

VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO

FARMACEUTICKÁ FAKULTA

ÚSTAV TECHNOLOGIE LÉKŮ



DIPLOMOVÁ PRÁCE

Hodnocení obsahové stejnoměrnosti směsí s nízkým obsahem léčivé látky s
úzkým terapeutickým indexem

Brno 2014

Vedoucí diplomové práce

Zuzana Matějková

Doc. Mgr. Jan Muselík, Ph.D.

Ústav technologie léků

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Jméno a příjmení: **Zuzana MATĚJKOVÁ**

Osobní číslo: **F09090**

Studijní program: **M5206 farmacie**

Studijní obor: **farmacie**

Název tématu: **Hodnocení obsahové stejnoměrnosti směsi s nízkým obsahem léčivé látky s úzkým terapeutickým indexem**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Literární rešerše
2. Studium literatury zaměřené na danou problematiku
3. Experimentální práce
4. Zpracování naměřených výsledků
5. Sepsání elaborátu a odevzdání

Seznam vhodné literatury:

České a zahraniční odborné časopisy

Český lékopis, Grada Praha, 2009 a jeho doplňky

Komárek, P., Rabišková, M. a kol.: Technologie léků, Galén Praha 2006,
399 str.

Elektronické zdroje

Vedoucí diplomové práce:

Mgr. Jan Muselík, Ph.D.

Ústav technologie léků

Datum zadání diplomové práce:

22. března 2012

Termín odevzdání diplomové práce:

20. dubna 2014


.....
Diplomant


.....
Přednosta ústavu


.....



Děkanat

Farmaceutické fakulty

Veterinární a farmaceutické univerzity Brno

Palackého 1/3
612 42 Brno

②

dne **22-03-2012**

ABSTRAKT

Warfarin je léčivo s úzkým terapeutickým indexem (NTI). Obsahová stejnoměrnost přípravků s obsahem warfarinu je podmínkou bezpečné farmakoterapie. Při přípravě tablet s nízkým obsahem účinných látek se běžně používá metoda vlhké granulace. Tato metoda zajišťuje přijatelnou obsahovou stejnoměrnost, ale je zdlouhavá, poměrně drahá, může zhoršovat stabilitu léku a zvyšuje cenu. Proto se farmaceutické firmy snaží svoji výrobu zefektivnit. Usilují o využití jiné, výhodnější a časově méně náročné metody, která by zajistila stejnou kvalitu obsahové stejnoměrnosti. Nejjednodušší metodou výroby tablet je přímé lisování. U této metody často dochází k segregaci účinné látky během mísení. Tato práce se snaží zhodnotit vliv kritických parametrů mísení na obsahovou stejnoměrnost směsí a tablet. Složení tabletových směsí vychází z experimentů provedených v rámci diplomových a rigorózních prací na Ústavu technologie léků. Za hodnocené parametry byly zvoleny doba mísení po přidavku kluziva do tabletové směsi a koncentrace účinné látky.

ABSTRACT

Warfarin is a drug with a narrow therapeutic index (NTI). The same content uniformity of products containing warfarin is a prerequisite for the safe pharmacotherapy. In the preparation of tablets with a low content of active substances commonly used wet granulation method. This method provides an acceptable uniformity of content, but it is time-consuming, relatively expensive, may deteriorate drug stability and increases the cost. Therefore, pharmaceutical companies are looking to streamline their production. They seek to use other, more convenient and less time - consuming methods that would ensure the same quality of content uniformity. The simplest method of producing tablets is by direct compression. In this method often leads to segregation of the active substance during mixing. This work tries to evaluate the influence of critical parameters of mixing on blend and tablet uniformity. Composition of tablet mixtures based on experiments carried out in the framework of diploma and doctoral thesis at the Department of Pharmaceutics. For the parameters evaluated were chosen mixing time after addition of antiadhesive excipient into the tablet composition and concentration of the active substance.

KLÍČOVÁ SLOVA

Warfarin, obsahová stejnoměrnost, léky s úzkým terapeutickým indexem, validace výrobního procesu

KEYWORDS

Warfarin, content uniformity, drugs with a narrow therapeutic index, validation of the manufacturing process

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a internetových zdrojů.

Brno 2014

.....

Zuzana Matějková

Poděkování

Děkuji Doc. Mgr. Janu Muselíkovi, Ph.D. za cenné a odborné rady, dále děkuji za vynikající komunikaci a vedení diplomové práce.

OBSAH

1. ÚVOD.....	10
2. TEORETICKÁ ČÁST	16
2.1. Terapeutický index.....	16
2.1.1. Úzký terapeutický index.....	16
2.1.2. Léky s úzkým terapeutickým indexem.....	17
2.2. Warfarin	17
2.2.1. Vitamín K a jeho antagonisté.....	18
2.2.2. Nežádoucí účinky warfarinu	18
2.2.3. Generické přípravky s obsahem warfarinu.....	20
2.3. Metody výroby tablet	21
2.3.1. Granuláty	21
2.3.1.1. Výhody granulátu.....	22
2.3.1.2. Nevýhody granulátu	22
2.3.1.3 Vlhká granulace.....	23
2.3.1.4. Suchá granulace	24
2.3.2. Přímé lisování.....	24
2.3.2.1. Mísení	25
2.3.2.2. Lisování	26
2.3.2.3. Výhody	27
2.3.2.4. Nevýhody	28
2.3.2.5. Předpoklady pro přímé lisování.....	29
2.4. Faktory ovlivňující obsahovou stejnoměrnost.....	29
2.4.1. Fyzikální vlastnosti prášků	29
❖ Velikost částic	29
❖ Tvar částic	30
❖ Hustota částic.....	30
❖ Elektrostatický náboj	30
2.4.2. Výrobní postupy ovlivňující obsahovou stejnoměrnost	32
❖ Koncentrace účinné látky.....	32
❖ Přísada kluzných látek a pořadí mísení jednotlivých komponent	32

❖	Doba mísení	33
❖	Rychlost otáček	34
❖	Tvar nádoby	34
2.4.3.	Chyby vzorkování	34
2.5.	Statistické limity deklarující obsahovou stejnoměrnost.....	35
2.5.1.	Požadavky na obsahovou stejnoměrnost při rutinní kontrole	35
2.5.2.	Validace výrobního procesu	37
2.5.2.1.	Matematické statistiky při procesní validaci farmaceutické výroby	38
2.5.2.2.	Validace obsahové stejnoměrnosti směsi a obsahové stejnoměrnosti tablet.....	41
3.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	44
3.1.	Materiál.....	44
3.1.1.	Složení tabletových směsí a tablet	45
3.1.2.	Příprava tabletových směsí.....	46
3.1.3.	Příprava tablet	47
3.2.	Přístroje.....	47
3.3.	Příprava vzorků pro stanovení obsahu warfarinu	48
3.3.1.	Směsi.....	48
3.3.2.	Tablety	48
3.4.	Příprava kalibračních roztoků	48
3.6.	Chromatografická analýza	49
3.7.	Zpracování výsledků.....	49
4.	VÝSLEDKY	50
4.1.	Obsahová stejnoměrnost.....	50
4.1.1.	Vysvětlení použitých zkratk při vyhodnocování výsledků	50
4.1.2.	Obsahová stejnoměrnost směsí	51
4.1.2.1.	Tabletová směs o koncentraci 0,55 % klatrátu sodné soli warfarinu.....	51
4.1.2.2.	Tabletová směs o koncentraci 5,46 % klatrátu sodné soli warfarinu	54
4.1.3.	Obsahová stejnoměrnost tablet	57
4.1.3.1.	Tablety s obsahem 1 mg warfarinum natricum.....	57
4.1.3.2.	Tablety s obsahem 10 mg warfarinum natricum.....	60

5. DISKUSE.....	63
6. ZÁVĚR.....	69
7. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	70
8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	78

1. ÚVOD

Warfarin je nejběžněji užívané antikoagulační léčivo u pacientů trpících trombózami v krevním řečišti. Čím větší terapeutický index léčiva mají, tím jsou bezpečnější. Toto léčivo vykazuje nízký terapeutický index. Léčiva s úzkým terapeutickým indexem (NTI, z angl. zkratky Narrow Therapeutic Index) mají velmi úzkou hranici mezi účinnou dávkou a dávkou toxickou. Při sebemenším překročení dávkování může dojít k drastickým změnám, život ohrožujícím. Tyto farmakodynamické odpovědi jsou důležité hlavně ve zranitelných skupinách, jako jsou starší lidé, nebo u pacientů užívajících více léků. Ve skutečnosti jsou tito lidé dvakrát více ohroženi výskytem nežádoucích účinků, než pacienti beroucí jiné léky (non-NTI.) V důsledku úzkého rozsahu pro bezpečné užívání těchto léků je nutné tyto pacienty důkladně sledovat a monitorovat jejich zdravotní stav. Při začátcích léčby je to dokonce nezbytné. [1]

Vyhovující obsahová stejnoměrnost v tabletách je podmínkou účinné a bezpečné farmakoterapie. Jak už bylo řečeno, léky s NTI jsou velmi citlivé na dávkování. Jejich správné dávkování je nezbytnou podmínkou. Obsahová stejnoměrnost je základní kritérium, které musí být u těchto léčiv splněno. Předávkování nebo poddávkování může nést fatální následky.

Když farmaceutická firma vyvine nový originální léčivý přípravek, může jej na trhu obchodovat po určitou dobu pouze ona, aby se jí vrátily finance investované do výzkumu. Po uplynutí této doby mohou jiné firmy uvést na trh tzv. generické přípravky – zjednodušeně řečeno kopie originálního přípravku, které mají shodnou léčivou látku, ale mohou se lišit látkami pomocnými. [2]

Generický léčivý přípravek obsahuje stejnou léčivou látku ve stejném množství jako příslušný referenční přípravek, musí mít i obdobnou lékovou formu, např. tablety a stejnou biologickou účinnost (bioekvivalence). Generika mohou být uváděna na trh v rámci EU po uplynutí lhůt ochrany duševního vlastnictví majitele referenčního přípravku (10 let). [3]

Dospělým dobrovolníkům se ve zkřížené studii podává jedna dávka (podle WHO 18–24 jedincům) a hodnotí se množství a rychlost vstřebávání, které musí odpovídat 80–125 % originálního léku (AUC a C_{max}). Léky jsou bioekvivalentní, pokud jejich farmakokinetické charakteristiky (AUC, C_{max}) jsou obdobné. To znamená, že 90 % interval spolehlivosti pro oba farmakokinetické parametry nového generika musí být v rozmezí 80–125 % korespondujících parametrů originálního léčiva. [4] U přípravků s NTI je akceptační interval snižený na 90–111,11 %. [5]

Při léčbě generiky warfarinu docházelo ke zdravotním komplikacím a úmrtím na okultní krvácení. Proto bylo v USA zakázáno zahájit léčbu generickými náhradami s obsahem warfarinu v domnění, že léky mají rozdílnou farmakokinetiku. Výzkumy ale zjistily, že rozdílné plazmatické hladiny léčiva nejsou způsobeny generikou, ale rozdílnou odpovědí organismu a kolísáním obsahu warfarinu v tabletách. Rozdílný obsah byl způsoben použitou metodou přímého lisování výlisků, při které nedochází ke granulaci tabletoviny.

V roce 1997 došlo k soudnímu sporu mezi USA a firmou Barr Laboratories, která opakovaně vyráběla tablety, jejichž obsah přesahoval limit povolený americkým lékopisem, což ohrožovalo bezpečnost farmakoterapie. Ve farmaceutické technologii je pověstný výrok soudce Wolina, který pak soudně nařídil provádění obsahové stejnoměrnosti tabletoviny u každé finálně vyráběné šarže bez ohledu na adekvátnost validačního procesu. [10] Po registraci přípravků dalších generických firem bylo potvrzeno, že terapeutická rizika spojená s podáváním warfarinu obvykle nebývají způsobena podáváním warfarinu od různých výrobců, nýbrž interindividuální variabilitou odpovědi na podaný lék a kolísáním obsahu v jednotlivých tabletách. [6]

Závady jakosti z hlediska obsahové nerovnoměrnosti jsou poměrně časté. Firma GlaxoSmithKline musela stáhnout z důvodu rozdílného obsahu účinné látky léčivý přípravek Marevan (warfarin) 3mg tablety, šarže 35222, v oběhu od 23. listopadu 2009. [7]

Také Zydus Pharmaceuticals USA Inc z důvodu závady jakosti stáhla léčivý přípravek Warfarin 2 mg tablety, MM5767, datum vypršení platnosti června 2014 na maloobchodní

úrovni. Hlavní důvod stažení je rozdílná velikost tablet a jejich následná obsahová nerovnoměrnost. [8]

Léky musí splňovat jakostní kritéria, která země dovozců pro jejich registraci požadují. Dokumentem zabývajícím se validacemi v rámci Evropské unie je patnáctý dodatek Evropské komise týkající se validace a kvalifikace. Kromě toho existují i odborná doporučení, která jsou vydávána od roku 1989 a která jsou publikována ve formě neustále aktualizovaných svazků. Sem patří i doporučení z roku 2012, zabývajícím se procesní validací. V České republice se validací v oblasti technologie lékových forem zabývá pokyn SÚKLu, který je příkladem již zmíněného pokynu patnáctého dodatku Evropské komise. V USA je právní oblast farmaceutické výroby obsažena v zákonech jednotlivých zemí a ve federálních zákonech. Oblast léčiv a léků je zahrnuta v samostatných předpisech, které jsou jejich součástí a kam patří i část týkající se problematiky SVP. Podrobné podmínky pro validaci obsahové stejnoměrnosti pevných lékových forem byly pak rozvedeny například v návrzích odborných doporučení FDA z roku 1999 a 2003. Přijatelná obsahová stejnoměrnost je nezbytnou podmínkou a jedním z nejdůležitějších kritických parametrů k tomu, aby mohl být léčivý přípravek uveden do výroby.

Z hlediska SVP je důležité, aby přípravek odpovídal nejen zavedeným lékopisným článkům (případně limitu FDA), ale aby jejich limitům vyhověl i na statisticky významné hladině spolehlivosti. K tomuto účelu je možné využít tzv. index správnosti Cpk a metodu Bergumova rozdělení. Pokud hodnota Cpk dosahuje alespoň hodnoty 1 a pokud RSD u tablet dosahuje na daném počtu vzorků tabelovaných hodnot Bergumova rozdělení, pak přípravek na statisticky významné hladině spolehlivosti splní lékopisné kritérium. Cpk index lze aplikovat na pevné limity článku 2.9.6 a požadavek FDA, které se zde používají především k hodnocení směsí, zatímco Bergumovo kritérium vychází z článku 2.9.40 a využívá se obvykle k hodnocení tablet. [9]

Po validaci výroby a zavedení konkrétního výrobního postupu do praxe se provádí při každé výrobě rutinní výstupní kontrola. Zkouška na obsahovou stejnoměrnost při rutinní kontrole, je-li požadována, musí vyhovovat požadavkům lékopisu. Zkouška je založena na stanovení jednotlivých obsahů léčivé látky v předepsaném počtu jednotek

zkoušeného přípravku a určení, zda jednotlivé obsahy jsou v povolených mezích vzhledem k průměrné hodnotě obsahu. [6] Podle Ph.Eur. (ČL 2.9.6) obsah účinné látky v každém z deseti vzorků musí být v rozmezí 85-115 % od průměrného obsahu. Podle kritérií FDA, má každý vzorek tabletové směsi obsahovat 90-110 % nalezeného průměru API, přičemž RSD musí být menší než 5 %. Pokud jsou u směsi splněné požadavky FDA, potom směs automaticky splňuje i limit udávaný v ČL 2009. Požadavky FDA jsou přísnější než požadavky ČL. Tyto požadavky se uplatňují jen u tabletových směsí. Přísnější požadavky u směsí byly stanoveny z důvodu, že při jejich zpracování do konečných tablet může docházet k jejich rozdělování. V důsledku toho byla v USA zavedená povinnost vykonávat kontrolu obsahové rovnoměrnosti tabletové směsi u každé finálně vyráběné šarže. [10] Pro hodnocení obsahové stejnoměrnosti tablet uvádí ČL 2009 dva články. Vývojově starší článek 2.9.6. hodnotí obsahovou stejnoměrnost na základě nalezených obsahů u deseti vzorků a jejich průměru, přičemž hlavní interval pro jednotlivé vzorky činí 85-115 % nalezeného průměru. Článek ovšem nijak nezohledňuje, zda je průměrný obsah správný. Tuto nevýhodu u dávkových lékových forem odstranil článek 2.9.40., který hodnotí nejen individuální odchylky jednotlivých vzorků, ale za pomoci výpočtu zohledňuje i odchylku nalezeného průměrného obsahu od obsahu teoretického. [9] Zároveň monografie článku v USP požaduje limit pro obsah léčiva v tabletách s obsahem warfarinu 95–105 %. [11]

Za účelem individualizace léčby warfarinem musí být odpovídající terapeutická hladina léčiva v krvi pečlivě vytitrována. Hospitalizovaným pacientům s normální hmotností a se spontánními hodnotami INR pod 1,2 se podává 10 mg warfarinu během tří po sobě jdoucích dnů. V dávkování se pokračuje podle naměřených hodnot INR. U propuštěných pacientů a u pacientů s dědičným nedostatkem proteinu C nebo proteinu S se doporučuje podávat zahajovací dávku 5 mg warfarinu během tří po sobě jdoucích dnů. U starších pacientů, pacientů malého věku, pacientů, u nichž je spontánní INR nad 1,2 nebo pacientů, kteří mají nějaké onemocnění nebo užívají léky ovlivňující účinnost antikoagulační léčby, se doporučuje počáteční dávka 5 mg warfarinu ve dvou po sobě jdoucích dnech.

Měření INR se provádí denně, dokud není dosažena stabilní cílová hodnota. Obvykle to trvá 5 až 6 dnů od zahájení léčby. Intervaly mezi jednotlivými měřeními INR se poté prodlužují z týdenních na cílovou 4-týdenní frekvenci měření. Jestliže se v hodnotách INR objeví velké výkyvy nebo pacient trpí jaterním nebo jiným onemocněním ovlivňujícím absorpci vitamínu K, interval mezi jednotlivými měřeními musí být kratší než 4 týdny. Zařazení nového léku nebo vysazení léku starého vyžaduje častější stanovení hodnoty INR. Při dlouhodobé terapii se týdenní dávka warfarinu upravuje podle naměřených hodnot INR. Je-li potřebné upravit dávkování, další měření INR se provádí za 1 až 2 týdny po úpravě dávky. Poté lze interval měření opět rozšířit na cílový (4-týdenní).

