projektového vyučování úzce koresponduje také s cíli základního vzdělávání v České republice. To by měli utvářet a postupně rozvíjet klíčové kompetence a poskytnout spolehlivý základ všeobecného vzdělávání zaměřeného především na život a reálné situace v něm. [96] Rozdíl v hodnocení projektového vyučování oproti běžnému vyučování je zásadní. Zde nejde na prvním místě o hodnocení žáka v jeho intelektuálních schopnostech, ale v popředí se staví jiné jeho kvality. Těmi mohou být pracovitost, zručnost, aktivita, pozitivní přístup, spolupráce, komunikace a samozřejmě mnoho dalších. Často se hodnotí průběh činnosti na rozdíl od běžného hodnocení konečných výsledků. [97 s. 14] Na první pohled by se mohlo zdát, že role učitele je nicotná a nepotřebná. Opak je ovšem pravdou. V projektovém vyučování je role učitele stejně významná, i když ji využívá jiným způsobem. Úloha učitele se odráží od předmětu výuky nebo věku žáků a je vždy velice komplexní. V obecné rovině by měl žákům asistovat učitel k tomu, aby hlouběji poznali to, co již vědí a získali schopnosti trvalého učení se během svého života. [98] Z toho by se mohlo zdát, že se jedná o výukový způsob, který je zcela nový a nikdy dříve nic podobného nebylo uplatňováno. Ovšem základy projektového vyučování jsou položeny již v pragmatické pedagogice v první polovině 20. století. Téma rozpracovali autoři John Dewey a William Kilpatrick, kteří usilovali o změny ve vzdělávání té doby. [99 s. 38–41]

Projektové vyučování by mělo splňovat náležitosti, kterými jsou: promyšlenost, organizovanost; spojení teorie a praxe; podmíněnost, komplexnost zadání; neexistuje jedno řešení; základní myšlenka; orientace na žáka; vyhovuje žákům; vyhovuje pedagogickému záměru učitele; učení zážitkem; odpovědnost na straně žáka; maximální zapojení žáků; nápady žáků na řešení; týmová práce; finální výsledek; učitel spíše konzultant a poradce; odlišnost od běžné výuky. [100 s. 4–5] To, jak hodně je projekt projektem, můžeme označit pojmem projektivita daného projektu. [101] Někdy dochází k záměnám s různými typy školních aktivit, především s badatelsky orientovanou výukou.

Chemický experiment je empirický postup, při kterém se sleduje vliv jedné veličiny (proměnná) na chování celého systému a ostatní veličiny se nemění (konstanty). To

nesplňuje edukační experiment (školní chemický experiment), protože v jeho případě minimálně tušíme, jak by měl proběhnout a sledujeme jím jiné cíle. Pokusy mohou provádět žáci. To je z dnešního pohledu legislativy a rizika pro pedagoga nerealizovatelné, pokud by se měly využívat chemikálie typické pro chemickou laboratoř. Pokusy žáků musí být bezpečné, jednoduché a názorné. Pokusy většinou dnes provádí pedagog, který musí dbát na to, aby byly demonstračně vhodné a materiálně zabezpečené. Specifickým pokusem je pokus laborační, při kterém se žák nebo student učí ovládat určitou laboratorní techniku, například se učí pipetovat. Následuje pokus aplikační, při kterém se předpokládá dovednost, která se využije v rámci pokusu. „Každý pokus je efektní, a když není, tak bychom se měli zamyslet. Každý pokus je pedagogicky efektivní, to jest, vzbuzuje zájem.“ [102]

2.5 Expirace léků

Datum expirace léků nelze zcela úplně definovat, co znamená. Jako nejlepší jeho definice by se mohlo zdát, že se jedná o datum založené na testování, po němž výrobce negarantuje plnou účinnost a bezpečnost. [103–105] Výrobci například uvádí, že se jedná o datum, po němž při správném skladování v neotevřeném výrobním obalu nebo otevřeném, ale netknutém, by neměly být léky dále použity. [106 s. 1] Expirace léků je taktéž ze své podstaty jiná a nesrovnatelná s trvanlivostí potravin. U kterých lze již při vizuální a čichové kontrole zjistit, že nejsou vhodné ke konzumaci. [107, 108] Pro nás znamená to, že po jeho vypršení lék nebude buďto bezpečný k užití nebo ztratí některé své schopnosti účinkovat. Každý by měl zkontrolovat dobu expirace před samotným užitím a léky řádně skladovat. Je zjevné, že na lék má vliv teplota (ponechání v horkém voze), vlhkost (je třeba v domě vybrat suché místo), sluneční světlo a uzavření obalu [103, 109, 110]. Na obalu léků může být uvedeno „expirace; datum expirace; expiruje; exp.; exp. datum; použitelné do; použijte před; a jiná podobná označení. Toto označení na lék zapisuje farmaceutická firma, která léky vyrábí nebo lékárník, který lék připravuje a prodává v lékárně. Existují dvě možná označení, která se liší v tom, jak jsou chápána s ohledem na poslední možný den, ve kterém může být lék ještě využit. Datum expirace znamená, že pokud je uveden duben roku, tak poslední den použitelnosti léku je v posledním dni udaného měsíce. Naproti tomu „použitelné do“ s uvedením měsíce znamená, že lék by neměl být již používán po posledním dni měsíce předcházejícího uvedenému měsíci. Toto označení je vždy kratší než označení data expirace a uvádí se při přebalení nebo vybalení léků z originálních výrobních obalů například při distribuci lékárnou [103]. Jeho délka je většinou jeden rok od přípravy nebo odpovídá datu expirace, podle toho, co končí dříve. [106 s. 3] Existují léky nebo léčiva s extrémně krátkou dobou expirace. Mezi ně patří například antikonvulzíva¹² (fenytoin, karbamazepin, lamotrigin, oxkarbazepin), dilantin, fenobarbital, nitroglycerin, warfarin, Procan SR, theofylin, digoxin, sodná sůl levothyroxinu, paraldehyd, některé orálně podávané antikoncepční léky, epinefrin, inzulin, individuálně připravované antibiotické směsi v lékárnách nebo oční kapky. [107, 111] Můžeme se také setkat s léky, které dobu expirace uvedenou nemají. Jedná se o léky, které jsou

¹² Vysvětlení pojmu – Jedná se o širší skupinu léků sloužících k léčbě a prevenci epileptických záchvatů. [194]

ve fázi výzkumu. [106 s. 2] Otázku expirace léků otevřela studie Ministerstva obrany Spojených států amerických, kterému hrozilo počátkem 90. let 20. století, že bude muset ročně utratit 100 milionů dolarů za výměnu léků za nové. Zásoby léků této země v té době byly v hodnotě 1 miliardy dolarů a vyvstávala otázka, co se bude dít do budoucna. Ministerstvo zadalo testování Úřadu pro kontrolu potravin a léčiv, který došel k závěrům, že z testovaných léků 90 % bylo 15 let po expiraci zcela v pořádku (například: ciprofloxacín hydrochloridové tablety, chlorpromazinové tablety, diazepam, cimetidin, phenytoin, tetracyklin, penicil). Hlavním tvůrcem této studie byl Francis Flaherty, který zdůrazňoval, že datum expirace neznamena nebo nenaznačuje, že by lék přestával být účinný nebo nebezpečný. Vedle toho říká, že farmaceutické společnosti stanovují toto datum spíše z marketingových důvodů než důvodů vědeckých, protože by pro ně nebylo příliš výhodné, aby lidé měli doma na polici léky s expirací deset let. Většina léků, až na některé výjimky (nitroglycerin, inzulin, některá tekutá antibiotika), jsou velmi odolnými, což bylo testováno pro armádní účely. To platí obzvláště při vhodném skladování. Naproti tomu farmaceutické společnosti kontují, že kratší doba expirace jim dává možnost léky rychleji na trhu měnit za nové varianty, které mohou mít vyšší účinnost. Navíc, pokud by se měly prodloužit doby expirace, bylo by nutné, aby byly prováděny další a další studie pro ověření, že jsou léky stále v pořádku. Například společnosti Bayer AG nikdy netestovala Aspirin® více jak 4 roky od jeho výroby [112]. Možná proto farmaceutické společnosti sponzorují kampaně podporující informování obyvatelstva o nutnosti zbavovat se léků s prošlou dobou expirace. Profesor medicíny Philip Alper na Univerzitě v Kalifornii v San Francisku k tomuto dodává, že si lidé myslí, že s expirací se léky najednou stanou toxickými nebo ztratí svou schopnost působit. Což ovšem uvádí i někteří odborníci [113]. Zajímavým faktem je to, že povinnost udávat datum expirace se objevila teprve v roce 1979. Ovšem již během 60. let 20. století některé společnosti dobrovolně toto datum na obaly svých léků udávaly. Ve zmíněné studii bylo odhaleno jen několik léků, které ztrácely významně stabilitu po uplynutí expirační doby (tablety na čištění vody, mefloquin hydrochlorid, který sloužil k léčbě malárie). Tato studie dokonce vyvrátila výsledky předchozí studie Obrácený „Fanconiho syndrom“ způsobený degradovaným tetracyklinem [114] z roku 1963, která tvrdila, že degradovaný tetracyklin způsobuje poškození ledvin. [115] Od té doby se změnila výroba tetracyklinu tak, že v současné

době již neexistuje podezření na nežádoucí nefrogenní účinky. [106 s. 4] V současné době není žádný záznam o tom, že by se nějaký lék stával po expiraci toxickým. [116, 117] Také další studie prokázaly podobné výsledky (**Tabulka 6**). Zde bylo testováno celkem 14 léků a 86 % z nich se nacházelo v rozmezí 90 % až 110 % deklarované hodnoty účinné látky, což je rozmezí, ve kterém se mohou farmaceutické společnosti pohybovat, aby byl lék považován za účinný. [118] Je třeba brát na zřetel, že některé z testovaných léků se již světově nepoužívají a ty testované nikdy nebyly vybaleny z originálních obalů a byly skladovány za ideálních podmínek, a proto není zřejmé, jestli by výsledky dopadly stejně pro současné léky, na což upozorňoval Mohammad Nutan, docent farmacie z texaského A&M vědeckého centra pro zdraví ve městě Kingsville. Nejde tedy říci, že výsledky znamenají, že by tyto léky bylo možné dnes použít zcela bezpečně a účinně, ale také není žádný důvod si myslet, že by tomu tak být nemělo, říká naproti tomu Lee Cantrell, vedoucí autor studie a profesor klinické farmacie na Univerzitě v Kalifornii v San Franciscu. [119] Dodává, že je na čase přehodnotit systém hodnocení a tvorby časů expirace léků, což by mělo přinést šanci na výrazné finanční úspory. [120] Při testování injekční formu léku s epinefrinem s dobou po expiraci od 1 do 90 měsíců, který se používá k potlačení anafylaxe, se zjistilo, že klesá jeho biologická dostupnost nepřímo úměrně s tímto časem, jak se mimo jiné předpokládalo. Přesto v případě nutnosti je stále lepší alternativou proslá dávka tohoto léku než lék nepodat v rámci přednemocničního ošetření vůbec. [121] Vedle běžných léků v poslední době nabraly na oblíbenosti homeopatika, u kterých se musí taktéž uvádět datum expirace. Zde se jedná o diametrálně odlišnou situaci. Vzhledem k tomu, že tyto přípravky neobsahují téměř žádné biologicky aktivní složky a jejich podstatou je co nejvyšší zředěnost, tak zde nemá která složka degradovat. Tudíž problematika dat expirace u homeopatik je arbitrární. [122]

Naproti tomu zcela jasně Úřad pro kontrolu potravin a léčiv Spojených států amerických nabádá spotřebitele, aby léky po době expirace nejrychleji, jak to je možné, zlikvidovali. [123] Tím klesne riziko užití léků někým jiným nebo například domácím zvířetem. První možností jsou programy pro zpětný odběr léků, které jsou organizovány například americkým Národním úřadem pro kontrolu obchodu s drogami (DEA – Drug Enforcement Administration). [124] V září 2012 takto bylo shromážděno více než 276 tun léků, které někdo musel zaplatit a takto jsou nenávratně zlikvidovány. [122] Studie, která sledovala, jak se lidé staví k nevyužitým

a expirovaným lékům (UEM – unused and expired medication), ukázala na vzorku 200 pacientů se střední hodnotou věku 53,6 let a průměrnou hodnotou 5,4 předepsaných léků denně, že 33,5 % z nich se obává donést tyto léky do center pro zpětný výběr a jen 15,0 % toto někdy udělalo (**Tabulka 7**). Počet nevyužitých a expirovaných léků rok od roku narůstá ruku v ruce se stárnutím populace, kterou sebou nese vyšší potřebu užívání léků. [125] Někdy léky na předpis lékaře lidem zůstávají, protože nedrželi zcela předepsané dávkování nebo jednoduše proto, že byly předepsány pro re nata (pro případ potřeby), který nenastal. [126]

Druhou možností je likvidace v rámci domácnosti. Doporučeným postupem (**Obrázek 14**) je nejprve smíchat léky se zeminou, stelivem do kočičích záchodů nebo s lógreem po kávě. Následně tuto směs umístit do ideálně plastového sáčku a vyhodit do odpadu. Pokud jsou na obalu léku osobní informace, jako jméno, příjmení a podobně, tak se doporučuje tyto informace znečitelnit. [124] Některé odborníky překvapuje doporučení ze strany DEA léky splachovat do toalety, což nikdo vyjma Spojených států amerických nedoporučuje. [122] To stejné naopak nedoporučuje Úřad pro ochranu životního prostředí Spojených států amerických (EPA – Environmental Protection Agency) a pokládá toto jednání za nevyhovující, stejně jako jiné autority. [127, 128] Problém způsobuje kontaminace podzemní vody, ke které dochází, ať již je lék vyhozen do domovního odpadu nebo spláchnut do toalety. [129] Nejčastější způsoby domácí likvidace léků jsou vyhození do domovního odpadu, spláchnutí do toalety nebo do dřezu. Jiné průzkumy ukazují, že 55 % lidí léky vůbec nevyhazuje a ponechává si je [130]. Což se liší země od země (**Graf 4**). Například v Kuvajtu dle některých studií vyhazovalo v roce 2007 do domovního odpadu léky 97 % lidí, na Novém Zélandu v roce 2009 z dotázaných 55 % tekuté léky spláchlo do toalety nebo vylilo do dřezu. [131] Zajímavá je statistika smrtí způsobených otravou ve Spojených státech amerických v porovnání s dopravními nehodami, která byla sledována od roku 1980 do roku 2008. Z té vyplývá, že v roce 2008 bylo dopravních nehod s následkem smrti ročně 38 000 a otrav s následkem smrti 41 000 (**Graf 3**) (z toho 89 % způsobeno předávkováním léky). To je pro některé dostatečně silný argument, proč by z domácnosti měly být léky ihned po expiraci likvidovány. [132 s. 2] Z průzkumu amerických domácností vyplývá, že přibližně 2 z 3 předepsaných léků nebyly z různých důvodů využity.

Nejčastěji se jedná o léky na bolest, antibiotika, léky na vysoký tlak, diabetes, cholesterol, nemoci srdce a léky ovlivňující duševní zdraví. [133]

2.5.1 Testování stability léků

K tomu, aby mohla být nějakým způsobem definována doba expirace, tak je nutné provádět testování stability biologicky aktivních farmaceutických složek (API – active pharmaceutical ingredients; drug substances) tedy „léciv“ a finálních farmaceutických produktů (FPP – finished pharmaceutical products; drug products) tedy „léků“. Existují obecná doporučení jak tato testování provádět, ale v zásadě je pro každý nový lék třeba vyvinout novou metodu. Obecnými postupy jsou například: WHO Stability Guide in TRS953 (2009) Annex 2; Variation Guidance Appendix 4 (Stability Requirements for Variations (TSR 943); Guideline on stability testing for application for variations to a marketing authorization (EMA 2011), FDC guideline TRS 929 Annex 5 a další. Účelem, za kterým se tyto studie provádí, je vytvoření evidence o tom, jaký vliv mají různorodé přírodní podmínky (jakými jsou teplota, vlhkost a světlo) na biologicky aktivní farmaceutické složky nebo finální farmaceutické produkty. Na začátku přípravy studie o stabilitě se provádí předběžné zátěžové testování. Podoba tohoto zátěžového testování v podobě, ve které se často provádí, je uvedena v tabulce (**Tabulka 3**). Využívá se vlivu teploty, vlhkosti, kyselá a zásaditá hydrolyzy, fotolýzy, oxidace a volitelně i prostředí roztoků iontů kovů. Samozřejmě se musí přihlídnout k povaze vlastní látky a přizpůsobit tomu laboratorní podmínky. Pomocí tohoto testování se nejprve zjistí, jaká je vlastní stabilita molekuly, cesty degradace dané látky, identifikují se produkty degradace a ohodnotí se vypovídací hodnota samotných analytických metod. To může sloužit pro další vývoj molekuly, úpravu výrobních postupů, správný výběr nejvíce vypovídajících analytických metod, připravit se na očekávané produkty degradace, objasnění degradačních cest nebo výběr vhodného obalu farmaceutického produktu. Například pokud se zjistí, že je zde významný vliv slunečního záření, tak se produkt umístí do takového balení a s takovými doporučeními na skladování, aby bylo zamezeno přístupu světla. [134, 135]

Jako výsledek můžeme vidět změnu v porovnání výchozího a konečného stavu. Dle zdrojů se liší procentuální změna, která je považována za významnou (10 až 30 %; 5 až 20 %; přibližně 10 % degradace). Balancuje se zde mezi množstvím biologicky

významných degradačních produktů a nevýznamnými artefakty a sekundárními produkty degradace. To se týká krátkodobých studií. Při dlouhodobých studiích musí být blíže prozkoumán každý degradační produkt nebo znečištění již při degradaci 0,1 %. K tomu se je nutné využít metody analytické chemie. Při vytváření metod se stojí před problémem typu „zda bylo dříve vejce nebo slepice“, protože je potřeba analytických metod, aby bylo možné získat stabilní data a na druhé straně je potřeba znát informace takto získané pro validaci těchto metod. Předběžné metody umožní určit složení a separovat očekávané produkty degradace. Vedle tohoto lze s nimi ohodnotit specifitu metod. Je proto nutné, aby studie stability a analytické metody spolu byly v kooperaci. Testovány jsou vždy 3 šarže. Tyto šarže musí být identické s těmi, které budou následně produkovány při výrobě. [134, 135]

Pro podmínky skladování byly stanoveny 4 teplotní zóny (**Tabulka 4**). Dlouhodobé studie by měly zahrnout v ideálním případě všechny z nich nebo maximum možných pro pokrytí největšího množství variant situací, ve kterých se léky mohou nacházet. Většinou ovšem je pokryto především mírné klimatické pásmo a pro extrémnější podnebí jsou k dispozici upravené postupy testování [136]. Dlouhodobé studie jsou prováděny po dobu minimálně 12 měsíců (v prvním roce každé tři měsíce, ve druhém roce každých šest měsíců). Střednědobé studie se provádí minimálně 6 měsíců (se čtyřmi měřeními). Urychlené studie se provádí po dobu 6 měsíců (s minimálně třemi měřeními). Nemělo by se také zapomínat na riziko kontaminace bakteriemi [137]. [134, 135]

Pokud při urychlené studii nebyly zaznamenány významné změny a při dlouhodobé studii nebyly zaznamenány významné změny, tak není potřeba statistického hodnocení a vychází se z rovnice (**Rovnice 5**) při teplotě skladování 25 °C nebo 30 °C, nebo z rovnice (**Rovnice 6**) při teplotě skladování 2 až 8 °C, ve kterých x značí dobu dlouhodobé studie a y je doba pro opětovné testování nebo pro uskladnění a *NMT* (ne více než; not more than) je maximum této doby. Například, pokud se během urychleného testování ani u dlouhodobého testování, které trvalo 18 měsíců, nezjistí žádné významné změny, tak poté je nejdelší doba pro provedení opětovného testu 36 měsíců ($2 \times 18 = 36$), ale nesmí být déle než 30 měsíců ($18 + 12 = 30$). [134, 135]

Pokud nebyly zaznamenány významné změny při urychlené studii, ale byly zaznamenány při dlouhodobé nebo opačně, tak je nutné provést statistickou analýzu pro vyhodnocení dat. [134, 135]

V případě, že došlo k významným změnám v obou studiích, tak není možné provádět jakoukoliv extrapolaci získaných dat. To samé platí pro jakékoliv významné změny při testování při teplotách 2 až 8 °C. [134, 135]

Jako výsledek těchto měření je popis balení léku několika druhy značení: Neskladovat při teplotě nad 25 °C; Neskladovat při teplotě nad 25 °C (a chránit před vlhkem); Neskladovat při teplotě nad 30 °C; Neskladovat při teplotě nad 25 °C (a chránit před vlhkem); Skladovat v chladničce při teplotě 2 až 8 °C; Skladovat v mrazáku (*Tabulka 5*). [138 s. 139]

2.5.2 Využívání léků po době expirace

Existují okolnosti, za nichž například ve Spojených státech amerických je možné používat léky po době jejich expirace. Americká vláda rámci Center pro kontrolu nemocí a prevenci (CDC – Centers for Disease Control and Prevention) skladuje strategické národní rezervy pro případ krizových situací. V těchto rezervách jsou obsaženy také obrovské zásoby léků, které mají sloužit k ochraně americké veřejnosti při ohrožení veřejného zdraví například při teroristickém útoku, zemětřesení nebo vzplanutí chřipky. Některé z těchto léků, i přes to, že by mohly být stále využitelné, musí být draze nahrazeny léky novými s odpovídající expirační dobou. Ovšem některé testy prokázaly, že při správném skladování uchovávají léky svoji stabilitu i po uplynutí doby, která značí konec jejich použitelnosti. Ve spojených státech amerických existují v současnosti tři mechanismy, které umožňují využívat tyto léky po době expirace.

1. Prvním z nich je Program pro prodloužení doby skladovatelnosti (SLEP – Shelf Life Extension Program), který je spravován Americkým ministerstvem obrany od roku 1986. Tento program umožňuje, aby byla opakovaně prodlužována doba uskladněných léků. Do roku 2006 ze 122 prodlužovaných léků bylo navýšení doby po originální expiraci o 1 až 5,5 roku [139]. Stabilita těchto léků je průběžně kontrolována Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA – Food and Drug Administration) v rámci Centra pro hodnocení a výzkum léků (CDER – Center of Drug Evaluation and Research).

V současnosti je zaměřeno na léky, které mají minimální komerční využití (protilátky proti nervově paralytickým látkám) a na léky, které jsou nakupovány v obrovském množství (jako je například ciprofloxacín nebo doxycyklin).

2. Druhou možností je Svolení k nouzovému využití (EUA – Emergency Use Authorization), které na základě splnění zákonných podmínek dává možnosti Úřadu pro kontrolu potravin a léčiv pravomoc dát k dispozici léky, které jsou po uplynutí doby expirace. Tento úřad musí ale zároveň deklarovat jejich bezpečnost.
3. Poslední možností je od roku 2013 využití zákona o připravenosti na různá nebezpečí a pandemie (PAHPRA – Pandemic and All-Hazards Preparedness Reauthorization Act), který dává další práva Úřadu pro kontrolu potravin a léčiv. [140]

Vedle toho vyvstává otázka využití expirovaných léků v zemích třetího světa, která se vždy rozezná v období různých katastrof, jako například zemětřesení na Haiti v roce 2010. Bohaté země, jako jsou Spojené státy americké (USA – United States of America) a další dodávají do těchto zdecimovaných oblastí humanitární pomoc, včetně léků. Na straně argumentů pro je uváděno, že benefity v posílání expirovaných léků, které by v domácí zemi byly stejně zničeny, převyšují rizika. Dalším argumentem je již výše zmíněná studie, která prokázala, že velké množství léků nemění svoje složení ani po dlouhých letech po expiraci a datum expirace vychází pouze z toho, jak dlouho farmaceutická firma daný lék sleduje a testuje. Pokud výrobce testuje stabilitu léku dva roky, je poté doba expirace dva roky. To, ale nic neříká o tom, zda po uplynutí tohoto času je nebo není lék použitelný. Pouze vyjadřuje garanci ze strany společnosti vyrábějící léky. Mohlo by se zdát, že z racionálního hlediska je lepší něco pro tyto chudé země než nic. Je ale potřeba si uvědomit, že tyto země se nacházejí většinou v oblastech, které jsou vystaveny mnohem méně příznivým podmínkám, než je v mírném pásmu. Vliv vysoké teploty a vlhkosti může vést k značné míře rozkladu a přeměny složek léku. Obecně platí pro chemické reakce, že vzestup o 10 °C zdvojnásobí rychlost, se kterou probíhají. Velice vážným rizikem je využití antibiotik, která mají sníženou schopnost působení. Ty se poté stávají hlavním přispěvatelem pro vznik bakteriální rezistence k antibiotikům,

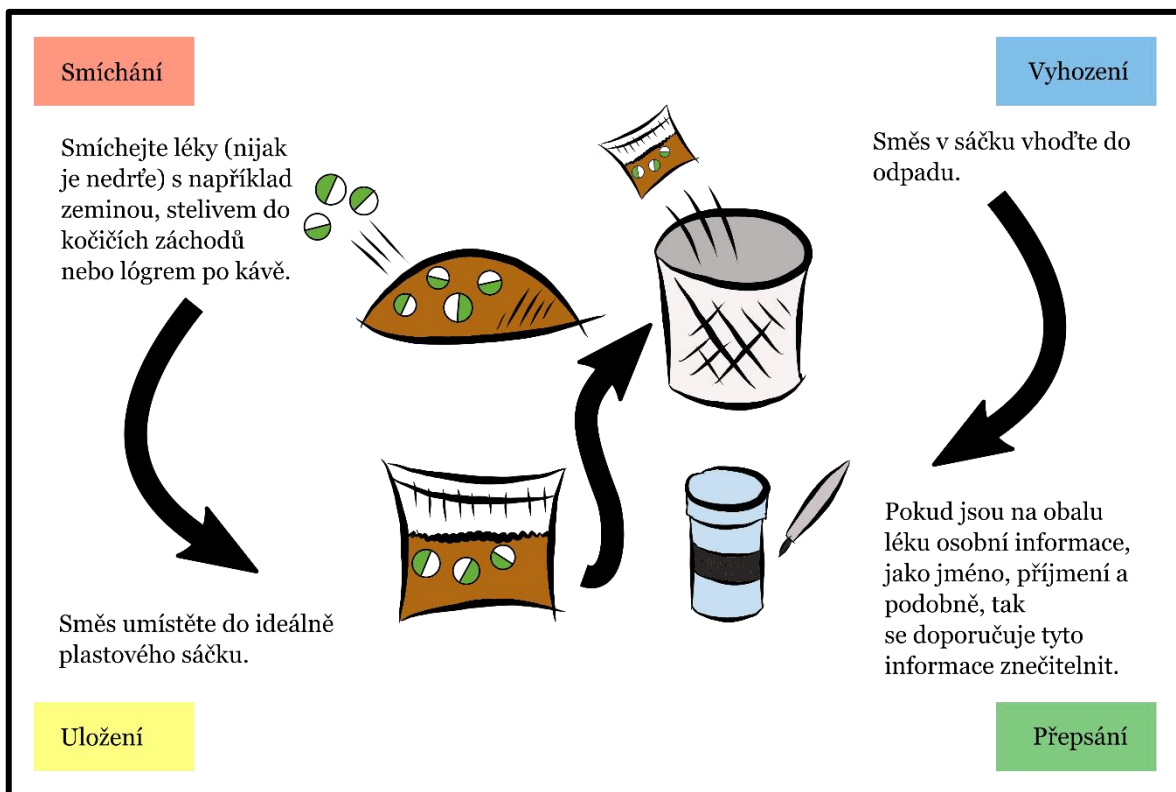
kteřá nejen v těchto zemích působí značné komplikace. Je zde také etická otázka, zda je přijatelné vozit do chudých oblastí léky, jejichž využití není přijatelné ve vyspělém světě. [141]

Je třeba zmínit, že mimo legální distribuci existuje i velice aktivní ilegální trh s tímto zbožím. [122] V minulosti byly známy i případy zneužití již zmíněných programů pro vrácení léků, které byly rozkryty investigativními novináři. Z tohoto důvodu v průběhu výběru léku je někdy přítomna i policie. [126] Pokud hovoříme o účinku léku, který by mohl mít teoreticky sníženou účinnost nebo nulovou, neměli bychom zapomínat na existenci placebo efektu, který by mohl zastínit tyto skutečnosti. [112]

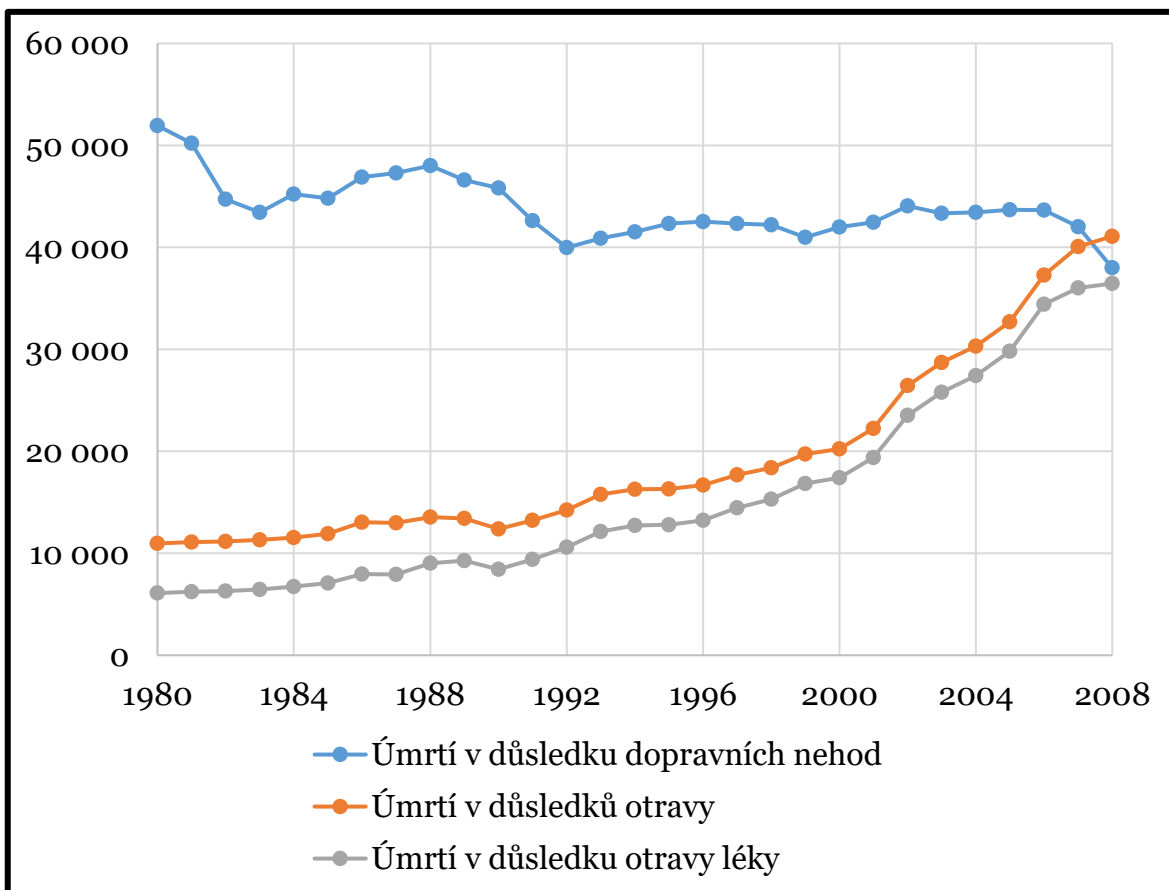
2.5.2.1 Anketa v ČR a její výsledky

V namátkovém průzkum na 19 respondentech v České republice ve věku 19 až 74 let na dotaz „Co uděláte s léčivem po datu, kdy končí jejich expirace (= "lék projde")?“, na který byly možné odpovědi (bylo možné vybrat více odpovědí): Spláchnu do toalety nebo vyliji do dřezu; Vyhodím do domovního odpadu; Ponechám si je; Spálím je; Zlikviduji jinak než spálením; Daruji je; Vrátím je do lékárny, odpovědělo 62 % dotazovaných, že vrátí expirované léčivo do lékárny, 19 % dotazovaných expirované léčivo vyhodí do domovního odpadu a 12 % dotazovaných si léčivo nechává i po době expirace. Na ostatní možnosti připadají zbývající procenta. Nikdo neodpověděl, že by léčivo spláchl do toalety nebo ho vylil do dřezu.

