

## Profarmaka

Profarmaka („proléčiva“, prodrug) jsou biologicky neúčinné nebo jen málo účinné látky které mohou být v organismu metabolicky aktivovány na účinnou látku působením enzymů.

Profarmaka pomáhají překonávat problémy nevyhovující absorpce a distribuce, vysoké toxicity a jiných nežádoucích vedlejších účinků, příliš rychlé eliminace účinné látky, ale i nedostatečné rozpustnosti nebo stability, obtíží přípravy lékových forem a v neposlední řadě i malého komfortu pacienta (injekční podání, vysoká četnost podávání, apod.).

Profarmaka by měla splňovat tyto předpoklady.

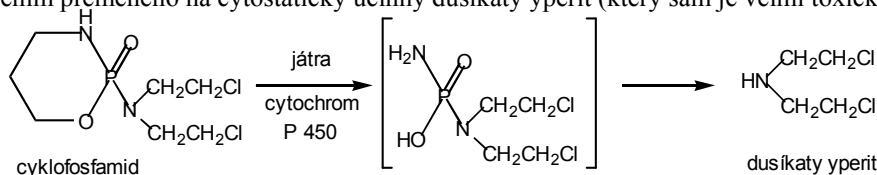
- měla by mít vyšší biologickou dostupnost než samotná účinná látka
- účinná látka by z profarmaka měla vznikat požadovanou rychlostí
- odštěpené neaktivní složky molekuly by neměly být pro organismus toxické
- měla by mít zvýšenou afinitu vůči cílovým tkáním nebo buňkám

Podle charakteru rozlišujeme **bioprekurzorová** a **transportní profarmaka** (carrier prodrugs), oba základní typy profarmak však nejsou nijak ostře vymezené.

Speciálními typy profarmak jsou „**polymerní léčiva**“, konjugáty léčiv a syntetických nebo přirozených polymerů (sem patří i některé výše zmíněné pegylované bílkoviny nebo další modifikované terapeuticky účinné látky charakteru biopolymerů). Mezi profarmaka lze dále zařadit i „**směrovaná léčiva**“ (targeted drugs) připravovaná navázáním léčiva na protilátku. Někteří autoři řadí mezi profarmaka i konjugáty dvou léčiv a nazývají je **vzájemná (mutual prodrugs) profarmaka**.

**Bioprekurzorová profarmaka** jsou taková, v nichž není léčivo specificky navázáno na vhodnou skupinu přenašeče, ale jsou výsledkem modifikace účinné látky jako takové. Modifikací je vytvářena nová sloučenina, která může být na účinnou látku převedena metabolickými procesy, obvykle enzymatickou oxidací nebo redukcí.

Příkladem bioprekurzoru je např. první sulfonamid prontosil zmíněný v historickém úvodu, jehož účinným metabolitem je sulfanilamid. Jiným takovým profarmakem je protinádorové léčivo cyklofosamid, které je oxidativním enzymatickým štěpením přeměněno na cytostaticky účinný dusíkatý yperit (který sám je velmi toxický).



**Transportní profarmaka** jsou cíleně připravována navázáním skupin, která propůjčí nebo usnadní účinné látce cestu z místa podání k cílové struktuře. Na účinnou látku jsou nejčastěji převáděna hydrolytickými procesy.

Při přípravě profarmak lze využít běžné chemické reakce probíhající na hydroxylových, aminových, karbonylových, karboxylových, fosfo- nebo sulfoskupinách. Typ vazby je určen přítomností funkčních skupin v molekule výchozí účinné látky a specificitou hydrolytických enzymů cílové tkáně. Amidy se štěpí pomaleji než estery, ale např. u amidů aminokyseliny může být rychlost enzymatického štěpení vyšší než u esterů. Příklady jsou v tabulce:

Výchozí skupina	Modifikovaná skupina	Poznámka	Výchozí skupina	Modifikovaná skupina	Poznámka
–OH	–OCOAlkyl	acetylace, pivaloylace atd., zvýšení lipofility a stability vůči enzymům	–NH <sub>2</sub>	–NHCOAlkyl	zvýšení lipofility a stability vůči enzymům
	–OCOCH <sub>2</sub> NR <sub>2</sub> , estery lysinu	zvýšení rozpustnosti ve vodě, pK <sub>a</sub> ~ 8		–NHCONH <sub>2</sub> , –HCOOR	hydrolyticky stálé, ale snadno štěpitelné enzymy plasmy
	–OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COO <sup>–</sup>	zvýšení rozpustnosti ve vodě, pK <sub>a</sub> ~ 5		Schiffovy báze	lipofilní, překonávají hematencefalickou bariéru
	–OPO <sub>3</sub> <sup>2–</sup>	zvýšení rozpustnosti ve vodě, pK <sub>a</sub> ~ 2 a 6	–SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	–SO <sub>2</sub> NH-acyl	zvýšení rozpustnosti ve vodě tvorbou sodných solí
	–OCOCH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> <sup>–</sup>	zvýšení rozpustnosti ve vodě, pK <sub>a</sub> ~ 1	–COOH	–COOR	methyl-, ethylester, zvýšení lipofility
diol	Diester, acetal, ketal	zvýšení lipofility	–CO–	imin, oxim, acetal (ketal), enolester, oxa- a thiazolidin	

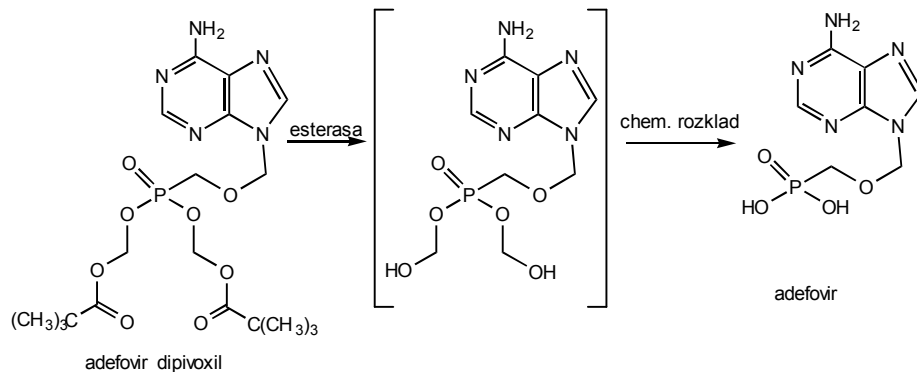
Transportní profarmaka mohou být **dvoudílná** (bipartate) a **trojdílná** (tripartate). Dvoudílná profarmaka jsou tvořena účinnou látkou a na ní přímo navázanou transportní skupinou. Trojdílná profarmaka obsahují mezi těmito částmi navíc spojovací řetězec (linker, spacer).