Po týdnu užívání warfarinu se dávka zvyšuje nebo snižuje o 10-20 % podle naměřených hodnot INR. Např. u pacientů s hodnotou INR 1,1–1,4 po týdnu užívání se dávka zvyšuje o 20 %, u INR 1,5-1,9 se dávka zvyšuje o 10 %, naopak u pacientů s INR 3,1-4,5 se dávka sníží o 10 %. [12]

Z tohoto důvodu je nezbytná obsahová stejnoměrnost tablet. Jedná se o jeden z nejdůležitějších kritických parametrů, neboť je dobře známo, že warfarin má velice úzké terapeutické rozmezí, a proto je jeho hladinu v krvi třeba vytitrovat za použití velmi přesných a malých dávek. [10] Lékopisné limity ovšem povolují kolísání obsahu v tabletách $\pm 15\%$, zatímco dávkování se má např. zvýšit o 10 %.

Vyhovující obsahová stejnoměrnost v tabletách je podmínkou účinné a bezpečné farmakoterapie. Při přípravě tablet s nízkým obsahem účinných látek a u léčiv s úzkým terapeutickým indexem se využívá metoda vlhké granulace. Metoda sice zaručí obsahovou stejnoměrnost, ale je poměrně drahá, časově náročná a zpomaluje proces výroby. Farmaceutické firmy se snaží svoji výrobu zefektivnit, a proto usilují o využití jiné metody, která by zajistila stejnou obsahovou stejnoměrnost jako předchozí a nesla by i další výhody.

Metoda, která by mohla tyto výhody nabídnout, je výroba tablet přímým lisováním. Mezi hlavní nevýhody procesu přímého lisování patří nesnadné dosažení obsahové stejnoměrnosti. Často při této metodě dochází k segregaci účinné látky, což má za následek rozdílnou obsahovou stejnoměrnost. Segregaci účinné látky ovlivňuje celá

řada faktorů, jako např. distribuce velikosti částic léčiva i pomocných látek, hustota, elektrostatický náboj, doba mísení, pořadí mísení látek, atd.

Další nevýhodou je rozduřování při manipulaci se směsí a nedostatečné promísení v mísicím zařízení, kde zpravidla dochází k tzv. „hluchým místům“, ve kterých díky konstrukci mísicích zařízení dochází často k nedostatečnému promísení. Aby k tomuto jevu nedocházelo, bývají zde využívány účinnější 3D mísiče, kde se mísicí kontejner otáčí kolem tří os. [6]

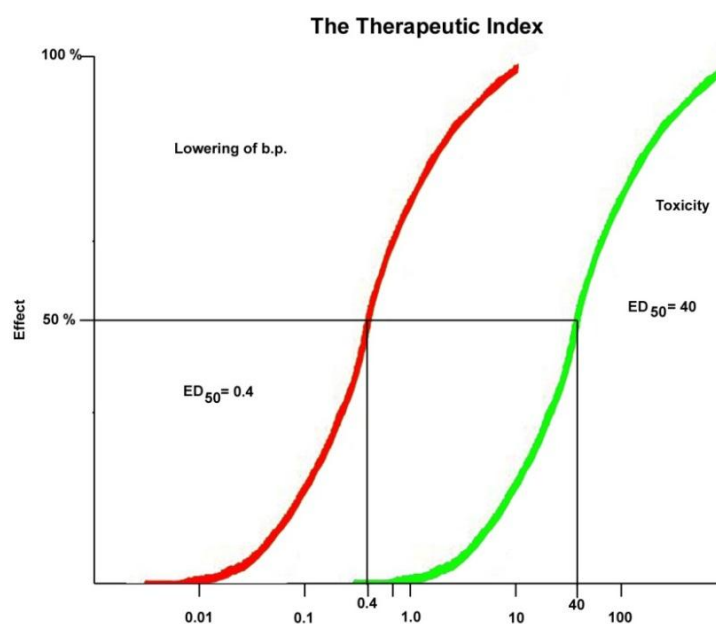
Tato práce se snaží zhodnotit významnost procesních proměnných ovlivňujících obsahovou stejnoměrnost tablet. Cílem je posoudit vliv rozdílné koncentrace léčiva a rozdílného času mísení na výslednou obsahovou stejnoměrnost tabletovin a tablet vyrobených metodou přímého lisování.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Terapeutický index

Terapeutický index je poměr dávky léčiva nebo jiného léčebného činidla, které vyvolávají léčebný účinek, k dávce způsobující otravu. Kvantitativně je to dávka způsobující otravu u 50 % populace (TD_{50}) k minimální dávce účinné rovněž pro 50 % populace (ED_{50}). [13]

$$\text{Terapeutický index} = TD_{50} / ED_{50}$$



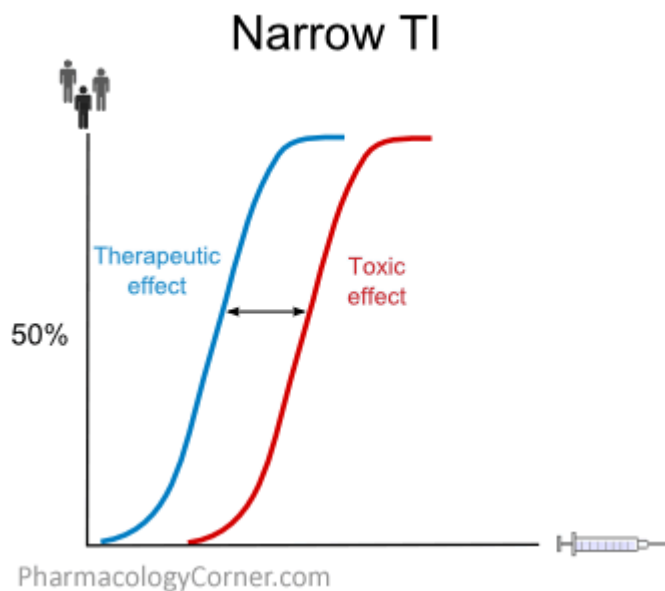
Znázornění terapeutického indexu [14]

2.1.1. Úzký terapeutický index

Úzký terapeutický index mají léky s malým rozdílem mezi efektivní a toxickou dávkou, kdy i malé změny koncentrace mohou vést k drastickým změnám a vyvolání nežádoucích účinků, zejména u starších pacientů nebo u pacientů užívajících více léků. [1]

Je výhodné mít u léčiva co nejvyšší terapeutický index; jinak řečeno, aby práh toxicity byl co nejvyšší oproti účinné léčebné dávce a tím se minimalizovaly negativní účinky náhodného předávkování. Obecně lze látky s užším terapeutickým

rozmezím (menším rozdílem mezi toxickou a terapeutickou dávkou) dávkovat na základě měření hladiny v krvi pacienta. Používají se při tom protokoly terapeutického monitoringu (TDM). [15]



Znázornění úzkého terapeutického indexu [16]

2.1.2. Léky s úzkým terapeutickým indexem

K látkám s nízkým terapeutickým indexem (úzkým terapeutickým rozmezím), které vyžadují monitoring pro dosažení terapeutické dávky a současně i ochrany před otravou, patří dimerkaprol, theofylin, warfarin, fenytoin, karbamazepin, fenobarbital nebo uhličitán lithný. K vyvážení účinnosti a nežádoucích účinků je monitoring nutný i u některých antibiotik, například gentamicinu, vankomycinu, amfotericinu B nebo polymyxinu B. [17]

2.2. Warfarin

Používá se k profylaxi tromboembolie za rizikových situací – např. při fibrilaci síní, po náhradě srdečních chlopní, ale i v dalších situacích, kdy je zvýšené riziko výskytu trombu. Dlouhou dobu byl víceméně jediným použitelným perorálním léčivem s antikoagulačním působením. Zpočátku se používal jako jed na krysy. Řadí se mezi 4-hydroxykumariny, které jsou chemickou strukturou velmi blízké vitamínu K a vstupují do

jeho reakcí. Vitamin K se při karboxylační reakci mění na epoxid vitaminu K a musí se regenerovat. Této regeneraci hydroxykumariny zabraňují a vyvolávají tak nedostatek aktivního vitaminu K nezbytného pro krevní srážení.

Kumariny se po perorálním podání dobře resorbují. Syntéza faktorů krevního srážení závisí na poměru koncentrací vitaminu K a warfarinu v játrech. Dávku, potřebnou pro dostatečnou míru antikoagulačního účinku, je třeba najít individuálně u každého pacienta zvlášť. Dozírání na průběh léčby vyžaduje kontroly hodnoty INR (international normalized ratio), která nahradila dříve používaný Quickův test. [18]

2.2.1. Vitamín K a jeho antagonisté

Vitamín K podporuje v játrech karboxylaci glutamátových zbytků v prekurzorech faktorů II, VII, IX a X krevního srážení. Karboxylové skupiny jsou nutné pro vazbu na povrch fosfolipidů, zprostředkovanou vápníkovými ionty. Existují různé deriváty vitaminu K a jsou rozdílného původu. [18]

2.2.2. Nežádoucí účinky warfarinu

Hlavním nežádoucím účinkem warfarinu je krvácení, které obvykle nastává při předávkování, ale nikoli výjimečně i při správně nastavené účinné dávce. Krvácení nastává vždy z místa nejmenší rezistence – může jít nejčastěji o gastroduodenální vřed, vývodné cesty močové, nosní sliznice, tepenná výduť, ale i místo jakéhokoliv, třeba drobného traumatu. Velmi často je krvácení projevem interakce s jinými léky nebo složkami potravy, která může být farmakokinetické, farmakodynamické nebo smíšené etiologie. Neúčinnost léčby warfarinem při jeho podávkování může nést taky závažné komplikace, vytvoření trombu atd. [19]

Velmi vzácnými nežádoucími účinky jsou reakce z přecitlivělosti, projevující se obvykle kožní vyrážkou, reverzibilním zvýšením hladin jaterního enzymu, bolest žlučníku, vznik vaskulitidy, reverzibilní ztráta vlasů, priapismus (obvykle na začátku léčby), syndrom purpurových prstů (načervenalé bolestivé kožní léze na prstech nohou a chodidlech). [12]

Při podávání v těhotenství mohou hydroxykumariny poškodit chrupavky a kosti plodu a vyvolat poruchy CNS (jako následky krvácení). Mimoto je nebezpečí retroplacentárního krvácení. [18]

Riziko krvácení je zcela jednoznačně ovlivňováno širokým spektrem individuálních vlastností pacienta. Mezi nejvýznamnější patří věk nad 65 let. Vážné krvácení se objevuje u pacientů starších 75 let v 5,1 % za rok, zatímco u mladších osob jen v 1 %. [20]

Významná komorbidita je další rizikový faktor hemoragických komplikací antikoagulace warfarinem. Mezi sledovaná onemocnění v tomto smyslu patří neléčená hypertenze, cerebrovaskulární onemocnění, ischemický iktus, těžké onemocnění srdce, insuficience ledvin, těžké jaterní onemocnění a alkoholismus, nádorové onemocnění, stavy spojené s poruchou hemostázy (trombocytopenie pod $50 \times 10^9/l$, trombocytopenie, koagulopatie, těžká vaskulární porucha). Významné jsou z tohoto pohledu i skryté patologické léze, které se manifestují krvácením až v průběhu antikoagulační léčby (nádory, ulcerace, střevní záněty, atd.). [21]

Vážné krvácení u pacientů léčených warfarinem je nejúčinněji zajištěno rychlým a kompletním zrušením antikoagulačního efektu léku pomocí koncentráту protrombinového komplexu a pomalé i.v. infuze vitamínu K1 nezávisle na důvodu pro antikoagulaci. Tento přístup může zajistit minimalizaci následků krvácení. Méně vážné krvácení nebo asymptomatické vystupňování mezinárodního normalizovaného poměru může být účinně léčeno vynecháním nebo snížením dávky warfarinu nebo perorálním podáním vitamínu K1 (i.v. podáním jen ve vybraných rizikových případech), které sice vede jen k částečné úpravě koagulopatie, nicméně takové, kterou vyžaduje stupeň rizika rekurence trombotické příhody. [22]

V poslední době se množí informace o genetických změnách manifestujících se zvýšenou citlivostí jejich nosiče na warfarin. Zatím byly identifikovány dva stěžejní geny, jejichž polymorfismus hraje zásadní roli v individuální senzitivě vůči warfarinu. První z nich (CYP450 2C9) ovlivňuje biotransformaci warfarinu [23] [24], druhý (VKORC1) determinuje cílový enzym metabolického cyklu vitamínu K1, který je blokován warfarinem. [25] [26]

Domníváme se, že warfarin je v současné klinické praxi lékem s největším počtem známých a klinicky významných interakcí. Naopak za výhody warfarinu lze považovat možnost podávání jednou denně, jednoduchou možnost farmakodynamického monitorování účinku pomocí protrombinového času, omezení častějších nežádoucích účinků prakticky pouze na krvácení (tedy účinek závislý na dávce) a možnost jednoduché antagonizace účinku podáním mražené plazmy nebo vitamínu K. Výše uvedený stručný přehled nemůže postihnout všechny podstatné informace o rizicích warfarinu, pouze naznačuje, jak vysoká je náročnost léčby. [19]

2.2.3. Generické přípravky s obsahem warfarinu

Generické léky se v klinické praxi používají čím dál častěji. Tyto záměny se provádějí hlavně z finančních důvodů, protože ceny generik jsou značně nižší než originálních přípravků. Hlavní výhodou generických výrobců je fakt, že nemusí investovat do počátečních fází vývoje léčiva, které jsou značně rizikové a nákladné. Obvykle nejsou nutné ani klinické studie, stačí pouze průkaz bioekvivalence. Nicméně pro léky s úzkým terapeutickým indexem, jako je warfarin, jsou zde určité obavy týkající se právě bioekvivalence. Hlavně dříve byla generická záměna u těchto léčiv považována za nevhodnou a nedoporučovala se. Nyní už se zpřísnily podmínky validace výrobního procesu a generická substitute by neměla přivodit zvýšené riziko hemoragických komplikací. V Evropské unii je pro uvedení generik na trh vyžadována podmínka zásadní podobnosti (*essential similarity*). Za zásadně podobné přípravky se považují ty, které mají shodnou léčivou látku, mohou se ovšem lišit obsahem pomocných látek. Generický léčivý přípravek musí být používán jen ve stejné indikaci jako originální přípravek, mít sílu (tzn. obsah léčivé látky) shodnou se silou originálního léčiva, ale nemusí se vyrábět ve všech silách jako originál. Další podmínkou je, že tyto dva léčivé přípravky musí mít shodnou lékovou formu a způsob podání. [27]

Výrobce musí doložit, že každý konečný produkt byl vyrobený za dodržení zásad GMP a že tento produkt splňuje stanovené požadavky a kvalita výsledného produktu je zabezpečena ve všech krocích výroby a následně bezchybně dokumentována. [28]

Generické výrobky mohou být stejně účinné a bezpečné jako originální. U preventivně léčených pacientů je tato záměna poměrně neškodná a neměla by způsobit závažnější komplikace. Ovšem někdy i malé změny dávkování mohou u vnímavých pacientů, jako jsou starší lidé, nebo u pacientů se závažnou indikací způsobit potencionálně život ohrožující odchylky INR. Proto vždy při generické záměně je nutné zhodnotit zdravotní stav i kondici pacienta. [29]

Mezi časté komplikace, se kterými by se mohli pacienti setkat v důsledku generické záměny, je krvácení. Krvácení z nosu nebo dásní, tvoření podlitin jsou nejobvyklejšími formami krvácení. Méně časté komplikace jsou krev v moči, černá nebo krvavá stolice, silnější nebo delší menstruační krvácení nebo jiné krvácení. Objeví-li se neobvyklé krvácení, je třeba sdělit to lékaři nebo se poradit s lékařem. Dalšími nežádoucími účinky mohou být reakce z přecitlivělosti na pomocnou látku, projevující se obvykle kožní vyrážkou. Může se ovšem objevit i nedostatečná kompenzace warfarinizace projevující se vznikem trombu, proto je nezbytné pečlivé sledování INR hladin, které by těmto nežádoucím účinkům předešlo. [12]

2.3. Metody výroby tablet

Farmaceutická technologie nabízí několik možností výroby tablet s nízkým obsahem účinné složky, jako je vlhká granulace, suchá granulace, granulace tavením, fluidní granulace a v poslední době i impregnace. Některé z těchto metod však vždy nemusejí vést k očekávanému efektu a navíc se jedná o metody pracné a zdlouhavé, případně komplikované. Proto je zde stále, pokud je to možné, tendence preferovat metodu přímého lisování. [6]

Tato kapitola charakterizuje základní a nejčastěji používané operace při výrobě tablet a stručně popisuje jednotlivé typy výroby. Věnuje se taky základním komplikacím, které mohou při výrobě tablet vznikat.

2.3.1. Granuláty

Jsou léky tvořené z tuhých, suchých shluků částic prášků, dostatečně pevných (odolných) při mechanickém namáhání, určené k vnitřnímu užití. Skládají se z léčiva a

pomocných látek. Granuláty jsou lékovou formou, větší význam však mají jako meziprodukty při výrobě tablet, jader obalovaných tablet a náplně tvrdých želatinových tobolek. [30]

Prachová směs účinných a pomocných látek musí být nejprve převedena do formy granulátu a až následně lisována. Pro granulování směsí určených na lisování tablet jsou dva důvody: zlepšení tokových vlastností, které nastává zhuštěním primárních částic, a fixace léčiva na pomocné látky, která je předpokladem stejnorodosti směsi a tím významným příspěvkem ke stejnorodosti obsahu (dávky) léčiva v každé jednotlivé tabletě.

V porovnání se suchou granulací je použitelnost vlhké granulace širší, univerzálnější, protože přidáním kapalné fáze do tuhé práškovité směsi se podstatně zlepší její deformovatelnost a usnadní její aglomerace. [31]

2.3.1.1. Výhody granulátu

Důvody ke granulaci jsou převážně technologické. Granulát se vyznačuje lepšími tokovými vlastnostmi i snadnějším zacházením. Často se zlepší i obsahová stejnoměrnost. [30]

- ❖ Bezprašné manipulování
- ❖ Lepší rozdělení směsí s nízkým obsahem účinné látky
- ❖ Vyšší mechanická pevnost vyrobených tablet
- ❖ Zlepšení tekutosti
- ❖ Vyšší stabilita
- ❖ Zlepšení homogenosti obsahu
- ❖ Lepší rozpustnost [31], [32]

2.3.1.2. Nevýhody granulátu

- ❖ Časově náročná metoda
- ❖ Finančně nákladnější
- ❖ Vystavení nestabilních látek teplu
- ❖ Působení dalších přídavných látek [32]

Přestože výčet nevýhod je poměrně krátký, časová a finanční náročnost je hlavním důvodem pro výzkum efektivnějších metod výroby, které by pomohly farmaceutickým firmám snížit náklady.

2.3.1.3 Vlhká granulace

Nejčastěji používaná metoda při výrobě tablet. Zajišťuje obsahovou stejnoměrnost, ale je daleko náročnější finančně i časově než klasická metoda přímého lisování tablet.

V porovnání se suchou granulací je použitelnost vlhké granulace širší, univerzálnější, protože přidáním kapalné fáze do tuhé práškové směsi se podstatně zlepší její deformovatelnost a usnadní její aglomerace. Léčiva, podávaná ve větších dávkách, získají granulací potřebné tokové vlastnosti. Na tuto změnu jejich sypanosti postačí podstatně menší množství pomocných látek v porovnání s tabletovinou na přímé lisování. Za vlhka se dosáhne velmi pravidelné rozdělení všech částí tabletoviny, zejména léčivých látek používaných v malých dávkách, barevných léčiv a barviv. To má příznivý vliv na stejnoměrnost obsahu v každé připravené tabletě. I když vlhká granulace představuje určité riziko porušení stálosti látek citlivých na vlhkost a zvýšenou teplotu, je tento problém řešitelný použitím nevodných roztoků pojiv (např. roztoků lihu). Při vlhké granulaci bylo vyvinuto několik postupů a metod. V současnosti převládá granulace hnětením (mísením) a ve fluidní vrstvě.

Kapalnou fází mohou být rozpouštědla (zpravidla líh různé koncentrace) nebo roztoky polymerů, popř. tzv. vlhčiva, jako je škrobový hydrogel (5-15%), roztok želatiny (1-3%), polyvinylpyrolidonu (3-5%) a velmi často roztoky celulózových éterů (methylcelulóza a hydroxymethylcelulóza) v koncentraci 1-5 %.

Zařízení na vlhkou granulaci založená na míchání a hnětení se skládají z mísy z nerezového materiálu a míchadel. Hlavní míchadlo materiál hněte s přidávaným vlhčivem, druhé, vysokootáčkové, rozděluje hnětenou hmotu na granulátová zrna. Celý proces je rychlý, prachová směs se předmísí asi za 2 minuty, hnětení, vlhčení a vytváření zrn vyžaduje podle vlastnosti 2-15 minut, asi za 30 sekund se mísa výpustným otvorem vyprázdní.

Nevýhodou mokré granulace je sušení materiálu, které následuje po jeho zhuštění a pro které se musí přenést do jiného zařízení, např. do fluidní sušárny. Sušení je dlouho trvajícím procesem, a tak ke granulaci trvající např. 10 minut přibude 30 až 100 minut trvající sušení.

Řešením je použití granulátorů pracujících za sníženého tlaku a zvýšené teploty nebo připojení fluidní sušárny ke granulátoru pracujícímu na principu hnětení a míšení. [31] [33]

2.3.1.4. Suchá granulace

Suchá granulace je postup, při kterém se vytvoří přechodně větší shluky (agregáty) a ty se potom rozdrobněním rozdělí na granulátová zrna. Přechodné agregáty jsou buď velké tablety (brikety – odtud i briketování jako alternativní název suché granulace), nebo jinak tvarované (např. válcovité) výlisky. Suchá granulace je zrnění bez použití rozpouštědla a tepla na sušení. Z toho vyplývá její přednost. Je vhodná pro látky citlivé na vlhkost. Na druhé straně při potřebných vyšších lisovacích tlacích a vynaložené energii je málo vhodná pro léčiva, která se inaktivují teplem (např. enzymy). Výlisky se dobře rozpadají a rozpouštějí, lehce přijímají vodu, protože částice nespojují pojiva. Odpadá energeticky náročný proces sušení. Granulace za sucha, i když je provozně jednoduchá a výhodná, nepřináší tak dobré výsledky jako granulace za vlhka, a proto se uplatňuje ve výrobě hlavně u těch léčivých látek, které jsou nestálé a vlhkou granulaci nesnášejí (např. kyselina acetylsalicylová). [33]

2.3.2. Přímé lisování

Metoda přímého lisování se začala ve farmaceutické technologii prosazovat zejména v sedmdesátých a osmdesátých letech 20. století. Její princip spočívá v tom, že se odvážené účinné a pomocné látky smísí v suchém stavu, a to buď v jednom kroku, nebo postupně. Vzniklá směs se bez dalších úprav ztabletuje. Přímé lisování je zdaleka nejjednodušší způsob výroby tablet. Tato jednoduchá metoda snižuje kapitál, pracovní sílu, náklady na energii a vyhýbá se vodě a dalším látkám, na které mohou být pomocné i účinné látky citlivé.

Existují 3 základní faktory pro úspěšnou tabletaci, tok, stlačitelnost a obsah účinné látky. Pokud tímto způsobem lisujeme směs s nízkým obsahem účinné látky, je zapotřebí se věnovat velikosti částic účinné látky. Pokud jsou částice příliš hrubé, nedojde k perfektnímu promísení a tím je narušena uniformita směsi. Naopak příliš jemné částice mohou vyvolat také značné problémy. [6] [34]

Tabulka č. 1: Porovnání vlhké, suché granulace s metodou přímého lisování [35]

Vlhká granulace	Suchá granulace	Přímé lisování
Mísení	Mísení	Mísení
Vlhčení, hnětení	Shlukování	----
Sušení	Rozdrobnění	----
Mísení s kluznou látkou	Mísení s kluznou látkou	Mísení s kluznou látkou
Zhutnění	Zhutnění	Zhutnění
Lisování	Lisování	Lisování

2.3.2.1. Mísení

Mísení je pronikání částic jedné látky mezi částice látky druhé. Cílem je vytvoření co nejstejnorodější disperze. Mísení závisí na skupenství látek. Tuhé práškovité látky se mísí posuvem hmoty. [33]

Hlavním cílem, který se přitom sleduje, je zpravidla dosáhnout uniformity směsi a následně i uniformity výrobků z této směsi. Dalším cílem může být maximalizovat styčnou plochu složek, čímž se podpoří fyzikální a chemické procesy na rozhraní složek směsi. U mísení sypkých směsí je rovněž nutné velmi opatrně volit dobu mísení. Neplatí zde pravidlo, že s délkou mísení vzrůstá i stupeň homogenity směsi. Naopak, po určité době mísení dojde k tzv. přemísení (overblending), kdy vlivem odlišných fyzikálně chemických vlastností jednotlivých komponent směsi dojde k jejich rozduřování a tyto se začnou oddělovat, resp. segregovat. Proto musí být zvolena i optimální doba mísení, kterou nelze jednoznačně predikovat, ale je nutné ji stanovit experimentálně. O tom, zda v mísení

pokračovat nebo je ukončit, se rozhodne na základě výsledku analýzy vzorku. Při mísení tuhých látek se uplatňuje princip konvekce, difúze, stříhu. Tuhé sypké látky je vhodné před mícháním upravit na stejnou velikost částic, aby je bylo možné dokonale smísit. Musí se počítat s tím, že těžší částice budou klesat ke dnu zařízení a že míchání částic nepravidelného tvaru bude obtížnější.

Mísení je vratný proces. Mísení, tedy pochod, kdy se částice různých složek dostávají do vzájemného kontaktu, je vždy do určité míry doprovázeno segregací, tedy procesem, při němž se naopak částice různých složek směsi od sebe oddělují. Intenzita obou pochodů se může lišit v závislosti na vlastnostech konkrétní směsi, ale také na podmínkách, v nichž se směs nachází. Mísení může obecně vykazovat různou míru spontánnosti. Pozitivní mísení je samovolné, probíhá bez vnějších sil, jako např. difuzní promíchání plynů v nádobě. O negativním mísení mluvíme tehdy, když samovolně probíhá segregace a bez vnějšího působení dojde k oddělení složek (např. usazování suspenzí). Neutrální mísení se vyznačuje tím, že bez vnějšího působení nedochází k míchání, ani segregaci a k jakémukoliv posunu v homogenitě směsi je zapotřebí vnějších vlivů. Je typické např. pro směsi prášků. [6] [33] [36]

2.3.3.2. Lisování

Tabletovina (směs pomocných a účinných látek nebo granulátu a pomocných látek) musí mít vhodnou sypkost, vlhkost, zrnitost i lisovatelnost, aby se zabezpečilo přesné dávkování a snadné lisování. Proto je výroba tablet nemyslitelná bez pomocných látek.

Obecně se materiály dělí na plastické, elastické a viskoelastické. Plastické materiály se sice dají lisovat při nízkých lisovacích tlacích, výsledná tableta však nemá dostatečnou strukturu pórů a nezabezpečuje potřebnou rozpadavost. Elastické materiály je nutné lisovat při vysokých lisovacích tlacích, vyrobené tablety mají tendenci víčkovat, rozdělit se na víčko a tělo tablety. Plniva pro výrobu tablet mají být viskoelastickými materiály. Jsou přechodnou oblastí mezi ideálně plastickými a ideálně elastickými materiály. Při lisování mají vykazovat jak elastické, tak plastické chování.

Tabletové lisy existují buď výstředníkové, malokapacitní, určené pro laboratorní účely, nebo rotorové – rotační, používané v průmyslu. Výstředníkový lis byl použit i v tomto experimentu. Tablety lisované tímto způsobem mohou mít nerovnoměrné mechanické vlastnosti a rychlost lisování je také značně horší než u rotorových lisů. [30] [37]

Průběh tvarování tablet

- ❖ Počáteční stádium – nasypání směsi do matrice
- ❖ Stádium zhutnění prášku – únik vzduchu, tabletovina obsahuje až 30 % vzduchu, vylisek 2 %
- ❖ Stádium elastické deformace (vratná)
- ❖ Stádium plastické deformace (nevratná) - vylisek se sice během 24 hod. po vylisování ještě trochu zvětší, pak už je ale stabilní)

2.3.3.3. Výhody

- ❖ **Efektivita nákladů** - primární výhodou přímého lisování je ekonomické hledisko, metoda vyžaduje menší počet jednotlivých operací. Je zapotřebí menší množství přístrojů, nižší spotřeba, výkon, méně místa a méně práce zaměstnanců, což vede ke snížení výrobních nákladů tablet.
- ❖ **Stabilita** - vynechává kroky vlhčení i následné sušení směsi, které by mohly narušit strukturu účinných i pomocných látek. Změny způsobené skladováním jsou méně časté než u tablet vyrobených z granulátu.
- ❖ **Rychlejší rozpouštění** - rozpad nebo rozpuštění tablet je limitující krok v absorpci tablet připravených vlhkou granulací. Tyto tablety se nejprve rozpadají na granula, až následně na částice vstřebatelné. U přímo lisovaných tablet se tento krok vynechá a rozpad tablet a následná absorpce je znatelně rychlejší.

- ❖ **Další výhody** - nižší riziko kontaminace vzhledem k absenci vody. Mikrobiální růst je tím pádem minimální. Požadavky na validaci a dokumentaci jsou, vzhledem k menšímu počtu jednotlivých operací, jednodušší. [35] [38]

2.3.3.4. Nevýhody

- ❖ **Segregace** - přímé lisování je více náchylné k segregaci v důsledku rozdílu v hustotě API a pomocných látek. Suchý stav materiálů během míchání může vyvolat statické náboje a vést k segregaci. To může vést k problémům, jako jsou odchylky hmotnosti a obsahová nejednotnost.
- ❖ **Cena** - přímo stlačitelné pomocné látky jsou speciálně vyráběny. Musí mít dobrou stlačitelnost a tekutost. Z tohoto důvodu jsou tyto látky relativně nákladné a nedostupné.
- ❖ **Nízký potenciál stlačení** – vysoké dávky léčiva, které mají velký objem, nízkou objemovou stlačitelnost a špatnou tekutost nejsou vhodné pro přímé lisování. Vznikaly by příliš velké tablety, které se špatně polykají. Např. hydroxid hlinitý, hořečnatý atd.
- ❖ **Citlivost na kluznou látku** – přídavek kluziv může způsobovat značné komplikace viz. 2.4.2.1. Faktory ovlivňující obsahovou stejnoměrnost – přísada kluzných látek
- ❖ **Zhoršená a časově náročnější homogenizace** - při homogenizaci je potřebné provádět vzorkování, které kontroluje stejnoměrné promísení směsi. Je ovšem časově náročnější a často se při něm může vyskytnout chyba. Z tohoto důvodu je třeba ho provádět přesně a podle uvedených postupů. Musí být stanovena správná doba mísení, aby byla směs rovnoměrně promísená a nedošlo k segregaci částic. [35] [38]
- ❖ **Zhoršená obsahová stejnoměrnost** – problém s rovnoměrným rozložením API

2.3.3.5. Předpoklady pro přímé lisování

Směsi určené pro přímé lisování musí mít vhodnou sypkost, vlhkost, zrnitost i lisovatelnost. Viskoelastické materiály jsou nejvhodnější pro přímé lisování. Mají dostatečnou plastickou formovatelnost i dobré vazebné vlastnosti. Při lisování vykazují jak elastické, tak plastické chování. [30] [37]

2.4. Faktory ovlivňující obsahovou stejnoměrnost

Patří sem celá řada faktorů ovlivňujících rovnoměrné promísení směsi. Můžeme je rozdělit na fyzikální vlastnosti a výrobní postupy ovlivňující uniformitu složení.

2.4.1. Fyzikální vlastnosti prášků

❖ Velikost částic

Obsahová stejnoměrnost může být ovlivněná velikostí částic. Tento parametr je jedním z nejdůležitějších ve vývoji pevné lékové formy. Může ovlivňovat nejen obsahovou stejnoměrnost, ale i biologickou dostupnost léčiva, disoluční rychlost, tokové a lisovací vlastnosti. [39]

Lze konstatovat, že ze vzrůstající velikostí částic směsí se, až do jisté míry, zvyšuje i předpoklad k dosažení dobré obsahové stejnoměrnosti. Při mísení částic o průměru menším než 150 μm se ve zvýšené míře uplatňují elektrostatické síly a u částic s velikostí pod 10 μm se prosazují síly Van der Waalsovy. Ty pak během mísení vedou k tvorbě nežádoucích aglomerátů. [9] Na druhou stranu se mohou použít i interaktivní práškové směsi, které zajistí lepší tekutost směsí i následnou rozpustnost. Nejčastěji se používají směsi mikronizovaných léčiv které se adsorbují na povrch hydrofilních částic, čímž se zvětší styčný povrch léčiva a tím se i zrychlí rozpouštění. Principem této metody je dlouhodobé mísení směsí malého množství léčivé látky s pomocnými látkami řádově většího rozměru částic. Tyto metody se využívají pro přímé lisování tablet nebo v dávkování mikronizovaného léčiva v práškových inhalátorech. Ve farmaceutické technologii se interaktivních práškových směsí využívá zejména při formulaci tablet nebo při přípravě antiastmatik k inhalační aplikaci. Další formou úpravy může být mikrogranulace,

která podobně jako interaktivní práškové směsi zvyšuje styčný povrch léčivé látky a umožní lepší zpracování, tak zvýšení rozpustnosti a rychlejší rozpouštění účinné látky z pevné lékové formy. [40]

Velikost částic ovlivňuje všechny kroky ve výrobě tablet, proto je to určitě nezanedbatelné hledisko, na které se musí brát ohled ve všech stádiích.

❖ ***Tvar částic***

Nejméně vhodný je vláknitý tvar částic. Mohou do sebe zapadat a hůře se sypou, proto mohou přivodit následné problémy s rovnoměrným promísením. Nejvýhodnějším tvarem částic jsou kulovité, které do sebe nezapadají a neovlivňují razantně obsahovou stejnoměrnost. [33] [34] [39]

❖ ***Hustota částic***

Částice o větší hmotnosti mají tendenci klesat ke dnu mísícího zařízení vlivem působení gravitační síly. Méně hmotné částice nedoletí do takové vzdálenosti jako částice hmotnější. Tento jev může přispět k segregaci částic. Nejlepší homogenity se dosáhne, budou-li částice kulovité, stejně velké, stejné hustoty i koncentrace. [31] [33] [41]

❖ ***Elektrostatický náboj***

Zásadními faktory ovlivňujícími uniformitu tablet v přímém lisování mohou být vzdálenosti přitažlivých sil jednotlivých částic. Přitažlivé síly mezi částicemi mohou být rozděleny na Van der Waalsovy vazby, vodíkové vazby a elektrostatické síly. Všechny tyto druhy vazeb nazýváme slabé vazebné interakce. Mezimolekulové síly jsou mnohonásobně slabší než přitažlivé síly chemické vazby. Přesto zpevňují prostorovou strukturu některých látek a ovlivňují fyzikální vlastnosti látek.

Všechny tyto síly jsou součástí kroků, jako je např. plnění, vyprazdňování, mísení atd. K těmto slabým vazebným interakcím může dojít do určité vzdálenosti mezi částicemi. Van der Waalsovy síly se označují jako síly krátkého dosahu, což

znamená, že působí jen na velmi krátké vzdálenosti. Pokud se ale větší molekuly k sobě přiblíží v takové orientaci, že může více atomů na sebe působit Van der Waalsovými silami, je výsledkem nezanedbatelný pokles energie systému, a tedy výrazná změna jeho vlastností. Pevnost vazby je dána vzdáleností mezi molekulami.

Vodíkové vazby se vyskytují prostřednictvím elektrostatické interakce a mohou se objevit jak intramolekulárně, tak intermolekulárně. Vodíkové můstky jsou nejsilnějšími ze slabých interakcí. Jejich vazebná energie dosahuje hodnot až 40 kJ/mol. Mikrokrystalická celulóza je příkladem materiálu, kde jsou vodíkové vazby považovány za důležité pro pevnost tablet. [42]

Statická elektřina je často označována jako neviditelný nepřítel výroby. Existují tři hlavní zdroje statické elektřiny: tření, separace, indukce. Při tření částic o sebe nebo o stěnu nádoby se elektrony spojené s povrchovými atomy k sobě velmi přibližují. Takové povrchové elektrony pak mohou přecházet z jedné částice na druhou. Metoda elektrostatického nabíjení prostřednictvím separace je podobná tření. Když se setká více částic, povrchové elektrony se nacházejí velmi blízko sebe a při separaci projevují tendenci k přilínání k jednomu nebo druhému materiálu. Velikost elektrostatického náboje souvisí s typem látky a mechanickým namáháním.

Druh materiálu hraje velkou roli ve velikosti intenzity elektrostatického náboje. Některé látky se staticky nabíjejí snadněji než jiné. U vodičů je přitažlivá síla větší než u nevodivých, protože dochází ke koncentraci náboje v povrchové vrstvě. Vlhkost také nemůžeme zanedbat. Všeobecně řečeno, čím sušší je prostředí, tím vyšší je úroveň elektrostatického náboje a obráceně, čím vyšší vlhkost, tím menší je i elektrostatický náboj. To je i jeden z důvodů, proč se pro výrobu tablet s nízkým obsahem účinné látky používá metoda vlhké granulace. [43]

Při mísení částic o průměru menším než 150 μm se ve zvýšené míře uplatňují i elektrostatické síly a u částic s velikostí pod 10 μm se prosazují síly Van der Waalsovy. Ty pak během mísení vedou k tvorbě nežádoucích aglomerátů,

kteře zhoršují manipulaci s prachovými částicemi i jejich následné stejnoměrné promísení. [9]

Teoreticky nejlepší homogenity se docílí mísením kulovitých částic o průměru nad 150 μm o stejné hustotě a poměru. To je ovšem u tablet s nízkým obsahem účinné látky prakticky nerealizovatelné. Těmto silám se může nepatrně zabránit použitím metody vlhké granulace, použitím interaktivních prášků, připojením částic na větší nosiče. Jako materiály můžeme použít laktosu, glukosu, manitol, což zajistí dostatečnou tekutost. Další možností je vytvoření větších aglomerátů tzv. měkkých pelet. [44]

Elektrostatický náboj je jedním z hlavních problémů úspěšné homogenizace. Nerovnoměrné promíchání směsi v důsledku slabých vazebných interakcí může mít zásadní vliv na následnou obsahovou stejnoměrnost tablet.