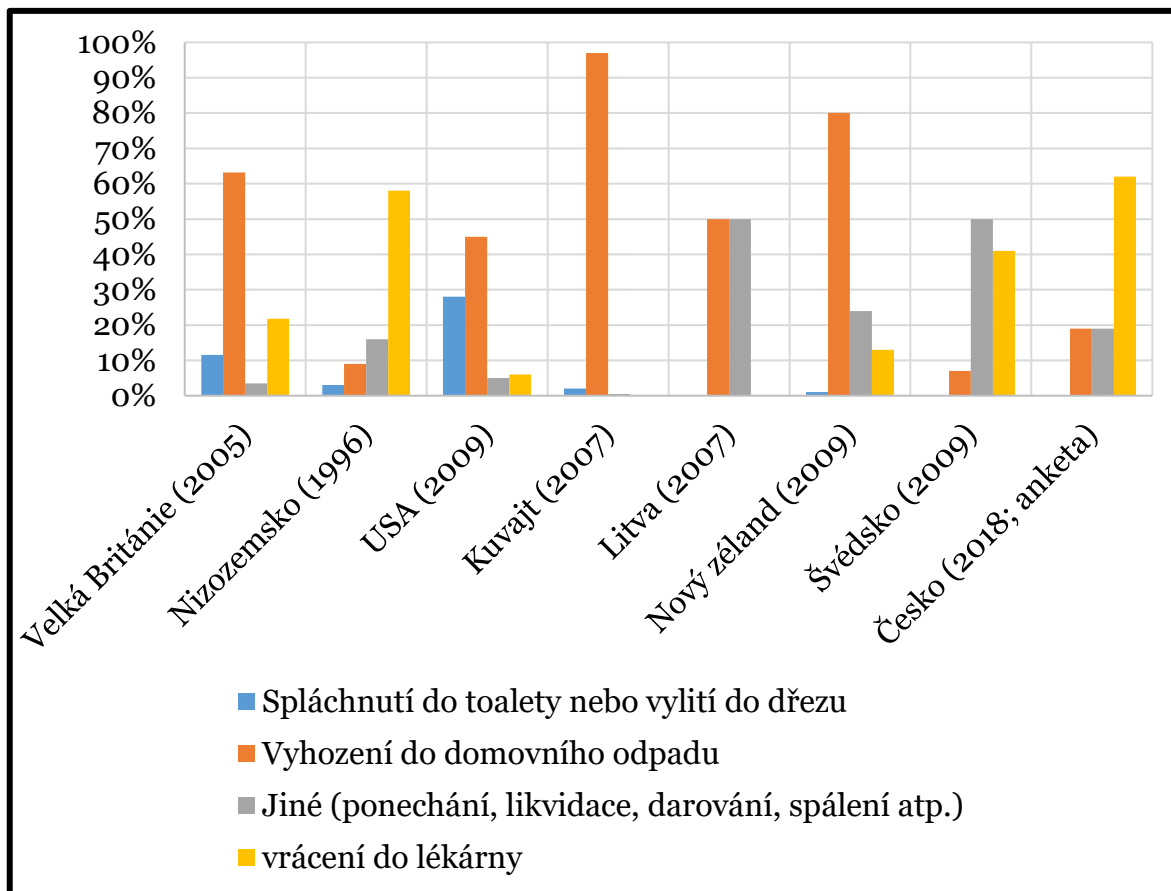
Obrázek 14 – Jak zacházet s léky v rámci domácího odpadu; inspirováno podle [124]



Graf 3 – Počet úmrtí způsobených otravou a nehodami v USA (1980 až 2008); podle [132 s. 3]



Graf 4 – Preferované způsoby likvidace léku v domácnostech; podle [131 s. 295]



Rovnice 5 – Doba pro opětovné testování nebo uskladnění při 25 nebo 30 °C, podle [135 s. 32]

$$y = 2 \times x$$

$$NMT = x + 12$$

Rovnice 6 – Doba pro opětovné testování nebo uskladnění při 2 až 8 °C, podle [135 s. 32]

$$y = 1,5 \times x$$

$$NMT = x + 6$$

Tabulka 3 – Zátěžové podmínky při předběžných studiích stability, vypsáno podle [138 s. 139]

Zátěžový faktor	Podmínky	Koncentrace	Čas
Teplota	60 °C	1 (léčivo) : 1	1 až 10 dnů
Vlhkost (RH – relative humidity)	75 % a více relativní vlhkosti	Pevné skupenství	1 až 10 dnů
Kyselina	0,1 M HCl	2 (léčivo) : 1	1 až 10 dnů
Zásada	0,1 M NaOH	2 (léčivo) : 1	1 až 10 dnů

Zátěžový faktor	Podmínky	Koncentrace	Čas
Oxidace	3% H ₂ O ₂	1 (léčivo) : 1	1 až 3 hodiny
Fotolýza	halogenidová, rtuťová, xenonová, ultrafialová-B fluorescentní lampa	1 (léčivo) : 1	1 až 10 dnů
Kovové ionty	0,05 M roztok Fe ²⁺ nebo Cu ²⁺	1 (léčivo) : 1	1 až 10 dnů

Tabulka 4 – Klimatické zóny, podle [135 s. 23]

Zóna	Teplota	Relativní vlhkost	Popis
I	21 °C	45 %	
II	25 °C	60 %	subtropy
III	30 °C	35 %	horko, sucho
IVA	30 °C	65 %	horko, vlhko
IVB	30 °C	75 %	horko, velmi vlhko

Tabulka 5 – Doporučené značení pro léčiva, podle [142 s. 117]

Podmínky testování léčiva	Doporučené značení
25 °C/60% RH (dlouhodobě) 40 °C/75% RH (urychleně)	Neskladovat při teplotě nad 25 °C
25 °C/60% RH (dlouhodobě) 30 °C/65% RH (střednědobě, selhání urychleného)	Neskladovat při teplotě nad 25 °C (a chránit před vlhkem)
30 °C/65% RH (dlouhodobě) 40 °C/75% RH (urychleně)	Neskladovat při teplotě nad 30 °C
30 °C/75% RH (dlouhodobě) 40 °C/75% RH (urychleně)	Neskladovat při teplotě nad 30 °C (a chránit před vlhkem)

Podmínky testování léčiva	Doporučené značení
5 °C ± 3 °C	Skladovat v chladničce při teplotě 2 až 8 °C
-20 °C ± 5 °C	Skladovat v mrazáku

Tabulka 6 – Deklarované a naměřené hodnoty v léčích; podle [118 s. 1686]

Název léku	API	Uvedeno na obale	Změřeno (SD)
Somnafac	Metakvalon	200 mg	240,3 mg (20,6)
Fiorinal with codeine No. 1	Kodein	7,5 mg	7,4 mg (0,3)
	Butalbital	50,0 mg	51,1 mg (1,6)
	Aspirin	200,0 mg	2,28 mg (0,1)
	Fenacetin	130,0 mg	142,8 mg (7,1)
	Kofein	40,0 mg	51,2 mg (4,8)
Codempiral No. 3	Kodein	32,4 mg	29,3 mg (2,6)
	Fenobarbital	16,2 mg	15,2 mg (0,2)
	Aspirin	226,8 mg	1,53 mg (0,04)
	Fenacetin	162,0 mg	87,8 mg (2,7)
Bamadex	Meprobamat	300,0 mg	390,8 mg (44,9)
	Amfetamin	15,0 mg	8,1 mg (0,9)
Obocell	Amfetamin	5,0 mg	2,2 mg (0,1)
Nebralin	Pentobarbital	90,0 mg	105,1 mg (7,4)
Seconal	Sekobarbital	100,0 mg	90,5 mg (7,1)
Hycomine	Hydrokodon	5,0 mg	5,2 mg (0,4)
	Homatropin	1,5 mg	netestováno
	Chlorfenamin	2,0 mg	6,1 mg (0,2)
	Paracetamol	250,0 mg	249,2 mg (38,3)

Název léku	API	Uvedeno na obale	Změřeno (SD)
	Kofein	30,0 mg	30,3 mg (1,8)

Tabulka 7 – Výběr z dotazníku na zacházení s expirovanými léky; podle [125 s. 338]

Teze v rámci průzkumu	Procentuální zastoupení z respondentů
Splachování expirovaných léků do toalety	22,0 %
Skladování expirovaných léků doma	40,5 %
Vyhazování expirovaných léků do koše	37,5 %
Bojí se donést expirované léky do centra zpětného výběru	33,5 %
Někdy donesli expirované léky do centra zpětného výběru	15,0 %

3 Experimentální část

3.1 Použitá léčiva

Základní výběr léků, pro další využití v rámci této práce, byl zvolen s ohledem na užívání běžně v populaci. Cílem bylo především vybrat takové léky, které budou následně dobře přístupné pro využití ve školním experimentování, a navíc se bude jednat o taková léčiva, která všichni dobře znají, nebo alespoň by znát měli. Jednou z hojně využívaných skupin léčiv jsou analgetika. Tato skupina léčiv obsahuje velké množství jednotlivých podskupin a následně množství vlastních komerčně dostupných léčiv. Rozdělení znázorňuje postavení analgetik v rámci hlavních ATC skupin a jejich podskupin:

- A: trávicí systém
- B: krev a krevtovorné orgány
- C: kardiovaskulární systém
- D: dermatologika
- G: urogenitální trakt a pohlavní hormony
- H: systémová hormonální léčiva kromě pohlavních hormonů a insulinů
- J: antiinfektiva pro systémovou aplikaci
- L: cytostatika a imunomodulační léčiva
- M: muskuloskeletární systém
- N: nervový systém
 - **No2 analgetika**
 - **No2B jiná analgetika a antipyretika**
 - **No2BA kyselina salicylová a deriváty**
 - No2BB pyrazolony
 - No2BE anilidy
 - No2BG jiná analgetika a antipyretika
- P: antiparazitika, insekticidy a repelenty
- Q: veterinární přípravky
- R: respirační systém
- S: smyslové orgány
- V: různé přípravky

V podskupině NO₂ v rámci ATC řazení se vyskytují i další podskupiny. Jako příklad se dají uvést opioidní analgetika, která se nedají považovat za běžně se vyskytující v domácím prostředí. V rámci výběru byla filtrována léčiva takto: Byly zvoleny ATC podskupiny NO₂BA, NO₂BB, NO₂BE a NO₂BG, u těchto byla vybrána pouze ta léčiva, která jsou v současnosti v prodeji, jsou v ČR registrována (označení „R“) a ta, která se podávají ve formě per os (ústí). [1, 143, 144] Výpis takto vyfiltrovaných léčiv je vypsán v tabulce (**Tabulka 8**), ve které jsou zmíněny i dostupné varianty na českém trhu, které se většinou liší pouze počtem tablet nebo jiných jednotek¹³ v balení. Na základě tohoto prvotního výběru byly k jednotlivým léčivům dohledány v jejich SPC (souhrn údajů o přípravku; summary of product characteristics) dokumentech účinné látky (včetně koncentrace) a pomocné látky (u kterých není nikde koncentrace systematicky uváděna) (**Příloha A**). K analýze byla vybrána tato konkrétní léčiva: ASPIRIN (BAYER s.r.o., Praha), ACYLPYRIN (Herbacos Recordati s.r.o., Pardubice), ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY (BAYER s.r.o., Praha), ANOPYRIN 400 MG (Zentiva a.s., Bratislava), ACYLCOFFIN (Zentiva a.s., Bratislava), PARALEN 500 (Zentiva, k.s., Praha), PANADOL NOVUM (GlaxoSmithKline Consumer Healthcare Czech Republic s.r.o., Praha), PANADOL EXTRA (GlaxoSmithKline Consumer Healthcare Czech Republic s.r.o., Praha), ACIFEIN (Herbacos Recordati s.r.o., Pardubice), THOMAPYRIN (sanofi-aventis, s.r.o., Praha), jejichž srovnání v rámci obsahů účinných látek je sumarizováno v tabulce (**Tabulka 9**).

3.2 Použité chemikálie

Kyselina salicylová (Lachema, n.p.), kyselina acetylsalicylová (Lachema, n.p.), kofein (Lachema, n.p.), n-hexan (VWR Chemicals), ethylacetát (Lach-Ner, Ltd.), kyselina octová (PENTA s.r.o.), **ethanol (96% G.R.)** (Lach-Ner, Ltd.), toluen (Lachema, n.p.), Na₂CO₃ (Lachema, n.p.), ZnCO₃ (Lachema, n.p.), propan-1-ol (Lachema, n.p.), FeCl₃ (? výrobce), aceton (Lachema, n.p.), petrolether (? výrobce).

Na fotografiích jsou vidět některé použité chemikálie (**Fotografie 11**).

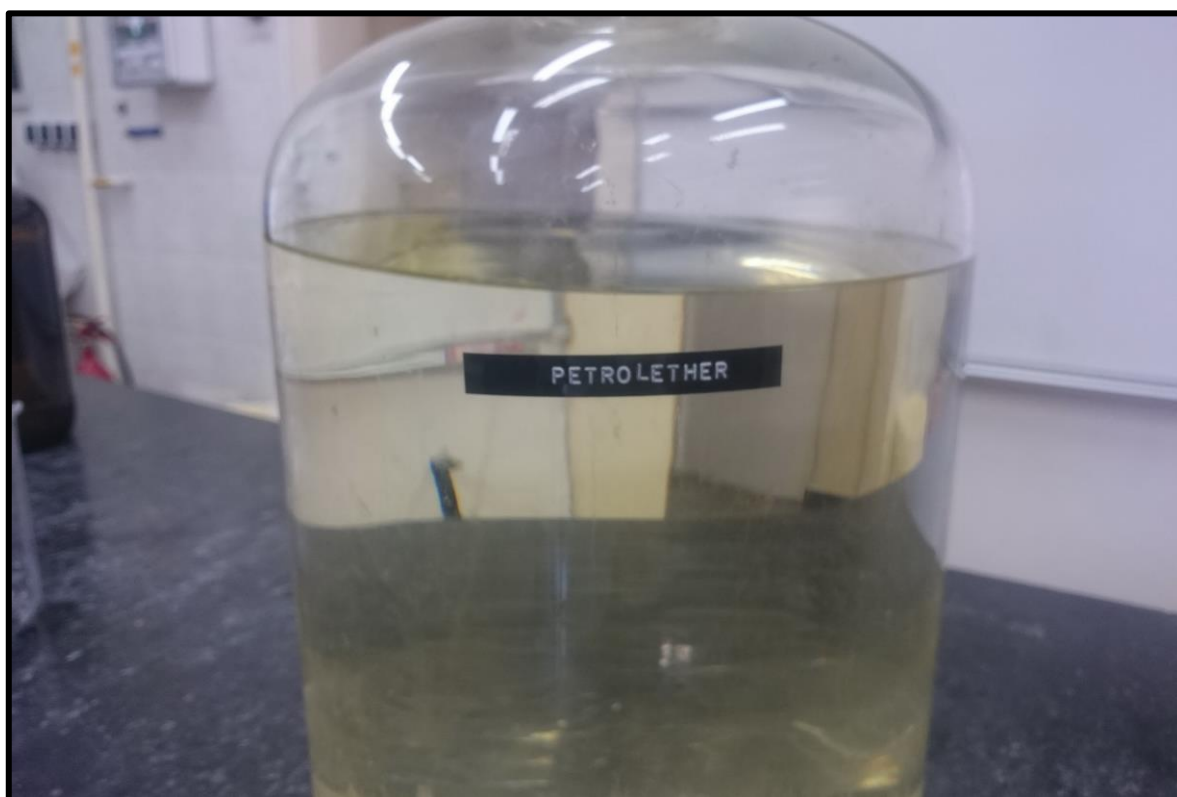
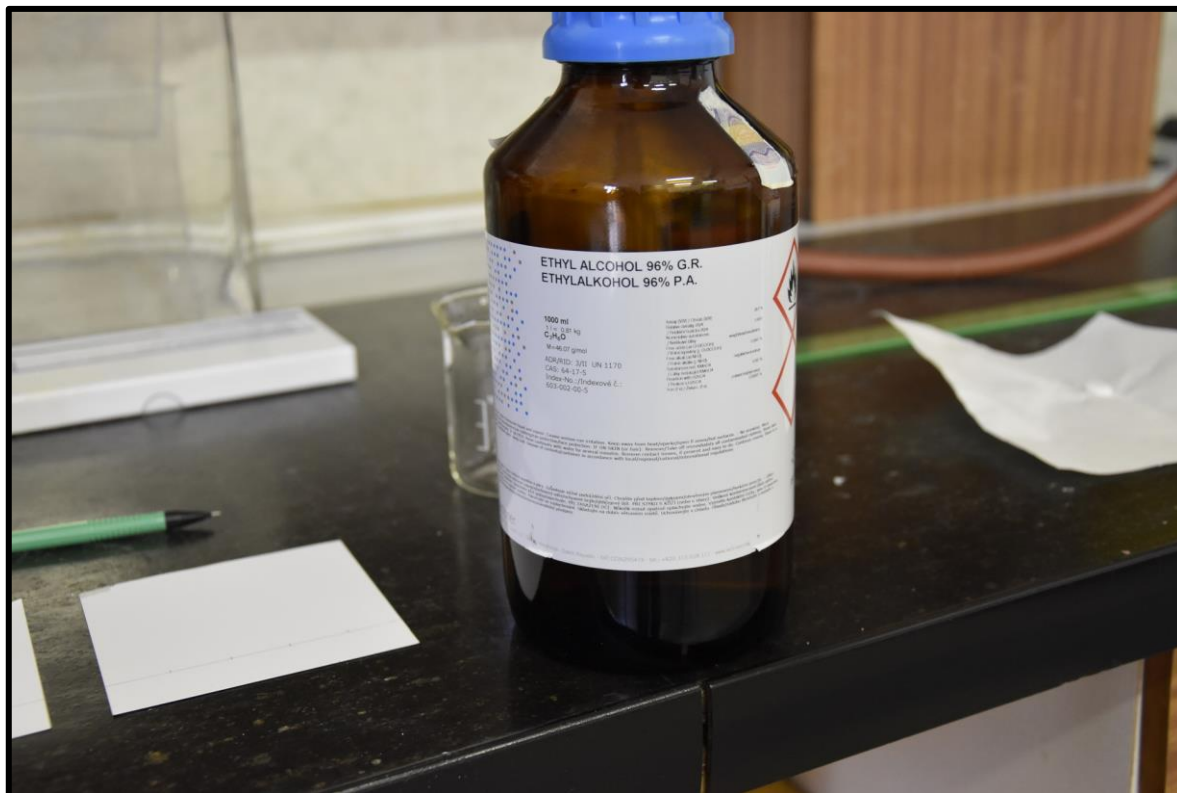
¹³ Jednotkou jsou zde myšleny „tablety, čajové sáčky, nebo jiná jednotlivá dávka“.

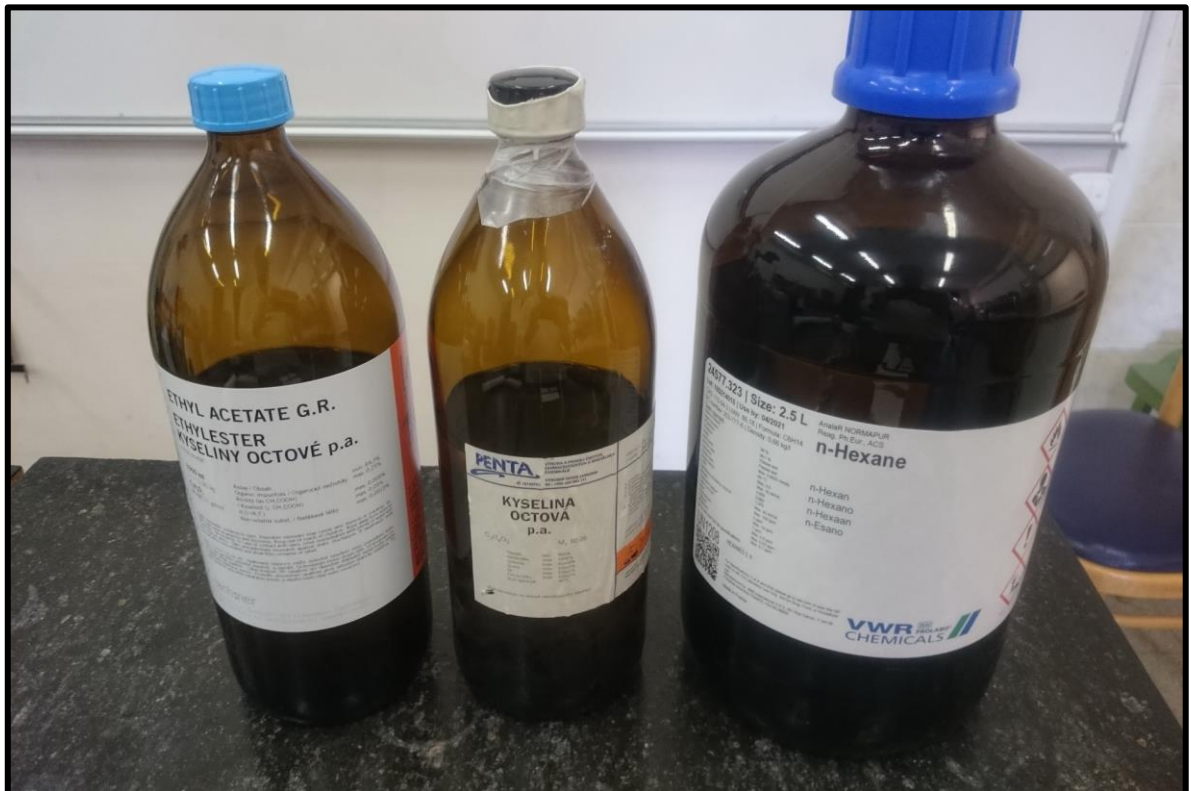
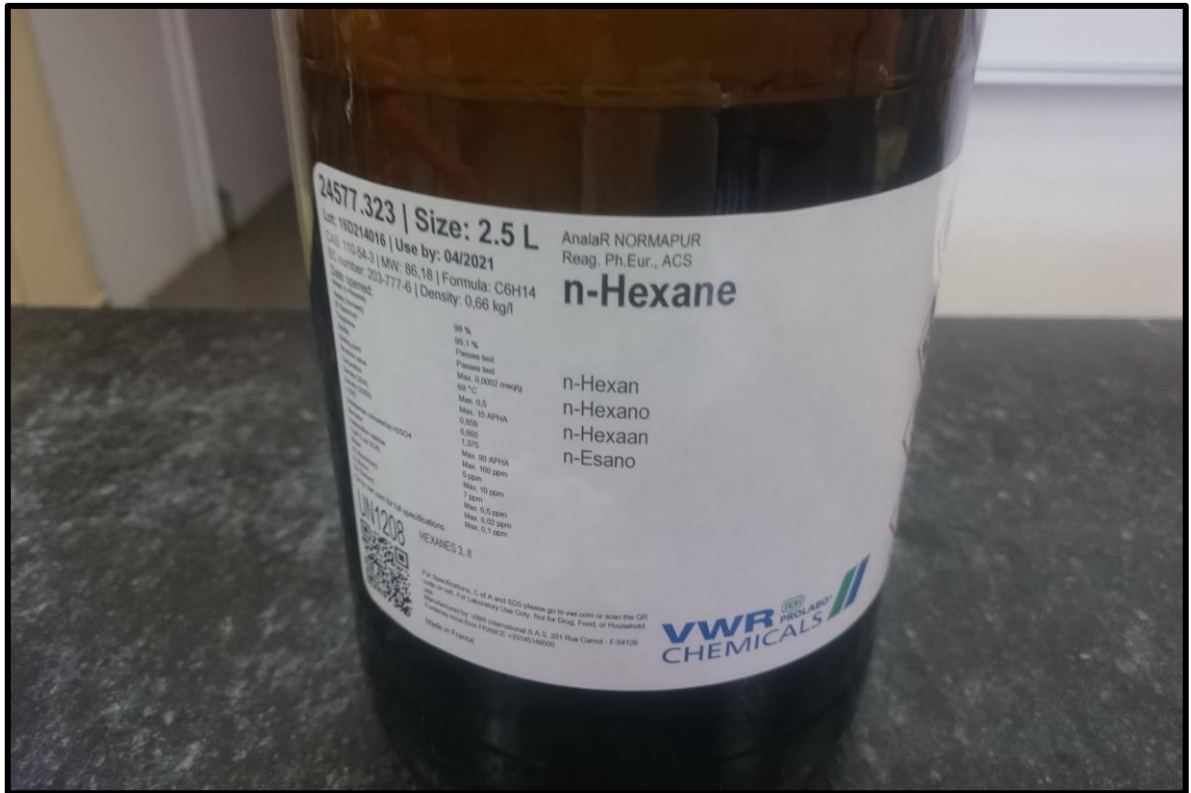
3.3 Použitá laboratorní a přístrojová technika

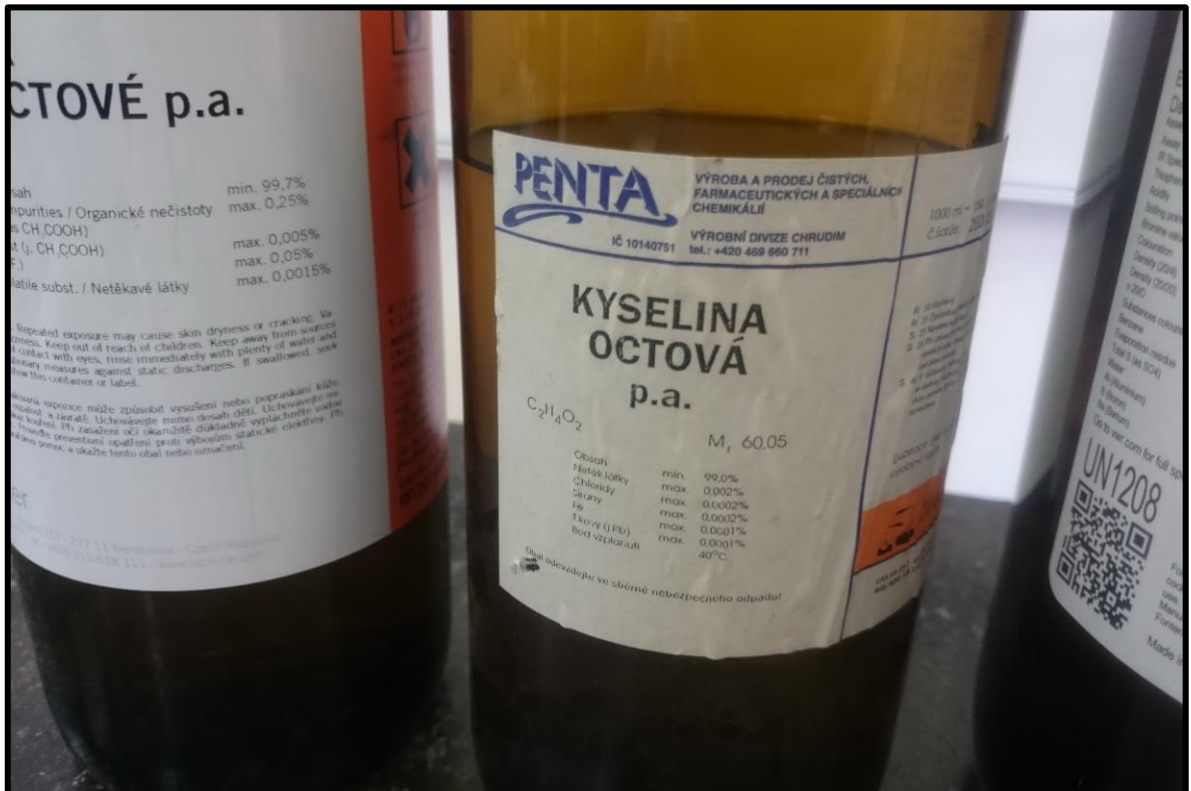
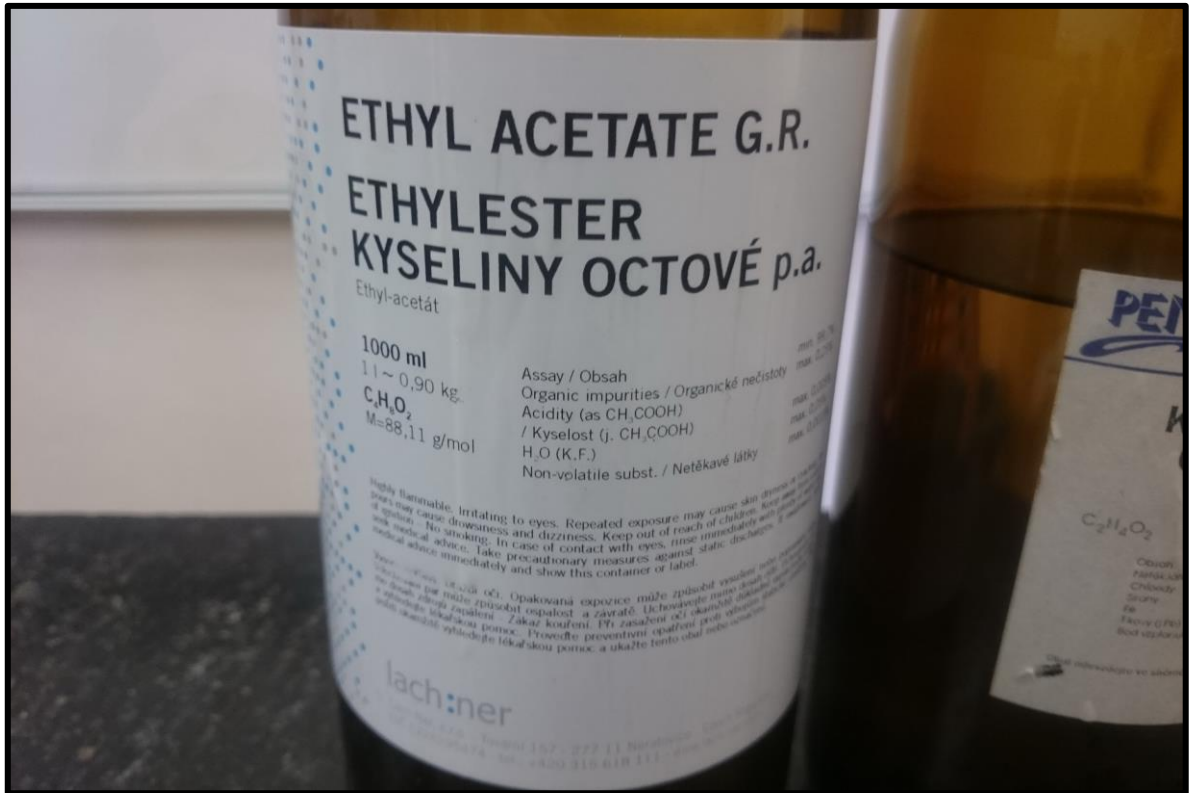
Tenká vrstva 0,20 mm silikagel 60 F254 (MACHEREY-NAGEL Pre-coated TLC-sheets ALUGRAM® SIL G/UV₂₅₄), tenká vrstva 0,20 mm silikagel 60 F254 (25 TLC aluminium sheets 20 x 20 cm Silica gel 60 F₂₅₄), tenká vrstva (Kavalier), skládaný filtrační papír (PAPÍRNA PERŠTEJN, s.r.o., 90 mm), chromatografická komora se skleněnou destičkou, 10 ml odměrný válec, odměrné válce, skleněné tyčinky, hmoždíř s tloučkem, 50 ml kádinky, zkumavky, stojan na zkumavky, 5x skládaný filtr, nůžky, 5x skleněná nálevka, mikropipeta, UV lampa (A.KRÜSS Optronic GmbH), stojan na zkumavky, kovová špachtle, stříčka na ethanol, stříčka na aceton, měkká tužka, pravítko, kádinky, kádinka 250 ml (12 cm x 6 cm, výška x průměr), krystalizační miska (4 cm x 8 cm, výška x průměr) a běžně vybavená chemická laboratoř za standardních podmínek teploty a tlaku.

Na fotografiích je vidět některé použité vybavení (**Fotografie 12**).

