UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA
V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMACEUTICKÉ TECHNOLOGIE

FORMULACE TEKUTÝCH PEDIATRICKÝCH PŘÍPRAVKŮ V PODMÍNKÁCH NEMOCNIČNÍ LÉKÁRNY

dizertační práce

PharmDr. Sylva Klovrzová

Hradec Králové, Praha 2016

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

……

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala především své vedoucí dizertační práce doc. PharmDr. Zdeňce Šklubalové, Ph.D. za její odbornou pomoc, věcné připomínky ke stylizaci, trpělivost a čas strávený při konzultacích.
Děkuji rovněž pracovní skupině doc. PharmDr. Ludmily Matysové, PhD z Katedry analytické chemie za výbornou spolupráci týkající se analytické části práce.
Velké poděkování patří i mé rodině za vytvoření nezbytného zázemí.
Práce vznikla za finanční podpory grantů: MZ ČR – RVO, FN v Motole 00064203 a studentských grantů Univerzity Karlovy SVV 260 184 a SVV 260 292.

OBSAH

1 ABSTRAKT 6
2 ABSTRACT 7
3 CÍLE PRÁCE 8
4 POUŽITÉ ZKRATKY 10
5 ÚVOD 12
6 TEORETICKÁ ČÁST 16
6.1 Legislativní rámec individuální přípravy LP 16
6.2 Perorální lékové formy vhodné pro děti 17
6.3 Stabilita perorálních tekutin 19
6.3.1 Chemická stabilita 20
6.3.2 Fyzikální stabilita 20
6.3.3 Mikrobiální stabilita 21
6.3.4 Stabilitní studie 22
6.4 Pomocné látky pro pediatrické tekuté přípravky 23
7 FORMULACE MAGISTRALITER PŘÍPRAVKŮ S PROPRANOLOL-HYDROCHLORIDEM 29
7.1 Vlastnosti propranolol-hydrochloridu 29
7.2 Tekuté lékové formy s propranololem-hydrochloridem 30
7.3 Experimentální část 33
7.3.1 Materiál 33
7.3.2 Metody 34
7.4 Výsledky a diskuze 37
8 FORMULACE MAGISTRALITER PŘÍPRAVKŮ SE SOTALOL-HYDROCHLORIDEM 50
8.1 Vlastnosti sotalol-hydrochloridu 50
8.2 Tekuté lékové formy se sotalol-hydrochloridem 51
8.3 Experimentální část 54
8.3.1 Materiál 54
8.3.2 Metody 54
8.4 Výsledky a diskuze 56
9 FORMULACE MAGISTRALITER PŘÍPRAVKŮ S FUROSEMIDEM 66

9.1 Vlastnosti furosemidu 66
9.2 Tekuté lékové formy s furosemidem 68
9.3 Experimentální část 73
9.3.1 Materiál 73
9.3.2 Metody 73
9.4 Výsledky a diskuze 77
10 ZÁVĚRY 85
11 PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI 88
12 CITOVANÁ LITERATURA 91
13 PŘÍLOHY 97

1 ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra:	**Farmaceutické technologie**
Kandidát:	**PharmDr. Sylva Klovrzová**
Školitel:	**doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.**
Název disertační práce:	**Formulace tekutých pediatrických přípravků v podmínkách nemocniční lékárny**

Perorální roztoky nebo suspenze jsou pro pediatrickou populaci vhodnou alternativou k přípravě tvrdých tobolek v lékárně. Práce se zabývá formulací stabilních tekutých perorálních přípravků s obsahem kardiologických léčiv propranol-hydrochloridu, sotalol-hydrochloridu a furosemidu určených pro děti od narození do cca 6 let věku. Při tvorbě receptur byl kladen důraz na jednoduchost rutinní přípravy v lékárně a použití pomocných látek, u nichž byla hlavním kritériem výběru bezpečnost pro dětskou populaci, v minimálním nezbytném množství.

U všech formulací byla ve stanovených časových intervalech po dobu minimálně 180 dnů při dvou různých teplotách sledována současně chemická stabilita účinné látky a protimikrobní přísady pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Za tímto účelem byly na katedře Analytické chemie Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy vyvinuty a validovány specifické analytické metody. Současně bylo sledováno pH a změny organoleptických vlastností. Kritériem chemické stability přípravku bylo snížení koncentrace léčivé látky maximálně na 95% a protimikrobní látky na 90% vzhledem k původní koncentraci (100%) v čase přípravy.

Na základě experimentálních výsledků bylo navrženo optimální složení celkem jedenácti vícedávkových pediatrických perorálních roztoků s obsahem propranolol-hydrochloridu, sotalol-hydrochloridu nebo furosemidu a s protimikrobní látkou pro magistraliter přípravu, jejich podmínky uchovávání, vhodné obaly a doba použitelnosti. Pro vybrané přípravky byla účinnost protimikrobní přísady prokázána lékopisnou metodou (Ph.Eur., 5.1.3) certifikovanou laboratoří.

2 ABSTRACT

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradci Králové

Department of:	**Pharmaceutical Technology**
Candidate	**PharmDr. Sylva Klovrzová**
Supervisor	**doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.**
Title of Doctoral Thesis:	**Formulation of extemporaneous paediatric liquid preparations in the hospital pharmacy**

In the paediatric population, oral solutions and/or suspensions represent a suitable alternative to preparation of hard capsules in the pharmacy. This thesis aims at formulation of stable liquid oral preparations with cardiologic drugs, propranol-hydrochloride, sotalol-hydrochloride and furosemide, for the children aged from newborn to approximately 6 year. At the formulation of the preparation compositions, the simple routine preparation in a pharmacy was the main target as well as the use of excipients safe for paediatric population in the minimal necessary amount.

Using a high performance liquid chromatography, chemical stability of the active ingredient and, simultaneously, the preservative was determined in all formulated preparations stored at two different temperatures at time points over minimum 180 days. In order to achieve this, the specific analytical methods were developed and validated at the department of Analytical chemistry, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové. However, the samples were examinated visually and the pH value was measured. At least 95 % of the initial drug as well as 90% of the preservative concentrations (100 %) remaining at the end of the stability study period were required.

Based on the experimental results, the optimal composition of eleven multidose paediatric oral solutions containing and propranol-hydrochloride, sotalol-hydrochloride, and furosemide, respectively, and a preservative for the extemporaneous preparation were proposed, including the storage conditions, a suitable container and the shelf-life. The efficacy of the antimicrobial preservative (Ph.Eur., 5.1.3) for the chosen preparations was demonstrated by an accredited laboratory.

3 CÍLE PRÁCE

Hlavním cílem této práce byla formulace vícedávkových perorálních přípravků (roztoků nebo suspenzí) s obsahem propranolol-hydrochloridu, sotalol-hydrochloridu a furosemidu, které jsou vhodné pro pediatrickou populaci ve věkovém rozmezí od narození do 6 let. Léčiva byla vybrána na základě konzultace s kardiology, se kterými nemocniční lékárna FN Motol v Praze intenzivně spolupracuje.

Ve složení přípravků bylo nutno zohlednit vhodnost pomocných látek jednak z pohledu klinického, tj. bezpečnosti jejich použití v pediatrii, jednak z pohledu technologického, tj. potenciálních interakcí mezi složkami. Výsledný přípravek měl mít chuť akceptovatelnou dětskými pacienty a zároveň splňovat požadavky na mikrobiální, fyzikální a chemickou stabilitu. Důraz byl kladen na minimální obsah pomocných látek, jednoduchost receptury pro rutinní magistraliter přípravu v nemocniční lékárně a zajištění stability s ohledem na možnost přípravy do zásoby.

Při formulaci receptur perorálních tekutin s aktuálními léčivy byla brána v úvahu následující kritéria:

1. Fyzikálně-chemické **vlastnosti léčivé látky**, její chuť a **stabilita** ve **vodném** prostředí
2. Výběr vhodných **pomocných látek** s ohledem na nové poznatky týkající se bezpečnosti pro pediatrickou populaci a na potenciální chemické interakce
3. Požadavek pediatrů na koncentraci **léčiva v mg/ml přípravku**
4. Cílovou věkovou skupinu v rozmezí **od narození do 6 let**
5. Zajištění stability vícedávkového přípravku minimálně po dobu **3 měsíců**

Bylo tedy třeba vytvořit vždy minimálně dvě finální formulace, pro novorozence (bez protimikrobní přísady, nejlépe sterilní) a pro děti od jednoho měsíce (s protimikrobní přísadou).

Studie probíhaly vždy ve dvou etapách – **preformulační**, kdy byly přípravky sledovány za pomoci běžných metod, např. vizuálně (organoleptické vlastnosti – barva, čirost, chuť), potenciometrickým měřením (obsah chloridů) či měřením pH. Pouze přípravky, které v preformulační studii **nevykázaly** žádné známky inkompatibility nebo nestability, byly dále hodnoceny ve **stabilitní** studii v

definitivním složení, vybraném obalu a za definovaných skladovacích podmínek. Zvoleným primárním kriteriem pro úspěšné formulace bylo udržení limitní koncentrace **účinné látky 95%** a **protimikrobní přísady**, jako nejdůležitější pomocné látky pro vícedávkové přípravky, **90%** vztaženo na počáteční koncentraci v čase přípravy, která byla považována za 100%.

Z důvodu časové náročnosti experimentů byla preformulační studie propranolol-hydrochloridu realizována v rigorózní práci autorky; na preformulační studii sotalol-hydrochloridu se podílel pregraduální student Tomáš Kříž v rámci diplomové práce, jejíž konzultantkou byla autorka. Obě práce byly realizovány ve Fakultní nemocnici v Motole.

Pro hodnocení **stabilitních studií** navržených formulací při různých teplotách byly ve **spolupráci** s katedrou Analytické chemie Farmaceutické fakulty v Hradci Králové (doc. Matysová, Mgr. Zahálka) vyvinuty a validovány analytické metody využívající vysoce účinnou kapalinovou chromatografii (HPLC), které umožnily **současně** stanovit obsah účinné látky a protimikrobní přísady. Na základě výsledků stabilitní studie byly navrženy doporučené doby použitelnosti přípravků za dodržení podmínek uchovávání (teplota, obalový materiál).

Dílčím cílem bylo pro finální přípravky s ověřenou stabilitou připravit článek pro **národní část Českého lékopisu** a zajistit tím možnost přípravy s delší dobou použitelnosti v souladu se současnými požadavky lékopisného článku **Preparata pharmaceutica**.

4 POUŽITÉ ZKRATKY

ADI	(Acceptable Daily Intake), přípustný denní příjem, platí pro použití aditiv v potravinách
BNFC	British National Formulary for Children
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use (Výbor pro humánní léčivé přípravky)
CNS	Centrální nervová soustava
ČL	Český lékopis
DAC	Deutsche Arzneimittel Codex
EFSA	European Food Safety Scientific Opinions (Evropský úřad pro bezpečnost potravin)
EuPFI	European Paediatric Formulation Initiative
EMA	European Medicines Agency (Evropská léková agentura)
FDA	Food and Drug Administration (Úřad pro kontrolu potravin a léčiv v USA)
FNA	Formularium Netherlander Apotheker
FN Motol	Fakultní nemocnice v Motole
FUR	Furosemid
HCl	Hydrochlorid
HPLC	High-performace Liquid Chromatography (vysokoúčinná kapalinová chromatografie)
HVLP	Hromadně vyráběný léčivý přípravek (registrovaný přípravek)
ICH	The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (Mezinárodní konference o technických požadavcích pro registraci léčiv pro lidské užití)
IPLP	Individuálně připravovaný léčivý přípravek
LF	Léková forma
LP	Léčivý přípravek
NRF	Neues Rezeptures Formularium
Ph. Eur.	European Pharmacopoeia (Evropský lékopis)

p.o.	Per os (perorální podání)
p.r.	Per rectum (rektální podání)
PRO	Propranolol-hydrochlorid
SOT	Sotalol-hydrochlorid
STEP	Safety and Toxicity of Excipients for Paediatrics
SPC	Summary of Product Characteristics (Souhrn údajů o přípravku)
SÚKL	Státní ústav pro kontrolu léčiv
USP-NF	The United States Pharmacopeia/The National Formulary
WHO	World Health Organization
% w/w	Weight per weight (hmotnostní procento)
% w/v	Weight per volume (hmotnostně – objemové procento)

5 ÚVOD

I přes širokou nabídku registrovaných přípravků na farmaceutickém trhu, zůstává individuální příprava nedílnou součástí práce farmaceuta v lékárně. Zvláště menší cílové skupiny pacientů, jako jsou například děti se specifickými chorobami, jsou často odkázány na léčbu pomocí tzv. „orphan drugs“ nebo magistraliter přípravky v rámci individuální receptury (IPLP).

To je dáno mj. skutečností, že registrované léčivé přípravky (LP) zdaleka nepokryjí požadavky pediatrů. Dostupná léková forma registrovaného LP je často nevhodná pro podávání dětem. Většinou se jedná o tablety pro dospělé pacienty, které obsahují až dvacetinásobně vyšší obsah účinné látky, než je jednotlivá dávka pro dítě. V takovém případě je v souladu s platnou legislativou nutné, aby lékárník pro pediatrické pacienty zajistil léčivý přípravek ve vhodné lékové formě s požadovaným obsahem účinné látky.

Zmíněné problémy jsou patrné především v dětské kardiologii. Tento obor se v posledních letech progresivně rozvíjí a počet dětských pacientů včetně novorozenců neustále roste, jak ukazuje praxe v Dětském kardiocentru FN Motol. Kromě invazivních léčebných postupů využívají pediatričtí kardiologové v řadě indikací, např. u arytmií, farmakoterapeutickou intervenci. Jedná se především o kojence a batolata, u kterých je potřeba účelnou farmakoterapií překlenout období pro dosažení stanoveného věku vhodného k chirurgickému zákroku.[1] Pediatričtí pacienti jsou často zprvu hospitalizováni na odborném pracovišti v nemocnici. Po stabilizaci jejich stavu pomocí farmakoterapie bývají propuštěni do domácí péče a následně pravidelně docházejí do ambulancí praktických pediatrů.

Pokud není na trhu dostupný registrovaný lék vhodný pro podání dětem, může lékař pro zajištění léčby použít registrovaný léčivý přípravek určený pro dospělé pacienty v režimu "*off-label use*", tedy ne zcela v souladu se Souhrnem údajů o přípravku (SPC)[2]. Toto je možné realizovat u dávky, které lze dosáhnout např. půlením nebo čtvrcením tablet. Druhou možností je dovézt požadovaný lék v rámci mimořádného dovozu, pokud je v zahraničí dostupný, a je akceptovatelná doba dovozu a cena přípravku.[3] Další možností je připravit daný léčivý přípravek individuálně v lékárně.

S ohledem na potenciální rizikovost magistraliter přípravy je nezbytné na problematiku nahlížet z několika hledisek:

1) z pohledu technologického, tj. fyzikálně-chemických vlastností léčivých a pomocných látek

2) z pohledu bezpečnosti použitých látek pro cílovou skupinu pacientů, tj. dětí v širším věkovém rozmezí

3) z pohledu compliance, tj, optimální akceptovatelnosti přípravku dětskými pacienty

---

Specifikací a charakterizací potřeb pediatrických pacientů z pohledu lékových forem se zabývá publikovaná monografie a přehledové články autorky:

KLOVRZOVÁ, S., HORÁK, P. et al.: Individuálně připravovaná léčiva pro pediatrii, GALEN 2013, 103s ; ISBN 978-807492-064-6

Monografie řeší problematiku pediatrických lékových forem připravovaných v lékárnách. V první částí se zabývá specifiky pediatrické populace a obecnými pravidly pro magistraliter přípravu. Problematika je zpracována ve formě doporučených postupů pro individuální přípravu v lékárnách, které vycházejí z naší i evropské legislativy. Ve druhé části publikace jsou uvedeny nejčastěji používané účinné látky, které nejsou obsaženy v registrovaných přípravcích určených pro dětské pacienty, a ze kterých jsou tedy připravovány léčivé přípravky v režimu IPLP v lékárnách. U uvedených léčivých látek jsou shrnuty jejich základní charakteristiky a jsou uvedeny receptury používané ve FN v Motole.

KLOVRZOVÁ, S.: Pediatrické lékové formy v magistraliter přípravě I., *Prakt. lékáren.* 2011, 7 (6), s. 276-278. ISSN 1801-2434.

První část článku upozorňuje na specifika dětských pacientů s ohledem na jejich věk a s tím související vhodné lékové formy. Řešení problematiky vychází z mezinárodní legislativy - dokumentů EMA, národní legislavy – Vyhlášky o správné lékárenské praxi a německého kodexu NRF-DAC. Pozornost je věnována pevným perorálním lékovým formám, zejména přípravě želatinových tobolek v podmínkách lékárny. Příprava je nahlížena z několika aspektů: problém vhodnosti přípravy tobolek z registrovaných léčivých přípravků (např. u retardované nebo acidorezistentní lékové

formy), dodržení pravidel bezpečnosti přípravy u zdraví ohrožujících látek (tzv. "hazard drugs"), a dále pak z pohledu samotné aplikace dětským pacientům do 6 let věku.

KLOVRZOVÁ, S., ŠKLUBALOVÁ, Z.: Pediatrické lékové formy v magistraliter přípravě II. - perorální roztoky a suspenze. *Prakt. lékáren.*, 2012, 8(2), s. 80-84. ISSN 1801-2434.

Druhá část článku je zaměřena na tekuté perorální lékové formy (LF), především roztoky a suspenze, které jsou určeny pro léčbu pediatrické populace. Hodnotí jejich výhody a nevýhody ve srovnání s pevnými perorálními LF, tj. želatinovými tobolkami. Práce se zaměřuje na vhodnost pomocných látek z hlediska bezpečnosti a akceptovatelnosti pro dětské pacienty a pro zajištění stability tekuté lékové formy – mikrobiální, chemické i fyzikální, která v praxi určuje maximální dobu použitelnosti přípravku za definovaných podmínek uchovávání. Podrobněji jsou uvedeny i konkrétní pomocné látky a komerční vehikula, která jsou používána v zahraničí. Práce zároveň upozorňuje i na nutnost volby správného obalu s ohledem na stabilitu LP a požadovanou přesnost dávkování pro děti.

Pojem pediatrická populace zahrnuje velmi širokou věkovou skupinu dětí v rozmezí od narození do 18 let, které se liší fyziologií, vývojem metabolismu a schopností přijímat dané lékové formy.[3] V kojeneckém věku dochází navíc k rychlému zvyšování hmotnosti, až 1 kg/měsíčně, a s tím souvisí potřeba velmi časté úpravy (zvyšování) dávky účinné látky.

Léčivý přípravek je dětem léčeným ambulantně, tedy v domácí péči, podáván nejčastěji rodiči. Proto by léková forma měla být pro manipulaci co nejjednodušší a její chuť akceptovatelná malými dětmi. Při výběru lékové formy a formulaci přípravku je nutno také brát v úvahu požadavek lékařů na možnost dlouhodobé a pravidelné aplikace, optimálně po dobu nejméně 3 měsíců, tak aby se frekvence návštěv lékaře zbytečně nenavyšovala. V lékárně lze pro perorální systémové podání léčiva připravit pevné lékové formy, tj. dělené prášky v želatinových tobolkách, nebo tekuté lékové formy, tj. roztoky nebo suspenze.[4]

Tobolky v tomto případě slouží jako primární obal pro dávku účinné látky, jelikož děti do 6 let obvykle nejsou schopny celou tobolku spolknout.[5] Rodiče nebo ošetřující personál pak obsah tobolky vysypou do vody nebo vhodného vehikula, v kterém je látka dítěti podána. Přestože pevná LF má dobrou stabilitu, její základní nevýhodou je, že dávka v tobolce je fixní a při změně hmotnosti nebo změně stavu nemoci je nutno připravit co nejrychleji tobolky s jinou dávkou, a to často aniž by se zcela dočerpaly přípravky s předcházející dávkou. Kromě časové zátěže pro lékárnu to představuje nezanedbatelnou ekonomickou zátěž pro zdravotní systém.

Daleko vhodnější z pohledu dávkování se jeví tekuté perorální lékové formy, především roztoky, u kterých lze dávku rychle odměřit a podat, a v případě úpravy dávkování není nutno připravovat nový roztok. Tekuté LF lze s výhodou podávat již od novorozeneckého věku a to i v případě použití výživové sondy. Limitujícími faktory jsou především stabilita přípravku, zejména u vodných roztoků, které jsou obecně preferovány, vhodnost pomocných látek pro děti a přijatelná chuť přípravku. Formulace tekutých pediatrických lékových forem, obzvláště pro pediatrické pacienty, klade vysoké nároky na znalosti farmaceuta. Receptury by měly vycházet z provedených stabilitních studií nebo z oficinálních receptářů, odpovídat současným nárokům na bezpečnost přípravku a být snadno proveditelné v podmínkách lékárny.

6 TEORETICKÁ ČÁST

6.1 Legislativní rámec individuální přípravy LP

Legislativa týkající se individuální přípravy léčiv je v rámci jednotlivých států Evropy zcela v kompetenci národních právních předpisů.

Závaznou legislativní normou v České Republice je **Český lékopis,**[6] který vychází z Evropského lékopisu a obsahuje i Národní část s oficinálními recepturami. V evropské části lékopisu jsou uvedeny léčivé a pomocné látky včetně požadavků na kvalitu, které lze při přípravě použít. V této části lékopisu jsou charakterizovány jednotlivé lékové formy a jejich jakostní kritéria. Řadu z nich lze připravit v lékárně v režimu IPLP.

Kapitola **Farmaceutické přípravky** (Preparata pharmaceutica), která vyšla v Doplňku 2013 ČL 2009, rozlišuje farmaceutické přípravky **registrované** příslušnou oprávněnou autoritou a **neregistrované,** připravené na základě specifické potřeby pacienta v souladu s legislativou. V této skupině jsou dále uvedeny dvě kategorie neregistrovaných farmaceutických přípravků:

1. individuálně připravené léčivé přípravky: tj. přípravky pro určitého pacienta nebo skupinu pacientů a vydávané hned po přípravě
2. přípravky zhotovené do zásoby ke skladování do doby, než je předložen požadavek na použití

Při přípravě n**eregistrovaného** léčivého přípravku je třeba vhodně posoudit rizika. Posuzuje se jednak kritický vliv různých parametrů (interakce léčivých a pomocných látek, obalů; postup přípravy; stabilita přípravků) na jakost přípravku, a jednak míra rizika, které může pro danou skupinu pacientů přípravek představovat.

Kapitola Farmaceutické přípravky vychází z **Resoluce Rady Evropy** na zajištění kvality a bezpečnosti pro léčivé přípravky připravované v lékárnách.[7] V této Resoluci jsou podrobněji popsány požadavky na vedení dokumentace přípravy v lékárně, informace na štítcích, označujících léčivé přípravky, a výpočet hodnocení rizik. Tato Resoluce se po novelizaci Vyhlášky o správné lékárenské praxi[9] stane její součástí a bude tedy závazná pro přípravu léků v českých lékárnách.

Zákon o léčivech[2] v § 79 stanovuje základní pravidla pro přípravu léčivých přípravků v lékárnách v České Republice. Léčivé přípravky lze připravovat na

základě lékařského předpisu, v souladu s Českým lékopisem nebo dle technologického předpisu schváleného oprávněnou osobou. Pro přípravu lze použít léčivé a pomocné látky uvedené v Českém lékopisu nebo ve **Vyhlášce** O stanovení seznamu léčivých a pomocných látek[8]. Ve výjimečných případech lze žádat o povolení Ministerstva zdravotnictví ČR. Suroviny musí opatřeny dokladem o jakosti, tj. certifikátem akreditované laboratoře SÚKL.

Prováděcím právním předpisem Zákona o léčivech je **Vyhláška o správné lékárenské praxi**.[9] Tato vyhláška určuje zásady pro individuální a hromadnou přípravu léků v lékárně, přístrojové vybavení lékárny, dokumentaci, atd. Kromě surovin umožňuje použít k přípravě i registrované léčivé přípravky, u nichž není tento způsob použití uveden ve schváleném souhrnu údajů o přípravku, pouze však v případě, že není na trhu přítomen přípravek umožňující dávkování vyznačené na receptu. Vyhláška kromě jiného uvádí způsob označení léčivých přípravků štítky, na kterých musí být uvedena i **doba použitelnosti**. Ta je určena jako doba, po kterou si při dodržení předepsaného způsobu uchovávání léčivý přípravek zachovává své deklarované vlastnosti. Dobu použitelnosti určuje připravující lékárník nebo farmaceutický asistent. Doporučené doby použitelnosti se v praxi stanovují dle platného pokynu SÚKL **LEK 5**.[10] Maximální doba použitelnosti u pevných lékových forem dle tohoto pokynu je **3 měsíce**, u tekutých forem **1 měsíc**. V pokynu jsou dále uvedeny doby použitelnosti a způsob uchovávání k jednotlivým přípravkům obsaženým v Národní části lékopisu.

Pro určení chemické stability léčivých či pomocných látek lze využít publikované výsledky stabilitních studií, které pocházejí většinou ze zahraničních odborných časopisů. Jen velmi zřídka se však jedná o studie cílené obecně na recepturu anebo na pediatrické přípravky.

6.2 Perorální lékové formy vhodné pro děti

Problematika pediatrické populace s ohledem na její specifika a vhodnost lékových forem pro jednotlivé věkové skupiny byla publikována v článku a monografii autorky[3,4]

Věkové rozdělení pediatrické populace vychází z pokynů Evropské lékové agentury (EMA)[11], která rozděluje děti do 5 základních věkových skupin, viz Tabulka 1.

Další dokument EMA – Reflection paper[5] se podrobněji zabývá předchozími věkovými skupinami s ohledem na schopnosti dětí přijímat lékové formy a určuje vhodné cesty podání (Tabulka 1). Poměrně široká skupina dětí (2-11 let) se dále člení na předškolní a školní věk, kdy za zlomový rok se považuje 6 let, kdy by děti měly být schopné spolknout tabletu nebo tobolku. Zároveň tento dokument řeší použité pomocné látky v léčivých přípravcích pro děti, kterých je třeba se z důvodu nežádoucích účinků pokud možno vyvarovat.

Tabulka 1 – Věkové skupiny dětí a cesta podání léku dle EMA[5,11]

Terminologie	**Věk**	**Způsob aplikace léčiv**
Předčasně narození		Parenterální sonda, klyzma
Novorozenci	0 – 27 dní	Parenterální sonda, klyzma
Kojenci a batolata	1 – 23 měsíců	+ roztoky, suspenze, čípky, tobolky k vysypání
Děti	2 – 11 let	+ tablety, tobolky
Dospívající	12 – 18 let	+ tablety, tobolky

Nejčastěji se v lékárně pro pediatrické pacienty připravují dva druhy perorálních lékových forem se systémovým účinkem: dělené perorální prášky v tvrdých želatinových tobolkách a vodné roztoky nebo suspenze. Každá z těchto forem má své výhody a nevýhody.

Příprava **tobolek** v podmínkách lékárny je časově i finančně náročnou činností vyžadující zkušený připravující personál. Hrozí především riziko nepřesnosti dávky, zvláště v případě velmi nízkých navážek (jednotky miligramů) u silně účinných léčivých látek, neboť homogenizace účinné látky s plnivem je prováděna pomocí třenky a těrky a finální směs se rozplňuje pomocí ručního strojku. Kontrola obsahové stejnoměrnosti je v praxi většinou nemožná.

Významnou výhodou pevných lékových forem je ovšem jejich fyzikálně-chemická a mikrobiální stabilita s deklarovanou dobou použitelnosti tři měsíce.[10] Pomocné látky

používané jako plnivo (laktosa, škroby) nepředstavují pro většinu malých pacientů žádné riziko, vyjma intolerance mléčného cukru. Malí pacienti ve věku do 6 let však nejsou schopni tobolku spolknout a je tedy nutné její obsah před podáním vysypávat do dětské stravy. Další nevýhodou tobolek je fixní jednotlivá dávka, jak již bylo zmíněno v předcházející části. Zajištění přípravy tobolek s jiným množstvím léčiva může být vážným časovým problémem i v nemocniční lékárně, například během víkendu.

Tekutá léková forma - perorální roztok nebo suspenze, je tedy výhodnější, neboť zajišťuje potřebnou flexibilitu dávkování, zjednodušuje podání účinné látky kojencům a malým dětem, a přijatelnou chutí zvyšuje compliance dětského pacienta. Novorozencům lze roztok podat i výživovou sondou, v tom případě by měl splňovat požadavek isotonity a být bez protimikrobních přísad. Náročnější je vytvoření receptury s optimálním složením pro vyšší věkovou kategorii dětských pacientů.

Pro perorální tekutiny je nezbytné použít obal s dávkovacím zařízením, umožňujícím co nejpřesnější odměření dávky. K tomuto účelu se nejvíce hodí perorální pipeta (stříkačka) kombinovaná se speciálním uzavíracím adapterem na lahvičku.

Problematika perorálních roztoků a suspenzí byla podrobněji publikována v článku autorky[12].

6.3 Stabilita perorálních tekutin

Tématikou stability perorálních tekutin se zabývá rigorózní práce autorky[13] a článek autorky[12]. V této práci jsou uvedeny pouze nezbytné informace s ohledem na studovanou problematiku.

Obecně je **stabilita** léčivé látky a léčivého přípravku definována jako schopnost zachovat si ve stanovených mezích po určitou dobu a za stanovených podmínek uchovávání určené jakostní znaky[14]. Jejím praktickým cílem je stanovení doby použitelnosti léčivého přípravku a podmínek uchovávání a hodnotí se stabilitními testy, během nichž se posuzují změny vlastností, obsah účinné látky, průběh rozkladných reakcí či vznikající rozkladné produkty.

U perorálních tekutin lze pozorovat nestabilitu vyvolanou chemickými, fyzikálními nebo mikrobiálními podněty. Výsledky stabilitních testů přípravku jsou rozhodující

pro výběr vhodného obalového materiálu (sklo, plast) a stanovení podmínek skladování (teplota, světlo, vzduchotěsnost obalu).

6.3.1 Chemická stabilita

Chemická nestabilita látek rozpuštěných v daném vehikulu ovlivňuje finální stabilitu roztoků a suspenzí. Nejčastějšími rozkladnými reakcemi jsou hydrolýza a oxidace, dále pak izomerace a fotolýza. Při rozkladu účinné látky mohou vzniknout jak neaktivní metabolity, tak toxické látky.

Hydrolytické reakce probíhají ve vodném prostředí a jsou závislé na hodnotě pH a teplotě skladování. U těchto látek je klíčové zjistit optimální pH, v jehož rozmezí je daná látka stabilní.

U látek citlivých na oxidaci je nutno eliminovat vliv kyslíku a přítomnost stopových kovů jako katalyzátorů. Při formulaci přípravků je základní prevencí přídavek antioxidantů a vhodný vzduchotěsný obal.

V případě látek studovaných v této práci, u propranol-hydrochloridu a sotalol-hydrochloridu, dochází k hydrolýze v alkalickém prostředí. Naopak furosemid je stabilní v neutrálním až alkalickém prostředí, při nižším pH dochází k jeho vysrážení z roztoku a následně k jeho hydrolytickému rozkladu (viz kapitola 9.1).

K fotolytickému rozkladu látek dochází působením světla. Lze mu zabránit snížením expozice světla během manipulace při přípravě a vhodným obalem chránícím před světlem (tmavé sklo, tmavý sáček, alobal, papírová skládačka). Fotodegradace je známá v případě furosemidu, což je nutné zohlednit při přípravě a manipulaci.

Chemická stabilita je prokazována vhodnými analytickými metodami, nejčastěji HPLC.

6.3.2 Fyzikální stabilita

Fyzikální stabilita souvisí většinou s konkrétní lékovou formou, nikoliv s účinnou látkou. Obecně se sledují organoleptické vlastnosti přípravku, jako jsou vzhled, barva, chuť a zápach. Tyto vlastnosti musí zůstat zachovány po celou dobu deklarované doby použitelnosti přípravku.

Fyzikální nestabilita se u roztoků může projevovat vypadáváním původně rozpuštěné látky ve formě krystalů a lze ji většinou sledovat organolepticky jako změnu čirosti

nebo vznik zákalu. K těmto jevům může významně přispívat střídání skladovacích teplot doprovázené změnami rozpustnosti látky nebo změny pH.

U suspenzí se fyzikální nestabilita projevuje sedimentací částic s následným rozvrstvením suspenze. Může být doprovázena změnou velikosti dispergovaných částic (tzv. Ostwaldovo zrání),[14] případně změnou charakteru sedimentu či změnou viskozity. Závažným důsledkem je zhoršená roztřepatelnost suspenze, která vede k obtížnému odměření správné dávky a nesprávnému dávkování. Příklad selhání terapeutického efektu amiodaronu v důsledku špatně připravené magistraliter suspenze popisují Hurtado a Moffett.[15] Zabránit výše uvedeným nežádoucím fyzikálním změnám lze použitím pomocných látek zvyšujících viskozitu prostředí, případně látek snižujících povrchové napětí.

6.3.3 Mikrobiální stabilita

Všechny léčivé přípravky musí splňovat lékopisné požadavky na mikrobiální čistotu, která se u jednotlivých lékových forem liší.[6] Hodnocení mikrobiální stability se provádí dle zkoušek uvedených v Českém lékopisu. Mikrobiologická jakost nesterilních léčivých přípravků musí odpovídat požadavkům článku Mikrobiologická jakost nesterilních léčivých přípravků a látek pro farmaceutické použití (5.1.4). Při vývoji nového léčivého přípravku s protimikrobní přísadou je doporučena zkouška 5.1.3. Účinnost protimikrobních konzervačních látek.[6]

V lékárně mikrobiální stabilitu IPLP ovlivňuje řada faktorů: mikrobiální kvalita výchozích surovin, čistota/sterilita laboratorních pomůcek a finálních obalů, hygienické pracovní postupy připravujícího farmaceuta/asistenta, čistota pracovního prostředí. Dodržování hygienických pravidel je zcela zásadní při přípravě lékových forem s obsahem vody, která je živným prostředím pro růst mikroorganismů. U IPLP omezuje mikrobiální stabilita dobu jeho použitelnosti i přesto, že může mít dostatečnou fyzikální i chemickou stálost. Opakovaným použitím u vícedávkových vodných roztoků může dojít k pomnožení bakterií a plísní a následně ke znehodnocení léčivého přípravku. Proto je nezbytné vícedávkové roztoky stabilizovat vhodnou protimikrobní přísadou.

Při přípravě tekutých perorálních přípravků bez protimikrobních přísad (sine antimikrobico, s.a.) je během přípravy třeba minimalizovat možnost kontaminace

použitím sterilního obalu, vody na injekci a aseptickou přípravou v čistém prostředí. U přípravků s.a. je důležitá vzduchotěsnost finálního obalu. Z tohoto hlediska jsou vhodné vialky uzavřené těsnící pryžovou zátkou a kovovou pertlí, které lze i s obsahem roztoku sterilizovat v autoklávu, pokud se nejedná o termolabilní látky. Tento obal je ale vhodný spíše do nemocničního prostředí, pro ambulantní pacienty není dávkování příliš komfortní.

V praxi jsou často používány sterilizované lékovky se šroubovacím uzávěrem a speciálním adapterem pro perorální stříkačky. V tomto obalu je doporučováno uchovávat perorální roztoky v chladničce. Snížená teplota zpomaluje nárůst případných mikroorganismů a tím zvyšuje mikrobiální stabilitu. Při zamražení přípravku je růst mikroorganismů zastaven. Toho lze využít při přípravě jednotlivých dávek do plastových perorálních stříkaček, např. pro novorozence.

S riziky případné kontaminace přípravku a možnostmi ochrany by měli být obeznámeni také pacienti, v případě dětí zdravotnický personál na odděleních nebo rodiče aplikující lék.

6.3.4 Stabilitní studie

Stabilitní zkoušky se realizují především u registrovaných léčivých přípravků, kde je nutno znát jejich dlouhodobou stabilitu a tedy dobu použitelnosti.[14] Registrované léčivé přípravky deklarují obsah účinné látky 90 – 105% v průběhu doby použitelnosti. Stabilitní studie probíhají buď jako zrychlené nebo dlouhodobé, v reálném čase. Pro stabilitní testování jsou používány pokyny (guidelines) ICH,[16] WHO[17] a EMA.[18] Cílem zrychlených stabilitních testů je vystavit produkt náročnějším podmínkám, kdy dochází ke zvýšení rychlosti rozkladné reakce. To je zajištěno zvýšenou teplotou (40 ± 2°C) a relativní vlhkostí 75 ± 5 %.

Rychlost rozkladné reakce probíhá podle následující rovnice (1)[19]

$$\frac{c_0}{c_1} = k \cdot t \qquad (1)$$

kde *k* je rychlostní konstanta, *t* je čas a *C* je koncentrace v čase 0, resp. v čase t.

Rozkladné reakce jsou přímo ovlivněny teplotou, jejíž vliv na kinetiku reakce popisuje Arrheniova rovnice (2) [14,19]

$$\log k = \log Z \frac{E}{2{,}303\,R} \cdot \frac{1}{T} \qquad (2)$$

ve které Z je konstanta, E je aktivační energie, R je plynová konstanta a T je teplota (K). Z této rovnice obecně vyplývá, že při zvýšení teploty o 10°C se rychlost reakce zvýší obvykle 2-4 násobně. [14,19]

V případě magistraliter přípravků jsou požadavky na stabilitu stanoveny článkem Preparata pharmaceutica[6] a v Resoluci Rady Evropy[7]. Farmaceut je povinen posoudit nejprve tzv. rizikovost přípravku, jak již bylo zmíněno dříve. U systémových přípravků s obsahem silně účinných látek, např. zde použitých kardiologických léčiv, určených pro pediatrickou populaci je rizikovost možno chápat jako vysokou. Rizikovost se dále zvyšuje přípravou do zásoby (*stock preparation)* v podmínkách nemocniční lékárny. V těchto případech je **nutné** doporučenou dobu použitelnosti deklarovat na základě provedených **stabilitních testů** realizovaných za podmínek předpokládaného skladování, v konečném složení přípravku a konečném obalu. Jen na základě takové studie je možné uvažovat o jiné době použitelnosti, než vymezené legislativou**.**[10]

6.4 Pomocné látky pro pediatrické tekuté přípravky

U přípravků určených dětem je třeba věnovat výběru pomocných látek zvýšenou pozornost. Součástí pediatrických přípravků by měly být výhradně netoxické látky v minimálním množství. Nalezení kompromisu mezi vhodnou lékovou formou umožňující pohodlné dávkování a její stabilitou, vyžadující případné použití pomocných látek, je jednou z největších formulačních výzev při přípravě pediatrických lékových forem.

Hodnocením bezpečnosti pomocných látek se zabývá pokyn Evropské lékové agentury pro vývoj léčiv pro pediatrické užití[20]. Hodnotí následující kritéria:

1. věková skupina dětských pacientů
2. množství obsažené pomocné látky v jednotlivé a denní dávce léčivého přípravku
3. očekávaná délka léčby (krátkodobá, dlouhodobá)
4. ovlivnění chuti přípravku
5. možné alergie a senzibilizace (u dětí je vyšší riziko než u dospělých)

Informace o bezpečnosti pomocných látek je v tomto pokynu EMA doporučeno hledat v tomto pořadí:

1. Platné guidelines Evropské lékové agentury a ICH
2. Vědecká stanoviska CHMP (*Committee for Medicinal Products for Human Use*)
3. Použití dané pomocné látky u registrovaného přípravku pro děti (obdobná věková skupina, onemocnění a způsob podání)
4. Legislativa týkající se potravin[21] - informace se vztahují na dlouhodobý příjem v potravinách; mohou být aplikovatelné pouze na perorální lékové formy podávané dlouhodobě
5. Informace EFSA (*European Food Safety Scientific Opinions*) mají omezený význam, vztahují se pouze k potravinám. Pokud obsahují varování pro určitou látku pro dospělou populaci, neměla by se použít tato látka pro děti
6. Informace v indexované literatuře

Nejčastěji používané pomocné látky pro děti a výčet jejich rizik uvádí dokument EMA Reflection paper.[5] Za zcela **nevhodné** pomocné látky pro děti do 3 let jsou považovány benzylalkohol, propylenglykol a ethanol.
Užitečným zdrojem s informacemi o bezpečnosti běžně používaných aditiv pro děti je volně přístupná databaze STEP (*Safety and Toxicity of Excipients for Paediatrics*) projektu EuPFI (*European Paediatric Formulation Initiative*)[22]. Z amerických zdrojů lze použít databázi GRAS (*Generally Recognized as Safe*) na stránkách lékové agentury FDA (*Food and Drug Administration*).[23]

Nejcitlivější skupinou dětí z pohledu farmakoterapie jsou samozřejmě **nedonošenci** a **novorozenci**, kteří mají nevyzrálý hepatální a renální systém (enzymové vybavení, metabolismus a clearance), odlišný distribuční objem (poměr voda/tuk), nižší orální absorpci a zvýšené riziko průniku látek do CNS. Touto skupinou pacientů se podrobněji zabývá pokyn EMA pro novorozence a předčasně narozené děti[24].
Tito pacienti jsou většinou léčeni na pediatrických klinikách a příprava lékových forem pro ně je tedy soustředěna do nemocničních lékáren. Optimální pomocná látka

pro roztoky, které jsou těmto dětem většinou aplikovány pomocí výživové sondy, je voda na injekci bez jakýchkoliv dalších aditiv.

Příprava roztoků bez protimikrobních přísad vyžaduje **aseptické** podmínky a probíhá na oddělení sterilní přípravy léčiv v lékárně[25] v prostoru třídy čistoty A, kde roztok je filtrován přes sterilní membránový filtr 0,2μm do sterilních lékovek.

Optimálně se adjustuje do vialek s pryžovou zátkou a pertlovacím uzávěrem, ve kterých lze roztok případně sterilizovat v autoklávu

. V praxi jsou používány často i sterilní šroubovací lékovky s adaptérem pro perorální pipetu kvůli jednodušší aplikaci. Další možností používanou spíše v zahraničí je rozplnění do jednodávkových obalů, nejčastěji injekčních stříkaček a jejich zmražení ihned po přípravě. Mikrobiální stabilita takto připravených roztoků je omezená, závislá na použitém obalu a možnosti sterilizace v autoklávu. Po otevření je nutno spotřebovat přípravek do 24 hodin.

Problematikou aseptické přípravy v podmínkách nemocničních lékáren v mezinárodním srovnání se zabývá článek autorky:

LE BRUN, P.; KLOVRZOVÁ, S.: Safe aseptic preparation in the pharmacy and on the ward. *European Journal of Hospital Pharmacy* 2012;19:474–476. doi:10.1136/ejhpharm-2012-000193, IF 0,154

Článek pojednává o problematice aseptické přípravy v podmínkách nemocničních lékáren. Zabývá se v obecné rovině organizací aseptické přípravy, přičemž vychází z mezinárodní legislativy týkající se tohoto tématu, jako jsou EDQM a pokyny PIC/s (Pharmaceutical Inspection Convention/scheme), a z nizozemského dokumentu Dutch GMP Hospital Pharmacy. V článku jsou popsány postupy přípravy, vybavení a přístroje (laminární boxy, biohazardy), validace a monitoring aseptických technik. Jsou srovnávány přístupy k jednotlivým tématům v Nizozemí a v České republice. V závěru se autoři zamýšlejí nad budoucností aseptické přípravy v nemocničních lékárnách. Robotizace procesu by jednoznačně snížila rizikovost celého procesu, je však finančně náročná. Nezbytností do budoucna se jeví vytvoření a sjednocení prakticky aplikovatelných doporučených postupů ("guidelines") platných ve všech evropských zemích.

Běžně používané pomocné látky pro přípravu perorálních tekutin pro děti byly publikovány v článku autorky.[12] Následující část se zaměří pouze na pomocné látky, které byly použity ve studovaných formulacích s propranolol-hydrochloridem, sotalol- hydrochloridem a furosemidem.

Základním rozpouštědlem tekutých pediatrických přípravků je voda. V podmínkách lékárny se používá **čištěná voda** (Aqua purificata) nebo pro zvýšení mikrobiální stability **voda na injekci** (Aqua pro injectione), především v případně přípravy sterilního roztoku pro novorozence.

Jak již bylo zmíněno v předcházející části, zvyšuje voda chemickou nestabilitu léčivé látky, především hydrolýzou. Tomu lze zabránit především úpravou pH za použití složených pufrů nebo samotných pomocných látek s těmito vlastnostmi. V případě formulace studovaných roztoků kardiologických léčiv byly použity kyselina citronová a fosforečnan sodný dodekahydrát, buď samostatně nebo v kombinaci jako McIvanův pufr.[26]

Hydrogenfosforečnan sodný je používán v perorálních přípravcích jako pomocná i jako účinná látka. Ve druhém případě jeho terapeutický účinek závisí na dávce, ve vyšších dávkách má laxativní efekt, v nižších dávkách se používá při terapii hypofosfatemie. Nejširší uplatnění ve farmaceutické praxi má hydrogenfosforečnan sodný, který je v nízkých dávkách bez klinického účinku. Používá se k alkalizaci tekutých lékových forem, jeho 1% roztok má pH = 9,1. Fosfáty patří mezi základní anionty intracelulární tekutiny, lze ho tedy považovat za fyziologickou látku vhodnou pro použití u dětí. Výhodou je také jeho nevýrazná chuť v koncentracích používaných jako aditivum.[27]

Kyselina citronová patří rovněž mezi fyziologické, netoxické látky, běžně používané jako aditiva u přípravků určených dětem. Jako pomocná látka snižuje pH a vykazuje synergický antioxidační efekt. Používá se nízkých koncentracích (0,1-2%), kdy má příjemnou kyselou chuť a slouží tedy zároveň jako chuťové korigens. Jednoprocentní roztok kyseliny citronové má pH = 2,2. Ve vyšších dávkách se terapeuticky používá k rozpouštění ledvinových urátových kamenů.[27]

Při formulaci vícedávkových vodných přípravků je nutno vzít v úvahu i aspekt mikrobiální stability a jejího zajištění. Zdánlivě nejjednodušším přístupem je použití protimikrobní přísady. Konzervans nelze ovšem použít u novorozenců (do 1 měsíce)

a opatrnosti je třeba dbát i u kojenců, zvláště v případě dlouhodobého podávání několikrát denně, kdy hrozí riziko kumulace. U většiny pomocných látek je proto pro věkově rozdílné skupiny pediatrických pacientů stanoven tzv. přípustný denní příjem (*acceptable daily intake,* ADI).

Optimální je použít co nejnižší možnou a ještě účinnou koncentraci protimikrobní přísady. Toho lze docílit například úpravou hodnoty pH, při kterém má daná látka nejvyšší protimikrobní účinnost. Ta u některých látek, jako jsou kyselina sorbová nebo benzoová a jejich soli, souvisí s disociací molekuly.[14] Nejvíce účinné jsou v oblasti pH, ve kterém se blíží k disociační konstantě pKa.

Dalšími faktory, které je třeba vzít do úvahy při volbě optimální protimikrobní přísady jsou možné interakce s účinnou nebo jinou použitou pomocnou látkou (korigens chuti, látky zvyšující viskozitu, tenzidy). K snížení účinnosti protimikrobní přísady může dojít i vlivem materiálu obalu, ve kterém je přípravek uchováván. Snížení protimikrobního účinku může nastat adsorpcí látky na povrch obalu, zvláště u plastových obalů, nebo interakcí s povrchově aktivními látkami. Přehled a vlastnosti použitých protimikrobních přísad v perorálních přípravcích studovaných v této práci uvádí Tabulka 2.

Tabulka 2: Vlastnosti protimikrobních přísad použitých ve studovaných perorálních přípravcích[27]

Název	**Rozpustnost při 25°C (ml vody/1g)**	**Optimální pH**	**ADI (mg/kg/den) dle WHO**	**Koncentrace v p.o. LF(%)**
Benzoan sodný	1,8	2 - 5	5	0,02 - 0,5
Methylparaben	400	4 - 8	10	0,015 - 0,2
Sorbitan draselný	2	3 - 5	25	0,1 - 0,2

Při akceptaci perorálního roztoku dětskými pacienty hrají velmi důležitou roli **korigencia chuti,** především pokud má léčivo hořkou chuť, jako tomu bylo v různé míře pro všechna použitá léčiva. Koncentrace a volba sladidla závisí na potenciálních chemických interakcích s léčivou látkou či pomocnými látkami. Nejjednodušší

cestou je přídavek samotné sacharosy nebo ve formě prostého sirupu. Alternativou je sodná sůl sacharinu. Každá z těchto látek má své limity při použití v pediatrii.

Sacharosa je nejčastěji používaným, velmi dobře akceptovaným sladidlem v pediatrických přípravcích, vykazuje však kariogenní efekt a je kontraindikována u dětí s diabetem nebo intolerancí fruktozy.[5]

Sodná sůl sacharinu je náhradní syntetické sladidlo s vysokou sladivostí (500 x sladší než sacharosa), proto se používá v nízkých koncentracích 0,02%-0,5%. V současnosti je sacharin řazen mezi bezpečné pomocné látky, WHO stanovila jeho dávku ADI na 2,5mg/den/den. [27]

7 FORMULACE MAGISTRALITER PŘÍPRAVKŮ S PROPRANOLOL-HYDROCHLORIDEM

Příprava respektovala požadavek pediatrů na koncentraci propranolol-hydrochloridu **2 mg/ml**.

7.1 Vlastnosti propranolol-hydrochloridu

Farmakologické vlastnosti a indikace

Propranolol (propranolol-hydrochlorid, PRO-HCl) se řadí mezi neselektivní betablokátory, v zahraničí je používán od roku 1964. V tehdejší ČSSR byla vyvinuta léčivá látka metipranolol (Trimepranol® tbl.) s velmi podobnými farmakologickými vlastnostmi a nejspíše z tohoto důvodu u nás nebyl propranolol registrován a tedy ani zaveden do praxe.

Mezi základní indikace propranololu u dětí patří tradičně kardiologická onemocnění (především Fallotova tetralogie, případně hypertenze) a recentně byla zařazena i terapie infantilních hemangiomů. Hlavními nežádoucími účinky propranololu jsou bradykardie, hypotenze, bronchospasmus a hypoglykémie. Absolutní kontraindikací je astma bronchiale.[28]

V roce 2008 publikovali lékaři z dětské nemocnice v Bordeaux[29] kazuistiky dětí s infantilním hemangiomem, který patří mezi nejčastější cévní tumory. Krátce po zahájení léčby propranolol-HCl si lékaři všimli odbarvení a následné regrese hemangiomu. K objevení účinku propranololu na IH došlo prakticky náhodou, neboť prvotním cílem aplikace propranolol-HCl byla léčba kardiomyopatie, která se vyvinula u kojence s IH léčeného prednisonem.

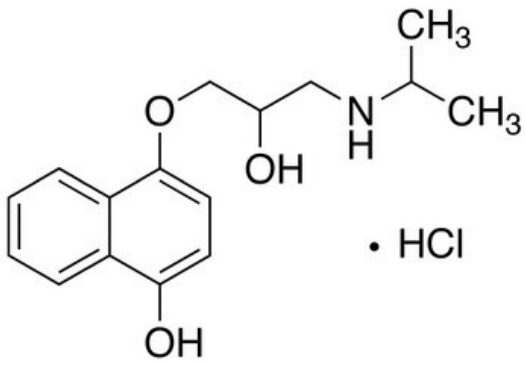
Dávkování

Cílová terapeutická dávka propranolol-hydrochloridu u dětí je **2 mg/kg/den** rozdělená do 2-3 dávek, kterou je doporučeno nastoupat postupně během týdne. V kardiologické indikaci Fallotovy tetralogie doporučuje britský národní receptář BNFC[30] dětem od 1 měsíce věku do 12 let podávat 0,25–1 mg/kg hmotnosti 3-4x denně, maximálně do 5 mg/kg/den. Metipranolol se podával v kardiologických indikacích dle SPC Trimepranolu® dětem rovněž v dávce 0,5-1 mg/kg hmotnosti 3-4 krát denně.[1]

I když se zdá být teoreticky dávkování obou látek shodné, v dětské praxi se v případě kardiologických indikací (Fallotovy tetralogie) ukazuje potřeba dvakrát vyšší dávky propranololu oproti původnímu metipranololu.[31]

Fyzikálně-chemické vlastnosti

(2*RS*)-1-(isopropylamino)-3-(naftalen-1-yloxy)propan-2-ol-hydrochlorid



*M*r 295,81

Propranolol-hydrochlorid je bílý nebo téměř bílý prášek hořké chuti, dobře rozpustný ve vodě a ethanolu 96%.[6] Ve vodě podléhá hydrolýze, jeho optimální stabilita se udává mezi pH 2,8 až 4, v alkalickém prostředí se rozkládá.[32] Hodnota pKa je 9-9,5.

Dostupnost

V České republice je v současné době propranolol-hydrochlorid dostupný jako surovina v lékopisné kvalitě. Další možností je objednání komerčně vyráběných tablet ze zahraničí (např. Propranolol Ratiopharm 100x10 mg, Propranolol Stada 100x40 mg) formou tzv. mimořádného dovozu.

Od roku 2016 je registrován přípravek Hemangiol 3.75 mg/ml,[33] z důvodu velmi vysoké ceny a nehrazení zdravotní pojišťovnou se s ním však prakticky v ČR neobchoduje.

7.2 Tekuté lékové formy s propranololem-hydrochloridem

Literární rešerše dostupných lékových forem a stabilitních studií tekutých perorálních přípravků s propranolol-HCl byla zpracována v průběhu roku 2011 v rigorózní práci autorky.[13] V této dizertační práci je uveden pouze souhrn informací

nezbytných pro návaznost na experimentální část práce a nové poznatky o využití propranolol-HCl.

Ve všech publikovaných článcích s provedenými stabilitními studiemi tekutých perorálních přípravků s propranolol-hydrochloridem, se jednalo o přípravu suspenze z drcených tablet Inderal®[34,35,36,37]. Používaná vehikula obsahovala pouze prostý sirup[35] nebo byly součástí látky pro dětské pacienty nevhodné.[34,36]

Henry a kol.[34] připravovali **suspenzi** propranolol-HCl v koncentraci 1 mg/ml z tablet Inderal 10mg a komerčně vyráběného vehikula Roxane Diluent for Oral Use, obsahujícího 1% ethanolu, 0,05% sacharinu a 33% polyethylenglykolu (PEG) 8000. Vzorky suspenze byly skladovány v dobře uzavřených tmavých skleněných lékovkách při dvou teplotách (2°C a 25°C) po dobu 4 měsíců. Vzorky byly analyzovány pomocí HPLC, bylo měřeno pH vzorku (3,9-4,0), sledována roztřepatelnost suspenze a organoleptický vzhled. Žádné zásadní organoleptické změny nebyly pozorovány, pH se udrželo mezi 3,9 a 4,0 a koncentrace propranolol-HCl zůstala v požadovaném rozmezí 90-110% při obou teplotách po celou dobu. Studie zároveň zkoumala možnost tvorby degradačních produktů propranolol-HCl při extrémních hodnotách pH 2 a 8,5 a při teplotě 100°C. Byla detekována přítomnost rozkladných produktů propranololu v alkalickém prostředí při pH 8,5 vytvořením malých píků rozkladných produktů na chromatogramu a změnou zabarvení. Při nízkém pH ani při vysoké teplotě k žádným změnám nedošlo.

Gupta a Stewart [35] publikovali o rok později přípravu perorální **suspenze** a **roztoku** v koncentraci 0,5 mg/ml. Suspenze byla připravena z tablet, roztok z injekcí. Tato stabilitní studie vycházela z předchozího experimentu[34] se záměrem použít vhodnější vehikulum bez vysokého obsahu makrogolů. Autoři použili komerčně vyráběný sirup, který obsahoval sacharosu 60% w/v, benzoan sodný v koncentraci 0,1% a blíže neuvedené množství kyseliny citronové. Vzorky suspenze i roztoku byly skladovány při teplotě 25°C po dobu 238 dnů. Byly analyzovány pomocí HPLC, měřeno pH a pozorovány organolepticky. K žádným zásadním změnám po celou dobu pozorování nedošlo, pH se pohybovalo v rozmezí 3,7-3,8. Mikrobiologickým testem nebyly vzorky hodnoceny.

Z této studie vyplývá možnost použití pomocných látek, jako jsou sacharosa a benzoan sodný při nižším pH. Koncentrace sacharosy jsou ale velmi vysoké.

Brown a Kayes[36] již v roce 1976 porovnávali dvě **suspenze** propranolol-hydrochloridu v koncentraci 0,5 mg/ml. První formulace obsahovala sacharosu a sodnou sůl karmelosy a byla konzervována parabeny. Již po 5 dnech skladování této suspenze při teplotě 20°C došlo k mikrobiální kontaminaci vzorku a vzniku barevných degradačních produktů. Autoři vysvětlili příčinu změn oxidací v postranním řetězci propranololu v přítomnosti parabenů. Druhá suspenze byla konzervována přídavkem přibližně 20 % ethanolu, který se zdál být dostačujícím pro zajištění mikrobiální stability. Vysoká koncentrace ethanolu však nevyhovuje požadavkům pro pediatrické použití.
Ze studie vyplynula nevhodnost použití parabenů jako konzervačních látek u formulací s propranolol-HCl.

Ahmed a kol.[37] hodnotili v roce 1988 fyzikální a chemickou stabilitu šesti formulací perorálních tekutin s propranololem-HCl v koncentracích 1, 4 a 5 mg/ml. Vzorky byly skladovány při teplotách 4°C, 30°C a 50°C po dobu 12 týdnů. Byl sledován jejich organoleptický vzhled, měřeno pH, koncentrace propranolol-HCl, benzoátu sodného, methylparabenu a propylparabenu byly stanoveny pomocí HPLC.
Bylo potvrzeno, že karmelosa ani parabeny nejsou vhodnými pomocnými látkami pro suspenzi s propranololem-HCl.

Žádná z uvedených receptur nevyhovovala dnešním nárokům na bezpečný pediatrický přípravek, především z důvodu nevhodných pomocných látek. Nejčastěji obsahovaly ethanol, případně polyethylenglykol ve vyšších koncentracích. Z rešerše však vyplynuly základní informace o stabilitě a požadovaném složení vehikula pro propranolol-hydrochlorid:

- hodnota pH by měla být kolem 3 (v rozmezí 2,8-4,0)
- možnost inkompatibility s parabeny jako protimikrobní látkou
- možnost inkompatibility s karmelosou pro zvýšení viskozity suspenze[36,37]

Propylparaben byl navíc již v roce 2004 vyřazen z důvodu reprodukční toxicity prokázané u juvenilních krys ze seznamu povolených aditiv evropské potravinové agentury EFSA. Z tohoto důvodu je rovněž uváděn jako nevhodná látka pro perorální přípravky pro děti na stránkách Evropské lékové agentury EMA.[38]

Vhodnou protimikrobní přísadou se na základě provedených stabilitních studií[35] jeví benzoan sodný. Ze stejné studie vyplývá i kompatibilita propranolol-hydrochloridu se sacharosou a kyselinou citronovou.

7.3 Experimentální část

Podrobněji jsou složení vzorků v preformulační studii a pracovní postupy uvedeny v rigorózní práci autorky.[13]

7.3.1 Materiál

Použité účinné a pomocné látky

	Kvalita/LF	**Dodavatel**
Acidum citricum monohydricum	Ph.Eur. 6.0	Dr.Kulich Pharma
Natrii benzoas	ČL 2009	Fagron
Natrii hydrogenph. dodecahydr.	Ph.Eur. 6.1	Dr.Kulich Pharma
Propranololi hydrochloridum	Ph.Eur. 7.0	Dr.Kulich Pharma
Propranolol STADA 40 mg	Tablety, neregistr. V ČR	Stada, Německo
Saccharosum	Ph.Eur. 7.0	Dr.Kulich Pharma
Sacharinum natricum	Ph.Eur. 7.0	Dr.Kulich Pharma
Sterile Water for inj.	Ph.Eur. 7.0	Fresenius

Použitá zařízení

Váhy KERN EW 150-3M, *Kern & Sohn Gmbh, Německo, d=1 mg*

Váhy KERN EW 1500-2M, *Kern & Sohn Gmbh, Německo, d=10 mg*

Autokláv PS 20 A, *Chirana, Česká republika*

PH metr WTW- 538, *WTW Gmbh, Německo*

PH metr Microprocessor 212, *Hanna Instrument, Německo*

HPLC systém Shimadzu LC-2010 C, *Kyoto, Japan*

7.3.2 Metody

7.3.2.1 Příprava vzorků s propranolol-hydrochloridem

Příprava suspenze s propranolol-hydrochloridem z tablet

Při přípravě suspenze se nejprve důkladně rozdrobní odpovídající počet tablet Propranolol 40mg v třence pomocí těrky. K prášku se přidá malé množství prostého sirupu. Vzniklá koncentrovaná suspenze se postupně zředí zbývajícím objemem sirupu a doplní do požadovaného množství vodným roztokem citráto-fosfátového pufru, ve kterém je rozpuštěn benzoan sodný.

Příprava roztoku s propranolol-HCl s protimikrobní přísadou

Kyselina citronová, případně hydrogenfosforečnan sodný se rozpustí za obyčejné teploty v části vody na injekci. Přidá se benzoan sodný, případně sodná sůl sacharinu a nakonec propranolol-hydrochlorid a doplní se vodou na injekci do finálního množství 100,0 g.

V případě verze s prostým sirupem se doplní sirup objemově nebo hmotnostně a doplní se vodou na injekci do 114,0 g = 100,0 ml.

Příprava roztoku s propranolol-HCl bez protimikrobní přísady

Propranolol-hydrochlorid se rozpustí v odpovídajícím množství vody na injekci, případně se přidají pomocné látky kyselina citronová, hydrogenfosforečnan sodný a prostý sirup. Roztok se adjustuje do tmavé skleněné lékovky s perorálním adapterem.

7.3.2.2 Vzorkování

Pro **preformulační** studii byly vzorky po přípravě uchovávány v dobře uzavřených tmavých skleněných lékovkách v chladničce při teplotě 2-8°C. Ve zvolených časových intervalech byly vzorky použity k měření pH a hodnoceny jejich organoleptické vlastnosti: změna zabarvení, zákal, případný zápach.[13]

Pro **stabilitní** studii bylo připraveno celkem 9 vzorků P1-P9 a ke každému ze vzorků tzv. slepý vzorek bez účinné látky. Každý ze vzorků byl rozdělen do 4 skleněných tmavých lékovek, které byly vždy po dvou uchovávány za snížené (5 ± 3 °C) a při

pokojové (25 ± 3 °C) teplotě. Celkem bylo z každého vzorku měřeno 6 nástřiků do HPLC systému Shimadzu.

Složení vzorků s propranolol-hydrochloridem pro stabilitní studii uvádí Tabulka 3

7.3.2.3 Měření pH

V preformulační studii byl k měření pH použit digitální pH-metr WTW - 538 se skleněnou elektrodou. Veškeré hodnocené vzorky byly měřeny při teplotě 20 – 25°C. U vzorků uchovávaných v chladničce bylo potřeba nechat roztoky asi 2 hodiny při teplotě místnosti, aby pH bylo měřeno alespoň při 20°C.

Po kalibraci pH metru na hodnoty pH 4 a 7 se měřilo cca 20 ml vzorku odlitého do malé kádinky ponořením elektrody do roztoku. Hodnota pH se odečítala po ustálení přístroje, přibližně za 3 minuty.

Ve stabilitní studii probíhalo měření na přístroji pH-metr 212 (Hanna) na Katedře analytické chemie. Byly měřeny pouze vzorky skladované při teplotě místnosti stejným postupem jako v preformulační studii.

Tabulka 3 - Složení přípravků s propranolol-hydrochloridem pro stabilitní studie

Složení	**P1**	**P2**	**P3**	**P4**	**P5**	**P6**	**P7**	**P8**	**P9**
Propranolol-HCl	0,20 g	0,20 g	-	0,20 g	0,20 g	0,20 g	0,20 g	0,20 g	0,20 g
Propranolol STADA tbl. 40 mg	-	-	5 tbl.	-	-	-	-	-	-
Natrii benzoas	-	0,05 g	0,05 g	0,05 g	0,05 g	0,05 g	0,05 g	-	-
Acidum citricum monohydricum	0,85 g	0,85 g	0,85 g	0,40 g	0,85 g	0,40 g	0,85 g	0,05 g	-
Natrii hydrogenphosphas dodecah.	0,70 g	0,70 g	0,70 g	-	0,70 g	-	0,70 g	-	-
Sirupus simplex	50,0 ml	50,0 ml	50,0 ml	50,0 ml	-	-	25,0 ml	50,0 ml	-
Saccharinum natricum	-	-	-	-	0,05 g	0,10 g	-	-	-
Aqua pro injectione ad	100,0ml	100,0ml	100,0ml	100,0ml	100,0ml	100,0ml	100,0ml	100,0ml	100,0ml

7.4 Výsledky a diskuze

Pro pediatrické pacienty se v nemocniční lékárně FN Motol tradičně připravovaly perorální prášky, které se plnily do tvrdých želatinových tobolek. V období, kdy byla zahájena práce na tekutých lékových formách s koncentrací propranolol-hydrochloridu 2 mg/ml, se připravovaly tobolky s obsahem PRO-HCl od 2 do 8mg, s odstupňováním po jednom mg v celkovém množství cca 3000 tobolek měsíčně.

Jak již bylo uvedeno, preformulační studie byly náplní rigorózní práce autorky[13] a v této práci jsou uvedeny jen v nezbytném kontextu. Na začátku experimentální práce bylo nutno pracovat s tabletami Propranolol Stada® 40 mg, jelikož nebyla k dispozici substance PRO-HCl v lékopisné kvalitě. Vzorek suspenze z tablet (P3) byl proto rovněž zahrnut do experimentů a později i do stabilitní studie, aby byl zjištěn případný vliv pomocných látek obsažených v tabletách pro případ výpadku suroviny. V rámci preformulační studie byly po dobu 49 dnů každý týden pozorovány barva, čirost roztoku, roztřepatelnost suspenze a zápach tekutiny a bylo měřeno pH. Vzorky byly po celou dobu skladovány v chladničce. Žádné změny nebyly pozorovány.

Korekce hořké chuti PRO-HCl bylo dosaženo přídavkem sacharosy ve formě prostého sirupu nebo sodné soli sacharinu (alternativa pro diabetické pacienty). Obsah sacharosy i sacharinu byl v preformulační studii posuzován organolepticky subjektivně a ve spolupráci s pediatry.

Z publikovaných studií (viz kapitola 7.2.) vyplynulo, že propranolol-hydrochlorid může ve vodném prostředí podléhat hydrolýze, zvláště v alkalickém pH. Optimální hodnota pH pro stabilitu ve vodném prostředí je kolem pH 3.[32] Pro udržení hodnoty pH byla zvolena kyselina citronová nebo citráto-fosfátový pufr v takovém množství, aby výsledné pH vzorků odpovídalo této hodnotě 3,0 a přitom obsah pomocných látek byl co nejnižší.

Při tomto pH je zároveň také nejúčinnější vybraná protimikrobní přísada, benzoan sodný. Vlastní protimikrobní aktivitu zajišťuje kyselina benzoová, která se v kyselém prostředí z benzoanu vytváří v nedisociované formě. Nejvyšší účinek má v prostředí, které má pH nižší než je její disociační konstanta pK_a = 4,2.[39]

Množství nedisociované formy kyseliny benzoové při pH = 3 lze vypočítat pomocí rovnice 3 a je rovno přibližně 94 %

$$\text{nedisociovaná část slabé kyseliny} = \frac{1}{1 + \text{antilog}\left(\text{pH - pK}_a\right)} = \frac{1}{1 + \text{anti log}\left(3 - 4{,}2\right)} = 0{,}94 \quad (3)$$

Aby zátěž na dětský organismus byla co nejmenší, byla koncentrace protimikrobní přísady snížena 0,05 % w/v. Účinnost této koncentrace byla ověřena lékopisnou zkouškou 5.1.3[6] akreditovanou laboratoří ve vzorku P2, který byl ze všech testovaných formulací považován za nejlepší (viz dále).

Z důvodu přípravy v šaržích a do zásoby na oddělení bylo v souladu s legislativou potřeba delší dobu použitelnosti přípravků doložit **stabilitními studiemi**. V Tabulce 3 jsou shrnuty přípravky vybrané pro stabilitní studie, které zahrnovaly zmíněnou suspenzi a roztoky, které se lišily složením (sacharosa/sodná sůl sacharinu, kyselina citronová/citráto-fosfátový pufr, benzoan sodný).
Na katedře Analytické chemie FaF UK byla pro simultánní stanovení propranolol-HCl a benzoanu sodného v perorálních tekutých přípravcích vypracována metodika HPLC. Tato metoda byla validována v souladu se směrnicí ICH Q2(R1) u všech vzorků. Analytické postupy byly zveřejněny formou posteru a odborné publikace[40,41]

Design stabilitní studie

Přípravky byly skladovány při dvou teplotách, v chladničce (5 ± 3 °C) a za teploty místnosti (25 ± 3 °C). V intervalech 1., 3., 7., 14., 30., 60., 120. a 180. den byly odebírány vzorky ke stanovení obsahu propranolol-hydrochloridu a benzoanu sodného a bylo měřeno pH. Současně byly sledovány organoleptické vlastnosti přípravků.

Tabulka 5 uvádí přehled hodnot pH jednotlivých formulací při skladování v místnosti. Hodnoty pH kolísaly u vzorků stabilizovaných pouze kyselinou citronovou (P4, P6, P8) v rozmezí 2,82 – 2,97 a u vzorků stabilizovaných citráto-fosfátovým pufrem (P1, P2, P3, P5, P7) kolem 3,2. Pouze u vzorku P8, jehož pH upravováno nebylo, se pH postupně zvyšovalo z 5,94 na 6,67 po 180 dnech.

Tabulka 5 Hodnoty pH vzorků s propranolol-HCl skladované při teplotě místnosti

Den	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
0	3,04	3,14	3,14	2,89	3,16	2,92	3,12	2,87	5,94
1	3,04	3,14	3,13	2,89	3,18	2,94	3,17	-	-
3	3,05	3,15	3,15	2,90	3,16	2,96	3,15	-	-
7	3,06	3,16	3,17	2,90	3,18	2,97	3,17	-	-
14	3,03	3,15	3,15	2,90	3,18	2,95	3,15	2,92	6,24
30	3,06	3,16	3,14	2,91	3,18	2,97	3,16	2,86	6,36
60	3,03	3,13	3,14	2,88	3,16	2,95	3,15	2,83	6,48
90	2,96	3,08	3,09	2,82	3,10	2,90	3,09		
120	2,97	3,09	3,09	2,82	3,10	2,92	3,08	2,83	6,67
180	3,03	3,12	3,13	2,89	3,16	2,97	3,14		

Průměrné hodnoty (n = 6) obsahu propranolol-HCl (mg/ml) a benzoanu sodného (mg/ml) v daných časových bodech studie jsou společně se směrodatnou odchylkou SD uvedeny v tabulkách 6 – 9 Změny koncentrace vyjádřené v procentech počáteční koncentrace sledované látky (PRO-HCl nebo benzoan sodný) v čase 0, tj. po přípravě (100%), jsou prezentovány formou grafu na obrázcích 1 - 4.

Vzorky P8 a P9 bez protimikrobní přísady byly měřeny dodatečně a některé intervaly byly z měření z časových důvodů vynechány.

Tabulka 6 Obsah **propranolol-hydrochloridu** (mg/ml) při skladování při teplotě **místnosti** (25 ± 3°C); směrodatná odchylka označena *kurzívou*

Den	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
	2,059	**2,069**	**2,129**	**2,064**	**2,079**	**2,072**	**2,086**	**2,084**	**2,088**
0	*0,015*	*0,007*	*0,003*	*0,002*	*0,003*	*0,002*	*0,001*	*0,008*	*0,033*
	2,048	**2,044**	**2,126**	**2,068**	**2,061**	**2,039**	**2,064**	-	-
1	*0,012*	*0,001*	*0,009*	*0,003*	*0,017*	*0,003*	*0,013*		
	2,073	**2,081**	**2,186**	**2,131**	**2,101**	**2,076**	**2,108**	-	-
3	*0,003*	*0,003*	*0,025*	*0,002*	*0,021*	*0,010*	*0,024*		
	2,076	**2,060**	**2,100**	**2,063**	**2,063**	**2,050**	**2,067**	-	-
7	*0,008*	*0,003*	*0,012*	*0,007*	*0,004*	*0,009*	*0,009*		
	2,114	**2,110**	**2,132**	**2,103**	**2,101**	**2,080**	**2,114**	**2,104**	**2,113**
14	*0,013*	*0,003*	*0,007*	*0,010*	*0,002*	*0,002*	*0,014*	*0,002*	*0,006*
	2,110	**2,116**	**2,146**	**2,125**	**2,106**	**2,089**	**2,103**	**2,081**	**2,091**
30	*0,003*	*0,003*	*0,005*	*0,016*	*0,005*	*0,004*	*0,006*	*0,003*	*0,006*
	2,046	**2,051**	**2,075**	**2,043**	**2,031**	**2,035**	**2,052**	**2,101**	**2,079**
60	*0,007*	*0,007*	*0,007*	*0,007*	*0,007*	*0,007*	*0,007*	*0,007*	*0,007*
	2,061	**2,077**	**2,107**	**2,081**	**2,063**	**2,055**	**2,078**	-	-
90	*0,002*	*0,002*	*0,005*	*0,003*	*0,002*	*0,003*	*0,008*		
	2,098	**2,093**	**2,135**	**2,112**	**2,088**	**2,077**	**2,070**	**2,117**	**2,106**
120	*0,006*	*0,007*	*0,008*	*0,013*	*0,009*	*0,004*	*0,026*	*0,005*	*0,002*
	2,097	**2,106**	**2,131**	**2,099**	**2,084**	**2,070**	**2,104**	-	-
180	*0,003*	*0,003*	*0,003*	*0,006*	*0,008*	*0,008*	*0,008*		

Tabulka 7 – Obsah **propranolol-hydrochloridu** (mg/ml) při skladování v **chladničce** (5 ± 3°C); směrodatná odchylka označena *kurzívou*

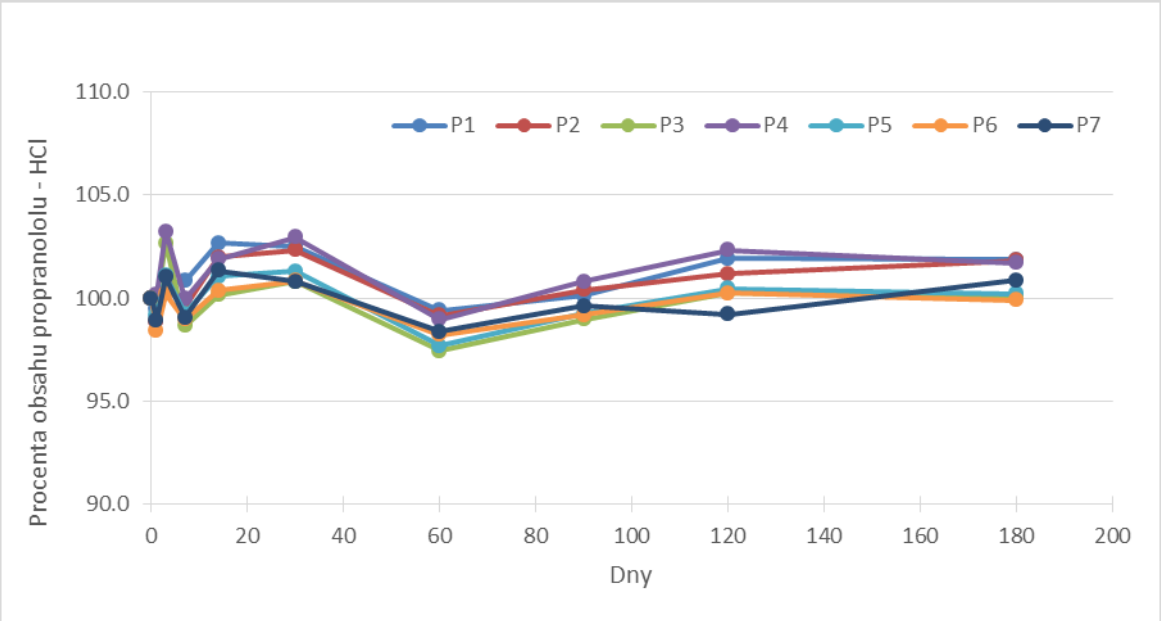
Den	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
	2,072	**2,073**	**2,111**	**2,063**	**2,105**	**2,067**	**2,075**	**2,084**	**2,088**
0	*0,003*	*0,014*	*0,003*	*0,010*	*0,005*	*0,006*	*0,004*	*0,008*	*0,033*
	2,046	**2,052**	**2,068**	**2,035**	**2,092**	**2,049**	**2,032**		
1	*0,003*	*0,018*	*0,001*	*0,021*	*0,013*	*0,023*	*0,004*		
	2,079	**2,075**	**2,104**	**2,087**	**2,138**	**2,083**	**2,071**		
3	*0,003*	*0,004*	*0,011*	*0,043*	*0,007*	*0,016*	*0,012*		
	2,085	**2,076**	**2,123**	**2,089**	**2,077**	**2,060**	**2,101**		
7	*0,004*	*0,002*	*0,006*	*0,014*	*0,018*	*0,018*	*0,023*		
	2,090	**2,078**	**2,115**	**2,080**	**2,088**	**2,071**	**2,082**	**2,111**	**2,129**
14	*0,002*	*0,009*	*0,005*	*0,016*	*0,004*	*0,018*	*0,008*	*0,003*	*0,005*
	2,129	**2,125**	**2,172**	**2,114**	**2,129**	**2,102**	**2,133**	**2,080**	**2,089**
30	*0,006*	*0,008*	*0,005*	*0,005*	*0,003*	*0,013*	*0,002*	*0,002*	*0,007*
	2,028	**2,035**	**2,053**	**2,019**	**2,024**	**2,015**	**2,027**	**2,101**	**2,086**
60	*0,003*	*0,002*	*0,002*	*0,001*	*0,005*	*0,002*	*0,020*	*0,004*	*0,007*
	2,091	**2,089**	**2,113**	**2,070**	**2,075**	**2,062**	**2,069**		
90	*0,005*	*0,009*	*0,006*	*0,005*	*0,006*	*0,006*	*0,002*		
	2,088	**2,092**	**2,096**	**2,086**	**2,096**	**2,062**	**2,096**	**2,094**	**2,106**
120	*0,008*	*0,001*	*0,060*	*0,011*	*0,006*	*0,003*	*0,008*	*0,006*	*0,009*
	2,093	**2,090**	**2,133**	**2,097**	**2,092**	**2,048**	**2,108**		
180	*0,010*	*0,004*	*0,003*	*0,002*	*0,006*	*0,043*	*0,002*		

Tabulka 8 – Obsah **benzoanu sodného** (mg/ml) při skladování v **místnosti** (25 ± 3°C); směrodatná odchylka označena *kurzívou*

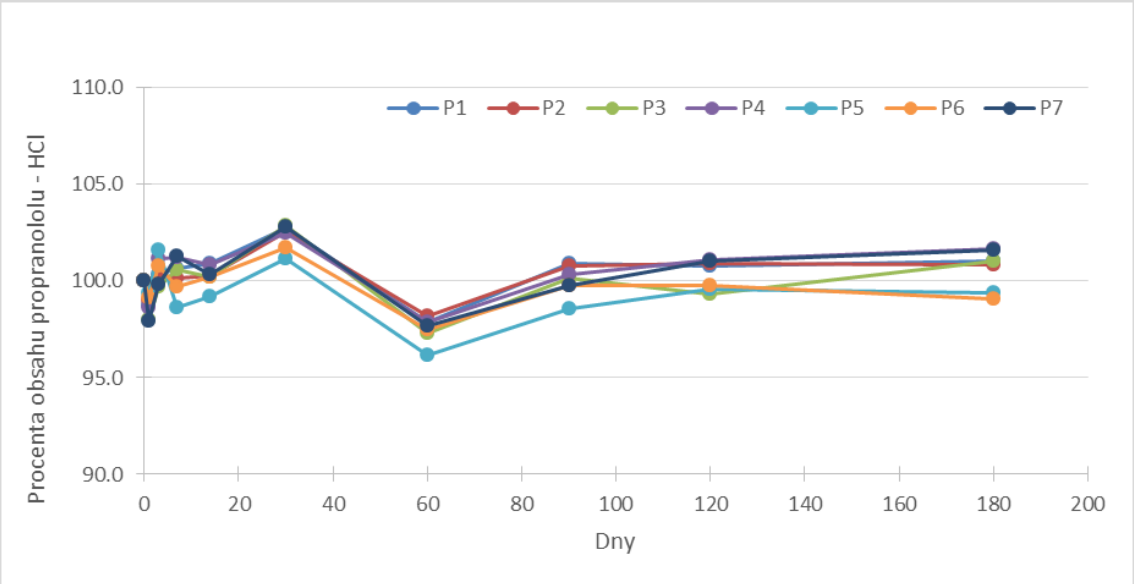
Den	P2	P3	P4	P5	P6	P7
0	**0,515** *0,002*	**0,523** *0,001*	**0,515** *0,001*	**0,525** *0,001*	**0,521** *0,001*	**0,520** *0,001*
1	**0,505** *0,003*	**0,510** *0,002*	**0,503** *0,001*	**0,514** *0,002*	**0,509** *0,002*	**0,507** *0,002*
3	**0,514** *0,003*	**0,524** *0,007*	**0,513** *0,001*	**0,524** *0,003*	**0,518** *0,003*	**0,518** *0,001*
7	**0,512** *0,001*	**0,512** *0,001*	**0,512** *0,001*	**0,521** *0,002*	**0,513** *0,001*	**0,512** *0,003*
14	**0,519** *0,001*	**0,518** *0,001*	**0,518** *0,001*	**0,525** *0,001*	**0,517** *0,001*	**0,518** *0,004*
30	**0,529** *0,001*	**0,529** *0,001*	**0,531** *0,003*	**0,533** *0,001*	**0,526** *0,001*	**0,524** *0,003*
60	**0,507** *0,003*	**0,505** *0,002*	**0,507** *0,001*	**0,512** *0,000*	**0,508** *0,000*	**0,509** *0,001*
90	**0,514** *0,001*	**0,513** *0,001*	**0,515** *0,001*	**0,518** *0,001*	**0,514** *0,000*	**0,515** *0,002*
120	**0,512** *0,002*	**0,511** *0,002*	**0,515** *0,003*	**0,520** *0,003*	**0,512** *0,002*	**0,502** *0,005*
180	**0,520** *0,001*	**0,518** *0,001*	**0,517** *0,000*	**0,523** *0,001*	**0,517** *0,002*	**0,517** *0,002*

Tabulka 9 – Obsah **benzoanu sodného** (mg/ml) při skladování v **chladničce** (5 ± 3°C); směrodatná odchylka označena *kurzívou*

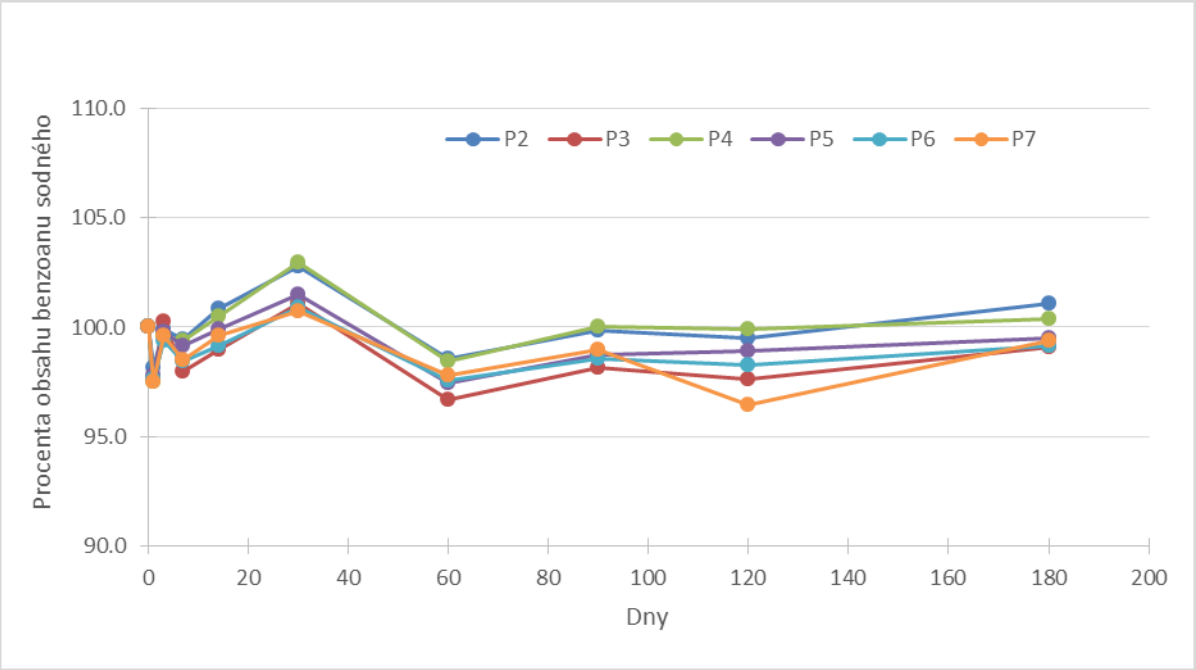
Den	P2	P3	P4	P5	P6	P7
0	**0,515**	**0,519**	**0,516**	**0,529**	**0,517**	**0,517**
	0,004	*0,001*	*0,002*	*0,001*	*0,001*	*0,000*
1	**0,503**	**0,506**	**0,502**	**0,514**	**0,503**	**0,503**
	0,006	*0,001*	*0,002*	*0,002*	*0,003*	*0,003*
3	**0,511**	**0,514**	**0,515**	**0,526**	**0,512**	**0,513**
	0,003	*0,003*	*0,005*	*0,003*	*0,004*	*0,003*
7	**0,514**	**0,515**	**0,514**	**0,522**	**0,514**	**0,517**
	0,002	*0,002*	*0,001*	*0,001*	*0,001*	*0,002*
14	**0,513**	**0,513**	**0,513**	**0,520**	**0,515**	**0,513**
	0,001	*0,001*	*0,001*	*0,001*	*0,001*	*0,001*
30	**0,530**	**0,534**	**0,529**	**0,538**	**0,529**	**0,532**
	0,001	*0,001*	*0,001*	*0,000*	*0,003*	*0,001*
60	**0,503**	**0,501**	**0,503**	**0,510**	**0,503**	**0,502**
	0,001	*0,001*	*0,001*	*0,001*	*0,001*	*0,003*
90	**0,517**	**0,516**	**0,513**	**0,522**	**0,516**	**0,513**
	0,002	*0,001*	*0,001*	*0,002*	*0,001*	*0,001*
120	**0,512**	**0,503**	**0,511**	**0,518**	**0,508**	**0,511**
	0,003	*0,014*	*0,001*	*0,001*	*0,001*	*0,002*
180	**0,514**	**0,518**	**0,516**	**0,525**	**0,511**	**0,520**
	0,001	*0,001*	*0,001*	*0,002*	*0,010*	*0,001*



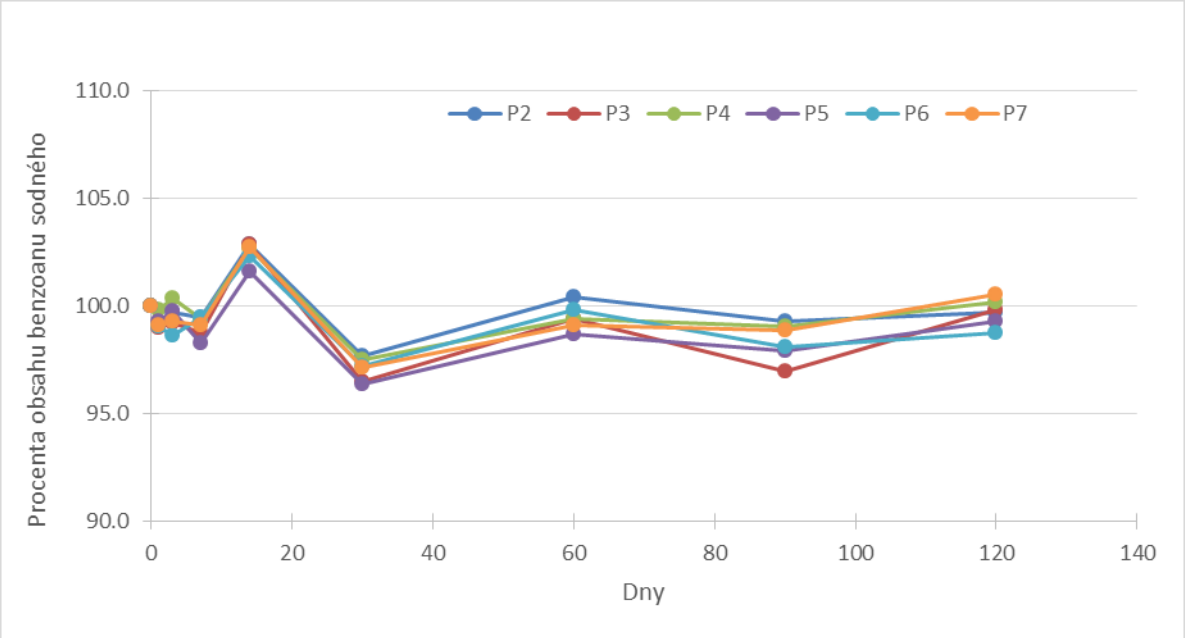
Obrázek 1 Obsah **propranol-hydrochloridu** (% počáteční koncentrace) při uchovávání za teploty **místnosti**



Obrázek 2 Obsah **propranol-hydrochloridu** (% počáteční koncentrace) při uchovávání v **chladničce**



Obrázek 3 Obsah **benzoanu sodného** (% počáteční koncentrace) při uchovávání v **místnosti**



Obrázek 4 Obsah **benzoanu sodného** (% počáteční koncentrace) při uchovávání v **chladničce**

Obsah propranolol-hydrochloridu se po celou dobu sledování 180 dnů u všech formulací udržel v rozmezí 96% až 103% při obou teplotách. Prakticky stejné rozmezí kolísání hodnot koncentrace vykazoval také benzoan sodný. Všechny navržené formulace obsahující protimikrobní přísadu, tj. P2 – P7 tedy vyhověly zadaným kriteriím 95% min. koncentrace propranololu-HCl a 90% benzaonu sodného po dobu 6 měsíců při obou teplotách (v chladničce i v místnosti).

Výsledky formulačních a stabilitních studií vybraných tekutých pediatrických perorálních přípravků s propranolol-HCl 2 mg/ml pro magistraliter přípravu byly prezentovány formou posteru na mezinárodních konferencích[42,43] a v odborném časopise[44].

KLOVRZOVÁ, S., ZAHÁLKA, L., MATYSOVÁ, L., HORÁK, P., ŠKLUBALOVÁ, Z.: Pediatric oral solutions with propranolol hydrochloride for extemporaneous compounding: the formulation and stability study. *Čes. Slov. Farm*., 2013, 62 (1), s. 35-39. ISSN 1210-7816

V článku jsou prezentovány tři formulace (v této dizertační práci odpovídající vzorkům P2, P4 a P8) perorálního roztoku s obsahem propranolol-hydrochloridu 2 mg/ml určené pro pediatrickou populaci od narození do cca 6 let k léčbě těžších forem infantilního hemangiomu nebo hypertenze.

Jsou zde shrnuty výsledky stabilitní studie při uchovávání v chladu (5 ± 3°C) nebo za teploty místnosti (25 ± 3°C) po dobu 180 dní u formulací s obsahem sacharosy ve formě prostého sirupu jako chuťového korigens (P2 a P4) pomocí validované metodiky HPLC. Při uchovávání v dobře uzavřené lékovce z hnědého skla byly přípravky stabilní při obou teplotách; koncentrace obou složek – PRO-HCl a benzoanu sodného se udržela v rozmezí 98-103 % koncentrace v čase přípravy. Pufr (citráto-fosfátový pufr nebo kyselina citronová) použitý k úpravě pH zajistil hodnotu pH v rozmezí 2,8 – 3,2 po celou dobu studie a oba roztoky s protimikrobní přísadou splňovaly požadavky na chemickou stabilitu po celou dobu pozorování 180 dnů v obou teplotních režimech. Účinnost protimikrobní látky, benzoanu sodného, byla u přípravku P2 prokázána testem (Ph. Eur., 5.1.3).

Vzorek P8 bez protimikrobní přísady je určen pro novorozence, u kterých jsou konzervanty kontraindikovány. Příprava tohoto roztoku s.a. musí probíhat za aseptických podmínek a je doporučeno uchovávání v chladničce s ohledem na mikrobiální stabilitu.
Na základě studie je doporučeno uchovávat přípravky v chladničce, chráněné před světlem, v lékovkách s vložkou pro perorální pipetu k snadnému odběru dávky. V takovém případě je možné deklarovat dobu použitelnosti 6 měsíců, po otevření do 3 měsíců u konzervované varianty a 7 dní u varianty bez konzervantů.

Na základě výsledku stabilitní studie je v současnosti pro nemocniční praxi ve FN Motol nejčastěji připravován vzorek P2 s obsahem citráto-fosfátového pufru, sacharosy a benzoanu sodného, který nahradil dosud používané magistraliter tobolky s obsahem propranolol-hydrochloridu od 2 do 8 mg. Jak již bylo uvedeno výše, u tohoto vzorku byla účinnost protimikrobní přísady benzoanu sodného v koncentraci 0,05% prokázána lékopisnou zkouškou (5.1.3).
Spolu s jednodušší alternativou obsahující pouze kyselinu citronovou byl přípravek notifikován Evropskou lékopisnou komisí a zařazen v roce 2013 do Národní části Českého lékopisu 2009[6]. Pro kvantitativní stanovení propranolol-hydrochloridu za podmínek lékárenské praxe je využita titrační metoda pro chloridy založená na argentometrii z důvodu jednodušší realizace v lékárnách. Metoda byla validována srovnáním s výše zmíněnou HPLC metodikou.

Návrh technologického předpisu v lékárně

Roztok propranolol-hydrochloridu 2 mg/ml s protimikrobní přísadou

Složení:

Propranololi hydrochloridum	*0,2 g*
Acidum citricum monohydr.	*0,75 g*
Natrii hydrogenphosphas dodecahydr.	*0,8 g*
Natrii benzoas	*0,05 g*
Sirupus simplex	*64,0 g (=50 ml)*
Aqua purificata	*ad 114,0 g (=ad 100 ml)*

Postup přípravy: Propranolol-hydrochlorid, kyselina citronová, hydrogenfosforečnan sodný a benzoan draselný se rozpustí za obyčejné teploty v čištěné vodě a doplní prostým sirupem do celkového množství/objemu.

V případě přípravy do zásoby v šaržích v rozsahu 100 x 100 ml nebo 100 x 200 ml se nejprve připraví citráto-fosfátový pufr a zkontroluje pH (3±0,2). Poté se v něm rozpustí benzoan sodný a propranolol-hydrochlorid.

Po důkladném promíchání pomocí hřídelového míchadla a doplnění prostým sirupem se roztok adjustuje do tmavých skleněných lékovek a uzavře speciálním uzávěrem s adapterem pro perorální pipety.

Výstupní kontrola zahrnuje zkoušky uvedené v Národní části ČL 2009[6], např. argentometrické stanovení obsahu účinné látky (0,166%-0,184%), měření výsledného pH roztoku (2,8-3,5) a určení koncentrace sacharosy pomocí refraktometru (index lomu: 1,392-1,396).

Obal: sterilní tmavá skleněná lékovka se šroubovacím uzávěrem a dávkovacím zařízením (adaptér kompatibililní s lékovkou a perorální pipetou)

Doporučená doba použitelnosti: 6 měsíců při teplotě uchovávání 2-25 °C v tmavé skleněné lékovce. Po otevření spotřebovat do 30 dnů.

Možnost přípravy v šaržích v lékárně dle validní receptury, včetně mezioperační a výstupní kontroly, spolu s daty o stabilitě přípravku se projevila vysokým zájmem z řad pediatrů o tento sirup. Přípravek začali kromě dětských onkologů v léčbě hemangiomu používat také dětští kardiologové v indikacích, jakými jsou Fallotova tetralogie a některé druhy hypertenze, zvláště pak po ukončení výroby tablet Trimepranol® 10 mg,

Výsledky mezioborové spolupráce lékárníků, onkologa, kardiologa a dermatologa byly publikovány v odborných časopisech[31,45,46].

Na základě zahraničních publikovaných poznatků[47] byl pro léčbu lehčích povrchových infantilních hemangiomů zaveden krém s propranolol-HCl 1%. Dermatologická tématika nespadá zcela do zadání této dizertační práce, nicméně s tématem přímo souvisí. Praktické zkušenosti byly publikovány autorkou v odborných časopisech[48,49]; kopie článků jsou uvedeny v přílohách.

Již po ukončení práce na vývoji přípravku s propranolol-HCl a jeho zavedení do praxe v České republice (článek v národní části Českého lékopisu), byla v roce 2015 v německém kodexu NFR-DAC zveřejněna receptura roztoku propranolol-HCl v koncentraci 5 mg/ml ve složení:[50]

Propranolol-hydrochlorid	*0,5 g*
Saccharosum	*25,0 g*
Kalii sorbas	*0,15 g*
Acidum citricum anhydricum	*0,07 g*
„Orangen-Flüssigaroma“	*0,1 g*
Aqua purificata	*ad 109,7 g*

Doba použitelnosti v skleněné tmavé lékovce s adapterem na perorální pipetu byla stanovena na 1 rok, po otevření 6 měsíců. Hodnota pH přípravku je cca 4,5.

8 FORMULACE MAGISTRALITER PŘÍPRAVKŮ SE SOTALOL-HYDROCHLORIDEM

Příprava respektovala požadavek pediatrů na koncentraci sotalol-hydrochloridu (SOT-HCl) **5 mg/ml**.

8.1 Vlastnosti sotalol-hydrochloridu

Farmakologické vlastnosti a indikace

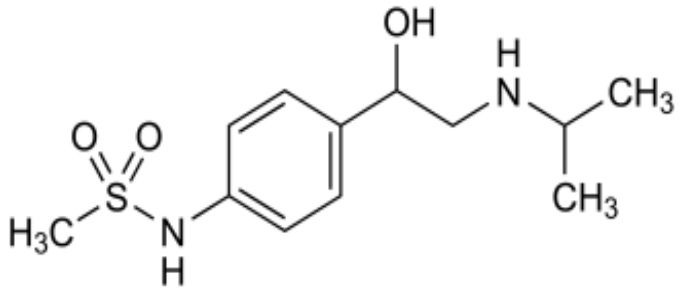
Sotalol-hydrochlorid patří mezi neselektivní betablokátory a antiarytmika. Blokuje β-adrenergní receptory a draslíkové kanály, čímž se řadí do třídy II. a III. dle klasifikace podle Vaughana a Williamse. Může se uplatnit v léčbě komorových i supraventrikulárních arytmií rezistentních na jiná antiarytmika. Sotalol-HCl je kompletně resorbován z trávicího traktu, maximální koncentrace v plazmě dosahuje za 2-4 hodiny, eliminační poločas je 10-20 hodin. U dětí je dobře tolerován, nejčastější indikací jsou komorové tachykardie.[28]

Dávkování

Perorální dávkování sotalolu u dětí je velmi individuální, dle míry dosaženého efektu. V ČR pediatričtí kardiologové dávkují sotalol-HCl dle tělesného povrchu v rozmezí 40 – 180 mg/m^2/den a rozdělené do 3 dávek.[1] V Britském receptáři BNFC[30] je doporučeno schéma dávkování: 1 mg/kg 2x denně, max. 4 mg/kg 2x denně (max. 80 mg/den). Nové bezpečné a účinné dávkovací režimy sotalolu-HCl pro děti se supraventrikulárními tachykardiemi publikoval tým S.Laera.[51]

Fyzikálně-chemické vlastnosti

N-{4-[(1RS)-1-hydroxy-2-(isopropylamino)ethyl]fenyl}methansulfonamid-hydrochlorid



Mr 308,82

Sotalol-hydrochlorid je bílý nebo téměř bílý prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v ethanolu 96%.[6] Optimální stabilita sotalolu-HCl se uvádí v rozmezí hodnot pH 4-5. Hodnota pK_a je 8,2 a 9,8.[32]

Dostupnost

Sotahexal® 80 a 160 tablety jsou v současnosti v České republice jediné registrované léčivé přípravky s obsahem sotalol-hydrochloridu.[33] Jedná se o perorální tablety určené pro dospělé pacienty v dávce 80 mg, resp. 160 mg v jedné tabletě.

Sotalol-hydrochlorid je dostupný rovněž jako surovina v lékopisné kvalitě.

8.2 Tekuté lékové formy se sotalol-hydrochloridem

Preformulační studie tekutých pediatrických přípravků se sotalol-HCl na základě literární rešerše publikovaných výsledků stabilitních studií zpracoval ve své diplomové práci Tomáš Kříž[52] ve spolupráci s autorkou této dizertační práce v roli externí školitelky na pracovišti Oddělení IPLP v nemocniční lékárně FN Motol.

V této dizertační práci je uveden jen souhrn potřebných informací z důvodu návaznosti na vybrané formulace pro stabilitní studie.

Depuis a kol[53] sledoval **suspenze** připravené z tablet sotalolu-HCl v koncentraci 5mg/ml ve vehikulu, které obsahovalo 1% methylcelulosový sliz s přídavkem 0,2% benzoátu sodného a prostý sirup v objemovém poměru 7:3. Vzorky byly skladovány ve vzduchotěsných skleněných vialkách s pryžovým uzávěrem a hliníkovou pertlí po dobu 12 týdnů při teplotách: 4 °C, 25 °C, 37 °C a 45 °C. Byla sledována fyzikální stabilita (tvorba sraženiny, změny barvy, aj.), hodnota pH, mikrobiální nezávadnost a obsah sotalol-HCl pomocí HPLC.

Fyzikální vlastnosti se během doby sledování neměnily, rovněž hodnoty pH vzorků skladovaných při 25°C se neodchýlily od původního rozmezí 4-5. Koncentrace sotalol-HCl zůstala v rozmezí 90-110% vztaženo na počáteční koncentraci po celou dobu skladování při všech teplotách. Vzorky uchovávané při teplotě 25°C vykazovaly po 4 týdnech nárůst mikroorganismů (diphtheroid species), zatímco vzorky uložené

v chladničce zůstaly mikrobiálně nezávadné po dobu 8 týdnů. Závěrem autoři konstatovali 60 denní chemickou i fyzikální stabilitu suspenze.

Nahata a Morosco[54] sledovali dvě **suspenze** připravené z tablet sotalol-HCl při teplotách 4 °C a 25 °C. Jedno vehikulum obsahovalo 1% methylcelulosový sliz a prostý sirup (USP-NF) v poměru 1:9, druhé vehikulum bylo složeno z komerčních vehikul Ora-Plus a Ora-Sweet v poměru 1:1. Vzorky s obsahem sotalol-HCl 5mg/ml byly průběžně analyzovány pomocí HPLC po dobu 90 dnů. U komerčního vehikula koncentrace poklesly po 90 dnech na 98,9% při 4°C a na 95,5% při 25°C. U vzorků obsahující směs methylcelulosy a prostého sirupu byl maximální pokles koncentrace sotalol-HCl na 94,4%. V závěru autoři konstatovali, že během studie nedošlo k žádné podstatné změně pH ani ke změně fyzikálních vlastností. Výchozí ani konečná hodnota pH však uvedeny nebyly. Mikrobiální stabilita suspenzí nebyla hodnocena.

V další studii z roku 2005[55] byly zkoumány fyzikální, chemické a mikrobiální stability tří **suspenzí** připravených z tablet v koncentraci sotalol-HCl 5 mg/ml. První vehikulum obsahovalo komerční Ora-Plus:Ora-Sweet v poměru 1:1, druhé Ora-Plus:Ora-Sweet SF v poměru 1:1 a třetí vehikulum reprezentovala směs methylcelulosového slizu konzervovaného benzoanem sodným a prostého sirupu v poměru 2,4:1. Suspenze byly skladovány při teplotě 2-8 °C a 20-25 °C po dobu 12 týdnů a byla sledována hodnota pH, obsah účinné látky pomocí HPLC a mikrobiální nezávadnost. Suspenze vykazovaly chemickou, fyzikální i mikrobiální stálost po dobu sledování. Hodnoty pH byly mírně ovlivněny použitým vehikulem a teplotou skladování, pohybovaly se ale ve vyhovujícím rozmezí 4,2-5,8. Menší změny pH a koncentrace sotalolu-HCl byly zaznamenány v chladu. Všechny vzorky při obou teplotách však vyhověly kritériu maximální odchylky ±10% od iniciální koncentrace. Mikrobiální nezávadnost byla sledována očkováním vzorku na živných půdách a žádný nárůst nebyl zaznamenán u žádného ze vzorků.

Z publikovaných stabilitních studií suspenzí se sotalolem-HCl vyplývají následující závěry:

Mikrobiální napadení suspenze stabilizované benzoanem sodným ve výsledné koncentraci 0,14% uchovávané při 25°C[53] bylo pravděpodobně zapříčiněno exogenní kontaminací vzorku bakteriemi diphtheroides, na které benzoát sodný není účinný.[39] Je třeba brát v úvahu i fakt, že studie probíhala téměř před 30 lety a hygienické nároky na prostředí pro přípravu mohly být daleko nižší.

Tuto teorii potvrzuje studie z roku 2005[55], která použila prakticky stejné vehikulum obsahující prostý sirup a 1% metylcelulosový sliz s benzoanem sodným ve stejných poměrech a mikrobiální znečištění ani při teplotě 25°C prokázáno nebylo.

Druhá[54] a třetí studie[55] používají jako vehikula komerční přípravky ORA-Sweet a ORA-Plus, které obsahují sladidla: ORA-Sweet sacharosu, sorbitol, glycerol; ORA-SF sodnou sůl sacharinu; dále tlumivé přísady kyselinu citronovou a hydrogenfosforečnan sodný a jako protimikrobní přísady sorbitan draselný a methylparaben. Suspendující vehikulum ORA-Plus obsahuje kromě výše uvedených pufrů a konzervantů ještě látky zvyšující viskozitu: karmelosu, xanthanovou klovatinu a mikrokrystalickou celulosu. U všech tří vehikul výrobce deklaruje pH 4,2[56]

Německé poradenství pro magistraliter receptury NRF[57] navrhuje recepturu perorálního roztoku sotalol-HCl v koncentraci 2 mg/ml připraveného z injekcí Sotalex 40 mg, které bohužel nejsou v ČR registrovány. Kromě těchto injekcí roztok obsahuje jako protimikrobní látku sorbitan draselný v koncentraci 0,14%, bezvodou kyselinu citronovou na úpravu pH a sacharosu, které je ve finálním roztoku 25%. Receptura však nemá doloženou stabilitu.

Z literární rešerše vyplynuly základní informace o stabilitě a požadovaném složení vehikula pro sotalol-hydrochlorid

- dobrá stabilita sotalol-hydrochloridu ve vodném roztoku
- vhodnost udržení hodnoty pH v rozmezí 4 – 5
- možnost využití sacharosy nebo sodné soli sacharinu jako sladidel
- možnost použití protimikrobní přísady sorbitanu draselného

8.3 Experimentální část

8.3.1 Materiál

Použité účinné a pomocné látky

Název látky	Kvalita/LF	Dodavatel
Sotaloli hydrochloridum	ČL 2009	Fagron
Kalii sorbas	Ph. Eur. 7.0	Dr.Kulich Pharma
Acidum citricum monohydricum	Ph. Eur. 6.0	Dr.Kulich Pharma
Sirupus simplex	ČL 2009	Fagron
Sterile water for injection	Ph. Eur. 6.0	Fresenius Kabi
Saccharinum natricum	Ph. Eur. 7.0	Dr.Kulich Pharma
Natrii hydrogenphosp. dodecah.	Ph. Eur. 6.1	Dr.Kulich Pharma
SotaHEXAL 80mg	Tablety	Registrovaný LP

Použitá zařízení

Váhy KERN EW 150-3M, *Kern & Sohn Gmbh, Německo, d=1 mg*

Váhy KERN EW 1500-2M, *Kern & Sohn Gmbh, Německo, d=10 mg*

Analytické váhy Classic AB204-S/M, Mettler-Toledo s.r.o., Švýcarsko

WTW mikroprocesorový pH metr 538, WTW GmbH, Německo

PH metr Microprocessor 212, *Hanna Instrument, Německo*

HPLC systém Shimadzu LC-2010 C, *Kyoto, Japan*

8.3.2 Metody

8.3.2.1 Příprava vzorků se sotalol-hydrochloridem

Postup přípravy roztoku se sotalol-HCl s protimikrobní přísadou

Sorbitan draselný se rozpustí za obyčejné teploty ve vodě na injekci, přidá se kyselina citronová, případně hydrogenfosforečnan sodný, a nakonec sotalol-hydrochlorid. Po úplném rozpuštění se přidá sodná sůl sacharinu nebo prostý sirup. Sirup se přidává objemově (do 100,0 ml) nebo se dováží (do 105,0 g). Po dokonalém promíchání se

roztok adjustuje do tmavých skleněných lékovek a adapterem na perorální pipety a se šroubovacím uzávěrem.

Postup přípravy roztoku se sotalol-HCl bez protimikrobní přísady

Sotalol-hydrochlorid se rozpustí v odpovídajícím množství vody na injekci a v prostředí čistoty A se provede membránová filtrace 0,2 μm do sterilních vialek s pryžovým uzávěrem a pertlí nebo sterilních šroubovacích lékovek.

8.3.2.2 Vzorkování

Pro **preformulační** studii byly vzorky po přípravě uchovávány v dobře uzavřených tmavých skleněných lékovkách v chladničce při teplotě 5 ± 3°C a při teplotě místnosti 25 ± 3°C. Ve zvolených časových intervalech byly vzorky použity k měření pH a hodnoceny jejich organoleptické vlastnosti: změna zabarvení, zákal, případný zápach.

Pro **stabilitní** studii byla každá formulace S1-S3 připravena ve dvou šaržích a každý ze vzorků rozdělen do 4 skleněných tmavých lékovek a vždy po dvou uchovávány chladničce (5 ± 3°C) a při teplotě místnosti (25 ± 3°C). Celkem bylo u každé šarže měřeno 6 nástřiků do HPLC. Pro vlastní stabilitní studii byly připraveny ke každé formulaci i tzv. slepé vzorky bez obsahu účinné látky.

Složení vzorků se sotalol-hydrochloridem uvádí Tabulka 10

8.3.2.3 Měření pH

Měření pH probíhalo stejným způsobem a za stejných podmínek jako v předešlém příkladě s roztokem propranolol-hydrochloridu, viz kapitola 7.3.2.3

Tabulka 10 – Složení vzorků se sotalol-hydrochloridem pro stabilitní studie

Složení	**S1**	**S2**	**S3**
Sotaloli hydrochloridum	0,50 g	0,50 g	0,50 g
Kalii sorbas	-	0,10 g	0,10 g
Acidum citricum monohydricum	-	0,08 g	0,08 g
Sirupus simplex	-	20,0 g	-
Saccharinum natricum	-	-	0,10 g
Aqua pro injectione ad	100,0 ml	100,0 ml	100,0 ml

8.4 Výsledky a diskuze

Pro Dětské kardiocentrum ve FN Motol byly v lékárně připravovány magistraliter tobolky s obsahem sotalolu-HCl 10–40 mg dle dávky požadované lékařem. Z důvodu nárůstu hmotnosti malého pacienta nebo změny klinického stavu docházelo často k urgentní potřebě změně dávky, tedy nové přípravy tobolek. Tekutá léková forma se tedy v tomto případě jevila jako ideální především z důvodu větší flexibility dávky.
Při formulaci složení perorálního roztoku se sotalol-HCl 5mg/ml byly kromě fyzikálně-chemických vlastností sotalolu-HCl brány v úvahu i požadavky cílové skupiny pediatrických pacientů od narození do 6 let. Bylo tedy potřeba opět navrhnout minimálně dvě formulace – bez protimikrobní přísady a s minimálním obsahem pomocných látek určenou pro novorozence a vícedávkový perorální roztok, tedy s konzervační přísadou, určený pro děti od jednoho měsíce léčené v domácím prostředí.

Z literární rešerše vyplynulo, že sotalol-hydrochlorid je ve vodném prostředí relativně chemicky stabilní, optimální pH leží mezi 4 – 5. V tomto rozmezí je z dostupných protimikrobních látek nejvíce účinný sorbitan draselný, který byl ve studiích použit ve formě komerčního vehikula ORA. Jako tlumivé přísady je možno použít kyselinu citronovou nebo její kombinaci s hydrogenfosforečnanem sodným. Jako korigencia chuti připadají v úvahu sacharosa nebo sodná sůl sacharinu.

V preformulačních studiích provedených Křížem a zpracovaných v jeho diplomové práci[52] bylo navrženo a připraveno celkem 8 receptur, které byly skladovány v

chladničce a za teploty místnosti a byla sledována jejich fyzikální stabilita v čase 1, 3, 7, 14, 30, 60 a 90 dnů měřeno pH a hodnoceny organoleptické vlastnosti, jako je změna barvy, zákal, zápach. U všech vzorků byla změřena také osmolalita a hustota. Množství přidané kyseliny citronové bylo zjištěno experimentálně a nastaveno tak, aby výsledné pH bylo cca 4,4. U konzervovaných vícedávkových roztoků pro děti od 1 měsíce bylo množství chuťového korigens, sacharosy i sacharinu hodnoceno subjektivně ve spolupráci s pediatry.

Jako protimikrobní přísada byl použit sorbitan draselný, u kterého je účinná nedisociovaná forma kyseliny sorbové. V případě, kdy pK_a = 4,76[39], je při uvedeném pH = 4,4 nedisociovaná, tedy účinná část kyseliny sorbové 70%, jak je uvedeno v rovnici 4

$$\text{nedisociovaná část slabé kyseliny} = \frac{1}{1 + \text{antilog}\left(\text{pH - pK}_a\right)} = \frac{1}{1 + \text{anti log}\left(4{,}4 - 4{,}76\right)} = 0{,}7 \qquad (4)$$

Sorbitan draselný je považován relativně netoxickou látku, její akceptovatelná denní dávka stanovená WHO je 25 mg/kg/den. Je často používán v registrovaných perorálních přípravcích určených dětem. V lokálním podání může způsobovat podráždění a alergické reakce. Má antibakteriální a antimykotické účinky v koncentraci 0,1 – 0,2% při pH < 6.[27] Na základě těchto informací byl pro finální verze formulací použit sorbitan draselný v koncentraci 0,1% w/v.

V rámci preformulačních studií se hodnoty pH se u sledovaných vzorků v průběhu 90 dnů prakticky neměnily a nedošlo ani k žádným výrazným organoleptickým změnám.

Do stabilitních studií prováděných na katedře Analytické chemie FaF UK pomocí HPLC byly zařazeny 3 formulace, jejich složení je uvedeno v Tabulce 10. Pro tyto formulace byla vyvinuta a zvalidována dle ICH metoda pro současné stanovení sotalol-hydrochloridu a sorbitanu draselného. Tato metodika HPLC byla publikována v článku L.Matysové a kol. [58]

Design stabilitní studie

Vzorky přípravků byly uchovávány při dvou teplotách, v chladničce (5 ± 3 °C) a za teploty místnosti (25 ± 3 °C). V intervalech 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150 a 180 dní byly odebírány vzorky ke stanovení obsahu sotalol-hydrochloridu a sorbanu draselného a bylo měřeno pH. Současně byly sledovány organoleptické vlastnosti přípravků.

Vzorky pro měření pH byly odebírány ve stejných intervalech, ale pouze u vzorků skladovaných při teplotě místnosti 25°C.

Nastavené pH se v průběhu studie příliš neměnilo, jak je možné vidět z hodnot uvedených v **tabulce 11**. U vzorku S1 bez aditiv hodnoty mírně rostly od 5,44 v čase bezprostředně po přípravě do 5,87 na konci sledované doby. U vzorků S2 a S3 se prakticky neměnily, po celou dobu pozorování zůstaly hodnoty pH stabilní v rozmezí 4,18 ± 0,03.

Tabulka 11 Hodnoty pH vzorků se sotalol-HCl

Den	**0**	**7**	**14**	**30**	**60**	**90**	**120**	**150**	**180**
S1	5,44	5,43	5,52	5,50	5,67	5,76	5,82	5,87	5,87
S2	4,18	4,18	4,17	4,18	4,16	4,19	4,19	4,18	4,17
S3	4,18	4,16	4,19	4,17	4,17	4,15	4,18	4,15	4,14

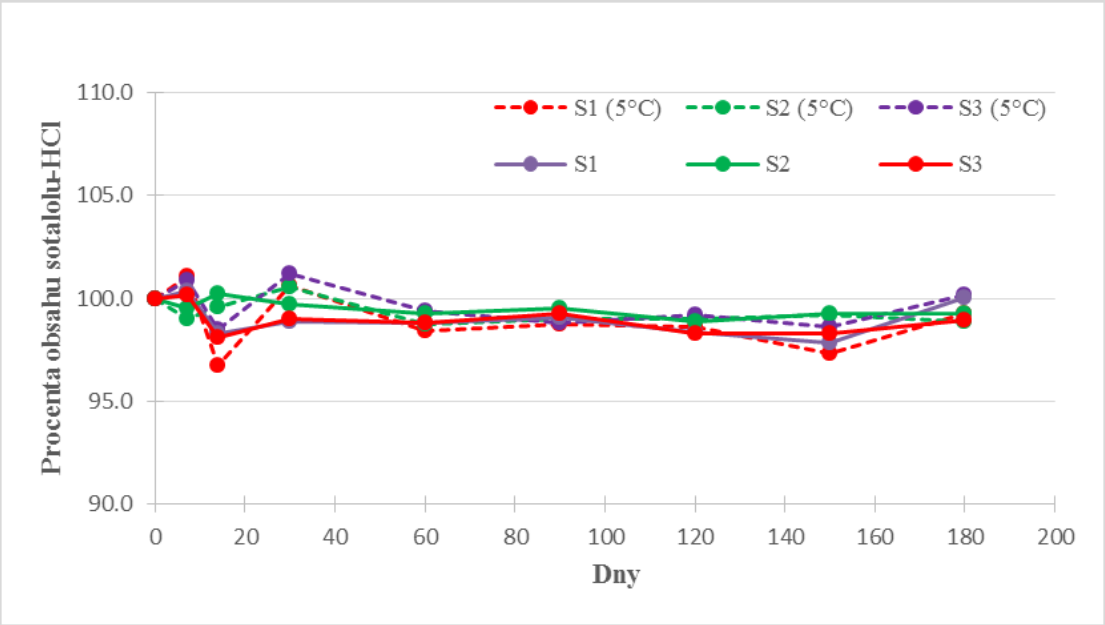
Výsledky hodnocení obsahu sotalol-HCl a sorbitanu draselného ve všech přípravcích a při dvou různých teplotách jsou uvedeny v **tabulce 12 a 13** včetně směrodatných odchylek. Změny koncentrací vyjádřené v procentech počáteční koncentrace v čase 0, tj. po přípravě (100%), jsou prezentovány formou na obrázcích 5 a 6.

Tabulka 12 - Obsah sotalol-hydrochloridu (mg/ml) při skladování za chladničce (5 ± 3°C) a při teplotě místnosti (25 ± 3°C); směrodatná odchylka označena *kurzívou*

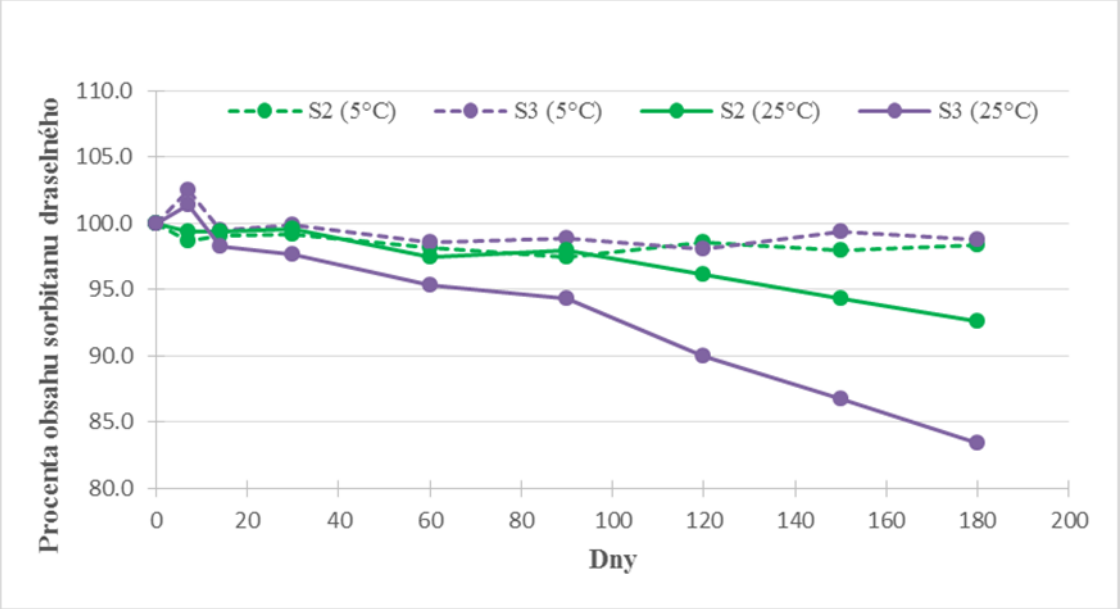
Den	chladnička			místnost		
	S1	**S2**	**S3**	**S1**	**S2**	**S3**
0	**5,221** *0,047*	**5,191** *0,029*	**5,190** *0,052*	**5,221** *0,047*	**5,191** *0,029*	**5,190** *0,052*
7	**5,279** *0,071*	**5,140** *0,048*	**5,236** *0,045*	**5,241** *0,046*	**5,166** *0,039*	**5,200** *0,048*
14	**5,050** *0,025*	**5,169** *0,067*	**5,112** *0,012*	**5,134** *0,038*	**5,202** *0,036*	**5,093** *0,018*
30	**5,255** *0,035*	**5,219** *0,060*	**5,253** *0,017*	**5,164** *0,053*	**5,174** *0,062*	**5,138** *0,020*
60	**5,139** *0,017*	**5,126** *0,058*	**5,157** *0,041*	**5,158** *0,031*	**5,154** *0,036*	**5,127** *0,043*
90	**5,156** *0,015*	**5,140** *0,046*	**5,130** *0,033*	**5,172** *0,016*	**5,167** *0,015*	**5,152** *0,021*
120	**5,148** *0,050*	**5,138** *0,034*	**5,150** *0,029*	**5,137** *0,031*	**5,133** *0,020*	**5,101** *0,048*
150	**5,082** *0,035*	**5,147** *0,043*	**5,118** *0,038*	**5,109** *0,018*	**5,151** *0,036*	**5,101** *0,013*
180	**5,184** *0,043*	**5,131** *0,047*	**5,197** *0,047*	**5,225** *0,027*	**5,153** *0,042*	**5,137** *0,055*

Tabulka 13 Obsah sorbitanu draselného (mg/ml) při skladování za chladničce (5 ± 3°C) a při teplotě místnosti (25 ± 3°C); směrodatná odchylka označena *kurzívou*

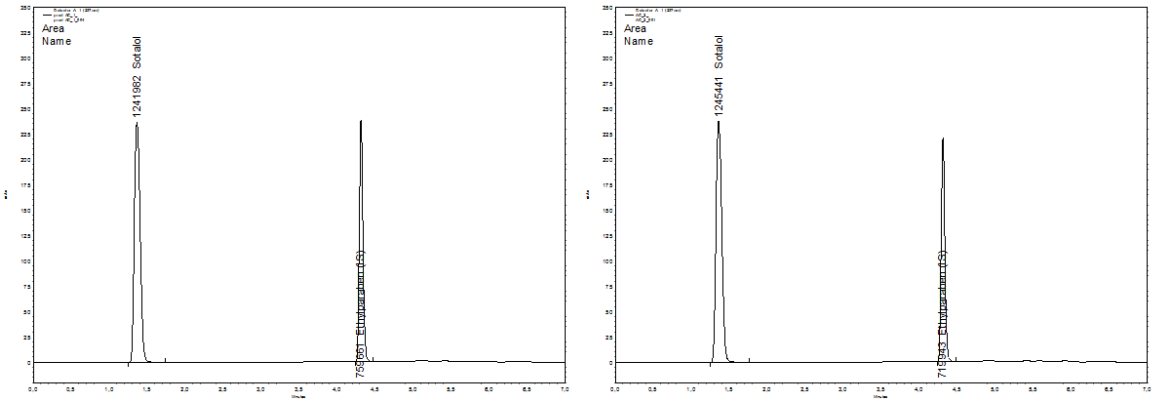
	chladnička		**místnost**	
Den	**S2**	**S3**	**S2**	**S3**
0	**1,041** *0,016*	**1,044** *0,010*	**1,041** *0,016*	**1,044** *0,010*
7	**1,027** *0,021*	**1,071** *0,020*	**1,034** *0,019*	**1,059** *0,020*
14	**1,031** *0,021*	**1,039** *0,015*	**1,034** *0,008*	**1,026** *0,020*
30	**1,032** *0,023*	**1,044** *0,017*	**1,036** *0,009*	**1,020** *0,014*
60	**1,022** *0,014*	**1,029** *0,026*	**1,014** *0,010*	**0,996** *0,009*
90	**1,014** *0,017*	**1,032** *0,009*	**1,020** *0,005*	**0,985** *0,007*
120	**1,026** *0,015*	**1,024** *0,017*	**1,000** *0,007*	**0,939** *0,014*
150	**1,019** *0,006*	**1,037** *0,018*	**0,982** *0,008*	**0,906** *0,016*
180	**1,024** *0,003*	**1,032** *0,012*	**0,964** *0,008*	**0,871** *0,008*



Obrázek 5 Obsah sotalol-hydrochloridu (% počáteční koncentrace) při skladování za chladničce (5 ± 3°C) a při teplotě místnosti (25 ± 3°C)



Obrázek 6 Obsah sorbitanu draselného (% počáteční koncentrace) při skladování za chladničce (5 ± 3°C) a při teplotě místnosti (25 ± 3°C)



a – před sterilizací v autoklávu b – po sterilizaci v autoklávu

Obrázek 7 Vliv sterilizace v autoklávu vzorku S1 na HPLC chromatogramu – pík sotalolu HCl

Vzorek S1 představuje vodný 0,5% roztok sotalol-HCl. Tento vzorek byl po přípravě sterilizován v autoklávu ve skleněné vialce s pryžovým uzávěrem a kovovou pertlí při 121°C 15 minut. Koncentrace sotalol-HCl zůstala stejná, pík chromatografu po sterilizaci se nezměnil, jak je patrné z **obrázku 7**, stejně jako obsah účinné látky v rozmezí 95% - 101% vztaženo k původnímu obsahu v čase 0 (**tabulka 7**) Tento roztok lze v praxi využít pro novorozence. Roztok může být po sterilizaci uchováván v uzavřených vialkách při pokojové teplotě nebo v ledničce po dobu maximálně 6 měsíců, po otevření nutno uchovávat v chladničce a spotřebovat do 72 hodin.

Také vzorek S2, obsahující sorbitan draselný a sacharosu, vykazuje velmi dobrou stabilitu při uchovávání v chladničce i při teplotě místnosti. Obsah sotalol-HCl se pohybuje v rozmezích 97,8 – 100,5 %, obsah sorbitanu draselného poklesl maximálně na 92,6% při teplotě 25°C po 180 dnech.

Roztok S3, obsahující sorbitan draselný a sodnou sůl sacharinu, vykazoval podobnou stabilitu sotalolu-HCl jako předchozí roztok S2, při teplotě místnosti však docházelo k vyššímu rozkladu sorbitanu draselného. Po 180 dnech u vzorků skladovaných při 25°C koncentrace sorbitanu významně poklesla na pouhých 83% iniciální koncentrace (obrázek 6). U tohoto roztoku S3 je proto doporučeno uchovávání v chladničce.

Výsledky prací byly prezentovány formou přednášky[59] a posteru na kongresu[60] a v odborném časopise.[61]

KLOVRZOVA S., ZAHALKA L., KŘÍŽ T., ZAHALKOVA O., MATYSOVA L., ŠKLUBALOVA Z., HORÁK P.: Extemporaneous sotalol hydrochloride oral solutions for use in paediatric cardiology: formulation and stability study, *Eur. J. Hosp. Pharm.* 2016, 23, 33–37. doi:10.1136/ejhpharm-2015-000711; ISSN 2047-9956. IF 0,471

Článek se zabývá formulací tří perorálních roztoků s účinnou látkou sotalol-HCl v koncentraci 5mg/ml určených pro léčbu srdečních arytmií pro děti od narození do cca 5 let. Pro léčbu novorozenců je doporučován roztok bez obsahu jakýchkoli aditiv. Jeho mikrobiální stabilita je zajištěna aseptickou přípravou a následnou sterilizací v autoklávu 15 min při 121°C. Další dvě formulace určené pro děti od 1 měsíce jsou stabilizovány sorbitanem draselným 1mg/ml, kyselinou citronovou pro úpravu pH; chuť je modifikována sodnou solí saccharinu nebo sacharosou. Obsah sotalol-HCl a sorbitanu draselného byl sledován po dobu 180 dní za snížené (5 ± 3 °C) a při pokojové (25 ± 3 °C) teplotě validovanou HPLC metodou. Všechny formulace vyhověly kriteriu minimálně 95% obsahu účinné látky SOT-HCl. Účinnost protimikrobní přísady v dané koncentraci (5.1.3) byla pro formulaci S2 ověřena akreditovanou laboratoří.

Jako vhodnější receptura pro praxi byla vybrána varianta s prostým sirupem, ve které se sorbitan jevil stabilnější i při teplotě místnosti. Na základě výsledků stabilitních studií tak byly do praxe byly implementovány roztoky S2 a S1 s následujícími technologickými předpisy:

Roztok se sotalol-hydrochloridem 5 mg/ml (S2)

Složení:

Sotaloli hydrochloridum	*0,5 g*
Acidum citricum monohydr.	*0,08 g*
Kalii sorbas	*0,1 g*
Sirupus simplex	*20,0 g*
Aqua purifficata	*ad 105,0 g (= ad 100 ml)*

Postup přípravy: Sorbitan draselný se rozpustí v čištěné vodě, přidá se kyselina citronová a sotalol-hydrochlorid. Po úplném rozpuštění se doplní prostým sirupem objemově (do 100 ml) nebo se dováží (do 105 g). Po dokonalém promíchání se roztok adjustuje do lékovky.

Obal: tmavá skleněná lékovka se šroubovacím uzávěrem a dávkovacím zařízením (p.o. adaptér + p.o. pipeta), papírová skládačka

Doporučená doba použitelnosti: 6 měsíců při uchovávání 2-25°C

Tento perorální roztok je používán ve FN Motol k léčbě srdečních arytmií dětí od 1 měsíce (z důvodu obsahu protimikrobní látky). Účinnost protimikrobní přísady u tohoto přípravku byla prokázána lékopisnou zkouškou 5.1.3.

Druhá receptura je určena primárně pro novorozence, neobsahuje žádná jiná aditiva, pouze vodu na injekci. Chuť sotalol-HCl není tak výrazně hořká jako např. u propranolol-HCl, což umožňuje vyloučit z receptury sladidlo. Chemická stabilita roztoku byla stanovena na 6 měsíců stejnou metodikou HPLC jako u předchozí receptury. Z důvodu nepřítomnosti konzervační látky musí být mikrobiální stabilita přípravku určeného pro delší dobu skladování ošetřena aseptickou přípravou a vhodným obalem.

Roztok se sotalolem 5 mg/ml pro novorozence

Složení:

Sotaloli hydrochloridum 0,1 g

Aqua pro inj. ad 20,0 g

Postup přípravy: Sotalol-hydrochlorid se rozpustí v odpovídajícím množství vody na injekci a v prostředí čistoty A se provede filtrace roztoku přes membránu 0,2 μm do sterilních vialek. Po uzavření pryžovou zátkou a zapertlování se roztok sterilizuje v autoklávu při 121°C 20 minut.

Obal: sterilní skleněná vialka s pryžovým uzávěrem a kovovou petrlí

Doporučená doba použitelnosti: 3 měsíce do prvního otevření, po otevření uchovávat při 2-8°C a spotřebovat do 72 hodin.

Již po ukončení experimentální části práce byla v roce 2016 do německého kodexu NFR-DAC zařazena receptura roztoku se sotalol-HCl v koncentraci **20 mg/ml ve složení**:[50]

Sotaloli hydrochloridum	*2,0 g*
Kalii sorbas	*0,15 g*
Acidum citricum anhydricum	*0,07 g*
Aqua purificata	*ad 100,0 g*

Uvedená doba použitelnosti roztoku uchovávaného ve tmavé skleněné lékovce s adapterem na perorální pipetu je 6 měsíců.

9 FORMULACE MAGISTRALITER PŘÍPRAVKŮ S FUROSEMIDEM

Příprava respektovala požadavek pediatrů na koncentraci furosemidu **2 mg/ml**.
Při formulaci tekutých perorálních přípravků s furosemidem bylo nutno vzít v úvahu nerozpustnost furosemidu ve vodě a jeho fotosenzitivitu.
Vzhledem k dlouhodobému a pravidelnému užívání léku, byla požadována stabilita u konzervovaného přípravku minimálně 6 měsíců.

9.1 Vlastnosti furosemidu

Farmakologické vlastnosti a indikace

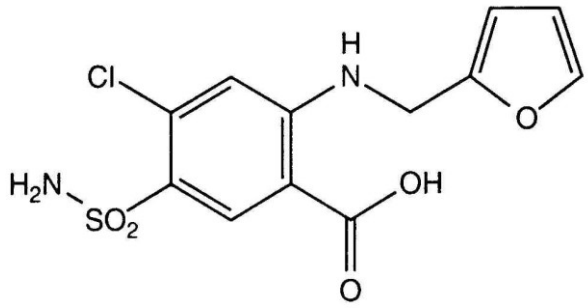
Furosemid je silné, rychle a krátkodobě působící kličkové diuretikum. V dětské kardiologii se v perorální formě používá v kombinaci s digoxinem a chloridem draselným k léčbě srdečního selhání.[1] Je účinný i při výrazně snížené funkci ledvin. Jeho diuretický účinek spočívá v inhibici reabsorpce chloridů a sodíku v Henleyeho kličce, v distálním a proximálním tubulu. Vyvolává zvýšené vylučování sodíku, chloridů a vody, ale také draslíku, vápníku a hořčíku. Po perorálním podání se rychle absorbuje, výrazně se váže na plazmatické bílkoviny. Účinek se dostavuje již za 30 minut, vrcholí za 1-2 hodiny a přetrvává 6-8 hodin. Eliminace probíhá zejména ledvinami převážně v nezměněné formě.[28]

Dávkování

Podle BNFC je perorální denní dávka u chronického srdečního selhání 0,5-2mg/kg, u novorozenců podávaná každých 12 – 24 hodin, u dětí starších jednoho měsíce 2 – 3 x denně.[30] Nejčastěji v lékárně připravovaná perorální dávka furosemidu se pohybuje v rozmezí 1–5 mg 3x denně.

Fyzikálně-chemické vlastnosti

kyselina 4-chlor-2-[(furan-2-ylmethyl)amino]-5-sulfamoylbenzoová



M_r 330,74

Furosemid (FSM) je bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v ethanolu 96%.[6]

Rozpusnost furosemidu se zvyšuje v alkalickém prostředí při pH vyšším než 8. V kyselém prostředí pH < 5,5 může z roztoku precipitovat. Při poklesu pH vodného roztoku pod 3,5 dochází k jeho hydrolytickému rozkladu. Furosemid i jeho přípravky jsou velmi citlivé na světlo. Fotodegradace je nejnižší při neutrálním pH, zvyšuje se v alkalickém i kyselém prostředí. Rozkladné produkty jsou žlutě zbarvené.[32]

Dostupnost

Furosemid je dostupný jako surovina v lékopisné kvalitě a rovněž je obsažen v registrovaných tabletách a injekcích. Nejnižší dávka v perorálních tabletách je 40 mg (např. Furon®, Furorese®), injekce s furosemidem obsahují 10 mg/ml (Furosemid ®Biotika 10x2 ml) nebo 12,5 mg/ml (Furosemid Biotika Forte® 10x10 ml).

V zahraničí jsou k dispozici perorální tekuté formy, např.: Frusol® 20mg/5ml Oral Solution (Rosemont Pharmaceuticals ltd.), který obsahuje ethanol (10% v/v), hydroxid sodný, chinolovou žluť, maltitol, hydrogenfosforečnan sodný, kyselinu citronovou, višňové aroma (obsahující ethanol a propylenglykol) a vodu. Dalším přípravkem je Lasix® Oral Solution 10 mg/ml (Sanofi-Aventis), který obsahuje ethanol (11,9 % v/v), sorbitol, glycerol, hydroxid sodný, polysorbát 80, methylparaben, sorbitan draselný, butylhydroxyanisol, butylhydroxytoluen, pomerančové aroma a vodu.

Vzhledem k obsahu pomocných látek (cca 10% ethanolu) a vyšší koncentraci furosemidu nejsou tyto komerční tekuté lékové formy vhodné pro novorozence a malé děti. Navíc aromata nejsou u nás registrovaná ani dostupná v lékopisné kvalitě a nemohou být tedy použita.

9.2 Tekuté lékové formy s furosemidem

V zahraniční literatuře je uvedena řada receptur, které liší se nejen stabilitou FSM, ale i chuťovou přijatelností.

Z roku 1978 pochází studie Ghanekar a spol. [62] , který sledoval rozklad furosemidu v různých vehikulech při vyšších teplotách 25°C, 45°C a 65°C pomocí HPLC. Pro přípravu použil účinnou látku ve formě vodných injekcí Lasix®. Měnil hodnotu pH pomocí hydroxidu sodného nebo kyseliny chlorovodíkové a sledoval vliv pomocných látek: sorbitolu, sacharosy, glycerolu, ethanolu a fosfátového pufru. Ze studie vyplynulo, že chemická stabilita furosemidu se snižuje s poklesem pH a zvyšováním koncentrace sacharosy. Autoři doporučili následující složení, u kterého byla prokázána 6 měsíční stabilita při teplotě místnosti:

Furosemidum	*0,1 g*
Sorbitolum	*50,0 g*
Ethanolum 96%	*10,0g*
Methylparabenum	*0,005 g*
Propylparabenum	*0,002 g*
Aqua purificata	*ad 100,0 g*
Natrii hydroxidi	*q.s. (corr. pH=8,5)*

Podobné pomocné látky obsahuje registrovaný přípravek Lasix® Oral sol.

V americké publikaci Pediatric Drug Formulation[63] byla publikována receptura obsahující furosemidu v koncentraci 2 mg/ml v komerčním vehikulu Syrpalta®:

Furosemid inj 10mg/ml	*10 ml*
Syrpalta	*ad 50 ml*

Vehikulum Syrpalta® (Humco Laboratory, USA) s pH 4,7 obsahuje sacharosu, benzoan sodný, čištěnou vodu, barviva, aroma a další blíže nespecifikované přísady. Podle autorů je doba použitelnosti této receptury 30 dnů.
Uvedená hodnota pH je v rozporu s obecným povědomím stability furosemidu a jeho rozpustnosti. Dá se očekávat, že smísením roztoků injekcí a vehikula Syrpalta vznikne suspenze s vysráženým furosemidem, o tom se však autoři nezmiňují.

V německém nemocničním receptáři **Formularium hospitale**[64] je uvedena suspenze furosemidu v koncentraci 50 mg/ml určená dospělým pacientům:

Furosemidum	*5,0 g*
Bentonitum	*2,0 g*
Kalii sorbas	*0,1 g*
Acidum citricum anhydr.	*0,1 g*
Polysorbát 80	*0,1 g*
Silicon Antischaumemulsion SE 6	*0,1 g*
Sorbitol sol. 70%	*25,0 g*
Aqua purificata	*ad 100,0 ml*

Tento nemocniční receptář není v Německu oficinální, ale shromažďuje receptury používané v nemocničních lékárnách, u nichž byly provedeny stabilitní studie. Hodnota pH této suspenze se během ročního pozorování pohybovala v rozmezí 4,5 – 5,0, obsah furosemidu zůstával v limitu 95-105 %. Legislativním i praktickým problémem této receptury je použití protipěnivé přísady Silicon Antischaumemulsion, která nepatří mezi lékopisné suroviny. Pro děti není tato receptura vhodná z důvodu vysoké koncentrace furosemidu.

V německém oficinálním receptáři NRF[50] jsou uvedeny dvě receptury (s protimikrobní přísadou a bez) pro perorální roztoky furosemidu v koncentraci 2 mg/ml a 10 mg/ml. Příprava vychází ze substance furosemidu, která se rozpouští v alkalickém prostředí zajištěným přísadou trometamolu. Jako chuťové korigens je použita sodná sůl sacharinu. Hodnota pH roztoku 7,4 je kompromisní mezi rozpustností furosemidu a jeho snášenlivostí.

Roztok furosemidu s protimikrobní látkou (Furosemid-Lösung 2mg/ml nebo 10mg/ml NRF 26.2) ve složení:

Furosemidum	*0,20 g*	*1,0 g*
Tromethamolum	*0,1 g*	*0,45 g*
Saccharinum natricum	*0,1 g*	*0,1 g*
Methylparabenum	*0,075 g*	*0,075 g*
Propylparabenum	*0,025 g*	*0,025 g*
Aqua purificata	*ad 100,0 g*	*ad 100,0 g*

Příprava probíhá rozpuštěním všech složek v polovičním množství horké vody (cca 90°C), po ochlazení se doplní čištěnou vodou do požadovaného konečného množství. Roztok musí být čirý a bezbarvý a uchovává se v tmavých skleněných lékovkách se šroubovacím uzávěrem. Podle receptáře má roztok použitelnost 3 roky; po otevření se musí spotřebovat do 6 měsíců.

Roztok furosemidu bez protimikrobních přísad (Furosemid-Lösung ohne Konservierung 2mg/ml nebo 10mg/ml, NRF 26.1) pro novorozence ve složení:

Furosemidum	*0,2 g*	*1,0 g*
Tromethamolum	*0,08 g*	*0,45 g*
Saccharinum natricum	*0,1 g*	*0,1 g*
Aqua pro injectione	*ad 100,0 g*	*ad 100,0 g*

Jednotlivé složky se za varu a intenzivního míchání rozpustí v třetinové části vody na injekci a po ochlazení doplní vodou na injekci do finálního množství. Za aseptických podmínek se provede filtrace přes membránový filtr 0,2 μm a přípravek se adjustuje do jednorázových sterilních stříkaček, které se uzavřou sterilním uzávěrem. Stříkačka se skladuje v černém polyethylenovém sáčku.

Adjustovaný přípravek je možné zmrazit na alespoň -15°C; v takovém případě receptář uvádí použitelnost 2 roky. Po rozmrazení je potřeba spotřebovat do 24 hodin.

Problémem uvedených receptur je obsah propylparabenu, který se v pediatrických přípravcích nedoporučuje.[38]

Podobná receptura je uvedena také v nizozemském receptáři FNA[65], ta však neobsahuje propylparaben a mikrobiální stabilita je zajištěna pouze methylparabenem v koncentraci 0,15% m/v.

V České republice se v současnosti pediatrické perorální roztoky s furosemidem připravují obvykle z injekcí Furosemid Biotika Forte® 125 mg/10 ml, které kromě vody na injekci obsahují jen hydroxid sodný k úpravě pH a k rozpuštění furosemidu, pH přípravku je 9,2-9,3 (zjištěno experimentálně autorkou této práce).
Ve FN Motol byl z výše uvedených injekcí dlouhou dobu připravován roztok furosemidu o koncentraci 1 mg/ml s přídavkem viskozitní přísady:

Furosemid Forte inj.	*1 amp (10ml=125 mg furosemidu)*
Sirupus simplex	*20,0 g*
Methylcelullosi mucilago 1,5%	*ad 125,0 ml*

Obsah ampulí injekcí Furosemid Forte se smísí s prostým sirupem a methylcelulosovým slizem a převede do tmavé lékovky se šroubovacím uzávěrem. Doba použitelnosti byla empiricky stanovena na 14 dní při skladování v chladu (2-8°C).
Příprava musí probíhat rychle z důvodu fotolability účinné látky.

Později bylo z důvodu vyšší stability (pH cca 9) a možnosti využití bakteriální filtrace složení zjednodušeno na pouhé naředění injekcí vodou na injekci za aseptických podmínek. Roztok neobsahuje protimikrobní přísady a není chuťově upravován. Dle požadavku lékaře jsou připravovány dvě různé koncentrace FSM 1 mg/ml nebo 2 mg/ml:

	1mg/ml	2mg/ml
Furosemid Forte inj.	*10,0 ml*	*10,0 ml*
Aqua pro injectione	*ad 125,0 g*	*ad 62,5 g*

Obsah ampulí injekcí Furosemid Forte se pomocí injekční stříkačky s jehlou převede do vytárované kádinky, doplní vodou na injekci do konečného množství a dobře se promíchá. V prostředí třídy čistoty A se provede filtrace přes membránový filtr 0,22um.

Roztok se adjustuje do sterilní tmavé lékovky se šroubovacím uzávěrem a adaptérem na perorální stříkačku. Doba použitelnosti byla empiricky stanovena na 14 dní při skladování v chladničce (2-8°C).

Z literární rešerše stabilitních studií a receptur uvedených v oficinálních receptářích vyplynuly základní informace o stabilitě a požadovaném složení vehikula pro furosemid. Fotolabilita FSM musí být řešena rychlou přípravou a skladováním v temnu.
Existují v podstatě dvě základní možnosti, jak připravit vodné perorální tekutiny s furosemidem:

- Lze využít dobré smáčivosti prášku furosemidu a připravit **suspenzi** ve vhodném, nejlépe pH neutrálním, vehikulu zajišťujícím dobrou roztřepatelnost
- S využitím alkalizující látky lze furosemid rozpustit (vznik soli) a připravit roztok
    - udržení hodnoty pH v rozmezí cca 7-9
    - použití parabenů jako protimikrobních přísad
    - negativem je snížení stability v přítomnosti sacharosy

Z hlediska přesnosti dávkování pro děti je roztok výhodnější než suspenze. Nevýhodou alkalizace trometamolem je nutnost zahřívání na 90°C do úplného rozpuštění furosemidu, což prodlužuje přípravu a mohlo by ohrozit stabilitu FSM s ohledem na zmíněnou fotolabilitu. Rovněž použití trometamolu jako pomocné látky k dlouhodobému perorálnímu podávání dětem je z pohledu bezpečnosti i chuti přípravku sporné. Při rozpuštění furosemidu v roztoku hydroxidu sodného (obdoba injekcí) je negativním faktorem výrazná chuť této pomocné látky.
S ohledem na požadované neutrální nebo alkalické pH jsou jako protimikrobní přísada používány parabeny. V případě perorálního podání dětem je preferován samotný methylparaben před směsí s propylparabenem.
Fotolabilita FSM musí být řešena rychlou přípravou a skladováním v temnu.

9.3 Experimentální část

9.3.1 Materiál

Použité účinné a pomocné látky

Název látky	Kvalita/LF	Výrobce
Furosemidum	ČL 2009	Fagron
Methylparabenum	Ph. Eur. 7.0	Dr.Kulich Pharma
Natrii hydroxydati	Ph. Eur. 6.0	Dr.Kulich Pharma
Sirupus simplex	ČL 2009	Fagron
Sterile water for injection	Ph. Eur. 6.0	Fresenius Kabi
Saccharinum natricum	Ph. Eur. 7.0	Dr.Kulich Pharma
Natrii hydrogenphosp. dodecah.	Ph. Eur. 6.1	Dr.Kulich Pharma
Furosemid Forte® 12,5 mg/ml	Inj. 10x10ml	Biotika

Použitá zařízení

Váhy KERN EW 150-3M, Kern & Sohn GmbH, Německo d=1 mg

Váhy KERN EW 1500-2M, Kern & Sohn GmbH, Německo d=10 mg

Analytické váhy Classic AB204-S/M, Mettler-Toledo s.r.o., Švýcarsko

WTW mikroprocesorový pH metr 538, WTW GmbH, Německo

PH metr Microprocessor 212, *Hanna Instrument, Německo*

HPLC systém Shimadzu LC-2010 C, *Kyoto, Japan*

9.3.2 Metody

Složení vzorků s furosemidem uvádí **Tabulka 14**

9.3.2.1 Příprava vzorků s furosemidem

Postup přípravy roztoku z injekcí Furosemid Forte Biotika bez aditiv (F1)

Roztok se připravuje za aseptických podmínek. Do vytárované skleněné kádinky se pomocí injekční stříkačky s jehlou odměří 16 ml injekčního roztoku Furosemid Forte a doplní se vodou na injekci do 100,0 ml (=100,0 g) tak, aby výsledná koncentrace

furosemidu byla 2 mg/ml. V prostředí čistoty A se provede membránová filtrace 0,2 μm do sterilních tmavých vialek s pryžovým uzávěrem a pertlí nebo sterilních šroubovacích lékovek.

Postup přípravy roztoku FSM s protimikrobní přísadou z injekcí Furosemid Forte Biotika (F2)

Nejdříve se rozpustí 0,1 g methyparabenu v 50 g horké vody na injekci (více než 80°C) a po vychlazení se přidá pomocí injekční stříkačky s jehlou 16 ml injekčního roztoku Furosemid Forte, 20 ml prostého sirupu a doplní se vodou na injekci do 100,0 ml. Koncentrace furosemidu je 2 mg/ml.

Postup přípravy roztoku s furosemidem, hydroxidem sodným a s protimikrobní přísadou (F3 a F4)

Nejdříve se rozpustí 0,1g methyparabenu v 50 g horké vody na injekci (více než 80°C). Poté se připravuje 1% roztok furosemidu dle následujícího rozpisu:

Furosemidum	0,2 g
NaOH sol. 1%	2,4 g
Aqua pro inj.	ad 20,0 g

K naváženému množství furosemidu se přidá odpovídající množství 1% roztoku hydroxidu sodného a směs se mírně zahřeje. Po úplném rozpuštění se doplní vodou na injekci do požadovaného množství. Změří se pH a případně upraví přidáním hydroxidu sodného na 9,0-9,2.

Ve vytárované tmavé lékovce se smísí připravený roztok 0,2% methylparabenu (50,0 g) s roztokem 1% furosemidu (20,0 g), přidá se sodná sůl sacharinu (0,1 g) nebo prostý sirup (20,0 ml), u vzorku F3 hydrogenfosforečnan sodný (0,1 g) a nakonec se doplní voda na injekci do požadovaného množství 100,0 ml. V uzavřené lékovce se roztok důkladně protřepe.

Postup přípravy roztoku s furosemidem, hydrogenfosforečnanem sodným a s protimikrobní přísadou (F6 a F7)

Nejdříve se rozpustí 0,1g methylparabenu v 50 g horké vody na injekci (více než 80°C) a roztok se nechá vychladnout. Hydrogenfosforečnan sodný dodekahydrát (1,5 g) se rozpustí za teploty místnosti přibližně v 20 g vody na injekci a do vzniklého alkalického roztoku se přidá furosemid (0,2 g). Po jeho úplném rozpuštění se dováží sodná sůl sacharinu (0,1 g), resp. prostý sirup (20,0 ml), přidá se vychlazený roztok methylparabenu a doplní vodou na injekci do celkového množství 100,0 ml. Hotový roztok se adjustuje do tmavé skleněné lékovky.

Postup přípravy roztoku s furosemidem, hydrogenfosforečnanem sodným a bez protimikrobní přísady (F5)

Roztok se připravuje za aseptických podmínek. Hydrogenfosforečnan sodný dodekahydrát (1,5 g) se rozpustí za teploty místnosti přibližně v 20 g vody na injekci, ve vzniklém alkalickém roztoku se rozpustí furosemid (0,2 g). Po jeho úplném rozpuštění se doplní vodou na injekci do celkového množství 100,0 ml. V prostředí čistoty A se provede membránová filtrace 0,2 μm do sterilních tmavých vialek s pryžovým uzávěrem a pertlí nebo sterilních tmavých šroubovacích lékovek.

9.3.2.2 Vzorkování

Pro **preformulační studii** byly vzorky po přípravě uchovávány v dobře uzavřených tmavých skleněných lékovkách v chladničce 5±3°C při teplotě a/nebo při teplotě místnosti 25±3°C. Ve zvolených časových intervalech byly vzorky použity k měření pH a hodnoceny jejich organoleptické vlastnosti: změna zabarvení, zákal, případný zápach.

Pro **stabilitní studii** byla každá z formulací F1-F7 připravena ve dvou šaržích a každý ze vzorků rozdělen do 4 skleněných tmavých lékovek a vždy po dvou uchovávány v chladničce (5±3°C) nebo v místnosti (25±3°C). Celkem bylo u každé z formulací měřeno 6 nástřiků do HPLC .

Pro stabilitní studii byly připraveny ke každému ze vzorků i tzv. slepé vzorky bez obsahu furosemidu.

Tabulka 14: Složení vzorků s furosemidem pro stabilitní studie

Složení	**F1**	**F2**	**F3**	**F4**	**F5**	**F6**	**F7**
Furosemid Forte inj. 12,5mg/ml	16,0 ml	16,0 ml	-	-	-	-	-
Furosemidum	-	-	0,20 g	0,20 g	0,20 g	0,20 g	0,20 g
Natrii hydroxidi sol. 1%	-	-	2,40 g	2,40 g	-	-	-
Natrii hydrogenphosphas dodecahydras	-	-	0,10 g	-	1,50 g	1,50 g	1,50 g
Methylparabenum	-	0,10 g	0,10 g	0,10 g	-	0,10 g	0,10 g
Sirupus simplex	-	20,0 ml	20,0 ml	-	-	20,0 ml	-
Saccharinum natricum	-	-	-	0,10 g	-	-	0,10 g
Aqua pro injectione ad	100,0ml	100,0ml	100,0ml	100,0ml	100,0ml	100,0ml	100,0ml

9.3.2.3 Měření pH

Měření pH probíhalo stejným způsobem a za stejných podmínek jak je uvedeno v kapitole 7.3.2.3

9.4 Výsledky a diskuze

Při formulaci receptur s furosemidem byly zdrojem výsledky z provedené literární rešerše, vlastní zkušenosti z pracoviště IPLP nemocniční lékárny ve FN Motol a preformulační experimenty. Vzhledem ke skutečnosti, že do praxe byl již zaveden roztok k perorálnímu použití, nikoliv suspenze, byla primárním cílem formulace roztoku z dostupných surovin, s jednoduchou přípravou. Jak již bylo uvedeno, je hlavním problémem nízká rozpustnost furosemidu ve vodě; k jeho rozpuštění je potřeba zvýšit pH na > 8.[32]

Preformulační studie

Registrované injekce Furosemid Forte Biotika obsahují v jedné ampulce 10 ml roztoku v koncentraci furosemidu 1,25% (12,5 mg/ml). Roztok furosemidu v požadované koncentraci 2 mg/ml se tedy v případě přímého použití celého obsahu injekce připravuje ve finálním množství 62,5 ml, což není praktické.

V rámci preformulační studie byla zkoumána možnost přípravy 1% vodného roztoku furosemidu (tj. 10 mg/ml) *in situ* ze substance furosemidu, hydroxidu sodného a vody na injekci. Tento roztok by se sloužil jako výchozí koncentrát pro přípravu roztoků furosemidu s koncentrací 2 mg/ml namísto registrovaného přípravku Furosemid Forte inj.

Potřebné množství hydroxidu sodného pro přípravu ekvivalentního množství soli lze zjistit následující úvahou:

1 mol furosemidu ($C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$, Mr = 330,74) reaguje s 1 molem hydroxidu sodného (NaOH, Mr = 40,0). K přípravě soli z 1 g furosemidu je tedy potřeba 0,12 g NaOH.

Při přípravě je však nutné uvážit také rychlost rozpuštění hydroxidu, jeho spotřeba pro přípravu roztoku FSM (měla by být co nejmenší), snadnost manipulace (přidávání

roztoku pod pH-metrickou kontrolou) a rychlost reakce s FSM (ochrana FSM před světlem). Experimentálně byly vyzkoušeny koncentrace roztoku hydroxidu sodného 10%, 1% a 0,4%. S ohledem na výše uvedená hlediska se jako nejvýhodnější ukázal 1% roztok hydroxidu sodného.
Postup přípravy 1% roztoku furosemidu in situ je uveden v kapitole 8.2.2.1. (příprava vzorků F3 a F4).

Příprava roztoku furosemidu *in situ* pomocí hydroxidu sodného je v prostředí lékárny relativně zdlouhavá. Je nutno připravit vždy čerstvý roztok hydroxidu sodného a jeho pH upravit na 9,0 - 9,2. Dále je nezbytné pracovat s jeho malými navážkami (1,2 g roztoku), opatrně zahřívat a kontrolovat výsledné pH roztoku FSM. Jeho nevýhodou je také hůře akceptovatelná chuť finálního přípravku.

Na základě dobrých zkušeností s hydrogenfosforečnanem sodným z formulačních studií s PRO a SOT, jehož 1% vodný roztok má pH 9,2[27], byl v rámci experimentu vyzkoušen jeho vliv na rozpustnost furosemidu. Při určování potřebného množství hydrogenfosforečnanu byla využita podobná úvaha jako v případě hydroxidu sodného:

2 mol furosemidu ($C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$, Mr = 330,74) reagují s 1 molem hydrogenfosforečnanu sodného dodekahydrátu (Na_2HPO_4 x 12 H_2O, Mr = 358). K přípravě soli z 1 g furosemidu je tedy potřeba minimálně 0,54 g Na_2HPO_4 x 12 H_2O.

Vzhledem k tomu, že (podobně jako u hydroxidu sodného) při přípravě je potřeba rozpustit FSM v co nejmenším množství roztoku fosforečnanu, byl sledován vliv koncentrace hydrogenfosforečnanu sodného v rozmezí 1% - 5,5% na hodnotu pH, rychlost rozpouštění furosemidu a organoleptické vlastnosti přípravku. Velmi rychlé rozpouštění furosemidu bylo pozorováno pro koncentrací hydrogenfosforečnanu sodného 1,5%, jehož pH bylo 9,4 (experimentálně ověřeno autorkou). Při přídavku ostatních pomocných látek, sladidla a protimikrobní látky vykazoval přípravek vhodné vlastnosti. Naměřené hodnoty pH výsledných roztoků s obsahem všech složek se pohybovaly v rozmezí 7,42 – 7,92.

Ukázalo se, že příprava furosemidového roztoku s hydrogenfosforečnanem jako alkalizující látkou je mnohem rychlejší a není nutné sledovat pH během přípravy. Navíc má přípravek mnohem příjemnější chuť než přípravek s obsahem hydroxidu sodného. Podrobný postup přípravy je popsán v kapitole 8.2.2.1 (přípravky F5, F6, F7).

Protimikrobní přísada methylparaben byla vybrána na základě hodnoty pH roztoku furosemidu, která by se měla optimálně pohybovat mezi 7 – 8 s ohledem na jeho fotostabilitu a rozpustnost. V tomto rozmezí pH přicházejí v úvahu jako účinné konzervanty především parabeny.[39] Použití methylparabenu vychází z literární rešerše [65] a současných názorů na omezené použití propylparabenu, zejména u dětí.[38] Výsledná koncentrace methylparabenu v roztoku byla zvolena 0,1%. Komplikací při přípravě je skutečnost, že methylparaben je těžce rozpustný ve vodě při obyčejné teplotě, pro zvýšení rozpustnosti je třeba ho zahřát na 80°C.[27] Je tedy vhodnější v rámci přípravy připravit roztok předem, aby nebylo nutné roztok FSM zahřívat a urychlila se manipulace s termolabilním furosemidem. Jako korigencia chuti byly použity sodná sůl sacharinu a prostý sirup.

Na základě preformulačních studií bylo do stabilitní studie vybráno celkem 7 formulací s označením F1 – F7, jejichž složení je uvedeno v Tabulce 14.

Pro tyto formulace byla na katedře Analytické chemie FaF UK vyvinuta a zvalidována dle ICH metoda kapalinové vysokoúčinné chromatografie pro současné stanovení furosemidu a methylparabenu.

Design stabilitní studie

Přípravky F1 a F5 (bez protimikrobní látky) byly skladovány v chladničce (5 ± 3 °C) a konzervované vzorky byly skladovány za teploty místnosti (25 ± 3 °C) z důvodu možného vysrážení methylparabenu při nízké teplotě. V intervalech 7, 30, 90, 180, 270 a 360 dnů byly odebírány vzorky ke stanovení obsahu furosemidu a methylparabenu pomocí HPLC a bylo měřeno pH. Současně byly sledovány organoleptické vlastnosti přípravků.

Hodnoty pH vzorků se během doby skladování příliš neměnily ve srovnání s hodnotou v čase 0. U vzorků s obsahem fosfátu (F5, F6, F7) se pH pohybovalo kolem 7,5, roztoky

obsahující hydroxid sodný (F2, F4) měly hodnoty pH nižší, kolem 6,7. Naměřené hodnoty pH jsou uvedeny v **tabulce 15**.

Tabulka 15 Hodnoty pH vzorků s furosemidem

Dny	**P1**	**P2**	**P3**	**P4**	**P5**	**P6**	**P7**
0	9,13	6,70	7,41	6,63	7,67	7,45	7,58
7	9,02	6,70	7,34	6,60	7,61	7,37	7,52
30	9,16	6,66	7,22	6,58	7,68	7,41	7,58
90	9,05	6,58	7,00	6,60	7,66	7,36	7,56
180	9,09	6,40		6,48	7,66		7,52
270		6,18		6,47			7,59
360				6,57			7,56

Výsledky stanovení obsahu furosemidu ve všech přípravcích a při teplotách použitých ve stabilitní studii jsou uvedeny v **tabulce 16**, analogicky je v **tabulce 17** uveden obsah methylparabenu včetně směrodatných odchylek.

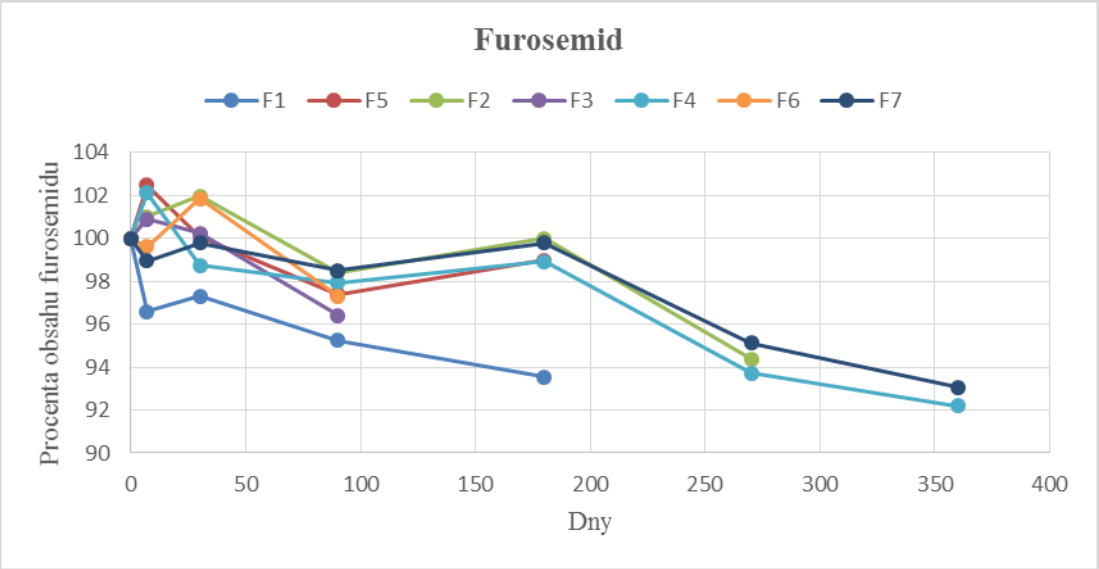
Změny koncentrací vyjádřené v procentech k počáteční koncentraci (100%) v čase 0, tj. po přípravě, jsou prezentovány na **obrázcích 8 a 9**. Výsledná hodnota reprezentuje průměr procentuálního obsahu dvou připravených šarží, z nichž každá byla měřena třikrát (n = 6).

Tabulka 16 Obsah **furosemidu** (mg/ml) při skladování v chladničce (5 ± 3°C) a při teplotě místnosti (25 ± 3°C); směrodatná odchylka označena *kurzívou*

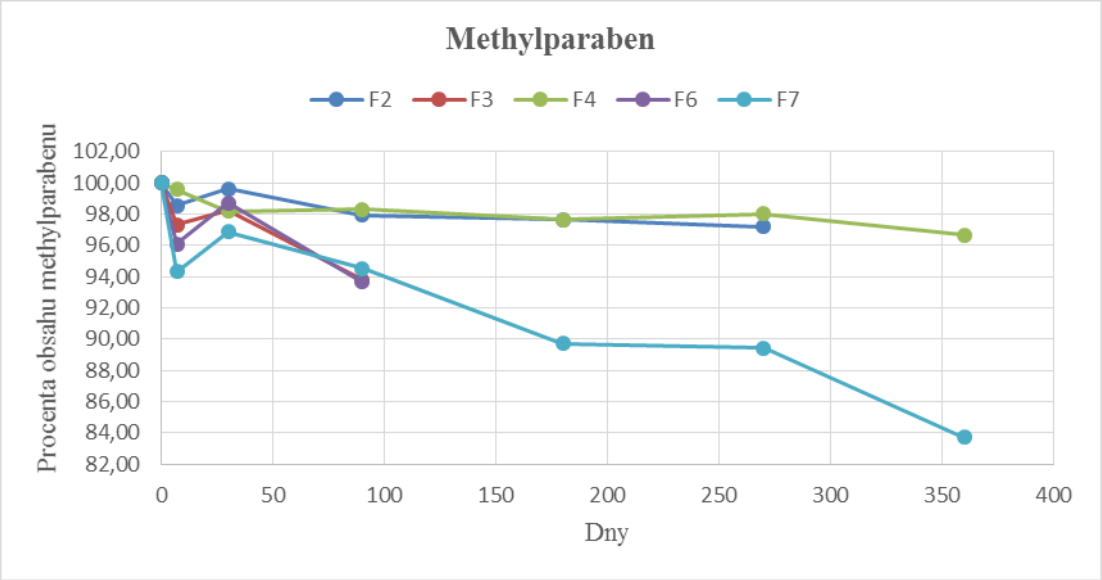
	Chladnička		Teplota místnosti				
Den	**F1**	**F5**	**F2**	**F3**	**F4**	**F6**	**F7**
0	**2,152** *0,029*	**2,137** *0,020*	**2,033** *0,035*	**2,039** *0,007*	**2,148** *0,007*	**1,955** *0,053*	**2,124** *0,037*
7	**2,079** *0,163*	**2,190** *0,023*	**2,054** *0,036*	**2,057** *0,024*	**2,194** *0,024*	**1,948** *0,030*	**2,101** *0,038*
30	**2,094** *0,035*	**2,139** *0,003*	**2,073** *0,049*	**2,044** *0,025*	**2,121** *0,021*	**1,992** *0,044*	**2,119** *0,025*
90	**2,050** *0,046*	**2,082** *0,004*	**2,001** *0,008*	**1,965** *0,008*	**2,104** *0,024*	**1,902** *0,038*	**2,092** *0,016*
180	**2,013** *0,021*	**2,115** *0,011*	**2,033** *0,010*		**2,124** *0,010*		**2,119** *0,015*
270		**0,000**	**1,919** *0,005*		**2,013** *0,009*		**2,020** *0,012*
360					**1,980** *0,008*		**1,976** *0,012*

Tabulka 17 Obsah **methylparabenu** (mg/ml) při skladování v místnosti (25 ± 3°C); směrodatná odchylka označena *kurzívou*

Den	**F2**	**F3**	**F4**	**F6**	**F7**
0	**0,976** *0,022*	**0,975** *0,018*	**1,033** *0,007*	**0,956** *0,020*	**1,034** *0,014*
7	**0,962** *0,027*	**0,949** *0,007*	**1,029** *0,001*	**0,919** *0,005*	**0,975** *0,021*
30	**0,972** *0,017*	**0,958** *0,023*	**1,015** *0,015*	**0,944** *0,005*	**1,001** *0,006*
90	**0,956** *0,007*	**0,915** *0,014*	**1,016** *0,008*	**0,896** *0,004*	**0,977** *0,006*
180	**0,953** *0,013*		**1,009** *0,011*		**0,927** *0,004*
270	**0,948** *0,005*		**1,013** *0,009*		**0,924** *0,002*
360			**0,999** *0,005*		**0,866** *0,004*



Obrázek 8 Procenta obsahu **furosemidu** při uchovávání v chladničce (F1, F5) a v místnosti (F2, F3, F4, F6, F7)



Obrázek 9 Procenta obsahu **methylparabenu** při uchovávání v místnosti

Vzorky F1 a F5 bez protimikrobní přísady methylparabenu byly sterilizovány v autoklávu v tmavých skleněných vialkách s pryžovým uzávěrem a kovovou pertlí při 121°C 20 minut. Vzorek F1 0,2% roztok furosemidu s hydroxidem sodným byl připravován z registrovaných injekcí; jeho pH se pohybovalo kolem 9 (Tabulka 15). Vzorek F5 byl připravován s hydrogenfosforečnanem sodným jeho pH bylo kolem 7,6. Koncentrace furosemidu po sterilizaci v autoklávu zůstala v obou vzorcích prakticky

stejná, což je možné považovat za pozitivní s ohledem na termostabilitu furosemidu v alkalickém vodném roztoku. Před tepelnou zátěží je však nutné zohlednit vyšší pH (kolem 9) a fotolabilitu furosemidu použitím tmavého skla hydrolytické třídy I. Chemická stabilita obou roztoků F1 a F5 skladovaných v chladničce byla sledována po dobu 180 dnů. Koncentrace furosemidu v roztoku F1 (s hydroxidem sodným) klesla až na 93,53% 180. den. Lepší chemickou stabilitu vykazoval vzorek F5 (s fosfáty), u něhož se koncentrace furosemidu snížila maximálně na 98,5% původní koncentrace. Důvodem může být u vzorku F1 vyšší hodnota pH (>9).
Výsledky pro vzorky připravené bez protimikrobních přísad lze v praxi využít pro přípravu roztoku určeného pro novorozence, který může být po sterilizaci v autoklávu uchováván v tmavých vialkách v chladničce pro případ potřeby po dobu 6 měsíců u roztoku s hydrogenfosforečnanem sodným nebo 3 měsíce u roztoku s hydroxidem sodným.

Dobrou stabilitu **furosemidu** vykazovaly také vzorky s obsahem protimikrobní přísady methylparabenu a sodné soli sacharinu. Na konci 12 měsíčního pozorování klesla jeho koncentrace u formulace F4 (s hydroxidem sodným) na 92,2% a u formulace F7 (s hydrogenfosforečnanem sodným) na 93%. Během skladování však docházelo v rychlejšímu rozkladu **methylparabenu**, zvláště u vzorků s hydrogenfosforečnanem, jak ukazují **tabulka 17** a **obrázek 9**. V roztoku F7 dosáhla jeho koncentrace po 180 dnech na limitních 90 % a dále klesala až na 83,6% původní koncentrace po 360 dnech, zatímco v roztoku F4 byla i na konci pozorování koncentrace methylparabenu 96,6%.
Vzorky s obsahem hydrogenfosforečnanu sodného (F3, F6 a F7) vykazovaly obecně nižší stabilitu methylparabenu v porovnání se vzorky F2 a F4, které obsahovaly jen hydroxid sodný pro úpravu pH. Pravděpodobně dochází k interakci fosforečnanu s methylparabenem. Urychlení rozkladu methylparabenu může být dáno i vyšší hydrolýzou v alkaličtějším pH (tabulka 15).

Shrnutí poznatků stabilitní studie s furosemidem:

- **Roztoky bez protimikrobní přísady (F1 a F5)** vykazují **dobrou chemickou stabilitu** furosemidu při uchovávání v chladničce. Nižší rozklad byl pozorován u formulace s hydrogenfosforečnanem sodným oproti formulaci s hydroxidem sodným. Koncentrace furosemidu kolísala v rozmezí 99% - 102,4% v průběhu 180 dnů. Oba roztoky lze sterilizovat pomocí membránové filtrace a/nebo sterilizací v autoklávu při 121°C/20 min bez chemických změn.
- U roztoků mikrobiálně stabilizovaných methyparabenem vykazují lepší stabilitu přípravky se sladidlem sodnou solí sacharinu oproti sacharose a s hydroxidem sodným v porovnání s hydrogenfosforečnanem sodným. Nejlepší stabilitu na základě experimentálních výsledků vykazuje **vzorek F4** obsahující sodnou sůl sacharinu a hydroxid sodný, u něhož byl pozorován v průběhu 12 měsíců pokles obsahu furosemidu na 92,2% a obsahu methylparabenu na 96,6 %. **Vzorek F2** obsahující sacharosu a hydroxid sodný vyhovoval zadaným kriteriím po dobu 6 měsíců při uchovávání při teplotě místnosti, zjištěný obsah furosemidu a methylparabenu byl 98,4% , resp. 97,2%.
- I přes nižší stabilitu je z důvodu lepších chuťových vlastností a jednodušší přípravy pro zařazení do praxe výhodnější **roztok F7** obsahující hydrogenfosforečnan sodný a sodnou sůl sacharinu, u něhož lze doporučit maximální dobu použitelnosti **6 měsíců** při uchovávání v místnosti. Po tuto dobu byla zachována koncentrace furosemidu do 98,5% a methylparabenu do 90% počáteční koncentrace. Hodnoty pH u tohoto vzorku se pohybovaly v rozmezí 7,52 – 7,58, organoleptické vlastnosti zůstaly po celou dobu pozorování nezměněny.
- Účinnost methylparabenu ve finálním složení přípravku **F2** byla ověřena zkouškou 5.3.1. akreditovanou laboratoří. Vzorek **F7** vyhověl zkoušce 5.1.4 na mikrobiologickou jakost nesterilních léčivých přípravků.
- Výsledky stabilitních studií roztoků s furosemidem jsou připraveny k publikaci formou odborného článku (**Zahálka L., Klovrzová S., Matysová L., Šklubalová Z., Solich P. Furosemide ethanol-free oral solutions for paediatric use – Formulations, HPLC method, and stability study**).

10 ZÁVĚRY

Tekuté lékové formy (roztoky a suspenze) pro perorální použití jsou pro pediatrickou populaci preferovány před pevnými lékovými formami (tobolkami, tabletami). Hlavními výhodami perorálních roztoků je flexibilita dávky, vyšší compliance dětských pacientů a jednodušší příprava v lékárně. Naopak nevýhodou je obecně nižší chemická a mikrobiální stabilita přípravku a často jeho hořká chuť. Tyto nevýhodné vlastnosti lze minimalizovat přidáním pomocných látek, jako jsou pufry, protimikrobní přísady a sladidla. Důležitý je rovněž výběr vhodného obalu, který chrání obsažený přípravek např. před světlem a zároveň umožňuje přesné a bezpečné dávkování přípravku.
Mezi léčivými a pomocnými látkami a potenciálně i mezi obalovým materiálem může docházet v průběhu skladování léčivého přípravku k interakcím, které mají vliv na výslednou stabilitu přípravku. Z tohoto důvodu je nezbytné u pediatrických přípravků se systémových účinkem ověřit koncentrace účinných a pomocných látek v průběhu skladování, pokud je požadována delší doba použitelnosti, než je legislativně povolená. To je typické právě pro přípravu do zásoby v nemocničních lékárnách.

Výsledkem formulačních studií prezentovaných v této dizertační práci jsou perorální roztoky s propranolol-hydrochloridem, sotalol-hydrochloridem a furosemidem určené pro děti od narození do 6 let pro magistraliter přípravu v podmínkách nemocniční lékárny. Z mnoha studovaných formulací **vícedávkových** roztoků kardiologických léčiv jsou na základě validované stabilitní studie a subjektivního hodnocení palatability jako nejlepší formulace hodnoceny:

1. Roztok s propranolol-hydrochloridem 2 mg/ml a s benzoanem sodným (P2-P7)
2. Roztok se sotalol -hydrochloridem 5 mg/ml a se sorbitanem draselným (S2, S3)
3. Roztok s furosemidem 2 mg/ml a s methylparabenem (F2, F4, F7)

Všechny uvedené vícedávkové přípravky vyhovují požadavku **6 měsíční** stability s doporučeným uchováváním při 2 – 25°C (**P2-P7, S2**), v chladničce 2-8 °C (**S3**) nebo za teploty místnosti 15-25°C (**F2, F4, F7**). Účinnost protimikrobní přísady byla v kompletním složení prokázána zkouškou v souladu s požadavky lékopisu (5.1.3.) u vzorků P2, S2 a F2.

Příprava uvedených roztoků je v podmínkách lékárny snadno realizovatelná. Vhodným obalem je tmavá skleněná lékovka se šroubovacím uzávěrem s adapterem na perorální stříkačku uložená spolu s perorální stříkačkou v papírové skládačce.
U všech výše uvedených přípravků byla navržena také složení přípravků **bez protimikrobní přísady** určené primárně pro novorozence do 1 měsíce věku; tyto přípravky mohou však v nemocniční lékárně sloužit také jako tzv "*emergency*" varianta pro případ akutní potřeby a okamžité spotřeby.

Chemická stabilita účinné látky a protimikrobní přísady byla prokázána pomocí validované metody využívající HPLC. Tato práce proto vyžadovala nezbytnou kooperaci akademických pracovišť na Farmaceutické fakultě (Katedra farmaceutické technologie a Katedra analytické chemie) s pracovišti ve farmaceutickém a lékařském terénu (Nemocniční lékárna a kliniky FN Motol). Vyžadovala rovněž nemalou finanční podporu pro realizaci stanovení látek pomocí HPLC a pro hodnocení účinnosti protimikrobních přísad ve finálním složení přípravku v souladu s požadavky lékopisu.
Provedení stabilitních studií u těchto přípravků je v souladu s lékopisným článkem Farmaceutické přípravky (2013) a s Resolucí Rady Evropy 2011. Jedná se o přípravky připravované do zásoby, u kterých je výhodná **minimálně 3 měsíční** doba použitelnosti v návaznosti na lékařské kontroly. Vzhledem ke skutečnosti, že se jedná o podávání účinných kardiologik dětské populaci, je určení doby použitelnosti a podmínek uchovávání na základě experimentálních údajů velmi důležité.
Svými výsledky práce splnila své zadání a přispěla k rozšíření spektra léčby pediatrických pacientů s hemangiomem či kardiologickým onemocněním.

Za významný přínos práce je možné považovat, že přípravek s propranolol-HCl byl notifikován Evropskou lékopisnou komisí a zařazen do Národní části Českého lékopisu 2009, Doplňku 2013 a je tedy oficinální recepturou v ČR. Pro ověření správné přípravy v lékárně je v článku zařazena jednoduchá metoda zkoušky totožnosti propranololu-HCl pomocí tenkovrstvé chromatografie a stanovení jeho obsahu potenciometrickou titrací. Bohužel, zařazení roztoku se sotalol-HCl do Národní části ČL se prozatím nepodařilo z důvodu absence jednoduché metody pro zkoušky totožnosti sotalol-HCl realizovatelné

v podmínkách lékárny. Experimentální práce na přípravcích s furosemidem byly ukončeny teprve nedávno a možnost jejich začlenění do Národní části ČL nebyla zatím řešena.

11 PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI

I. MONOGRAFIE

KLOVRZOVÁ, S., HORÁK, P., KUBÍNOVÁ, H., KRAJČOVÁ V., TAJOVSKÁ E.: *Individuálně připravovaná léčiva pro pediatrii*, **2013**, Praha: Galen, 103 s., ISBN 978-807492-064-6

II. ORIGINÁLNÍ ČLÁNKY

1. **KLOVRZOVÁ, S.,** ZAHÁLKA, L., KŘÍŽ, T., ZAHÁLKOVÁ, O., MATYSOVÁ, L., ŠKLUBALOVÁ, Z., HORÁK, P.: Extemporaneous sotalol hydrochloride oral solutions for use in paediatric cardiology: formulation and stability study, *Eur. J. Hosp. Pharm.,***2016**; 23, s. 33–37. doi:10.1136/ejhpharm-2015-000711; ISSN 2047-9956. IF 0,471
2. LACZÓ, J., MARKOVA, H., LOBELLOVA, V., GAZOVA, I., PARIZKOVA, M., CERMAN, J., NEKOVAROVA, T., VALES, K., **KLOVRZOVA, S.,** HARRISON, J., WINDISCH, M., VLCEK, K., SVOBODA, J., HORT, J., STUCHLIK, A.: Scopolamine disrupts place navigation in rats and humans: A translational validation of the Hidden-Goal Task in the Morris Water Maze and a real maze for humans. *Psychopharmacology,* v tisku, doi: 10.1007/s00213-016-4488-2. ISSN 1432-2072. IF 3,540
3. MATYSOVÁ, L., ZAHÁLKOVÁ, O., **KLOVRZOVÁ, S.,** ŠKLUBALOVÁ, Z., SOLICH, P., ZAHÁLKA, L.: Development of a gradient HPLC method for the simultaneous determination of sotalol and sorbate in oral liquid preparations using solid core stationery phase; *J. Anal. Methods Chem.,* **2015**, Article ID 806736, 6p. ISSN 2090-8865. IF 0,948
4. ZAHÁLKA, L., MATYSOVÁ, L., ŠKLUBALOVÁ, Z., **KLOVRZOVÁ, S.,** SOLICH, P.: Simultaneous determination of propranolol hydrochloride and sodium benzoate in oral liquid preparations by HPLC. *Chromatographia,* **2013**; 76, s.1553-1558. DOI 10.1007/s10337-013-2457-z. ISSN 0009-5893. IF 1,195
5. LE BRUN, P., **KLOVRZOVÁ, S**.: Safe aseptic preparation in the pharmacy and on the ward. *Eur. J. Hosp. Pharm.,* **2012**,19, s. 474–476. doi:10.1136/ejhpharm-2012-000193, ISSN 2047-9956. IF 0,154

6. **KLOVRZOVÁ, S.**, ZAHÁLKA, L., MATYSOVÁ, L., HORÁK, P., ŠKLUBALOVÁ, Z.: Pediatric oral solutions with propranolol hydrochloride for extemporaneous compounding: the formulation and stability study. *Čes. Slov. Farm*., **2013**, 62 (1), s. 35-39. ISSN 1210-7816
7. **KLOVRZOVÁ, S.:** Pediatrické lékové formy v magistraliter přípravě - I. *Prakt. lékáren.,* **2011**, 7 (6), s. 276-278. ISSN 1801-2434
8. **KLOVRZOVÁ, S**., ŠKLUBALOVÁ, Z.: Pediatrické lékové formy v magistraliter přípravě II. - perorální roztoky a suspenze. *Prakt. lékáren.*, **2012,** 8(2), s.80-84. ISSN 1801-2434
9. **KLOVRZOVÁ**, S., MALIŠ J., ČAPKOVÁ Š., HOSTAŠA J., HORÁK P., ŠKLUBALOVÁ Z.: Magistraliter receptury s propranololem v pediatrii. *Farm. Obzor,* **2013**,4-5, s.84-88. ISSN 0014-8172
10. MALIŠ J., STARÁ V., **KLOVRZOVÁ S.**, NOVÁKOVÁ L., ČAPKOVÁ Š., ŠVOJGR K., JEŘÁBKOVÁ V., CYPROVÁ S., CHÁŇOVÁ M., KOZÁK J., KOCMICHOVÁ B., SUKOP A., HŘÍBAL Z., PÁDR R. Betablokátory v léčbě hemangiomů dětského věku. *Čes-slov Pediat*, **2014**, vol. 69, s. 274-282. ISSN 0069-2328.
11. ČAPKOVÁ, Š., ČADOVÁ, J., MALIŠ J., **KLOVRZOVÁ S.:** Terapeutické možnosti hemangiomů. *Dermatol. Praxi,* **2013**, 7(3), s.109-112. ISSN 1802-2960.

III. ABSTRAKTY Z KONFERENCÍ

1. **KLOVRZOVÁ S.,** KŘÍŽ T., ŠKLUBALOVÁ Z., ZAHÁLKA L., MATYSOVÁ L., HORÁK P.: Development of sotalol hydrochloride oral solution for cardiologic paediatric patients; In: *19th Congress of the EAHP, Barcelona, 26-28 March , 2014* (poster), EJHP: Science and practice, Abstract Book, A129, ISSN 2047-9956.
2. ŠŤASTNÁ J., KRAJČOVÁ V., **KLOVRZOVÁ S.,** HORÁK P.: Assessment of cardiologic oral extemporaneous preparations extent as a rationale for development of liquid formulations in paediatrics**;** In: *19th Congress of the*

EAHP, Barcelona, 26-28 March , 2014 (poster), EJHP: Science and practice, Abstract Book, A129, ISSN 2047-9956. IF: 0,110

3. **KLOVRZOVÁ, S.,** HORÁK, P., MALIŠ, J., ŠKLUBALOVÁ, Z.: Liquid oral formulations of propranolol hydrochloride for treatment of infantile hemangiomas. In: *18th Congress of the EAHP, Paris, 13-15 March , 2013* (poster), EJHP: Science and practice, Abstract Book, TCH 023, ISSN 2047-9956.
4. **KLOVRZOVÁ, S.,** ŠKLUBALOVÁ, Z., ZAHÁLKA, L., MATYSOVÁ, L., HORÁK, P.: Stability study of the paediatric oral solutions with propranolol hydrochloride. In: *4 th EUPFi Conference, Prague, 19-20 September, 2012 (poster)*
5. **KLOVRZOVÁ, S.,** ŠKLUBALOVÁ, Z.: Formulace tekutých pediatrických přípravků pro magistraliter přípravu a hodnocení jejich stability. In: *Pokroky v lékových formách*, *Praha*, (přednáška), Čes. Slov. Farm., 2013, 62 (1), 54-55. ISSN 1210-7816
6. ZAHÁLKA, L., MATYSOVÁ, L., ŠKLUBALOVÁ, Z., **KLOVRZOVÁ, S.,** SOLICH, P.: Development of HPLC method for simultaneous determination of propranolol and sodium benzoate in oral liquid preparations. In: *29th International Symposium on Chromatography*, Torun (Poland), 2012, Abstract Book, s. 381. ISBN 978-83-7780-440-7

IV. GRANTY

Spoluřešitel grantu *Institucionální podpora RVO (rozvoje výzkumné organizace)* FN v Motole 00064203

Název projektu: Vývoj a stabilita perorálních tekutých lékových forem individuálně připravovaných léčiv pro pediatrické pacienty

Hlavní řešitel: PharmDr. P. Horák

Pracoviště: Nemocniční lékárna FN Motol (Interní grant číslo: 6035)

Dedikace: Podpořeno MZ ČR – RVO, FN v Motole 00064203

12 CITOVANÁ LITERATURA

1. CHALUPECKÝ, V.: *Dětská kardiologie*. 2006, Praha: Galén, 444 s., ISBN 80-7262-406-5

2. Zákon č. 378/2007 Sb., o léčivech; v platném znění

3. KLOVRZOVÁ, S.: Pediatrické lékové formy v magistraliter přípravě - I. *Prakt. lékáren.,* 2011, 7 (6), s. 276-278. ISSN 1801-2434

4 . KLOVRZOVÁ, S., HORÁK, P.*: Individuálně připravovaná léčiva pro pediatrii*, 2013, Praha: Galén, 103 s., ISBN 978-807492-064-6

5. Reflection Paper: Formulations of choise for the pediatric population (EMEA/CHMP/PEG/194810/2005)

6. MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČR: *Český lékopis 2009. Doplněk 2016,* Praha: Grada Publ., CD-ROM

7. Resolution CM/ResAP(2011)1on quality and safety assurance requirements for medicinal products prepared in pharmacies for the special needs of patients

8. Vyhláška č.85/2008 Sb., o stanovení seznamu léčivých látek a pomocných látek, které lze použít pro přípravu léčivých přípravků; v platném znění

9. Vyhláška č.84/2008 Sb., o správné lékárenské praxi, bližších podmínkách zacházení s léčivy v lékárnách, zdravotnických zařízeních a u dalších provozovatelů a zařízení vydávajících léčivé přípravky; v platném znění

10. SÚKL LEK-5 verze 7 - Doporučené doby použitelnosti léčivých přípravků připravovaných v lékárně, dostupné na http://www.sukl.cz/lekarny/lek-5-verze-7
datum náhledu: 17.10.2016

11. Note for Guidance on Clinical Investigation of Medicinal Products in the Pediatric Population, (CPMP/ICH/2711/99, EMEA 2000); dostupné na http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002926.pdf - datum náhledu: 17.10.2016

12. KLOVRZOVÁ, S.; ŠKLUBALOVÁ, Z.: Pediatrické lékové formy v magistraliter přípravě II. - perorální roztoky a suspenze. *Prakt. lékáren.*, 2012, 8(2), s. 80-84. ISSN 1801-2434.

13. KLOVRZOVÁ, S.: *Formulace pediatrických perorálních přípravků s propranololem.* Rigorózní práce. 2012. Univerzita Karlova, Farmaceutická Fakulta, Hradec Králové, s. 64.

14. KOMÁREK, P., RABIŠKOVÁ, M.: *Technologie léků.* 3.vydání, 2006, Praha: Galén, 399 s., ISBN 80-7262-423-7.

15. HURTADO, J., MOFFETT, B.S.: Pediatric oral formulations: a continual challenge. *Int. J. Pharm. Compound*., 2007, 11 (1), s.17–19. ISSN 1092-4221

16. http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html datum náhledu: 17.10.2016

17.http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/regulatory_standards/en/ datum náhledu: 17.10.2016

18. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000361.jsp&mid=WC0b01ac0580028eb1 datum náhledu: 17.10.2016

19. BOUWMAN-BOER, Y., FENTON-MAY, V., LE BRUN, P.: *Practical pharmaceutics.* 2015, Springer, 878 s., ISBN 978-3-319-15813-6.

20. Guideline on pharmaceutical development of medicines for paediatric use, http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2013/07/WC500147002.pdf datum náhledu: 17.10.2016

21. Directive 2006/52/EC on food additives other than colours and sweeteners and Directive 94/35/EC on sweeteners for use in foodstuffs

22. http://www.eupfi.org/step-database-info/ datum náhledu: 17.10.2016

23. http://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/gras/default.htm datum náhledu: 17.10.2016

24. EMEA/267484/2007 *Guideline on the Investigation of Medicinal Products in the Term and Preterm Neonate.* http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003754.pdf datum náhledu: 17.10.2016

25. LE BRUN, P.; KLOVRZOVÁ, S.: Safe aseptic preparation in the pharmacy and on the ward. *Eur. J. Hosp. Pharm.,* 2012,19, s. 474–476. doi:10.1136/ejhpharm-2012-000193, ISSN 2047-9956.

26. LUND, W. (Ed.): *The pharmaceutical codex*. 12th Ed., 1994. London: Pharmaceutical Press, 1117 s., ISBN 978-0853-6929-04.

27. ROWE, R.C., SHESKEY, P.J., OWEN, S.C.: *Handbook of Pharmaceutical excipients,* 5th Ed., 2006, London: Pharmaceutical Press and American Pharmacist Association, 918 s., ISBN 0-85369-618-7.

28. SWEETMAN, S.C. (Ed.): *Martindale: The Complete Drug Reference*, 37th Ed., 2011, London: Pharmaceutical Press, ISBN 978-0-85369-933-0.

29. LEAUTÉ-LABREZE, CH., A KOL.: Propranolol for severe hemangiomas of infancy. *N Engl J Med,* 2008, 358(24), s. 2649-51. ISSN 0028-4793.

30. PAEDIATRIC FORMULARY COMMITTEE: *British National Formulary for Children (BNFC) 2012-2013*. 2012, London: Pharmaceutical Press, 880 s., ISBN 978-0-85711-0336

31. KLOVRZOVÁ, S., MALIŠ J., ČAPKOVÁ Š., HOSTAŠA J., HORÁK P., ŠKLUBALOVÁ Z.: Magistraliter receptury s propranololem v pediatrii. *Farm. Obzor,* 2013,4-5, s.84-88. ISSN 0014-8172.

32. TRISSEL, L. A.: *Stability of compounded formulations.* 4th Ed., 2009, Washington,D.C.: American Pharmacists Association, 654 s., ISBN 978-1-58212-125-3

33. http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php datum náhledu 17.10.2016

34. HENRY, D. W., REPTA, A. J., SMITH, F. M., WHITE S. J.: Stability of propranolol hydrochloride suspension compounded from tablets. *Am. J. Hosp. Pharm.*, 1986, 43, s. 1492-1495. ISSN 1079-2082.

35. GUPTA V., STEWART K. R.: Stability of propranolol hydrochloride suspension and solution compounded from injection or tablet. *Am. J. Hosp. Pharm.,* 1987, 44, s. 360-361. ISSN 1079-2082.

36. BROWN G. C., KAYES J. B.: The stability of suspensions prepared extemporaneusly from solid oral dosage forms. *J. Clin. Pharm Ther,* 1976, 1, s. 29-37. ISSN 1365-2710.

37 . AHMED, G. H., STEWART, P. J., TUCKER, I. G.: The stability of extemporaneus paediatric formulations of propranolol hydrochloride. *Aust. J. Hosp. Pharm.*, 1988, 18, s. 312-318. ISSN 0310-6810

38.http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Presentation/2010/10/WC500097504.pdf , datum náhledu: 17.10.2016

39. DENYER, S.P., BAIRD, R.M.: *Guide to microbiological control in pharmaceuticals and medical devices*. 2nd Ed. New York: CRC Press, Taylor & Francis Ltd. 2007, 482 s., ISBN 978-0-7484-0615-9

40. ZAHÁLKA, L., MATYSOVÁ, L., ŠKLUBALOVÁ, Z., KLOVRZOVÁ, S., SOLICH, P.: Development of HPLC method for simultaneous determination of propranolol and sodium benzoate in oral liquid preparations. In: *29th International Symposium on Chromatography*, Torun (Poland), 2012, Abstract Book, s. 381. ISBN 978-83-7780-440-7

41. ZAHÁLKA, L., MATYSOVÁ, L., ŠKLUBALOVÁ, Z., KLOVRZOVÁ, S., SOLICH, P.: Simultaneous determination of propranolol hydrochloride and sodium benzoate in oral liquid preparations by HPLC. *Chromatographia,* 2013; 76, s.1553-1558. DOI 10.1007/s10337-013-2457-z. ISSN 0009-5893. IF 1,195

42. KLOVRZOVÁ, S., ŠKLUBALOVÁ, Z., ZAHÁLKA, L., MATYSOVÁ, L., HORÁK, P.: Stability study of the paediatric oral solutions with propranolol hydrochloride. In: *4 th EUPFi Conference, Prague, 19-20 September, 2012 (poster)*

43. KLOVRZOVÁ, S., HORÁK, P., MALIŠ, J., ŠKLUBALOVÁ, Z.: Liquid oral formulations of propranolol hydrochloride for treatment of infantile hemangiomas. In: *18th Congress of the EAHP, Paris, 13-15 March, 2013* (poster), EJHP: Science and practice, Abstract Book, TCH 023, ISSN 2047-9956.

44. KLOVRZOVÁ, S., ZAHÁLKA, L., MATYSOVÁ, L., HORÁK, P., ŠKLUBALOVÁ, Z.: Pediatric oral solutions with propranolol hydrochloride for extemporaneous compounding: the formulation and stability study. *Čes. Slov. Farm.*, 2013, 62 (1), s. 35-39. ISSN 1210-7816

45. MALIