

## Fáze vývoje

U inovativních léčiv zahajuje fáze vývoje poté, co jsou vybrány látky, u nichž bylo předběžnými testy zjištěno, že mají farmakodynamické a farmakokinetické parametry odpovídající požadavkům. Vývoj se ale provádí i u generik, ekvivalentů vytipovaných léčiv, jejichž patentová ochrana i ochrana farmaceutických dat skončila nebo končí. **Hlavním cílem vývoje je reprodukovatelná a schválená výroba účinného, bezpečného a povoleného léčiva.**

Nové léčivo musí být povoleno příslušnými lékovými agenturami (FDA, EMA, SÚKL apod.), tyto instituce schvalují i jeho způsob výroby. U originálních léčiv je vývojová fáze nejdelší (8 i více let), nejnákladnější (nejméně 60% celkových nákladů) a nejrizikovější. Vývoj generických ekvivalentů zavedených léčiv není tak zdoluhavý a nákladný, stále však zůstává velmi náročný. Vzhledem k nutnosti předkládat k žádosti o povolení generického léčiva výsledky zkoušek dlouhodobé stability trvá vývoj generického léčivého přípravku ze substance od jiného výrobce v průměru 1-3 roky, v případě, že je vyvíjena i technologie výroby léčivé látky, je to průměrně 2-5 let.

### Fáze vývoje zahrnuje:

- U originálních léčiv finální optimalizaci farmakodynamických a farmakokinetických parametrů léčiva podle výsledků preklinických a klinických zkoušek  
Vývojová fáze se v tomto případě prolíná s fází návrhu. Může zahrnovat přípravu profarmak, zejména pokud se při zkouškách *in vivo* ukáže, že je třeba řešit otázky biologické dostupnosti. Dále se v rámci fáze vývoje může řešit výběr polymorfů – krystalových modifikací léčivé látky, které rovněž mohou mít vliv na biologickou dostupnost
- Vývoj lékové formy
- Vývoj technologie výroby léčivé látky i léčivého přípravku
- Optimalizaci a validaci výrobních postupů
- Návrh specifikace a vývoj metod analytického hodnocení
- Preklinické a klinické zkoušky  
U originálních léčiv je preklinické i klinické zkoušení značně náročné a rozsáhlé, u generik se omezuje na zkoušky stability a na průkaz bioekvivalence s originálním nebo i jiným dříve povoleným přípravkem.
- Zpracování dokumentace a žádosti o registraci

## Polymorfie

Vývoj léčivé látky nekončí nalezením derivátu s optimální chemickou strukturou. Má-li látka optimálně vyhovovat pro zamýšlené použití, je třeba věnovat pozornost i její krystalové formě.

Situace je přitom poměrně složitá: Např. u acetylsalicylové kyseliny, aspirinu, byly popsány 4 krystalové modifikace. Vápenatá sůl atorvastatinu může tvořit 26 typů krystalů, k patentové ochraně bylo přitom přihlášeno 63 krystalových forem včetně různých hydrátů. U sulfathiazolu bylo dokonce popsáno 120 různých krystalových forem bezvodé látky nebo jejich solvátů. U léčiv s charakterem kyselin a bází situaci dále komplikuje existence různých solí, z nichž každá může tvořit různé formy krystalů s různým množstvím krystalové vody nebo jiného rozpouštědla v krystalové mřížce. Odhaduje se, že asi třetina až polovina léčiv s molekulovou hmotností do 600 g/mol může vytvářet více než jeden typ krystalů a pokud se berou v úvahu různé solváty, pak se odhady zvyšují na 56-87%. Rozdílné krystalové formy netvoří jen léčivé látky, ale i řada pomocných látek používaných při výrobě léčivých přípravků: např. hlavní složka kakaového másla používaného v čípcích může mít 4 formy, které se liší bodem tání; mannitol, složka řady tablet, krystaluje ve 3 formách lišících se stlačitelností.

Schopnost látky vytvářet více než jednu krystalovou formu, tj. schopnost molekul s určitou strukturou zaujímat různá prostorová uspořádání a přitom vytvářet různé krystalové mřížky se nazývá **polymorfie**. Za polymorfni modifikaci bývá kromě různých krystalových forem považována i amorfní forma látky.

V chemii léčiv se používají dva blízké názvy, kterými však jsou označovány zcela odlišné pojmy. Vedle zde diskutované polymorfie to je genetický polymorfismus, výskyt mutovaných genů se zaměněnými nukleotidy

**Pseudopolymorfie (solvatomorfie)** je schopnost látek tvořit různé **krystalické solváty**, z nichž jsou nejdůležitější **hydráty** se zabudovanou molekulou vody. Solváty resp. hydráty resp. mohou mít **stechiometrické** nebo **nestechiometrické složení**, nestechiometrickým solvátům se říká **klathráty**.

U stochiometrických solvátů jsou molekuly rozpouštědla integrální součástí krystalové mřížky a při jejich odstranění sušením dochází ke změně krystalové formy. Molekuly vody pevně zabudované do krystalové mřížky nemohou interagovat s funkčními skupinami podléhajícími hydrolyze, takže stochiometrické hydráty mohou být hydrolyticky velmi odolné. U nestechiometrických solvátů jsou molekuly rozpouštědla vázány v krystalové mřížce volněji, takže při jejich odstranění sušením se mřížka nezhroutí, ale místa po molekulách rozpouštědla zůstanou volná.

Spolu s polymorfií ovlivňuje vlastnosti léčiv v pevném stavu i tvorba **solí**. Krystalová mřížka solí je tvořena ionty léčivé látky a příslušnými protioionty. Slabé kyseliny a báze nemusí ionty vytvářet a přesto mají jejich adukty s léčivými v pevném stavu stechiometrické složení. Místo silných iontových vazeb se přitom v jejich krystalové mřížce uplatňují slabší, ale stále dostatečně pevné vodíkové vazby a/nebo interakce dipól-dipól. Někteří autoři považují takové látky za další typ pseudopolymorfů, jiní je nazývají **kokrystaly**.

Při studiu 64 léčiv se ukázalo, že kokrystaly odlišné od solí a solvátů může vytvářet až 60% látek. O tom, zda vznikne pravá sůl nebo forma kokrystalu, rozhoduje rozdíl v  $pK_a$  obou složek. Při větších rozdílech vzniká sůl, při menších kokrystal, mezi solemi a kokrystaly je však plynulý přechod. Kokrystaly mohou ale vytvářet i látky, které nemají charakter kyselin a bází, ale jejichž molekuly mohou být mezi sebou propojeny vodíkovými můstky, klasickým příkladem takového kokrystalu je chinhydron tvořený molekulami chinonu a hydrochinonu v poměru 1:1. Podmínkou vzniku kokrystalu je, že pevnost nekovaletních vazeb mezi oběma komponentami je větší než pevnost vzájemných vazeb molekul léčiva v krystalové mřížce. Aby situace byla o něco komplikovanější, mohou i kokrystaly vytvářet různé polymorfní formy.

Různé krystalové mřížky mohou vytvářet i **tautomery látky**.

Zatímco v roztoku existuje mezi tautomery rovnováha, krystaly obsahují vždy buď jeden nebo druhý tautomer. Krystaly různých tautomerů jsou tak vlastně tvořeny odlišnými molekulami, které pochopitelně vytvářejí různé krystalové mřížky. Někdy jsou rozdílné krystalové formy tautomerů označovány jako **parapolyomorfy** (para = řecky téměř).

Vznik různých polymorfních forem může být zapříčiněn rozdílnou konformací látek. Různé konformery (rotamery) mají odlišný geometrický tvar molekul a bývají proto uspořádány do různých krystalových mřížek. Někdy však mohou vytvářet polymorfy i molekuly s rigidní konformací, jejichž molekuly jsou v krystalových mřížkách různě vzájemně orientovány nebo různě těsně uspořádány.

Polymorfy s odlišnou konformací látky a polymorfy s odlišným uspořádáním molekul se stejnou konformací v krystalové mřížce jsou krajní případy polymorfie, kterých není mnoho. Většina známých polymorfů představuje jakési hybridy mezi oběma typy. Obecně ale platí, že rozdíly v geometrické stavbě molekul ovlivňují jejich uspořádání do krystalové mřížky a naopak způsob uspořádání molekul v krystalové mřížce může ovlivňovat jejich konformaci.

Různé konformery a tedy i polymorfy mají **odlišný obsah volné energie**. Obecnou tendencí látek je minimalizovat svoji volnou energii. Za daných podmínek existuje vždy jen jedna polymorfní forma s nejnižším obsahem volné energie, která je **termodynamicky stabilní**. Ostatní formy jsou méně stálé, **metastabilní** a mohou se proto přeměnit na formu s nižší volnou energií.

Přeměna metastabilních polymorfů nemusí být kritická, pokud za daných podmínek probíhá pomalu. Extrémně pomalý je přechod metastabilní formy uhlíku – diamantu – na termodynamicky stálější grafit. Jindy však může být přechod tak rychlý, že se některou metastabilní formu ani nepodaří za běžných podmínek izolovat. Snadnost a tedy i rychlost vzájemných přeměn určují rozdíly v obsahu volné energie polymorfů.

Z hlediska snadnosti přeměny se někdy rozlišují **enantiotropní polymorfy**, které mohou přecházet na termodynamicky výhodnější formu i v pevném stavu a **polymorfy monotropní**, z nichž může být připravena odlišná forma jen krystalizací z roztoku nebo taveniny.

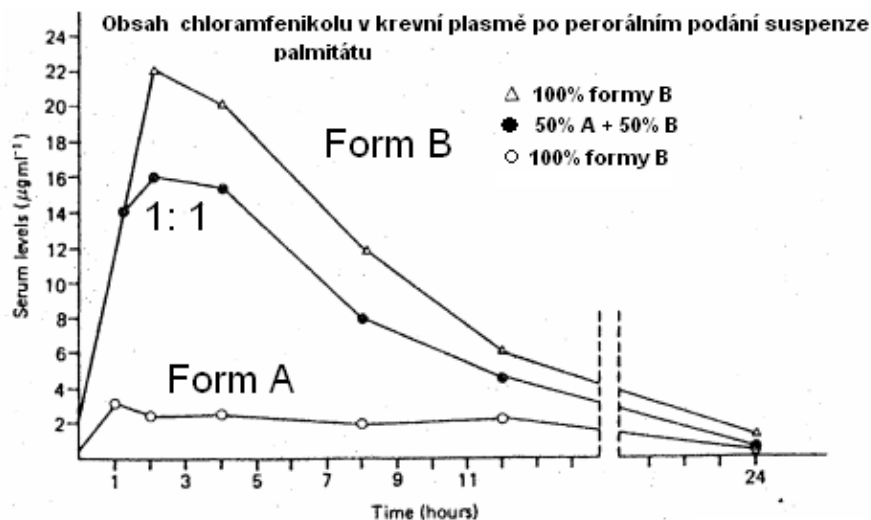
K přeměně jednoho polymorfu na druhý může docházet až teplota systému překročí určitou hodnotu, tzv. bod (teplotu) přechodu ( $T_i$ ). Při této teplotě mají oba polymorfy stejný obsah energie, při teplotách nižších má jedna forma nižší obsah volné energie a je tedy stabilnější, při teplotách nad  $T_i$  je naopak stabilnější forma druhá. U enantiotropních polymorfů je  $T_i$  nižší než bod tání. V monotropním systému je obsah volné energie jednoho polymorfu až do bodu tání trvale nižší nebo vyšší. Bod přechodu je nad bodem tání (jde o virtuální bod přechodu, protože v systému přitom nejsou dvě pevné fáze, ale pouze jedna kapalná fáze – tavenina).