Dvoudílná profarmaka se obvykle připravují s cílem upravit rozpustnost léčiva v biologických tekutinách nebo naopak v lipidické dvouvstvě buněčných membrán.

Např. steroidní kortikoidní hormon prednisolon se jen velmi špatně rozpouští ve vodě. Jeho vysoká lipofilita je vhodná pro použití v dermatologii, pro použití v očním lékařství je však třeba rozpustnost ve vodě zvýšit. K tomuto účelu bylo připraveno několik profarmak, jako jsou sodné soli prednisolon-21-fosfátu (Solucort), -21-hemisukcinátu (Solu-Decortin H) nebo -21-m-sulfobenzoátu (Solupred), nebo soli (acetát) 21-dimethylaminoprednisolonu. U některých protinádorových léčiv (etoposid, fludarabin, nově zkoušený kombretastatin A-4) se zlepšuje rozpustnost účinné látky fosforylací. Pokud by taková léčiva nebyla fosforylována, musela by být podávána v pro pacienta nepřijatelně velkých objemech infuzních roztoků. Syntetický kortikoid, fluocinolon, má v molekule 4 polární hydroxylové skupiny, což znesnadňuje průnik pokožkou. Pro použití v dermatologii k potlačení ekzémů a dalších kožních zánětlivých nebo alergických projevů byla připravena proto byla profarmaka, u nichž byl transport přes pokožku usnadněn převedením na ketal, acetonid fluocinolonu (Gelargin), popř. acetylovaný acetonid (fluocinodid, Lidex).

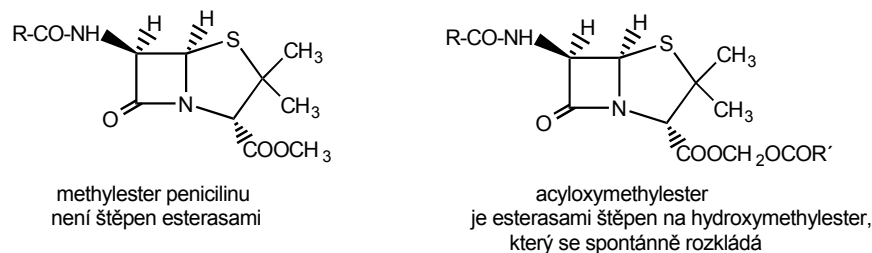
Spojovacím řetězcem trojdílných profarmak je nejčastěji alkylenoxyskupina. V takovém případě po enzymatickém odštěpení acylskupiny navázané esterovou vazbou vznikne poloacetal nebo podobný derivát, který se pak již snadno ve vodném prostředí biologických tekutin rozštěpí na účinnou složku a aldehyd nebo keton spontánní chemickou hydrolyzou.

Příkladem takového trojdílného profarmaka může být adefovir dipivoxil (Hepsera), antivirotikum pro léčení hepatitidy B. Účinnou složku adefovir objevil dr. Holý z ÚOChB AV ČR. Pacienti se žloutenkou musí být léčeni dlouhodobě, samotný adefovir s vysoce polární fosfonátovou a malou biologickou dostupností nebyl však pro takovou léčbu vhodný. Pracovníci americké firmy Gilead proto připravili pivaloyloxymethyl ester adefoviru, který buněčnou membránou může procházet. Hepsera se podává perorálně ve formě tablet, biologická dostupnost adefoviru podaného ve formě profarmaka dosahuje až 59%. Po absorpci odštěpí esterasy zbytek kyseliny pivalové a vzniklý hydroxymethylester se pak spontánně rozloží na adefovir. Rozklad na účinnou látku je rychlý, pik plasmatické koncentrace adefoviru je dosažen během 0,6-4 h po podání.



Volbou spojovacího řetězce, popř. modifikacemi navázané transportní skupiny profarmak, lze podle potřeby doladit vlastnosti připravovaného derivátu.

Tak např. methylester připravený esterifikací karboxylové skupiny penicillinu není ze sterických důvodů štěpen esterasy a nemůže se proto stát profarmakem. Tím však může být acyloxymethylester, který obsahuje spojovací methylenoxy skupinu. Po zavedení takové spojovací skupiny je již esterová vazba dostatečně oddálena od zbytku molekuly a tedy i přístupná pro esterasy, které ji mohou snadno štěpit. Příkladem může být profarmakum ampicillinu (polosyntetický analog penicilinu) pivampicillin (R=α-aminobenzyl, R'= *terc*-butyl):



**Polymerní léčiva** jsou tvořena konjugáty léčiv s přirozenými makromolekulárními látkami (dextran, kyselina hyaluronová, albumin) nebo i syntetickými, ale biokompatibilními polymery, jako je polyglutamová kyselina, polyethylenglykol (PEG), poly(N-hydroxymethakrylamid) apod.

Nejvýznamnější skupinu tvoří konjugáty polyethylenglykolu, již zmíněná „pegylovaná“ léčiva. Přípravují se z některých nízkomolekulárních léčiv s cílem zvýšit jejich rozpustnost v biologických tekutinách a/nebo prodloužit dobu účinku, praktické uplatnění v terapii zatím našly zejména výše zmíněné pegylované terapeuticky významné bílkoviny a oligopeptidy, jako je např. pegylovaný interferon  $\alpha$  (Pegintron A, Pegasys) používaný při léčbě hepatitidy C a některých nádorových onemocnění. Navázáním polyethylenglykolu se jednak zvyšuje biologická stabilita bílkovinného léčiva, jednak snižuje jeho imunogenitu, schopnost vyvolávat nežádoucí imunitní reakci organismu – anafylaktický šok.