Fotografie 11 – Použité chemikálie; vlastní dílo







Fotografie 12 – Použitá laboratorní a přístrojová technika; vlastní dílo





hmoždíř s tloučkem

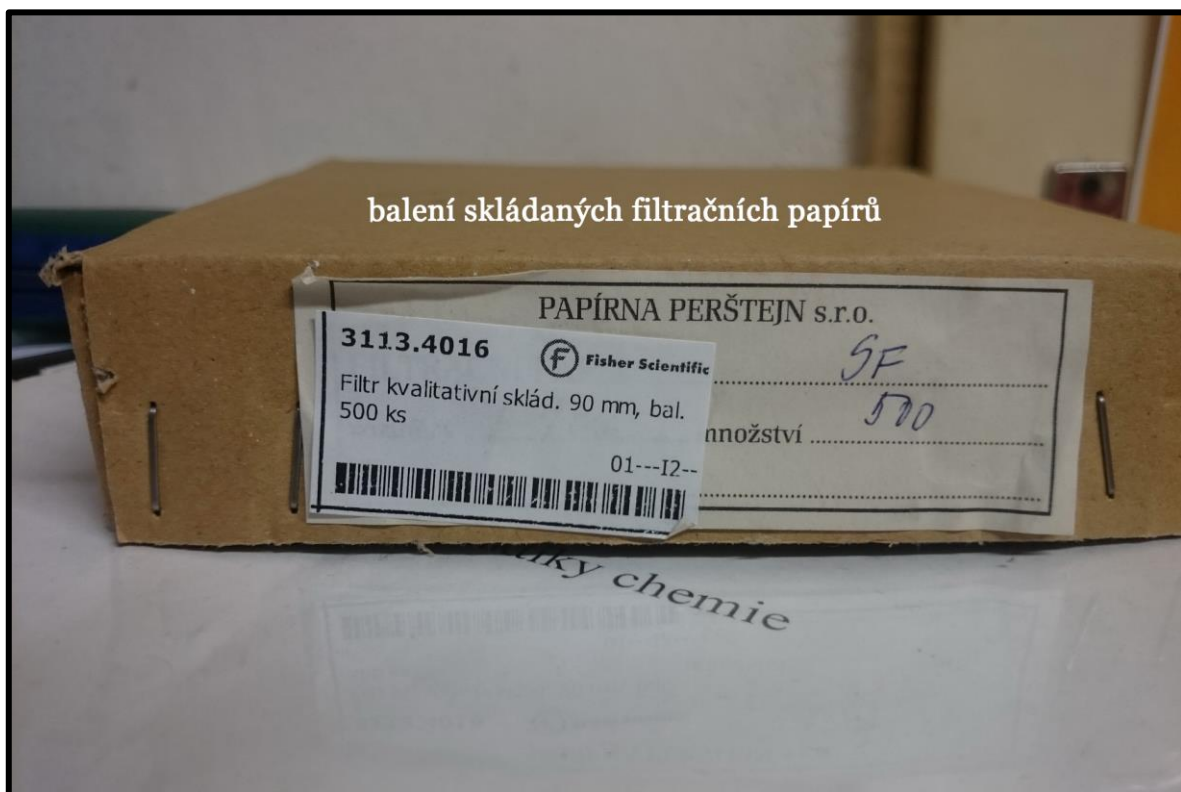


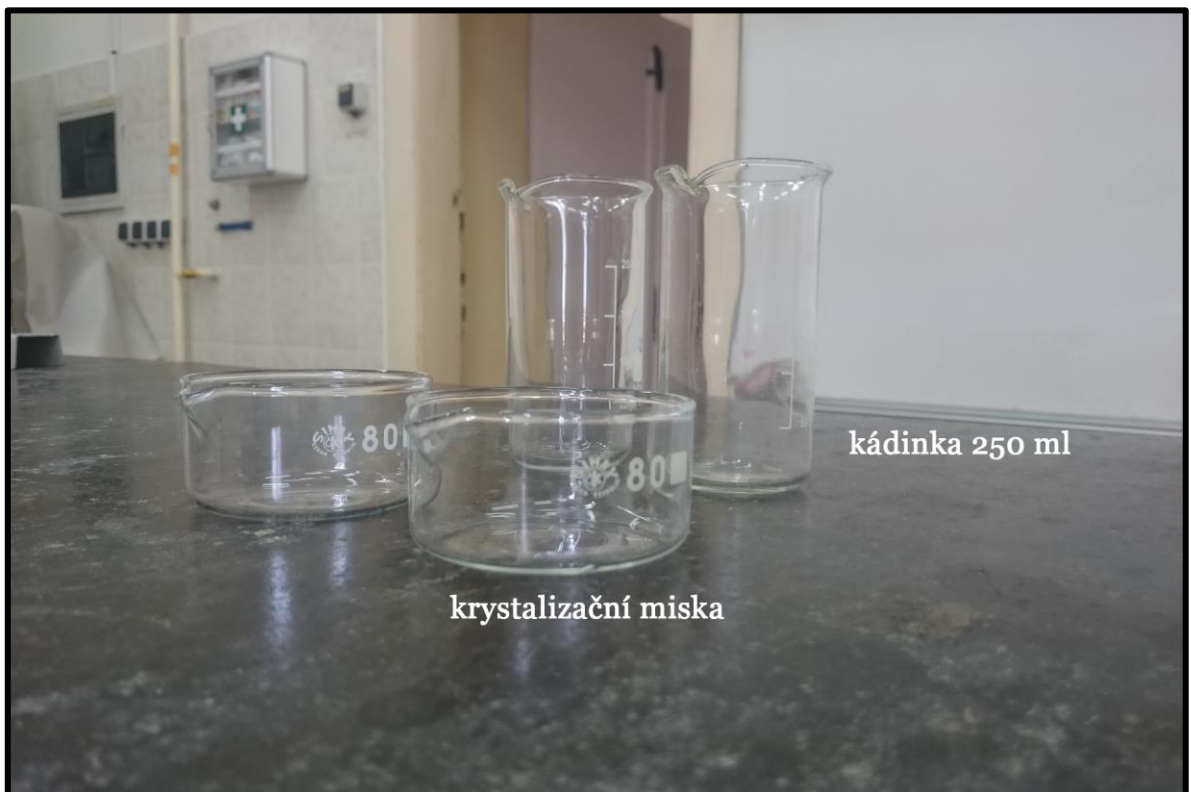
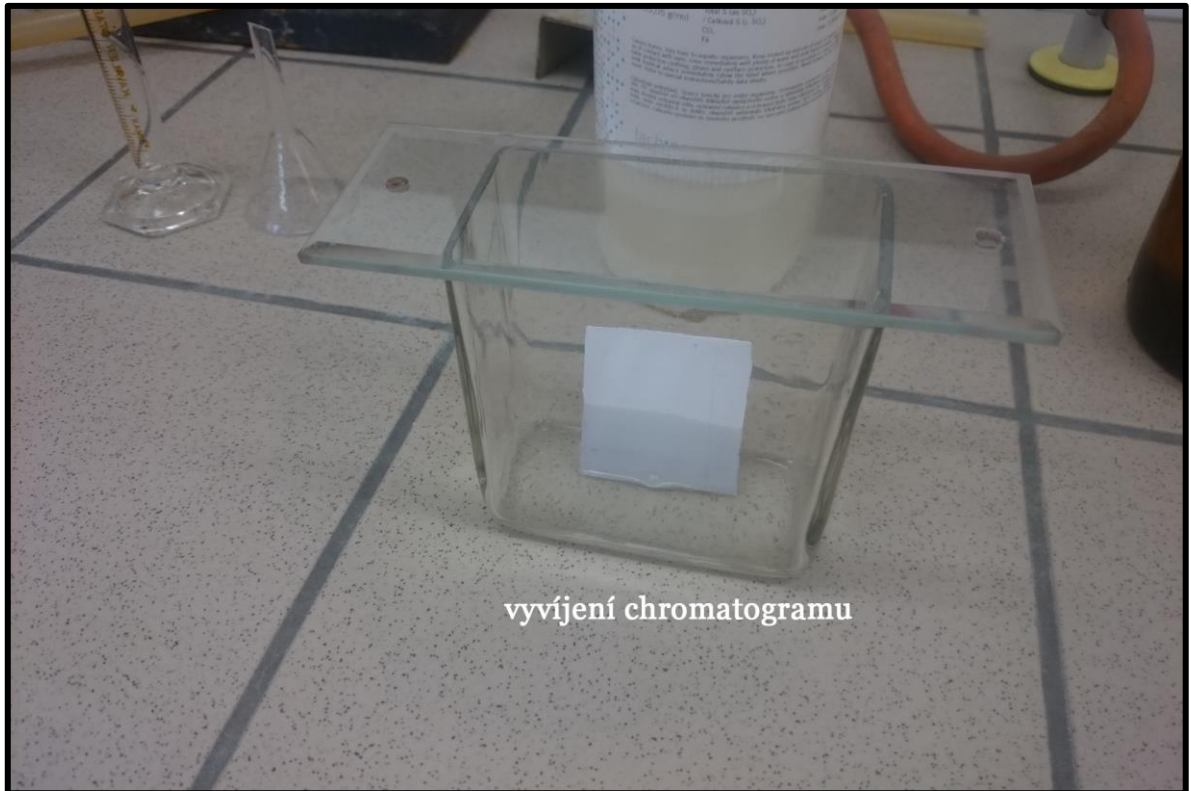
skládaný
filtrační
papír
v nálevce

UV lampa



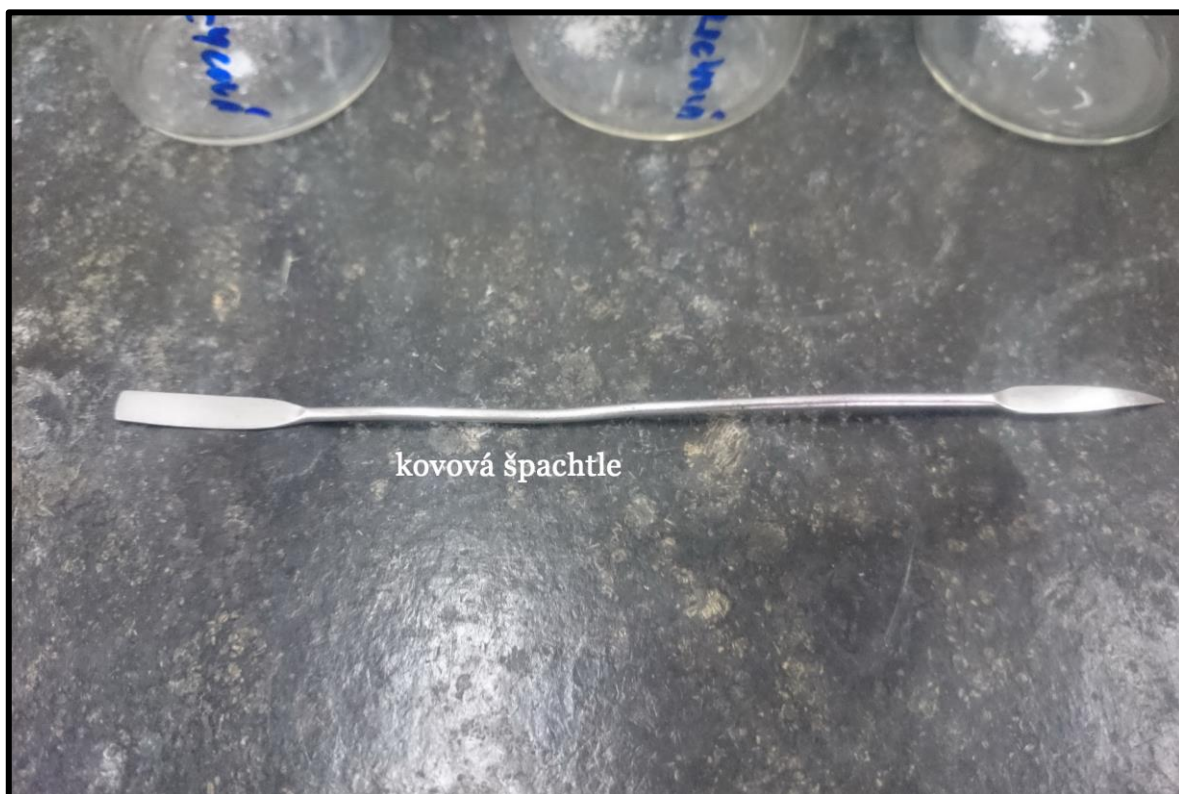
balení skládaných filtračních papírů



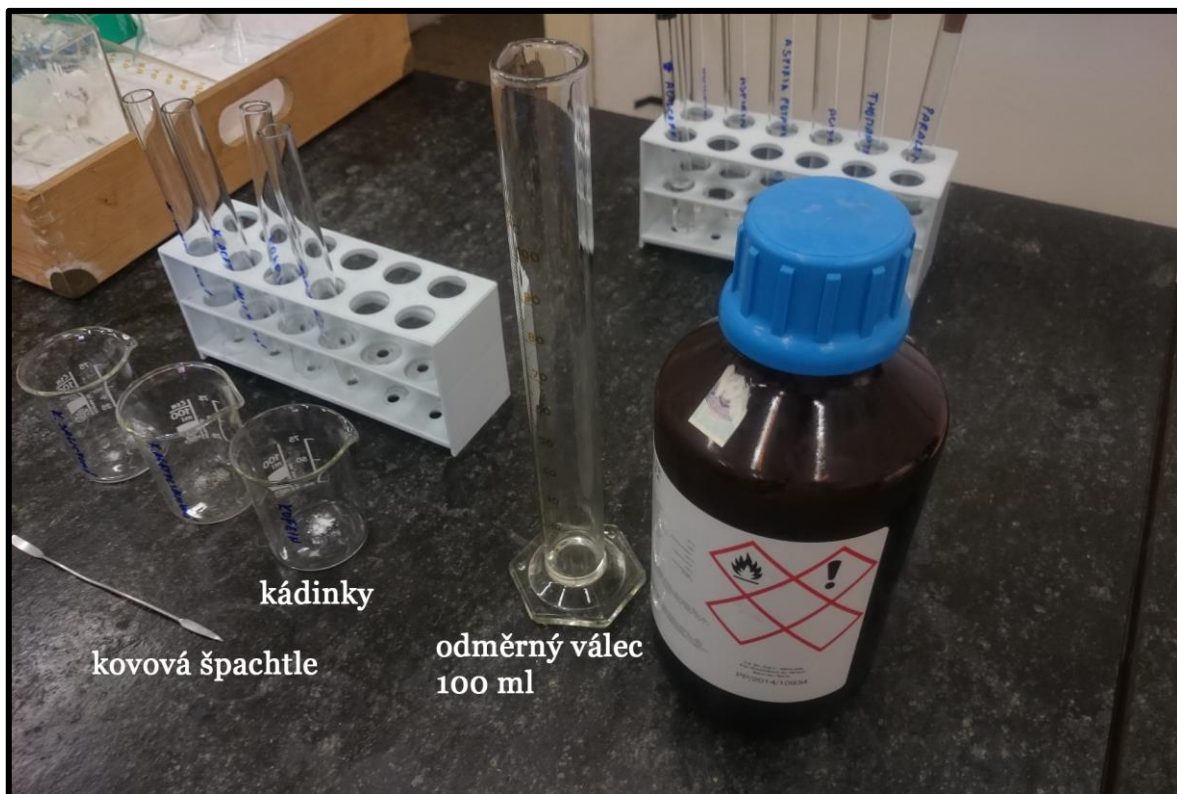




kádinky s léčivými přípravky připravenými k extrakci



kovová špachtle



balení tenkých vrstev 0,20 mm silikagel 60 F254

REF 818160 5 x 10 cm LOT 2 0 7 1 8 8

50 Aluminium-Fertigfolien / Pre-coated aluminium sheets / Feuilles d'aluminium prêtes à l'emploi

DC-Fertigfolien ALUGRAM® SIL G/UV₂₅₄
Pre-coated TLC-sheets ALUGRAM® SIL G/UV₂₅₄
Plaques fines CCM ALUGRAM® SIL G/UV₂₅₄

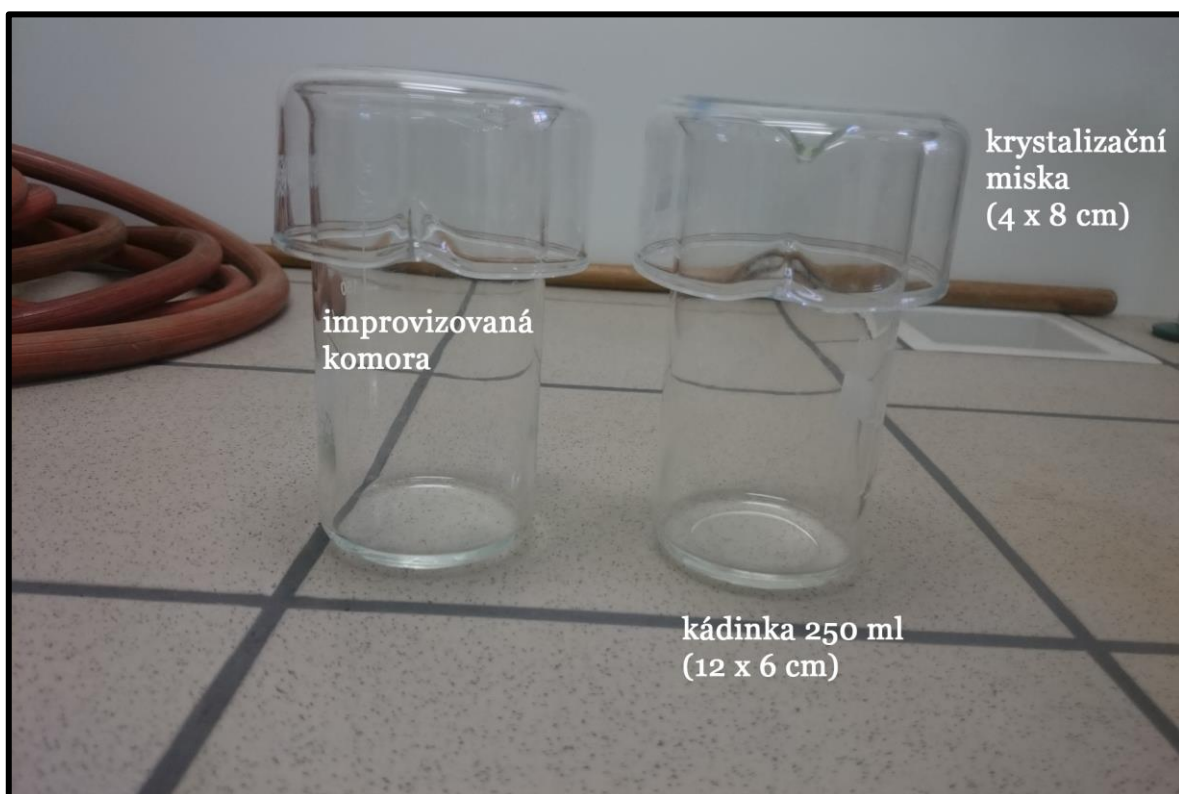
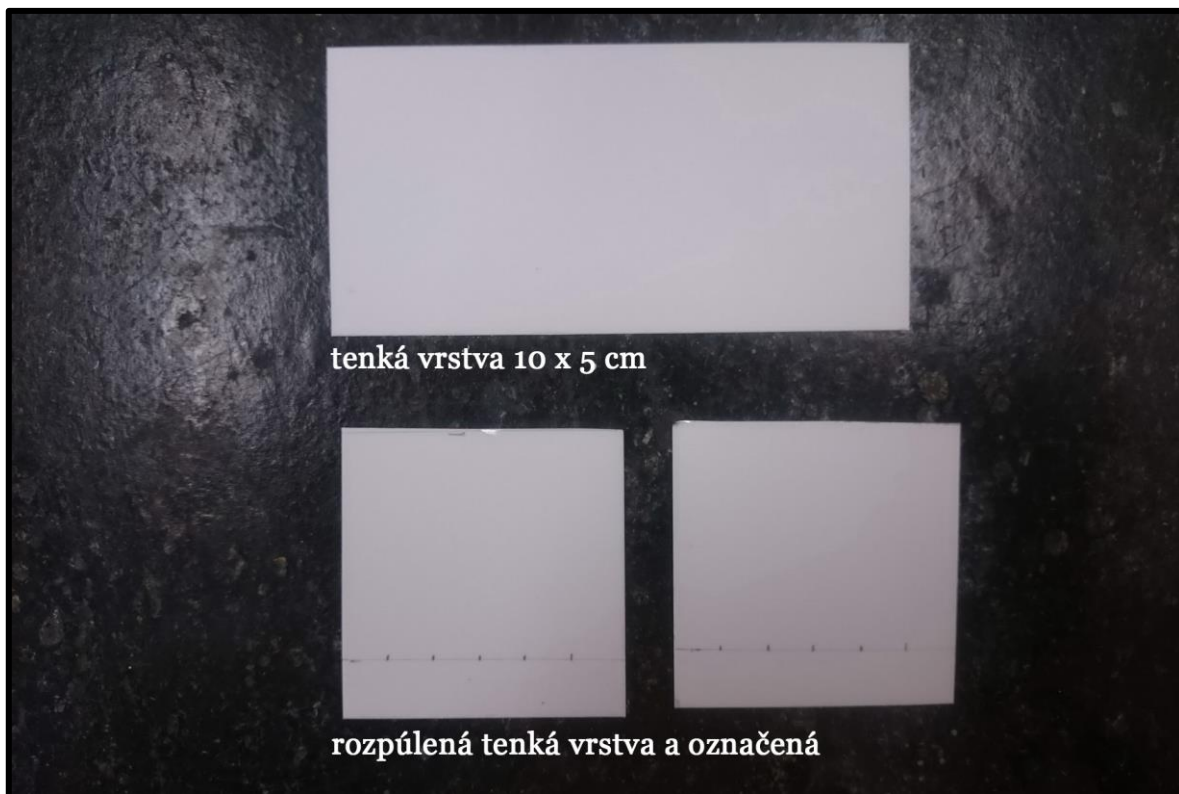
Schicht: 0,20 mm Kieselgel 60 mit Fluoreszenz-Indikator UV₂₅₄
 Layer: 0,20 mm silica gel 60 with fluorescent indicator UV₂₅₄
 Couche: 0,20 mm gel de silice 60 avec indicateur de fluorescence UV₂₅₄

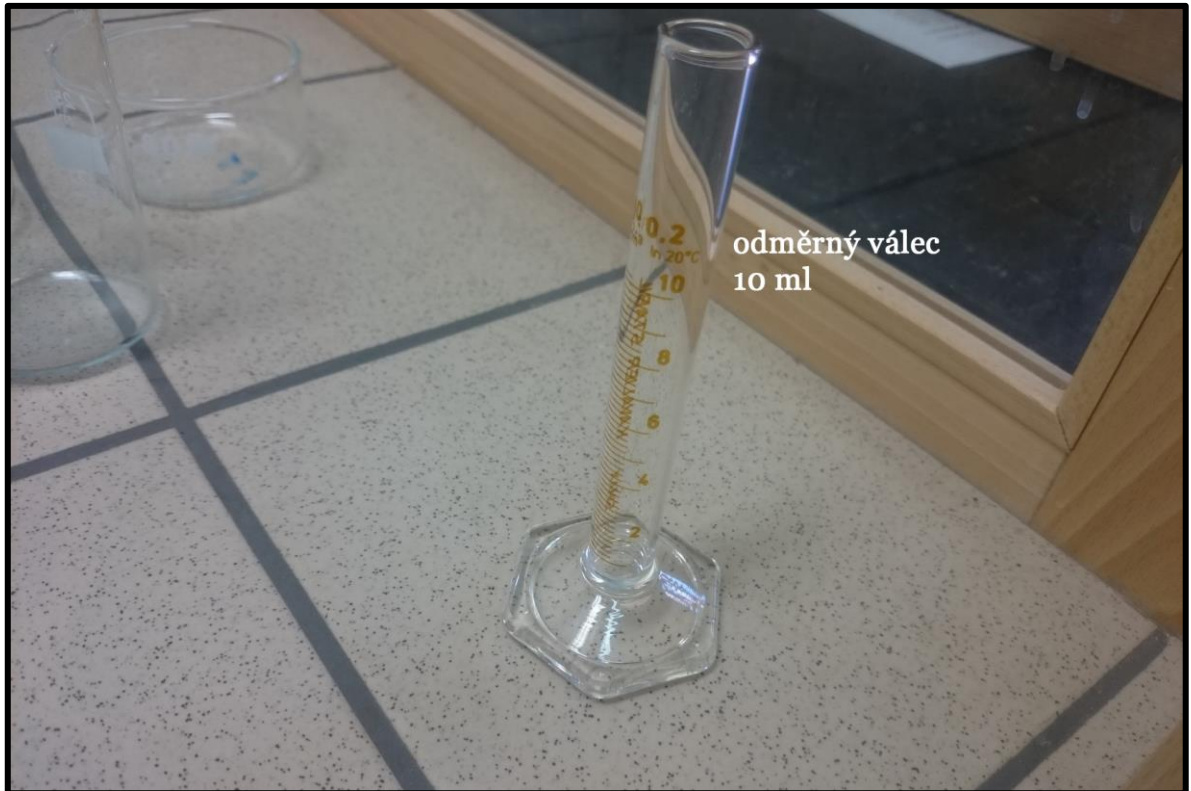
www.mn-net.com Quality "Made in Germany" - Since 1911

MACHERY-NAGEL

MACHERY-NAGEL GmbH & Co. KG
 Neumann-Neander-Str. 6-8 · 52355 Düren · Germany
 Tel.: +49 24 21 969-0 · Fax: +49 24 21 969-199 · info@mn-net.com

A008205 / 1111_5

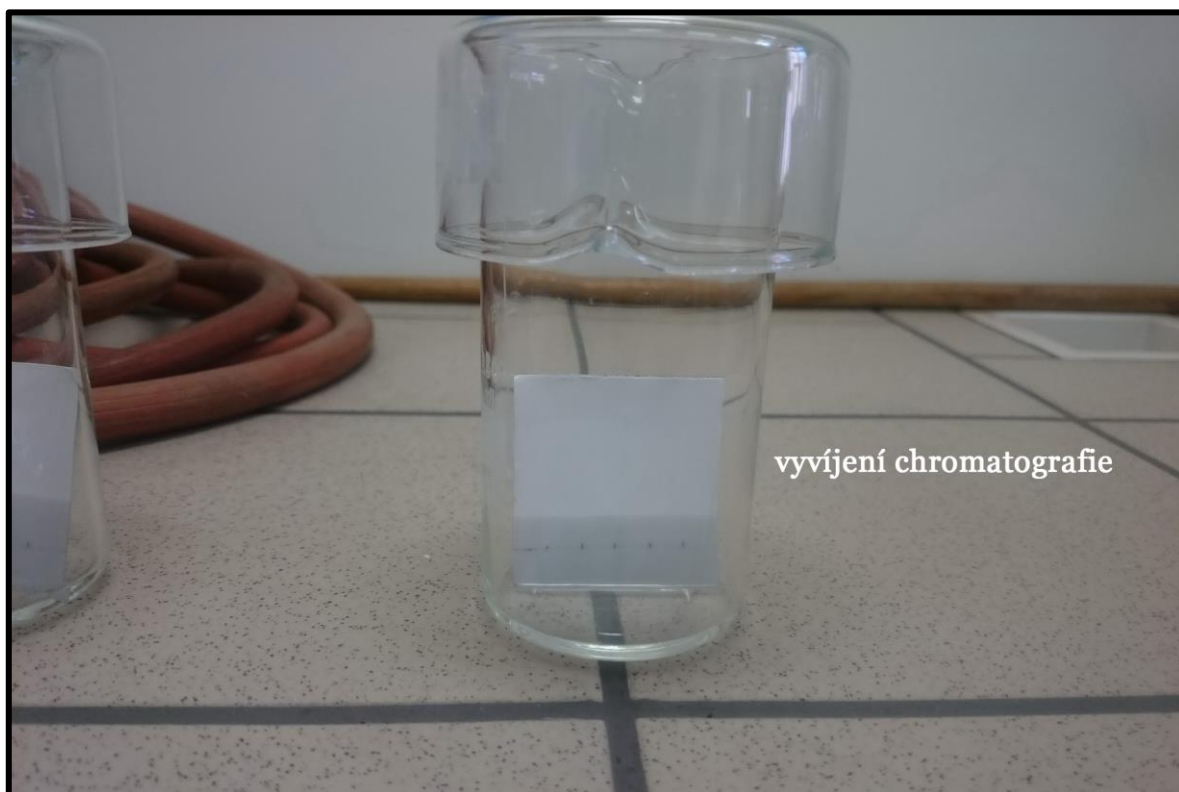
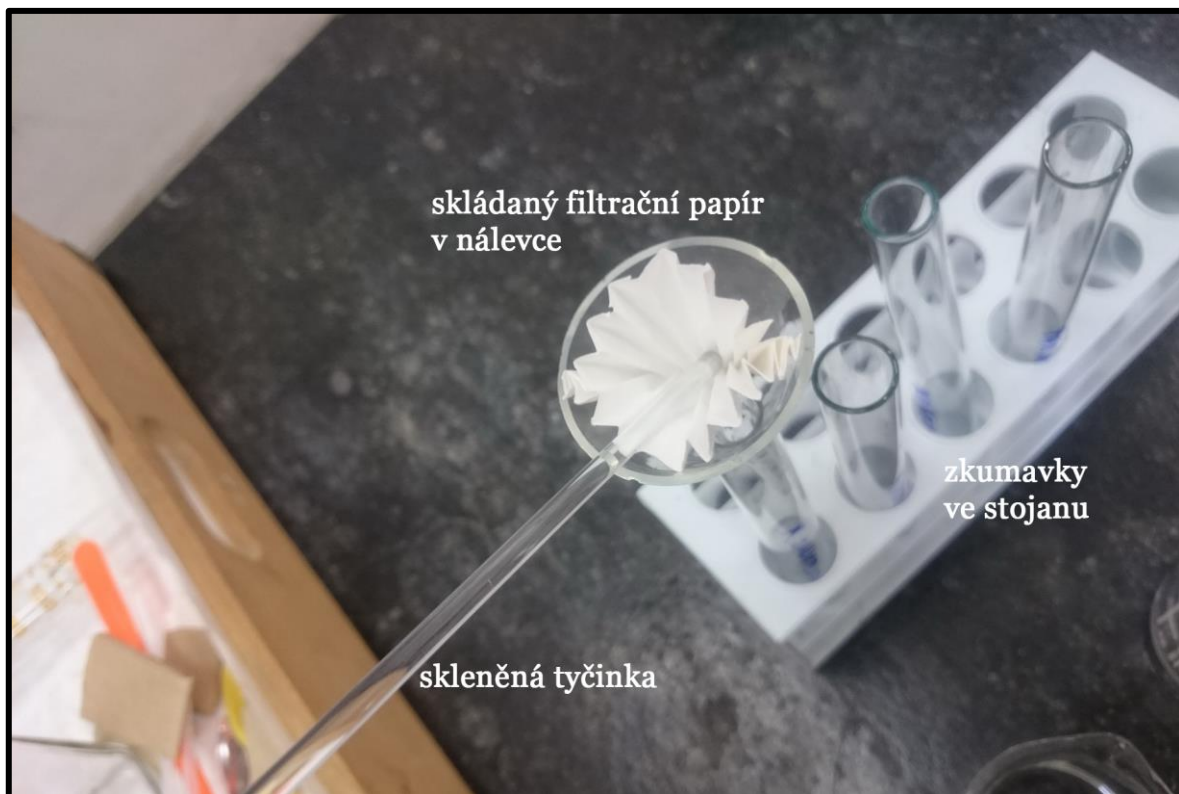