Různé polymorfní formy mají odlišnou **hustotu a tvrdost, bod tání, zbarvení a další optické charakteristiky, různou rozpustnost a některé další vlastnosti**. Největší rozdíly jsou mezi **krystalickými a amorfními** formami látek. **Krystalické látky** mají atomy nebo molekuly uspořádány v definované krystalové mřížce, zatímco **amorfní forma** je nepravidelným seskupením molekul látky.

Pro své rozdílné vlastnosti mohou mít různé polymorfní formy pevných látek odlišné využití. Klasickým příkladem rozdílných vlastností i různého využití jsou dvě polymorfní formy uhlíku – diamant a grafit. První forma je transparentní a pro své optické vlastnosti se může používat k výrobě šperků, druhá neprůhledná, světlo absorbuje, takže může sloužit jako tuha při psaní písma. Diamant je nejtvrdší známý nerost a používá se proto jako brusivo, měkký grafit naopak slouží jako mazadlo. Diamant je nevodíč, naopak grafit dobře vede elektrický proud apod. U léčiv jsou sice rozdíly ve vlastnostech polymorfních forem podstatně méně výrazné, přesto však mohou mít značný dopad na farmakodynamické i farmakokinetické vlastnosti.

Pro farmakochemiky je důležitá hlavně **rozdílná rozpustnost** různých polymorfních forem a s ní související **biologická dostupnost**, která ovlivňuje účinnost nebo toxicitu léčiva. Obecně platí, že nejstabilnější forma se nejhůře rozpouští.

Běžně jsou rozdíly v rozpustnosti polymorfních forem léčiv nanejvýš dvojnásobné, existují však výjimky. Známy je případ palmitátu chloramfenikolu, jehož metastabilní forma B má osminásobně vyšší biologickou dostupnost než stabilní forma A. Je-li metastabilní forma podána pacientovi, koncentrace chloramfenikolu v krevní plasmě může přesáhnout horní limit terapeutického rozmezí a nad příznivým účinkem převáží toxicita.



Podle A. J. Aigular, J. E. Zelmer, Dissolution behaviour of polymorphs of chloramphenicol palmitate and mefanamic acid, *J. Pharm. Sci.* 58, 983-7, (1969)

Rozdílná rozpustnost různých polymorfních forem může hrát důležitou roli i u některých kapalných lékových forem. Léčivo proti AIDS ritonavir (přípravek Norvir) bylo uvedeno na trh ve formě téměř nasyceného roztoku v ethanolu, jímž byly naplněny měkké želatinové tobolky. V době zahájení prodeje byla známa jen jedna polymorfní forma s dostatečnou rozpustností. Asi po dvou letech od uvedení na trh přestaly však mít některé tobolky potřebnou účinnost. Ukázalo se, že příčinou nebyl rozklad, ale že z roztoku vykrystaloval dříve neznámý polymorf, který je asi 5 x méně rozpustný. Tím se zhoršila biologická dostupnost ritonaviru. Výrobce musel přípravek stáhnout z trhu a rychle vyvinout, otestovat a zaregistrovat novou lékovou formu, což mu přineslo značné finanční ztráty.

S určitým rizikem je spojeno použití enantiotropních polymorfních forem léčivých látek při výrobě pevných lékových forem.

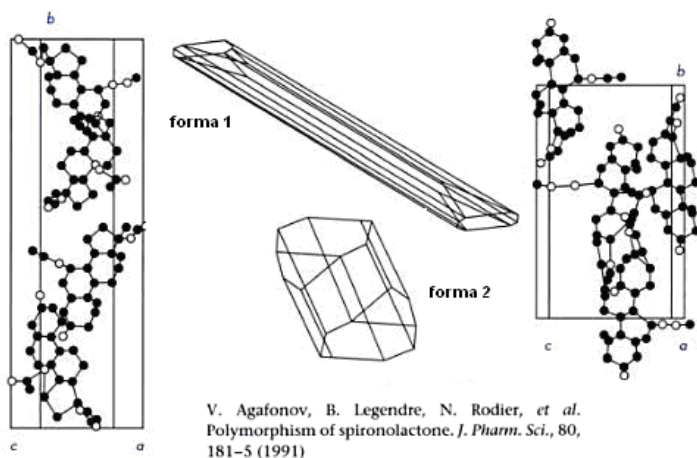
Méně stálý polymorf se při lisování do tablet nebo jiném zpracování, při němž dochází k tepelnému a tlakovému namáhání, ale někdy již dlouhodobém skladování, může přeměnit na stálejší. Tato přeměna může být příčinou nežádoucích změn vlastností, jako je rozpad tablet nebo snížení biologické dostupnosti. Je-li však zaručeno, že během výroby nebo skladování léčivého přípravku nebude k takovým změnám docházet (vysoký  $T_i$ ) může být použití některých metastabilních polymorfů výhodné, protože jsou rozpustnější a také se někdy lépe zpracovávají. Podobný vliv na zpracovatelnost léčivé látky, fyzikální vlastnosti a biologickou dostupnost může mít i výběr kokryystalu. Při studiu přípravy kokryystalů s různými karboxylovými kyselinami se při použití kyseliny glutarové zvýšila rozpustnost jednoho léčiva 18x a biologická dostupnost 3 x ve srovnání s kokrystaly získanými s monokarboxylovými kyselinami.

To, zda a jak se vliv polymorfie nebo typu kokryystalů na biologickou dostupnost projeví, závisí na polaritě léčiva, která určuje jeho rozpustnost ve vodě.

Je-li rozpustnost léčiva dostatečně vysoká (tj. když se nejvyšší podávaná dávka léčiva zcela rozpustí v méně než 250 ml vodného prostředí v rozmezí pH od 1,0 do 7,5), rozdíly v rozpustnosti různých polymorfů nebo kokryystalů biologickou dostupností neovlivňují. Léčivo je přitom prakticky po celou dobu setrvání v gastrointestinálním traktu ve formě roztoku. Jeho absorpce pak závisí jen na objemu vodného roztoku léčiva v tenkém střevu (ten v průměru činí zmíněných cca 250 ml) a schopnosti jeho molekul pronikat membránou buněk střevní sliznice, tj. na rozdělovacích a difuzních koeficientech. Odlišná situace nastává, je-li léčivo rozpustné ve vodném prostředí jen částečně. Rychlost rozpouštění pak ovlivňuje průběh absorpce a velikost maximální absorbovatelné dávky rychle klesá. Aby maximální absorbovatelná dávka dosahovala hodnoty, která je potřebná k vyvolání požadované terapeutické odezvy, musí mít léčivo určitou minimální rozpustnost a rovněž i rychlost rozpouštění musí mít určitou minimální hodnotu. Rychlost rozpouštění závisí jednak na velikosti krystalků účinné látky v léčivém přípravku, jednak na polymorfii účinné látky. Nejrychleji se rozpouštějí amorfni formy látky, které také mají i nejvyšší rozpustnost.

Kromě rozpustnosti jsou při výrobě pevných lékových forem důležité i rozdíly v **parametrech zpracovatelnosti** polymorfních a pseudopolymorfních forem léčivých látek do léčivých přípravků.

Zpracovatelnost ovlivňují rozdíly v bodech tání, hygroskopicitě, hustotě nebo sypané hmotnosti, filtrovatelnosti, stlačitelnosti směsí, mísitelnosti s pomocnými látkami, soudržnost částic, smáčivosti, tokových vlastnostech pevných směsí apod. Obecně platí, že při výrobě pevných lékových forem jsou hůře zpracovatelné látky, které vykristalovaly ve formě jehliček, jako např. polymorfni forma 1 na obrázku:



Pro reprodukovatelnou přípravu léčivých přípravků je proto třeba mít dostatečné informace o připravovaných a/nebo používaných polymorfních, pseudopolymorfních nebo kokystalových formách léčivých i pomocných látek a podmínkách jejich přeměn. **Studium polymorfie se proto stalo důležitou součástí vývoje léčiv** a jeho výsledky jsou vyžadovány institucemi povolujícími uvedení léčiva na trh.

Ještě donedávna mělo hledání nalézání různých krystalových forem spíše náhodný charakter, systematický přístup se prosazuje až v posledních letech. Nalezení polymorfních forem, které jsou pro dané použití nejvhodnější, je předpokladem úspěchu léčiva. Studium polymorfie substance by mělo být zahájeno v časných stádiích práce na projektu vývoje léčiva, protože jeho výsledky jsou důležité jak pro vývoj léčivých přípravků, tak i pro optimalizaci procesu výroby účinné látky.

Polymorfie a příprava kokystalů je důležitá i z **patentoprávního hlediska**.

Polymorfni formy jsou obecně považovány za nové a vzhledem ke stavu techniky inovativní. Mohou proto být patentově chráněny. Patentování různých polymorfních nebo pseudopolymorfních forem, jakož i různých typů solí, kokystalů a způsobů jejich přípravy, využívají farmaceutické firmy k prodloužení patentové ochrany původní molekuly a potlačení konkurence nebo naopak k překonání dosavadních patentových bariér. Jsou-li určité polymorfni a pseudopolymorfni formy látky patentově chráněné, je generický výrobce nucen vyhledávat a používat jiné formy, které mohou mít horší vlastnosti. Většina patentů chrání účinné látky a „jejich farmaceuticky přijatelné soli, hydráty a solváty“, řada nových patentů obecně chrání i „různé polymorfy“, látky. Spory pak jsou vedeny o to, zda určitá forma látky nebo její sůl je skutečně nová nebo zda její příprava představuje „vynálezickou činnost“, tj. zda nebyla připravena zřejmým a předvídatelným postupem. Lepší šance na patentovou ochranu přitom mohou mít kokristaly, jejichž vznik a vlastnosti (stabilita, disoluční profil apod.) jednoduše předvídat nelze.

**Krystalové formy látek se získávají při chlazení nasycených roztoků, tavenin, par sublimujících látek, při odpařování rozpouštědel z roztoků a při srážení.** Hledání stabilních polymorfních forem látky bývá často zahajováno studiem stárnutí suspenzí.

Přitom se připraví suspenze látky v různých rozpouštědlech nebo jejich směsích (např. s vodou) a nechají se při určité teplotě, popř. za dalších vhodně zvolených podmínek po delší dobu stárnout (jeden měsíc, popř. i déle). Po dostatečně dlouhé době by přitom metastabilní forma látky měla přejít na termodynamicky stabilnější. Zjistí-li se, že přitom vznikla nová krystalová forma, studium stárnutí by se mělo opakovat se suspenzí této nové formy. Vznik stabilní formy lze urychlit aplikací ultrazvuku, střídáním zahřívání a ochlazování (za předpokladu, že nedojde k úplnému rozpuštění), popř. očkovaním podobnou látkou.

Jiný způsob hledání stabilních polymorfních forem nabízí studium **působení tepla** na látku.