Farmakokinetické vlastnosti polymerních léčiv závisí spíše na charakteru polymerního nosiče než na léčivu. Makromolekuly nosiče nemohou difundovat přes buněčné membrány, do buněk se dostávají **pinocytózou** (endocytózou), vchlípením části buněčné membrány obklopené léčivem do buňky. Vchlípená část se může uzavřít, čímž se vytvoří v buňce jakési váčky s roztokem léčiva. Váčky mohou splynout s lysosomy, buněčnými útvary obsahujícími hydrolytické enzymy, které pak v buňce účinnou složku odštěpí od nosiče.

To, že léčivo je uvolněno až v buňce, může být výhodné zejména u vysoce toxických nebo nestálých léčiv. Na druhé straně specifický mechanismus průniku polymerního léčiva do buňky neumožňuje využít neinvazivní způsoby podání.

Hydrolytické odštěpení léčiva může být v případě některých polymerních nosičů znesnadněno sterickými zábranami. Z tohoto důvodu se mezi polymerní skelet nosiče a léčivo často vkládá spojovací řetězec. Pokud nemá nosič požadovanou rozpustnost, mohou být na polymerní skelet navázány vhodné hydrofilní nebo lipofilní skupiny. Vedle toho lze na polymer navázat i specifické protilátky, které léčivo nasměrují k cílovým buňkám

Příkladem takových polymerních léčiv mohou být konjugáty poly(N-hydroxypropylmethakrylamidu) a protinádorových léčiv (daunomycin, doxorubicin), které jsou řadu let intenzivně studovány na Ústavu makromolekulární chemie a Mikrobiologickém ústavu AV ČR a některých institucích spolupracujících s tímto ústavem. Polymerní nosič je ve vodě rozpustný, netoxický a biokompatibilní. Pro vazbu léčiva byly připraveny kopolymery, které mají některé postranní řetězce tvořené krátkým peptidickým řetězcem z 4-5 aminokyselin. Na tyto peptidické spojovací řetězce se pak naváže léčivo. Do buněk se vzniklý konjugát dostává pinocytózou. Jakmile pronikne do buňky, rozštěpí lysosomální proteolytické enzymy peptické vazby, léčivo se uvolní a buňku usmrtí. Nerozštěpený konjugát je neúčinný a nemůže proto poškozovat buňky, do nichž se nedostane. Polymer se hromadí v játrech, takže takový konjugát může být využit k léčení jaterních nádorů, jeho specifita je však poměrně malá, navíc nádorové onemocnění jater není časté. Jestliže se však kromě léčiva připojí na polymer ještě i protilátka proti některému z tzv. nádorových antigenů – specifických glykoproteinů vyskytujících se na povrchu nádorových buněk, pak se konjugát začne hromadit v nádorové tkáni, dostane se do nádorových buněk a začne nádor likvidovat. Výhodou je vysoká specifita účinku takto směřovaného polymerního léčiva. Nevýhodou je, že léčivo má příliš složitou strukturu, takže jeho cena bude extrémně vysoká.

Jednodušší strukturu mají konjugáty některých přirozených biopolymerů s léčivy, které se vyznačují zvýšenou stabilitou, malou systémovou toxicitou a zlepšenou rozpustností.

Jedním z vhodných biopolymerů je lidský albumin, který se často využívá k navázání protinádorových léčiv a virostatik. Nádorové buňky nebo buňky infikované DNA virem jsou více náchylné k přijímání bílkovin endocytózou než buňky normální, čímž se zajišťuje vyšší selektivita účinku.

Ještě vyšší selektivitou se vyznačují **imunokonjugáty** tvořené účinnou látkou přímo nebo přes spojovací řetězec navázané na vhodnou protilátku.

Imunokonjugáty jsou tak vysoce specifické, že jejich účinnou složku mohou být i vysoce toxické látky. Jako protinádorové léčivo proto byl zkoušen např. i imunotoxin tvořený jednou z nejjedovatějších látek ricinem navázaným na protilátku proti nádorovým antigenům. Do terapeutické praxe se však nedostal, na rozdíl od imunokonjugátu s poněkud složitým generickým názvem gemtuzumab ozogamicin (Myotarg, Wyeth). Ten je tvořen derivátem protinádorového antibiotika kalicheamycinu navázaným přes spojku tvořenou řetězcem  $\omega$ -hydroxymáselné kyseliny na specifickou protilátku proti nádorovému antigenu CD33, který se vyskytuje na povrchu některých leukemických buněk. Konjugát se používá při léčbě akutní myeloblastické leukemie. Samotný kalicheamycin je natolik toxický, že bez nasměrování na nádorové buňky konjugací s protilátkou je jako léčivo nepoužitelný.

## Polymorfie

Návrh léčiva nekončí nalezením derivátu s optimální chemickou strukturou. Má-li léčivo optimálně vyhovovat pro zamýšlené použití, je třeba věnovat pozornost i krystalové formě substance.

Situace je přitom poměrně složitá: Např. u acetylsalicylové kyseliny, aspirinu, byly popsány 4 krystalové modifikace, vápenatá sůl atorvastatinu může tvořit 26 typů krystalů, k patentování bylo však přihlášeno až 63 krystalových forem (včetně různých hydrátů) a 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 tvoří jen léčivé látky, ale i řada pomocných látek pro výrobu léčivých přípravků: např. hlavní složka kakaového másla používaného v čípcích může mít 4 formy, které se liší bodem tání; mannitol používaný při výrobě 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 polymorfní modifikaci bývá kromě různých krystalových forem považována i amorfní forma látky. **Pseudopolymorfie (solvatomorfie)** je pak schopnost 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. 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. Molekuly vody pevně zabudované do krystalové mřížky nemohou interagovat s funkčními skupinami podléhajícími hydrolyze, takže stechiometrické hydráty mohou dokonce být hydrolyticky stálejší než látky bezvodé.

Vedle polymorfie ovlivňuje vlastnosti léčiv v pevném stavu i tvorba **solí**. Krystalová mřížka solí je tvořena ionty léčivé látky a příslušnými protiionty. Slabé soli a báze nemusí ionty vytvářet a přesto mají 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 léčivých látek se ukázalo, že kokrystaly odlišné od solvátů může vytvářet až 60% látek. O tom, zda vznikne pravá sůl nebo kokrystalová forma, rozhoduje rozdíl v pK obou komponent. Při větších rozdílech vzniká sůl, při menších kokrystal, mezi solemi a kokrystaly je však plynulý přechod. Dalším předpokladem vzniku kokrystalů je, že pevnost vazeb mezi oběma komponentami kokrystalu je větší než pevnost vzájemných vazeb molekul léčiva v krystalové mřížce.

