

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, zdokumentovaná 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 zdlouhavý 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. Od pracovníků vývoje se požaduje zkrácení této doby, dosažení co nejnižších výrobních nákladů, a to při vysoké kvalitě produktů

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 mohou ovlivňovat vlastnosti léčivých přípravků.
- Vývoj lékové formy
- Vývoj technologie výroby léčivé látky i léčivého přípravku
- Optimalizaci a validaci výrobních postupů
- Návrh specifikace, vývoj a validace 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. Složitější je situace u tzv. biogenerik, generických ekvivalentů léčiv na bázi biopolymerů, u nichž je úplná shoda chemického složení málo pravděpodobná a proto je požadován větší rozsah klinického zkoušení než u nízkomolekulárních generik
- Zpracování předepsané dokumentace a žádosti o registraci

Polymorfie

Má-li léčivá látka optimálně vyhovovat pro zamýšlené terapeutické použití, je třeba věnovat pozornost i její krystalové formě. 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.

Poznámka: V chemii léčiv se dva blízké názvy používají pro zcela odlišné pojmy. Kromě polymorfie jako fyzikální charakterizace pevných forem látek, která je diskutována v této přednášce, to je polymorfismus genů, výskyt mutovaných genů se zaměněnými nukleotidy, který může být příčinou některých onemocnění, zejména rakoviny.

Různé krystalové formy mohou mít některé rozdílné fyzikálně chemické vlastnosti, které mohou ovlivnit jejich zpracování do léčivých přípravků, rozpustnost, biologickou dostupnost a stabilitu, polymorfie má dopady i na patentovou ochranu léčiv.

Situace je přitom poměrně složitá: Např. u acetylsalicylové kyseliny, aspirinu, byly popsány 4 krystalové modifikace. Vápenatá sůl atorvastatinu, léčiva ovlivňujícího hladinu cholesterolu v krvi, může tvořit 26 typů krystalů, k patentové ochraně bylo přitom přihlášeno dokonce 63 krystalových forem včetně různých hydrátů, někdy ovšem duplicitně. U sulfathiazolu bylo dokonce popsáno 120 různých krystalových forem bezvodé látky nebo jejich solvátů. U léčiv s charakterem kyselin a bázi 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 soli a 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.

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 stechiometrických 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 hydrátů nemohou interagovat s funkčními skupinami podléhajícími hydrolyze. Stechiometrické hydráty se snadno hydrolyzovatelnými skupinami proto bývají v pevném stavu velmi stálé. 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. Náboje disociovaných iontů a protioiontů se vzájemně kompenzují, takže soli mají stechiometrické složení. Slabé kyseliny a báze nemusí s léčivými látkami vytvářet soli iontového charakteru, ale určité adukty, které v pevném stavu mají rovněž 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**. Obecně jsou kokrystaly definovány jako krystalické materiály obsahující dvě nebo více různých neionizovaných molekul v jedné krystalové mřížce.

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. Aby situace byla ještě o něco komplikovanější, mohou kokrystaly tvořit různé solváty a samy vykazovat polymorfii, tj. vytvářet různé krystalové mřížky.

Podmínkou vzniku kokrystalu je, že pevnost nekovalentních vazeb mezi jeho komponentami je větší než pevnost vzájemných vazeb mezi molekulami léčiva v krystalové mřížce. Možnosti vzniku kokrystalů z různých složek lze do jisté míry predikovat s využitím výpočetní techniky. Podobně jako v případě predikce účinnosti v závislosti na struktuře je však třeba výsledek výpočtů potvrdit experimentálně.

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 **parapolymorfy** (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 ale mohou vytvářet polymorfy i molekuly s rigidní konformací, jejichž molekuly mají v krystalových mřížkách odlišnou vzájemnou orientaci nebo jsou 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 ale 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 minimalizování jejich volné energie. Za daných podmínek je **termodynamicky stabilní** vždy jen jedna polymorfní forma s nejnižším obsahem volné energie. Ostatní formy jsou méně stálé, **metastabilní** a mohou proto přecházet na formu s nižší volnou energií.

Přeměna metastabilních polymorfů nemusí být kritická, pokud za daných podmínek probíhá pomalu. Metastabilní formou krystalického uhlíku je diamant. Jeho přeměna na termodynamicky stabilní grafit je však extrémně pomalá. Jindy ale 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 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.

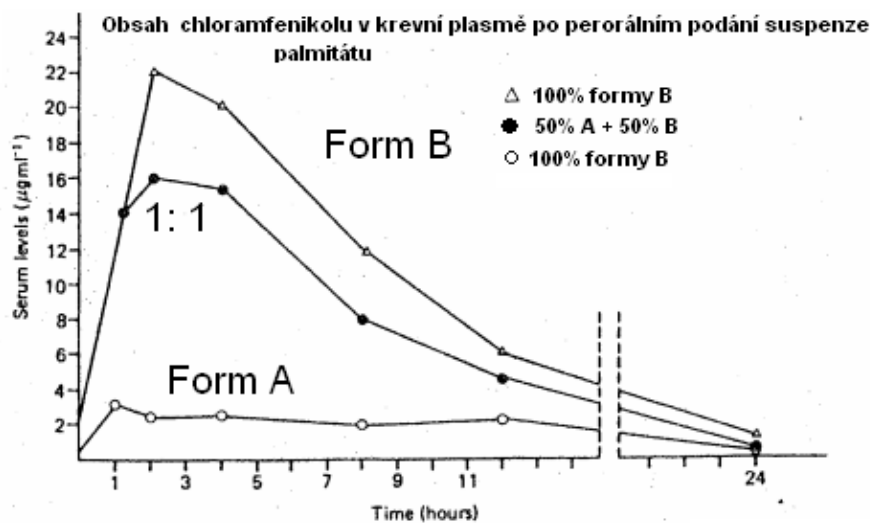
K přeměně jednoho polymorfu na druhý může docházet, až teplota systému překročí určitou hodnotu, tzv. bod (teplotu) přechodu (T_1). Při této teplotě mají oba polymorfy stejný obsah energie, při teplotách nižších má jedna forma nižší obsah volné energie a je tedy stabilnější, při teplotách nad T_1 je naopak stabilnější forma druhá. U enantiotropních polymorfů je T_1 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 přítom 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 **amorfni 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 nevodivý, 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 rozpouští nejméně.

Běžně jsou rozdíly v rozpustnosti polymorfních forem léčiv nanejvýš dvojnásobné, existují však výjimky. Známý 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 vykristaloval 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. Screening pevné fáze se proto stal důležitou součástí vývoje léčivých přípravků

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 léků, jako je rozpad tablet nebo snížení biologické dostupnosti.

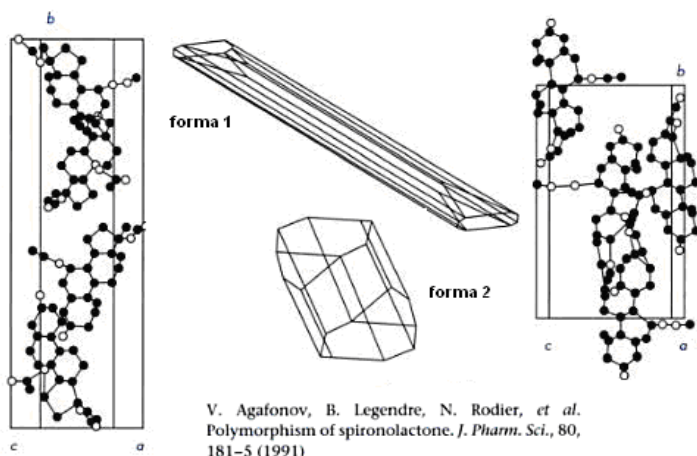
Je-li však zaručeno, že během výroby nebo skladování léčivého přípravku nebude k takovým změnám docházet (vysoký T_c) může být použití některých metastabilních polymorfů výhodné, protože jsou rozpustnější a také se někdy lépe zpracovávají. Podobný vliv na zpracovatelnost léčivé látky, fyzikální vlastnosti 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 dostupnost 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 ale 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 léčivého přípravku závisí nejen na velikosti krystalků účinné látky, ale i na polymorfii. Nejrychleji se rozpouštějí amorfní 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, soudržnosti částic, smáčivosti, tokových vlastnostech pevných směsí apod. Obecně platí, že při výrobě pevných lékových forem jsou špatně zpracovatelné látky, které vykristalovaly ve formě jehliček, jako například polymorfni forma 1 na obrázku:



Pro reprodukovatelnou přípravu léčivých přípravků je proto třeba mít dostatečné informace o připravovaných a/nebo používaných polymorfních, pseudopolymorfních nebo kokryystalových 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 tvorba kokryystalů je důležitá i z **patentoprávního hlediska**.

Dříve nepopsané krystalové formy léčiv jsou obecně považovány za nové a inovativní. Mohou proto být patentově chráněny. Patentování různých polymorfů nebo pseudopolymorfů léčivých látek forem, jakož i různých typů solí, kokryystalů 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 léčivé látky patentově chráněné, je pro výrobce generik vstup na trh podmíněn vyhledáním a používáním jiných patentově volných krystalových forem. Nové formy přitom mohou mít lepší, ale často mívají 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 často vedeny o to, zda určitá forma látky nebo její sůl je skutečně nová nebo zda její příprava představuje „vynálezcečskou činnost“, tj. zda nebyla připravena zřejmým a předvídatelným postupem. Lepší šance na patentovou ochranu přitom mohou mít kokrystaly, jejichž vznik a vlastnosti (stabilita, rychlost rozpouštění 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 (nesmí dojít k rozpouštění) 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 formu 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 rozpouštění), popř. očkováním podobnou látkou.

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

Při zahřívání hydrátů nebo obecně solvátů může docházet k fázovému přechodu a vznikne nesolvatovaný resp. bezvodý polymorf, případně může být krystalová mřížka látky rozrušena za vzniku amorfního produktu. Zahřívání lze krystalické solváty v pevném stavu nebo i suspendované v rozpouštědle, v němž se rozpouštějí jen omezeně. U klatrátů molekuly rozpouštědla opouštějí při zahřívání krystalovou mřížku bez jejího narušení. Pokud se látka při zahřívání nerozkládá, ale taje, může se zahřát až vznikne tavenina a pak nechat chladnout rozdílnou rychlostí (rychle, střední rychlostí, pomalu). U vzniklých pevných produktů se změří jeho rentgenové spektrum a další charakteristiky, aby se zjistilo, zda vznikla krystalová forma odlišná od původního polymorfu. Při rychlém zchlazení vznikají spíše metastabilní formy, při dostatečně pomalém formě 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 sublimátů 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 účelné uchovávat jejich krystalky, bez naočkování by mohla spontánně vykristalovat forma jiná. Nejsou-li vhodné krystalky k dispozici, lze k naočkování použít náhradní „pseudoočka“, které jsou strukturálně kompatibilní s požadovanou krystalovou formou, ale nejsou totožné. 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.

Kokrystaly lze připravovat podobným způsobem jako polymorfní formy látky.

Při vyhledávání vhodné formy lze využít stárnutí suspenzí směsí látek v rozpouštědle, v němž se ani jedna ze složek kokryystalu zcela nerozpouští, dále pak společně tavení nebo mletí suchých nebo zvlhčených složek kokryystalů, krystalizaci směsí z roztoku buď po zchlazení nebo odpaření rozpouštědla, popř. po vysrážení antisolventem. Ve výrobním měřítku lze k přípravě kokryystalů využít i nástřik roztoku směsí složek do rozprašovací sušárny, popř. extruzi zvlhčené směsi látek a vysušení extrudátu.