2.4.2. Výrobní postupy ovlivňující obsahovou stejnoměrnost

❖ *Koncentrace účinné látky*

Pokud je koncentrace jedné složky nízká, mají směsi tendenci k rozdělování. Pro větší obsah účinné látky stačí pouze zkouška hmotnostní stejnoměrnosti a pro obsahy menší než < 25 mg nebo < 25 % účinné látky je nutná zkouška obsahové stejnoměrnosti. Touto problematikou se více zabývá čl. 2.9.40. ČL 2009 (Ph. Eur.).

❖ *Přísada kluzných látek a pořadí mísení jednotlivých komponent*

Sem patří pořadí přídavku jednotlivých součástí směsi, zejména kluzných látek, které mohou obsahovou stejnoměrnost ovlivnit nejvíce. Při nevhodném pořadí přidáváním jednotlivých složek směsi mohou vznikat aglomeráty. Shluky nepříjemně komplikující proces mísení a negativně ovlivňující uniformitu složení směsi.

Aplikace kluziv, zejména stearanu hořečnatého, který se používá u drtivé většiny tabletových směsí, však při přímém lisování může způsobovat značné komplikace. Pokud se stearan hořečnatý mísí ve směsi po celou dobu již od počátku, mohou jeho jemné částice vytvořit na povrchu částic účinné látky, plniv a

pojiv souvislý film. Ten pak díky omezení kohezivních vlastností směsi znesnadní proces lisování. Výsledkem jsou výlisky o nedostatečné pevnosti. Protože rovnoměrný hydrofobní film zároveň zabraňuje smáčivosti výlisku, resp. penetraci vody a aktivizaci rozvolňovadel, dosahují takovéto výlisky i pomalejší disoluce. Proto se stearan hořčnatý přidává již k předmísené směsi a celková doba homogenizace obvykle nepřesahuje několik minut nebo dokonce sekund. Dojde přitom k „promazání“ směsi, ale již se nestačí vytvořit souvislý film. Na druhou stranu dlouhodobější doba mísení se stearem hořčnatým může zlepšovat celkovou homogenitu výlisku nebo naopak jeho nehomogenitu vlivem akcelerace procesu segregace jednotlivých složek směsi právě v procesu mísení. [6]

❖ ***Doba mísení***

Optimální čas mísení je velmi důležitý. Doba mísení je rozhodující pro kvalitu produktu. Neplatí zde, čím delší dobu jsou použité složky míseny, tím lepší bude dosažená obsahová stejnoměrnost. Naopak zde často dochází k jejímu zhoršení. Mluvíme pak o tzv. „přimíchání“ (overmixing). Kromě toho se také zvyšuje teplota, která může vést k poškození některých termolabilních komponent. Čas nutný k dosažení adekvátní homogenity směsi se určuje zpravidla experimentálně, pomocí analýzy vzorků, které jsou odebrány z předem stanovených míst v průběhu či na konci doby mísení. [45] [46]

Typické čtyři až šesti složkové směsi jsou přidány do horní části mísícího stroje. V ideálním případě se rotace zastaví, když je směs jednotná, obvykle po 10 až 30 minutách. V současné době existují metody, které by detekovaly uniformitu během procesu. Řadí se k nim NIR nebo Ramanova spektroskopie. Pro měření NIR a Ramanových spekter se většinou používá sonda umožňující snímání spekter přímo z homogenizační nádoby. Naměřená spektra se matematicky upravují a následně zpracovávají pomocí chemometrických metod za účelem získání vypovídajících dat o průběhu mísení. Získaná data se hodnotí pomocí statistických metod a následně se vynášejí do grafů v závislosti na čase mísení tak, aby byl dobře pozorovatelný průběh mísení. V praxi jsou ale využívány omezeně. [47]

Většinou se používá klasické vzorkování s následnou analýzou vzorku. S tím je ovšem spojen vznik chyb při vzorkování směsi (viz. níže).

❖ *Rychlost otáček*

Rychlost otáček ovlivňuje způsob pohybu částic v mísícím zařízení. Nesmí překročit tzv. kritickou rychlost, při které dochází k odstředivému pohybu částic.

❖ *Tvar nádoby*

Nejčastějším typem zařízení pro mísení prášků ve farmaceutickém průmyslu jsou rotační mísiče. Jedná se o rotující nádoby s vestavbami, v nichž je poměrně silný podíl disperzního a stříhového mechanismu mísení. Nádoby se otáčejí s frekvencí 5–30 min⁻¹. U homogenizačního zařízení se volí tvar nádoby asymetrický, u symetrické nádoby by mohlo dojít k rovnoměrnému pohybu tabletovací směsi a to by mělo za následek nerovnoměrné promísení. [36]

2.4.3. Chyby vzorkování

Vzorkování je důležitá činnost, při které se však odebírá jen malý vzorek celé šarže. Pokud odebrané vzorky nebyly reprezentativní, pak ze zkoušek na nich provedených nemohou vyplynout závěry platné pro celou šarži. Správně provedené a pečlivé ovzorkování je proto neodmyslitelnou součástí každého systému jištění jakosti. [48]

Nezanedbatelnou úlohu při stanovení obsahové stejnoměrnosti léku a jeho meziproductů hraje chyba vzorkování. Na chybu vzorkování může mít vliv vzorkovací technika, provedení vzorkovnice a fyzikálně-chemické vlastnosti směsi. Volba správných nástrojů podléhá mnohým rozdílným kritériím. Volba nástrojů se řídí podle vlastností odebraného materiálu, též podle způsobu vzorkování, podle nádoby nebo místa, ve kterém se materiál vyskytuje, a podle frekvence, se kterou mají být vyhotovené vzorky. Některé API nebo pomocné látky mohou přilnout k povrchu vzorkovnice, což může také způsobit chybu vzorkování.

V případě tablet je tato chyba zanedbatelná, jelikož zde nedochází k dělení vzorku a k analýze je možné využít samotných výlisků. U tabletovin je ovšem třeba odebrat jen

reprezentativní vzorek, jehož množství koreluje s hmotností výsledné lékové formy. U suchých směsí se obvykle odebírá trojnásobek hmotnosti tablety. Farmaceutická technologie nabízí několik možností odběru vzorků. Nejjednodušší je vzorkování kalibrovanou lopatkou, kde ovšem dochází k možné nežádoucí segregaci během vnoření lopatky do směsi a odebrání nereprezentativního vzorku. Další možností je odběr vzorkovací jehlou, která se pod určitým úhlem ponoří do směsi a odebere se její část. I zde však, vlivem tlaku při zasouvání jehly, dochází k rozduřování směsi. Navíc zde může dojít k selektivnímu ulpívání jednotlivých složek na vnitřní povrch jehly. Poslední uváděnou možností je odběr vzorku z proudu toku směsi, například při jejím vypouštění z mísiče. U malého množství tabletoviny je ovšem tato možnost prakticky neproveditelná. [46]

2.5. Statistické limity deklarující obsahovou stejnoměrnost

Požadovaná obsahová stejnoměrnost je nevyhnutelnou podmínkou pro uvedení daného léčivého přípravku na trh. Kolísání jednotlivých obsahů v každé jednotlivé dávkové formě je nepřípustné. Nevyhovující obsahová stejnoměrnost by mohla mít fatální dopad na zdraví člověka. Existují dvě metody pro hodnocení obsahové stejnoměrnosti dle ČL. Při zavádění výroby se dále musí zabezpečit validace daného procesu. Před zavedením nové metody do rutinního laboratorního provozu je třeba prověřit, že její charakteristiky splňují požadavky na ní kladené a jsou schopny trvale dosahovat předem stanovených kritérií kvality. Při zavádění výroby nestačí jen splnění požadovaných lékopisných limitů, ale je potřebné ověřit, že lékopisné požadavky budou splňovat i všechny následující šarže. K tomuto účelu slouží např. indexy způsobilosti.

2.5.1. Požadavky na obsahovou stejnoměrnost při rutinní kontrole

Rutinní (výstupní) kontrola se provádí u každé nově vyrobené šarže po validaci výroby a zavedení konkrétního výrobního postupu do praxe. Zkouška na obsahovou stejnoměrnost, je-li požadována, musí splňovat lékopisné požadavky. Dosažení těchto požadavků bývá obtížnější, než když je obsah účinné látky vysoký. [49] ČL 2009 nabízí 2 články. Vývojově starší článek 2.9.6. hodnotí obsahovou stejnoměrnost na základě nalezených obsahů. Článek ovšem nijak nezohledňuje, zda je průměrný obsah správný.

Tuto nevýhodu u dávkových lékových forem odstranil článek 2.9.40., který hodnotí nejen individuální odchylky jednotlivých vzorků, ale za pomoci výpočtu zohledňuje i odchylku nalezeného průměrného obsahu od obsahu teoretického. [46]

Ve zkoušce 2.9.6. ČL 2009 na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem se jednotlivě stanoví obsah účinné látky v předepsaném počtu jednotek zkoušeného léčivého přípravku. U 10 namátkově vybraných jednotek zkoušeného přípravku se stanoví obsah účinné látky a vypočítají se odchylky jednotlivých obsahů od průměrného obsahu účinné látky. Pomocí zkoušky A se hodnotí tablety, prášky pro parenterální použití a suspenze pro injekce. Tablety vyhovují zkoušce, jestliže je obsah účinné látky v jednotlivé jednotce v rozmezí 85 % až 115 % průměrného obsahu. Přípravek nevyhovuje zkoušce, když je více než jeden obsah účinné látky mimo toto rozmezí nebo jestliže jeden jednotlivý obsah je mimo rozmezí 75 % až 125 %. Jestliže je jeden jednotlivý obsah mimo povolené rozmezí, zároveň však nepřekračuje limit 75 % až 115 % průměrného obsahu účinné látky, je zapotřebí udělat další stanovení obsahů u dalších 20 náhodně vybraných tablet šarže. [50]

Pro stanovení obsahové stejnoměrnosti tabletové směsi se použije zkouška B 2.9.6. ČL 2009. Zkouška B se provádí pro tobolky, zrněné prášky, prášky pro jiné než parenterální použití, čípky a globule. V uvedeném článku najdeme také stanovená kritéria pro hodnocení obsahové stejnoměrnosti, která se také nacházejí v rozmezí ± 15 %.

Pro stanovení obsahové stejnoměrnosti u tablet se používá výše uvedený čl. 2.9.6 a dále přísnější zkouška uvedená v čl. 2.9.40. Ph. Eur. Proto došlo ke změně požadavků ČL 2009, který byl harmonizován s Ph. Eur. (čl. 2.9.40). Namísto pevného procentuálního rozmezí od nalezeného průměru se zde používá výpočtu, který zohledňuje i teoretický obsah. [46] [50] Podle tohoto článku se u léčivých přípravků majících obsah účinné látky menší než 25 mg nebo méně než 25 % lékové formy musí vykonávat zkouška na obsahovou stejnoměrnost. V případě, že relativní směrodatná odchylka koncentrace účinné látky je u těchto produktů v průběhu vývoje a při validaci výroby \leq než 2 % může se namísto důkazu obsahové stejnoměrnosti použít zkouška na stanovení hmotnostní proměnlivosti. [51]

FDA uvádí přísnější kritéria pro stanovení obsahové stejnoměrnosti tabletových směsí. FDA a její legislativa vychází z předpokladu, že současná technologie umožňuje adekvátní odebrání vzorku. Limity, prokazující obsahovou stejnoměrnost směsi požadované FDA, proto uvádějí, že z minimálně 10 odebraných vzorků, kde hmotnost každého se má blížit jednotkové až trojnásobné dávce výsledné lékové formy, RSD nemá přesahovat 5 % a obsah v každém vzorku má být v rozsahu 90-110 % deklarované hodnoty. Ovšem současná technika nedovoluje bezchybný odběr vzorku a chyba vzorkování může v určitých případech přesáhnout chybu v obsahu účinné látky.

Existují tři zásadní faktory ovlivňující obsahovou nestejnoměrnost, a to: intraindividuální chyba (kolísání obsahu v rámci místa odběru), interindividuální chyba (kolísání obsahu v rámci více odběrových míst) a chyba vzorkování. Paradoxně tak může dojít k situaci, že výsledný produkt vyhoví, zatímco meziprodukt, v tomto případě tabletovina, nikoliv. [10]

2.5.2. Validace výrobního procesu

Léky musí být vyráběny podle pravidel GMP, což zahrnuje i validaci výrobního procesu. Před začátkem řádné výroby se nejprve provede její validace.

Ve všech případech slouží validace ve farmaceutické technologii k zajištění jakosti léčivých přípravků a je podmíněna pečlivou a systematickou pozorností k mnoha faktorům, kterými jsou zejména:

- ❖ výběr vhodných a kvalitních vstupních materiálů,
- ❖ odpovídající volba a vývoj výrobního postupu,
- ❖ průběžná i závěrečná kontrola výrobního procesu.

Metody a postupy zde uplatňujících se kontrol musí být zvoleny na základě ověřených statistických metod. Pečlivou volbou vstupních surovin, výrobního zařízení, validací výrobního procesu a kontrolních postupů je vysoce pravděpodobné, že všechny vyrobené jednotky daného přípravku budou odpovídat stanoveným specifikacím. Validace se v tomto smyslu stává nedílnou součástí jištění jakosti.

Při validaci výroby musí být splněny přísnější požadavky než při běžné rutinní kontrole již validovaného výrobního procesu; nestačí splnit jen lékopisná kritéria. Pokud by bylo těmto kritériím vyhověno splněním jejich hraničních hodnot, tak během další výroby může dojít k tomu, že tato kritéria již nebudou splněna.

Musí být zajištěno to, že na určité hladině statistické významnosti vyhoví následně vyrobené šarže daným lékopisným kritériím. K tomu nám mohou posloužit indexy způsobilosti, popsané podrobněji v následující kapitole. Z nich je nejdůležitější zejména index Cpk , který charakterizuje skutečnou způsobilost procesu dodržovat předepsané toleranční meze.

Podobný význam má tzv. Bergumova metoda, která se používá při procesní validaci výroby tablet. [10]

2.5.2.1. Matematické statistiky při procesní validaci farmaceutické výroby

K průkazu standardnosti procesu a ověření stupně jistoty jeho spolehlivosti je nutné zvolit takový matematický resp. statistický aparát, který umožní spolehlivě prokázat, že proces dosahuje předem stanovených kritérií kvality. Již před započítáním samotné validace musíme znát nejen kvalitativní a kvantitativní parametry, kterých chceme u výsledného přípravku dosáhnout, ale musíme již předem zvolit vhodnou statistickou metodu, kterou chceme validitu výrobního procesu prokázat. Z hlediska výpočtového musí tato metoda splňovat následující kritéria: jednoduchost, srozumitelnost, dobrá vypovídající schopnost, názornost a dále pak široká upotřebitelnost resp. univerzálnost. Podle těchto charakteristik se poté volí daná metoda. [10]

Provádí se testování souborů s normálním rozdělením, kde k jednoduchému výběru s normálním rozdělením se nejčastěji ve farmaceutické technologii používá: průměr, medián, modus, rozptyl, směrodatná odchylka, relativní směrodatná odchylka, standardní chyba, maximum, minimum, rozpětí, kvantil, šikmost, špičatost. Vše se potom může znázornit pomocí grafu. Dále se provádí odhady parametrů souborů s normálním rozdělením. S jednoduchými výpočty se však při hodnocení výrobních procesů nelze spokojit, proto se provádí hodnocení výsledků na základě znalosti části výběrového souboru. Je nutné si uvědomit, že získané výsledky jsou pouze určitou reprezentativní

částí celého souboru. [10] Dále se hodnotí způsobilost daného procesu. Způsobilostí výrobního procesu se rozumí jeho schopnost trvale dosahovat předem stanovených kritérií kvality. Je jistě žádoucí vyjadřovat způsobilost kvantitativně, tedy nějakým číselným ukazatelem. Pokud se snažíme vylepšit výrobní proces, pak bychom měli primárně definovat a odhalovat příčiny, jež vyvolávají podstatnou a nežádoucí změnu procesu, a tím ovlivňují znaky kvality, které sledujeme. Odhalením a redukcí těchto příčin se snažíme odstranit tzv. systémovou, nenáhodnou variabilitu. To, co nás tentokrát zajímá a co obvykle zajímá také odběratele, jsou indexy (ukazatele) způsobilosti (process capability index PCI). Tyto indexy jsou jakousi „známkou“ jakosti, podávají nám informaci o tom, zda a do jaké míry se daří dodržovat předepsané regulační (specifikační) meze a definovanou úroveň měřené veličiny, jenž je sledován. Tyto indexy spadají do analýzy způsobilosti.

Indexy způsobilosti jsou založeny na porovnávání přirozeného kolísání skutečného procesu vůči technologickému předpisu. Někdy jsou považovány za „známkou“ jakosti, kterou odběratel požaduje. [52] [53]

Mezi indexy způsobilosti patří *K – index správnosti procesu*, *C_p – index přesnosti procesu* a *C_{pk} – index standardnosti procesu*

K - Index správnosti procesu

Pro hodnocení správnosti procesu se používá index *K*. Hodnota tohoto indexu vyjadřuje relativní odchylku průměrné hodnoty od hodnoty deklarované. Čím více se tento index blíží nule, tím více je proces považován za správný. [10]

$$K = \frac{\bar{x} - Nominal}{(USL - LSL)}$$

C_p – index přesnosti procesu

Index *C_p* je nejzákladnější a nejpřímější indikátor způsobilosti procesu. Jednoduše porovnáme skutečnou variabilitu procesu (naměřených dat) vůči variabilitě povolené specifikacemi. Skutečný rozsah (jmenovatel) je vyjádřen šestinásobkem odhadnuté

směrodatné odchyly - šestinásobek jednoduše proto, že specifikační meze byly také stanoveny jako šestkrát teoretická variabilita (viz předpoklad na specifikační meze výše). Čítenel ve vzorci je tedy jinak řečeno 6 krát teoretická variabilita. [52]

C_p je tedy definován jako poměr specifikačního rozsahu a reálného rozsahu procesu. Tento index se dá vyjádřit jako:

$$C_p = \frac{USL - LSL}{6s}$$

LSL a USL je dolní a horní specifikační mez, s je odhad směrodatné odchyly vypočítaný z naměřených hodnot. [52]

C_{pK} – index standardnosti procesu

Úpravou indexu C_p můžeme získat index C_{pK} , který penalizuje i za to, že proces není vycentrován.

$$C_{pK} = \frac{\min(USL - \bar{x}; \bar{x} - LSL)}{3s}$$

Uvedený vzorec se skládá ze dvou částí: způsobilost dodržet horní specifikační mez a způsobilost dodržet dolní specifikační mez. Za výslednou hodnotu indexu C_{pK} považujeme menší z obou dílčích výsledků (tedy horší scénář). Ve vzorci je trojnásobek odhadu směrodatné odchyly, neboť se díváme vždy na vzdálenost meze od středu, což je při vycentrování polovina rozsahu. Tento index nás informuje o způsobilosti procesu při aktuálním seřízení výrobního zařízení.