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

Zatímco v roztoku existuje mezi tautomery rovnováha, krystaly obsahují vždy buď jeden druhý tautomer. Krystaly různých tautomerů jsou tak vlastně tvořeny odlišnými molekulami, které pochopitelně uspořádají do různých krystalových mřížek. 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 však mohou vytvářet polymorfy i molekuly s rigidní konformací, jejichž molekuly mohou být v krystalových mřížkách různě vzájemně orientovány nebo různě těsně uspořádány.

Konformační polymorfy nebo polymorfy s odlišným uspořádáním konformačně rigidních molekul 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 proto i polymorfy mají **odlišný obsah volné energie**. Obecnou tendencí látek je minimalizovat 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 probíhá za daných podmínek velmi pomalu. Extrémně pomalý je např. přechod metastabilní formy uhlíku – diamantu – na termodynamicky stálejší 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 přítom nejsou dvě pevné fáze, ale pouze jedna kapalná fáze – tavenina).

Různé polymorfni 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 polymorfni formy pevných látek odlišné využití. Klasickým příkladem rozdílných vlastností i různého využití jsou dvě polymorfni 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 nevodí, naopak grafit dobře vede elektrický proud apod. U organických sloučenin, jakými jsou léčiva, jsou sice rozdíly vlastností jednotlivých polymorfni forem podstatně méně výrazné, přesto mohou mít značný dopad na farmakodynamické i farmakokinetické vlastnosti.

Pro farmakochemiky je důležitá hlavně **rozdílná rozpustnost** různých polymorfni 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 polymorfni 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. Rozdílná rozpustnost různých polymorfni 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 alkoholického roztoku, jímž byly naplněny měkké želatinové tobolky. V době zahájení prodeje byla známa jen jedna polymorfni forma, která měla dostatečnou rozpustnost. Asi po dvou letech od uvedení na trh přestaly však mít některé tobolky potřebnou účinnost. Ukázalo se, že příčinou nebyl rozklad léčiva, ale že z roztoku vykristaloval dříve neznámý polymorf, který byl asi 5 x méně rozpustný. Tím se zhoršila biologická dostupnost léčiva. Výrobce musel přípravek stáhnout z trhu a rychle vyvinout, otestovat a zaregistrovat novou lékovou formu ritonaviru, což mu přineslo značné finanční ztráty. S určitým rizikem je spojeno použití enantiotropních polymorfni forem léčivých látek zejména při výrobě pevných lékových forem. Méně stálý polymorf se při lisování do tablet nebo jiném zpracování, kdy dochází k tepelnému a tlakovému namáhání, někdy však ale již při dlouhodobém skladování, může přeměnit na stálější. Tato přeměna pak může být příčinou nežádoucích změn vlastností léčivých přípravků, jako je rozpad tablet nebo snížení biologické dostupnosti léčiva. Je-li však zaručeno, že během výroby nebo skladování léčivého přípravku nebude docházet k nežádoucím změnám vlastností (vysoký  $T_i$ ) může být použití některých metastabilních polymorfů výhodné, protože se lépe zpracovávají nebo jsou rozpustnější. Podobný vliv na zpracovatelnost léčivé látky, fyzikální vlastnosti a biologickou dostupnost i výběr kokystalu. Při studiu přípravy kokystalů s různými karboxylovými kyselinami se při použití kyseliny glutarové zvýšila rozpustnost jednoho léčiva 18x a biologická dostupnost 3 x ve srovnání s kokystalu získanými s monokarboxylovými kyselinami.

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

Je-li rozpustnost léčiva dostatečně vysoká (tj. když se maximální 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 kokystalů biologickou dostupnost neovlivňují. Léčivo je pak prakticky po celou dobu setrvání v gastrointestinálním traktu ve formě roztoku. Jeho absorpce pak závisí jen na objemu vodného roztoku léčiva v tenkém střevu (v průměru 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 sice závisí i na velikosti krystalků účinné látky v lékové formě, hlavně ji však ovlivňuje polymorfni forma. 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.

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 tak 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 kokryystalů je důležitá i z patentoprávního hlediska.**

Polymorfní formy jsou obecně považovány za nové a vzhledem ke stavu techniky inovativní a lze je tedy patentově chránit. Patentování různých polymorfních nebo pseudopolymorfních forem, jakož i různých typů solí 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 polymorfní a pseudopolymorfní formy látky patentově chráněné, je generický výrobce nucen vyhledávat a používat jiné formy, které mohou mít horší vlastnosti. Patentově lze chránit i různé kokrystaly, často lépe než různé polymorfy a pravé soli. 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 soli je skutečně nová, nebo zda její příprava představuje „vynálezský krok“, tj. zda nebyla připravena zřejmým a předvídatelným postupem. U kokryystalů tomu tak není, výběr možností je tam větší, vznik kokryystalů a zejména jejich vlastnosti (stabilitu disoluční profil apod.) nelze jednoduše předvídat.

**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 stárnout za určité teploty, popř. dalších zvolených podmínek po delší dobu (jeden měsíc, popř. i déle). Po dostatečně dlouhé době by přitom metastabilní forma látky měla přejít na termodynamicky stabilnější. Zjistí-li se, že vznikla nová krystalová forma, studium stárnutí by se mělo opakovat se suspenzí této nové formy. Vznik stabilní formy lze urychlit aplikací ultrazvuku, cykly zahřívání a ochlazení (za předpokladu, že nedojde k úplnému rozpuštění), popř. použitím oček podobné látky.

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 nechá chladnout rozdílnou rychlostí (rychle, středně, pomalu) a sleduje se jaká polymorfní forma vzniká. Jakmile vznikne pevný produkt, změní se jeho rentgenové spektrum, aby se zjistilo, zda je jeho krystalová forma odlišná od původní. 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 zjišťuje se, zda dochází k přeměnám krystalové mřížky. Někdy se látka nechá vypařit a zchladí se její páry. U sublimátu se pak zjišťuje, zda jeho forma se liší od původní látky.