Hydráty se připravují buď krystalizací z vodných roztoků nebo roztoků obsahujících definované množství vody jako kosolventu, popř. i působením vlhkosti na bezvodé látky. 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.

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

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

K vytvoření termodynamicky stabilní polymorfni formy krystalu nebo kokystalu 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 se screeningem 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, pseudopolymorfni nebo kokrystalické 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. Mikroskop s programovatelně vyhříváním a chlazeným stolcem umožňuje vizualizovat fázové přechody a přeměny polymorfů. I když současná výpočetní technika umožňuje poměrně dokonalou analýzu obrazu, mají mikroskopická pozorování stále jen spíše kvalitativní charakter, kvantifikace výsledků je stále obtížná. Důležité výsledky poskytuje také měření bodů tání nebo stanovení rozpustnosti látky. Tyto techniky jsou užitečné zejména 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 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 rentgenostrukturální měření by bylo obtížné. Pro studium polymorfie se proto využívají „práškové diagramy“. Ty vznikají při ohybu rentgenových paprsků 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, pseudopolymorfni a kokrystalové formy látek mají kromě odlišných difraktogramů i rozdílná NMR, infračervená nebo Ramanova spektra v pevné fázi.

Ke studiu vzniku i případných přeměn jednotlivých polymorfů při krystalizaci nebo při zpracování 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.

Pro návrh optimálních metod krystalizace nebo jiných způsobů výroby žádané polymorfní, pseudopolymorfní nebo kokystalové 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 probíhající v polymorfním systému – tj. **kinetiky polymorfních přeměn**.

Z technologického hlediska jsou důležité zejména přeměny probíhající při operacích provázených vzrůstem teploty, např. při 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 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 většinou nejde jen o pouhé zvětšení velikosti šarží. Výsledkem často bývá technologický proces, který se dosti 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 závalu. Pro výrobu je však třeba nalézt levnější a snáze dostupné alternativy. Použití rozpouštědel s bodem varu vyšším než je teplota páry z běžných rozvodů (121°C, 200 kPa), např. dimethylformamidu, není v laboratoři problémem, výrobní technologii to 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 těkavými hořlavými látkami jako diethylether, 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, které má být k dispozici a postup výroby jim pokud možná přizpůsobit. Vedle technických 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 „čtvrtprovozního“) a podle získaných zkušeností se pak doladuje tak, aby při výrobě v konečném měřítku nedocházelo k nepředvídaným problémům. U velkotonážních výrob je někdy cílem i kontinualizace celého výrobního procesu nebo alespoň některých jeho stupňů.

Mimoriádnou pozornost je ve všech fázích vývoje třeba věnovat dosažení požadované kvality každé výrobní šarže. Kdyby se to nepodařilo, bylo by třeba proces změnit. To je časově i finančně náročné. Změny postupu výroby léčiv je předem třeba oznamovat odběratelům i lékovým agenturám v jejich zemích a nechat si je od nich schvalovat. Bez schválení nemůže být léčivo vyráběné změněným postupem dodáváno. Povolení změny není ve vždy stejně pružné a rychlé, takže se může stát, že výrobce buď ztratí některé trhy, nebo bude muset stejné léčivo vyrábět dvěma různými postupy – starým a novým (viz také Farm07).

Výsledkem vývoje postupu výroby léčiva tedy musí být technologický proces, který je **účelný, účinný, levný, uskutečnitelný v reálných podmínkách, dobře reprodukovatelný a robustní, takže trvale poskytuje produkt požadované kvality**. Výrobní proces je třeba **validovat**, tj. zajistit, že všechny **specifikace surovin i používaných pomocných látek a kritické procesní parametry**, které ovlivňují kvalitu finálního produktu, jsou trvale zajištěny. Přitom musí být v prvé řadě zjištěno, na čem závisí kvalita finálního produktu. U jakostních kritérií pro suroviny, činidla a meziprodukty, jakož i u procesních parametrů musí být dokumentovaně prokázáno, zda a jak je jejich dosažení kritické pro získání kvalitního produktu.

U parametrů procesu musí být určeno kritické rozmezí, v němž se mohou pohybovat, aniž by to mělo dopad na kvalitu produktu. Jestliže se ukáže, že např. kvalita produktu závisí na teplotě, při níž se reakce provádí, pak je třeba v prvé řadě určit, v jakém rozmezí se tato teplota může pohybovat, aby byla zajištěna požadovaná kvalita finálního výrobku. Podle požadovaného rozmezí teplot se pak musí volit zařízení a teplotní režim při syntéze.

Syntéza léčiva je obvykle víceúrovňová. 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 předstupně.

Přitom je třeba vždy usilovat o to, aby v každém stupni byly dosaženy co nejvyšší výtěžky, produkty byly snadno izolovatelné a vyčištěním zbaveny výchozích látek nebo vedlejších produktů, které by mohly negativně ovlivnit čistotu finálního produktu. Při syntéze chirálních látek je třeba usilovat o dosažení co nejvyšší stereospecificity a zamezení případné racemizace. U finálních produktů může být cílem i reprodukovatelná 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 měla 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.

Přes zvyšující se nároky by měl být vývoj výrobních postupů a procesů (včetně požadovaných zkoušek) co nejrychlejší. Pro klinické zkoušky je zapotřebí připravovat léčiva v dostatečném množství v podstatě již řádně vyvinutým finálním procesem. Jakmile je produkt zaregistrován na základě klinických zkoušek s přípravkem získaným určitým procesem, další změny procesu, které by mohly ovlivnit kvalitu produktu (např. možnost vzniku jiných nečistot) vyžadují provedení nových finančně a hlavně časově náročných zkoušek **stability** a „**bioekvivalence**“ s produktem vyrobeným předchozím postupem. 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 proto 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 včetně případného 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 čistotu a stabilitu produktu, výtěžky, 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, testování akutní toxicity, vývoj způsobu podání léčiva (perorálně, parenterálně), preformulační zkoušky léčivého přípravku 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. Postup používaný v 1. etapě vývoje se ještě může poněkud 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 je součástí žádosti o povolení klinických zkoušek a specifikované limity musí splňovat všechny budoucí šarže léčiva. Mohou být bez dopadů na povolení výroby od lékových autorit zpřísněny, ale kdyby je bylo třeba změkčit, muselo by se 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 zpravidla poměrně značně náročné požadavky na jakost, např. obsah jednotlivé neznámé nečistoty nemá překročit 0,1%. K přípravě léčiva pro klinické zkoušky fáze II a III už obvykle nepostačí laboratorní výroba, ale čtvrt- nebo poloprovozní zařízení. V další etapě vývoje výrobního postupu se proto na poloprovozním zařízení vyvíjí konečný výrobní proces, současně se vyrábí látka ve větším množství (až stovky kg) pro zkoušení u velkých souborů pacientů. Vyvinutý proces výroby by se přitom už neměl zásadně měnit. Po povolení prodeje léčiva (registraci) zahajuje pravidelná výroba, někdy až v tunových množstvích.

Prioritou vývoje procesu je **poslední stupeň syntézy** a zejména pak postupy **čištění konečného produktu**, které zpravidla nejvíce ovlivňují kvalitu 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 relativně pracné a nákladné. 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 nebo jejich přítomnost může nežádoucím způsobem snižovat hodnotu obsahu účinné látky. Pozornost je třeba věnovat i krystalové formě (polymorfii) a velikosti částic, na nichž může záviset rozpustnost a časový průběh uvolňování a rozpouštění léčivé látky z léčivých přípravků (průběh disoluce), 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 hrnci“ – one-pot synthesis/Eintopfverfahren), aniž by byla snížena kvalita konečného produktu. Nemalou pozornost je třeba věnovat organizaci práce a toku materiálu. Toky materiálu ve výrobně se nesmí křížit, aby byla eliminována možnost záměny 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. U některých procesů se zkouší možnost kontinuální výroby. 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 těžkých látek.

Jak bylo zmíněno, pro trvalé dosahování požadované kvality, je třeba, aby byly dodrženy tzv. **kritické atributy kvality** (CQA – Critical Quality Attributes), na nichž závisí jakost konečného produktu – léčivého přípravku ve vztahu k jeho léčebnému účinku. Kvalita léčivých přípravků samozřejmě závisí na atributech kvality účinné léčivé látky. Aby byly tyto atributy dosaženy, musí být definovány a kontrolovány atributy kvality surovin a meziproduktů a dodržovány **kritické parametry procesu** (CPP – Critical Process Parameters), např. rozmezí teplot při určité operaci. Zásady pro vývoj procesů výroby i pro konečnou výrobu léčivých látek s důrazem na jejich kvalitu jsou předmětem směrnice Q11 vydané v listopadu 2012 Mezinárodní radou pro harmonizaci ICH.

ICH (=International Council for Harmonization), Mezinárodní rada pro harmonizaci, starší (do října 2015) název Mezinárodní konference pro harmonizaci technických požadavků na registraci humánních léčiv, byla založena v r. 1990 s cílem dosáhnout celosvětový soulad požadavků lékových autorit, který by zjednodušil export léčiv. Jednání ICH se zprvu soustřeďovala hlavně na sladění lékopisných požadavků v USA, Evropě a Japonsku, v posledních letech má však ICH celosvětový charakter a problematika její agendy se více zaměřuje na obecné problémy související s kvalitou léčiv. Svědčí o tom vedle zmíněné směrnice Q11 i směrnice Q8 věnovaná vývoji ve farmaceutickém průmyslu, Q9 zabývající se řízením jakostních rizik a Q10 implementací systému kvality ve farmaceutickém průmyslu. Tyto směrnice doplňují zásady Správné výrobní praxe. Mají usnadňovat inovace, zajišťovat trvalé zlepšování jakosti a posilovat propojení mezi vývojem a výrobou léčiv, a to jak léčivých látek, tak i léčivých přípravků.

Při vývoji procesů výroby bezpečných a kvalitních léčiv jsou využívány dva přístupy.

Tradiční přístup spočívá v nastavení určitých parametrů a jejich specifického rozmezí pro jednotlivé kroky procesu, při jejichž splnění se předpokládá opakované dosahování reprodukovatelné kvality produktů. Kontrola výroby spočívá v testování podle předem definovaných kritérií. Pokročilý přístup vychází z pochopení toho, jak jednotlivé vstupní a procesní parametry ovlivňují kvalitu produktů a přináší do vývoje procesu strategii „řízení rizik“.

Součástí pokročilého přístupu je vymezení **“prostoru návrhu“** (Design Space). Ten je směrnicemi ICH definován jako vícerozměrová kombinace a interakce vstupních proměnných (např. atributů surovin) a procesních parametrů, která prokazatelně poskytuje záruku kvality. Prostor návrhu je zpracován výrobcem a schvalován lékovými autoritami.

Pro posuzování výroby léčiva ze strany lékových autorit je důležité, že dokud se hodnoty vstupních a procesních parametrů pohybují uvnitř schváleného „prostoru“, pak nejde o změnu procesu, která by jimi musela být schvalována.

Jak již bylo zmíněno, základem **konceptce zajištění kvality racionálním návrhem výrobního postupu**, která je označována zkratkou **QbD** odvozenou od anglického výrazu Quality by Design, je identifikace **kritických atributů kvality a kritických parametrů procesu**, tj. pochopení vlivu různých faktorů na kvalitu produktů.