Pokud se látka při zahřívání nerozkládá, zahřeje se až roztaje a pak se tavenina nechá rozdílno rychlostí (rychle, středně, pomalu) chladnout. U vzniklých pevných produktů se změří jeho rentgenové spektrum a další charakteristiky, aby se zjistilo, zda je jeho krystalová forma odlišná od původního polymorfu. Při rychlém zchlazení vznikají spíše metastabilní formy, při dostatečně pomalém formy termodynamicky stálé. Při jiném metodickém postupu se látka zahřeje těsně pod bod tání, nechá určitou dobu při této teplotě a pak se zjišťuje, zda došlo ke změně její krystalové mřížky. Někdy se látka nechá vypařit a zchladí se její páry. U sublimátu se pak zjišťuje, zda jeho forma se liší od formy látky před sublimací.

Nejdůležitějším způsobem přípravy polymorfů při výrobě léčiv je **krystalizace látky z roztoku**.

Při krystalizaci hraje klíčovou roli výběr rozpouštědla, protože rozpouštědlo může favorizovat určitý polymorf před druhým. Zkouší se proto krystalizace z rozpouštědel s různou polaritou i z jejich směsí. Vedle krystalizace založené na rozdílné rozpustnosti látky při různých teplotách se studuje i snižování rozpustnosti (srážení) přísady „špatných“ rozpouštědel (antisolventů) nebo přísady rozpustných solí („vysolení“). Pozornost se přitom věnuje parametrům procesu krystalizace, jako je teplota, koncentrace roztoku, rychlost ochlazování nebo odpařování rozpouštědla, obsah vody, pH, přítomnost iontů, vliv míchání, rychlost přidávání antisolventu, apod. Výsledek ovlivňuje i čistota látky nebo přítomnost dalších látek v roztoku. Nelze-li zpočátku použít čistý produkt, je v další fázi vývoje nutné ověřit vliv nečistot na krystalizaci, popř. ji opakovat s čistší látkou. Vznik určité formy může také být určen přítomností zárodečných krystalků. Při ochlazování nebo srážení vznikne přesycený roztok, v němž zárodečné krystalky někdy vznikají spontánně. Jindy se však látka po dlouhou dobu sama nevylučuje. Krystalizaci pak lze iniciovat naočkováním, tj. přidáním zárodečných krystalků. Krystalová forma „oček“ přitom většinou určuje krystalovou formu produktu. K přípravě stabilních forem se mohou použít např. krystalky získané stárnutím suspenzí nebo působením tepla. Pro reprodukovatelnou přípravu některých polymorfů je třeba mít trvale k dispozici jejich krystalky, bez naočkování by mohla spontánně vykristalovat forma jiná. Jak již bylo řečeno, krystalová forma, která má za daných podmínek vyšší obsah volné energie, je termodynamicky méně stálá a má snahu přecházet na formu s nižší energií. Proces krystalizace, který „jde proti termodynamice“, tj. poskytuje metastabilní polymorfy, se jen obtížně definuje, je méně robustní a jeho výsledek závisí na pečlivém dodržení kritických parametrů.

Krystalizace neposkytuje jen určité polymorfy, ale je i jedním z neúčinnějších způsobů čištění látek.

Krystalické produkty mívají vyšší čistotu než látky amorfní, na jejichž nepravidelném povrchu se snáze zachytí cizí molekuly (např. zbytky rozpouštědel). Amorfní formy proto mohou být i chemicky méně stálé.

K vytvoření termodynamicky stabilní polymorfni formy musí mít molekuly dostatek času.

Při rychlém ochlazení nasyceného roztoku nebo taveniny nebo rychlém srážení může vznikat kromě krystalků i amorfni forma. Určitý podíl amorfni formy může dokonce vznikat i při velmi jemném mletí (mikronizaci) krystalických produktů. Obvykle se však amorfni produkty připravují buď rychlým odpařením rozpouštědla, k němuž dojde při nástřiku jemných kapiček roztoku do přehřátého prostoru v rozprašovacích sušárnách nebo zmražením vodných roztoků látek a odstraněním ledu mrazovou sublimací (lyofilizací). Existují však i lyofilizační techniky, které umožňují vznik produktů s krystalickým charakterem. Lyofilizace je hlavní způsob výroby tzv. suchých injekcí, které se převádí na roztok, „rekonstituují“, těsně před aplikací.

Aby bylo možné polymorfii řádně studovat, musí současně s vyhledáváním polymorfů probíhat **vývoj metod zjišťování polymorfni forem látek a metod hodnocení polymorfni čistoty produktů**. V případech, kdy rozdíly v polymorfni nebo pseudopolymorfni formě mohou ovlivnit biologickou dostupnost a stabilitu léčivého přípravku, **předepisují kontrolu polymorfni čistoty i lékopisy**.

Polymorfni nebo pseudopolymorfni formy látky lze rozpoznávat pod optickým nebo elektronovým mikroskopem podle tvaru krystalků (jehlice, lístky, tyčinky, destičky apod.), v poli polarizačního mikroskopu vykazují krystalky látky charakteristický dvojlom. I když výpočetní technika umožňuje dokonalou analýzu obrazu, mají mikroskopická pozorování spíše jen kvalitativní charakter, kvantifikace výsledků je stále obtížná. Důležité výsledky poskytuje i měření bodů tání látky nebo její rozpustnosti. Tyto techniky jsou vhodné pro léčivé látky, ale nejsou použitelné u léčivých přípravků obsahujících různorodé směsi, často vzájemně slisované do tablet, nebo jinak upravené. V tomto případě je však důležité zjišťování jejich rychlosti uvolňování a rozpouštění léčivé látky, tzv. disoluce.

Jednoznačnou charakteristikou polymorfni forem jsou **rentgenová difrakční spektra**, která lze využívat jak ke kvalitativnímu, tak i kvantitativnímu posuzování krystalové struktury látek.

Na různých krystalových mřížkách dochází k různému ohybu rentgenových paprsků, takže jednotlivé polymorfni formy mají rentgenové difrakční obrazce se zřetelně odlišenou strukturou. Připravovat monokrystaly různých polymorfů pro rentgenostrukturní měření by bylo obtížné. Pro studium polymorfie se proto využívají „práškové diagramy“. Ty vznikají při ohybu rentgenova záření na velkém souboru malých krystalků různě orientovaných vůči směru paprsků záření. Na práškových diagramech krystalických látek lze pozorovat oddělené pásy, jejichž vzdálenosti (odpovídající úhlu ohybu paprsků v daném systému) jsou pro každý polymorf charakteristické. Amorfni látky poskytují diagramy, jejichž pásy mají neostrý difúzní charakter. Rentgenografické techniky a vyhodnocovací software byly v posledních letech propracovány natolik, že díky moderní přístrojové technice může být využití práškových diagramů ve farmaceutické analytice stejně běžné, jako např. HPLC.

Kromě rentgenografických metod mohou být k charakterizaci polymorfů a studiu jejich vzájemných přeměn použity i některé jiné fyzikálně chemické metody.

Polymorfni a pseudopolymorfni formy látek mají kromě odlišných difraktogramů i rozdílná <sup>13</sup>C NMR, infračervená nebo Ramanova spektra v pevné fázi. Ke studiu vzniku i případných přeměn jednotlivých polymorfů při krystalizaci nebo při zpra-

cování substancí do léčivých přípravků a jejich skladování slouží zjišťování objemových a entalpických změn provázejících fázové přechody při změnách teploty pomocí termogravimetrie, diferenciální skenovací kalorimetrie nebo densitometrie. Tyto metody poskytují průměrné výsledky pro celý systém. Pokud v systému mohou současně probíhat různé změny, je třeba kombinovat různé metody studia. Např. jestliže při krystalizaci vznikají současně různé typy krystalů, je nutné sledovat průběh krystalizace také pomocí mikroskopu, popř. pomocí jiných fyzikálních metod.

**Hydráty** se připravují buď krystalizací z vodných roztoků nebo roztoků obsahujících definované množství vody jako kosolventu, popř. i působením **vlhkosti**. Analogicky se připravují i jiné **solváty**.

Vliv vlhkosti se studuje pomocí mikrovah v temperované komůrce s definovanou vlhkostí prostředí. Přitom se zjišťuje, zda látka vodu absorbuje nebo naopak uvolňuje. Pokud je voda absorbována, je třeba zjistit, zda dochází ke stechiometrické nebo nestechiometrické hydrataci. Vzniká-li hydrát, je třeba vědět, zda vzniká přímo nebo přes meziproducty s nižším obsahem vody. Pokud může látka vytvářet hydrátů (nebo obecně solvátů) několik, může být systém velmi složitý a jeho studium značně náročné, protože k přeměnám některých solvátů může docházet i během krystalizace. Přeměny hydrátů při sušení nebo jiném tepelném zpracování se studují pomocí termogravimetrie.

Pro návrh optimálních metod krystalizace nebo jiných způsobů výroby žádané polymorfni nebo pseudopolymorfni formy substancí a jejich chování při výrobě nebo skladování léčivých přípravků je důležitá znalost **termodynamiky polymorfního systému**. Stejně tak je důležitá i znalost rychlosti přeměn probíhajících v polymorfním systému – tj. **kinetiky polymorfních přeměn**.

Z technologického hlediska jsou důležité zejména přeměny probíhající při operacích prováděných vzrůstem teploty, např. mletí, sušení, apod., ale také při skladování. Dobu a podmínky konverze metastabilního polymorfu na stálější je přitom třeba zjišťovat experimentálně. I když se znalosti důležitých termodynamických údajů rozšiřují, předpovědi změn krystalové formy nejsou zatím zcela spolehlivé.

## Vývoj procesů výroby léčivých látek

Poté, co byla vybrána, laboratorně připravena a otestována nová léčivá látka s dobrými farmakologickými vlastnostmi nebo bylo na základě marketingového rozboru zvoleno léčivo, jehož generický ekvivalent má být vyvíjen, stává se dalším úkolem chemiků vypracování optimálního postupu výroby látky v požadovaných objemech a kvalitě.

Vývoj procesu výroby je úkolem technologů. Je zahajován optimalizací postupu laboratorní syntézy, pak se vypracovaný laboratorní postup převádí do výrobního měřítka (scaling up). Přitom by bylo chybou se domnívat, že jde o pouhé zvětšení velikostí šarží. Výsledkem často bývá proces, který se výrazně odlišuje od původního laboratorního postupu. Při prvních syntézách v laboratoři jde hlavně o rychlou přípravu látky pro různé preklinické zkoušky, takže použití exotických a drahých surovin a reagentů není na závadu. Pro výrobu je však třeba nalézt levnější a snáze dostupné alternativy. Použití rozpouštědel s bodem varu vyšším než je teplota páry z běžných rozvodů (např. dimethylformamidu) není v laboratoři problémem, výrobní technologii však může značně komplikovat, vyžádat si nákladné úpravy inženýrských sítí a nákup dražšího vybavení. Totéž platí pro postupy vyžadující práci za teplot nižších než je teplota solanky. Vážnou komplikací je i práce s vysoce hořlavými látkami, regulace silně exotermních reakcí apod. Různá úskalí postupu přípravy je třeba eliminovat již při optimalizaci laboratorního postupu. Současně je třeba již při optimalizaci laboratorního postupu studovat vliv různých faktorů na hlavní cílové parametry připravovaného produktu, tj. výtěžek a kvalitu.

Vývojový pracovník proto musí dobře znát možnosti výrobního zařízení a postup výroby jim pokud možná přizpůsobit. Vedle technologických problémů obvykle musí při vypracování výrobní technologie řešit i otázky ekonomiky výroby, kontroly a regulace výrobních procesů, bezpečnosti práce a ochrany životního prostředí.