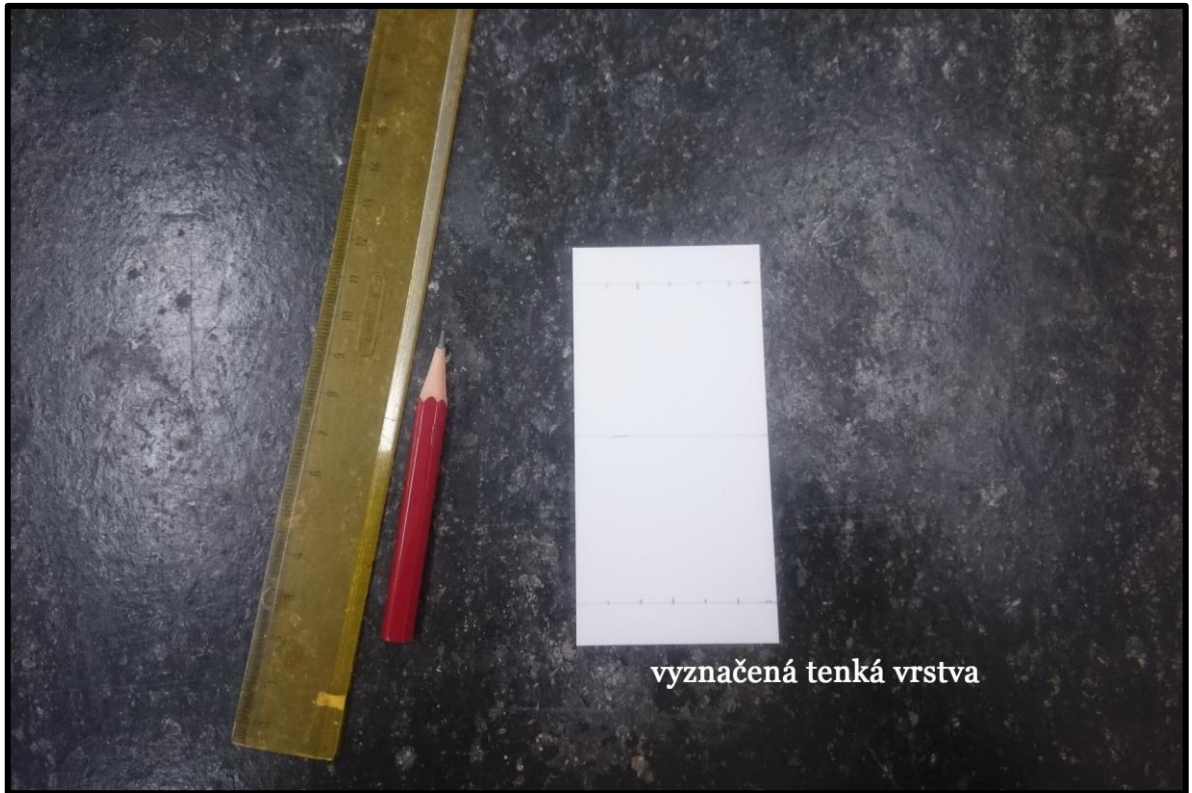


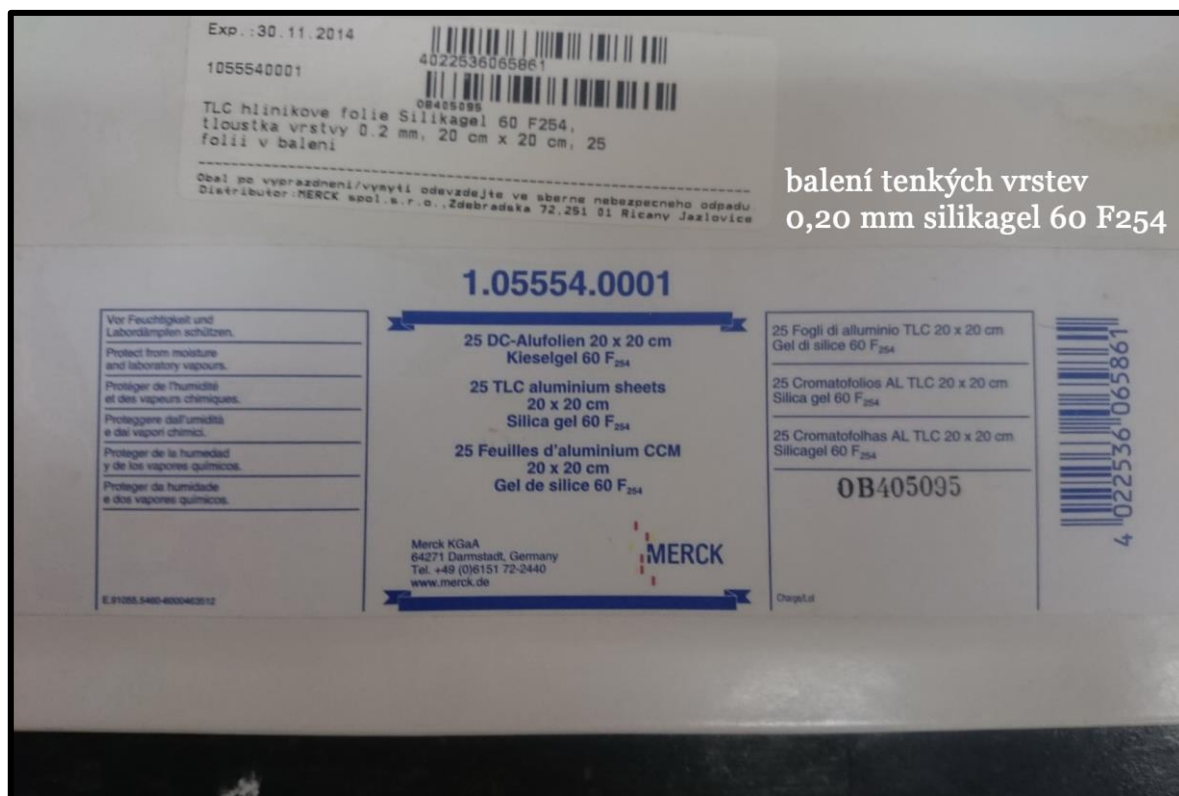
odměrný válec
10 ml



skládaný filtrační papír
v původním obalu







Tabulka 8 - Seznam v ČR prodávaných analgetik k podání per os; podle [143]

název	varianty na českém trhu
ACYGAL 500 MG	500MG TBL NOB 10
ACYLCOFFIN	450MG/50MG TBL NOB 10
ACYLPYRIN 500 MG ŠUMIVÉ TABLETY	500MG TBL EFF 15
ACYLPYRIN	500MG TBL NOB 10
ACYLPYRIN + C	320MG/200MG TBL EFF 12
ALGIRIN	500MG TBL NOB 10
ANOPYRIN 400 MG	400MG TBL NOB 10
ANOPYRIN 100 MG	100MG TBL NOB 2X10 100MG TBL NOB 3X20
ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY	500MG TBL OBD 80 500MG TBL OBD 40 500MG TBL OBD 20

název	varianty na českém trhu
	500MG TBL OBD 8 aspirin.pdf
ASPIRIN	500MG TBL NOB 100 500MG TBL NOB 20
ASPIRIN C	400MG/240MG TBL EFF 20 400MG/240MG TBL EFF 10
ASPIRIN C FORTE ŠUMIVÉ TABLETY	800MG/480MG TBL EFF 10
METAMIZOL STADA 500 MG TABLETA	500MG TBL NOB 60 500MG TBL NOB 20
METAMIZOL STADA 500 MG/ML PERORÁLNÍ KAPKY, ROZTOK	500MG/ML POR GTT SOL 1X100ML 500MG/ML POR GTT SOL 1X20ML
NOVALGIN TABLETY	500MG TBL FLM 20
ACIFEIN	250MG/200MG/50MG TBL NOB 10
ATARALGIN	325MG/130MG/70MG TBL NOB 50 325MG/130MG/70MG TBL NOB 20
COLDREX TABLETY	500MG/25MG/5MG/20MG/30MG TBL NOB 24
COLDREX HORKÝ NÁPOJ CITRON	750MG/10MG/60MG POR PLV SOL SCC 10 750MG/10MG/60MG POR PLV SOL SCC 14
COLDREX HORKÝ NÁPOJ CITRON S MEDEM	750MG/10MG/58MG POR PLV SOL SCC 10
COLDREX JUNIOR CITRON	300MG/5MG/20MG POR PLV SOL SCC 10
COLDREX MAXGRIP CITRON	1000MG/10MG/40MG POR PLV SOL SCC 10 1000MG/10MG/40MG POR PLV SOL SCC 5
COLDREX MAXGRIP LESNÍ OVOCE	1000MG/10MG/70MG POR PLV SOL 10 II

název	varianty na českém trhu
GRIPPOSTAD	200MG/150MG/25MG/2,5MG CPS DUR 20
HUMEX COLD	500MG/4MG CPS DUR 16
NOGRIP	500MG/200MG/25MG POR GRA SOL SCC 14
PANADOL EXTRA	500MG/65MG TBL FLM 30
PANADOL EXTRA RAPIDE	500MG/65MG TBL EFF 12 I
PANADOL NOVUM	500MG TBL FLM 12 I 500MG TBL FLM 24 I
PARALEN 500	500MG TBL NOB 12 500MG TBL NOB 24
PARALEN GRIP CHŘIPKA A BOLEST	500MG/25MG/5MG TBL FLM 12 I 500MG/25MG/5MG TBL FLM 24 I
PARALEN GRIP CHŘIPKA A KAŠEL	500MG/15MG/5MG TBL FLM 12 500MG/15MG/5MG TBL FLM 24
PARALEN GRIP HORKÝ NÁPOJ CITRÓN	650MG/10MG POR GRA SUS 12
PARALEN GRIP HORKÝ NÁPOJ ECHINACEA A ŠÍPKY	500MG/10MG POR GRA SOL SCC 12
PARALEN GRIP HORKÝ NÁPOJ POMERANČ A ZÁZVOR	500MG/10MG POR PLV SOL SCC 12
PARALEN GRIP HORKÝ NÁPOJ TŘEŠEŇ	650MG/10MG POR PLV SOL 12
PARALEN HORKÝ NÁPOJ BEZ CUKRU	500MG POR PLV SOL SCC 12
PARALEN PLUS	325MG/30MG/15MG TBL FLM 24
PARALEN SUS	24MG/ML POR SUS 100ML
PARAMAX COMBI	500MG/65MG TBL NOB 10
PARAMAX RAPID	1G TBL NOB 15

název	varianty na českém trhu
	500MG TBL NOB 30 250MG TBL NOB 10 500MG TBL NOB 100 1G TBL NOB 100 1G TBL NOB 30 1G TBL NOB 5
PARAMEGAL	500MG TBL NOB 30 500MG TBL NOB 10
PARAPYREX	500MG TBL NOB 30
SARIDON	250MG+150MG+50MG TBL NOB 10 250MG+150MG+50MG TBL NOB 20
THERAFLU	500MG/100MG/6,1MG CPS DUR 16
THOMAPYRIN	250MG/200MG/50MG TBL NOB 20
VALETOL	300MG/150MG/50MG TBL NOB 24 300MG/150MG/50MG TBL NOB 12
VICKS SYMPTOMED CLASSIC CITRÓN	500MG/12,2MG POR PLV SOL 14
VICKS SYMPTOMED FORTE CITRÓN	1000MG/12,2MG POR PLV SOL SCC 10
VICKS SYMPTOMED FORTE CITRÓN	1000MG/12,2MG POR PLV SOL SCC 5

Tabulka 9 – Léčiva vybraná k analýze pomocí TLC; podle [143]

léčivo	kyselina acetylsalicylová	paracetamol	kofein
ASPIRIN	✓ 500 mg		
ACYLPYRIN	✓ 500 mg		
ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY	✓ 500 mg		

léčivo	kyselina acetylsalicylová	paracetamol	kofein
ANOPYRIN 400 MG		✓ 400 mg	
ACYLCOFFIN	✓ 450 mg		✓ 50 mg
PARALEN 500		✓ 500 mg	
PANADOL NOVUM		✓ 500 mg	
PANADOL EXTRA		✓ 500 mg	✓ 65 mg
ACIFEIN	✓ 250 mg	✓ 200 mg	✓ 50 mg
THOMAPYRIN	✓ 250 mg	✓ 200 mg	✓ 50 mg

3.4 Metodika a vyhodnocení chromatogramů

Vzorek byl vždy nejprve důkladně rozetřen v hmoždíři a následně rozpuštěn a extrahován v ethanolu. Takto extrahovaný vzorek byl následně filtrován do čirého roztoku. Z počátku byla využívána malá chromatografická komora, která byla pro úsporu času, a nedostatek více těchto komor, nahrazena kádinkou zakrývanou krystalizační miskou. Je patrné, jak je důležité provést vysoušení vzorku, které bylo na začátku měření opomenuto (vrstva 01), a proto jsou vpředu vrstvy vidět stopy po ethanolu. V případě použití toluenu jako mobilní fáze zůstává kyselina acetylsalicylová na startu (vzorek 02). Eluční činidlo toluenu a ethylacetátu v poměru 8 : 2 má potenciál posunout kyselinu acetylsalicylovou od startu (vrstva 03 – 05). Posun je způsoben především ethylacetátem, který sám o sobě posune kyselinu acetylsalicylovou od startu (vrstva 6 – 8). V případě analýzy obalené tablety s kyselinou acetylsalicylovou ve stejné mobilní fázi zůstává vzorek na startu a jen se částečně vymývá a vytváří horní ohon. Lze předpokládat, že se za daných podmínek tvoří sodná nebo zinečnatá sůl (vrstva 9 – 10). V případě neobalené tablety dochází k výraznému posunu od startu, ale vytváří se opět ohon, tentokrát dolní (vrstva 11 – 12). V případě chromatografování kyseliny salicylové a acetylsalicylové je patrné, že kyselina salicylová se pohybuje pomaleji na rozdíl od kyseliny acetylsalicylové (vrstva 13). V případě neutralizace na sůl je vidět, že vzorek kyseliny acetylsalicylové zůstává na startu (vrstva 14). V obalené tabletě se vyskytuje kyselina acetylsalicylová

ve formě soli, a proto zůstává na startu (vrstva 15 – 17). Kofein a kyselina acetylsalicylová mají při vyvíjení v ethylacetátu podobnou vzdálenost od startu, ale kofein více zháší (vrstva 18). K posunu od sebe nedošlo ani změnou mobilní fáze na ethylacetát a toluen v poměru 1 : 1, a nebo ethanol a toluen v poměru 2 : 8 (vrstva 19 – 20). Při použití mobilního činidla propan-1-olu a amoniaku v poměru 2 : 1 se skvrny nachází dále od startu a dolní skvrna pravděpodobně náleží kyselině salicylové, která vyniká svou modrou fluorescencí. Zatímco kyselina acetylsalicylová pouze zháší růžově (vrstva 21). Při použití stejného rozpouštědla, ale v poměru 4 : 1 se skvrny nachází o něco blíže startu, ale nedochází k oddělení kyseliny salicylové a acetylsalicylové (vrstva 22). Ani v rozpouštědle toluen a kyselina octová v poměru 1 : 1 nedojde k oddělení kyseliny salicylové a acetylsalicylové (vrstva 23 – 24). Proto byla vyzkoušena 2D chromatografie, při které bylo nejprve vyvíjeno v propan-1-olu a amoniak v poměru 2 : 1 a následně v toluenu s kyselinou octovou v poměru 1 : 1. Toto dělení nebylo vhodné a vytvářelo v závěru velký ohon nahoru, pravděpodobně způsobený reakcí vzorků s mobilní fází za vzniku jiných sloučenin (vrstva 25, 29 – 30). Kofein se dobře dělí v roztoku toluenu a kyseliny octové v poměru 1 : 1 (vrstva 26). Pro identifikaci kyseliny salicylové (dochází ihned) a acetylsalicylové (po zahřátí) lze použít slabý roztok chloridu železitého (vrstva 31 – 35). Žádná ze sledovaných látek není posouvána ze startu roztokem petroletheru s acetonem v poměru 85 : 15, a ani n-hexanem s acetonem v poměru 85 : 15 (vrstvy 36 – 37). Znatelnější rozdělení nastalo při použití trojsložkové směsi n-hexan, ethylacetát a kyselina octová, nejprve v poměru 45 : 50 : 5 (vrstva 38 – 41) a následně, což se ukázalo jako nejvhodnější poměr 65 : 30 : 5 (vrstva 42 – 43). Takto nalezená směs je ideální pro výukové účely, protože všechny její složky jsou akceptovatelné po doxologické stránce ve školním prostředí. Následně, jak byla metoda testována a optimalizována, tak se i vyvíjecí čas zkrátil na řády minut, což je další neoddiskutovatelnou výhodou této metody. Průměrný čas této soustavy je 4 minuty a 50 vteřin (**Tabulka 10**).

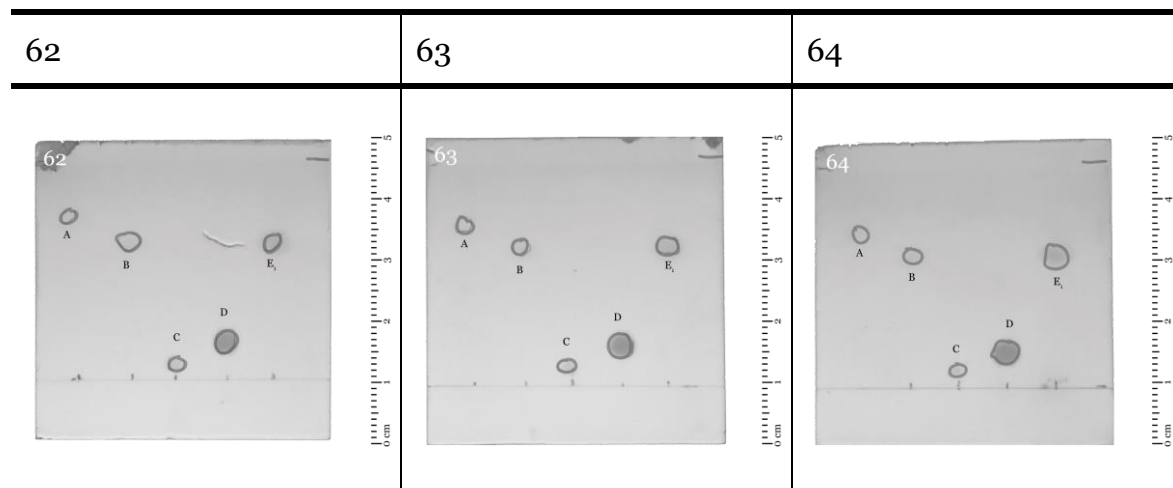
Veškeré analyzované vzorky jsou dostupné v příloze (**Příloha B**), kde jsou chromatogramy v původní nafocené podobě. Finální výsledky byly převedeny grafickým programem do odstínů šedi s použitím zeleného filtru.

3.4.1 TLC analýza léčiva ASPIRIN

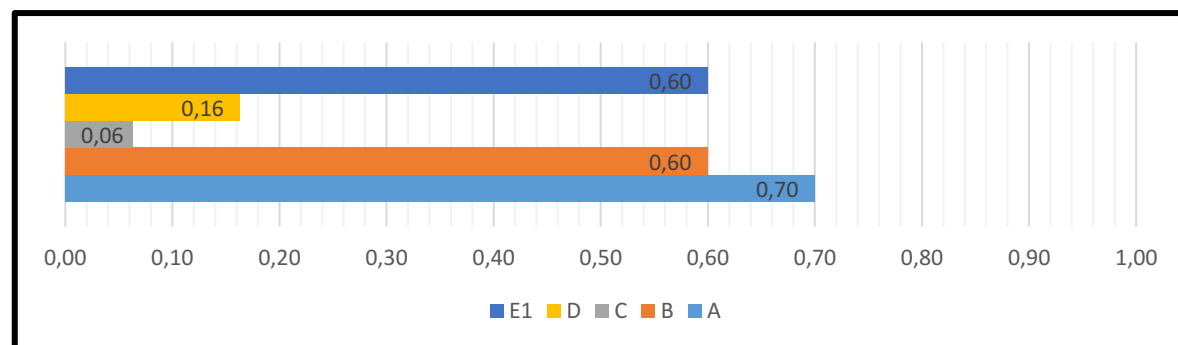
Stacionární fáze: 0,20 mm silikagel 60 F₂₅₄

Mobilní fáze: n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5

Detekce: 254 nm



Z _F	5	Z _{start}	1	Z _{čelo}	0,3	0,3	0,4		
	Z _{S62}	Z _{S63}	Z _{S64}	R _{F62}	R _{F63}	R _{F64}	A	σ	(rozměry jsou uváděny v cm)
A	2,7	2,6	2,4	0,73	0,70	0,67	0,70	0,03	kyselina salicylová
B	2,3	2,2	2,1	0,62	0,59	0,58	0,60	0,02	kyselina acetylsalicylová
C	0,2	0,3	0,2	0,05	0,08	0,06	0,06	0,01	kofein
D	0,7	0,6	0,5	0,19	0,16	0,14	0,16	0,02	paracetamol
E ₁	2,3	2,2	2,1	0,62	0,59	0,58	0,60	0,02	ASPIRIN



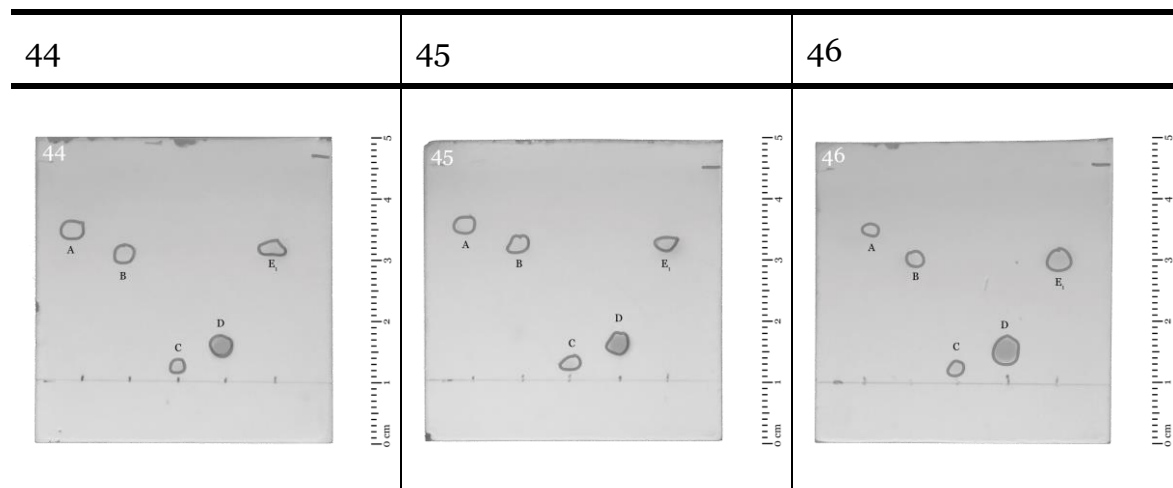
Jednotlivé složky jsou definovány a mají rozdílný R_F. Léčivo PARALEN 500 obsahuje účinnou látku paracetamol (E₁).

3.4.2 TLC analýza léčiva ACYLPYRIN

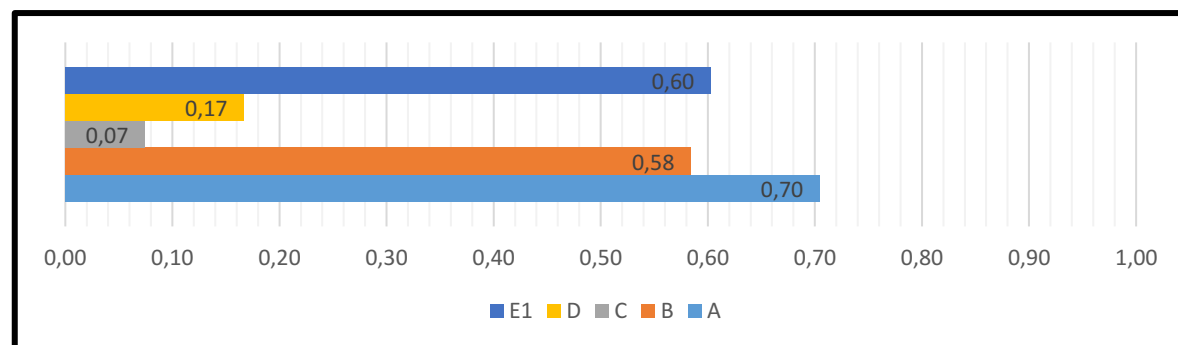
Stacionární fáze: 0,20 mm silikagel 60 F₂₅₄

Mobilní fáze: n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5

Detekce: 254 nm



Z _F	5	Z _{start}	1	Z _{čelo}	0,3	0,5	0,4		
	Z _{S44}	Z _{S45}	Z _{S46}	R _{F44}	R _{F45}	R _{F46}	A	σ	(rozměry jsou uváděny v cm)
A	2,5	2,6	2,5	0,68	0,74	0,69	0,70	0,03	kyselina salicylová
B	2,1	2,2	2,0	0,57	0,63	0,56	0,58	0,03	kyselina acetylsalicylová
C	0,3	0,3	0,2	0,08	0,09	0,06	0,07	0,01	kofein
D	0,6	0,6	0,6	0,16	0,17	0,17	0,17	0,00	paracetamol
E ₁	2,2	2,3	2,0	0,59	0,66	0,56	0,60	0,04	ACYLPYRIN



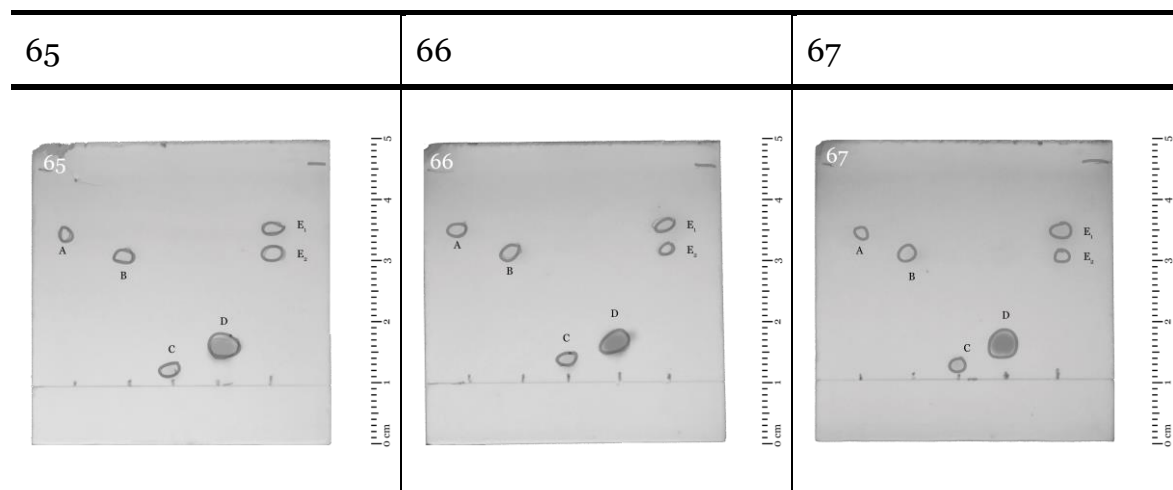
Jednotlivé složky jsou definovány a mají rozdílný R_F. Léčivo ACYLPYRIN obsahuje účinnou látku kyselinu acetylsalicylovou (E₁).

3.4.3 TLC analýza léčiva ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY

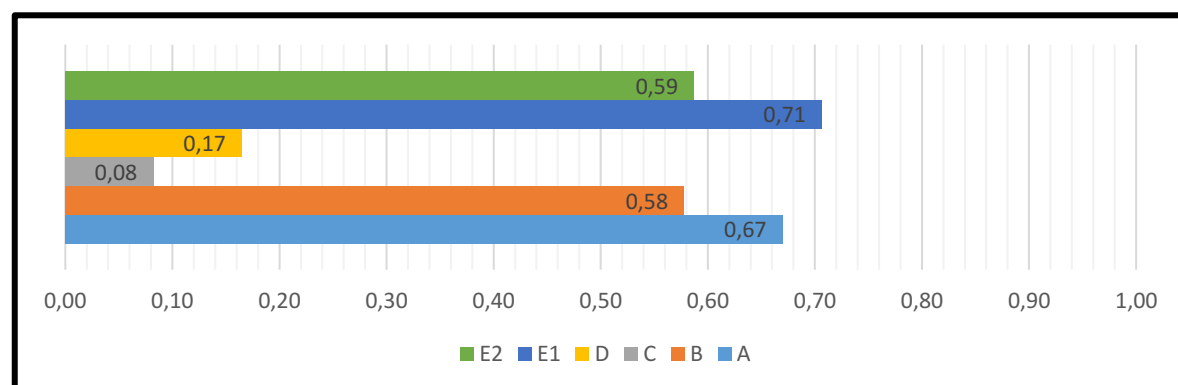
Stacionární fáze: 0,20 mm silikagel 60 F₂₅₄

Mobilní fáze: n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5

Detekce: 254 nm



Z _F	5	Z _{start}	1	Z _{čelo}	0,4	0,4	0,3		
	Z _{S65}	Z _{S66}	Z _{S67}	R _{F65}	R _{F66}	R _{F67}	A	σ	(rozměry jsou uváděny v cm)
A	2,4	2,5	2,4	0,67	0,69	0,65	0,67	0,02	kyselina salicylová
B	2,1	2,1	2,1	0,58	0,58	0,57	0,58	0,01	kyselina acetylsalicylová
C	0,2	0,3	0,4	0,06	0,08	0,11	0,08	0,02	kofeín
D	0,6	0,6	0,6	0,17	0,17	0,16	0,17	0,00	paracetamol
E ₁	2,6	2,6	2,5	0,72	0,72	0,68	0,71	0,02	ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY
E ₂	2,1	2,2	2,1	0,58	0,61	0,57	0,59	0,02	ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY



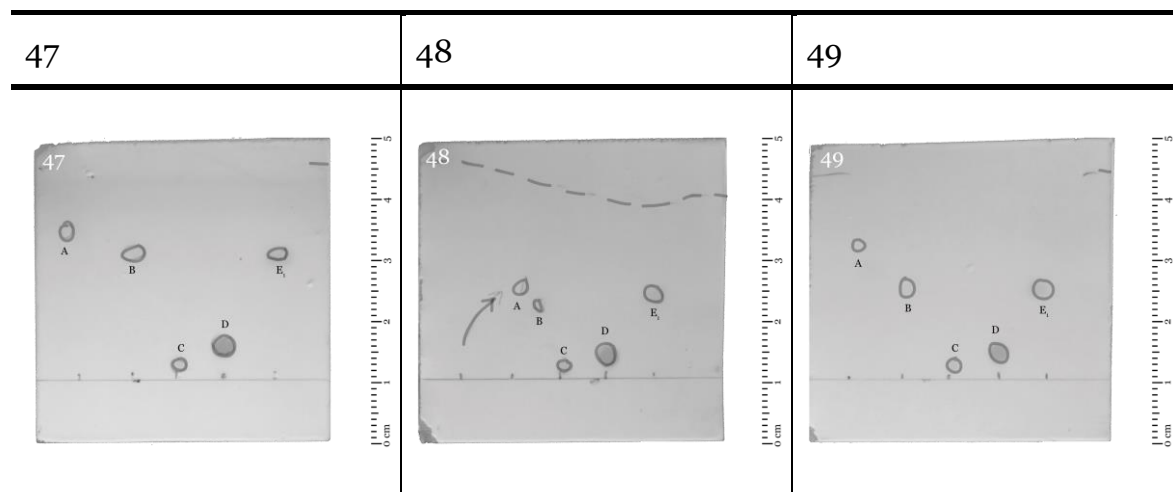
Jednotlivé složky jsou definovány a mají rozdílný R_F . Léčivo ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY obsahuje účinnou látku kyselinu acetylsalicylovou (E_2) a byla zde identifikována i kyselina salicylová (E_1)¹⁴.

3.4.4 TLC analýza léčiva ANOPYRIN 400 MG

Stacionární fáze: 0,20 mm silikagel 60 F₂₅₄

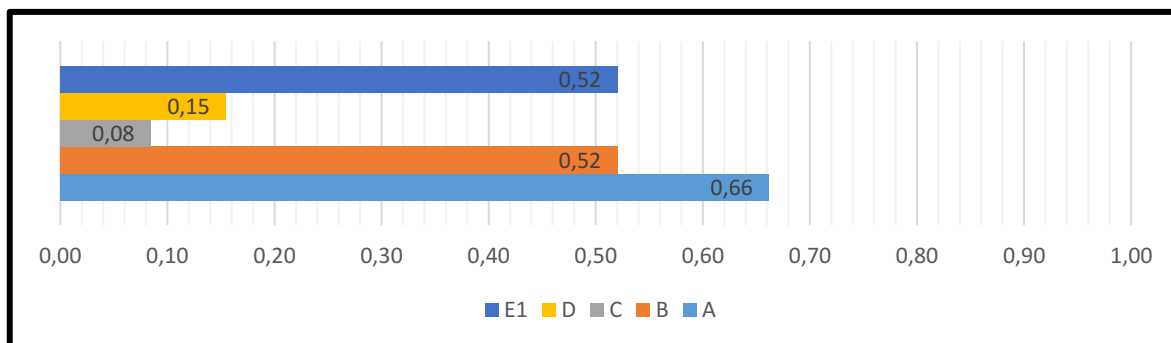
Mobilní fáze: n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5

Detekce: 254 nm



Z_F	5	Z_{start}	1	Z_{celo}	0,4		0,5		
	Z_{S47}	Z_{S48}	Z_{S49}	R_{F47}	R_{F48}	R_{F49}	A	σ	(rozměry jsou uváděny v cm)
A	2,4		2,3	0,67		0,66	0,66	0,00	kyselina salicylová
B	2,1		1,6	0,58		0,46	0,52	0,06	kyselina acetylsalicylová
C	0,3		0,3	0,08		0,09	0,08	0,00	kofein
D	0,6		0,5	0,17		0,14	0,15	0,01	paracetamol
E_1	2,1		1,6	0,58		0,46	0,52	0,06	ANOPYRIN 400 MG

¹⁴ Přítomnost kyseliny salicylové může být dána částečnou přeměnou kyseliny acetylsalicylové během manipulace se vzorkem.



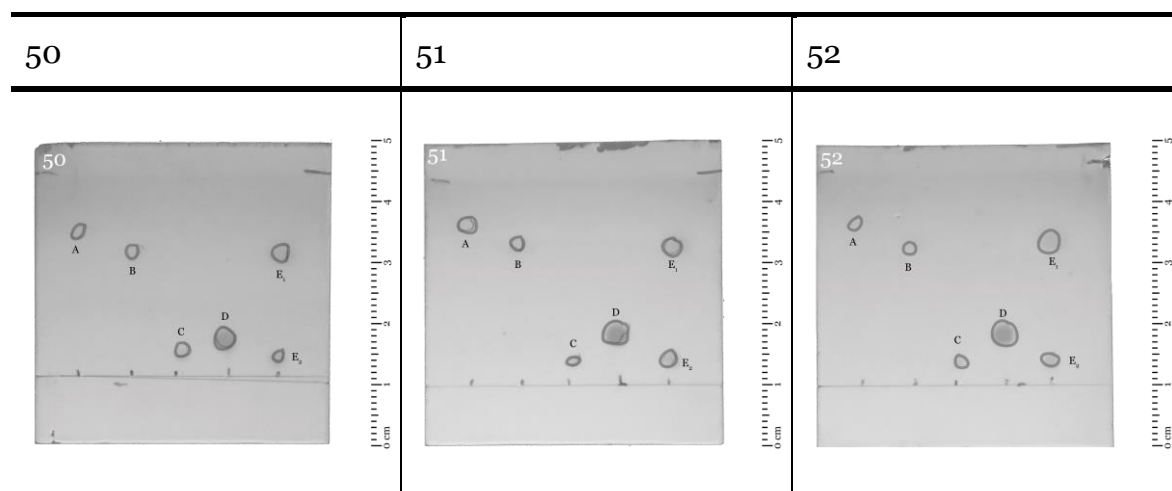
Jednotlivé složky jsou definovány a mají rozdílný R_F. Léčivo ANOPYRIN 400 MG obsahuje účinnou látku kyselinu acetylsalicylovou (E₁).