Pokud je proces vycentrován, pak je C_{pK} shodné s C_p . Pokud se ovšem proces vzdálí od nominální hodnoty, pak je vždy C_{pK} menší než C_p . Odhad indexu způsobilosti procesu je definovaný jako minimum z jeho horního $C_{pK(USL)}$ a spodního $C_{pK(LSL)}$ indexu:

$$\underline{C_{pK} = \text{minimum } C_{pK(USL)}, C_{pK(LSL)}}$$

V případě, že průměrná hodnota leží mimo stanovené toleranční pole, vyjdou hodnoty horního $Cpk_{(USL)}$ a spodního $Cpk_{(LSL)}$ indexu v záporných hodnotách. Položíme $CpK = 0$. [52] [53]

Vysvětlení statistických zkratk

\bar{x} ... průměrná hodnota měřené veličiny

USL... maximální hodnota specifikovaného parametru (horní limit)

LSL... minimální hodnota specifikovaného parametru (dolní limit)

s... výběrová směrodatná odchylka

Nominal... deklarovaná hodnota parametru

2.5.2.2. Validace obsahové stejnoměrnosti směsi a obsahové stejnoměrnosti tablet

Velmi diskutovanou záležitostí v USA je určení kritérií validace obsahové stejnoměrnosti směsi resp. granulátu. Nejucelenější, a také odborně nejrozpracovanější studii pod názvem „Blend Uniformity Analysis: Validation and In-Process Testing“, jako svůj „Technical Report No. 25“ zveřejnil v roce 1997 PDA. Tato zpráva je reakcí na kontroverzní rozhodnutí soudce Wolina, který nařídil mezioperační kontrolu obsahové stejnoměrnosti směsi u rutinně vyráběných šarží tablet. Metody a limity navržené v této zprávě PDA byly akceptovány i institucemi jako je právě zmíněný FDA, CDER. [10]

Hodnocení obsahové stejnoměrnosti směsí

Pro ověření, že následně vyráběné šarže spolehlivě vyhoví článku 2.9.6, se při validaci výroby používá CpK index. Jeho hodnota, po dosažení lékopisných kritérií uvedených v tomto článku musí být $CpK \geq 1$. To nám zajistí, že 99,7 % následně vyrobených šarží vyhoví tomuto lékopisnému limitu.

Tento index se vypočítá s dosažením lékopisných kritérií uvedených v článku 2.9.6, kdy se za dolní a horní limit zvolí 85 % a 115 %. V USA se vychází z požadavku FDA na šířku tolerančního pole 90-110 %. [10] [52]

Hodnocení obsahové stejnoměrnosti tablet

Pro hodnocení tablet se používá Bergumova metoda. Bergumovo kritérium vychází z článku 2.9.40 a určuje, zda následně vyráběné šarže splní kritéria uváděná v tomto článku. Jedná se o tabelované hodnoty RSD, které na definované hladině spolehlivosti s 95% pravděpodobností zaručí, že následně vyrobené šarže vyhoví tomuto lékopisnému limitu. [6] [46] Používá se *CpK* výpočet indexu také s použitím uvedených lékopisných limitů (85 % a 115 %).

Bergumova metoda

Bergumova metoda je zřejmě nespolehlivější a nejpřísnější metodou, které se používá při validaci tablet. Bergum vypracoval metodu, která zaručuje, že na úrovni spolehlivosti 90 % bude existovat 95 % pravděpodobnost, že každý vzorek, který bude odebraný z hodnocené šarže, bude vyhovovat testu obsahové stejnoměrnosti dle lékopisné metody (2.9.40. ČL). [54] Jinými slovy se jedná o tabelovanou hodnotu RSD, která nám na daném počtu vzorků (nejčastěji od 10 do 150) na 90 % hladině spolehlivosti zaručí, že s 95 % pravděpodobností tablety dané šarže, vyhoví testu obsahové stejnoměrnosti dle USP. [10] Limity podle Bergumovy metody se odvíjí od množství hodnocených vzorků a hodnoty jsou tabelovány také na základě průměrného množství obsahové látky v hodnocených vzorcích (v rozmezí 90–100 %). [49] [54] [55] Průměrné obsahy, odpovídající hodnotám Bergumova rozdělení, jsou ve zprávě PDA uváděny na desetinu procenta. [10]

Tabulka č. 2: Kritéria pro obsahovou stejnoměrnost dle Berguma

Akceptační kritéria pro obsahovou stejnoměrnost pro 10 vzorků dle Berguma											
střední hodnota	variační koef.	střední hodnota	variační koef.	střední hodnota	variační koef.	střední hodnota	variační koef.	střední hodnota	variační koef.	střední hodnota	variační koef.
85,10	0,37	90,10	1,43	95,10	2,38	100,10	3,19	105,10	2,11	110,10	1,13
85,20	0,39	90,20	1,45	95,20	2,39	100,20	3,16	105,20	2,09	110,20	1,11
85,30	0,41	90,30	1,47	95,30	2,41	100,30	3,14	105,30	2,07	110,30	1,10
85,40	0,43	90,40	1,49	95,40	2,43	100,40	3,12	105,40	2,05	110,40	1,08
85,50	0,45	90,50	1,51	95,50	2,45	100,50	3,10	105,50	2,03	110,50	1,06
85,60	0,48	90,60	1,53	95,60	2,47	100,60	3,07	105,60	2,01	110,60	1,04
85,70	0,50	90,70	1,55	95,70	2,48	100,70	3,05	105,70	1,99	110,70	1,02
85,80	0,52	90,80	1,57	95,80	2,50	100,80	3,03	105,80	1,97	110,80	1,00
85,90	0,54	90,90	1,59	95,90	2,52	100,90	3,01	105,90	1,95	110,90	0,98
86,00	0,57	91,00	1,61	96,00	2,54	101,00	2,99	106,00	1,93	111,00	0,97
86,10	0,59	91,10	1,63	96,10	2,55	101,10	2,96	106,10	1,91	111,10	0,95
86,20	0,61	91,20	1,65	96,20	2,57	101,20	2,94	106,20	1,89	111,20	0,93
86,30	0,63	91,30	1,66	96,30	2,59	101,30	2,92	106,30	1,87	111,30	0,91
86,40	0,65	91,40	1,68	96,40	2,61	101,40	2,90	106,40	1,85	111,40	0,89
86,50	0,68	91,50	1,70	96,50	2,62	101,50	2,88	106,50	1,83	111,50	0,87
86,60	0,70	91,60	1,72	96,60	2,64	101,60	2,85	106,60	1,81	111,60	0,86
86,70	0,72	91,70	1,74	96,70	2,66	101,70	2,83	106,70	1,79	111,70	0,84
86,80	0,74	91,80	1,76	96,80	2,68	101,80	2,81	106,80	1,77	111,80	0,82
86,90	0,76	91,90	1,78	96,90	2,69	101,90	2,79	106,90	1,75	111,90	0,80
87,00	0,78	92,00	1,80	97,00	2,71	102,00	2,77	107,00	1,73	112,00	0,78
87,10	0,80	92,10	1,82	97,10	2,73	102,10	2,75	107,10	1,71	112,10	0,76
87,20	0,83	92,20	1,84	97,20	2,74	102,20	2,72	107,20	1,69	112,20	0,75
87,30	0,85	92,30	1,86	97,30	2,76	102,30	2,70	107,30	1,67	112,30	0,73
87,40	0,87	92,40	1,88	97,40	2,78	102,40	2,68	107,40	1,65	112,40	0,71
87,50	0,89	92,50	1,90	97,50	2,80	102,50	2,66	107,50	1,63	112,50	0,69
87,60	0,91	92,60	1,92	97,60	2,81	102,60	2,64	107,60	1,61	112,60	0,67
87,70	0,93	92,70	1,93	97,70	2,83	102,70	2,62	107,70	1,59	112,70	0,66
87,80	0,95	92,80	1,95	97,80	2,85	102,80	2,60	107,80	1,57	112,80	0,64
87,90	0,97	92,90	1,97	97,90	2,86	102,90	2,57	107,90	1,55	112,90	0,62
88,00	1,00	93,00	1,99	98,00	2,88	103,00	2,55	108,00	1,53	113,00	0,60
88,10	1,02	93,10	2,01	98,10	2,90	103,10	2,53	108,10	1,51	113,10	0,59
88,20	1,04	93,20	2,03	98,20	2,91	103,20	2,51	108,20	1,50	113,20	0,57
88,30	1,06	93,30	2,05	98,30	2,93	103,30	2,49	108,30	1,48	113,30	0,55
88,40	1,08	93,40	2,07	98,40	2,95	103,40	2,47	108,40	1,46	113,40	0,53
88,50	1,10	93,50	2,08	98,50	2,96	103,50	2,45	108,50	1,44	113,50	0,51
88,60	1,12	93,60	2,10	98,60	2,98	103,60	2,43	108,60	1,42	113,60	0,50
88,70	1,14	93,70	2,12	98,70	3,00	103,70	2,41	108,70	1,40	113,70	0,48
88,80	1,16	93,80	2,14	98,80	3,01	103,80	2,38	108,80	1,38	113,80	0,46
88,90	1,18	93,90	2,16	98,90	3,03	103,90	2,36	108,90	1,36	113,90	0,44
89,00	1,20	94,00	2,18	99,00	3,05	104,00	2,34	109,00	1,34	114,00	0,43
89,10	1,22	94,10	2,20	99,10	3,06	104,10	2,32	109,10	1,32	114,10	0,41
89,20	1,25	94,20	2,21	99,20	3,08	104,20	2,30	109,20	1,30	114,20	0,39
89,30	1,27	94,30	2,23	99,30	3,10	104,30	2,28	109,30	1,28	114,30	0,37
89,40	1,29	94,40	2,25	99,40	3,11	104,40	2,26	109,40	1,27	114,40	0,36
89,50	1,31	94,50	2,27	99,50	3,13	104,50	2,24	109,50	1,25	114,50	0,34
89,60	1,33	94,60	2,29	99,60	3,14	104,60	2,22	109,60	1,23	114,60	0,32
89,70	1,35	94,70	2,31	99,70	3,16	104,70	2,20	109,70	1,21	114,70	0,31
89,80	1,37	94,80	2,32	99,80	3,18	104,80	2,18	109,80	1,19	114,80	0,29
89,90	1,39	94,90	2,34	99,90	3,19	104,90	2,15	109,90	1,17	114,90	0,27
90,00	1,41	95,00	2,36	100,00	3,21	105,00	2,13	110,00	1,15		

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Materiál

- Warfarinum natricum clathratum – č. š. 3201072 od firmy Pliva
- Calcii hydrogenophosphas – (Di-cafos) – č. š. 7030133 od firmy Budenheim
- Cellulosum microcristallinum – (Avicel pH 101) – č. š. 24015007 od firmy FMC
BioPolymer
- Carmellosum natricum conexum – (Ac-Di-Sol) – č. š. 18065/03 od firmy Blanver
Farmaquinica Ltda.
- Magnesii stearas - č. š. 24233204 od firmy Pliva
- Methanol
- Kyselina mravenčí
- Aqua purificata

Tabulka č. 3: Fyzikální vlastnosti jednotlivých složek směsí a tablet

	Hustota [g/cm ³]	Velikost částic v [μm] pro d(10)*	Velikost částic v [μm] pro d(50)*	Velikost částic v [μm] pro d(90)*
Warfarinum natricum clathratum	1,31874	2,19	9,08	80,58
Calcii hydrogenophosphas	2,99318	36,10	61,16	96,00
Cellulosum microcristallinum	1,57192	14,74	46,29	110,70
Carmellosum natricum conexum	1,59118	12,21	33,11	86,66
Magnesii stearas	1,10758	2,58	10,20	23,08

* d(x) = x % měřených částic má velikost menší než uvedená velikost v μm

3.1.1. Složení tabletových směsí a tablet

Přesné složení jednotlivých směsí a tablet je uvedeno v tabulce č. 4. Dále je uvedeno množství jednotlivých surovin jak v procentuálním zastoupení, tak v množství použitém na přípravu jedné šarže dané technologie. Celkem byly vyrobeny 2 různé síly tablet a směsí. Tablety obsahovaly 1 a 10 mg warfarinum natricum, což odpovídá 1,09 a 10,91 mg warfarinu natricum clathratum tzn. 0,55 a 5,56 % warfarinum natricum clathratum. Směsi a tablety byly připraveny v rámci diplomové práce J. Štarkové.

Tabulka č. 4: Složení jednotlivých tablet a směsí

Síla 1 mg (odpovídá warfarinum natrium)

Suroviny	Obsah ve směsi (g)	Obsah v tabletě (mg)	Obsah (%)
1. Warfarin Na clathratum	2,73	1,09	0,55
2. Di-cafos 92-14	357,28	142,91	71,46
3. Avicel pH 101	125,00	50,00	25,00
4. Ac-Di-Sol	10,00	4,00	2,00
5. Mg. stearas	5,00	2,00	1,00
Celkem	500,00	200,00	100,00

Síla 10 mg (odpovídá warfarinum natrium)

Suroviny	Obsah ve směsi (g)	Obsah v tabletě (mg)	Obsah (%)
1. Warfarin Na clathratum	27,28	10,91	5,46
2. Di-cafos 92-14	332,73	133,09	66,55
3. Avicel pH 101	125,00	50,00	25,00
4. Ac-Di-Sol	10,00	4,00	2,00
5. Mg. stearas	5,00	2,00	1,00
Celkem	500,00	200,00	100,00

3.1.2. Příprava tabletových směsí

Celkem byly vytvořeny dvě různé koncentrace účinné látky 0,55 a 5,56 % pomocí tří technologií. U koncentrace 5,56 % bylo vyhotoveno celkem 7 šarží, 2 šarže vyrobené technologií mísení s přidavkem kluziva 5 min, 3 šarže vyrobené technologií mísení 10 min a 2 mísením 15 min. Vzorokly o koncentraci klatrátu sodné soli warfarinu 0,55 % byly zhotoveny v 6 šaržích, 2 šarže pro každou technologii. Nejprve byly všechny složky směsi, kromě magnesium stearátu, postupně síťovány podle vzestupného množství v celkové

směsi přes síto o velikosti 0,5 mm. Všechny tyto složky se smísily a společně se mísily po dobu 10 min. Poté byl síťován i magnesium stearát přes síto o stejné velikosti. Následně se přidal ke směsi a byl mísen po dobu 5, 10 nebo 15 min. Podle toho, který technologický postup byl zvolen.

Mísení probíhalo v homogenizačním zařízení Turbula s rychlostí 40 otáček za minutu. Celkově se tedy připravilo 13 šarží, třemi různými technologiemi mísení o dvou různých sílách.

Vzorkování směsí určených k analýze

Celkem se odebralo 10 vzorků o hmotnosti cca 0,5 g z celého obsahu směsi jednotlivé šarže. Pro zamezení chyby vzorkování se použil následující postup. Směs se vysypala na kruhovou plochu o průměru 25 cm, tvořeného dnem kovového válce, kde výška sloupce byla cca 2 cm. Hladina směsi se zarovnal lehkými horizontálními pohyby. Poté se pomocí kávové lžičky vykrojily vzorky o hmotnosti přibližně 0,5 g. Povrch hladiny se geometricky rozdělil do deseti polí (1 ve středu a 9 po obvodu), ze kterých se jednotlivé vzorky vykrojily. Vzorky se zpracovaly dále bez dalšího dělení.

3.1.3. Příprava tablet

Z jednotlivých směsí každé šarže se nalisovaly pomocí excentrického lisu tablety o hmotnosti asi 200 mg, které obsahovaly 1 a 10 mg sodné soli warfarinu. Pevnost tablet byla 70 N. Během lisování se v pravidelných časových intervalech odebralo z každé šarže 10 vzorků, vždy po dvou tabletách. U jedné tablety z každého vzorku se následně stanovil obsah warfarinu. Obsah se stanovoval nejdříve 3 dny po lisování tablet.

3.2. Přístroje

Analytické váhy	Mettler Toledo, Item No. E02140, Švýcarsko
HPLC	YL 9100 (Young Lin Instrument), Jižní Korea
Kolona	BDS HYPERSIL C18 (150 x 4,6 mm; 5,0 m)
Centrifuga	My Fuge 12 Mini Centrifuge, Benchmark, Korea

Ultrazvuková lázeň	Bandelin RK106, Německo
Homogenizační zařízení	Turbula T2C, Švýcarsko
Tabletovací lis	Korsch EKO, Německo

3.3. Příprava vzorků pro stanovení obsahu warfarinu

3.3.1. Směsi

Všechny odebrané vzorky směsí o dané hmotnosti se kvantitativně převedly do odměrných baněk a doplnily se desetiprocentním roztokem methanolu na příslušný objem 100 ml. Každá baňka se uzavřela a protřepala. Uzavřené baňky se ponechaly 3 hodiny stát. Následně byla použita ultrazvuková lázeň (10 min), která předešla neúplnému rozpuštění léčivé látky. Poté se baňky promíchaly a z každé se odebraly 2 ml vzorku do ependorfeček. Ependorfečky se vložily do centrifugy, kde se odstřeďovaly 10 minut při 5000 otáčkách za minutu. Supernatant se následně převedl do vialek o objemu 2 ml. Takto připravené vzorky se analyzovaly pomocí HPLC a obsah warfarinu se stanovil na základě kalibrační křivky.

3.3.2. Tablety

Každá jednotlivá tableta připravená k analýze se nejprve zvážíla a její hmotnost se zaznamenala. Poté se vložily do odměrných baněk o objemu 50 nebo 100 ml (dle obsahu warfarinu v tabletě). Každá baňka se doplnila roztokem čištěné vody a methanolu v poměru 9:1 na určený objem, uzavřela se a protřepala. Další postup byl stejný jako postup uvedený u směsí.

3.4. Příprava kalibračních roztoků

Pro ověření linearit kalibrační závislosti se připravily vzorky o šesti postupně klesajících koncentracích, kdy nejvyšší koncentrace byla 0,336 mg/ml a nejnižší 0,024 mg/ml. Vytvořil se zásobní roztok o koncentraci 1,2 mg/ml a to tak, že se do 500 ml odměrné baňky navážilo přibližně přesně 600 mg warfarinu a na příslušný objem se doplnilo desetiprocentním roztokem methanolu.

Pro jednomiligramové vzorky o koncentraci 0,55 % sodné soli warfarinu se ze zásobního roztoku odebralo 0,5, 1, 2, 3, 4, a 5 ml do odměrných baněk o objemu 25 ml, následně byly doplněny desetiprocentním roztokem methanolu. U desetimiligramových vzorků o koncentraci 5,46 % účinné látky bylo odebráno ze zásobního roztoku 1, 2, 3, 4, 5, 6 a 7 ml do odměrných baněk o objemu 25 ml a také doplněno po risku desetiprocentním roztokem methanolu. Z nich se po promíchání odebraly asi 2 ml do vialek. Z výsledků získaných pomocí HPLC se sestrojila kalibrační křivka závislosti plochy píku na koncentraci warfarinu. Před každým měřením obsahu warfarinu ve směsích a tabletách se vždy připravily vzorky pro kalibraci nové. Postupovalo se stejným způsobem jako při přípravě vzorků pro ověření linearitu kalibrační závislosti.

3.6. Chromatografická analýza

Pro stanovení obsahu warfarinu v odebraných vzorcích tabletových směsí a tablet se použil kapalinový chromatograf YL 9100 - Young Lin Instrument s kvarternární pumpou, automatickým dávkovačem a detektorem s diodovým polem. Chromatografické separace se provedly na koloně BDS HYPERSIL C18 (150 x 4,6 mm; velikost částic 5 μm). Složení mobilní fáze bylo 64 % methanolu a 36 % kyseliny mravenčí (0,04 M). Průtok mobilní fáze byl 1,4 ml/min, teplota kolony 25°C. Spektra se snímala při 280nm. Dávkovalo se podle analyzované šarže. U vzorků o koncentraci 0,55 % (1,09 mg klatrátu sodné soli warfarinu) se dávkovalo 20 μl vzorku a u vzorků o koncentraci 5,46 % (10,91 mg klatrátu sodné soli warfarinu) 5 μl vzorku. Celková délka analýzy byla 6 minut.

Kvantifikace se provedla na základě kalibrační křivky, která vyjadřovala závislost plochy píku na koncentraci warfarinu.

3.7. Zpracování výsledků

Pomocí programu Microsoft Excel, verze 2010 se zpracovaly výsledky jednotlivých měření. Statistické vyhodnocení výsledků se vypracovalo pomocí programu Microsoft Excel, verze 2010, prostřednictvím funkce popisná statistika. Dále se vypočítaly hodnoty C_pK a z tabulky č. 2 se odečetla hodnota Bergumova rozdělení. Výsledky se porovnály s lékopisnými požadavky.

4. VÝSLEDKY

4.1. Obsahová stejnoměrnost

4.1.1. Vysvětlení použitých zkratk při vyhodnocování výsledků

Medián	prostřední hodnota souboru
RSD	relativní směrodatná odchylka souboru
Σ	součet hodnot
n	počet sledovaných hodnot
Tmax	odchylka od teoretické hodnoty směrem nahoru [%]
Tmin	odchylka od teoretické hodnoty směrem dolů [%]
Pmax	odchylka od průměrné hodnoty směrem nahoru [%]
Pmin	odchylka od průměrné hodnoty směrem dolů [%]
USL	horní toleranční hranice
LSL	dolní toleranční hranice
CPK	index způsobilosti (standardnosti) procesu, resp. minimum z jeho horní (<i>upper</i>) a spodní (<i>lower</i>) hodnoty

Tabulka č. 5: Vysvětlení zkratk jednotlivých šarží

Doba mísení	Obsah (warfarinum Na clathratum)	Šarže	Zkratka
5 min	0,55 %, 1,09 mg	A, B	51A, 51B
10 min	0,55 %, 1,09 mg	A, B	101A, 101B
15 min	0,55 %, 1,09 mg	A, B	151A, 151B
5 min	5,46 %, 10,91 mg	A, B	510A, 510B
10 min	5,46 %, 10,91 mg	A, B, C	1010A, 1010B, 1010C
15 min	5,46 %, 10,91 mg	A, B	1510A, 1510B

4.1.2. Obsahová stejnoměrnost směsí

4.1.2.1. Tabletová směs o koncentraci 0,55 % klatrátu sodné soli warfarinu

Tabulka č. 6: Doba mísení 5 min

Šarže	51A		51B	
Vzorek	Obsah [%]	Relativní obsah [%]	Obsah [%]	Relativní obsah [%]
1	0,56	103,60	0,50	91,53
2	0,48	88,38	0,53	97,38
3	0,56	102,72	0,52	95,59
4	0,53	97,08	0,50	91,67
5	0,50	91,48	0,50	92,42
6	0,50	92,43	0,54	99,60
7	0,50	90,93	0,55	100,50
8	0,58	106,70	0,54	99,45
9	0,51	94,29	0,51	93,85
10	0,54	99,18	0,50	90,98
Stř. hodnota	96,68		95,30	
Chyba stř. hodnoty	1,85		1,11	
Medián	95,68		94,72	
Směr. odchylka	5,86		3,52	
RSD	6,06		3,69	
Rozptyl výběru	38,20		13,75	
Minimum	88,38		90,98	
Maximum	106,70		100,50	
Součet Σ	966,78		952,97	
Počet n	10,00		10,00	
Rozdíl min-max	18,31		9,53	
Hladina spolehlivosti (95%)	3,63		1,44	
T max	6,70		0,50	
T min	11,62		9,02	
P max	10,02		5,21	
P min	8,29		4,32	
USL 115	115,00		115,00	
USL 110	110,00		110,00	
LSL 85	85,00		85,00	
LSL 90	90,00		90,00	
CPK (pomocí USL)	1,04		1,87	
CPK (pomocí LSL)	0,66		0,98	
CPK (pomocí USL)	0,76		1,39	
CPK (pomocí LSL)	0,38		0,50	
ČL 2.9.6. (85 - 115%)	vyhovuje		vyhovuje	
FDA (90 - 110%)	nevyhovuje		vyhovuje	
RSD podle FDA (do 5%)	nevyhovuje		vyhovuje	

Tabulka č. 7: Doba mísení 10 min

Šarže	101A		101B	
Vzorek	Obsah [%]	Relativní obsah [%]	Obsah [%]	Relativní obsah [%]
1	0,56	103,29	0,51	92,99
2	0,59	108,10	0,51	93,97
3	0,55	101,29	0,50	91,11
4	0,52	95,62	0,48	88,92
5	0,49	90,55	0,59	107,53
6	0,51	92,87	0,48	87,78
7	0,64	116,70	0,57	104,68
8	0,53	97,76	0,52	94,65
9	0,48	87,41	0,49	90,19
10	0,53	96,83	0,52	95,63
Stř. hodnota	99,04		94,75	
Chyba stř. hodnoty	2,61		1,96	
Medián	97,29		93,48	
Směr. odchylka	8,25		6,19	
RSD	8,33		6,53	
Rozptyl výběru	75,62		42,57	
Minimum	87,41		87,78	
Maximum	116,70		107,53	
Součet Σ	990,42		947,46	
Počet n	10,00		10,00	
Rozdíl min-max	29,29		19,75	
Hladina spolehlivosti (95%)	5,11		1,44	
T max	16,70		7,53	
T min	12,59		12,22	
P max	17,65		12,79	
P min	11,63		6,96	
USL 115	115,00		115,00	
USL 110	110,00		110,00	
LSL 85	85,00		85,00	
LSL 90	90,00		90,00	
CPK (pomocí USL)	0,64		1,09	
CPK (pomocí LSL)	0,57		0,52	
CPK (pomocí USL)	0,44		0,82	
CPK (pomocí LSL)	0,37		0,26	
ČL 2.9.6. (85 - 115%)	nevyhovuje		vyhovuje	
FDA (90 - 110%)	nevyhovuje		nevyhovuje	
RSD podle FDA (do 5%)	nevyhovuje		nevyhovuje	

Tabulka č. 8: Doba mísení 15 min

Šarže	151A		151B	
Vzorek	Obsah [mg]	Relativní obsah [%]	Obsah [mg]	Relativní obsah [%]
1	0,58	106,11	0,51	94,33
2	0,58	106,98	0,54	99,89
3	0,55	100,12	0,56	102,81
4	0,50	92,49	0,51	93,87
5	0,69	126,70	0,56	103,46
6	0,53	97,07	0,54	99,43
7	0,57	104,96	0,57	104,88
8	0,52	96,20	0,55	101,79
9	0,53	96,83	0,55	101,03
10	0,46	83,87	0,55	100,08
Stř. hodnota	101,13		100,16	
Chyba stř. hodnoty	3,41		1,09	
Medián	98,59		100,56	
Směr. odchylka	10,77		3,43	
RSD	10,65		3,43	
Rozptyl výběru	128,93		13,09	
Minimum	83,87		93,87	
Maximum	126,70		104,88	
Součet Σ	1 011,33		1 001,57	
Počet n	10,00		10,00	
Rozdíl min-max	42,83		11,01	
Hladina spolehlivosti (95%)	6,68		1,44	
T max	26,70		4,88	
T min	16,13		6,13	
P max	25,57		4,73	
P min	17,26		6,28	
USL 115	115,00		115,00	
USL 110	110,00		110,00	
LSL 85	85,00		85,00	
LSL 90	90,00		90,00	
CPK (pomocí USL)	0,43		1,44	
CPK (pomocí LSL)	0,50		1,47	
CPK (pomocí USL)	0,27		0,96	
CPK (pomocí LSL)	0,34		0,99	
ČL 2.9.6. (85 - 115%)	nevyhovuje		vyhovuje	
FDA (90 - 110%)	nevyhovuje		vyhovuje	
RSD podle FDA (do 5%)	nevyhovuje		vyhovuje	

4.1.2.2. Tabletová směs o koncentraci 5,46 % klatrátu sodné soli warfarinu

Tabulka č. 9: Doba mísení 5 min

Šarže	510A		510B	
Vzorek	Obsah [%]	Relativní obsah [%]	Obsah [%]	Relativní obsah [%]
1	5,34	97,81	5,48	100,66
2	5,48	100,35	5,43	99,77
3	5,58	102,23	5,392	99,03
4	5,36	98,25	5,43	99,71
5	5,33	97,75	5,10	93,66
6	5,30	97,24	5,37	98,55
7	5,38	98,56	5,29	97,08
8	5,16	94,61	5,45	100,08
9	5,35	98,11	5,38	98,89
10	5,44	99,66	4,60	84,39
Stř. hodnota	98,46		97,18	
Chyba stř. hodnoty	0,61		1,48	
Medián	98,18		98,96	
Směr. odchylka	1,92		4,67	
RSD	1,95		4,80	
Rozptyl výběru	4,08		24,21	
Minimum	94,61		84,39	
Maximum	102,24		100,66	
Součet Σ	984,57		971,82	
Počet n	10,00		10,00	
Rozdíl min-max	7,63		16,28	
Hladina spolehlivosti (95%)	1,19		2,89	
T max	2,24		0,66	
T min	5,39		15,61	
P max	3,78		3,48	
P min	3,85		12,79	
USL 115	115,00		115,00	
USL 110	110,00		110,00	
LSL 85	85,00		85,00	
LSL 90	90,00		90,00	
CPK (pomocí USL)	2,88		1,27	
CPK (pomocí LSL)	2,34		0,87	
CPK (pomocí USL)	2,01		0,92	
CPK (pomocí LSL)	1,47		0,51	
ČL 2.9.6. (85 - 115%)	vyhovuje		vyhovuje	
FDA (90 - 110%)	vyhovuje		nevyhovuje	
RSD podle FDA (do 5%)	vyhovuje		vyhovuje	

Tabulka č. 10: Doba mísení 10 min

Šarže	1010A		1010B		1010C	
Vzorek	Obsah [%]	Relativní obsah [%]	Obsah [%]	Relativní obsah [%]	Obsah [%]	Relativní obsah [%]
1	5,42	99,43	5,41	99,15	5,44	99,64
2	5,40	98,96	5,49	100,68	4,59	84,07
3	5,48	100,51	5,38	98,68	5,29	97,00
4	5,50	100,81	5,29	96,96	5,47	100,27
5	5,44	99,80	5,36	98,25	5,39	98,74
6	5,48	100,39	5,35	98,13	5,44	99,65
7	5,35	98,08	5,31	97,26	5,14	94,16
8	5,53	101,42	5,48	100,37	5,20	95,27
9	5,49	100,72	5,57	102,09	5,40	98,91
10	5,66	103,84	5,43	99,48	5,07	92,95
Stř. hodnota	100,40		99,11		96,07	
Chyba stř. hodnoty	0,47		0,48		1,47	
Medián	100,45		98,92		97,87	
Směr. odchylka	1,48		1,52		4,66	
RSD	1,48		1,53		4,85	
Rozptyl výběru	2,44		2,56		24,15	
Minimum	98,08		96,96		84,07	
Maximum	103,84		102,09		100,27	
Součet Σ	1 003,97		991,05		960,66	
Počet n	10,00		10,00		10,00	
Rozdíl min-max	5,76		5,13		16,20	
Hladina spolehlivosti (95%)	0,92		1,44		1,44	
T max	3,84		2,09		0,27	
T min	1,92		3,04		15,93	
P max	3,45		2,99		4,21	
P min	2,32		2,15		12,00	
USL 115	115,00		115,00		115,00	
USL 110	110,00		110,00		110,00	
LSL 85	85,00		85,00		85,00	
LSL 90	90,00		90,00		90,00	
CPK (pomocí USL)	3,29		3,49		1,35	
CPK (pomocí LSL)	3,47		3,10		0,79	
CPK (pomocí USL)	2,16		2,39		1,00	
CPK (pomocí LSL)	2,34		2,00		0,43	
ČL 2.9.6. (85 - 115%)	vyhovuje		vyhovuje		vyhovuje	
FDA (90 - 110%)	vyhovuje		vyhovuje		nevyhovuje	
RSD podle FDA (do 5%)	vyhovuje		vyhovuje		vyhovuje	

Tabulka č. 11: Doba mísení 15 min

Šarže	1510A		1510B	
Vzorek	Obsah [%]	Relativní obsah [%]	Obsah [%]	Relativní obsah [%]
1	5,64	103,39	5,94	108,83
2	5,73	105,10	6,05	110,85
3	5,77	105,84	5,58	102,34
4	5,67	103,90	6,08	111,44
5	5,58	102,31	5,95	109,09
6	5,77	105,69	5,90	108,21
7	5,93	108,71	5,97	109,52
8	5,98	109,59	5,98	109,71
9	6,10	111,76	6,25	114,59
10	5,38	98,67	5,97	109,41
Stř. hodnota	105,50		109,40	
Chyba stř. hodnoty	1,14		0,92	
Medián	105,40		109,46	
Směr. odchylka	3,61		2,91	
RSD	3,42		2,66	
Rozptyl výběru	14,48		9,44	
Minimum	98,67		102,34	
Maximum	111,76		114,59	
Součet Σ	1 054,97		1 093,98	
Počet n	10,00		10,00	
Rozdíl min-max	13,09		12,25	
Hladina spolehlivosti (95%)	2,24		1,44	
T max	11,76		14,59	
T min	1,33		- 2,34	
P max	6,26		5,19	
P min	6,83		7,06	
USL 115	115,00		115,00	
USL 110	110,00		110,00	
LSL 85	85,00		85,00	
LSL 90	90,00		90,00	
CPK (pomocí USL)	0,88		0,64	
CPK (pomocí LSL)	1,89		2,79	
CPK (pomocí USL)	0,42		0,07	
CPK (pomocí LSL)	1,43		2,22	
ČL 2.9.6. (85 - 115%)	vyhovuje		vyhovuje	
FDA (90 - 110%)	vyhovuje		vyhovuje	
RSD podle FDA (do 5%)	vyhovuje		vyhovuje	

4.1.3. Obsahová stejnoměrnost tablet

4.1.3.1. Tablety s obsahem 1 mg warfarinum natricum

Tabulka č. 12: Doba mísení 5 min

Šarže	51A		51B	
Vzorek	Obsah [%]	Relativní obsah [%]	Obsah [%]	Relativní obsah [%]
1	0,51	93,65	0,55	100,18
2	0,55	100,20	0,55	100,94
3	0,54	98,26	0,50	91,86
4	0,53	97,65	0,63	115,76
5	0,53	96,41	0,50	92,02
6	0,51	94,44	0,55	100,30
7	0,55	101,64	0,49	89,96
8	0,55	100,56	0,51	92,82
9	0,56	103,38	0,56	102,45
10	0,53	97,83	0,48	87,71
Stř. hodnota	98,40		97,40	
Chyba stř. hodnoty	0,93		2,49	
Medián	98,04		96,50	
Směr. odchylka	2,94		7,88	
RSD	2,99		8,09	
Rozptyl výběru	9,60		69,00	
Minimum	93,65		87,71	
Maximum	103,38		115,76	
Součet Σ	984,03		974,00	
Počet n	10,00		10,00	
Rozdíl min-max	9,73		28,05	
Hladina spolehlivosti (95%)	1,82		1,44	
T max	3,38		15,76	
T min	6,35		12,29	
P max	4,98		18,36	
P min	4,75		9,69	
USL	115,00		115,00	
LSL	85,00		85,00	
CPK (pomocí USL)	1,88		0,74	
CPK (pomocí LSL)	1,52		0,52	
Bergum	2,95		2,78	
Porovnání RSD s Bergum	nevyhovuje		nevyhovuje	
ČL 2.9.6. (85 - 115%)	vyhovuje		nevyhovuje	
ČL 2.9.40.	vyhovuje		nevyhovuje	
Průměr (95-105%)	vyhovuje		vyhovuje	

Tabulka č. 13: Doba mísení 10 min

Šarže	101A		101B	
Vzorek	Obsah [%]	Relativní obsah [%]	Obsah [mg]	Relativní obsah [%]
1	0,56	102,57	0,65	118,91
2	0,51	93,94	0,55	100,88
3	0,51	93,67	0,52	96,13
4	0,48	87,62	0,62	114,05
5	0,51	93,79	0,51	93,56
6	0,54	98,83	0,51	93,65
7	0,57	105,02	0,51	93,05
8	0,52	96,02	0,53	98,16
9	0,57	104,65	0,55	100,23
10	0,50	91,14	0,54	99,08
Stř. hodnota	96,73		100,77	
Chyba stř. hodnoty	1,76		2,64	
Medián	94,98		98,62	
Směr. odchylka	5,57		8,36	
RSD	5,76		8,30	
Rozptyl výběru	34,49		77,67	
Minimum	87,62		93,05	
Maximum	105,02		118,91	
Součet Σ	967,26		1 007,70	
Počet n	10,00		10,00	
Rozdíl min-max	17,40		25,86	
Hladina spolehlivosti (95%)	3,45		1,44	
T max	5,02		18,91	
T min	12,38		6,95	
P max	8,30		18,14	
P min	9,10		7,72	
USL	115,00		115,00	
LSL	85,00		85,00	
CPK (pomocí USL)	1,09		0,57	
CPK (pomocí LSL)	0,70		0,63	
Bergum	2,66		3,03	
Porovnání RSD s Bergum	nevyhovuje		nevyhovuje	
ČL 2.9.6. (85 - 115%)	vyhovuje		nevyhovuje	
ČL 2.9.40.	nevyhovuje		nevyhovuje	
Průměr (95-105%)	vyhovuje		vyhovuje	