Převádění laboratorních postupů do výroby může být rozděleno do několika fází. Rozdělení přitom závisí na velikosti předpokládaného finálního objemu výroby. První fází je již zmíněná optimalizace laboratorního postupu. Pak se vypracovaný postup převede do „poloprovozního“ měřítka (někdy dokonce předtím ještě do měřítka „čtvrťprovozního“) a podle získaných zkušeností se pak doladuje tak, aby při výrobě v konečném měřítku nedocházelo k nepředvídaným problémům. Finální výrobní postup by měl být robustní, aby jej pokud možná nebylo třeba měnit. Jakékoliv změny postupů výroby léčiva jsou vážným problémem, protože musí být předem schváleny institucemi, jako je u nás Státní ústav pro kontrolu léčiv, které léčiva registrují a povolují jejich uvedení na trh. V případě exportovaných léčivých látek nebo přípravků je přitom třeba o povolení změn výrobního postupu žádat příslušné instituce ve více zemích (viz Farm07).

Výsledkem vývoje postupu výroby léčiva musí být technologický proces, který je **účelný, účinný, levný, uskutečnitelný v reálných podmínkách a dobře reprodukovatelný**.

Syntéza léčiva je obvykle vícestupňová. Postup vedoucí ke konečnému produktu může být **lineární**, kdy se postupuje krok za krokem od výchozí látky přes jednotlivé meziprodukty ke konečnému produktu ( $V \rightarrow M_1 \rightarrow M_2 \rightarrow \dots \rightarrow P$ ) nebo **konvergentní**, kdy se dva nebo více meziproduktů syntetizují odděleně a pak se jejich reakcí připraví cílový produkt nebo jeho poslední předstupu. Přitom je třeba vždy usilovat o to, aby v každém stupni byly dosaženy co nejvyšší výtěžky, produkty byly snadno izolovatelné a snadno se vyčistily od výchozích látek nebo vedlejších produktů. V případě syntéz chirálních látek je třeba usilovat o dosažení co nejvyšší stereospecificity reakce a zamezení případné racemizace, u finálních produktů je cílem i reprodukovaná příprava látky s požadovanou krystalovou strukturou.

### **Náročnost vývoje procesu výroby léčiva se v současné době podstatně zvýšila.**

- Molekuly léčiv jsou stále složitější – mají vyšší molekulovou hmotnost, komplikovanější strukturu, vyšší obsah heteroatomů a chirálních center
- Současná farmaceutická legislativa klade vysoké nároky na řádně zdokumentovaný průkaz kvality, bezpečnosti a účinnosti léčiva vyrobeného standardním a validovaným postupem.
- Požadavky na kvalitu léčiv a postupy jejího stanovení jsou stále náročnější – dnes se většinou vyžaduje, aby léčiva měly čistotu vyšší než 99% a obsah jednotlivých nečistot se pohyboval pod 0,1%.
- Zvyšuje se počet sledovaných parametrů produktu (optická čistota, polymorfie atd.) i procesu
- Analytické hodnocení a snižování obsahu nečistot se stává nedílnou součástí vývoje procesu

S ohledem na požadavky na farmaceutickou dokumentaci přináší velké změny již vyvinutého procesu výroby léčiva značné komplikace a jejich prosazení je náročné časově i finančně. Změny výrobního postupu je předem třeba oznamovat domácím i zahraničním lékovým úřadům resp. externím odběratelům a nechat si je od nich schvalovat. Bez schválení nesmí být změna provedena.

Přes zvyšující se nároky je pro vývoj nových postupů a procesů k dispozici stále méně času – v 80. letech mohl trvat vývoj výrobních procesů až 8-10 let, nyní je požadováno zkrácení na 4-6 let. Pro klinické zkoušky je zapotřebí připravit léčiva již v poměrně velkých množstvích a v podstatě řádně vyvinutým procesem. Jakmile je produkt zaregistrován na základě klinických zkoušek s přípravkem získaným určitým procesem, změny ovlivňující specifikaci produktu (např. změna druhu vznikajících nečistot) vyžadují provedení dalších finančně i časově náročných zkoušek. Bez nich nelze prokázat, že se nesnížila jakost, účinnost a bezpečnost produktu. Na výsledcích vývoje výrobních procesů závisí nákladovost výroby a včasnost uvedení léčiva na trh a tím i jeho obchodní úspěch. Odpovědný přístup k vývoji procesů zahrnuje pečlivé plánování a integraci různých aktivit, využívání výpočetní techniky při návrhu a hodnocení experimentů, automatizaci, řízení a monitoringu proměnných parametrů procesu, trvalé rozvíjení znalostí a dovedností a využívání všech možností výhodné spolupráce s externími pracovišti („outsourcing“).

**Má-li být vypracován efektivní a dobře reprodukovatelný výrobní proces, je třeba znát, jak různé proměnné faktory ovlivňují výtěžky, čistotu a stabilitu produktu, jakož i jeho farmaceuticky významné fyzikální vlastnosti (polymorfie, velikost částic) a v neposlední řadě i jeho cenu.**

Vývoj postupu výroby nového léčiva mívá několik etap. Nejprve je třeba připravit kilogramové množství látky pro vývoj analytických postupů, vývoj způsobu podání léčiva (perorálně, parenterálně) a preformulační zkoušky, testování akutní toxicity a předběžné zkoušky stability. V této etapě jde spíše o rychlost, než o optimální postup, takže se často pouze zvětší měřítko laboratorního postupu. V druhé etapě je třeba látku připravit v množství desítek kg pro pokračování toxikologických studií a vývoj lékové formy, někdy i pro fázi I klinického zkoušení. K této výrobě už obvykle nepostačí laboratorní výroba, ale čtvrt- nebo poloproduční zařízení. V další etapě se na poloprodučním zařízení vyvíjí konečný výrobní proces, současně se připravuje látka ve větším množství (až stovky kg) pro klinické zkoušení. Po registraci zahajuje pravidelná výroba, někdy až v tunových množstvích. Vyvinutý proces výroby by se přitom už neměl zásadně měnit. Postup používaný v 1. etapě vývoje se ještě může odlišovat od konečného postupu. I přitom je však třeba dbát na kvalitu produktu udávanou obsahem účinné látky, druhem nečistot a jejich zastoupením. Podle výsledků se totiž obvykle navrhuje specifikace produktu, tj. určí se, co se bude u produktu zkoušet a jak, jaké budou předepsané limity, identifikují se nečistoty a určí standardy látek, které budou zapotřebí pro analytickou kontrolu. Specifikace produktu je uváděna v žádosti o povolení klinických zkoušek. Specifikované limity musí pak splňovat všechny budoucí šarže léčiva. Kdyby bylo třeba limity změkčit, bylo by třeba dalšími zkouškami prokázat, že produkt podle nové specifikace je bioekvivalentní s původními produkty. Určit hned zpočátku příliš měkké limity není ovšem možné, protože specifikace musí splňovat určité obecné – a dosti vysoké – požadavky na jakost léčiv (např. obsah jednotlivé neznámé nečistoty nemá překročit 0,1%).

Prioritou vývoje procesu je **poslední stupeň syntézy** a zejména pak postupy **čištění konečného produktu**, které rozhodují o kvalitě vyrobené léčivé látky.

Standardními postupy purifikace je krystalizace, precipitace a extrakce. Destilace se používá jen výjimečně, protože léčiva jsou většinou pevné látky, které se při vyšších teplotách rozkládají. Velmi účinnou purifikační technikou je preparativní kapalinová chromatografie, její provedení je však pracné a finančně náročné. V závěrečných fázích vývoje výrobního procesu třeba sledovat nejen obsah účinné látky a nečistot, ale i parametry, které organičtí chemici někdy opomíjejí. Je to např. obsah anorganických příměsí, jako je obsah těžkých kovů (předepisován v tisícinách procenta) nebo některých aniontů, které mohou být při HPLC, fotometrii apod. „neviditelné“, ale mohou snadno překročit předepsané limity. Pozornost je třeba věnovat i krystalové formě (polymorfii) a velikosti částic, na nichž může záviset rozpustnost a časový průběh rozpouštění (disoluční křivka), biologická dostupnost a stabilita léčiva.

První stupně procesu výroby léčiva se někdy optimalizují, až když už byl vyvinut optimalizovaný postup provedení finálního stupně. K jednotlivým krokům syntézy se však přitom musí přistupovat jako k integrální součásti celého procesu výroby s cílem dosáhnout co nejlepšího **celkového** výsledku.

Jde např. o to, aby suroviny neobsahovaly nečistoty, které by mohly přecházet do finálního produktu. Také je třeba zvážit, který meziprodukt je třeba izolovat a čistit a kdy to není třeba. Snížení počtu prováděných operací a manipulací s materiálem snižuje riziko záměn a kontaminací, někdy je dokonce možné několik stupňů syntézy provádět bez izolace meziproduktů v jednom zařízení („jednom hrncí“ – one-pot synthesis/Eintopfverfahren), aniž by byla snížena kvalita konečného produktu. Nemalou pozornost je třeba věnovat organizaci práce a toku materiálu. Toky materiálu ve výrobě se nesmí křížit, aby byla eliminována možnost chybného použití surovin a činidel. Dále je třeba se zaměřit na odstranění „úzkých hrdel“, které nepříznivě ovlivňují efektivnost procesu, tj. objem výroby za časovou jednotku a tím i cenu. Spolu s procesem výroby jako takovým se vypracovávají i postupy čištění aparatur (včetně analytických postupů pro kontrolu čistoty výrobního zařízení), postupy mezioperační kontroly a také specifikují kvalitativní parametry surovin, činidel a meziproduktů. V neposlední řadě se řeší i otázky recyklace odpadů, omezení množství odpadů určených na likvidaci a emisí těkavých látek.

Chemik zabývající se optimalizací postupů pro výrobu léčivé, ale i jiné látky se musí v první řadě důkladně seznámit s problémem, který má přidělen a definovat si **cíle** své práce. Obvykle se přitom zaměřuje na dosažení co nejvyššího **výtěžku** a **kvality** produktu při co nejnižších **nákladech** na jeho výrobu. Vedle toho ovšem musí brát v úvahu i **bezpečnost práce** a **ochranu životního prostředí**. Opomíjet přitom nesmí ani problematiku **ochrany duševního vlastnictví**

Je např. zbytečné se zabývat optimalizací postupu, při němž se použijí suroviny, činidla a pomocné látky, jejichž souhrnná cena je jen o málo nižší nebo dokonce převyšuje cenu konkurenčního výrobku srovnatelné kvality. Stejně tak nemá cenu optimalizovat postup přinášející závažná bezpečnostní rizika, která za daných podmínek nelze eliminovat. Takovým rizikem může být např. práce s alkalickými kovy, pokud je k dispozici jen zařízení, kde není vyloučen styk kovu s vodou, nebo práce s vysoce hořlavými rozpouštědly, jestliže dostupné zařízení není chráněné proti jiskření. Z environmentálního hlediska jsou nevhodné procesy, při nichž dochází k velkému znečištění odpadních vod nebo nežádoucím emisím těkavých látek, zejména chlorovaných rozpouštědel, a ke vzniku toxických odpadů. Výroba, při níž se používají nebezpečné látky nebo vznikají odpady se značným negativním vlivem na životní prostředí, nemusí být veřejnoprávními orgány povolena. Využití některých publikovaných postupů může být komplikováno jejich patentovou ochranou, jindy naopak může být cílem vypracování takového postupu, který by naopak umožnil získání konkurenční výhody patentovou ochranou vlastních výsledků.