**Z hlediska výroby léčiv je nejdůležitější studium 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 a jejich směsí. Vedle krystalizace založené na rozdílné rozpustnosti látky při různých teplotách se studuje i snižování rozpustnosti (srážení) přídavky „špatných“ rozpouštědel (antisolventů) nebo přídavky rozpustných solí („vysolením“). 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. Vliv má i čistota látky nebo přítomnost dalších látek. 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 mohou vznikat spontánně. Někdy se však látka po dlouho dobu nevyklučuje. Krystalizaci pak lze iniciovat naočkováním, tj. přidáním zárodečných krystalků. Krystalová forma „oček“ 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 vykrystalovat 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 nejúčinnějších 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 polymorfní formy musí mít molekuly dostatek času.

Při rychlém ochlazení nasyceného roztoku nebo taveniny, rychlém srážení nebo odstranění rozpouštědla může částečně vznikat kromě krystallků i amorfní forma. Určitý podíl amorfní formy může dokonce vznikat i při velmi jemném mletí (mikronizaci) krystalických produktů. Amorfní produkty vznikají však zejména při zmrazení vodných roztoků látek a odstranění ledu mrazovou sublimací (lyofilizací). Lyofilizace je hlavní způsob výroby tzv. suchých injekcí, které se převádí na roztok, „rekonstituují“, těsně před aplikací. Existují však techniky, které i při lyofilizaci umožňují vznik produktů s krystalickým charakterem.

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

Polymorfní nebo pseudopolymorfní formy látky lze rozpoznávat pod optickým nebo elektronovým mikroskopem podle tvaru krystallků (jehlice, lístky, tyčinky, destičky apod.), v poli polarizačního mikroskopu vykazují krystallky látky charakteristický dvojlom. I když výpočetní technika umožňuje dokonalou analýzu obrazu, mají mikroskopická pozorování spíše jen kvalitativní charakter, kvantifikace výsledků je stále obtížná. Kvalitativní výsledky poskytuje i měření bodů tání látky. Pro hodnocení léčiv je důležité i zjišťování jejich rozpustnosti i rychlosti rozpouštění, disoluce.

Jednoznačnou charakteristikou polymorfních 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 polymorfní formy mají rentgenové difrakční obrazce se zřetelně odlišenou strukturou. Přípravovat monokrystaly různých polymorfů pro rentgenostrukturální měření by bylo obtížné. Pro studium polymorfie se proto využívají „práškové diagramy“. Ty vznikají při ohybu rentgenova záření na velkém souboru malých krystallků 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. Amorfní 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 může být k charakterizaci polymorfů a studiu jejich vzájemných přeměn je k dispozici i celá řada dalších fyzikálních metod.

Polymorfní a pseudopolymorfní formy látek mají kromě odlišných difraktogramů i rozdílná  $^{13}\text{C}$  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 entalpiických 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, např. při krystalizaci vznikají různé typy krystallů, je nutné sledovat průběh krystalizace pomocí mikroskopu, popř. pomocí jiných fyzikálních metod.

**Hydráty** se obvykle připravují buď **krystalizací z roztoků** obsahujících definované množství vody jako kosolventu nebo působením **vlhkosti**. Analogicky se připravují různé **solváty**.

Vliv vlhkosti se studuje pomocí mikrovah v komůrce s definovanou vlhkostí prostředí. Přitom se zjišťuje, zda látka vodu absorbuje nebo naopak uvolňuje. Pokud se voda absorbuje, 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 polymorfní nebo pseudopolymorfní 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 provázených 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 léčiv

Po nalezení vodítka *a*/nebo se nejprve optimalizují farmakodynamické a farmakokinetické parametry léčiva. Na to pak navazuje vývoj léčiva – optimalizace postupu syntézy v laboratoři a pak se vypracovaný postup převede do výrobního měřítka (scaling up). Přitom se řeší technologické problémy včetně otázek bezpečnosti práce a ochrany životního prostředí. Současně se vyvíjí léková forma (tablety, injekce apod.) a postup její výroby, určí jakostní parametry a vypracují postupy analytického hodnocení. Identifikují se nečistoty a případné rozkladné produkty a připraví se (izolací nebo synteticky) jejich standardy, návazně se provedou se zkoušky stability účinné látky i finální lékové formy. U nových léčiv se rozšíří rozsah biologického testování na pokusných zvířatech, aby se získaly informace o farmakologickém profilu látky potřebné pro povolení zahájení zkoušek na člověku. Pak se zahájí klinické zkoušky. Po jejich úspěšném dokončení je může výrobce požádat příslušné orgány o registraci a povolení uvést léčivo na trh.

Při klinickém zkoušení se nejprve v tzv. fázi I zjišťuje na malém počtu dobrovolníků, jak závisí hlavní i vedlejší účinky na dávce léčiva. Poté se s vhodně zvolenou dávkou provede zkoušení na menších nebo větších souborech pacientů (fáze II a III). Přitom obvykle jedna část pacientů dostává nové léčivo, druhá část neúčinnou napodobeninu (placebo) nebo (v případech závažných onemocnění) známé osvědčené léčivo. Pacienti se do obou skupin dostávají náhodným výběrem (randomizovaná studie) a při zkoušení neví, zda nové léčivo dostávají (zaslepená studie). Často to neví ani ošetřující lékař (dvojitě zaslepené klinická studie). Veškeré výsledky se pečlivě dokumentují a po dokončení zkoušek se dokumentace předává registračním orgánům, které rozhodnou o povolení nového léčiva. Ani povolením léčiva práce na jeho vývoji nekončí. Vyvíjeny mohou být nové nebo zlepšené lékové formy, klinicky se zkouší kombinace různých léčiv nebo nové léčebné režimy. Někdy mohou být dále zlepšovány parametry léčiva (např. přechodem od racemátu k podávání účinnějšího enantiomeru nebo vývojem lékových forem s rovnoměrným postupným uvolňováním léčivé látky), může být zvyšována stabilita přípravku nebo upravovány výrobní a kontrolní postupy, aby lépe vyhovely novým kvalitativním nebo environmentálním požadavkům, popř. i rostoucí poptávce.

Poté, co byla vyvinuta látka s optimálními farmakologickými vlastnostmi, stává se dalším úkolem chemiků vypracování optimálního postupu přípravy látky v požadovaných objemech.