Tabulka č. 14: Doba mísení 15 min

Šarže	151A		151B	
Vzorek	Obsah [%]	Relativní obsah [%]	Obsah [%]	Relativní obsah [%]
1	0,49	89,19	0,54	98,82
2	0,51	92,69	0,47	85,99
3	0,49	90,03	0,59	108,06
4	0,56	102,03	0,47	86,43
5	0,49	89,28	0,49	90,17
6	0,57	104,26	0,51	93,33
7	0,54	98,75	0,55	100,75
8	0,51	93,40	0,46	84,37
9	0,52	95,46	0,57	103,86
10	0,48	88,73	0,55	100,04
Stř. hodnota	94,38		95,18	
Chyba stř. hodnoty	1,69		2,48	
Medián	93,05		96,08	
Směr. odchylka	5,33		7,85	
RSD	5,65		8,24	
Rozptyl výběru	31,58		68,42	
Minimum	88,73		84,37	
Maximum	104,26		108,06	
Součet Σ	943,82		951,83	
Počet n	10,00		10,00	
Rozdíl min-max	15,54		23,70	
Hladina spolehlivosti (95%)	3,30		1,44	
T max	4,26		8,06	
T min	11,27		15,63	
P max	9,88		12,88	
P min	5,65		10,82	
USL	115,00		115,00	
LSL	85,00		85,00	
CPK (pomocí USL)	1,29		0,84	
CPK (pomocí LSL)	0,59		0,43	
Bergum	2,25		2,39	
Porovnání RSD s Bergum	nevyhovuje		nevyhovuje	
ČL 2.9.6. (85 - 115%)	vyhovuje		vyhovuje	
ČL 2.9.40.	nevyhovuje		nevyhovuje	
Průměr (95-105%)	nevyhovuje		vyhovuje	

4.1.3.2. Tablety s obsahem 10 mg warfarinum natricum

Tabulka č. 15: Doba mísení 5 min

Šarže	510A		510B	
Vzorek	Obsah [%]	Relativní obsah [%]	Obsah [%]	Relativní obsah [%]
1	5,24	96,11	5,47	100,20
2	5,28	96,85	5,66	103,71
3	5,22	95,65	5,47	100,35
4	5,21	95,55	5,67	103,88
5	5,30	97,12	5,44	99,65
6	5,10	93,40	5,44	99,71
7	5,35	98,13	5,56	101,88
8	5,31	97,34	5,48	100,41
9	5,17	94,79	5,60	102,61
10	5,27	96,65	5,22	95,64
Stř. hodnota	96,16		100,80	
Chyba stř. hodnoty	0,41		0,72	
Medián	96,38		100,38	
Směr. odchylka	1,31		2,29	
RSD	1,36		2,27	
Rozptyl výběru	1,89		5,80	
Minimum	93,40		95,64	
Maximum	98,13		103,88	
Součet Σ	961,60		1008,03	
Počet n	10,00		10,00	
Rozdíl min-max	4,73		8,24	
Hladina spolehlivosti (95%)	0,81		1,42	
T max	-1,88		3,88	
T min	6,61		4,36	
P max	1,97		3,08	
P min	2,76		5,16	
USL	115,00		115,00	
LSL	85,00		85,00	
CPK (pomocí USL)	4,81		2,07	
CPK (pomocí LSL)	2,85		2,31	
Bergum	2,57		3,03	
Porovnání RSD s Bergum	vyhovuje		vyhovuje	
ČL 2.9.6. (85 - 115%)	vyhovuje		vyhovuje	
ČL 2.9.40.	vyhovuje		vyhovuje	
Průměr (95-105%)	vyhovuje		vyhovuje	

Tabulka č. 16: Doba mísení 10 min

Šarže	1010A		1010B		1010C	
Vzorek	Obsah [%]	Relativní obsah [%]	Obsah [%]	Relativní obsah [%]	Obsah [%]	Relativní obsah [%]
1	5,72	105,14	5,24	96,31	5,77	105,71
2	5,39	98,97	5,53	101,50	5,45	99,97
3	5,24	96,24	5,41	99,41	5,48	100,44
4	5,37	98,57	5,40	99,10	5,43	99,47
5	5,07	93,16	5,36	98,49	5,42	99,40
6	5,10	93,58	5,55	101,85	5,44	99,75
7	5,53	101,53	5,40	99,16	5,52	101,12
8	5,39	98,94	5,36	98,41	5,50	100,86
9	5,34	98,06	5,27	96,81	5,46	100,04
10	5,28	96,97	5,40	99,22	5,79	106,08
Stř. hodnota	98,12		99,03		101,28	
Chyba stř. hodnoty	1,06		0,52		0,75	
Medián	98,32		99,13		100,24	
Směr. odchylka	3,36		1,65		2,37	
RSD	3,42		1,67		2,34	
Rozptyl výběru	12,52		3,03		6,22	
Minimum	93,16		96,31		99,40	
Maximum	105,14		101,85		106,08	
Součet Σ	981,17		990,26		1 012,83	
Počet n	10,00		10,00		10,00	
Rozdíl min-max	11,98		5,54		6,67	
Hladina spolehlivosti (95%)	2,08		1,44		1,44	
T max	5,14		1,85		6,08	
T min	6,84		3,69		0,60	
P max	7,03		2,83		4,79	
P min	4,96		2,71		1,88	
USL	115,00		115,00		115,00	
LSL	85,00		85,00		85,00	
CPK (pomocí USL)	1,68		3,22		1,93	
CPK (pomocí LSL)	1,30		2,83		2,29	
Bergum	3,00		3,05		2,92	
Porovnání RSD s Bergum	nevyhovuje		vyhovuje		vyhovuje	
ČL 2.9.6. (85 - 115%)	vyhovuje		vyhovuje		vyhovuje	
ČL 2.9.40.	vyhovuje		vyhovuje		vyhovuje	
Průměr (95-105%)	vyhovuje		vyhovuje		vyhovuje	

Tabulka č. 17: Doba mísení 15 min

Šarže	1510A		1510B	
Vzorek	Obsah [%]	Relativní obsah [%]	Obsah [%]	Relativní obsah [%]
1	5,63	103,28	4,97	91,18
2	5,49	100,65	5,50	100,74
3	5,73	104,99	5,12	93,87
4	5,43	99,47	5,19	95,13
5	5,45	99,88	4,94	90,48
6	5,52	101,27	5,41	99,23
7	5,27	96,63	5,13	94,13
8	5,31	97,31	5,27	96,57
9	5,08	93,14	5,01	91,91
10	5,21	95,52	5,38	98,60
Stř. hodnota	99,21		95,19	
Chyba stř. hodnoty	1,08		1,06	
Medián	99,67		94,63	
Směr. odchylka	3,43		3,36	
RSD	3,46		3,53	
Rozptyl výběru	13,07		12,51	
Minimum	93,14		90,48	
Maximum	104,99		100,74	
Součet Σ	992,14		951,85	
Počet n	10,00		10,00	
Rozdíl min-max	11,86		10,26	
Hladina spolehlivosti (95%)	2,13		1,44	
T max	4,99		0,74	
T min	6,86		9,52	
P max	5,78		5,56	
P min	6,08		4,70	
USL	115,00		115,00	
LSL	85,00		85,00	
CPK (pomocí USL)	1,53		1,97	
CPK (pomocí LSL)	1,38		1,01	
Bergum	3,08		2,39	
Porovnání RSD s Bergum	nevyhovuje		nevyhovuje	
ČL 2.9.6. (85 - 115%)	vyhovuje		vyhovuje	
ČL 2.9.40.	vyhovuje		vyhovuje	
Průměr (95-105%)	vyhovuje		vyhovuje	

5. DISKUSE

Tato práce hodnotí významnost procesních proměnných ovlivňujících obsahovou stejnoměrnost směsí a tablet. Složení tabletových směsí a tablet vychází z dřívějších experimentů provedených na Ústavu technologie léků. Vhodné složení směsí pro přípravu uniformního produktu uvádí patent z roku 2013. Řešení se týká způsobu přípravy pevné lékové formy se sodnou solí warfarinu ve formě klathrátu izopropanolu jako účinnou látkou v kombinaci s obvyklými farmaceutickými pomocnými látkami, mající vysokou míru obsahové stejnoměrnosti, vyznačený tím, že se výchozí prášková směs lékové formy, obsahující nejvýše 5 % hmotnosti sodné soli warfarinu ve formě klathrátu izopropanolu a 50 až 80 % hmotnosti, výhodně 70 % hmotnosti, hydrogenfosforečnanu vápenatého, vždy vztaženo na celkovou hmotnost pevné lékové formy, přičemž poměr distribuce velikosti částic sodné soli warfarinu ve formě klathrátu izopropanolu k distribuci velikosti částic hydrogenfosforečnanu vápenatého vyjádřený parametry $d(0,5)$ je v rozmezí od 14 do 20 a vyjádřený parametry $d(0,9)$ je v rozmezí od 3 do 5 a poměr hustoty částice určené pyknetrem sodné soli warfarinu ve formě klathrátu izopropanolu k hustotě částic určené pyknetrem hydrogenfosforečnanu vápenatého v rozmezí od 1,8 do 2,5, mísí v pomaloběžném mixéru po dobu 5 až 30 min při 15 až 80 otáčkách za minut, výhodně po dobu 10 min při 40 otáčkách za minutu, k získání homogenní práškové směsi. [56]

Cílem bylo posoudit vliv rozdílné koncentrace léčiva a rozdílného času mísení po přidavku magnesium stearátu ke směsi, na výslednou obsahovou stejnoměrnost tabletovin a tablet vyrobených metodou přímého lisování. Patent uvádí koncentraci klathrátu sodné soli warfarinu ve směsi 2 % a délku mísení 10 minut s následným přidavkem kluziva a domísením dalších 5 minut. S ohledem na uvedené parametry byly zvoleny koncentrace léčivé látky ve směsi 0,55 % a 5,46 % a doba domísení po přidavku kluziva 5, 10 a 15 minut. Z připravených směsí byly vylisovány tablety o odpovídající síle 1 a 10 mg sodné soli warfarinu. Hodnocené směsi a tablety byly připraveny v rámci diplomové práce J. Štarkové. K analytickému hodnocení na obsahovou stejnoměrnost bylo odebráno vždy deset vzorků ze směsi a 10 vzorků tablet z každé šarže. Celkem bylo vyrobeno 13 šarží, které byly analyticky vyhodnoceny pomocí HPLC. Vzorky určené k

analytickému stanovení byly připravené podle postupu uvedeného v kapitole 3.2. a 3.3.. Výsledky těchto analýz byly vyhodnoceny pomocí programu Microsoft Excel 2010 (funkce Popisná statistika). U každé tabletové směsi a tablet byla hodnocena obsahová stejnoměrnost podle lékopisných kritérií dle ČL 2009. Pro hodnocení směsí byl použit článek 2.9.6. a pro hodnocení tablet články 2.9.6. a 2.9.40. FDA kritéria se hodnotila pouze u tabletových směsí. Podle kritérií FDA, má každý vzorek tabletové směsi obsahovat 90-110 % nalezeného průměru API, přičemž RSD musí být menší než 5 %. Tyto požadavky se uplatňují jen u tabletových směsí. Přísnější požadavky u směsí byly stanoveny z důvodu, že při jejich zpracování do konečných tablet může docházet k jejich rozdělování. [10] Dále byla obsahová rovnoměrnost hodnocena podle pravidel používaných při procesní validaci výroby pevných lékových forem. Byly vypočítány hodnoty CpK u tablet i směsí. Hodnota CpK indexu musí být u směsí a tablet větší nebo rovna 1, aby bylo zabezpečeno, že 99,7 % všech následně vyrobených šarží vyhoví stanovenému lékopisnému limitu, který je uveden v článku 2.9.6 ČL. Za dolní limit (LSL) byla zvolena hranice 85 % a za horní hranici 115 %. U směsí byly CpK indexy počítány i s limity FDA 90 a 110 %. U tablet byla odečtena hodnota Bergumova rozdělení. [10] [52]

Vyhodnocení obsahové stejnoměrnosti směsí

Tabulka č. 18 srovnává průměrné obsahy a nejdůležitější parametry obsahové stejnoměrnosti tabletových směsí o koncentraci 0,55 a 5,46 % účinné látky, ze kterých byly později vylisovány tablety s obsahem 1 a 10 mg sodné soli warfarinu. Z výsledků můžeme říci, že směsi o koncentraci 0,55 % vyrobené technologií mísení 5 min vyhověly v obou uvedených šaržích pouze požadavkům ČL 2009 čl. 2.9.6.. U technologie mísení po dobu 10 a 15 minut vyhověla čl. 2.9.6. podle ČL 2009 vždy jen jedna šarže. Pokud směs nesplní požadavky stanovené lékopisem, nemůže splnit ani přísnější požadavky FDA. Při porovnání s literárními údaji [56], lze konstatovat, že snížení obsahu léčiva ve směsi ze 2 % na 0,55 % vede k výraznému zhoršení obsahové stejnoměrnosti. Směsi s obsahem léčiva 0,55 % nevyhoví ani lékopisným požadavkům, kdežto směsi s obsahem léčiva 2 % vyhověly jak kritériím FDA, tak kritériím používaných při procesní validaci ($CpK \geq 1,0$).

Všechny hodnocené tabletové směsi o koncentraci léčiva 5,46 % vyhověly lékopisným požadavkům (čl. 2.9.6.), na rozdíl od směsí s obsahem léčiva 0,55 %. Dalším hodnoceným kritériím vyhověly dvě šarže (5,46 % léčiva) s délkou domísení po přidavku kluziva 10 minut. Z důvodu statistické významnosti byla stejným postupem připravena třetí šarže, která ale nevyhověla kritériu FDA ani kritériu $CpK \geq 1,0$. Ostatní šarže s obsahem léčiva 5,46 % nevyhověly buď kritériím FDA (šarže s domísením 5 minut) nebo nevyhověly požadavkům na procesní validaci (šarže s domísením 15 minut). Zvýšení koncentrace warfarinu ve směsích z 0,55 % na 5,46 % vede k významnému zlepšení obsahové stejnoměrnosti, ale ani tyto směsi nevyhoví všem hodnoceným kritériím (požadavky FDA a limity CpK). Vzhledem k tomu, že směsi s obsahem warfarinu 2 % všem těmto kritériím vyhověly, lze konstatovat, že obsahová stejnoměrnost směsí je ovlivněna koncentrací léčiva. Nejlepší obsahová stejnoměrnost je dosažena při optimální koncentraci warfarinu a zvýšení nebo snížení jeho koncentrace zhoršuje obsahovou stejnoměrnost směsí. [56]

Doba mísení tabletové směsi je také neopomenutelnou součástí procesu výroby tablet a její vliv na připravovanou směs je značný. Obecně neplatí tvrzení, že čím déle je směs mísená, tím lepší bude její obsahová stejnoměrnost. Naopak při přemíchání směsi tzv. overblending může dojít k segregaci částic. Tato segregace má významný vliv na obsahovou stejnoměrnost. Proto proces mísení považujeme za jeden z nejdůležitějších kritických parametrů výroby, a to především u směsí, které obsahovaly velmi malý obsah účinné látky. Výsledky dokazují, že prodloužením délky mísení z 5 na 10 nebo 15 minut se neprokázalo zlepšení uniformity směsí.

Tabulka č. 18: Porovnání průměrných obsahů a parametrů obsahové stejnoměrnosti tabletových směsí

Technologie	Síla	Šarže	Průměr	RSD	ČL 2.9.6.	FDA	RSD podle FDA	CpK (85 – 115 %)
5 min	0,55%	A	96,68	6,06	+	-	-	0,66
		B	95,30	3,69	+	+	+	0,98
10 min	0,55%	A	99,04	8,33	-	-	-	0,57
		B	94,75	6,53	+	-	-	0,52
15 min	0,55%	A	101,13	10,65	-	-	-	0,43
		B	100,16	3,43	+	+	+	1,44
5 min	5,46%	A	98,46	1,95	+	+	+	2,38
		B	97,18	4,80	+	-	+	0,87
10 min	5,46%	A	100,40	1,48	+	+	+	3,29
		B	99,11	1,53	+	+	+	3,10
		C	96,07	4,85	+	-	+	0,79
15 min	5,46%	A	105,50	3,42	+	+	+	0,88
		B	109,27	2,66	+	+	+	0,64

Průměr je udáván v % - průměr z deseti jednotlivých vzorků odebraných z dané šarže; ČL 2009 čl. 2.9.6. (85 – 115 %) (+) vyhovuje, (-) nevyhovuje; FDA – (90 – 110 %) (+) vyhovuje, (-) nevyhovuje; RSD podle FDA (do 5 %) (+) vyhovuje, (-) nevyhovuje

Vyhodnocení stejnoměrnosti tablet

Tabulka č. 19 porovnává průměrné obsahy a nejdůležitější kritéria obsahové stejnoměrnosti u tablet připravených z hodnocených tabletových směsí. Všechny připravené šarže tablet o obsahu 1 mg sodné soli warfarinu nevyhověly kritériu podle Berguma, ostatním lékopisným požadavkům i průměrnému obsahu od 95–105 % vyhověla jen jedna šarže vyrobená technologií mísení 5 min. Z toho vyplývá, že uvedené postupy mísení u této koncentrace účinné látky nejsou vhodné pro opakovanou produkci tabletové směsi a tablet, aby byla splněná vyhovující obsahová rovnoměrnost.

Tablety o obsahu 10 mg sodné soli warfarinu vyhověly lékopisným kritériím, průměrnému obsahu od 95–105 % a kritériu $CpK \geq 1,0$ ve všech vyrobených šaržích. Nejprísnejšími kritériu – Bergumovu rozdělení vyhověly pouze šarže domísené 5 minut po přidavku kluziva. Naopak při domísení 15 minut po přidavku kluziva nevyhověla Bergumovu rozdělení ani jedna z hodnocených šarží tablet. Z uvedeného vyplývá, že prodloužení délky domísení po přidavku kluziva z 5 na 10 minut nevede ke zlepšení obsahové stejnoměrnosti tablet a prodloužení domísení na 15 minut obsahovou stejnoměrnost produktu zhoršuje.

Zvýšení koncentrace warfarinu v hodnocených tabletách vede k významnému zlepšení obsahové stejnoměrnosti. Z výsledků je patrné, že technologické postupy, které byly analyzovány u šarží o koncentraci 0,55 % (1,09 mg) klathrátu sodné soli warfarinu nejsou vhodné pro opakovanou reprodukci tabletových směsí ani tablet. Jako nejlepší technologický postup se zdá být mísení po dobu 5 min u šarží o koncentraci 5,46 % (10,91 mg) účinné látky. Ovšem ani tato technologie nevyšla ve všech hodnocených parametrech (nevyhovující uniformita směsí). Vyhovující obsahová stejnoměrnost je dosažena při optimální koncentraci warfarinu, kterou uvádí patent z roku 2013 [56] a zvýšení nebo snížení jeho koncentrace zhoršuje obsahovou stejnoměrnost.