Kritické atributy kvality určují, jaké kvalitativní parametry musí léčivá látka nebo léčivý přípravek mít, aby byla použitelná v terapii. Kritické parametry procesu jsou ty faktory, na nichž záleží kvalita produktu. Jedním z důležitých prvků QbD je využívání **procesní analytické techniky (PAT)** pro kontinuální průběžné monitorování procesních parametrů, které ovlivňují atributy kvality. Konceptce QbD byla zkušebně ověřována FDA a EMA do r. 2014. Po vyhodnocení výsledků lze očekávat, že hlavní prvky QbD budou promítnuty do souhrnných požadavků, které musí být splněny, aby léčivo bylo zaregistrováno a mohlo být prodáváno (registrace léčiv – viz Farm07).

Chemik zabývající se optimalizací postupů pro výrobu látky se musí v první řadě důkladně seznámit s problémem, který má řešit a definovat si **cíle** své práce. Přitom se zaměřuje spolu se samozřejmým zajištěním požadované **kvality produktu** na dosažení co nejvyššího **výtěžku** při co nejnižších **nákladech**, musí ovšem brát v úvahu i **bezpečnost práce a ochranu životního prostředí** a nesmí opomíjet ani problematiku **ochrany duševního vlastnictví**, tj. patentoprávní otázky.

Je např. zbytečné se zabývat postupy, při nichž 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. Zvláštní pozornost ochraně zdraví je třeba věnovat při vývoji procesů výroby vysoce účinných léčivých látek (HPAPI – Highly Potent Active Pharmaceutical Ingredients). Z environmentálního hlediska jsou nevhodné procesy, při nichž dochází k velkému znečištění odpadních vod nebo nežádoucím emisím těkavých látek, zejména chlorovaných rozpouštědel, popř. 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 může být cílem vypracování původního postupu, který by naopak patentováním umožnil získání konkurenční výhodu.

Po stanovení cílů optimalizace je dalším krokem identifikace procesních **faktorů**, které mohou ovlivnit cíle vývoje procesu, především dosažení kritických atributů kvality. Pro tyto faktory je pak třeba určit hodnoty, které ovlivní výsledek, tj. **kritické parametry procesu** i jejich přípustné rozmezí,

Faktorů, které mohou mít přímý vliv na výsledek procesu, tj. především na kvalitu a výtěžek produktu, je celá řada. Patří mezi ně výběr surovin, 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.

Prvním důležitým parametrem ovlivňujícím jakost finálních výrobků je **kvalita výchozích i pomocných látek**.

Aby nebyl finální produkt kontaminován nečistotami obsaženými ve výchozích surovinách, rozpouštědlech, reagentech a dalších pomocných látkách, 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. Konečný produkt tak může být kontaminován neočekávanou příměsí. Jako příklad zmiňuje literatura fluvastatin. 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 běžnými způsoby čištění nedařilo odstranit. Při zjišťování příčin znečištění se ukázalo, že N-isopropylanilin, který byl použit již ve 2. stupni šestistupňové syntézy, obsahoval malé množství ethylanilinu. Ten pak v dalších stupních reagoval stejně jako isopropylanilin, takže i další meziproducty byly kontaminovány. Čistý finální produkt bylo možné získat jen při použití surovin, která ethylanilin neobsahovala.

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, fotolýza 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 sušení nebo zpracování do léčivého přípravku. Ve druhém 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.

Určení optimální hodnoty **všech** faktorů ovlivňujících kvalitu i další požadované výsledky (výťažek atd.) 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 pouze jednou pětinou variabilních faktorů.

Procesní faktory lze rozdělit na **kvalitativní** (suroviny, 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 jen nemíchat nebo míchat za stále stejných otáček, v jiném zařízení lze otáčky míchadla plynule měnit. 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 vedle atributů kvality výchozích látek především výběr **prostředí**, tj. volba rozpouštědel, v nichž se reakce provádí

Volba rozpouštědla ovlivňuje výťažky i kvalitu produktu, průběh reakce, nákladovost výroby i environmentální dopady procesu. Při výběru rozpouštědla je třeba brát v úvahu především jeho kompatibilitu s příslušnou reakcí. Např. 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 ω -bromundecylaloholu $LiAlH_4$ v etheru dochází k odredukování tosyloxyskupiny, v diethylglykoldimethyletheru je naopak redukčně odštěpován 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 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 odebrána a tím je porušována rovnováha mezi rozpuštěnou a pevnou surovinou. Vylučování nerozpustného produktu z roztoku reakčních komponent může 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 a kontroly z hlediska vybavení, nákladů apod.

S růstem **teploty** roste rychlost chemických reakcí. To ale platí jak pro studovanou hlavní reakci, tak i pro případné nežádoucí vedlejší nebo rozkladné reakce a racemizaci, které zhoršují kvalitu produktu.

Tlak pozitivně ovlivňuje rychlost takových reakcí, při nichž při vzniku produktu klesá objem reakční směsi. Vedle reakcí s plynnými reaktanty (hydrogenace, oxidace) jde např. o esterifikace a zmýdelnění esterů, kvarternizace aminů, nukleofilní substituce, Diels-Alderovu reakci, Claisenův přesmyk apod.; při takových reakcích bez účasti plynných komponent se však účinek většinou projeví až při řádových změnách tlaku. Zvýšení tlaku samozřejmě také umožňuje zvýšení teploty reakční směsi nad bod varu kapalných složek reakční směsi

Průběh reakcí ovlivňuje i **koncentrace reaktant**: Se vzrůstem koncentrace se zvyšuje reakční rychlost nejen hlavních, ale i vedlejších reakcí. U exotermních reakcí musí být při vysokých koncentracích reaktant zajištěn dostatečný odvod tepla. Pokud to není možné, může mít reakce nekontrolovaný průběh.

Rychlostí přidávání reaktant lze zmírňovat průběh exotermních reakcí a tím zajistit vyšší čistotu produktu. Výsledek reakce může také být ovlivněn **pořadím přidávání reakčních komponent**. Na **poměru množství reaktant** závisí poloha reakční rovnováhy a ekonomika procesu. Přebytek jedné komponenty (obvykle levnější) zajistí lepší výtěžek produktu a/nebo může pozitivně (někdy ale i negativně) ovlivnit jeho jakost. 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.

Reakční doba ovlivňuje efektivnost a cenu procesu. Z technologického hlediska je žádoucí, aby reakční doba činila nejvýše 20 hodin, jinak neúměrně rostou režijní náklady výroby, jedna z důležitých položek kalkulace celkových výrobních nákladů. Při optimalizaci procesu se proto obvykle zjišťuje minimální doba reakce potřebná k dosažení co nejvyššího výtěžku a požadované kvality produktu. To platí zejména pro rovnovážné reakce, protože prodlužování reakční doby 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 značně narůstá ($2^6 = 64$, $2^7 = 128$).

Faktorový experiment se 2 hodnotami proměnných je sice využíván při screeningu vlivu faktorů na výsledek nejčastěji, neposkytuje však vždy relevantní výsledky. Nemusí postihnout situaci, kdy závislost výsledku na určitém faktoru prochází minimem nebo maximem. Vhodnější by proto bylo studium vlivu proměnného faktoru s použitím více hodnot proměnných (víceúrovňový faktorový experiment), přitom by však počet dílčích experimentů narůstal a čínil např. 3^2 , 3^3 , 3^4 atd. Při ještě podrobnějším sledování by např. ke zjištění vlivu 5 faktorů na 4 úrovních bylo zapotřebí $4^5 = 1024$ dílčích experimentů. Aby se počet experimentů snížil, provádí se **částečný faktorový experiment** s menším počtem dílčích faktorů na dvou úrovních. Částečný faktorový experiment samozřejmě poskytne méně informací než úplný. K tomu, aby byla minimalizována ztráta informací, se využívají různé statisticky podložené chemometrické triky, optimalizační a vyhodnocovací počítačové programy. Přitom např. k základnímu sledování 2 úrovní 6 faktorů místo $2^6 = 64$ postačí 28 dílčích pokusů.

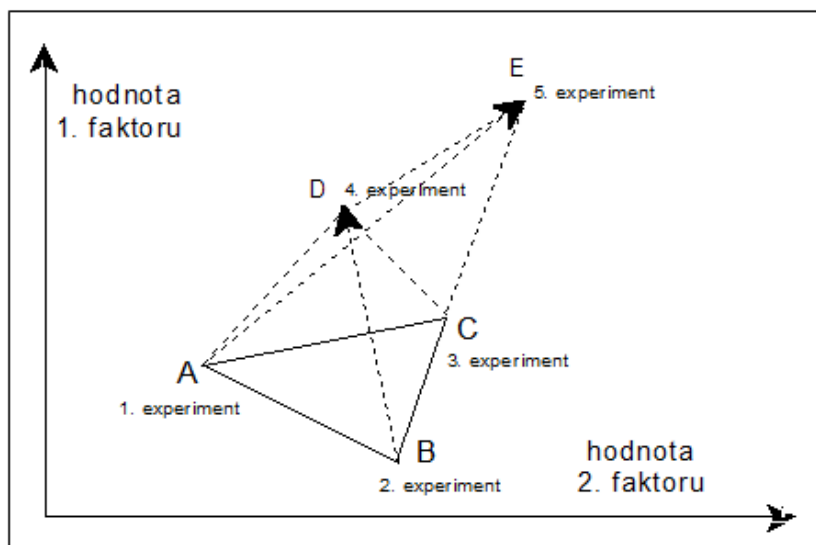
Pro faktory, které mají zásadní vliv na výsledek, se pak dále hledají optimální hodnoty. To lze provádět tak, že se **postupně sleduje vliv vždy jen jednoho faktoru na průběh dané reakce**.

Tento postup, který se v anglicky psané literatuře označuje příznačným akronymem COST (odvozeným z **Change One Separate factor at a Time, cost** ale také znamená náklad, výdaj nebo cenu), je zdoluhavý, neefektivní a tedy i nákladný. Kromě toho ani nemusí přinášet správné výsledky, protože mezi jednotlivými faktory často existují vzájemné vztahy: Změna jednoho faktoru může působit proti změně faktoru druhého (např. s růstem teploty klesá doba reakce), 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**

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 nejhorsím 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.

Provedení sekvenční simplexové optimalizace dvou faktorů ilustruje následující graf.



Hledání nejlepších podmínek různých procesů usnadňuje výpočetní technika s 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 v učebnici Sequential Simplex Optimization <http://www.chem.sc.edu/faculty/morgan/pubs/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 nevybočuje z „prostoru návrhu“, design space, tj. negativně neovlivňuje jakost výrobku. Pro kritické faktory je určeno rozmezí, které nesmí být překročeno, má-li být dosažen požadovaný výsledek (např. $\pm 5^\circ\text{C}$ u teploty, časové rozmezí u doby reakce ± 30 min apod.).

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

Řídící plán validace je souhrnný dokument zpracováváný pro výrobu určitého léčiva. Vymezuje odpovědnosti 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 funkční. Následuje **operační kvalifikace** (Operational Qualification, OQ), kdy se prokazuje, že při provozu zařízení lze dodržet předepsané parametry procesu, např. že aparatura těsní, míchadla se otáčejí specifikovanou rychlostí, měřicí zařízení je kalibrováno, teplota regulována v předepsaném rozmezí apod. Finálním krokem je **procesní kvalifikace** (Performance Qualification, PQ), kdy se při reálném nebo simulovaném procesu ověřuje, jak zařízení vyhovuje pro příslušné specifické použití. Má přitom zahrnout zkoušky za podmínek zahrnujících horní a dolní limity kritických provozních parametrů.