Po stanovení cílů optimalizace je dalším krokem identifikace **faktorů**, které mohou ovlivnit cílové parametry procesu i produktu. Faktorů, které mohou mít přímý vliv na výsledek procesu, je celá řada.

Patří mezi ně zejména teplota a tlak, reakční doba, druh rozpouštědla, koncentrace reaktant, pořadí a rychlost přidávání reaktant, rychlost ohřevu nebo chlazení, rychlost míchání, typ a množství katalyzátoru, pH, způsob purifikace apod.

Určení optimální hodnoty **všech** faktorů je obtížné a nákladné. Vývoj procesu, při němž by byly optimalizovány všechny možné faktory by mohl stát více, než by činily přínosy optimalizace. Je proto třeba nejprve zjistit, které faktory mají na výsledek největší vliv a na ty se pak soustředit.

V ekonomice je znám Paretův princip, podle něhož jedna pětina výrobků přináší čtyři pětiny zisku. Tento princip lze aplikovat i na úvahy o významu jednotlivých faktorů: v prvním přiblížení lze tvrdit, že výsledky technologických procesů jsou ze 4/5 ovlivňovány 1/5 variabilních faktorů.

Procesní faktory lze rozdělit na **kvalitativní** (typ rozpouštědla, katalyzátoru, extrakčního činidla atd.), **kvantitativní**, které se mohou v určitém rozmezí libovolně měnit (např. teplota, pH, doba reakce apod.), **faktory „kategorické“ povahy**, které za daných podmínek lze buď aplikovat nebo vyloučit (např. míchání – ano/ne, světlo nebo tma apod.) a na faktory, které na dosažení cílových parametrů **mají nulový nebo jen nepatrný vliv** a které se pak při optimalizačních experimentech zanedbávají.



Kategorický faktor se při určitém uspořádání systému může změnit na kvantitativní, jehož hodnota může být optimalizována. Zatímco např. v jednom typu zařízení lze reakční směs buď jen míchat nebo nemíchat, v jiném zařízení lze plynule měnit otáčky míchadla. Takové zařízení je ale dražší, takže je třeba pečlivě zvážit, zda je jeho pořízení účelné, tj. zda je zvýšení ceny zařízení vyváжено jeho přínosem pro daný proces.

**Z kvalitativních faktorů** stojí v popředí výběr **prostředí**, tj. volba rozpouštědel, v nichž se reakce provádí

Volba rozpouštědla ovlivňuje výtěžky i kvalitu produktu, průběh reakce, nákladovost výroby i environmentální dopady procesu. Při výběru rozpouštědla je třeba brát v úvahu kompatibilitu s příslušnou reakcí. Friedel-Craftsovy reakce nebo práce s Grignardovými činidly lze provádět jen v určitých typech rozpouštědel. Polární rozpouštědla s vysokou dielektrickou konstantou dobře solvují ionty. Dochází-li k nukleofilní substituci, pak na polaritě rozpouštědel závisí, zda substituční reakce proběhne  $S_N1$  nebo  $S_N2$  mechanismem. V polárních rozpouštědlech je preferována  $S_N1$  reakce, v nepolárních  $S_N2$ . Při  $S_N2$  reakcích chirálních látek dochází k Waldenově zvratu, kdy z výchozí chirální látky vzniká chirální produkt s opačnou konfigurací, substituce probíhající  $S_N1$  mechanismem je většinou provázena racemizací. Rozpouštědlo může ovlivňovat selektivitu reakce i jinak. Např. při redukcí tosylátu  $\omega$ -bromundecylaloholu  $LiAlH_4$  v etheru dochází k odredukování tosyloxyskupiny, v diethylenyglykoldimethyletheru se naopak odredukuje brom. Důležitý je i bod varu rozpouštědla. Varem pod zpětným chladičem se nejspolehlivěji reguluje teplota reakční směsi. Rozdíly v bodu varu rozpouštědla a kapalného produktu ovlivňují i způsob izolace a čistotu. Dále záleží na rozpustnosti výchozích látek, hlavních i vedlejších produktů reakce v použitém rozpouštědle. Výchozí látka nemusí být úplně rozpuštěná, stačí, když se rozpouští částečně, protože při vzniku produktu je rozpuštěná látka z reakční směsi odebírána a tím je porušována rovnováha mezi rozpuštěnou a pevnou surovinou. Vylučování nerozpustného produktu z roztoku reakčních komponent může rovněž posouvat reakční rovnováhu žádoucím směrem ve prospěch produktu, jindy však může proces komplikovat, např. jestliže vylučovaný produkt obaluje částice heterogenního katalyzátoru a tím katalyzátor deaktivuje nebo když se na vylučované sraženině produktu zachycují nečistoty. V úvahu je třeba brát i bezpečnostní aspekty, např. kancerogenitu a toxicitu rozpouštědel (benzen), body vzplanutí (diethylether), snadnost odstranění zbytků rozpouštědla z produktu s ohledem na povolené limity obsahu zbytkových rozpouštědel v léčivech a v neposlední řadě i ochranu životního prostředí (je třeba respektovat přísné předpisy týkající se zejména exhalací chlorovaných rozpouštědel).

**U faktorů kvantitativní povahy** („procesních proměnných“) je třeba zvážit, jaké může být rozmezí jejich hodnot a jaké jsou možnosti dosažení tohoto rozmezí z hlediska vybavení, nákladů apod.

S růstem **teploty** roste rychlost chemických reakcí. To však platí i o nežádoucích vedlejších nebo rozkladných reakcích a racemizaci, které zhoršují kvalitu produktu. Podobný vliv může mít **koncentrace reaktant**: Se vzrůstem koncentrace se zvyšuje reakční rychlost nejen hlavních, ale i vedlejších reakcí. U exotermních reakcí nemusí být při vysokých koncentracích zajištěn dostatečný odvod tepla, jinak by reakce mohla mít i nekontrolovaný průběh. **Rychlostí přidávání reaktant** lze průběh exotermních reakcí zmírnit a tím zajistit vyšší čistotu produktu. Výsledek reakce může být ovlivněn **pořadím přidávání reakčních komponent**. Na **poměru množství reaktant** závisí poloha reakční rovnováhy. Přebytek jedné komponenty (obvykle levnější) zajistí lepší výtěžek produktu a/nebo může významně přispět ke zvýšení jeho jakosti. Posun reakční rovnováhy lze zajistit i odstraňováním žádaného nebo vedlejšího produktu reakce z reakční směsi – precipitací, oddestilováním nebo absorpcí (např. odstraňováním vznikající vody azeotropním oddestilováním nebo přidávkou sušidel) apod. **Tlak** pozitivně ovlivňuje rychlost takových reakcí, u nichž v přechodovém stavu klesá objem. Vedle reakcí s plynnými reaktanty (hydrogenace, oxidace) jde např. o esterifikace a zmydelnění esterů, kvartemizace aminů, nukleofilní substituce, Diels-Alderovu reakci, Claisenův přesmyk apod.; významnější efekt se však v těchto případech většinou projeví až při řádových změnách tlaku. **Reakční doba** ovlivňuje efektivnost a cenu procesu. Z technologického hlediska je žádoucí, aby reakční doba činila nejvýše 20 hodin, jinak neúměrně roste výrobní režie, jedna z důležitých položek kalkulace výrobních nákladů. Při optimalizaci procesu se proto obvykle zjišťuje minimální doba reakce potřebná k dosažení co nejvyššího výtěžku a/nebo kvality produktu. To platí zejména pro rovnovážné reakce, protože prodlužovat reakční dobu po dosažení reakční rovnováhy nemá smysl. Vedle výtěžku je však třeba při prodlužování reakční doby brát v úvahu i možnost vzniku nečistot. Někdy je zapotřebí zastavit reakci i za cenu nižšího výtěžku ještě předtím, než dojde k výraznějšímu rozkladu produktu.

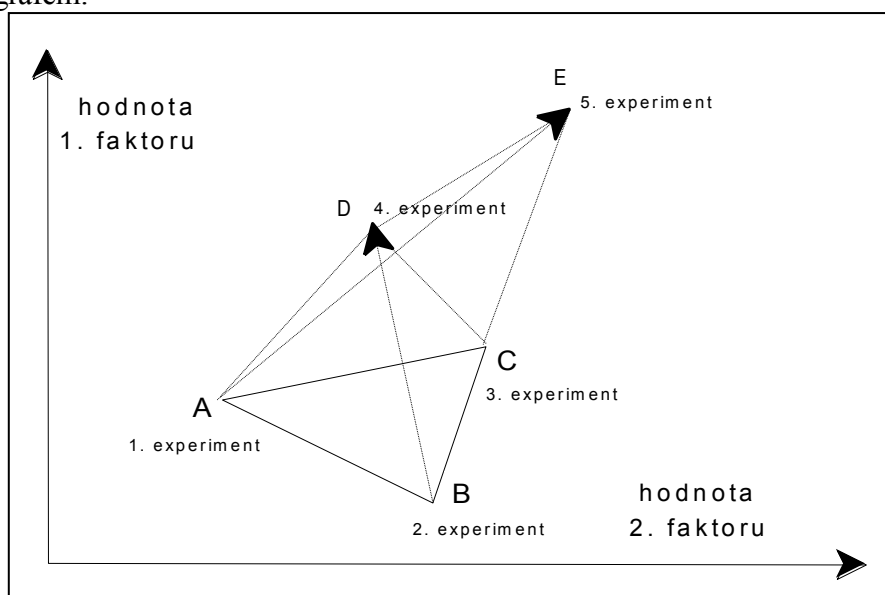
**Vliv různých faktorů na výsledek reakce se zjišťuje při faktorových experimentech**

Při **standardním faktorovém experimentu** se pro každý z faktorů, o nichž se předpokládá, že ovlivní výsledek, zvolí dvě hodnoty, dolní a horní. Pak se experimentálně ověří, jaký vliv na výsledek tyto faktory mají. Je-li vybraných faktorů 5 a méně, může se provést **úplný faktorový experiment**, který zahrnuje  $2^n$  dílčích pokusů, při nichž se pro každý z faktorů použije zvolená horní a dolní hodnota. Při výběru 4 faktorů (např. teplota, reakční doba, polarita rozpouštědla, míchání – ano/ne) je těchto dílčích experimentů 16, u 5 faktorů 32. Se vzrůstem počtu vybraných faktorů počet dílčích experimentů však již neúměrně narůstá ( $2^6 = 64$ ,  $2^7 = 128$ ). Kromě toho je sice faktorový experiment se 2 hodnotami proměnných vhodný pro screening vlivu faktorů na výsledek, neposkytuje však vždy relevantní výsledky pro optimalizaci. Vhodnější může být např. studium vlivu teploty s použitím 3 hodnot proměnného faktoru (víceúrovňový faktorový experiment), pak však počet dílčích experimentů již činí  $3^2$ ,  $3^3$ ,  $3^4$  atd., ke sledování 5 faktorů na 4 úrovních by bylo zapotřebí 1024 dílčích experimentů. Aby se počet experimentů snížil, provádí se **částečný faktorový experiment** s menším počtem dílčích faktorů. Částečný faktorový experiment samozřejmě poskytne méně informací než úplný. K tomu, aby byla minimalizována ztráta informací se používají různé statisticky podložené chemometrické triky, optimalizační a vyhodnocovací počítačové programy. K základnímu sledování 2 úrovní 6 faktorů tak např. postačí 28 dílčích pokusů.