Tabulka č. 19: Porovnání průměrných obsahů a parametrů obsahové stejnoměrnosti tablet

Technologie	Síla	Šarže	Průměr	RSD	Bergum	ČL 2.9.6.	ČL 2.9.40.	95 – 105 %	CpK (85 – 115 %)
5 min	1 mg	A	98,40	2,99	-	+	+	+	1,52
		B	97,40	8,09	-	-	-	+	0,52
10 min	1 mg	A	96,73	5,76	-	+	-	+	0,70
		B	100,77	8,30	-	-	-	+	0,57
15 min	1 mg	A	94,38	5,65	-	+	-	-	0,59
		B	95,18	8,24	-	+	-	+	0,43
5 min	10 mg	A	96,16	1,36	+	+	+	+	2,85
		B	100,80	2,27	+	+	+	+	2,07
10 min	10 mg	A	98,12	3,42	-	+	+	+	1,30
		B	99,03	1,67	+	+	+	+	2,83
		C	101,29	2,33	+	+	+	+	1,93
15 min	10 mg	A	99,21	3,48	-	+	+	+	1,38
		B	95,19	3,53	-	+	+	+	1,01

Průměr je udáván v % - průměr z deseti jednotlivých vzorků odebraných z dané šarže; Bergum – porovnání RSD podle tabulky č.2 Bergumova rozdělení; ČL 2009 čl. 2.9.6. (85 – 115 %) (+) vyhovuje, (-) nevyhovuje; ČL 2009 čl. 2.9.40. (+) vyhovuje, (-) nevyhovuje; Průměr (do 95 – 105 %) (+) vyhovuje, (-) nevyhovuje

6. ZÁVĚR

Příprava tablet s nízkým obsahem účinné látky metodou přímého lisování může být komplikovaný děj, kde je třeba zohlednit řadu faktorů. Záměrem této práce bylo zhodnotit významnost procesních proměnných ovlivňujících obsahovou stejnoměrnost. Cílem bylo posoudit vliv rozdílné koncentrace léčiva a rozdílného času mísení na výslednou obsahovou stejnoměrnost tabletovin a tablet vyrobených metodou přímého lisování.

Nejlepších výsledků bylo dosaženo u technologického postupu s domísením směsi 5 a 10 min a vyšším obsahem warfarinu ve směsi (5,46 %). Ale i u těchto postupů vždy některá ze šarží nevyhověla všem hodnoceným kritériím. Dosažené výsledky ukazují, že obsahová stejnoměrnost produktů je ovlivněna koncentrací warfarinu ve směsi. Nejlepší uniformity je dosaženo při optimální koncentraci warfarinu a zvýšení nebo snížení jeho koncentrace zhoršuje obsahovou stejnoměrnost. Prodloužení délky mísení z 5 na 10 nebo 15 minut nevedlo ke zlepšení uniformity produktů. Na základě dosažených výsledků lze konstatovat, že pro přípravu tablet s různými obsahy warfarinu by bylo vhodné použít společnou směs s optimálním složením a požadovaný obsah warfarinu v tabletách zajistit lisováním tablet o různých hmotnostech.

Výsledky potvrzují problematiku dosažení obsahové stejnoměrnosti metodou přímého lisování u přípravků s nízkým obsahem léčiv s NTI, jako je např. warfarin.

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] LIANG, B. A., T. K. MACKEY a K. M. LOVETT. *Illegal "No Prescription" Internet Access to Narrow Therapeutic Index Drugs*. *Clinical Therapeutics*. 2013, roč. 35, s. 694-700. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149291813001677>
- [2] *Generická substituce (skoro) jednou větou*. ČInK [online]. 2010 [cit. 2014-02-12]. Dostupné z: [http://www.lekarnici.cz/Pro-verejnost/Informace-pro-verejnost/Genericka-substituce-\(skoro\)-jednou-vetou.aspx](http://www.lekarnici.cz/Pro-verejnost/Informace-pro-verejnost/Genericka-substituce-(skoro)-jednou-vetou.aspx)
- [3] *Reakce na články o generické substituci*. SÚKL [online]. 2008 [cit. 2014-02-12]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/sukl/reakce-na-clanky-ke-genericke-substituci>
- [4] *Generická substituce z pohledu lékárníka, nejen u aminopenicilinu*. EDUKAFARM [online]. 2009 [cit. 2014-02-12]. Dostupné z: http://www.edukafarm.cz/data/soubory/casopisy/6/16-2009_2.pdf
- [5] *Farmakoterapeutické informace: Generické léčivé přípravky*. *Měsíčník pro lékaře a farmaceuty: Státní ústav pro kontrolu léčiv*, 2012, 4 s. ISSN 1211 - 0647.
- [6] MUSELÍK, J. a A. FRANC. *Hodnocení obsahové stejnoměrnosti tablet s nízkým obsahem léčivé látky s úzkým terapeutickým indexem*. *Čes. slov. Farm.* [online]. 2012, roč. 61, 271 – 275 [cit. 2014-03-30]. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/pdf?>
- [7] *Medicine recall – MAREVAN® (warfarin) 3mg tablets*. GalaxoSmithKline [online]. 2010 [cit. 2014-01-12]. Dostupné z: <http://www.gsk.co.nz/Marevan%20Consumer%20Media%20Release.pdf>

- [8] *Warfarin 2 mg Tablets by Zydus Pharmaceuticals USA Inc.: Recall - Due to Oversized Tablets. In: U.S. Food and Drug Administration [online]. 2013 [cit. 2014-01-12]. Dostupné z: <http://www.fda.gov/safety/medwatch/safetyinformation/safetyalertsforhumanmedicalproducts/ucm356519.htm>*
- [10] *FRANC, A. Validace pevné lekové formy s obsahem warfarinu. Brno, 2003. 83 s. Rigirózní práce. Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně. Vedoucí práce Doc. PharmDr. Miloslava Rabiškova, CSc.*
- [11] *WAGNER, J. L. Epistaxis Associated with Elevation of INR in a Patient Switched to Generic Warfarin: Pharmacotherapy. In: Medscape [online]. 2000 [cit. 2014-03-31]. Dostupné z: http://www.medscape.com/viewarticle/409516_3*
- [12] *Warfarin Orion. SOUHRN ÚDAJŮ O PŘÍPRAVKU [online]. 2010 [cit. 2014-02-07]. Dostupné z: www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC3801.pdf&type=spc&as=warfarin-orion-3-mg-spc*
- [13] *GOLAN, D. E. a A. H. TASHJIAN. Principles of pharmacology: the pathophysiologic basis of drug therapy. 3rd ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams, 2012, 954 s. ISBN 978-160-8312-702.*
- [14] *PIASCIK, M. T. Receptors. [online]. 2009 [cit. 2014-01-07]. Dostupné z: <http://pharmacology.med.uky.edu/>*
- [15] *BECKER, D. E. Drug therapy in dental practice: general principles. Part 2 - pharmacodynamic considerations. PubMed[online]. 2007, roč. 54, s. 19-23 [cit. 2014-03-30]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17352523>*

- [16] GUZMAN, F. *Therapeutic index. Pharmacology Corner [online]. 2014 [cit. 2014-01-07]. Dostupné z: <http://pharmacologycorner.com/therapeutic-index/>*
- [17] GABLE, R.S. *Comparison of acute lethal toxicity of commonly abused psychoactive substances. PubMed [online]. 2004, roč. 99, s. 686-696 [cit. 2014-03-31]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15139867>*
- [18] *Barevný atlas farmakologie. 4. vyd. Praha: Grada Publishing, 2012, 384 s. ISBN 978-80-247-3908-3*
- [19] URBÁNEK, K., I. KOHLOVÁ a J. MAREČKOVÁ. *Informovanost, percepce rizik a compliance pacientů užívajících warfarin. Klinická farmakologie a farmacie [online]. 2008, roč. 22, s. 6-10 [cit. 2014-01-08]. Dostupné z: <http://solen.cz/pdfs/far/2008/01/02.pdf>*
- [20] PENGO, V., C. LEGNANI a F. NOVENTA. *Oral anticoagulant therapy in patients with nonrheumatic atrial fibrillation and risk of bleeding: a multicenter inception cohort study. Thromb Haemost. 2001, roč. 85, s. 418-422.*
- [21] LEVINE, M.N., G. RASKOB a R. J.BEYTH. *Hemorrhagic Complications of Anticoagulant Treatment: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest. 2004, roč. 126, s. 287-310*
- [22] GUMULEC, J., P. KESSLER a M. PENKA. *Krvácivé komplikace při léčbě warfarinem. Sekce pro trombózu a hemostázu České hematologické společnosti České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně [online]. 2005, roč. 11, s. 1-17 [cit. 2014-01-10]. Dostupné z: http://www.thrombosis.cz/sources/Guidelines_warfarin_krvaceni_STH_XI05.pdf*

- [23] DICKMAN, L. J., A. E. RETTIE a M. B. KNELLER. *Identification and functional characterization of a new CYP2C9 variant (CYP2C9*5) expressed among African Americans. Mol Pharmacol. 2001, roč. 60, s. 382- 387*
- [24] KIDD, R. S., T. B. CURRY a S. GALLAGHER. *Identification of a null allele of CYP2C9 in an African American exhibiting toxicity of fenytoin. Pharmacogenetics. 2001, roč. 11, s. 803-808*
- [25] D'ANDREA, G., R.L. D'AMBROSIO a P. DI PERNA. *A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin: Blood. PubMed [online]. 2005, roč. 105, s. 645-649 [cit. 2014-03-31]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15358623>*
- [26] YUAN, H. Y., J. J. CHEN a M. T. LEE. *A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity: Hum Mol Genet. PubMed [online]. 2005, roč. 14, s. 1745-1751 [cit. 2014-03-31]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15888487>*
- [27] RÁDL, S. *Jak se rodí lek, aneb vybrané aspekty výzkumu a vývoje chemických léčiv. Chem. Listy [online]. 2004, roč. 98, s. 1073–1084 [cit. 2014-02-24]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_12_1073-1084.pdf*
- [28] NASH, R. A., WACHTER, A. H. *Pharmaceutical Process Validation. Third Edition, 2003, 883 s. ISBN 0-8247-0838-5.*
- [29] DENTALI, F., M. P. DONADINI, N. CLARK, M. A. CROWTHER, D. GARCIA, E. HYLEK, D. M. WITT a W. AGENO. *Brand Name versus Generic Warfarin: A Systematic Review of the Literature. Pharmacotherapy [online]. 2011, roč. 31, s. 386-393 [cit. 2014-02-24]. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1592/phco.31.4.386>*

- [30] RABIŠKOVÁ, M., Z. CHALUPOVÁ, R. MASTEIKOVÁ a K. DVOŘÁČKOVÁ. *Lékové formy a biofarmacie II: Tuhé léky*. Vyd. 2., přeprac. a rozš. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2009, 73 s. ISBN 978-80-7305-071-9.
- [31] CHALABALA, M. *Technologie léků*. 2. přeprac. a dopl. vyd. Praha: Galén, 2001, 408 s. ISBN 80-726-2128-9.
- [32] *Introduction to tableting by wet granulation*. In: DFE Pharma [online]. 2011 [cit. 2014-01-13]. Dostupné z: <http://www.dfepharma.com/en/downloads.aspx?id=%7BD896F439-39CB-471D-B5EC-640C00D7BD00%7D>.
- [33] KOMÁREK, P. a M. RABIŠKOVÁ. *Technologie léků: galenika*. 3., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Galén, 2006, 399 s. ISBN 80-726-2423-7.
- [34] SWARBRICK, J. *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. 3rd ed. New York: Informa Healthcare, 2007, 4370 s. ISBN 08-493-9399-X.
- [35] DOKALA, G. K. a Ch. PALLAVI. *Direct Compression*. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences* [online]. 2013, roč. 4 [cit. 2014-01-16]. Dostupné z: <http://www.ijrpbsonline.com/files/25-4145.pdf>
- [36] ZÁMOSTNÝ, P. *Mísení a segregace sypkých hmot*. VSCHT [online]. 2010, roč. 1 [cit. 2014-01-13]. Dostupné z: <http://tresen.vscht.cz/kot/wp-content/uploads/2010/miseni-a-segregace-sypkych-hmot/2010-06-komentar-ke-snimkum.pdf>

- [37] ADÁMEK, R., M. ŘEHULA a T. RYSL. *Chemická struktura a viskoelastická plniv pro přímé lisování tablet léčiv*. *Chem. Listy [online]*. 2011, roč. 105, s. 691-695 [cit. 2014-01-16]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_09_691-696.pdf
- [38] *Tablet: Manufacturing methods/Direct compression*. In: *Pharmaceutical guide [online]*. 2010 [cit. 2014-01-16]. Dostupné z: <http://pharmaceuticalguidebook.blogspot.cz/2010/12/tabletmanufacturing-methodsdirect.html>
- [39] ROHRS, B.R., E.G. AMIDON, H.M. MEURY a J.P. SECREAST. *Particle Size Limits to Meet USP Content Uniformity Criteria for Tablets and Capsules*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2006, roč. 95, s. 1049-1059.
- [40] OKÁČOVÁ, L., D. VETCHÝ, A. FRANC a M. RABIŠKOVÁ. *Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných léčivých látek technologickými postupy usnadňujícími jejich rozpouštění*. *Chem. Listy [online]*. 2011, roč. 105, s. 34-40 [cit. 2014-02-26]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_01_34-40.pdf
- [41] SWARBRICK, J. *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. 3rd ed. New York: Informa Healthcare, 2007, 4370 s. ISBN 08-493-9399-X.
- [42] MATTSSON, S. *Pharmaceutical binders and their function in directly compressed tablets: mechanistic studies on the effect of dry binders on mechanical strength, pore structure and disintegration of tablets*. Uppsala: Acta Universitatis Upsaliensis, 2000, 64 s. ISBN 91-554-4857-7.
- [43] *Statická elektřina: proč vzniká a jak na ni*. In: *Limex-technik [online]*. 2009. [cit. 2014-02-26]. Dostupné z: http://www.limex-technik.cz/Zdroje/Staticka_el_prirucka.pdf

- [44] KERNER, S. a N. A. URBANETZ. *The impact of electrostatic charge in pharmaceutical powders with specific focus on inhalation-powders*. *Journal of Aerosol Science: Elsevier* [online]. 2011, roč. 42, s. 428-445 [cit. 2014-02-26].
Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021850211000383>
- [45] MATHEWS, L., Ch. CHANDLER a S. DIPALI. *Monitoring Blend Uniformity with Effusivity*. *Pharmaceutical Technology*[online]. 2002, roč. 59, s. 80-82 [cit. 2014-01-13]. Dostupné z:
<http://www.pharmtech.com/pharmtech/data/articlestandard/pharmtech/132002/14109/article.pdf>
- [46] FRANC, A. a J. MUSELÍK. *Obsahová stejnoměrnost směsí a tablet obsahujících warfarin*. *Čes. slov. Farm.* 2013, roč. 62, s. 177-181.
- [47] DOLEŽAL, P., J. MUSELÍK, K. DVOŘÁČKOVÁ a K. ŠUSTOVÁ. *Studium procesu homogenizace práškových směsí s využitím NIR spektroskopie*. *Čes. slov. Farm.* [online]. 2010, roč. 59, s. 263-271 [cit. 2014-02-25]. Dostupné z:
<http://www.prolekare.cz>
- [48] *Vzorkování výchozích a obalových materiálů*. In: *Good manufacturing practices: USKVBL* [online]. 2002 [cit. 2014-02-26]. Dostupné z: www.uskvbl.cz
- [49] GONĚC, R. *Technologie pro přípravu uniformních pevných lékových forem s nízkou dávkou léčiva*. *Čes. slov. Farm.* [online]. 2010, roč. 59, s. 38 [cit. 2014-01-24].
Dostupné z: www.prolekare.cz
- [50] *Ministerstvo zdravotnictví ČR. Český lékopis 2009*. Praha: Grada, 2009. 3968 s. ISBN 978-80-247-3785-0.

- [51] <905>Uniformity of dosage units. The United States Pharmacopeial Convention [online]. 2011, roč. 1 [cit. 2014-02-28]. Dostupné z: http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/2011-02-25905UNIFORMITYOFDOSAGEUNITS.pdf
- [52] TOŠENOVSKÝ, J. *Ekonomické a technologické hodnocení způsobilosti procesů – Algoritmy a řešené úlohy*. 1. vyd. Ostrava, 2007, 203 s. ISBN 978-80-02-01882-07
- [53] *Analýza způsobilosti procesu*. StatSoft Statistica [online]. 2008 [cit. 2014-01-27]. Dostupné z: http://www.statsoft.cz/file1/PDF/newsletter/13_08_07_StatSoft_Analyza_zpusobilosti_procesu.pdf
- [54] CHOLAYUDTH, P. *Using the Bergum Method and MS Excel to Determine The Probability of Passing the USP Dissolution Test*. PharmTech [online]. 2006, roč. 1, s. 86-98 [cit. 2014-01-24]. Dostupné z: <http://www.pharmtech.com/pharmtech/Analytics/Using-the-Bergum-Method-and-MS-Excel-to-Determine/ArticleStandard/Article/detail/282728>
- [55] TOBRECK, L. D. *Statistical Solutions: Bergum's Method Recognized*. PharmTech [online]. 2010, roč. 34, s. 80 [cit. 2014-01-24]. Dostupné z: <http://www.pharmtech.com/pharmtech/Article/Statistical-Solutions-Bergums-Method-Recognized/ArticleStandard/Article/detail/667578>
- [56] FRANC, A. a J. MUSELÍK. *Způsob přípravy pevné lékové formy se sodnou solí warfarinu ve formě klathrátu izopropanolu [patent]*. CZ. B6, 304136. Uděleno 2.10.2013.

8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

API	Active Pharmaceutical Ingredience = účinná látka
AUC	Area under curve = plocha pod křivkou plazmatické koncentrace léčiva
CDER	Center for Drug Evaluation and Research
C_{\max}	maximální plazmatická koncentrace
č. š.	číslo šarže
ČL	Český lékopis
FDA	Food and Drug Administration = Americký úřad pro potraviny a léčiva
GMP	Good Manufacturing Practice = Správná výrobní praxe
INR	International Normalized Ratio = Mezinárodní normalizovaný poměr
NIRS	Near – infrared spectroscopy = Blízká infračervená spektroskopie
Ph.Eur.	Pharmacopoeia Europaea = Evropský lékopis
PDA	Parenteral Drug Association
RSD	relativní směrodatná odchylka
SVP	správná výrobní praxe
TDM	Therapeutic Drug Monitoring = Monitorování hladin léku
t_{\max}	čas, v kterém je dosažutá maximální plazmatická koncentrace
WHO	World Health Organization = Světová zdravotnická organizace