Vývoj procesu výroby je úkolem technologických laboratoří. Je zahajován, jakmile je na základě zkoušek nové látky nebo marketingového rozboru vybráno léčivo, které má být vyráběno. Vývoj výrobního procesu léčiva vychází z laboratorního postupu jeho přípravy, bylo by však chybou se domnívat, že jde o pouhé zvětšení měřítka. Výsledkem vývoje může být proces výrazně se odlišující od původního laboratorního postupu. V laboratorním měřítku lze např. používat některé exotické látky, pro výrobu je však třeba nalézt levnější a snadno dostupné alternativy. Použití rozpouštědel s vyšším bodem varu (např. dimethylformamidu) nemusí v laboratoři představovat problém, ve výrobním měřítku však může být jejich oddestilování dosti komplikované. Ve výrobě mohou představovat problém příliš vysoké nebo naopak příliš nízké teploty apod. Vývojový pracovník musí dobře znát možnosti výrobního zařízení a postup výroby mu přizpůsobit.

Výsledkem vývoje postupu přípravy léčiva musí být výrobní 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 meziproducty ke konečnému produktu ( $V \rightarrow M_1 \rightarrow M_2 \rightarrow \dots \rightarrow P$ ) nebo **konvergentní**, kdy se dva nebo více meziproductů 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 snadno se čistily 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 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.
- 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 registračním institucím resp. externím odběratelům a nechat si je od nich schvalovat. Bez schválení nesmí být změna provedena. Z tohoto důvodu je třeba, aby výsledkem vývoje procesu výroby byl robustní postup, který nebude třeba často měnit.

Přes zvyšující se nároky je pro vývoj nových postupů a procesů k dispozici stále méně času – v 80. letech trval vývoj výrobních procesů v průměru 8-10 let, nyní je požadováno zkrácení na 4-6 let. Pro klinické zkoušky je zapotřebí připravovat léčiva již v poměrně velkých množstvích a v podstatě již řádně vyvinutým procesem. Jakmile je produkt zaregistrován na základě klinických zkoušek s přípravkem získaným určitým procesem, změny ovlivňující specifikaci produktu (např. obsah nečistot z přípravy) 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 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. V další etapě se na poloprovozním 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 struktuře (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, 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 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 těžkých látek.

Chemik zabývající se optimalizací postupů přípravy léčiva 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 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 chlazení 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**, které se při optimalizačních experimentech zanedbávají.

Kategorický faktor se při určitém uspořádání systému může změnit na kvantitativní, jehož hodnota může být optimalizována. Zatímco např. jeden typ zařízení lze buď jen míchat nebo nemíchat, v jiném zařízení lze plynule měnit otáčky míchadla. To ale může být spojeno se zvýšením nákladů, takže je třeba zvážit, zda je optimalizace dalšího kvalitativního faktoru potřebná. Míchání má velký vliv na průběh heterogenních reakcí, u reakcí probíhajících v homogenním prostředí zajišťuje míchání pouze lepší odvod nebo přívod tepla a při postupném přidávání komponent lepší promísení směsi.

**Z kvalitativních faktorů** stojí v popředí výběr **prostředí**, v němž se reakce provádí

Volba rozpouštědla ovlivňuje výtěžky i kvalitu produktu, průběh reakce, nákladovost výroby a 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 solvatují ionty. Dochází-li k substituci, pak na polaritě rozpouštědel závisí, zda substituční reakce proběhne  $S_N1$  nebo  $S_N2$  mechanismem. Při  $S_N2$  reakcích chirálních látek dochází k Waldenově zvratu, kdy z výchozí chirální látky vznikne chirální produkt, ale s opačnou konfigurací. Substituce probíhající  $S_N1$  mechanismem je obvykle provázena racemizací. Rozpouštědlo může ovlivňovat selektivitu reakce i jinak. Např. při redukci tosylátu  $\omega$ -bromundecylaloholu  $LiAlH_4$  v etheru dochází k odredukování tosyloxyskupiny, v diethylenglykoldimethyletheru se naopak odredukuje brom. Důležitý je bod varu rozpouštědla. Varem se nejspolehlivěji reguluje teplota reakční směsi, rozdíly v bodu varu rozpouštědla a produktu ovlivňují i způsob izolace a čistotu produktu. 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 a vznikem rozpustného produktu je porušována rovnováha mezi rozpuštěným a pevným podílem. Vylučování nerozpustného produktu z roztoku reakčních komponent může rovněž posouvat reakční rovnováhu žadoucím směrem ve prospěch produktu, jindy však může proces komplikovat, např. jestliže vylučovaný produkt obaluje částice heterogenního katalyzátoru a tím je deaktivuje nebo když se na vylučované sraženině produktu zachycují nečistoty. V úvahu je třeba brát i bezpečnostní aspekty (např. kancerogenitu a toxicitu rozpouštědel, jako je benzen), 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 použití chlorovaných rozpouštědel a množství exhalací).



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 byla pro rychlé nalezení a vyhodnocení optimálních podmínek reakce pomocí počítače vyvinuta celá řada dalších optimalizačních postupů, včetně příslušného software. Podrobnosti o metodách plánování a vyhodnocování experimentů lze nalézt v různých učebnicích chemometrie nebo na specializovaných internetových stránkách (např. <http://www.itl.nist.gov/div898/education/dex/optdesgn/optdesign.pdf>).

## Správná výrobní praxe

Správná výrobní praxe (SVP; Good Manufacturing Practice, GMP) představuje zásady, které musí dodržovat každý výrobce i distributor léčivých látek a léčivých přípravků. Smyslem SVP je ochrana pacientů před riziky, které by pro ně představovala léčiva s nevyhovující kvalitou nebo nevhodná pro předpokládané použití. Jde o zásady, které se prakticky ve stejné podobě uplatňují v celé Evropě i v mimoevropských zemích. V ČR vychází zásady SVP ze zákona o léčivech. Jejich (zatím) aktuální verzi uvádí vyhláška Ministerstva zdravotnictví a Ministerstva zemědělství (protože nejde jen o humánní, ale i o veterinární léčiva) č. 411/2004 Sb., která je českou verzí Směrnice Evropské komise č. 2003/94/ES o správné výrobní praxi.

Zásady SVP byly nejprve formulovány a uplatňovány ve Spojených státech jako reakce FDA na některé tragické případy zapříčiněné nekvalitou některých léčiv. Cílem zásad je zajistit, aby léčiva byla kvalitní, reprodukovatelně vyráběná za schválených podmínek ve schválených prostorách a aby veškeré činnosti prováděné při výrobě byly řádně dokumentovány. Zásady SVP se týkají zejména výroby léčivých přípravků, ve značné míře se však uplatňují i při výrobě léčivých látek, zejména finálních stupňů jejich výroby. Někdy se hovoří o soudobé SVP (current GMP, c-GMP), čímž se zdůrazňuje nutnost pravidelně přezkoumávat podmínky výroby léčiv a aktualizovat je s ohledem na technický pokrok a zvyšující se požadavky na kvalitu a bezpečnost. Kontroly dodržování zásad SVP provádí při pravidelných inspekcích u výrobců pověřené státní instituce. V ČR to je Státní úřad pro kontrolu léčiv, SÚKL. Pokud chce český výrobce dodávat léčiva na zahraniční trhy, musí však počítat i s kontrolou cizích lékových agentur, jako je např. americká FDA.

Základním ustanovením zásad SVP je požadavek na vytvoření a udržování systému zabezpečení jakosti zahrnující aktivní účast řadových zaměstnanců i vedoucích pracovníků výrobce.

Zásady SVP proto kladou velký důraz na personální zajištění kvalitní výroby. Jednotliví pracovníci mají v systému SVP přesně vymezeny své povinnosti a pravomoci, výrobce jim musí zajistit řádné vyškolení i průběžné doškolování. Vedle toho stanoví SVP požadavky na hygienickou stránku výroby včetně technických opatření zajišťujících, že nedojde ke kontaminaci produktů cizorodými látkami nebo mikroorganismy. Výrobní prostory a zařízení musí být navrženy a konstruovány tak, aby bylo minimalizováno riziko chyb, umožněno účinné čištění a údržba. Výrobní prostory a zařízení musí být kvalifikovány, tj. musí být dokumentovaně ověřeno, že jsou vhodné pro daný účel. Výrobní a kontrolní procesy musí být validovány, tj. musí být dokumentovanými výsledky prokázáno, že splňují předem stanovené parametry. Ustanovení SVP se dále týkají nákupu, skladování a hodnocení surovin, „propouštění“ surovin a meziproductů do výroby a označování a propouštění hotových výrobků pro distribuci, postupy řešení neshod se specifikací, činnostmi při reklamaci a stažení výrobků z trhu, určují doby uchovávání vzorků, organizaci a četnost vnitřních i externích inspekci a kontrol (u výrobců léčivých látek provádí SÚKL pravidelnou kontrolu jednou za 3 roky). V neposlední řadě specifikují náležitosti, které jsou součástí žádosti o povolení výroby léčiv a o povolení změn při výrobě nebo kontrole.

Zásady SVP kladou mimořádně velkou váhu na řádné dokumentování všech kroků a operací, které mohou ovlivnit jakost léčiva.

Dokumentační systém musí být vytvořen tak, aby umožnil sledování historie výroby a změn zavedených během vývoje. Zejména je důležité, aby byly řádně zaznamenány všechny odchylky a zjištěné závady v procesu výroby a aby byly dokumentovaně důsledně prošetřeny. Důležitou součástí dokumentace je potvrzování všech kroků a opatření při výrobě i kontrole léčiv odrážející osobní odpovědnost všech zúčastněných.

## Validace výrobních postupů

Zásady SVP vyžadují, aby vypracovaný optimalizovaný postup výroby léčiva byl validován. Vedle zpracování požadované výrobní dokumentace (Drug Master File, technologický předpis, standardní operační postupy, záznamy o výrobě šarže) je **validace** poslední etapou vývoje procesu výroby léčiva. FDA definuje validaci procesu výroby jako dokumentovaný důkaz vysoké záruky toho, že proces bude trvale poskytovat produkt vyhovující předem určené specifikaci. Řečeno jinými slovy, validace má zaručit, že příslušným procesem lze spolehlivě a trvale vyrábět účinné, bezpečné a kvalitní léčivo.

Validace je v podstatě kontrolou reprodukovatelnosti a robustnosti postupu. Postup je validovatelný, jestliže běžné kolísání hodnot různých faktorů negativně neovlivňují 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 přidávání reagentu apod.). Čím užší je toto rozmezí, tím kvalifikovanější a zodpovědnější musí být obsluha, popř. jsou-li výrobní aparáty opatřeny řídicími a regulačními systémy, tím přesněji a citlivěji musí tyto systémy pracovat (což se samozřejmě promítne do jejich ceny).

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 investiční akce týkající se výroby léčiv. Vymezuje zodpovědnosti jednotlivých pracovníků, předmět a cíl validace, způsob provedení a dokumentace výsledků. Validační protokol definuje cíle 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 zařízení**.

U nového zařízení se nejprve provádí **instalační kvalifikace**, kdy se posuzuje, zda zařízení odpovídá specifikaci a je správně namontováno. Pak se provádí **operační kvalifikace**, kdy se prokazuje, že při provozu zařízení lze dodržet předepsané parametry procesu, např. že aparatura těsní, míchadla se otáčejí specifikovanou rychlostí apod. Přitom se prověřují i měřicí, monitorovací a záznamové přístroje a čidla, včetně stavu jejich kalibrace. Po operační kvalifikaci následuje finální krok, **procesní kvalifikace (Performance Qualification)**, kdy se při reálném nebo simulovaném procesu ověřuje, jak zařízení vyhovuje pro navržené použití. Je-li např. pro proces nezbytné dodržení teploty v rozmezí  $\pm 3^\circ\text{C}$  a systémem kontroly teploty v příslušném zařízení umožňuje regulovat teplotu pouze v rozmezí  $\pm 10^\circ\text{C}$ , pak zařízení procesní kvalifikací neprojde.

Je-li zařízení kvalifikováno, může začít **validace procesu**. Ta může být **prospektivní**, prováděná před zahájením výroby, **souběžná**, při níž z praktických důvodů současně s validací probíhá výroba prvních šarží a konečně **retrospektivní validace** vycházející z dokumentace o dosavadních výrobních šaržích (10-30 šarží) u dobře definovaných procesů.