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 slouží např. k přípravě produktu pro stabilitní zkoušky nebo k výrobě léčivého přípravku. Retrospektivní validace je přijatelná jen pro dobře definované procesy. Provádí se, jestliže se v jednom sledu nevyrobí statisticky významný počet šarží. Údaje pro retrospektivní validaci musí být řádně zdokumentovány a zdůvodněny, mají obsahovat hodnocení trendů v kvalitě i záznamy o výrobě nevyhovujících 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 meziproduktů 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 meziprodukt může být použit v dalším stupni, jen když obsahuje maximálně 0,5% určité příměsi, pak by tento limit být nikdy překročen, průměrné výsledky by přitom ale měly být lepší. Na druhé straně by z výsledků mělo být zřejmé, že i meziprodukt, který obsahuje právě 0,5% nečistoty, lze ještě bez problémů použít v dalším stupni. Robustnost procesu, tj. průkaz, že při dodržení předepsaných limitů pro kritické parametry se reprodukovatelně dosahuje požadovaný výsledek, se potvrzuje speciálními „zátěžovými“ zkouškami (challenge tests), při nichž se ověřuje výsledek v případech, kdy procesní parametry jsou právě na hranici předepsaných limitů. Podobně se má přistupovat k požadavkům na validace postupů očisty zařízení. Kriteřiem přitom jsou povolené limitní hodnoty obsahu látky v oplachových vodách a stěrech z ploch zařízení. Zařízení používané univerzálně pro různé výroby musí být prokazatelně dokonale očištěitelné od zbytků předchozího výrobku. Pokud se toho nedosahuje, smí se na určitém zařízení 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.

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).

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.

Aby bylo zaručeno, že kvalita léčiva, které se může při skladování zvolna rozkládat, 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 kriterií. Požadavky lékopisu je třeba považovat za minimální, specifikace výrobce může být přísnější, než určuje lékopis. Kvalitativní limity ale nesmí nikdy být měkčí. **Nesplňují-li léčivé látky nebo přípravky požadavky lékopisu na kvalitu, nemohou být používány jako léčiva.**

Lékopisná kriteriia 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 v hlavních lékopisech (evropském, americkém, japonském, ale nově i v lékopisech dalších zemí) je obsahem pravidelných jednání Mezinárodní rady pro harmonizaci ICH. 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 může používat i postupy vlastní („in-house“), musí mu to však povolit autoritativní léková instituce.

Ta vydá povolení k použití vlastního postupu na základě výsledků jeho **validace**, tj. dokumentovaného průkazu shody výsledků získaných vlastním postupem s výsledky zkoušek prováděné lékopisnou metodou. V případě sporů jsou však rozhodující pouze oficiální metody z lékopisu. Validace analytických postupů se musí provádět i v případě nových léčiv, jejichž zkoušení zatím není v lékopisech předepsáno. Požadavky na provedení validace analytických postupů popisuje směrnice ICH2.

Lékopis předepisuje kromě specifických limitů a postupů zkoušení pro jednotlivá léčiva i postupy obecné pro určité kontrolní metody nebo pro 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 jednotlivá léčiva nebo pomocné látky 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 acetaminofen – 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 lékopisného článku 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 závaznými 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 průkaz určité polymorfní formy. 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 končí **popisem chemické struktury nečistot** v léčivu běžně nacházených. Podle charakteru léčiva mohou být některé z těchto částí v lékopisném článku vynechány

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 pyrogenních (horečku působících) látek a/nebo bakteriálních endotoxinů (pyrogenní složky bakteriálních stěn).

Lékopisy dále předepisují i požadavky na materiál obalů léčiv a uvádějí pokyny pro přípravu činiidel, standardů a pufrů používaných při zkouškách léčivých látek a přípravků. Zahraniční lékopisy obsahují někdy také seznamy standardů účinných látek i nečistot, které lze získat od organizace zpracovávající příslušný 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**. Nečistotami mohou být zbytky surovin, rozpouštědel, reaktant a katalyzátorů nebo látky, které je kontaminovaly, mohou vznikat jako vedlejší produkty při syntéze nebo být produktem rozkladu finálního produktu, popř. meziproductů. Specifikace je proto provázána s výrobní technologií.

Změny postupu výroby si proto mohou vynutit změny specifikace, protože jinak vyráběný produkt může obsahovat jiné nečistoty než původní produkt. Zbytková množství určitých rozpouštědel a některé jiné nečistoty se po změnách postupu výroby nemusí stanovovat, jestliže z technologické dokumentace vyplývá, že se takové látky při výrobě nepoužívají nebo že nemohou léčivo kontaminovat z jiných důvodů.

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 je pouze 0,05%. Kancerogenní rozpouštědla (např. benzen) nesmí být přítomna ani ve stopovém množství. Nečistoty mají být identifikovány, nejsou-li, smí činit 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 vyšší obsah kontaminující látky (jak ukazuje případ reziduí ethanolu), 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 a obsah nečistot v léčivu se nejčastěji zjišťuje pomocí HPLC nebo podobných separačních technik. Ty ve spojení s hmotovou spektrometrií umožňují získat i 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. U známých léčiv lze referenční standardy hlavních známých nečistot („kvalifikované nečistoty“) objednat a zakoupit u specializovaných výrobců, popř. je lze objednat v Technickém sekretariátu Evropské lékopisné komise. Certifikované referenční standardy jsou však velmi drahé a jejich cena se pohybuje mezi 100-500 € za 100 mg standardu. Při výrobě léčivých přípravků ze zakoupených substancí může být dojednáno dodání referenčních standardů nečistot i jako součást smlouvy o dodávkách léčivé látky od výrobce.