Faktory, které mají zásadní vliv na výsledek se pak dále optimalizují. Hledání optimálních hodnot vybraných faktorů lze provádět tak, že se **postupně sleduje vliv vždy jen jednoho faktoru na průběh dané reakce**. Tento postup, který se v anglicky psané literatuře označuje příznačným akronymem COST (zkratka výrazu Change One Separate factor at a Time, cost ale také znamená náklad, výdaj nebo cenu), je zdlouhavý, neefektivní a tedy i nákladný. Kromě toho ani nemusí přinášet správné výsledky.

Mezi jednotlivými faktory často existují vzájemné vztahy: Změna jednoho faktoru může působit proti změně faktoru druhého, jindy může naopak docházet k určité synergii. Z tohoto důvodu je při hledání optimálního postupu účelné sledovat vliv kombinace různých faktorů na výsledek.

Přitom se využívají různé optimalizační postupy, např. **sekvenční simplexová optimalizace** ilustrovaná následujícím grafem:



Při optimalizaci dvou faktorů se provádí 3 dílčí experimenty s třemi různými hodnotami faktorů, 4 experimenty pro 3 faktory atd. Zjistí se výsledky experimentů. Pak se provede další experiment, při němž se proměnné volí tak, aby při grafickém znázornění byla jejich hodnota zrcadlovým obrazem hodnot proměnných při nejhorším experimentu. To se pak opakuje několikrát, až se dosáhne nejlepší hodnoty procesní proměnné. Pokud by se hodnota proměnných měla „zrcadlením“ vrátit na hodnotu odpovídající horšímu výsledku, pak se vychází z 2. výsledku. Při **modifikované simplexové metodě** se postupuje podobně, ale v případě, že by „zrcadlení“ poskytlo horší výsledek, se průmět zkrátí.

V posledních letech usnadňují hledání nejlepších podmínek různých procesů počítače vybavené speciálním optimalizačním software.

Podrobnosti o metodách plánování a vyhodnocování experimentů lze nalézt v různých příručkách a učebnicích chemometrie, statistiky nebo chemického inženýrství, popř. na různých výukových internetových stránkách (např. v příručce inženýrské statistiky na stránkách amerického National Institute of Standards and Technology, Národního ústavu pro normy a techniku, <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/pmd/section1/pmd134.htm> nebo na [http://www.chem.sc.edu/faculty/morgan/pubs/WaltersParkerMorganDeming\\_SequentialSimplexOptimization.pdf](http://www.chem.sc.edu/faculty/morgan/pubs/WaltersParkerMorganDeming_SequentialSimplexOptimization.pdf)

## Validace výrobních postupů

**Validace** je poslední etapou vývoje procesu výroby léčivých látek i léčivých přípravků. FDA definuje validaci procesu výroby jako dokumentovaný důkaz toho, že proces bude trvale poskytovat produkt vyhovující předem určené specifikaci.

Validace je v podstatě kontrolou reprodukovatelnosti a robustnosti vypracovaného výrobního postupu. Postup je validovatelný, jestliže běžné provozní kolísání hodnot různých faktorů negativně neovlivňuje jakost výrobku. Pro kritické faktory se přitom stanoví rozmezí, které nesmí být překročeno, má-li být dosažen požadovaný výsledek (např.  $\pm 5^\circ\text{C}$  u teploty, časové rozmezí u doby přidávání reagentu apod.).

Validace se provádí podle **řídícího plánu validace** (Validation Master Plan) a **validačního protokolu**. Výsledky validace jsou shrnuty ve **validační zprávě**.

Řídicí plán validace je souhrnný dokument zpracováváný pro výrobu určitého léčiva. Vymezuje zodpovědnosti jednotlivých pracovníků, předmět a cíl validace, způsob provedení a dokumentace výsledků. Validační protokol definuje cíle a rozsah konkrétní validace, použité metodiky, typ a množství vzorků k hodnocení, hodnocené parametry a kritéria přijatelnosti pro každý z nich, způsob hodnocení a použité statistické metody pro vyhodnocení výsledků. Validační zpráva obsahuje přehled a vyhodnocení dat získaných během validace. Musí obsahovat informace, zda byla splněna kritéria přijatelnosti, jaké byly zjištěny odchylky a přinést návrh na jejich odstranění.

### Validační aktivity začínají „kvalifikací“ výrobního zařízení.

U nového výrobního zařízení se nejprve provádí **instalační kvalifikace** (Installation Qualification, IQ), kdy se posuzuje, zda zařízení odpovídá specifikaci a je správně namontováno. Následuje **operační kvalifikace** (Operational Qualification, OQ), kdy se prokazuje, že při provozu zařízení lze dodržet předepsané parametry procesu, např. že aparatura těsní, míchadla se otáčí specifikovanou rychlostí, měřicí zařízení je zkalibrováno, teplota je regulována v určeném rozmezí apod. Finálním krokem je **procesní kvalifikace** (Performance Qualification, PQ), kdy se při reálném nebo simulovaném procesu ověřuje, jak zařízení vyhovuje pro navržené použití.

Po kvalifikaci zařízení může začít **validace procesu**. Ta může být **prospektivní**, prováděná před zahájením výroby, **souběžná**, při níž současně probíhá výroba prvních šarží, popř. i **retrospektivní**, kdy se vychází z dokumentace o dosavadních vyrobených šaržích.

Velikost šarže má být při validaci pokud možná stejná jako u výrobních šarží. Vývoj procesu výroby léčiva by měl končit prospektivní validací. Ta může být u drahých léčiv poměrně nákladná, protože mají být vyrobeny alespoň tři validační šarže. Řešením pak je souběžná validace, kdy validační šarže většinou slouží k přípravě produktu pro stabilitní zkoušky, popř. i k výrobě léčivého přípravku. Retrospektivní validace je výhodná v případě, že se v daném termínu nevyrobí statisticky přijatelný počet šarží, je však spojena s rizikem přerušení výroby a ekonomických ztrát v případě, kdy se ukáže, že proces nebyl dostatečně zvládnut, není tedy validní a musí být přepracován.

Výrobní proces lze validovat jen když jsou stanovena kritéria přijatelnosti (specifikace) konečného výrobku i meziproductů a pro jejich kontrolu jsou k dispozici ověřené a rovněž **validované analytické postupy**. Na validaci výrobních procesů navazuje **validace postupů čištění** zařízení. Postup při provádění validací je vždy třeba přizpůsobit podmínkám konkrétního procesu. Výsledky nelze pouze sumarizovat, ale musí být správně statisticky vyhodnoceny.

Při validacích se nelze spokojit s hodnocením typu vyhovuje/nevyhovuje specifikaci, ale je třeba zjišťovat reálné hodnoty parametrů. Ty se mají pohybovat uvnitř stanoveného rozmezí, nikoliv na jeho hranici. Je-li např. stanoveno, že meziproduct může být použit v dalším stupni jen když obsahuje maximálně 0,5% určité příměsi, pak tento limit být nikdy překročen, průměrné výsledky by ale přitom měly být mnohem lepší. Na druhé straně by z výsledků mělo být zřejmé, že i meziproduct, který obsahuje limitní množství nečistoty, lze bez problémů v dalším stupni použít. Jinak je třeba robustnost procesu potvrdit speciálními „zátěžovými“ zkouškami (challenge tests). Podobně je třeba přistupovat k požadavkům na očistu zařízení. Kritériem přitom jsou povolené limitní hodnoty obsahu látky v oplachových vodách a stěrech z ploch zařízení. Zařízení používané univerzálně pro různé výroby musí být prokazatelně očistitelné od zbytků předchozího výrobku, v opačném případě se na něm smí vyrábět jen jediný produkt.

Prostory, zařízení, systémy, procesy, kontrolní metody i postupy čištění musí být v pravidelných intervalech opakovaně hodnoceny – **revalidovány**, aby se prokázalo, že během času nedošlo k odchylkám od validovaného stavu. Revalidace se musí provádět i při změnách zařízení nebo procesů

## Specifikace a analytické hodnocení kvality léčiv, nečistoty v léčivech

**Specifikace** léčivé látky i léčivého přípravku je souhrnem požadavků na kvalitu léčiva. Jsou v ní definovány vlastnosti a čistota léčiva. Specifikace je nedílnou součástí registrační dokumentace. Produkt z každé výrobní šarže léčivé látky nebo léčivého prostředku musí mít specifikované parametry, a to nejen po vyrobení, ale **po celou dobu upotřebitelnosti** (expiration) léčiva.

Specifikací jsou předem určeny limity pro různé fyzikální, chemické, ale i mikrobiologické parametry výrobku. U léčivých látek to může být chemická a optická čistota, charakter a obsah nečistot, pH roztoku, velikost částic a polymorfie, obsah vody, zbytků rozpouštědel, přítomnost mikroorganismů a endotoxinů (pyrogenních látek). Aby bylo zaručeno, že kvalita léčiva bude vyhovovat po celou dobu upotřebitelnosti, mohou být specifikovány dvojí limity: první přísnější „propouštěcí“ limity, které musí splňovat čerstvě připravený výrobek, druhé mírnější limity pro kvalitu „na konci expirace“.

Jakostní specifikace a postupy zkoušení pro zavedená léčiva jsou předmětem lékopisných článků, u nových léčiv se určují na základě obecných lékopisných kritérií. Požadavky lékopisu je třeba považovat za minimální, specifikace výrobce může být přísnější než určuje lékopis. **Nesplňují-li léčivé látky nebo přípravky požadavky lékopisu na kvalitu, nemohou být používány jako léčiva.**

Lékopisná kritéria nebo metody zkoušení se někdy v různých zemích liší, což přináší problémy při exportu. Pro země EU jednotně platí Evropský lékopis, Český lékopis je v podstatě jeho překladem. Postupné sjednocování kvalitativních parametrů i postupů zkoušení předepsaných ve třech hlavních lékopisech (evropském, americkém a japonském) je obsahem pravidelných jednání Mezinárodní konference o harmonizaci (ICH, International Conference on Harmonisation). Dohodnuté harmonizované postupy jsou nejprve předkládány k diskusi v členských zemích ICH a po ní zahrnuty do příštích novel lékopisů.

Při zkouškách na čistotu a při stanovení obsahu účinné látky nemusí výrobce postupovat jen podle lékopisu, ale používat postupy vlastní („in-house“), musí mu to však povolit registrační instituce. Ta vydá povolení na základě výsledků **validace**, tj. dokumentované shody výsledků získaných vlastním postupem s výsledky zkoušek prováděné metodou popsanou v lékopisu. V případech sporů jsou však rozhodující pouze oficiální lékopisné metody. Validace analytických postupů se musí provádět i v případech nových léčiv, jejichž zkoušení zatím není v lékopisech předepsáno.

Lékopis předepisuje specifické postupy pro jednotlivá léčiva i postupy obecné, stejné pro všechny přípravky určitého druhu. Definuje také pojmy, které by si různí pracovníci mohli vykládat odlišně (např. termín „dobře rozpustný“ podle lékopisu znamená, že 1 g látky se rozpouští v 10-30 ml rozpouštědla). Určen je i způsob zaokrouhlování číselných hodnot apod. Lékopisy se v pravidelných intervalech revidují, aktualizují a doplňují.