3.4.5 TLC analýza léčiva ACYLCOFFIN

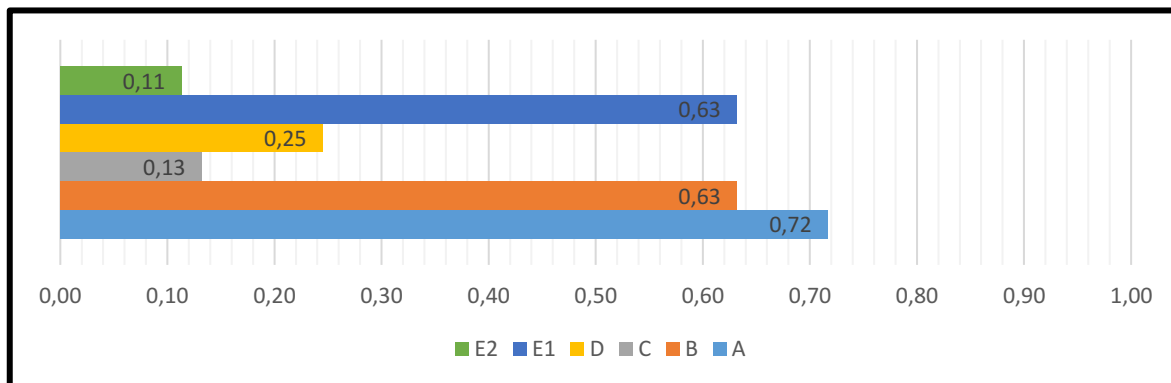
Stacionární fáze: 0,20 mm silikagel 60 F₂₅₄

Mobilní fáze: n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5

Detekce: 254 nm



Z _F	5	Z _{start}	1	Z _{čelo}	0,5	0,5	0,3		
	Z _{S50}	Z _{S51}	Z _{S52}	R _{F50}	R _{F51}	R _{F52}	A	σ	(rozměry jsou uváděny v cm)
A	2,5	2,5	2,6	0,71	0,71	0,72	0,72	0	kyselina salicylová
B	2,1	2,3	2,3	0,60	0,66	0,64	0,63	0,02	kyselina acetylsalicylová
C	0,6	0,4	0,4	0,17	0,11	0,11	0,13	0,03	kofein
D	0,8	0,9	0,9	0,23	0,26	0,25	0,25	0,01	paracetamol
E ₁	2,1	2,3	2,3	0,60	0,66	0,64	0,63	0,02	ACYLCOFFIN
E ₂	0,4	0,4	0,4	0,11	0,11	0,11	0,11	0,00	ACILCOFFIN



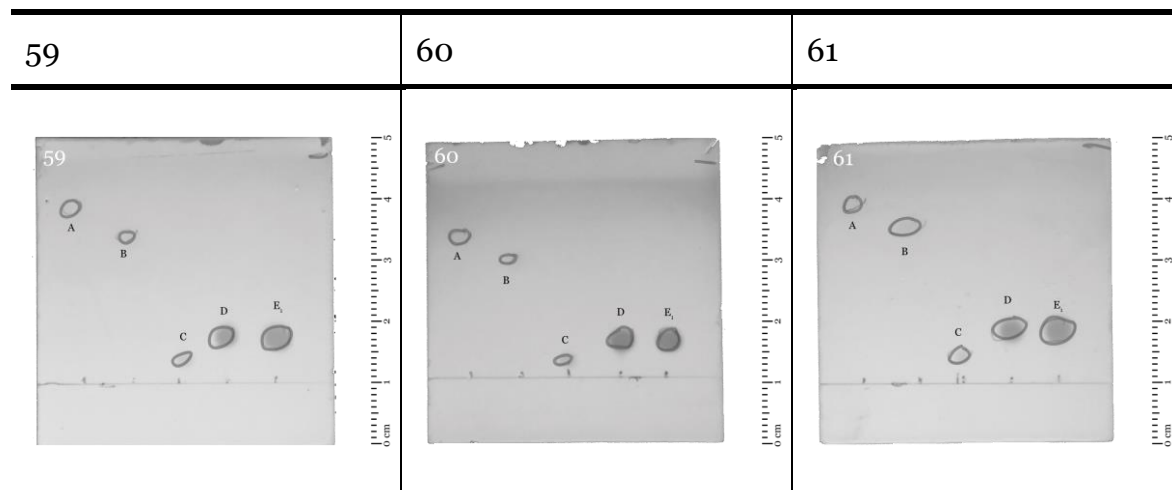
Jednotlivé složky jsou definovány a mají rozdílný R_F. Léčivo ACYLCOFFIN obsahuje účinnou látku kyselinu acetylsalicylovou (E₁) a kofein (E₂).

3.4.6 TLC analýza léčiva PARALEN 500

Stacionární fáze: 0,20 mm silikagel 60 F₂₅₄

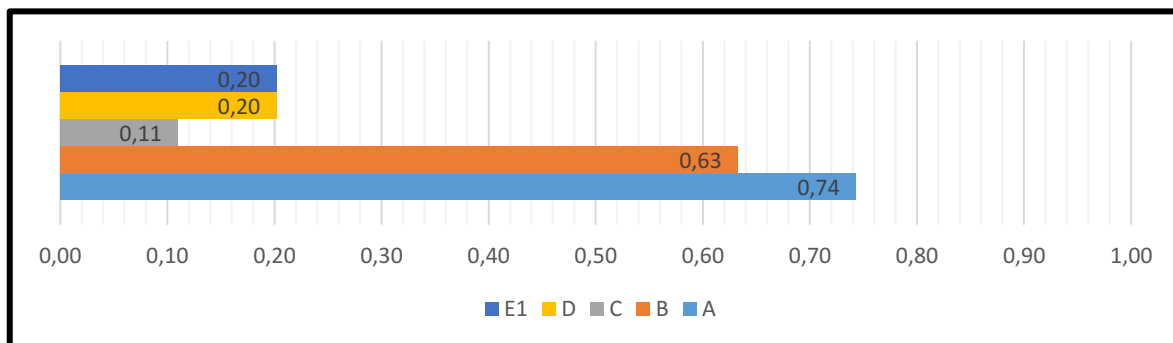
Mobilní fáze: n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5

Detekce: 254 nm



Z _F	5	Z _{start}	1	Z _{čelo}	0,3	0,4	0,1		
	Z _{S59}	Z _{S60}	Z _{S61}	R _{F59}	R _{F60}	R _{F61}	A	σ	(rozměry jsou uváděny v cm)
A	2,8	2,4	2,9	0,76	0,67	0,81	0,74	0,06	kyselina salicylová
B	2,4	2,0	2,5	0,65	0,56	0,69	0,63	0,06	kyselina acetylsalicylová
C	0,4	0,4	0,4	0,11	0,11	0,11	0,11	0,00	kofein
D	0,7	0,7	0,8	0,19	0,19	0,22	0,20	0,01	paracetamol

Z _F	5	Z _{start}	1	Z _{čelo}	0,3	0,4	0,1		
	Z _{S59}	Z _{S60}	Z _{S61}	R _{F59}	R _{F60}	R _{F61}	A	σ	(rozměry jsou uváděny v cm)
E ₁	0,7	0,7	0,8	0,19	0,19	0,22	0,20	0,01	PARALEN 500



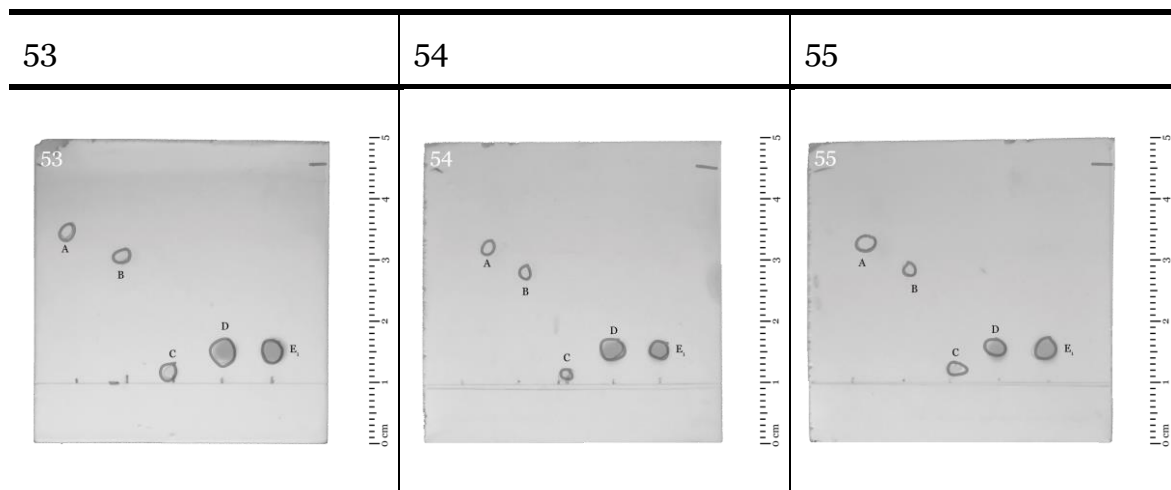
Jednotlivé složky jsou definovány a mají rozdílný R_F. Lécivo PARALEN 500 obsahuje účinnou látku paracetamol (E₁).

3.4.7 TLC analýza léčiva PANADOL NOVUM

Stacionární fáze: 0,20 mm silikagel 60 F₂₅₄

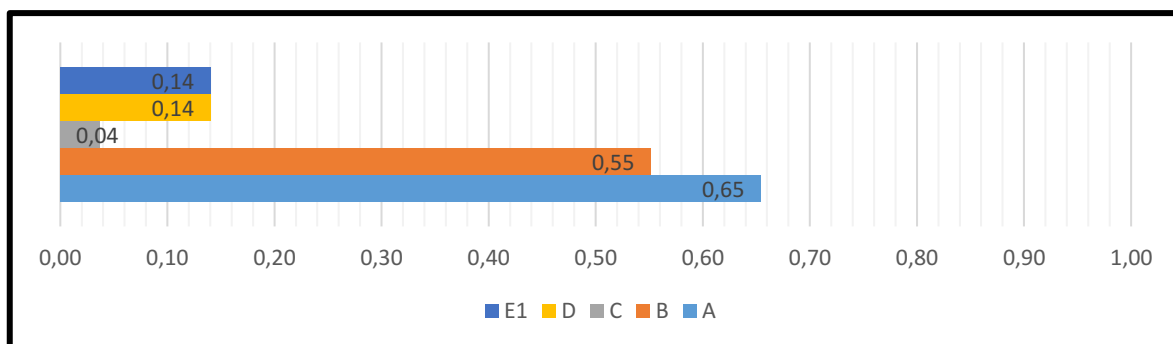
Mobilní fáze: n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5

Detekce: 254 nm



Z _F	5	Z _{start}	1	Z _{čelo}	0,4	0,5	0,4		
	Z _{S53}	Z _{S54}	Z _{S55}	R _{F53}	R _{F54}	R _{F55}	A	σ	(rozměry jsou uváděny v cm)
A	2,5	2,2	2,3	0,69	0,63	0,64	0,65	0,03	kyselina salicylová

Z _F	5	Z _{start}	1	Z _{čelo}	0,4	0,5	0,4		
	Z _{S53}	Z _{S54}	Z _{S55}	R _{F53}	R _{F54}	R _{F55}	A	σ	(rozměry jsou uváděny v cm)
B	2,1	1,9	1,9	0,58	0,54	0,53	0,55	0,02	kyselina acetylsalicylová
C	0,1	0,1	0,2	0,03	0,03	0,06	0,04	0,01	kofein
D	0,5	0,5	0,5	0,14	0,14	0,14	0,14	0,00	paracetamol
E ₁	0,5	0,5	0,5	0,14	0,14	0,14	0,14	0,00	PANADOL NOVUM



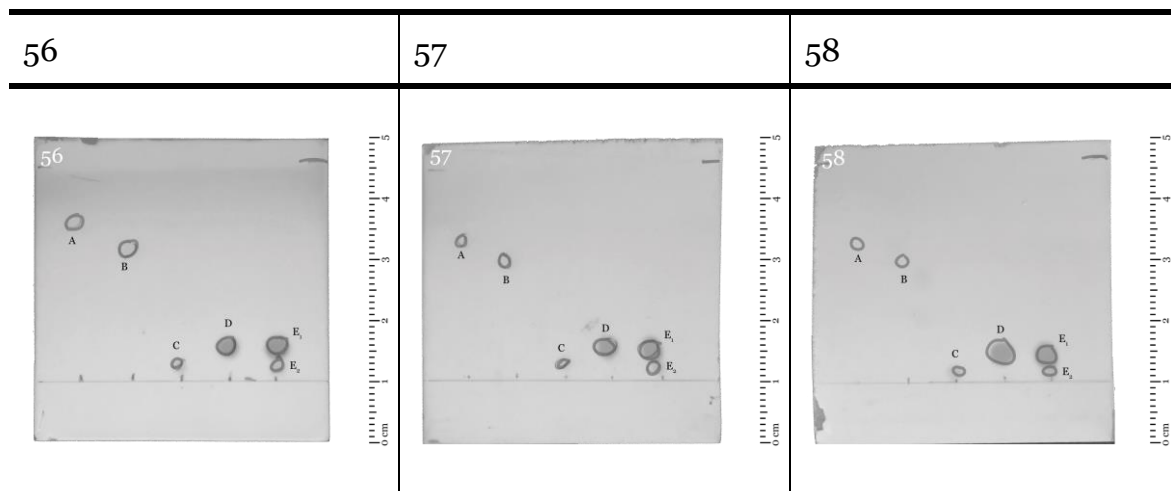
Jednotlivé složky jsou definovány a mají rozdílný R_F. Léčivo PANADOL NOVUM obsahuje účinnou látku paracetamol (E₁).

3.4.8 TLC analýza léčiva PANADOL EXTRA

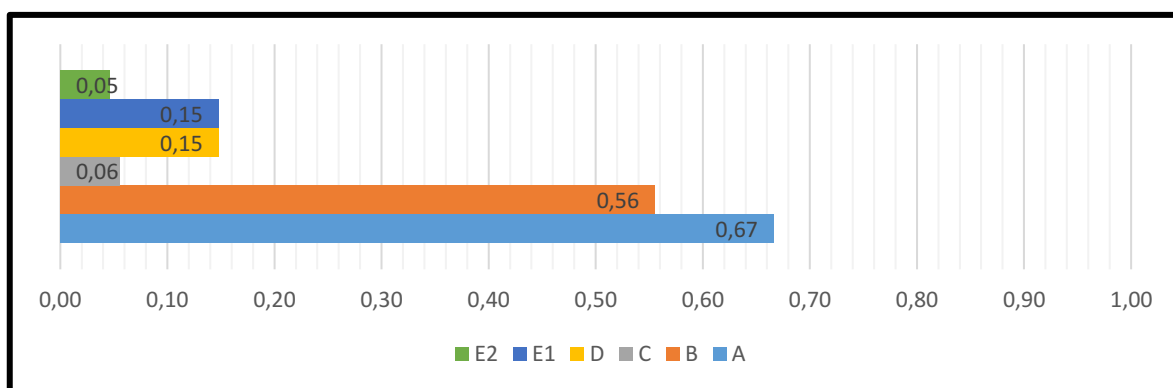
Stacionární fáze: 0,20 mm silikagel 60 F₂₅₄

Mobilní fáze: n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5

Detekce: 254 nm



Z _F	5	Z _{start}	1	Z _{čelo}	0,4	0,4	0,3		
	Z _{S56}	Z _{S57}	Z _{S58}	R _{F56}	R _{F57}	R _{F58}	A	σ	(rozměry jsou uváděny v cm)
A	2,6	2,3	2,3	0,72	0,64	0,64	0,67	0,04	kyselina salicylová
B	2,1	1,9	2,0	0,58	0,53	0,56	0,56	0,02	kyselina acetylsalicylová
C	0,2	0,2	0,2	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00	kofein
D	0,6	0,6	0,4	0,17	0,17	0,11	0,15	0,03	paracetamol
E ₁	0,6	0,6	0,4	0,17	0,17	0,11	0,15	0,03	PANADOL EXTRA
E ₂	0,2	0,2	0,1	0,06	0,06	0,03	0,05	0,01	PANADOL EXTRA



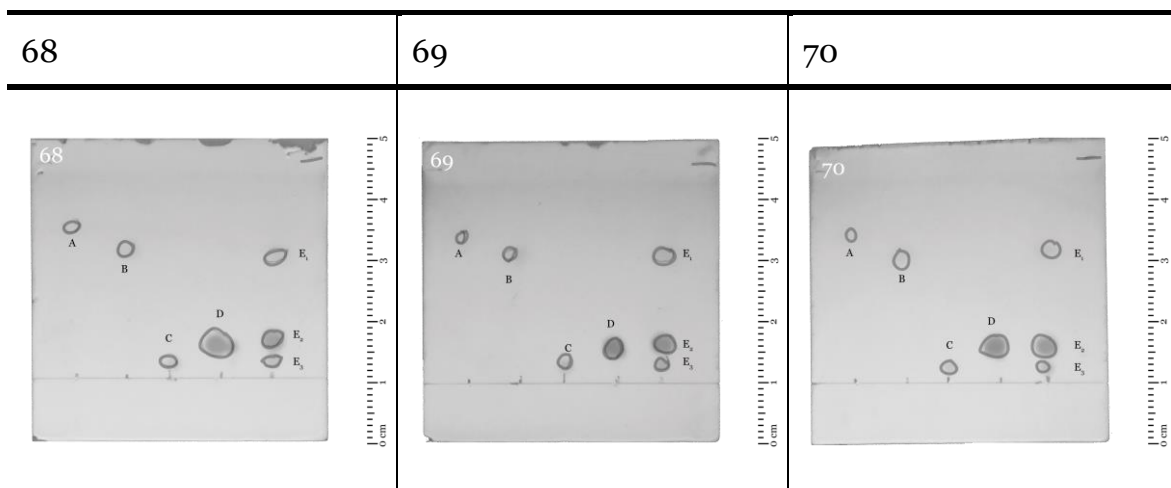
Jednotlivé složky jsou definovány a mají rozdílný R_F. Lécivo PANADOL EXTRA obsahuje účinnou látku paracetamol (E₁) a kofein (E₂).

3.4.9 TLC analýza léčiva ACIFEIN

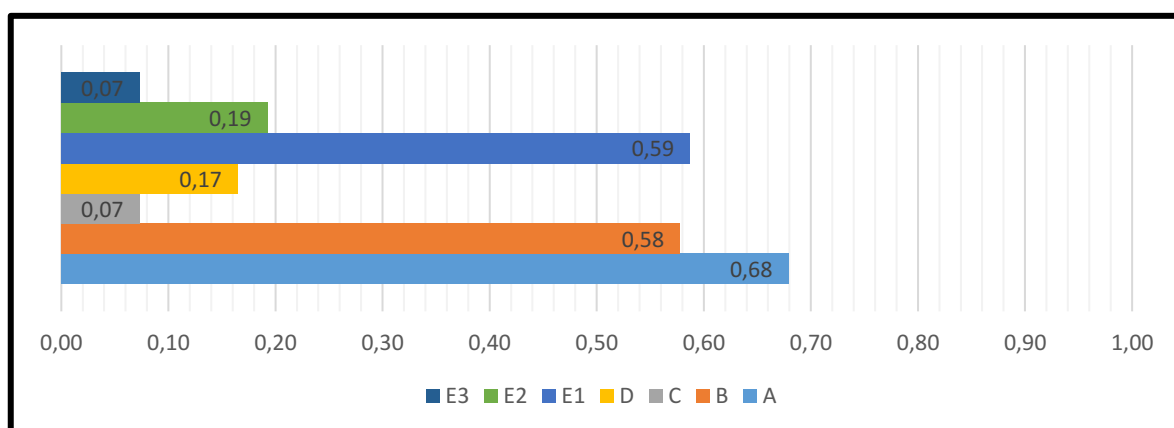
Stacionární fáze: 0,20 mm silikagel 60 F₂₅₄

Mobilní fáze: n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5

Detekce: 254 nm



Z _F	5	Z _{start}	1	Z _{čelo}	0,4	0,3	0,4		
	Z _{S68}	Z _{S69}	Z _{S70}	R _{F68}	R _{F69}	R _{F70}	A	σ	(rozměry jsou uváděny v cm)
A	2,5	2,4	2,5	0,69	0,65	0,69	0,68	0,02	kyselina salicylová
B	2,2	2,1	2,0	0,61	0,57	0,56	0,58	0,02	kyselina acetylsalicylová
C	0,3	0,3	0,2	0,08	0,08	0,06	0,07	0,01	kofein
D	0,6	0,6	0,6	0,17	0,16	0,17	0,17	0,00	paracetamol
E ₁	2,1	2,1	2,2	0,58	0,57	0,61	0,59	0,02	ACIFEIN
E ₂	0,8	0,7	0,6	0,22	0,19	0,17	0,19	0,02	ACIFEIN
E ₃	0,3	0,3	0,2	0,08	0,08	0,06	0,07	0,01	ACIFEIN



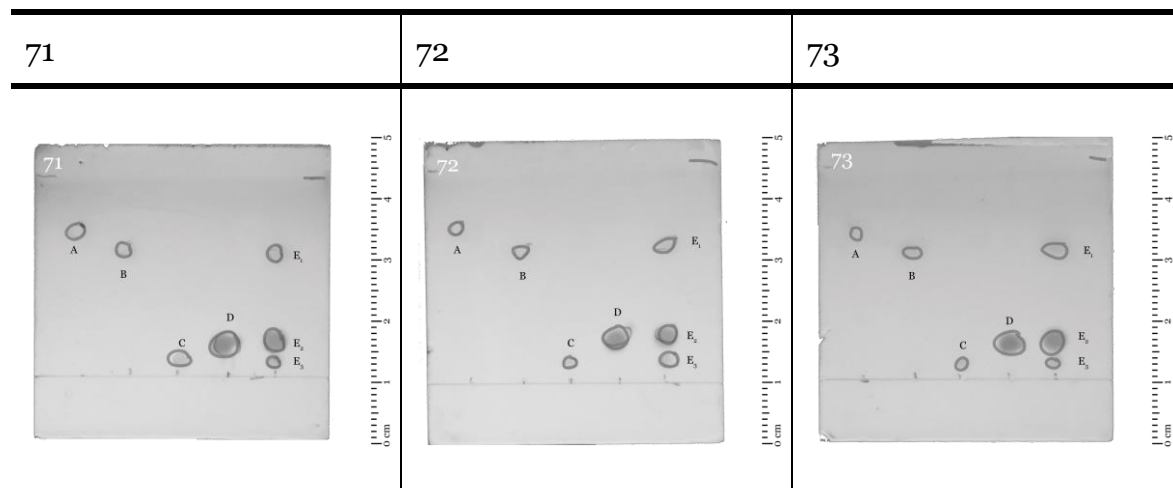
Jednotlivé složky jsou definovány a mají rozdílný R_F. Léčivo ACIFEIN obsahuje účinnou látku kyselinu acetylsalicylovou (E₁), paracetamol (E₂) a kofein (E₃).

3.4.10 TLC analýza léčiva THOMAPYRIN

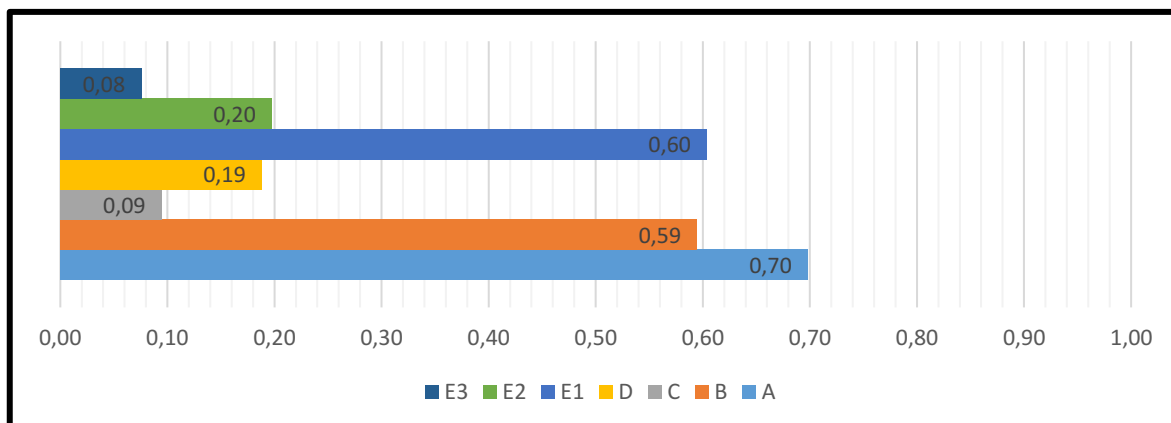
Stacionární fáze: 0,20 mm silikagel 60 F₂₅₄

Mobilní fáze: n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5

Detekce: 254 nm



Z _F	5	Z _{start}	1	Z _{čelo}	0,6	0,4	0,4		
	Z _{S71}	Z _{S72}	Z _{S73}	R _{F71}	R _{F72}	R _{F73}	A	σ	(rozměry jsou uváděny v cm)
A	2,4	2,5	2,5	0,71	0,69	0,69	0,70	0,01	kyselina salicylová
B	2,1	2,1	2,1	0,62	0,58	0,58	0,59	0,02	kyselina acetylsalicylová
C	0,4	0,3	0,3	0,12	0,08	0,08	0,09	0,02	kofein
D	0,6	0,7	0,7	0,18	0,19	0,19	0,19	0,01	paracetamol
E ₁	2,1	2,2	2,1	0,62	0,61	0,58	0,60	0,01	THOMAPYRIN
E ₂	0,6	0,8	0,7	0,18	0,22	0,19	0,20	0,02	THOMAPYRIN
E ₃	0,3	0,3	0,2	0,09	0,08	0,06	0,08	0,01	THOMAPYRIN



Jednotlivé složky jsou definovány a mají rozdílný R_F . Léčivo THOMAPYRIN obsahuje účinnou látku kyselinu acetylsalicylovou (E_1), paracetamol (E_2) a kofein (E_3).

Tabulka 10 – Čas vyvíjení podle zvolení metody

analýza	minuty	vteřiny
1	5	50
2	5	40
3	5	00
4	4	42
5	5	00
6	4	16
7	5	00
8	4	07
9	3	52
průměr	4	50

4 Výsledky a diskuze

V rámci nalezené a vyzkoušené soustavy tenkovrstvé chromatografie pro vybraná analgetika-antipyretika a s ohledem na Bloomovu taxonomii z roku 2001 (**Obrázek 17**) byla vytvořena laboratorní úloha, která se snaží věnovat kognitivní, psychomotorické i postojové funkci výuky s ohledem na všechny klíčové kompetence tak, jak jsou definovány v rámcových vzdělávacích programech České republiky a jsou aplikovatelné na toto téma [145 s. 9, 146 s. 10–13]. Pracovní list se zadáním je na obrázku (**Obrázek 15**) včetně metodiky pro pedagoga (**Obrázek 16**). Verze k tisku je přiložena na datovém nosiči nebo ji je možné stáhnout přes odkaz:

- Zadání pro žáka / studenta

(<https://drive.google.com/file/d/1LykBIwIjgB4bBm8BmPxvF1ELlJZShDio/view?usp=sharing>)



- Metodické zadání pro pedagoga

(<https://drive.google.com/file/d/1M5jR2VghzSBdwwEHd8ssD22CSp1VzCMY/view?usp=sharing>)



Zadání jsou vhodná pro středoškolskou výuku chemie na takových středních školách, které výuce chemie věnují vyšší pozornost, na čtyřletých gymnáziích nebo druhém stupni víceletých gymnázií a na vysokých školách. Časová dotace na provedení dané úlohy je ideálně v rozpětí dvou vyučovacích hodinách jdoucích po sobě. Výraznou výhodou této metody je rychlost vyvíjení, která je v rámci minut a dává tak prostor věnovat se dalším otázkám.

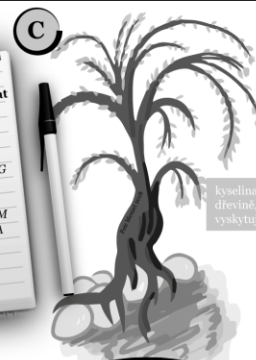
Zadání bylo sestaveno s ohledem na to, aby zaujalo a snad žáky a studenty i motivovalo k dalšímu poznávání. Práce, která se tématem nejvíce blíží této práci, byla publikována v podobě článku v časopise Biologie-Chemie-Zeměpis v roce 2017 pod názvem „Inspirace z Českého lékopisu pro praktickou výuku chemie na střední

škole“. Ta využívá jako předmět zájmu taktéž léčiva a obsahuje nepřeborné množství úloh. [147] Na rozdíl od ní byla snaha vytvořit graficky a celkově kompaktní pracovní list. Autor této diplomové práce považuje vzhledem ke svým pedagogickým zkušenostem stránku faktickou, která je bezesporu zásadní, za stejně důležitou, jako formu prezentace, která je každému učiteli, profesorovi nebo vysokoškolskému pedagogovi vlastní a je pro něho typická.

V rámci hledání soustavy tenkovrstvé chromatografie byla jako nejvhodnější zvolena kombinace stacionární fáze 0,20 mm silikagel 60 F₂₅₄ a mobilní fáze n-hexan, ethylacetát a kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5. Detekce se prováděla UV lampou při vlnové délce 254 nm. Jedná se o laboratorní a přístrojovou techniku, která může být snadno dostupná ve školním prostředí. Cena balení 25 kusů tenkých vrstev o rozměru 20 x 20 cm je v současné době přibližně 5200 Kč s DPH, což vychází při použitém rozměru 5 x 5 cm v laboratorních úlohách na částku 13 Kč na jednu vrstvu [148]. Existuje mnoho metod analýzy předmětných látek, tak jak je uvedeno v textu této práce, ale většina z nich obsahuje látky po toxikologické stránce nepřijatelné pro praktickou aplikaci během výuku. Látky použité v této metodě jsou toxikologicky akceptovatelné. Samozřejmě je třeba dbát všech zásad hygieny, bezpečnosti a správných postupů v chemické laboratoři. [149, 151, 153] Na to vše nesmí pedagog nikdy zapomenout a své žáky a studenty je povinen na toto upozornit.

Průkaz látek ve vybraných léčivech tlumících bolest a snižujících teplotu pomocí tenkovrstvé chromatografie

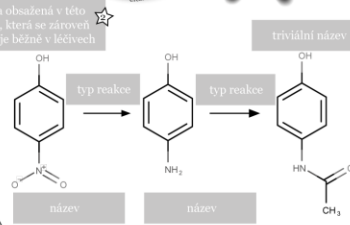
- A** Co se podařilo sehnat
- ASPIRIN
 - ACYLPYRIN
 - ASPIRIN 500 MG
 - OBALENÉ TABLETY
 - ANOPYRIN 400 MG
 - ACYLOFIN
 - PARALEN 500
 - PANADOL NOVUM
 - PANADOL EXTRA
 - ACIFEIN
 - THOMAPYRIN



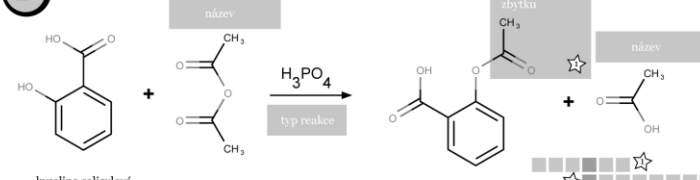
B Léčiva tlumící bolest se odborně nazývají? Léčiva snižující teplotu se odborně nazývají?

Co to jsou léčiva? V léčivech jsou i jiné než účinné látky. K čemu jsou a jak se jim říká?

Co mají tyto tři obrázky společného s léčivem, které jste si přinesli?



D

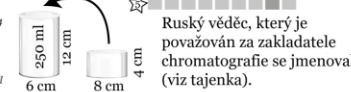


standard D je látka, kterou známe, ale standard Ta je vlajka prezidenta republiky



E Pracovní postup

n-hexan
ethylacetát
kyselina octová
vzorek, standardy
ethanol (96% G.R.)



F

Proč jsou skvrny umístěny tak jak jsou na chromatogramu a co z toho vyplývá pro náš vzorek?