Optimalizace procesů výroby léčiva by měla vyústit v prospektivní validaci. Při ní se vychází z popisu výroby s přehledem kritických kroků a parametrů, jejichž změna může mít velký vliv na kvalitu produktu. Cílem validace procesu je poskytnout důkaz, že v případě, kdy se příslušné kritické parametry pohybují ve specifikovaném rozmezí, se vždy získá produkt se specifikovanou jakostí. Velikost šarže má být při validaci pokud možná stejná jako u výrobních šarží.

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.

Při validacích se nelze spokojit s hodnocením typu vyhovuje/nehovuje specifikaci, ale je třeba zjišťovat reálné hodnoty parametrů. Ty by se měly 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 je třeba považovat určený limit za extrémní hodnotu, která nesmí být nikdy překročena. Průměrné výsledky by ale měly být mnohem lepší než povoluje specifikované rozmezí. Na druhé straně by z výsledků zkoušek mělo být zřejmé, že meziprodukt, který obsahuje nečistotu v množství, které je na hranici limitu, lze bez problémů použít pro další stupeň. Pokud to zřejmé není, měla by být robustnost procesu potvrzena speciálními zátěžovými zkouškami (challenge tests). Podobně je třeba přistupovat k požadavkům na čistotu zařízení při čistících operacích. Kritériem přitom jsou povolené limitní hodnoty obsahu látky v oplachových vodách a stěrech z ploch zařízení. Zařízení používané univerzálně musí být prokazatelně očištěitelné od zbytků předchozího výrobku, v opačném případě se na něm smí vyrábět jen jediný produkt.

Postup při provádění validací je vždy třeba přizpůsobit podmínkám konkrétního procesu. Výsledky nelze pouze sumarizovat, ale musí být správně statisticky vyhodnoceny.

Při výrobě substancí léčiv může někdy požadavek na statistickou přijatelnost souboru výsledků představovat problém ekonomického rázu. Validním postupem by mělo být připraveno již léčivo použité pro zkoušky stability. Takové zkoušky však musí předcházet pravidelné výrobě (u léčivých látek je to nejméně půl roku, většinou je třeba počítat s delším intervalem, protože připravené šarže substance se obvykle použijí i k přípravě validačních šarží léčivého přípravku a i u těch je třeba provést zkoušky stability.). Protože by měly být vyrobeny minimálně tři validační šarže, může být u drahých léčiv prospektivní validace velmi nákladná. Určitým řešením je souběžná validace, kdy validační šarže slouží k přípravě produktu pro stabilitní zkoušky. Přesto se může stát, že se výroba neuskuteční ve statisticky přijatelném počtu šarží. Takové případy se mohou řešit retrospektivní validací. Ta je sice ekonomicky výhodnější než prospektivní validace, je však spojena s rizikem možného přerušení výroby a ještě větších ekonomických ztrát v případě, kdy se ukáže, že proces není dostatečně robustní a reprodukovatelný. Je proto účelné se na retrospektivní validaci nespolehat a používat ji jen k potvrzení výsledků prospektivní nebo souběžné validace prováděné s minimálním počtem validačních šarží.

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

## Dokumentace

Zásady SVP a podobně i normy ČSN-ISO řady 9000 popisující systém řízení jakosti věnují dokumentaci všech kroků výzkumu, vývoje, výroby, kontroly a distribuce léčiv velkou pozornost.

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 validační zprávy pro jednotlivé výrobní a kontrolní postupy. Důležitými součástmi dokumentace je i zpráva o vývoji výrobku, zpráva o převedení technologie a základní údaje o léčivé látce, tzv. Drug Master File. Vytvořené dokumenty musí mít předepsanou strukturu a být „v řízeném stavu“, tj. musí předepsaným způsobem kontrolovány, posuzovány, schvalovány, revidovány, distribuovány, a archivovány. 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. Dokumentační povinnosti, „papírování“, se staly neodmyslitelnou činností každého chemika a základním předpokladem splnění požadavků SVP. 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 např. bylo možné vysledovat historii výroby každé šarže nejméně do doby 1 roku po datu ukončení použitelnosti (expirace) výrobku.

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

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. Přepsané výsledky analýz je třeba doplnit odkazem na jednotlivé analytické atesty, aby bylo možné atesty vyhledat a zkontrolovat. Atesty mají obsahovat odkazy na předepsané kontrolní postupy a na stránky laboratorních deníků pracovníků analytické kontroly s naměřenými výsledky a výpočty.

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). Komplexní informace o léčivé látce, postupu její výroby a kvalitě poskytuje tzv. Drug Master File, zkratka DMF (český ekvivalent anglického termínu **základní dokument o léčivé látce** se používá jen v oficiálních materiálech SÚKL)

Na rozdíl od jiných dokumentů zatím nemá zatím **zpráva o vývoji výrobku** stanovenou jednotnou strukturu. Nicméně by měla zahrnovat charakterizaci produktu, surovin a meziproductů, popis jednotlivých stupňů syntézy a historii vývoje výrobního procesu, včetně informací o „slepých uličkách“ a zdůvodnění, proč byly opuštěny, dále pak o zvětšování objemu šarže v průběhu vývoje, včetně případných změn parametrů proti laboratornímu měřítku. Na základě zkušeností získaných při vývoji by v ní měly být definovány kritické kroky a přijatelná rozmezí hodnot procesních parametrů, uvedena analytická specifikace včetně údajů o provedených validacích analytických metod a shrnuty veškeré další údaje důležité pro vývoj výrobku.

**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 jako podklad pro zpracování plánu validace výrobního procesu. **DMF** je základní informací o léčivé látce a způsobu její výroby. Je důležitou součástí žádosti o registraci nebo změnu registrace léčiva. Látky, k nimž výrobce nemůže dodat DMF, 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 některé nedoplňuje 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 registrační agentury EMEA/CVMP/134/02.

DMF začíná obecnými údaji (název, struktura, základní vlastnosti) a pokračuje informacemi o výrobcu 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 (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 činnostech souvisejících s výrobou léčiva jsou popisovány v dokumentech nazvaných **standardní operační postup (SOP)**. Všechny tyto dokumenty mají **předepsanou strukturu** a jsou předepsaným způsobem „řízeny“, tj. vytvářeny, posuzovány, schvalovány, revidovány, archivovány popř. vyřazovány.

**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.).