Nejrozsáhlejší část lékopisu tvoří tzv. **monografie**, lékopisné články s kvalitativními požadavky na konkrétní léčivo nebo pomocnou látku léčivých přípravků. Články mají předepsaný obsah a členění.

V **záhlaví** je název léčiva. V Evropě to je „INN“ (International Non-proprietary Name), název schválený WHO, v USA jsou používány názvy USAN (US Adopted Name), které někdy mohou být odlišné (např. paracetamol – EU x acetaminophen – USA nebo epinefrin – EU x adrenalin - USA). Uváděny jsou i latinské a národní názvy látky a synonyma. Následují vzorce a molekulová hmotnost. V **definici** je uveden chemický název a rozmezí obsahu/účinnosti obvykle přepočtené na sušinu – např. 99,0-101,0%. Rozmezí je určeno podle způsobu a přesnosti stanovení, takže horní limit může přesáhnout 100%. V další části jsou popsány **vlastnosti** (např. bílá nebo nažloutlá krystalická látka mírně rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v ethanolu). Tato část má informativní charakter, uváděné údaje nejsou lékopisnými požadavky. **Zkoušky totožnosti** nemusí být jednoznačným určením chemické struktury, musí ale spolehlivě potvrzovat, že látka je tím, co je uvedeno na obalu. Předpokládá se, že u některých léčiv zahrnou zkoušky totožnosti i polymorfni formu. U **zkoušek na čistotu** jsou uvedeny povolené obsahy nečistot - příbuzných látek i anorganických příměsí („síranový popel“, těžké kovy, některé ionty) a způsoby zkoušení. V této části lékopisného článku jsou i další předepsané zkoušky a kvalitativní limity, např. obsah vody a zbytků rozpouštědel, pH roztoku nebo zkouška vzhledu spočívající v měření zákalu nebo zbarvení. U chirálních látek je předepsána otáčivost a způsob jejího měření, podle některých nových lékopisných monografií se otáčivost měří i u racemátů (jako potvrzení racemického charakteru). Zjišťuje se také, zda léčivo není znečištěno biologicky (mikrobiální kontaminace). **Obsah účinné látky** („assay“) se stanovuje nejčastěji HPLC, ale i titrací, spektrofotometricky apod., **zkouška účinnosti** se obvykle provádí biologickými testy. V **pokynech pro skladování** jsou uváděny podmínky skladování látky, jako je teplota nebo „chráněn před vlhkem“, jde však o doporučení, která nejsou zcela závazná. Články končívají **popisem chemické struktury nečistot** v léčivu běžně nacházených. Podle charakteru léčiva mohou být některé z těchto částí v lékopisném článku vynečány

**Obecné lékopisné články** uvádějí kvalitativní požadavky na **jednotlivé typy léčivých přípravků** a předepisují obecné limity a pokyny pro testování.

Např. u pevných lékových forem, jako jsou tablety nebo tobolky, předepisují lékopisy v obecných člancích požadavky na hmotnostní a obsahovou rovnoměrnost, disoluci a rozpadavost, u kapalných injekcí na sterilitu, obsah částic, testy na obsah pyrogeních (horečku působících) látek a/nebo bakteriálních endotoxinů (pyrogenní složky bakteriálních stěn).

Lékopisy dále předepisují i požadavky na materiál obalů a uvádějí pokyny pro přípravu činidel, standardů a pufrů používaných při zkouškách léčiv. Zahraniční lékopisy obsahují také seznamy standardů účinných látek i nečistot, které lze získat od organizace zpracovávající lékopis.

U obalových materiálů jsou předepsány kvalitativní parametry relevantní pro léčiva (např. obsah látek, které se mohou z obalu vyluhovat, propustnost pro vodu, vzduch apod.) a postupy zkoušení. Vzhledem k rychlému vývoji v oblasti obalových materiálů, mohou být registračními autoritami povoleny i jinak specifikované obaly, je-li dokumentovaně prokázána jejich nezávadnost.

Hlavním ukazatelem kvality léčivých látek i přípravků je spolu s obsahem účinné látky **obsah nečistot**. Nečistoty se mohou do výrobku dostat ze surovin, vznikat jako vedlejší produkty při syntéze nebo být produktem rozkladu. Specifikace je proto provázaná s výrobní technologií.

Změny postupu výroby si často vynutí změny specifikace, protože jinak vyráběný produkt může obsahovat jiné nečistoty než původní produkt. Při hodnocení jakosti se zjišťuje obsah takových nečistot a příměsí, které se do léčiva mohou prokazatelně dostat ze surovin, mohou vznikat jako vedlejší látky během syntézy nebo mohou být produkty rozkladu. Zbytková množství určitých rozpouštědel a některé jiné nečistoty se nestanovují, jestliže z technologické dokumentace vyplývá, že se takové látky při výrobě nepoužívají a že nemohou léčivo kontaminovat z jiných důvodů (vznik rozkladem apod.).

Specifikované limity pro potenciální příměsi a nečistoty jsou určeny s ohledem na jejich toxicitu.

Tak např. limit pro obsah zbytků ethanolu může být 2%, zatímco pro methanol pouze 0,05%. Kancerogenní rozpouštědla (např. benzen) nesmí být přítomna ani ve stopovém množství. Nečistoty mají být identifikovány, pokud nejsou smí být obsah jednotlivé neidentifikované nečistoty nejvýše 0,1%. Je-li vyšší, je třeba nečistotu identifikovat. U identifikovaných nečistot, jejichž toxicita je známá nebo předvídatelná, je přípustný i vyšší obsah kontaminující látky, pokud nemá vliv na bezpečnost léčiva. Vždy se musí stanovovat nečistoty, které by se sice při výrobě do léčiva neměly dostat, ale u nichž farmaceutická praxe požaduje, aby nebyly přítomny. Je to např. obsah těžkých kovů, pro něž je předepsána sumární hodnota (0,005 nebo i 0,001%).

**Stanovení a identifikace nečistot** je jedním z důležitých dílčích úkolů vývoje postupu výroby léčiva. Komplikované to může být zejména u nečistot, které jsou úzce příbuzné s léčivou látkou.

Přítomnost nečistot v léčivu se nejčastěji zjišťuje pomocí HPLC nebo podobných separačních technik. Ty současně umožňují zjistit přibližný obsah nečistot a ve spojení s hmotovou spektrometrií i získat první informace o jejich struktuře. Pro řádnou identifikaci to však většinou nestačí. Nečistotu je zapotřebí izolovat a vyčistit, nejlépe opět s použitím chromatografických technik a pak potvrdit její strukturu pomocí NMR, MS, IR apod. a případně i syntézou. Syntéza (nebo izolace) slouží i k přípravě **referenčního standardu nečistoty**, který se pak využívá k zpřesněnému stanovení obsahu určité nečistoty v léčivu. U známých léčiv lze referenční standardy hlavních známých nečistot („kvalifikované nečistoty“) objednat a zakoupit u různých specializovaných výrobců, popř. je lze objednat v Technickém sekretariátu Evropské lékopisné komise. Certifikované referenční standardy jsou však velmi drahé, cena se pohybuje mezi 100-500 € za 100 mg standardu. Při výrobě léčivých přípravků ze zakoupených substancí může být dojednáno dodání referenčních standardů i jako součást smlouvy o dodávkách léčivé látky od výrobce.

Po určení obsahu a identifikaci nečistot stojí chemik vyvíjející postup výroby účinné látky a stejně tak i farmaceutický technolog vyvíjející lékovou formu před stěžejním úkolem: zajistit, aby produkt obsahoval nečistot co nejméně. Stejně tak, jako je výhodnější nemocím předcházet, než je léčit, je i u výroby léčiv výhodnější řešit technologický postup tak, aby obsah nečistot byl co nejnižší. Na základě znalostí o struktuře nečistot a průběhu syntézy látky lze odhadnout, v které fázi výroby nečistoty vznikají a pak se zaměřit na úpravu procesních parametrů, které obsah nečistot ovlivňují. Důležitým parametrem ovlivňujícím jakost finálních výrobků je **kvalita výchozích i pomocných látek**.

Aby nebyl finální produkt kontaminován nečistotami obsaženými v použitých výchozích látkách, rozpouštědlech a reagentech resp. excipientech, je nezbytné specifikovat a ověřovat jakost všech látek, které se při výrobě používají. Zvýšenou pozornost je přitom třeba věnovat případům, kdy se mění dodavatel surovin nebo meziproductů, protože látky různé provenience mohou být připravovány odlišnými postupy a mohou proto obsahovat rozdílné nečistoty. Nečistoty ze surovin a pomocných látek mohou „přežít“ i několikastupňové postupy spojené s purifikací. Vedle toho mohou nečistoty výchozích látek a meziproductů samy podléhat různým chemickým přeměnám, takže konečný produkt může být kontaminován neočekávanou příměsí. Jako příklad uvádí literatura případ fluvastatinu. Fluvastatin, jedno z léčiv snižujících hladinu cholesterolu, obsahuje v molekule N-isopropylskupinu. Analýzou finálního produktu bylo zjištěno, že je kontaminován nečistotou s N-ethylskupinou, kterou se nedařilo odstranit běžnými způsoby čištění. Zjišťování příčin znečištění bylo poměrně obtížné. Nakonec se zjistilo, že N-isopropylanilin, který se používal již ve 2. stupni šestistupňové syntézy, obsahoval malé množství ethylanilinu, která pak v dalších stupních reagoval podobně jako isopropylanilin. Čistý finální produkt bylo možné získat jen při použití vyčištěné suroviny.

Dalším úkolem vývojového pracovníka je potlačit **vznik nečistot v průběhu výroby**. Nečistoty přitom mohou vznikat jako produkt vedlejších nebo neúplně probíhajících reakcí, ale i rozkladem. Za ten se přitom nepovažuje pouze hydrolyza, fotolyza a podobné reakce, ale třeba i racemizace.

Vznik nečistot lze ovlivnit změnou podmínek výroby, jako je teplota, pH, prostředí, přítomnost vody, přístup světla, ale třeba i rychlostí nebo pořadím přidávání reaktant, použitím nevhodného zařízení apod. Čistota produktu a/nebo obsah nečistot může představovat důležitý parametr při optimalizaci postupu výroby. Pokud se nepodaří vznik nečistot eliminovat a finální produkt požadované kvality se nezíská ani při následné purifikaci, je třeba postup výroby změnit.

**Řada nečistot může vznikat rozkladem účinné látky až po jejím vyrobení a vyčištění.**

K rozkladu léčivé látky často dochází při jejím finálním sušení nebo při zpracování do léčivého přípravku. V tomto případě lze někdy rozklad potlačit změnou podmínek výroby přípravku, např. nahrazením mokré granulace za suchou, popř. změnou složení, snížením teploty při sušení granulátu, změnou osvětlení při práci se světlocitlivými látkami apod. Na vzniku nečistot se dále může podílet rozklad během doby skladování léčivé látky a zejména pak léčivého přípravku. Rozklad léčiva je přitom ovlivňován podmínkami skladování – především teplotou a relativní vlhkostí. Vliv těchto faktorů se zjišťuje při předepsaných zkouškách stability.

## Vývojová a výrobní dokumentace

Zásady „správné výrobní praxe (SVP)“, „správné laboratorní praxe“ i dalších „správných praxí“ vymezují mimo jiné i požadavky na dokumentaci výsledků výzkumu, vývoje a výroby léčiv. Podobně věnují velkou pozornost dokumentaci všech kroků výzkumu, vývoje, výroby a kontroly i normy ČSN-ISO řady 9000 popisující systém řízení jakosti.

Systém dokumentace zahrnuje jednak obecné a společné instrukce, jako jsou specifikace surovin, meziproductů a produktů, výrobní předpisy, standardní operační postupy pro práci se specifickým zařízením nebo pro provádění určitých činností apod., jednak specifické dokumenty pro každou šarži, experiment nebo zařízení, jako jsou záznamy o výrobě šarže, laboratorní deníky, deníky o provozu zařízení a analytické atesty. Součástí výrobní dokumentace jsou dále doklady o validaci výrobních a kontrolních postupů, tj. ověření jejich správnosti a reprodukovatelnosti. Vývojovou dokumentací zpráva o vývoji výrobku, zpráva o převedení technologie, souhrnným dokumentem je tzv. Drug Master File, základní údaje o léčivé látce.

Dokumenty musí mít předepsanou strukturu a být „v řízeném stavu“, tj. musí být předepsaným způsobem kontrolovány, posuzovány, schvalovány, revidovány, distribuovány a archivovány, popř. vyřazovány.

Nově jsou stanoveny zásady pro elektronické zpracování dokumentů a dat, včetně jejich elektronického podepisování a zabezpečení počítačových systémů proti ztrátě nebo neoprávněnému pozměňování elektronických dokumentů.

Základním prvkem specifické vývojové dokumentace je záznam v **laboratorním deníku**.

Laboratorní deník je významným dokumentem nejen z hlediska SVP, ale i z hlediska právního, protože se může stát důležitým důkazem v případných patentoprávních sporech. Musí mít očíslované stránky a být pevně svázaný. Záznamy musí být jasné, dobře čitelné, nepřepisované (opravy je třeba provádět přeškrtnutím původního údaje tak, aby bylo možné chybný záznam přečíst), datované a dostatečně podrobné. Volné místo na neúplně vyplněné stránce by mělo být proškrtnuté. Záznamy mají být podepsány autorem i jeho nadřízeným jako svědkem správnosti záznamu. Zapisována mají být fakta, nikoliv domněnky. Výsledky analýz je třeba doplnit odkazem na analytické atesty výchozích látek, produktů a meziproductů, aby bylo případně možné atesty vyhledat a zkontrolovat. Atesty mají obsahovat odkazy na předepsané kontrolní postupy a parametry a na stránky laboratorních deníků pracovníků analytické kontroly s naměřenými výsledky a výpočty. Musí být podepsány.

Souhrnem informací o vývoji látky je **zpráva o vývoji výrobku (Product Development Report)**. Specifickým případem této zprávy je **zpráva o převedení technologie (Technology Transfer Report)**.

Na rozdíl od jiných dokumentů nemá zatím **zpráva o vývoji výrobku** stanovenou jednotnou strukturu, měla by však shrnovat veškeré údaje důležité pro dokumentaci vývoje výrobku, jako je charakterizace produktu, surovin a meziproductů, popis jednotlivých stupňů syntézy a historie vývoje výrobního procesu, včetně informací o „slepých uličkách“ a zdůvodnění, proč byly opuštěny, o zvětšování objemu šarže v průběhu vývoje a případných změnách parametrů proti laboratornímu měřítku. Analytické specifikace uvedené ve zprávě by měly být doplněny o údaje o validacích analytických metod. Na základě zkušeností získaných při vývoji by měly být definovány kritické kroky a přijatelná rozmezí hodnot procesních parametrů. **Zpráva o převedení technologie** je dokumentem, v němž jsou uvedeny informace nutné pro zavedení do výroby, tj. o výrobním postupu a jeho kontrole. Slouží zejména pro zavádění licenčních výrob podle zakoupeného know-how, ale uplatňuje se i při převodu výrobků z vlastního vývoje do výroby. Má význam i jako podklad pro zpracování plánu validace výrobního procesu.

**Základní dokument o léčivé látce**, Drug Master File, zkratka DMF, (český ekvivalent anglického termínu se většinou používá jen v oficiálních materiálech SÚKL) poskytuje komplexní informaci o léčivé látce, postupu její výroby a kvalitě. Je jednou z nejdůležitějších součástí systému dokumentace v oblasti léčiv. DMF je neopomenutelnou součástí žádostí o registraci nebo o některé změny registrace léčiva.

Látky, k nimž výrobce nemůže dodat DMF v požadovaném rozsahu, nemohou být ve vyspělých zemích přímo použity k přípravě léčivého přípravku, ale jen jako suroviny k případnému přečištění (nebo k použití v posledním stupni syntézy). Totéž platí i v případě, že je výrobcem dodán neúplný DMF a odběratel si sám nedoplní některé údaje (např. o stabilitách nebo kontrolních metodách). Absence nebo neúplnost DMF se samozřejmě promítá do nižší ceny substance.

Obsah DMF je určen pokynem SÚKL REG-79, který je českým ekvivalentem Guideline on Active Substance Master File, pokynu Evropské agentury pro léčiva EMEA/CVMP/134/02.

DMF začíná obecnými údaji (název, struktura, základní vlastnosti) a pokračuje informacemi o výrobci a výrobním postupu. Ty se liší podle toho, zda jde o tzv. **otevřenou část** DMF (Applicant's Part), která je veřejně přístupná všem zájemcům o zakoupení účinné látky, nebo **uzavřenou část** (Restricted Part), která je důvěrným materiálem určeným pro registrační autoritu. Otevřená část obsahuje pouze stručné schema postupu, uzavřená podrobné informace: údaje o kontrole surovin, meziproductů o kritických krocích výrobního procesu, o vývoji, validaci a zhodnocení výrobního procesu. DMF dále obsahuje charakterizaci výrobku (potvrzení struktury látky, informace o nečistotách, specifikace a její zdůvodnění) a popis jeho kontroly (analytické postupy a jejich validace, analýza šarží, referenční standardy a materiály), údaje o balení a stabilitě látky (výsledky stabilitních zkoušek a z nich vyvozené závěry).

Výsledkem vývoje postupu výroby léčivé látky je **výrobní předpis** („technologický reglement“, Master Formula, Master Recipe), včetně **záznamu o výrobě šarže** a rovněž i již zmíněná **specifikace výrobku**. Postupy pro práci s výrobním nebo kontrolním zařízením i při některých jiných činnostech souvisejících s výrobou léčiva jsou popisovány v dokumentech nazvaných **standardní operační postup (SOP)**.

**Výrobní předpis** je komplexní dokument s předem určenou strukturou, který shrnuje charakteristiky vyráběného léčiva, požadavky na výrobní zařízení a kontrolní a měřicí přístroje, jakost surovin a meziproductů a způsoby jejich kontroly, přesný popis výrobního postupu, včetně údajů o postupu při případném přepracování nevyhovujících šarží, čištění zařízení při a po výrobě, balení a skladování meziproductů a konečného výrobku, kontrole výroby, zneškodňování nebo využití odpadů, uvádí normy spotřeby surovin a pracovních nebo technologických (=doba obsazení zařízení) hodin a v neposlední řadě přináší instrukce pro bezpečnou práci se surovinami, meziproducty i finálním produktem a zařízením. Přílohou výrobního předpisu je formulář **záznamu o výrobě šarže**, do něhož pracovníci ve výrobě doplňují konkrétní údaje o násadách, reakčních dobách, výtěžcích, naměřených parametrech a případných neshodách skutečného průběhu výroby s předpisem. Záznamy musí být přesně datovány a podepsány pracovníky i jejich nadřízenými provádějícími kontrolu. **Specifikace výrobku** je jakousi vnitropodnikovou normou obsahující základní fyzikálně chemické charakteristiky látky, kvalitativní parametry, jejich předepsané hodnoty a postupy pro jejich stanovení. **Standardní operační postupy** jsou dokumenty s detailním popisem postupu při obsluze určitého zařízení nebo při provádění určité činnosti (např. odběru vzorku apod.).

Veškerá zpracovaná dokumentace je zevrubně posuzována při registračním řízení, výrobní dokumentace je pravidelně kontrolována při auditech ve výrobních provozech farmaceutických firem inspektoři lékových agentur, které povolují výrobu a prodej léčiv, jako je český Státní ústav kontroly léčiv, evropská Agentura pro léčiva, EMA (European Medicines Agency, dříve EMEA, European Medicines Evaluation Agency) nebo americký Úřad pro potraviny a léčiva, FDA. Zjištěné neshody v dokumentaci jsou mnohem častější příčinou vydávání „varovných dopisů“ ze strany těchto institucí, než závady na výrobním zařízení. Dokumentační povinnosti, „papírování“, se proto staly neodmyslitelnou činností každého chemika zabývajícího se léčivy. Veškeré dokumenty musí být jasné, věcně úplné a bez chyb. Dokumenty obecného rázu musí být pravidelně aktualizovány, specifické dokumenty musí být udržovány a archivovány tak, aby bylo možné vysledovat historii výroby každé šarže nejméně do doby 1 roku po datu ukončení použitelnosti (exspirace) výrobku.

## Kontrolní otázky pro zopakování

1. Co je cílem fáze vývoje léčiva? Co je obsahem fáze vývoje u původních a co u generických léčiv?
2. Co je polymorfie?
3. Proč může polymorfie ovlivnit vlastnosti léčivých přípravků?
4. Jak se liší polymorfni a pseudopolymorfni formy látky?
5. Co to jsou kokrystaly a čím se liší od běžných solí?
6. Jaké mohou být typy solvátů a čím jsou charakteristické?
7. Shrňte hlavní způsoby vyhledávání stabilních polymorfni forem látek.
8. Čím se liší enantiotropní a monotropní polymorfie?
9. Jak se polymorfni formy charakterizují?
10. Co má být výsledkem vývoje procesu výroby léčiva?
11. Co je prioritou vývoje procesu výroby léčiva a proč?
12. Jaké mohou být cíle optimalizace procesu?
13. Na jakých faktorech může záviset čistota produktu?
14. Co je faktorový experiment?
15. Uveďte příklady kvalitativních, kvantitativních a „kategorických“ faktorů ovlivňujících výsledek procesu.
16. Proč nemusí vést sledování vlivu postupné změny jednotlivých faktorů k nalezení optimálního procesu?
17. Jaký je princip simplexové metody optimalizace?

18. Co je obsahem validace výrobních procesů?
19. Jaké jsou typy validace?
20. Co všechno musí být při výrobě léčiv validované?
21. Co znamená pojem kvalifikace v souvislosti s procesem výroby léčiva a co se musí „kvalifikovat“?
22. Co je specifikace léčivé látky nebo léčivého přípravku?
23. Co to je lékopis a co je obsahem lékopisného článku?
24. Za jakých podmínek je možné zkoušet léčiva jinak než podle lékopisu?
25. Jakým způsobem mohou vznikat nečistoty obsažené v léčivu?
26. Jak má být veden laboratorní deník a proč?
27. Co obsahuje základní dokument o léčivé látce (Drug Master File) a jaké jsou jeho typy?
28. Jaké jsou základní dokumenty potřebné pro výrobu léčiva?
29. Dokumentace týkající se vývoje a výroby léčiv musí být v řízeném stavu. Co to znamená?
30. Co je „standardní operační postup“?