Po identifikaci nečistot a stanovení jejich obsahu je úkolem chemiků a farmaceutických technologií vyvíjejících postup výroby účinné látky a lékové formy zajistit, aby produkt obsahoval co nejméně nečistot. Podobně jako je lepší nemocem předcházet, než je léčit, je i u výroby léčiv výhodnější řešit podle zásad QbD technologický postup tak, aby obsah nečistot ve finálních výrobcích byl minimální. Ze znalostí o struktuře nečistot a průběhu výrobního procesu lze vyvodit, v které fázi výroby nečistoty vznikají a pak se zaměřit na úpravu procesních parametrů, které obsah nečistot ovlivňují.

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 je Zpráva o vývoji výrobku, Zpráva o převedení technologie, souhrnným dokumentem je tzv. Drug Master File se základními údaji 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 původní 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** předepsanou jednotnou strukturu, měla by však shrnovat veškeré údaje důležité pro dokumentaci vývoje výrobku, jako je charakterizace produktu, surovin a meziproduktů, 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 o 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 (český oficiální termín pro Drug Master File, zkratka DMF, neboli Active Substance Master File, jak je tento dokument nazýván ve směrnících ICH, FDA a EMA) 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 nanejvýš jen jako suroviny k případnému přečištění. 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 výrobcí 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 registrující lékový úřad. Otevřená část obsahuje pouze stručné schéma postupu, uzavřená podrobné informace: údaje o kontrole surovin, meziproduktů, o kritických krocích výrobního procesu, o vývoji, validaci a zhodnocení výrobního procesu. DMF dále obsahuje charakterizaci výrobku (potvrzení struktury látky, informace o nečistotách, specifikaci produktu a její zdůvodnění) a popis 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** (česky někdy nazývaný „Technologický reglement“, anglický název Master Formula nebo Master Recipe), formulář **Záznamu o výrobě šarže** a rovněž i již zmíněná **Specifikace výrobku**. Postupy práce s určitým výrobním nebo kontrolním zařízením i nebo při některých jiných činnostech souvisejících s výrobou léčiva jsou předepsány v dokumentech nesoucích název **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 meziproduktů 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 meziproduktů 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, meziprodukty i finálním produktem a zařízením.

Přílohou výrobního předpisu je formulář **Záznam 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 výroby i jejich nadřízenými, kteří je kontrolují.

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.).

Všechny 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.

Dokumentační povinnosti se staly neodmyslitelnou činností každého chemika zabývajícího se léčivy.

Ne všichni to ale správně chápou, povinnosti řádně zdokumentovat činnosti při výzkumu, vývoji, zkoušení a zejména při výrobě léčiv a její kontrole bývají chápány jen jako nepříjemná byrokratická zátěž nebo zbytečné „papírování“. Někdy se stává, že dokumentace je zpracovávána dodatečně, až před blížícími se inspekcemi lékových agentur. Vyskytují se v ní chyby, přikrášlená data, polopravdy a někdy dokonce i podvody. To ale je nebezpečné. Zkoušení auditoři to porovnáváním různých detailů většinou dovedou odhalit.

Veškerá zpracovaná dokumentace je zevrubně posuzována při registračním řízení, tj. při povolování výroby a prodeje léčiva. Výrobní dokumentace je také pravidelně kontrolována při pravidelných auditech ve výrobních provozech farmaceutických firem inspektory lékových agentur.

Je jimi český Státní ústav kontroly léčiv, SÚKL, Evropská Agentura pro léčiva, EMA (European Medicines Agency, dříve EMEA, European Medicines Evaluation Agency) nebo americký Úřad pro potraviny a léčiva, FDA. „Neshody“ v dokumentaci bývají častější příčinou vydávání „varovných dopisů“ ze strany národních a nadnárodních agentur, než zjištění o závadách na výrobním zařízení. Varovné dopisy FDA a EMA jsou veřejně dostupné, mnohdy mívají značnou mezinárodní publicitu a firmy, kde došlo neshodám, pak ztrácejí své zákazníky. Agentury přitom určí termín, dokdy musí výrobce zjištěné menší závady odstranit. Zda se tak stalo, se kontroluje při dalším auditu. Jsou-li závady závažné, ale i v případě, že méně závažné závady nebyly odstraněny, mohou lékové agentury výrobu, popř. dodávky léčiva do své země zakázat.

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 polymorfy?
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. Z čeho vychází koncepce zajištění kvality léčiv racionálním návrhem výrobního postupu (QbD)
14. Co si představujete pod pojmem „prostor návrhu“ (design space)?
15. Na jakých faktorech může záviset kvalita produktu?
16. Co je faktorový experiment?
17. Uveďte příklady kvalitativních, kvantitativních a „kategorických“ faktorů ovlivňujících výsledek procesu.
18. Proč nemusí vést sledování vlivu postupné změny jednotlivých faktorů k nalezení optimálního procesu?
19. Jaký je princip simplexové metody optimalizace?
20. Co je obsahem validace výrobních procesů?
21. Jaké jsou typy validace?
22. Co všechno musí být při výrobě léčiv validované?
23. Co znamená pojem kvalifikace v souvislosti s procesem výroby léčiva a co se musí „kvalifikovat“?
24. Co je specifikace léčivé látky nebo léčivého přípravku?
25. Co to je lékopis a co je obsahem lékopisného článku?
26. Za jakých podmínek je možné zkoušet léčiva jinak než podle lékopisu?
27. Jakým způsobem mohou vznikat nečistoty obsažené v léčivu?
28. Jak má být veden laboratorní deník a proč?
29. Co obsahuje Základní dokument o léčivé látce (Drug Master File) a jaké jsou jeho typy?
30. Jaké jsou základní dokumenty potřebné pro výrobu léčiva?
31. Dokumentace týkající se vývoje a výroby léčiv musí být v řízeném stavu. Co to znamená?
32. Co je „Standardní operační postup“?