1. Příprava chromatografické komory
 - a. Připravte si 2 kádinky o objemu 250 ml.
 - b. Do odměrného válce s kapacitou 10 ml nalijte 6,5 ml n-hexanu, 3,0 ml ethylacetátu, 0,5 ml kyseliny octové.
 - c. Obsah odměrného válce nalijte do jedné z kádinek a pohybem kádinky promíchejte.
 - d. Zpět do odměrného válce nalijte z kádinky 5 ml roztoku a ten přelijte do druhé kádinky.
 - e. Obě kádinky zakryjte pomocí krystalizační misky.
 - f. Nechte takto připravené vyvíjecí komory alespoň 3 minuty, aby došlo k vyrovnání koncentrací kapaliny a par nad ní.
2. Příprava vzorku a standardů
 - a. Příprava vzorku
 - i. Tabletu léčiva vyjměte z obalu a v hmoždíři ji důkladně rozdrťte.
 - ii. Odměřte 30 ml ethanolu. Přibližně polovinu množství ethanolu nalijte do libovolné přiměřené velké kádinky a do ní nasypete obsah hmoždíře. Zbývajícím ethanolom vypláchněte ulpávající obsah hmoždíře.
 - iii. Takto nechte vzorek extrahovat alespoň 3 minuty.
 - b. Příprava standardů
 - i. Připravte si standardy: kyselina salicylová, kyselina acetylsalicylová, kofein, paracetamol.
 - ii. Každý ze standardů rozpuste v 10 ml ethanolu v přiměřené velké kádince.
 - c. Označte si zkumavky názvem vzorku a standardů, aby nedošlo k záměně.
 - d. Pomocí skleněné tyčinky vzorek a standard promíchejte.
 - e. Extrahovaný vzorek a rozpuštěné standardy filtrujte pomocí skládaného filtru a skleněné tyčinky do zkumavek, tak aby se filtroval čirý roztok.
 - c. Příprava vrstvy
 - a. Z tenké vrstvy vystříhnete rozměr 5 x 5 cm.
 - b. Ve vzdálenosti 1 cm od jednoho okraje označte čárou pomocí měkké tužky start.
 - c. Na start ve stejných vzdálenostech od okraje i od sebe měkkou tužkou označte křížky místa, na která budete nanášet standardy a vzorek.
 - d. Pomocí mikropipety naneste standardy v pořadí kyselina salicylová, kyselina acetylsalicylová, kofein a vzorek.
 - e. Tenkou vrstvou důkladně vysušte pomocí fěnu foukáním teplého vzduchu po alespoň 30 s.
 - d. Vyvíjení
 - a. Připravenou a vysušenou vrstvu vložte do kádinky s roztokem, start se vzorky dolo.
 - b. Poměrně rychle znovu přiklopte kádinku, která slouží jako komora.
 - c. Sledujte, jak vztlá kapalina vrstvou, což se nazývá čelem.
 - d. Jakmile čelo dosáhne vzdálenosti přibližně 0,5 cm od horního okraje, tak vrstvu vyjměte, vysušte fěnem a místo kam dosáhla kapalina, označte měkkou tužkou.
3. Pod UV lampou sledujte chromatogram a pomocí měkké tužky obtáhněte skvrny.
6. Chromatogram nalepte na tento pracovní list a popište jeho jednotlivé části a skvrny. Změřte vzdálenost Z (čelo – start) a vzdálenost jednotlivých vzorků od startu. Hodnotu R_f vypočíte tak, že vydělíte vzdálenost látek od startu vzdáleností čela a startu.

	název	Z	R _f	vzorec
standard 1				
standard 2				
standard 3				
standard 4				
vzorek				

G

- Co uděláte s léčivem po jejich datu jejich expirace?**
- A) Spláchnu do toalety nebo vylijí do dřezu
 - B) Vyhodím do domovního odpadu
 - C) Ponechám si je
 - D) Spálím je
 - E) Zlikviduji jinak než spálením
 - F) Daruji je
 - G) Vrátím je do lékárny

dotazník můžete vyplnit online

Co znamená slovo expirace a jak by mohla léčiva ovlivnit? Jak by se mohla změnit následně chromatogram?

Obrázek 16 – Úloha s metodickými poznámkami pro pedagoga; vlastní dílo

Průkaz látek ve vybraných léčivech tlumících bolest a snižujících teplotu pomocí tenkovrstvé chromatografie

A Před hodinou žáky vyzvat k sehnání léčiv v domácích lékárnách.

Co se podařilo sehnat

- ASPIRIN
- ACYLPYRIN
- ASPIRIN 500 MG
- OBALĚNÉ TABLETY
- ANOPYRIN 400 MG
- ACYLCOFFIN
- PARALEN 500
- PANADOL NOVUM
- ACIFEIN
- THOMAPYRIN

B **analgetika** **antipyretika**

KOMPETENCE K UČENÍ

Diskutovat se studenty nad tím, co jsou to léčiva a k čemu slouží. Dojít k obsahu látek v nich (účinné a pomocné). Pomocné látky mají nepřehledné množství důvodů své přítomnosti (nosiče, plnidla, dochucovadla ...).

C **ZAPAMATO VAT**

kyselina salicylová
vrba laticnský: Salix
odvar z kůry se užíval v starém Řecku nebo Egyptě

paracetamol

acetylace například pomocí acetanhydridu

hydrogenace například pomocí NaBH₄

p-nitrofenol p-aminofenol

KOMPETENCE K UČENÍ

Formou dotazů směřem k žákům dovést tyto k tomu, že společně je pro tyto obrázky to, že souvisí s účinnými látkami, které se vyskytují v léčivech, které si s sebou přinesli. Je třeba upozornit na to, že ve vrbě se nachází kyselina salicylová a nikoliv kyselina acetylsalicylová. Jak se z ní získá, následuje v další části listu.

D **POCHOPIT**

acetanhydrid + kyselina salicylová → kyselina acetylsalicylová + kyselina octová

Před prací je třeba upozornit na základní bezpečnost při práci v laboráři. Především na to, že nepoživáme žádné tekutiny, ani potraviny.

KOMPETENCE KOMUNIKATIVNÍ

Upozornit na častou chybu v pravopise. **standardD** je látka, kterou známe, ale **standardTa** je vlajka prezidenta republiky

E Pracovní postup

APLIKOVAT

1. Příprava chromatografické komory

- Příprava si 2 kádinky o objemu 250 ml.
- Do odměrného válce s kapacitou 10 ml nalijte 6,5 ml n-hexanu, 3,0 ml ethylacetátu, 0,5 ml kyseliny octové.
- Obsah odměrného válce nalijte do jedné z kádinek a pohybem kádinky promíchejte.
- Zpět do odměrného válce nalijte z kádinky 5 ml roztoku a ten přelijte do druhé kádinky.
- Obě kádinky zakryjte pomocí krystalizační misky. *Takto se připraví dvě komory.*
- Nechte takto připravené vyvíjecí komory alespoň 3 minuty, aby došlo k vyrovnání koncentrací kapaliny a par nad ní.

2. Příprava vzorku a standardů

- Příprava vzorku**
 - Tabletu léčiva vyjměte z obalu a v hmoždíři ji důkladně rozdrťte.
 - Odměřte 30 ml ethanolu. Přibližně polovinu množství ethanolu nalijte do libovolné přiměřené velké kádinky a do ní nasypete obsah hmoždíře. Zbývajícím ethanolem vypláchněte uplývající obsah hmoždíře.
 - Takto nechte vzorek extrahovat alespoň 3 minuty.
- Příprava standardů**
 - Připravte si standardy: kyselina salicylová, kyselina acetylsalicylová, kofein, paracetamol.
 - Každý ze standardů rozpuste v 10 ml ethanolu v přiměřené velké kádince.
 - Označte si zkumavky názvem vzorku a standardů, aby nedošlo k záměně.
 - Pomocí skleněné tyčinky vzorek a standard promíchejte.
 - Extrahovaný vzorek a standardy filtrujte pomocí skládaného filtru a skleněné tyčinky do zkumavek. **KOMPETENCE PRACOVNÍ**
- Příprava vrstvy**
 - Z tenké vrstvy vystřihněte rozmer 5 x 5 cm.
 - Ve vzdálenosti 1 cm od jednoho okraje označte čarou pomocí měkké tužky start.
 - Na start ve stejných vzdálenostech od okraje i od sebe měkkou tužkou označte křížky místa, na která budete nanášet standardy a vzorek.
 - Pomocí mikropipety naneste standardy v pořadí kyselina salicylová, kyselina acetylsalicylová, kofein a vzorek.
 - Tenkovrstvu důkladně vysušte pomocí fény foukáním teplého vzduchu po alespoň 30 s.
- Vyvíjení**
 - Připravenou a vysušenou vrstvu vložte do kádinky s roztokem, start se vzorky dolo.
 - Poměrně rychle znovu přiklopte kádinku, která slouží jako komora.
 - Sledujte, jak vzlíná kapalina vrstvou, což se nazývá čelem.
 - Jakmile čelo dosáhne vzdálenosti přibližně 0,5 cm od horního okraje, tak vrstvu vyjměte, vysušte fénem a místo kam dosáhla kapalina, označte měkkou tužkou.
- Pod UV lampou sledujte chromatogram** a pomocí měkké tužky obtáhněte skvrny.

3. Chromatogram nalepte na tento pracovní list a popište jeho jednotlivé části a skvrny. Změřte vzdálenost Z (čelo – start) a vzdálenost jednotlivých vzorků od startu. Hodnotu R_f vypočíte tak, že vydělíte vzdálenost látek od startu vzdáleností čela a startu.

F **ANALYZOVAT**

Je třeba důkladně vysušit před pozorováním pod UV lampou.

zde nalepte chromatogram

„TVORIT“

KOMPETENCE K ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ

	název	Z	R _f	vzorec
standard 1	Všechny potřebné informace jsou uvedeny v průběhu textu a není třeba je nikdy více dohledávat.			
standard 2				
standard 3	HODNOTIT			
standard 4				
vzorek				

Udělat si v rámci třídy nebo skupiny statistiku nakládání s léčivy po době expirace a diskutovat nad touto problematikou. Například, co mohou způsobit léčiva ve vodním ekosystému nebo co může nastat v dalších zmíněných případech.

Co uděláte s léčivy po jejich datu jejich expirace?

KOMPETENCE KOMUNIKATIVNÍ

SOCIÁLNÍ A PERSONÁLNÍ

OBČANSKÉ

Expirace znamená, že končí doba, po kterou výrobce deklaruje kvalitu a bezpečnost léčiva. Český může použít pojen „projit“, podobně jako u potravin. Pokud by vznikaly toxické látky, tak by se objevily další skvrny a pokud by klesala koncentrace, tak by se skvrny účinných látek mohly zmenšovat.

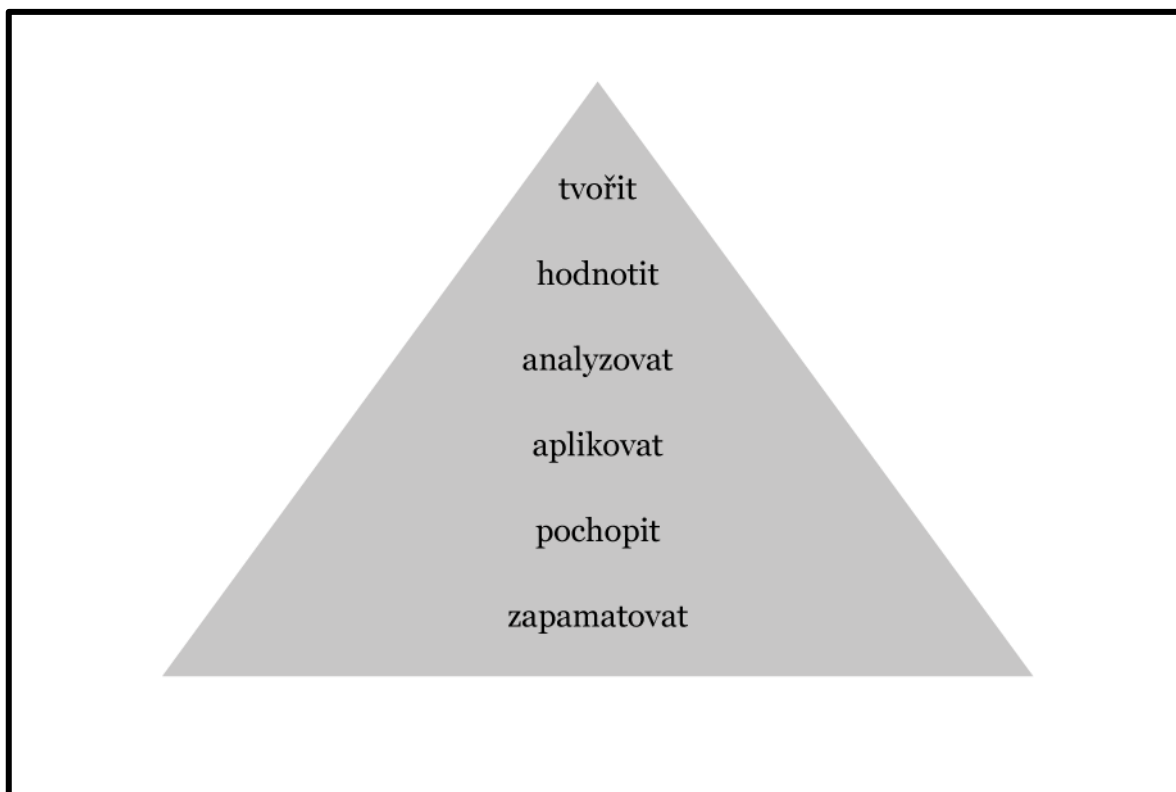
G **KOMPETENCE KOMUNIKATIVNÍ**

SOCIÁLNÍ A PERSONÁLNÍ

OBČANSKÉ

Expirace znamená, že končí doba, po kterou výrobce deklaruje kvalitu a bezpečnost léčiva. Český může použít pojen „projit“, podobně jako u potravin. Pokud by vznikaly toxické látky, tak by se objevily další skvrny a pokud by klesala koncentrace, tak by se skvrny účinných látek mohly zmenšovat.

Obrázek 17 – Bloomova taxonomie (2001); podle [150]



5 Závěr

Podářilo se nalézt systém pro analýzu vzorků v rámci chromatografie na tenké vrstvě, který umožňuje používat běžné vybavení školních laboratoří a pracuje s látkami, které jsou široce akceptovatelné z toxikologického hlediska. Metoda je dobře průkazná, finančně přijatelná, rychlá a didakticky vhodná a měla by chromatografií na tenké vrstvě s tematikou léčiv, která jsou pro každého běžnou součástí života, obohatit výuku chemie na školách.

Vypracován byl pracovní list, který v sobě skrývá zadání pro všech 10 v rámci této práce tenkovrstvou chromatografií studovaných léčiv (0,20 mm silikagel 60 F₂₅₄ a mobilní fáze n-hexan, ethylacetát a kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5): ASPIRIN, ACYLPYRIN, ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY, ANOPYRIN 400 MG, ACYLCOFFIN, PARALEN 500, PANADOL NOVUM, PANADOL EXTRA, ACIFEIN, THOMAPYRIN. Žáci a studenti v rámci svého zadání potvrzují přítomnost účinných látek v daných léčivech a zároveň s tím odkrývají teoretické pozadí fungování tenkovrstvé chromatografie, vlastnosti a struktury daných látek a vedou diskuzi ohledně expirace léčiv. Zadání pracovního listu je komplexní a pokrývá mnoho didaktických cílů. Je ovšem na pedagogovi, aby do práce s tímto výukovým nástrojem promítl svoje schopnosti a dovednosti.

6 Citovaná literatura

- [1] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *ATC tree* [online]. 2018 [vid. 2018-02-13]. Dostupné z: www.sukl.cz/modules/medication/atc_tree.php
- [2] DIMITRIJ MILOSCHEWSKY. *Analgetika - minimum pro praxi*. Praha: TRITON, 1999. ISBN 8072540432.
- [3] ADAM, Zdeněk. Neopioidní analgetika - farmakologie a léčebné využití. *Mladá fronta a.s.* [online]. 2006 [vid. 2018-07-10]. Dostupné z: <https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/neopioidni-analgetika-farmakologie-a-lecebne-vyuziti-173267>
- [4] ILLES, P. a C. ALLGAIER. Analgetika, Behandlung von Schmerzen. In: Klaus AKTORIES a Wolfgang FORTH, ed. *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie: für Studenten der Medizin, Veterinärmedizin, Pharmazie, Chemie, und Biologie sowie für Ärzte, Tierärzte und Apotheker ; mit 303 Tabellen* [online]. München: Elsevier, Urban & Fischer, 2005, Spektrum-Lehrbuch, s. 1189. ISBN 9783437444906. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=zjOLOhY8b4IC>
- [5] MELICHAR, Bihuslav, Milan ČELADNÍK, Jiří HARTL, Jaroslava CHOCHOLOUŠKOVÁ, Ladislav KŇAŽKO, Libor NOVÁČEK, Karel PALÁT, Jaroslav SOVA a Jiří VANŽURA. *Chemická léčiva*. 3. přeprac. Praha: Avicenum, udravotnické nakladatelství n.p., 1987.
- [6] ČERNÝ, Michal. Víte, že se v kolínské Lučebce vyráběl Acylpyrin? *Kolínský PRES* [online]. 2016 [vid. 2018-07-19]. Dostupné z: <https://www.kolinskypres.cz/clanek-vite-ze-se-v-kolinske-lucebce-vyrabel-acylpyrin>
- [7] KRŠIAK, Miloslav. *Analgetika*. 2014
- [8] *The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1982* [online]. 1982. Dostupné z: https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1982/press.html
- [9] LANDAU, Elizabeth. From a tree, a „miracle" called aspirin. *CNN.com* [online]. 2010. Dostupné

- z: <http://edition.cnn.com/2010/HEALTH/12/22/aspirin.history/index.html>
- [10] CONNELLY, Dawn. A history of aspirin. *Clinical Pharmacist* [online]. 2014, 6(7). ISSN 2053-6178. Dostupné z: doi:10.1211/CP.2014.20066661
- [11] PETRUS, Adrianus a Erik DIJK. *Acetylsalicylic acid* [online]. 1990. ISBN 9783527625994. Dostupné z: doi:10.1002/9783527625994
- [12] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls194770/2018* [online]. 2018. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC124818.pdf&type=spc&as=aspirin-spc>
- [13] MCNEIL, John J., Robyn L. WOODS, Mark R. NELSON, Anne M. MURRAY, Christopher M. REID, Brenda KIRPACH, Elsdon STOREY, Raj C. SHAH, Rory S. WOLFE, Andrew M. TONKIN, Anne B. NEWMAN, Jeff D. WILLIAMSON, Jessica E. LOCKERY, Karen L. MARGOLIS, Michael E. ERNST, Walter P. ABHAYARATNA, Nigel STOCKS, Sharyn M. FITZGERALD, Ruth E. TREVAKS, Suzanne G. ORCHARD, Lawrence J. BEILIN, Geoffrey A. DONNAN, Peter GIBBS, Colin I. JOHNSTON a Richard H. GRIMM. Baseline Characteristics of Participants in the ASPREE (ASpirin in Reducing Events in the Elderly) Study. *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences* [online]. 2017, 72(11), 1586–1593. ISSN 1758535X. Dostupné z: doi:10.1093/gerona/glw342
- [14] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp.zn. sukls245863/2016* [online]. 2016. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC100913.pdf&type=spc&as=acylpyrin-spc>
- [15] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Sp.zn.sukls185571/2016* [online]. 2016. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC101225.pdf&type=spc&as=aspirin-spc>
- [16] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp.zn. sukls251079/2016 a sp.zn. sukls245150/2015* [online]. 2017. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC107953>.

pdf&type=spc&as=anopyrin-spc

- [17] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls242891/2016* [online]. 2017. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC105979.pdf&type=spc&as=acylcoffin-spc>
- [18] JACKSON, C. H., N. C. MACDONALD a J. W.D. CORNETT. Acetaminophen: A practical pharmacologic overview. *Canadian Medical Association Journal* [online]. 1984, **131**(1), 25–32+37. ISSN 08203946. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1483338/pdf/canmedaj00363-0066.pdf>
- [19] FORREST, Jah, Ja CLEMENTS a Lf PRESCOTT. Clinical pharmacokinetics of paracetamol. *Clin Pharmacokinet.* 1982, **7**, 93–107.
- [20] ALTMAN, Roy a Marc HOCHBERG. 181 - Management of osteoarthritis. In: *Rheumatology*. Sixth Edit. B.m.: Mosby Ltd., 2015, s. 1508–1514. ISBN 978-0-323-09138-1.
- [21] MORSE, Harmon. Ueber cine neue Da rs t llungsmethode dcr Acetylamidophenole. *Berichte Dtsch Chem Gesell.* 1878, **11**, 232–233.
- [22] PRESCOTT, Laurie. Paracetamol: Past, present, and future. *American journal of therapeutics* [online]. 2000, **7**(2), 143–147. Dostupné z: <https://ovidsp.tx.ovid.com/sp-3.31.1b/ovidweb.cgi?WebLinkFrameset=1&S=NJAAFPHENNDPKDNNCEKKBOBOMEDAAoo&returnUrl=ovidweb.cgi%3FMain%2BSearch%2BPage%3D1%26S%3DNJAAFPHENNDPKDNNCEKKBOBOMEDAAoo&directlink=https%3A%2F%2Fovidsp.tx.ovid.com%2Fovftpdfs%2FFPDDNCO>
- [23] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls35417/2016* [online]. 2016. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC96430.pdf&type=spc&as=paralen-500-spc>
- [24] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls378456/2017* [online]. 2017. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC117319>

- pdf&type=spc&as=panadol-novum-spc
- [25] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp.zn.sukls199929/2016* [online]. 2016. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC97666.pdf&type=spc&as=panadol-extra-spc>
- [26] DIENER, Hans Christoph, Morris GOLD a Martina HAGEN. Use of a fixed combination of acetylsalicylic acid, acetaminophen and caffeine compared with acetaminophen alone in episodic tension-type headache: meta-analysis of four randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover studies. *Journal of Headache and Pain* [online]. 2014, **15**(1), 1–10. ISSN 11292377. Dostupné z: doi:10.1186/1129-2377-15-76
- [27] DIENER, Hans Christoph, V. PFAFFENRATH, L. PAGELER, H. PEIL a B. AICHER. The fixed combination of acetylsalicylic acid, paracetamol and caffeine is more effective than single substances and dual combination for the treatment of headache: A multicentre, randomized, double-blind, single-dose, placebo-controlled parallel group st. *Cephalalgia* [online]. 2005, **25**(10), 776–787. ISSN 03331024. Dostupné z: doi:10.1111/j.1468-2982.2005.00948.x
- [28] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp.zn. sukls98568/2014* [online]. 2015. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC73851.pdf&type=spc&as=acifein-spc>
- [29] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls46576/2017* [online]. 2017. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC107354.pdf&type=spc&as=thomapyrin-spc>
- [30] MURRAY, Robert K., Daryl K. GRANNER, Peter A. MAYES a Victor W. RODWELL. *Harperova Biochemie*. 23. (4. č. Praha: Nakladatelství H+H, Vyšehradská s.r.o., 2002. ISBN 8073190133.
- [31] NEHLIG, Astrid a Debry GÉRARD. Potential teratogenic and neurodevelopmental consequences of coffee and caffeine exposure: A review

- on human and animal data. *Neurotoxicology and Teratology* [online]. 1994, **16**(6), 531–543. Dostupné z: doi:[https://doi.org/10.1016/0892-0362\(94\)90032-9](https://doi.org/10.1016/0892-0362(94)90032-9)
- [32] PAPADOPOULOU, Eleni, Jérémie BOTTON, Anne-lise BRANTSÆTER, Margaretha HAUGEN, Jan ALEXANDER, Helle Margrete MELTZER, Jonas BACELIS, Anders ELFVIN, Bo JACOBSSON a Verena SENGPIEL. Maternal caffeine intake during pregnancy and childhood growth and overweight: results from a large Norwegian prospective observational cohort study. *BMJ Open* [online]. 2018, **8**, 1–11. Dostupné z: doi:[10.1136/bmjopen-2017-018895](https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-018895)
- [33] MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH. Nutrition and healthy eating. *Healthy Lifestyle* [online]. 2017. Dostupné z: <http://www.mayoclinic.org/healthy-lifestyle/nutrition-and-healthy-eating/in-depth/caffeine/art-20049372>
- [34] FÉR POTRAVINA. *E460 - Celulózy (a.)* [online]. 2018 [vid. 2018-07-20]. Dostupné z: <https://www.ferpotravina.cz/seznam-ecek/E460>
- [35] DTEST O.P.S. *Celulosa* [online]. 2018 [vid. 2018-07-20]. Dostupné z: <https://www.dtest.cz/ecka/248/e-460-celulosa?section=3>
- [36] LEDERER, Jaromír. *Celulosa a její deriváty* [online]. Dostupné z: <http://chemistry.ujep.cz/userfiles/files/CELULOSA.pdf>
- [37] ŠÁRKA, Eevžen, Petra SMRČKOVÁ a Lenka SEILEROVÁ. Rezistentní a pomalu stravitelný škrob. *Chemické Listy* [online]. 2013, **107**(12), 929–935. ISSN 00092770. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2013_12_929-935.pdf
- [38] ETTRE, Leslie S. M . S . Tswett and the Invention of Chromatography. *Dept of Chemical Engineering* [online]. 2003, 2–7. Dostupné z: <http://www.chromatographyonline.com/lcgc/data/articlestandard/lcgcurope/382003/69718/article.pdf>
- [39] AGILENT TECHNOLOGIES INC. *HPLC Basics: Fundamentals of Liquid Chromatography (HPLC)* [online]. 2009. Dostupné z: http://polymer.ustc.edu.cn/xwxx_20/xw/201109/P02011090626309704

8536.pdf

- [40] SCIENCE OLYMPIAD INC. *Chromatography* [online]. 2006. Dostupné z: https://www.soinc.org/sites/default/files/uploaded_files/forensics/For_Chromatography3.pdf
- [41] POOLE, Colin F a Salwa K POOLE. *Chromatography today*. Fifth. Amsterdam: Elsevier Science, 1997. ISBN 0444884920.
- [42] GASPARIČ, Jiří a Jaroslav CHURÁČEK. *Papírová a tenkovrstvá chromatografie organických sloučenin*. Vydání prv. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1981.
- [43] WHITMAN'S CHEMISTRY FACULTY. Introduction, Chromatography Theory, and Instrument Calibration. In: *GC_LC_CE_MS_2017* [online]. 2017, s. 1–24. Dostupné z: https://www.whitman.edu/chemistry/edusolns_software/GC_LC_CE_MS_2017/CH_1_2017.pdf
- [44] GROB, Robert a Eugene BARRY. *Modern practice of gas chromatography*. 4. B.m.: John Wiley & Sons, 2004. ISBN 0471229830.
- [45] ČABALA, Radomír. *Plynová chromatografie* [online]. Praha: Katedra analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy. Dostupné z: natur.cuni.cz
- [46] MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČESKÉ REPUBLIKY. *Separáčnické techniky. Datový standard MZ ČR - verze 4* [online]. 2014 [vid. 2014-08-27]. Dostupné z: <http://ciselnyky.dasta.mzcr.cz/CD/hypertext/AJDLR.htm>
- [47] GHATAK, K. Techniques and Methods in Biology. In: *Techniques and Methods in Biology*. New Delhi: PHI Learning Pvt. Ltd., 2011, s. 199–203. ISBN 9788120341715.
- [48] ŠARŠŮNOVÁ, Magda, Vladimír SCHWARZ, Čestmír MICHALEC, Vlasta HADRABOVÁ, Stanislav HEŘMÁNEK, Jan HRIVŇÁK, Josef HUBÍK, Jaroslav MAJER, Fridrich PERÉNYI a Juraj TÖLGYESSY. *Chromatografia na tenkých vrstvách vo farmácii a v klinickej biochémií*. 2. vydanie. B.m.: Osveta, n.p., 1977.

- [49] MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČESKÉ REPUBLIKY. Chromatografie na papíře. *Datový standard MZ ČR - verze 4* [online]. 2017 [vid. 2018-02-20]. Dostupné z: <http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/cd/hypertext/AJAME.htm>
- [50] HAHN-DEINSTROP, Elke. *Applied Thin-Layer Chromatography: Best Practice and Avoidance of Mistakes*. 2. vyd. Eckental: Wiley-VCH, 2007. ISBN 9783527315536.
- [51] MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČESKÉ REPUBLIKY. Chromatografie na tenké vrstvě. *Datový standard MZ ČR - verze 4* [online]. 2017 [vid. 2018-02-20]. Dostupné z: <http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/cd/hypertext/AJAZF.htm>
- [52] KOMSTA, Łukasz, Monika WAKSMUNDZKA-HAJNOS a Joseph SHERMA. *Thin Layer Chromatography in Drug Analysis*. Boca Raton: CRC Press, 2014. ISBN 9781466507166.
- [53] PISKAČ, Pavel, Marie CHALUPOVÁ a Šárka PROKOPCOVÁ. Chromatografické separační metody. *Český lékopis 1997* [online]. 2001 [vid. 2018-03-06]. Dostupné z: http://www.lekopis.cz/Kap_2_2_46.htm
- [54] GEISS, F. *Die Parameter der Dünnschichtchromatographie*. Braunschweig: Vieweg, 1971.
- [55] KUMAR, Sanjeet, K. JYOTIRMAYEE a Monalisa SARANGI. Thin layer chromatography: A tool of biotechnology for isolation of bioactive compounds from medicinal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2013, **18**(1), 126–132. ISSN 0976044X.
- [56] KOPLÍK, Richard. *Základy analýzy potravin* [online]. Dostupné z: https://web.vscht.cz/koplikr/ČástB2_2.pdf
- [57] HOF, Martin a Radek MACHÁŇ. *Quenching of Fluorescence* [online]. Dostupné z: http://www.jh-inst.cas.cz/~fluorescence/support/Lectures/UFCH_fluor04.pps
- [58] KALÁSZ, Huba. Pharmaceutical Applications of TLC. *Europe* [online]. 2001, (May), 1–8 [vid. 2018-02-20]. ISSN 14716577. Dostupné z: [doi:10.1016/j.xphs.2016.04.024](https://doi.org/10.1016/j.xphs.2016.04.024)
- [59] KENYON, A., P. FLINN a T. LAYLOFF. *Rapid Screening of Pharmaceuticals*

by Thin Layer Chromatography: Analysis of Essential Drugs by Visual Methods [online]. 2004. Dostupné z: <http://layloff.net/articles/rapidscreen.pdf>

- [60] GHEORGHE, Mihaela, Dan BĂLĂLĂU, Mihaela ILIE, Daniela Luiza BACONI a Anne Marie CIOBANU. Qualitative analysis of confiscated illegal drugs by thin-layer chromatography. *Farmacia*. 2008, **56**(5), 541–546. ISSN 00148237.
- [61] SABINO, Bruno D., Wanderson ROMÃO, Morena L. SODRÉ, Deleon N. CORREA, Denise B. Rocha PINTO, Fábio O. M. ALONSO a Marcos N. EBERLIN. Analysis of Cocaine and Crack Cocaine via Thin Layer Chromatography Coupled to Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry. *American Journal of Analytical Chemistry* [online]. 2011, **02**(06), 658–664. ISSN 2156-8251. Dostupné z: [doi:10.4236/ajac.2011.26075](https://doi.org/10.4236/ajac.2011.26075)
- [62] JAIN, Rajeev, Ritu SINGH, S SUDHAKER, Ashok Kumar BARIK a Sanjeet KUMAR. Coupling Microextraction With Thin Layer Chromatography-Image Processing Analysis: A New Analytical Platform for Drug Analysis. *Toxicology and Forensic Medicine - Open Journal* [online]. 2017, **2**(1), 17–25 [vid. 2018-02-20]. ISSN 24748978. Dostupné z: [doi:10.17140/TFMOJ-2-113](https://doi.org/10.17140/TFMOJ-2-113)
- [63] DAVIDOW, Bernard, Nicolo LI PETRI, Quame BABINGTON, Bernard SEARLE, Eugene FASTLICH a Joseph SAVITZKY. A thin-layer chromatographic screening test for the detection of users of morphine or heroin. *The American Journal of Clinical Pathology* [online]. 1966, **46**(1), 58–62 [vid. 2018-02-20]. Dostupné z: academic.oup.com
- [64] MARGOUB, Mushtaq A., Abdul B. MAJID, M. DHUHA, Zaid A. WANI, Arshid HUSAIN, Mudasir AHMED, Ishfaq AHMAD, Irfan JEHANGEER, Zaffar ABBAS, Masood TANVEER, Imtiaz MURTAZA a M. HUDA. Thin layer chromatography (TLC) in detection of current nature of drug abuse in Kashmir. *JK Practitioner*. 2004, **11**(4), 257–260. ISSN 09718834.
- [65] KENYON, A. a T. LAYLOFF. *A Compendium of Unofficial Methods for Rapid Screening of Pharmaceuticals by Thin-Layer Chromatography*. 2016

- [66] SHINOZUKA, T., M. TERADA, A. OGAMO, R. NAKAJIMA, S. TAKEI, T. MURAI, C. WAKASUGI a J. YANAGIDA. Data on high-performance thin-layer chromatography of analgesic and antipyretic drugs. *Japanese Journal of Forensic Toxicology*. 1996, **14**, 246–252.
- [67] PANAHI, H.A., A. RAHIMI, E. MONIRI, A. IZADI a M.M. PARVIN. HPTLC separation and quantitative analysis of aspirin, salicylic acid, and sulfosalicylic acid. *Journal of Planar Chromatography—Modern TLC*. 2010, **23**, 137–140.
- [68] HAŁKA, A., P. PŁOCHARZ, A. TORBICZ a T. DZIDO. Reversed-phase pressurized planar electrochromatography and planar chromatography of acetylsalicylic acid, caffeine, and acetaminophen. *Journal of Planar Chromatography—Modern TLC*. 2010, **23**, 420–425.
- [69] UNIVERSITY OF SYDNEY. Preparation of Aspirin (Acetylsalicylic Acid) and Thin-Layer Chromatography of Analgesic Drugs. *School of Chemistry: First Year Chemistry Lab Manual* [online]. 2009, **Lab Experi**, 1–14. Dostupné z: <https://scilearn.sydney.edu.au/fychemistry/SummerSchool/LabManual/E29.pdf>
- [70] CHITLANGE, S., D. SAKARKAR, S. WANKHEDE a S. WADODKAR. High performance thin layer chromatographic method for simultaneous estimation of ibuprofen and pseudoephedrine hydrochloride. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008, **70**, 398–400.
- [71] SAM SOLOMON, W.D., R.A. KUMAR, P.R. VIJAI ANAND, R. SIVAKUMAR a R. VENKATNARAYANAN. Derivatized HPTLC method for simultaneous estimation of glucosamine and ibuprofen in tablets. *Journal of Pharmaceutical Research and Health Care*. 2010, **2**, 156–162.
- [72] HOPKAŁA, H. a A. POMYKALSKI. TLC analysis of non-steroidal anti-inflammatory drugs and videodensitometric determination of fenbufen in tablets. *Journal of Planar Chromatography—Modern TLC*. 2004, **17**, 383–387.
- [73] PYKA, A. a P. BOCHEŃSKA. Comparison of NP-TLC and RP-TLC with densitometry to quantitative analysis of ibuprofen in pharmaceutical

- preparations. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. 2010, **33**, 825–836.
- [74] PYKA, A. Lipophilicity investigations of ibuprofen. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. 2009, **32**, 723–731.
- [75] KRZEK, J., M. STAREK a D. JELONKIEWICZ. RP-TLC determination of S(+) and R(–) ibuprofen in drugs with the application of chiral mobile phase and UV densitometric detection. *Chromatographia*. 2005, **62**, 653–657.
- [76] STAREK, M. a J. KRZEK. TLC chromatographic-densitometric assay of ibuprofen and its impurities. *Journal of Chromatographic Science*. 2010, **48**, 825–829.
- [77] FORGÁCS, E, T CSERHÁTI, Roman KALISZAN, P HABER a Antoni NASAL. Reversed-phase thin-layer chromatographic determination of the hydrophobicity parameters of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of Planar Chromatography - Modern TLC*. 1998, **11**, 383–387.
- [78] GANDHI, S.V., S.S. RANHER, P.B. DESHPANDE a D.K. SHAH. Simultaneous HPTLC determination of nabumetone and paracetamol in combined tablet dosage form. 2011, **22**, 1068–1072.
- [79] ARGEKAR, A.P a J.G. SAWANT. Simultaneous determination of paracetamol and mefenamic acid in tablets by HPTLC. *Journal of Planar Chromatography—Modern TLC*. 1999, **12**, 361–364.
- [80] CHITLANGE, S.S. a R. SONI. Development of stability indicating HPTLC method for simultaneous estimation of paracetamol and dexibuprofen. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. 2010, **3**, 1–4.
- [81] KHATAL, L.D., A.Y. KAMBLE, M.V. MAHADIK a S.R. DHANESHWAR. Validated HPTLC method for simultaneous quantitation of paracetamol, diclofenac potassium, and famotidine in tablet formulation. *Journal of AOAC International*. 2010, **93**, 765–770.
- [82] PATEL, D.J. a V.P. PATEL. Simultaneous determination of paracetamol and lornoxicam in tablets by thin layer chromatography combined with densitometry. *International Journal of ChemTech Research*. 2010, **2**, 1929–1932.

- [83] PANCHAL, H.J., B.N. SUHAGIA a N.J. PATEL. Simultaneous HPTLC analysis of atorvastatin calcium, ramipril, and aspirin in a capsule dosage form. *Journal of Planar Chromatography—Modern TLC*. 2009, **22**, 265–271.
- [84] RAO, J.R., T.S. MULLA, V.V. BHAREKAR, S.S. YADAV a M.P. RAJPUT. Simultaneous HPTLC determination of paracetamol and dexketoprofen trometamol in pharmaceutical dosage form. *Der Pharma Chemica*. 2011, **3**, 32–38.
- [85] SOPONAR, F., A.C. MOT a C. SÂRBU. Quantitative evaluation of paracetamol and caffeine from pharmaceutical preparations using image analysis and RP-TLC. *Chromatographia*. 2009, **69**, 151–155.
- [86] TAVALLALI, H., S.F. ZAREIYAN a M. NAGHIAN. An efficient and simultaneous analysis of caffeine and paracetamol in pharmaceutical formulations using TLC with a fluorescence plater reader. *Journal of AOAC International*. 2011, **94**, 1094–1099.
- [87] PEDAGOGICK, Akulta. *Eva Jordánová* [online]. B.m., 2016. Západočeská univerzita v Plzni. Dostupné z: [https://dspace5.zcu.cz/bitstream/11025/24266/1/DIPLOMOVA PRACE Eva Jordanova.pdf](https://dspace5.zcu.cz/bitstream/11025/24266/1/DIPLOMOVA_PRACE_Eva_Jordanova.pdf)
- [88] RICHTR, Václav a Martin KRAITR. Tenkovrstvá chromatografie ve výuce chemie. *Chemie Xx* [online]. 2004, 57–71. Dostupné z: https://fpe.zcu.cz/kch/dokumenty/Priloha_III.pdf
- [89] ČERVENÝ, Václav. *Cvičení KATA – Analytická chemie* [online]. 2008. Dostupné z: http://chemie.ocikvideni.cz/ZS/11_chromatografie.pdf
- [90] AKADEMIE VĚD ČR. *Separční metody v chemii (filtrace, destilace, extrakce, chromatografie, sublimace)* [online]. 2015. Dostupné z: http://data.otevrenaveda.projekty.avcr.cz/miranda2/export/sitesavcr/data.avcr.cz/projekty/otevrenaveda/kurzy-pro-pedagogy/metodiky-laboratornich-cviceni/chemie/07_Separacni-metody-v-chemii_web.pdf
- [91] SITOVÁ, Veronika. *Elementarizace chromatografie Zejména plynové* [online]. B.m., 2014. Univerzita Karlova v Praze. Dostupné

z: <https://is.cuni.cz/webapps/zzp/download/150024621>

- [92] KOLÁŘ, Karel. *Tenkovrstvá chromatografie ve výuce chemie*. první. Hradec Králové: Gaudeamus, 1996. ISBN 8070417935.
- [93] MAŠLÁŇOVÁ, Helena. *Školní chemické experimenty inspirované českým lékopisem*. Ostrava, 2017. Ostravská univerzita.
- [94] KAŠOVÁ, Jitka, Michaela HOLUBOVÁ a Iva DOBIÁŠOVÁ. *Co je projektové vyučování* [online]. 2014. Dostupné z: https://www.jsns.cz/data/jsns/LEKCE/KDO_JINY_TYMOVE_PROJEKT_Y/00_Co_je_projektove_vyucovani.pdf
- [95] MAZÁČOVÁ, Nataša. *Vybrané problémy obecné didaktiky*. 2014. ISBN 9788072906772.
- [96] VÝZKUMNÝ ÚSTAV PEDAGOGICKÝ V PRAZE. *Rámcový vzdělávací program pro základní vzdělávání (se změnami provedenými k 1. 7. 2007)*. 2005. ISBN 978-80-87000-11-3
- [97] LOJDOVÁ, Kateřina. *Projektové vyučování* [online]. 2012. Dostupné z: www.katkalojdova.weebly.com/uploads/2/4/3/0/24306750/projektove_vyucovani.pdf
- [98] KATZ, Lilian G. The Teacher's Role in the Project Approach. *Community Playthings* [online]. 2013. Dostupné z: <http://www.communityplaythings.com/resources/articles/2013/the-teachers-role-in-the-project-approach>
- [99] SINGULE, František. *Americká pragmatická pedagogika: John Dewey a jeho američtí následovníci*. 1991. ISBN 8004207154.
- [100] CHANNEL CROSSINGS, s.r.o. *Projektové vyučování* [online]. 2011. Dostupné z: www.kurzyproucitele.cz/downloads/metodiky/Methodika_4_ProjektoveVyucovani.pdf
- [101] RUSEK, Martin a Nicole BECKER. 9. Mezinárodní studentská konference - Projektové vyučování v chemii a souvisejících oborech. In: *"Projectivity" of Projects and Ways of its Achievement* [online]. 2011, s. 12–23.

ISBN 9788072905379. Dostupné

z: <http://pages.pedf.cuni.cz/pvch/files/2011/11/proceedings1.pdf>

- [102] HOLADA, Karel. *Směřování výuky chemie - ON2309019*. 2016
- [103] COHEN, Michael. Understanding the meaning of expiration dates on drug labels. *Philly.com* [online]. 2014 [vid. 2017-03-14]. Dostupné z: <http://www.philly.com/philly/blogs/healthcare/Understanding-the-meaning-of-expiration-dates-on-drug-labels.html>
- [104] EMEDEXPERT. Expired Medications. *eMedExpert.com* [online]. 2016 [vid. 2016-08-09]. Dostupné z: <http://www.emedexpert.com/tips/expired-meds.shtml>
- [105] HARVARD HEALTH PUBLICATIONS. Drug Expiration Dates - Do They Mean Anything? *Harvard Health Publications* [online]. 2015 [vid. 2017-03-23]. Dostupné z: <http://www.health.harvard.edu/staying-healthy/drug-expiration-dates-do-they-mean-anything>
- [106] THERAPEUTIC RESEARCH CENTER. *Technician Tutorial: Drug Expiration Dates* [online]. 2015 [vid. 2017-03-21]. Dostupné z: <http://pharmacytechniciansletter.therapeuticresearch.com/pl/ArticlePDF.aspx?dd=260113&AspxAutoDetectCookieSupport=1>
- [107] SKWARECKI, Beth. Is it OK to take expired drugs ? *Lifehacker* [online]. 2016 [vid. 2017-03-23]. Dostupné z: <http://vitals.lifehacker.com/is-it-safe-to-take-expired-drugs-1769146595>
- [108] NOVACK, Gary D. Can I Use Those Eyedrops after the Expiration Date? *The Ocular Surface* [online]. 2015, **13**(2), 169–173. ISSN 15420124. Dostupné z: [doi:10.1016/j.jtos.2015.01.001](https://doi.org/10.1016/j.jtos.2015.01.001)
- [109] BENDER, Michele. When Is It OK to Take Expired Medications? [online]. 2015 [vid. 2016-08-09]. Dostupné z: <http://www.newsmax.com/Health/Health?News/expired?medications?drug?safety/2015/05/15/id/644819/>
- [110] HEIDI, Mitchell. Are Expired Medications OK to Take? *The Wall Street Journal* [online]. 2014 [vid. 2016-08-08]. Dostupné z: <https://www.wsj.com/articles/are-expired-medications-ok-to-take->

1409005882

- [111] NHS CHOICES. *Why do medicines have expiry dates?* [online]. [vid. 2016-08-09]. Dostupné z: <http://www.nhs.uk/chq/Pages/why-medicines-have-expiry-dates.aspx?CategoryID=73&SubCategoryID=108>
- [112] KRAMER, Thomas. Do Medications Really Expire? *Medscape General Medicine* [online]. 2003, **5**(3) [vid. 2016-08-09]. Dostupné z: <http://www.medscape.com/viewarticle/460159>
- [113] OGBRU, Annette a Melisa STÖPPLER. Taking Expired Medications: What's the Harm? *RxList Inc.* [online]. 2016 [vid. 2016-08-09]. Dostupné z: http://www.rxlist.com/expired_medications/drugs-condition.htm
- [114] FRIMPTER, George W., Alphonse E. TIMPANELLI, William J. EISENMENGER, Howard S. STEIN a Leonard I. EHRLICH. Reversible Fanconi Syndrome Caused by Degraded Tetracycline. *Jama* [online]. 1963, **184**(2), 111–113 [vid. 2017-03-20]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: [doi:10.1001/jama.1963.03700150065010](https://doi.org/10.1001/jama.1963.03700150065010)
- [115] COHEN, L. P. Many Medicines Are Potent Years Past Expiration Dates. *The Wall Street Journal* [online]. 2000 [vid. 2016-08-09]. Dostupné z: <http://www.wsj.com/articles/SB954201508530067326>
- [116] Drugs Past Their Expiration Date. *The Medical Letter, Inc.* [online]. 2015, **57**(1483), 164–165 [vid. 2017-03-23]. ISSN 0025-732X. Dostupné z: [doi:10.1001/jama.2016.0048](https://doi.org/10.1001/jama.2016.0048)
- [117] PIERSON, Joseph C. Let's put an expiration date on the current approach to drug expiration dates. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. 2014, **71**(1), 193–194. ISSN 10976787. Dostupné z: [doi:10.1016/j.jaad.2013.10.068](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2013.10.068)
- [118] CANTRELL, Lee, Jeffrey R. SUCHARD, Alan WU a Roy R. GERONA. Stability of Active Ingredients in Long-Expired Prescription Medications. *Archives of Internal Medicine* [online]. 2012, **172**(21), 1685 [vid. 2016-09-08]. ISSN 0003-9926. Dostupné z: [doi:10.1001/archinternmed.2012.4501](https://doi.org/10.1001/archinternmed.2012.4501)
- [119] GARDNER, Amanda. Are we throwing away „expired" medications too soon? *CNN.com* [online]. 2012 [vid. 2016-08-09]. Dostupné

z: <http://edition.cnn.com/2012/10/08/health/throwing-away-expired-meds/>

- [120] SCUTTI, Susan. What Your Pharmacist Can't Tell You About Drug Expiration Dates: 'It's Complicated. *Medical Daily* [online]. 2015, 1–7 [vid. 2016-08-09]. Dostupné z: <http://www.medicaldaily.com/what-your-pharmacist-cant-tell-you-about-drug-expiration-dates-its-complicated-342978>
- [121] SIMONS, F. Estelle R, Xiaochen GU a Keith J. SIMONS. Outdated EpiPen and EpiPen Jr autoinjectors: Past their prime? *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 2000, **105**(5), 1025–1030. ISSN 00916749. Dostupné z: doi:10.1067/mai.2000.106042
- [122] GAVURA, Scott. The drug expiry date: A necessary safety measure, or yet another Big Pharma conspiracy? *Science Based Medicine* [online]. 2012 [vid. 2016-08-09]. Dostupné z: <papers2://publication/uuid/94178D24-8A14-440F-8B07-6FC786D7B419>
- [123] U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. *Expiration Dates Matter* [online]. 2011. Dostupné z: <https://www.youtube.com/watch?v=oLLDBLyf3Rg>
- [124] U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. *Disposal of Unused Medicines : What You Should Know* [online]. 2017 [vid. 2017-03-21]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/Drugs/ResourcesForYou/Consumers/BuyingUsingMedicineSafely/EnsuringSafeUseofMedicine/SafeDisposalofMedicines/ucm186187.htm>
- [125] KOZAK, Mary Ann, Johnna R. MELTON, Stephanie A. GERNANT a Margie E. SNYDER. A needs assessment of unused and expired medication disposal practices: A study from the Medication Safety Research Network of Indiana. *Research in Social and Administrative Pharmacy* [online]. 2016, **12**(2), 336–340. ISSN 15517411. Dostupné z: doi:10.1016/j.sapharm.2015.05.013
- [126] NOVACK, Gary D. a Elizabeth D. MOYER. Where do unused medications go when they die? *Ocular Surface* [online]. 2013, **11**(2), 139–142.

ISSN 15420124. Dostupné z: doi:10.1016/j.jtos.2013.01.004

- [127] UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. How to Dispose of Medicines Properly. *Epa*. 2011, **816-F-11-0**(October 2009), 2.
- [128] WIJAYASINGHE, Sheila. Is it OK to take expired drugs? *The Globe and Mail* [online]. 2013 [vid. 2016-08-09]. Dostupné z: <http://www.theglobeandmail.com/life/health-and-fitness/ask-a-health-expert/is-it-ok-to-take-expired-drugs/article8466952/>
- [129] MERCOLA, Joseph. Many Medications Remain Safe and Effective Well Past Their Expiration Dates. *Mercola.com* [online]. 2012 [vid. 2016-08-09]. Dostupné z: <http://articles.mercola.com/sites/articles/archive/2012/10/22/expired-drugs.aspx>
- [130] MAENG, Daniel D., Ryan C. SNYDER, Charles J. MEDICO, Winona M. MOLD a James E. MANEVAL. Unused medications and disposal patterns at home: Findings from a Medicare patient survey and claims data. *Journal of the American Pharmacists Association* [online]. 2016, **56**(1), 41–46. ISSN 15443450. Dostupné z: doi:10.1016/j.japh.2015.11.006
- [131] TONG, Alfred Y C, Barrie M. PEAKE a Rhiannon BRAUND. Disposal practices for unused medications in New Zealand community pharmacies. *Journal of Primary Health Care* [online]. 2011, **3**(3), 197–203. ISSN 11726164. Dostupné z: doi:10.1016/j.envint.2010.10.002
- [132] U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Drug poisoning deaths in the United States, 1980-2008. *NCHS Data Brief*. 2011, (81), 1–8. ISSN 1941-4927.
- [133] LAW, Anandi V., Prashant SAKHARKAR, Amir ZARGARZADEH, Bik Wai Bilvick TAI, Karl HESS, Micah HATA, Rudolph MIRELES, Carolyn HA a Tony J. PARK. Taking stock of medication wastage: Unused medications in US households. *Research in Social and Administrative Pharmacy* [online]. 2015, **11**(4), 571–578. ISSN 15517411. Dostupné z: doi:10.1016/j.sapharm.2014.10.003
- [134] INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION. Stability Testing of

- New Drug Substances and Products Q1A(R2). In: *The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use* [online]. 2003, s. 24. Dostupné z: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1A_R2/Step4/Q1A_R2__Guideline.pdf
- [135] WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products*. 2012
- [136] SEEVERS, Robert. Regulatory Strategy for Long-Term Stability Conditions to Support Submission in Zone IV Countries. *Pharmaceutical Outsourcing* [online]. 2011, **12**(2), 1–8 [vid. 2017-03-14]. Dostupné z: <http://www.pharmoutsourcing.com/Featured-Articles/37672-Regulatory-Strategy-for-Long-Term-Stability-Conditions-to-Support-Submission-in-Zone-IV-Countries/>
- [137] U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. *Don't Be Tempted to Use Expired Medicines* [online]. 2016 [vid. 2016-08-09]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/Drugs/ResourcesForYou/SpecialFeatures/ucm481139.htm>
- [138] WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for registration of fixed-dose combination medicinal products. *WHO Technical Report Series* [online]. 2005, (929), No. 929 [vid. 2017-03-14]. Dostupné z: http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/GuidelinesRegistrationFixedDoseCombinationTRS929Annex5.pdf
- [139] TAYLOR, M Joan, Sangeeta TANNA a Tarsem SAHOTA. In vivo study of a polymeric glucose-sensitive insulin delivery system using a rat model. *Journal of pharmaceutical sciences* [online]. 2010, **99**(10), 4215–4227. ISSN 1520-6017. Dostupné z: doi:10.1002/jps
- [140] U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. *Expiration Dating Extension* [online]. 2016 [vid. 2016-08-09]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/EmergencyPreparedness/Counterterrorism/MedicalCountermeasures/MCMLegalRegulatoryandPolicyFramework/ucm411446.htm>

- [141] GARDENIER, Donald. Should Expired Medications and Supplies Be Donated to Resource-poor Countries? *Journal for Nurse Practitioners* [online]. 2011, 7(9), 730–731 [vid. 2017-03-21]. ISSN 15554155. Dostupné z: doi:10.1016/j.nurpra.2011.08.013
- [142] WORLD HEALTH ORGANIZATION. Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products [online]. 2009, (953), 87–130 [vid. 2017-03-14]. Dostupné z: apps.who.int
- [143] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Databáze léků* [online]. 2018 [vid. 2018-02-13]. Dostupné z: www.sukl.cz/leciva
- [144] OPAVSKÝ, Jaroslav. Stručný přehled analgeticky účinných léčiv pro klinickou praxi. *Remedia* [online]. 2002, 12(6), 409–423 [vid. 2018-02-13]. Dostupné z: <http://www.remédia.cz/1002.magarticleprintversion.ashx>
- [145] VÝZKUMNÝ ÚSTAV PEDAGOGICKÝ V PRAZE. *Rámcový vzdělávací program pro gymnázia* [online]. 2007. ISBN 978-80-87000-11-3. Dostupné z: http://www.nuv.cz/file/159_1_1/
- [146] VÝZKUMNÝ ÚSTAV PEDAGOGICKÝ V PRAZE. *Rámcový vzdělávací program pro základní vzdělávání* [online]. 2017. Dostupné z: http://www.msmt.cz/file/43792_1_1/
- [147] MAŠLÁŇOVÁ, Helena a Marta KLEČKOVÁ. Inspirace z Českého lékopisu pro praktickou výuku chemie na střední škole. *Biologie-Chemie-Zeměpis* [online]. 2017, 26(4), 18–25. ISSN 2533-7556. Dostupné z: doi:10.14712/25337556.2017.4.2
- [148] BDL CZECH REPUBLIC S.R.O. *TCL destičky, Silica gel 60 F 254* [online]. [vid. 2018-08-08]. Dostupné z: <http://www.bdl.cz/chromatografie-5k/chromatografie-na-tenke-vrstve-tlc-38k/tlc-desticky-chromatograficke-papiry-201k/tcl-desticky-silica-gel-60-f-254-4553p>
- [149] PENTA S.R.O. *Kyselina octová ledová 99,8%* [online]. 2017. Dostupné z: https://www.pentachemicals.eu/bezp_listy/k/bezplist_550.pdf
- [150] VÁVRA, Jaroslav. Proč a k čemu taxonomie vzdělávacích cílů? *Metodický portál* [online]. 2003. Dostupné z: <https://clanky.rvp.cz/clanek/c/Z/11113/proc-a-k-cemu-taxonomie->

vzdelavacich-cilu-.html/

- [151] PENTA S.R.O. *Bezpečnostní list - n-hexan* [online]. 2017. Dostupné z: https://www.pentachemicals.eu/bezp_listy/h/bezplist_165.pdf
- [152] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls167286/2015 1.* [online]. 2017. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC106122.pdf&type=spc&as=paramax-rapid-spc>
- [153] CARL ROTH GMBH + CO KG. *Bezpečnostní list - ethyl-acetát* [online]. 2015. Dostupné z: https://www.carlroth.com/downloads/sdb/cs/7/SDB_7338_CZ_CS.pdf
- [154] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls204827/2017* [online]. 2017. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC113440.pdf&type=spc&as=coldrex-horky-napoj-citron-s-medem-spc>
- [155] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls204827/2017* [online]. 2017. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC113443.pdf&type=spc&as=coldrex-horky-napoj-citron-spc>
- [156] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls204827/2017* [online]. 2017. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC113449.pdf&type=spc&as=coldrex-junior-citron-spc>
- [157] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls204827/2017* [online]. 2017. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC113452.pdf&type=spc&as=coldrex-maxgrip-citron-spc>
- [158] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls204827/2017* [online]. 2017. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC113455.pdf&type=spc&as=coldrex-maxgrip-lesni-ovoce-spc>
- [159] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls204827/2017*

- [online]. 2017. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC113467.pdf&type=spc&as=coldrex-spc>
- [160] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls22167/2017* [online]. 2017. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC116336.pdf&type=spc&as=panadol-extra-rapide-spc>
- [161] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls241698/2017* [online]. 2017. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC116835.pdf&type=spc&as=acygal-spc>
- [162] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls28404/2017* [online]. 2018. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC120063.pdf&type=spc&as=paralen-grip-chripka-a-kasel-spc>
- [163] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls28475/2017* [online]. 2017. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC117330.pdf&type=spc&as=paralen-plus-spc>
- [164] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls296988/2017* [online]. 2017. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC116837.pdf&type=spc&as=acylpyrin-c-spc>
- [165] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls35116/2015* [online]. 2015. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC78837.pdf&type=spc&as=saridon-spc>
- [166] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls55149/2016* [online]. 2016. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC99539.pdf&type=spc&as=paralen-grip-horky-napoj-echinacea-a-sipky-spc>

- [167] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls55170/2016* [online]. 2016. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC99738.pdf&type=spc&as=paralen-grip-horky-napoj-pomeranc-a-zazvor-spc>
- [168] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls55201/2016* [online]. 2016. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC99541.pdf&type=spc&as=paralen-grip-horky-napoj-tresen-spc>
- [169] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls58749/2017* [online]. 2017. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC116925.pdf&type=spc&as=novalgin-tablety-spc>
- [170] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls64156/2016* [online]. 2016. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC100580.pdf&type=spc&as=paralen-grip-horky-napoj-citron-spc>
- [171] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp. zn. sukls65698/2015* [online]. 2015. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC79097.pdf&type=spc&as=grippostad-spc>
- [172] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp.zn. sukls162469/2009* [online]. 2006. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC59756.pdf&type=spc&as=humex-cold-spc>
- [173] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp.zn. sukls181526/2010* [online]. 2015. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC83169.pdf&type=spc&as=aspirin-c-spc>
- [174] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp.zn. sukls239726/2010* [online]. 2015. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC86210>

pdf&type=spc&as=ataralgin-spc

- [175] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp.zn. sukls37525/2015* [online]. 2016. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC101622.pdf&type=spc&as=paralen-sus-spc>
- [176] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp.zn. sukls38442/2011* [online]. 2017. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC92603.pdf&type=spc&as=paramegal-spc>
- [177] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp.zn. sukls47863/2015* [online]. 2016. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC96785.pdf&type=spc&as=paralen-horky-napoj-bez-cukru-spc>
- [178] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *sp.zn. sukls79711/2013 a sp.zn. sukls140400/2015* [online]. 2015. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC107661.pdf&type=spc&as=algin-spc>
- [179] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Sp.zn.sukls106330/2015* [online]. 2015. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC85505.pdf&type=spc&as=vicks-symptomed-classic-citron-spc>
- [180] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Sp.zn.sukls133595/2014* [online]. 2015. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC86388.pdf&type=spc&as=paramax-combi-spc>
- [181] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Sp.zn.sukls146454/2014* [online]. 2017. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC111616.pdf&type=spc&as=vicks-symptomed-forte-citron-spc>
- [182] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Sp.zn.sukls147790/2017* [online]. 2017. Dostupné

- z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC112538.pdf&type=spc&as=aspirin-c-forte-spc>
- [183] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Sp.zn.sukls173668/2013* [online]. 2013. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC53312.pdf&type=spc&as=valetol-spc>
- [184] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Sp.zn.sukls252909/2017* [online]. 2018. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC118977.pdf&type=spc&as=theraflu-spc>
- [185] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Sp.zn.sukls265195/2016* [online]. 2017. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC109954.pdf&type=spc&as=parapyrex-spc>
- [186] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Sp.zn.sukls27844/2016* [online]. 2017. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC107661.pdf&type=spc&as=algin-spc>
- [187] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Sp.zn.sukls32648/2014* [online]. 2015. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC102431.pdf&type=spc&as=metamizol-stada-spc>
- [188] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Sp.zn.sukls56331/2016* [online]. 2016. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC99236.pdf&type=spc&as=paralen-grip-chripka-a-bolest-spc>
- [189] STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Sp.zn.sukls56828/2014* [online]. 2015. Dostupné
z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC80114.pdf&type=spc&as=nogrip-spc>
- [190] ZDENĚK, Seidl a Obenberger JIŘÍ. *Neurologie pro studium i praxi*. 1. 2004.

ISBN 8024706237.

- [191] KOSTIUK, Pavel. Léčba bolesti a horečky v těhotenství a laktaci. *Edukafarm FarmiNews* [online]. 2011 [vid. 2018-07-19]. Dostupné z: http://www.edukafarm.cz/data/soubory/casopisy/14/farminews_2_tehotenstvi.pdf
- [192] MAXDORF S.R.O. Fluorimetrie. *Velký lékařský slovník* [online]. 2018 [vid. 2018-02-22]. Dostupné z: <http://lekarske.slovniky.cz/pojem/fluorimetrie>
- [193] GLOBAL PHARMA HEALTH FUND E.V. *The GPHF-Minilab - protection against counterfeit medicines* [online]. [vid. 2018-07-28]. Dostupné z: <http://ww.gphf.org/web/en/minilab>
- [194] MEDICINENET INC. Medical Definition of Anticonvulsant. *MedicineNet, Inc.* [online]. 2017 [vid. 2017-03-23]. Dostupné z: <https://www.medicinenet.com/script/main/art.asp?articlekey=20523>

Seznam obrázků

Obrázek 1 – Kyselina acetylsalicylová; vlastní dílo	25
Obrázek 2 – Strukturní vzorce skupiny NO ₂ BA kyselina salicylová a deriváty; vlastní dílo	25
Obrázek 3 – Výroba kyseliny acetylsalicylové; vlastní dílo	26
Obrázek 4 – Paracetamol; vlastní dílo.....	26
Obrázek 5 – Strukturní vzorce skupiny NO ₂ BE paracetamol a deriváty; vlastní dílo	27
Obrázek 6 – Příprava fenacetinu; podle [5 s. 189].....	27
Obrázek 7 – Výroba paracetamolu; vlastní dílo	28
Obrázek 8 – Toxický metabolismus paracetamolu při přesycení; podle [18 s. 26]	28
Obrázek 9 – Kofein, škrob, celuloza; vlastní dílo	29
Obrázek 10 – Výběr separační metody; podle [39 s. 3].....	37
Obrázek 11 – Přehled vzdáleností na chromatogramu; inspirováno podle [50 s. 6]	51
Obrázek 12 – Různost tvaru skvrn na chromatogramu; podle [42 s. 30].....	51
Obrázek 13 – Detekce a identifikace TLC při analýze léčiv; podle [52 s. 194].....	52
Obrázek 14 – Jak zacházet s léky v rámci domácího odpadu; inspirováno podle [124]	71
Obrázek 15 – Úloha pro studenty a žáky; vlastní dílo	113
Obrázek 16 – Úloha s metodickými poznámkami pro pedagoga; vlastní dílo.....	114
Obrázek 17 – Bloomova taxonomie (2001); podle [150].....	115

Seznam fotografií

Fotografie 1 – Balení léčiva ASPIRIN; vlastní dílo.....	29
Fotografie 2 – Balení léčiva ACYLPYRIN; vlastní dílo	30
Fotografie 3 – Balení léčiva ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY; vlastní dílo	30
Fotografie 4 – Balení léčiva ANOPYRIN; vlastní dílo.....	31
Fotografie 5 – Balení léčiva ACYLCOFFIN; vlastní dílo	31
Fotografie 6 – Balení léčiva PARALEN 500; vlastní dílo	32
Fotografie 7 – Balení léčiva PANADOL NOVUM; vlastní dílo	32
Fotografie 8 – Balení léčiva PANADOL EXTRA; vlastní dílo	33
Fotografie 9 – Balení léčiva ACIFFEIN; vlastní dílo.....	33
Fotografie 10 – Balení léčiva THOMAPYRIN; vlastní dílo	34
Fotografie 11 – Použité chemikálie; vlastní dílo.....	79
Fotografie 12 – Použitá laboratorní a přístrojová technika; vlastní dílo	82

Seznam tabulek

Tabulka 1 – Přehled chromatografických metod; podle [44 s. 26, 45, 46, 47 s. 201]	37
Tabulka 2 – Vybrané soustavy TLC některých analgetik-antipyretik; podle [52 s. 339–344]	53
Tabulka 3 – Zátěžové podmínky při předběžných studiích stability, vypsáno podle [138 s. 139]	72
Tabulka 4 – Klimatické zóny, podle [135 s. 23]	73
Tabulka 5 – Doporučené značení pro léčiva, podle [142 s. 117].....	73
Tabulka 6 – Deklarované a naměřené hodnoty v léčích; podle [118 s. 1686].....	74
Tabulka 7 – Výběr z dotazníku na zacházení s expirovanými léky; podle [125 s. 338].....	75
Tabulka 8 - Seznam v ČR prodávaných analgetik k podání per os; podle [143]	92
Tabulka 9 – Léčiva vybraná k analýze pomocí TLC; podle [143].....	95
Tabulka 10 – Čas vyvíjení podle zvolení metody.....	110

Seznam rovnic

Rovnice 1 – Výpočet retardačního faktoru; podle [50 s. 4].....	53
Rovnice 2 – Výpočet standardního retardačního faktoru; podle [50 s. 5]	53
Rovnice 3 – Nernstův rozdělovací zákon; podle [42 s. 13]	53
Rovnice 4 – Logaritmický retardační faktor; podle [42 s. 69].....	53
Rovnice 5 – Doba pro opětovné testování nebo uskladnění při 25 nebo 30 °C, podle [135 s. 32]	72
Rovnice 6 – Doba pro opětovné testování nebo uskladnění při 2 až 8 °C, podle [135 s. 32]	72

Seznam grafů

Graf 1 – Incidence nežádoucích účinků analgetik; podle [4]	34
Graf 2 – Oblasti využití TLC v letech 1993 až 1994; podle [50 s. 4]	52
Graf 3 – Počet úmrtí způsobených otravou a nehodami v USA (1980 až 2008); podle [132 s. 3]	71
Graf 4 – Preferované způsoby likvidace léku v domácnostech; podle [131 s. 295] ..	72

Seznam zkratk

API	biologicky aktivní farmaceutická složka
ASPRE	aspirin snižující riziko cévních příhod ve stáří
ATC	anatomicko-terapeuticko-chemická klasifikace léčiv
ATR-FTIR	FTIR s oslabenou celkovou odrazitelností
BCD	biochemická detekce
CCD	zařízení se zachyceným nábojem
CDC	Centra pro kontrolu nemocí a prevenci
CDER	Centrum pro hodnocení a výzkum léků
EDA	efekt přímé analýzy
EPA	Úřad pro ochranu životního prostředí
EUA	Svolení k nouzovému využití
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv
FPP	finální farmaceutický produkt
FT-Raman	spektroskop Raman s Fourierovou transformací
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HPTLC	vysokoúčinná tenkovrstvá chromatografie
MS	hmotnostní spektrometrie
NMR	nukleární magnetická rezonance
NMT	ne více než
NSAID	nesteroidní antiflogistikum
PAHPRA	Zákon o připravenosti na různá nebezpečí a pandemie
PC	plošná chromatografie, chromatografie na papíře
QSRR	kvantitativní strukturně-retenční vztah
RH	relativní vlhkost
SD	směrodatná odchylka
SLEP	Program pro prodloužení doby skladovatelnosti
SPC	souhrn údajů o přípravku
TLC	tenkovrstvá chromatografie
UEM	nevyužité a expirované léky
USA	Spojené státy americké
UV/VIS	ultrafialovo-viditelná spektroskopie

WHO Světová zdravotnická organizace

Seznam příloh

Příloha A – Vybrané léky včetně účinných a pomocných látek; [12, 15–17, 23–25, 28, 29, 152, 154–189]

Příloha B – Přehled všech chromatogramů

7 Přílohy

Příloha A – Vybrané léky včetně účinných a pomocných látek; [12, 15–17, 23–25, 28, 29, 152, 154–189]

K analýze	Registrovaný název v České republice	ATC	Účinné látky	Koncentrace (mg) v tabletě, 1 ml, 1 sáčku	Pomocné látky
ne	ACYGAL 500 MG	N02BA01	kyselina acetylsalicylová	500	mikrokrytalická celulóza kukuřičný škrob
ano	ACYLCOFFIN	N02BA51	kyselina acetylsalicylová kofein	450 50	bramborový škrob mastek
ne	ACYLPYRIN 500 MG ŠUMIVÉ TABLETY	N02BA01	kyselina acetylsalicylová	500	bezdodá kyselina citronová hydrogenuhličitan sodný monohydrát glukonanu vápenatého uhličitan vápenatý dihydrát sodné soli sacharinu citronové aroma: přírodně identické látky, sacharosa, maltodextrin, modifikovaný škrob
ano	ACYLPYRIN	N02BA01	kyselina acetylsalicylová	500	bramborový škrob mastek
ne	ACYLPYRIN + C	N02BA51	kyselina acetylsalicylová kyselina askorbová	320 200	laktóza hydrogenuhličitan sodný kyselina citronová draselná sůl acesulfamu kyselina fumarová

K analýze	Registrovaný název v České republice	ATC	Účinné látky	Koncentrace (mg) v tabletě, 1 ml, 1 sáčku	Pomocné látky
ne	ALGIRIN	N02BA01	kyselina acetylsalicylová	500	prášková celulóza kukuřičný škrob
ne	ANOPYRIN 400 MG	N02BA01	kyselina acetylsalicylová	400	celuloseový prášek kukuřičný škrob mastek glycin mikrokrytalická celulóza
ne	ANOPYRIN 100 MG	B01AC06	kyselina acetylsalicylová	100	předbobtnalý kukuřičný škrob celuloseový prášek sodná sůl kroskarmelosy glycin mastek
ano	ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY	N02BA01	kyselina acetylsalicylová	500	koloidní bezvodý oxid křemičitý uhlíčan sodný karnaubský vosk hypromelosa zinkum-stearát
ano	ASPIRIN	N02BA01	kyselina acetylsalicylová	500	celulóza kukuřičný škrob
ne	ASPIRIN C	N02BA51	kyselina acetylsalicylová kyselina askorbová	400 240	dihydrogen-citronan sodný hydrogenuhlíčan sodný uhlíčan sodný kyselina citronová

K analýze	Registrovaný název v České republice	ATC	Účinné látky	Koncentrace (mg) v tabletě, 1 ml, 1 sáčku	Pomocné látky
ne	ASPIRIN C FORTE ŠUMIVÉ TABLETY	N02BA51	kyselina acetylsalicylová kyselina askorbová	800 480	modifikovaný hydrogenuhličitan sodný bevodá kyselina citronová povidon koloidní bezvodý oxid křemičitý
ne	METAMIZOL STADA 500 MG TABLETA	N02BB02	monohydrát sodné soli metamizolu	500	předbobtnalý kukuřičný škrob makrogol 6000 krospovidon (typ A) magnesium-stearát koloidní bezvodý oxid křemičitý
ne	METAMIZOL STADA 500 MG/ML PERORÁLNÍ KAPKY, ROZTOK	N02BB02	monohydrát sodné soli metamizolu	500	hydrogenfosforečnan sodný dihydrát sodné soli sacharinu dihydrát dihydrogenfosforečnanu sodného sukralosa malinové aroma: E1520, E1518, E636 čištěná voda
ne	NOVALGIN TABLETY	N02BB02	monohydrát sodné soli metamizolu	500	makrogol 4000 magnesium-stearát <u>potahová vrstva:</u> hypromelosa 2910 dihydrát sodné soli sacharinu makrogol 8000 oxid titaničitý (E171) mastek
ano	ACIFEIN	N02BE51	kyselina acetylsalicylová kofein paracetamol	250 50 200	glycin kukuřičný škrob mastek hyprolosa
ne	ATARALGIN	N02BE51	guaifensin kofein paracetamol	130 70 325	předbobtnalý kukuřičný škrob povidon 30 sodná sůl kroskarmelosy kyselina stearová 50% magnesium-stearát

K analýze	Registrovaný název v České republice	ATC	Účinné látky	Koncentrace (mg) v tabletě, 1 ml, 1 sáčku	Pomocné látky
ne	COLDREX TABLETY	N02BE51	kyselina askorbová obalená etylcelulózou kofein paracetamol fenylferin-hydrochlorid monohydrát terpinu	38 25 500 5 20	předbobtnalý kukuřičný škrob povidon kalium-sorbát natrium-lauryl-sulfát oranžová žluť (E 110) kyselina stearová mastek kukuřičný škrob
ne	COLDREX HORKÝ NÁPOJ CITRON	N02BE51	kyselina askorbová obalená etylcelulózou paracetamol fenylferin-hydrochlorid	60 750 10	sacharóza dihydrát natrium-citrátu kyselina citronová sodná sůl sacharinu chinolová žluť citronové aroma v prášku
ne	COLDREX HORKÝ NÁPOJ CITRON S MEDEM	N02BE51	kyselina askorbová obalená etylcelulózou paracetamol fenylferin-hydrochlorid	60 750 10	bezdodá kyselina citronová sodná sůl sacharinu dihydrát natrium-citrátu citronové aroma v prášku medové aroma v prášku karamelové barvivo (E150) kukuřičný škrob aspartam sacharóza
ne	COLDREX JUNIOR CITRON	N02BE51	kyselina askorbová paracetamol fenylferin-hydrochlorid	20 300 5	sacharosa bezdodá kyselina citronová dihydrát natrium-citrátu sodná sůl sacharinu sušený kukuřičný škrob citronové aroma: přírodní a přírodně identické aromatické látky, kukuřičný maltodextrin, oxidovaný kukuřičný škrob, butylhydroxyanisol natrium-cyklamát kurkumin (E100) koloidní bezvodý oxid křemičitý
ne	COLDREX MAXGRIP CITRON	N02BE51	kyselina askorbová paracetamol fenylferin-hydrochlorid	40 1000 10	monohydrát kyseliny citronové dihydrát natrium-citrátu kukuřičný škrob natrium-cyklamát sacharóza sodná sůl sacharinu citronové aroma v prášku kurkumin (E 100) koloidní bezvodý oxid křemičitý

K analýze	Registrovaný název v České republice	ATC	Účinné látky	Koncentrace (mg) v tabletě, 1 ml, 1 sáčku	Pomocné látky
ne	COLDREX MAXGRIP LESNÍ OVOCE	N02BE51	kyselina askorbová paracetamol fenylferin-hydrochlorid	70 1000 10	sacharosa natrium-citrát kyselina vinná aspartam ovocné aroma v prášku: sacharosa, maltodextrin, oxidovaný kukuřičný škrob, rostlinný olej, oranžová žluť (E 110), azorubin (E 122), zeleň S (E 142)
ne	GRIPPOSTAD	N02BE51	kyselina askorbová kofein paracetamol chlorfenamin-maleinát	150 25 200 2,5	želatina glycerol-tristearát monohydrát laktózy chinolinová žluť (E 104) sodná sůl erythrosinu (E 127) oxid titaničitý (E 171) čištěná voda
ne	HUMEX COLD	N02BE51	paracetamol chlorfenamin-maleinát	500 4	mastek sodná sůl kroskarmelosy natrium-lauryl-sulfát koloidní bezvodý oxid křemičitý
ne	NOGRIP	N02BE51	kyselina askorbová paracetamol feniramin-maleinát	200 500 25	sacharóza citronovo-rumové aroma bezvodá kyselina citronová arabská klovatina usušená rozprášením sodná sůl sacharinu (E954)
ano	PANADOL EXTRA	N02BE51	kofein paracetamol	65 500	předbobtnalý škrob kukuřičný škrob povidon 25 kalium-sorbát mastek kyselina stearová 95% sodná sůl kroskarmelosy (typ A) <u>potahová vrstva:</u> Hypromelosa Triacetin"

K analýze	Registrovaný název v České republice	ATC	Účinné látky	Koncentrace (mg) v tabletě, 1 ml, 1 sáčku	Pomocné látky
ne	PANADOL EXTRA RAPIDE	N02BE51	kofein paracetamol	65 500	hydrogenuhličitan sodný sorbitol (E 420) sodná sůl sacharinu natrium-lauryl-sulfát kyselina citronová uhlíčan sodný povidon dimetikon
ano	PANADOL NOVUM	N02BE01	paracetamol	500	předbobtnalý kukuřičný škrob uhlíčan vápenatý kyselina alginová krospovidon typ A povidon 25 magnesium-stearát koloidní bezvodý oxid křemičitý směs sodných solí parabenů (E 215, E 217, E 219) karnaubský vosk potahová soustava Opadry YS-1-7003 bílá, obsahuje: oxid titaničitý (E 171), hypromelosa, makrogol, polysorbát 80
ano	PARALEN 500	N02BE01	paracetamol	500	předbobtnalý kukuřičný škrob povidon 30 sodná sůl kroskarmelosy kyselina stearová
ne	PARALEN GRIP CHŘIPKA A BOLEST	N02BE51	kofein paracetamol fenylferin-hydrochlorid	25 500 5	<u>jádro tablety:</u> povidon K-25 natrium-lauryl-sulfát mikrokrytalická celulóza kukuřičný škrob předbobtnalý kukuřičný škrob bezdvodý koloidní oxid křemičitý kyselina stearová mastek <u>obal tablety:</u> hypromelosa makrogol oxid titaničitý (E171)

K analýze	Registrovaný název v České republice	ATC	Účinné látky	Koncentrace (mg) v tabletě, 1 ml, 1 sáčku	Pomocné látky
ne	PARALEN GRIP CHŘIPKA A KAŠEL	N02BE51	paracetamol fenylferin-hydrochlorid dextromethorfan- hydrobromid	500 5 26	<u>jádro tablety:</u> mikrokrytalická celulóza předbobtnalý kukuřičný škrob sodná sůl kroskarmelosy povidon 30 kyselina stearová 50% <u>potahová vrstva:</u> hypromelosa 2910/5 makrogol 6000 oxid titaničitý (E 171) simetikonová emulze SE4 mastek hlinitý lak chinolinové žlutí (E 104)"
ne	PARALEN GRIP HORKÝ NÁPOJ CITRÓN	N02BE51	paracetamol fenylferin-hydrochlorid	650 10	sacharóza dihydrát citrónanu sodného kyselina citronová kyselina vinná přírodní citronové aroma v prášku aspartam povidon 25 kyselina askorbová pigmenty z oddenku kurkumy dlouhé
ne	PARALEN GRIP HORKÝ NÁPOJ ECHINACEA A ŠÍPKY	N02BE51	paracetamol fenylferin-hydrochlorid	500 10	povidon 25 kyselina vinná dihydrát natrium-citrátu bezvodá kyselina citronová kyselina askorbová obalená etylcelulózou draselná sůl acesulfamu citronové aroma K240, obsahuje: kukuřičný maltodextrin, koncentrovaná citronovou šťáva citronové aroma 610399E, obsahuje: kukuřičný maltodextrin, modifikovaný kukuřičný škrob (E1450), butylhydroxyanisol (E320) suchý extrakt z natě a kořene třapatky nachové (Echinacea purpurea) 6:1 šípkové aroma, obsahuje: přírodní a připravované aromatické látky, kukuřičný maltodextrin, modifikovaný kukuřičný škrob (E1450), propylenglykol (E1520) sacharóza"


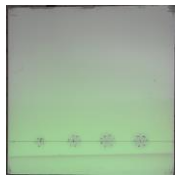
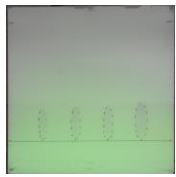
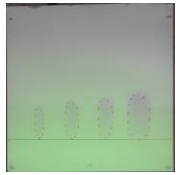
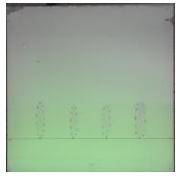


K analýze	Registrovaný název v České republice	ATC	Účinné látky	Koncentrace (mg) v tabletě, 1 ml, 1 sáčku	Pomocné látky
ne	PARALEN GRIP HORKÝ NÁPOJ POMERANČ A ZÁZVOR	N02BE51	paracetamol fenylferin-hydrochlorid	500 10	povidon 25 kyselina vinná dihydrát natrium-citrátu bezvodá kyselina citronová kyselina askorbová obalená etylcelulózou draselná sůl acesulfamu pomarančové aroma v prášku zázvorové aroma v prášku barvicí směs MicroCap P-21- WSS-P-125 červená sacharóza
ne	PARALEN GRIP HORKÝ NÁPOJ TŘEŠEŇ	N02BE51	paracetamol fenylferin-hydrochlorid	650 10	růžový anthokyaninový extrakt (E 163) sacharóza kyselina citronová třešňové aroma v prášku kyselina vinná draselná sůl acesulfamu kyselina askorbová obalená etylcelulózou povidon 25
ne	PARALEN HORKÝ NÁPOJ BEZ CUKRU	N02BE01	paracetamol	500	povidon 25 maltodextrin (kukuřičný, pšeničný, bramborový nebo maniokový) dihydrát natrium-citrátu monohydrát kyseliny citronové kyselina vinná citronové aroma v prášku K240 (kukuřičný nebo bramborový maltodextrin, koncentrovaná citronová šťáva) draselná sůl acesulfamu citronové aroma 610399E (přírodní a připravované aromatické látky, kukuřičný maltodextrin, modifikovaný kukuřičný škrob (E1450), butylhydroxyanisol (E320)) kyselina askorbová kurkumin 0,65% (bez laktózy) (bramborový maltodextrin, polysorbát 80 (E433), propylenglykol (E1520), kurkumin (E100))

K analýze	Registrovaný název v České republice	ATC	Účinné látky	Koncentrace (mg) v tabletě, 1 ml, 1 sáčku	Pomocné látky
ne	PARALEN PLUS	N02BE51	dextromethorfan- hydrobromid paracetamol pseudoefedrin- hydrochlorid	15 325 30	monohydrát laktózy mikrokrytalická celulóza povidon K30 předbobtnalý kukuřičný škrob sodná sůl kroskarmelosy kyselina stearová 50% Potahová vrstva: hypromelosa makrogol 6000 mastek oxid titaničitý (E 171) simetikonová emulze SE 4 zeleň laková E 104/132
ne	PARALEN SUS	N02BE01	paracetamol	24	"natrium-benzoát kalium-sorbát sorbitol (E 420) glycerol 85% xanthanová klovatina monohydrát kyseliny citronové sodná sůl sacharinu jahodové aroma voda čišťená
ne	PARAMAX COMBI	N02BE51	kofein paracetamol	65 500	povidon 29-32 mikrokrytalická celulóza kyselina stearová magnesium-stearát
ne	PARAMAX RAPID	N02BE01	paracetamol	1000	povidon mikrokrytalická celulóza sodná sůl karboxymethylškrobu kyselina stearová 50% magnesium-stearát
ne	PARAMAX RAPID	N02BE01	paracetamol	250	povidon mikrokrytalická celulóza sodná sůl karboxymethylškrobu kyselina stearová 50% magnesium-stearát








K analýze	Registrovaný název v České republice	ATC	Účinné látky	Koncentrace (mg) v tabletě, 1 ml, 1 sáčku	Pomocné látky
ne	PARAMAX RAPID 500 MG	N02BE01	paracetamol	500	povidon mikrokrytalická celulóza sodná sůl karboxymethylškrobu kyselina stearová 50% magnesiumstearát
ne	PARAMEGAL	N02BE01	paracetamol	500	mikrokrytalická celulóza kukuřičný škrob magnesium-stearát povidon 25
ne	PARAPYREX	N02BE01	paracetamol	500	povidon K30 (E1201) předbobtnalý kukuřičný škrob sodná sůl karboxymethylškrobu (typ A) kyselina stearová (E570)
ne	SARIDON	N02BE51	kofein paracetamol propyfenazon	50 250 150	mikrokrytalická celulóza hypromelosa kukuřičný škrob mastek magnesiumstearát koloidní bezvodý oxid křemičitý formaldehyd-kasein
ne	THERAFLU	N02BE51	paracetamol fenylferin-hydrochlorid guaifenesin	500 6,1 100	<u>obsah tobolek:</u> sodná sůl kroskarmelosy kukuřičný škrob natrium-lauryl-sulfát mastek magnesium-stearát <u>složení tobolek:</u> želatina čištěná voda indigokarmín (E132) oxid titaničitý (E171) chinolinová žluť (E104) natrium-lauryl-sulfát erythrosin (E127)







K analýze	Registrovaný název v České republice	ATC	Účinné látky	Koncentrace (mg) v tabletě, 1 ml, 1 sáčku	Pomocné látky
ano	THOMAPYRIN	N02BE51	kyselina acetylsalicylová kofein paracetamol	250 50 200	kukuřičný škrob monohydrát laktózy kyselina stearová 50%
ne	VALETOL	N02BE51	kofein paracetamol propyfenazon	50 150 300	předbobtnalý kukuřičný škrob povidon 30 sodná sůl kroskarmelosy mastek kyselina stearová magnesium stearát aluminium stearát kukuřičný škrob sodná sůl karboxymethylškrobu mikrokrytalická celulóza
ne	VICKS SYMPTOMED CLASSIC CITRÓN	N02BE51	paracetamol fenylferin-hydrochlorid	500 12,2	kyselina askorbová sacharóza aspartam (E951) citronové aroma, obsahuje: přírodní citronové silice a přírodní a přírodně identické aromatické látky, maltodextrin, mannitol (E421), glukonolakton, arabská klovatina, sorbitol (E420), koloidní bezvodý oxid křemičitý a tokoferol-alfa (E 307) sodná sůl sacharinu koloidní bezvodý oxid křemičitý bezvodá kyselina citronová dihydrát natrium-citrátu
ne	VICKS SYMPTOMED FORTE CITRÓN	N02BE51	paracetamol fenylferin-hydrochlorid	1000 12,2	sacharóza dihydrát natrium-citrátu kyselina citronová kyselina askorbová draselná sůl acesulfamu aspartam chinolinová žluť citronové aroma: citronová silice, citral, citronellol, linalol, čerstvé citronkové oplodí, maltodextrin, sacharóza, modifikovaný škrob, arabská klovatina, butylhydroxyanisol, triacetin, tokoferol citronová šťáva: citral, maltodextrin, modifikovaný škrob, oxid křemičitý





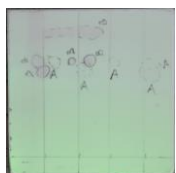


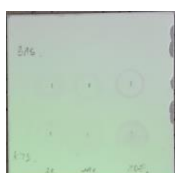
Příloha B – Přehled všech chromatogramů






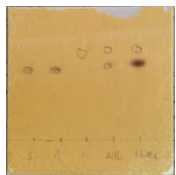


Označení	Chromatogram	Vzorky ¹⁵	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Detekce
01		ACYLPYRIN ve zvyšující se koncentraci	0,20 mm silikagel 60 F254	toluen	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
02		ACYLPYRIN ve zvyšující se koncentraci	0,20 mm silikagel 60 F254	toluen	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
03		ACYLPYRIN ve zvyšující se koncentraci	0,20 mm silikagel 60 F254	toluen, ethylacetát v poměru 8 : 2	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
04		ACYLPYRIN ve zvyšující se koncentraci	0,20 mm silikagel 60 F254	toluen, ethylacetát v poměru 8 : 2	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
05		ACYLPYRIN ve zvyšující se koncentraci	0,20 mm silikagel 60 F254	toluen, ethylacetát v poměru 8 : 2	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
06		ACYLPYRIN ve zvyšující se koncentraci	0,20 mm silikagel 60 F254	ethylacetát	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
07		ACYLPYRIN ve zvyšující se koncentraci	0,20 mm silikagel 60 F254	ethylacetát	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)



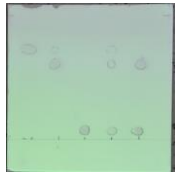
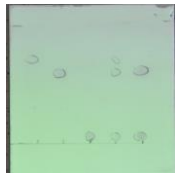
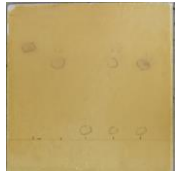
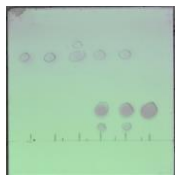
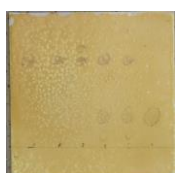
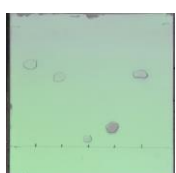
¹⁵ Popis zleva doprava a ze shora dolů.

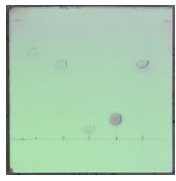
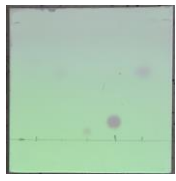
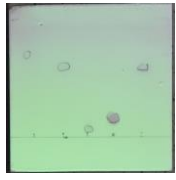
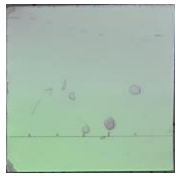
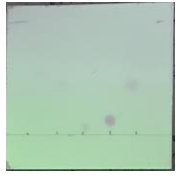
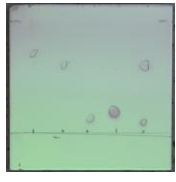
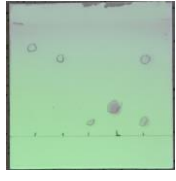
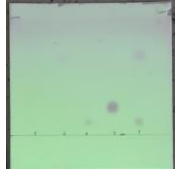
Označení	Chromatogram	Vzorky ¹⁵	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Detekce
08		ACYLPYRIN ve zvyšující se koncentraci	0,20 mm silikagel 60 F254	ethylacetát	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
09		ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY	0,20 mm silikagel 60 F254	ethylacetát	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
10		ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY	0,20 mm silikagel 60 F254	ethylacetát	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
11		ASPIRIN	0,20 mm silikagel 60 F254	ethylacetát	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
12		ASPIRIN	0,20 mm silikagel 60 F254	ethylacetát	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
13		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová	0,20 mm silikagel 60 F254	ethylacetát	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
14		ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY rozetřený s Na_2CO_3 kyselina acetylsalicylová rozetřená s ZnCO_3 kyselina acetylsalicylová rozetřená s uhličitanem sodným a extrahovaná ethanolem	0,20 mm silikagel 60 F254	ethylacetát	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

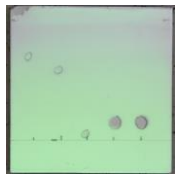
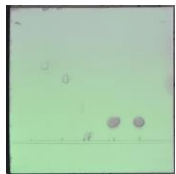
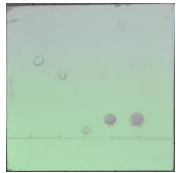
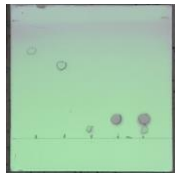
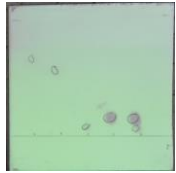
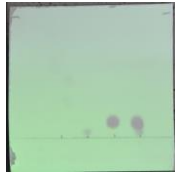
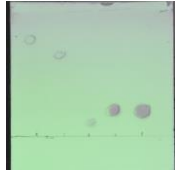
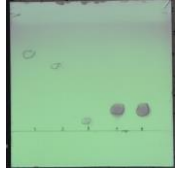
Označení	Chromatogram	Vzorky ¹⁵	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Detekce
15		ACYLPYRIN ASPIRIN ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY kyselina acetylsalicylová	0,20 mm silikagel 60 F254	ethylacetát	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
16		ACYLPYRIN ASPIRIN ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY kyselina acetylsalicylová	0,20 mm silikagel 60 F254	ethylacetát	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
17		ACYLPYRIN ASPIRIN ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY kyselina acetylsalicylová (všechny vzorky jsou rozetřeny s přebytek Na ₂ CO ₃)	0,20 mm silikagel 60 F254	ethylacetát	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
18		kyselina acetylsalicylová (vysoká koncentrace) kofein (vysoká koncentrace) kyselina acetylsalicylová (nízká koncentrace) kofein (nízká koncentrace)	0,20 mm silikagel 60 F254	ethylacetát	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
19		kyselina acetylsalicylová (vysoká koncentrace) kofein (vysoká koncentrace) kyselina acetylsalicylová (nízká koncentrace) kofein (nízká koncentrace)	0,20 mm silikagel 60 F254	ethylacetát, toluen v poměru 1 : 1	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
20		kyselina acetylsalicylová kofein ACYLCOFEIN ACYLCOFEIN	0,20 mm silikagel 60 F254	toluen, ethanol v poměru 8 : 2	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

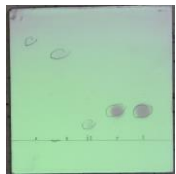
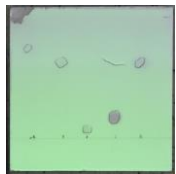
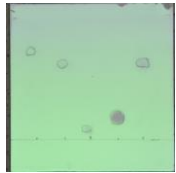
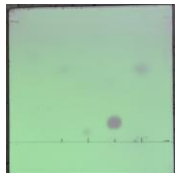
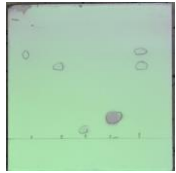
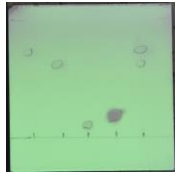
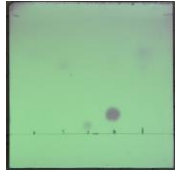
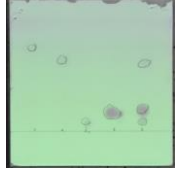
Označení	Chromatogram	Vzorky ¹⁵	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Detekce
21		kyselina acetylsalicylová kofein ACYLCOFEIN ACYLCOFEIN	0,20 mm silikagel 60 F254	propan-1-ol a amoniak v poměru 2 : 1	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
22		kyselina acetylsalicylová kofein ACYLCOFEIN ACYLCOFEIN	0,20 mm silikagel 60 F254	propan-1-ol a amoniak v poměru 4 : 1	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
23		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ACYLCOFEIN	0,20 mm silikagel 60 F254	toluen, kyselina octová v poměru 1 : 1	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
24		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ACYLCOFEIN	0,20 mm silikagel 60 F254	toluen, kyselina octová v poměru 1 : 1	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
25		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ACYLCOFEIN	0,20 mm silikagel 60 F254	1. propan-1-ol a amoniak v poměru 2 : 1 2. toluen, kyselina octová v poměru 1 : 1	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
26		ACYLCOFFIN směs kyseliny acetylsalicylové a kofeinu	0,20 mm silikagel 60 F254	toluen, kyselina octová v poměru 1 : 1	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
27		ACYLCOFFIN směs kyseliny acetylsalicylové a kofeinu	0,20 mm silikagel 60 F254	toluen, kyselina octová v poměru 1 : 1	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)
28		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein	0,20 mm silikagel 60 F254	v horní řadě přidána báze v dolní řadě přidána kyselina	UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

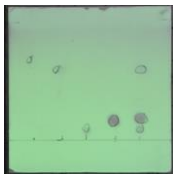
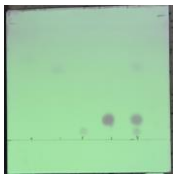
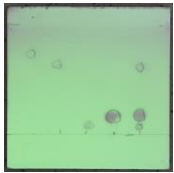
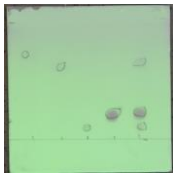
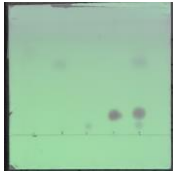
Označení	Chromatogram	Vzorky ¹⁵	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Detekce
29		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein	0,20 mm silikagel 60 F254	1. propan-1-ol a amoniak v poměru 2 : 1 2. toluen, kyselina octová v poměru 1 : 1	UV ($\lambda =$ 254 nm)
30		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein	0,20 mm silikagel 60 F254	1. propan-1-ol a amoniak v poměru 2 : 1 2. toluen, kyselina octová v poměru 1 : 1	UV ($\lambda =$ 254 nm)
31		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová	Kavalier TLC	nástržik FeCl ₃ (5%)	FeCl ₃ (5%)
32		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová	0,20 mm silikagel 60 F254	nástržik FeCl ₃ (5%)	FeCl ₃ (5%)
33		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein směs přechozích ACYLCOFFIN	0,20 mm silikagel 60 F254	toluen, kyselina octová v poměru 1 : 1	FeCl ₃ (5%)
34		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein směs přechozích ACYLCOFFIN	0,20 mm silikagel 60 F254	propan-1-ol a amoniak v poměru 2 : 1	FeCl ₃ (5%)
35		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein směs přechozích	0,20 mm silikagel 60 F254	propan-1-ol a amoniak v poměru 2 : 1	FeCl ₃ (5%)
36		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein směs přechozích	0,20 mm silikagel 60 F254	petrolether, aceton v poměru 85 : 15	UV ($\lambda =$ 254 nm)

Označení	Chromatogram	Vzorky ¹⁵	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Detekce
37		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein směs přechozích	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, aceton v poměru 85 : 15	UV ($\lambda =$ 254 nm)
38		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein směs přechozích ACYLCOFFIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 45 : 50 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
39		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein směs přechozích ACYLCOFFIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 45 : 50 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
40		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein směs přechozích ACYLCOFFIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 45 : 50 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
41		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein směs přechozích ACYLCOFFIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 45 : 50 : 5	FeCl ₃ (5%)
42		ACYLPYRIN ASPIRIN ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY ACIFEIN THOMAPYRIN PARALEN 500	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
43		ACYLPYRIN ASPIRIN ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY ACIFEIN THOMAPYRIN PARALEN 500	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	FeCl ₃ (5%)
44		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein paracetamol ACYLPYRIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	254 nm

Označení	Chromatogram	Vzorky ¹⁵	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Detekce
45		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein paracetamol ACYLPYRIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
46		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein paracetamol ACYLPYRIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
47		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein paracetamol ANOPYRIN 400 MG	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
48		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein paracetamol ANOPYRIN 400 MG	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
49		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein paracetamol ANOPYRIN 400 MG	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
50		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ACYLCOFFIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
51		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ACYLCOFFIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
52		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ACYLCOFFIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)

Označení	Chromatogram	Vzorky ¹⁵	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Detekce
53		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein PANADOL NOVUM	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
54		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein PANADOL NOVUM	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
55		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein PANADOL NOVUM	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
56		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein PANADOL EXTRA	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
57		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein PANADOL EXTRA	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
58		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein PANADOL EXTRA	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
59		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein PARALEN 500	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
60		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein PARALEN 500	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)

Označení	Chromatogram	Vzorky ¹⁵	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Detekce
61		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein PARALEN 500	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
62		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ASPIRIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
63		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ASPIRIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
64		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ASPIRIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
65		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
66		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
67		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ASPIRIN 500 MG OBALENÉ TABLETY	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
68		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ACIFEIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)

Označení	Chromatogram	Vzorky ¹⁵	Stacionární fáze	Mobilní fáze	Detekce
69		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ACIFEIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
70		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein ACIFEIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
71		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein THOMAPYRIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
72		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein THOMAPYRIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)
73		kyselina salicylová kyselina acetylsalicylová kofein THOMAPYRIN	0,20 mm silikagel 60 F254	n-hexan, ethylacetát, kyselina octová v poměru 65 : 30 : 5	UV ($\lambda =$ 254 nm)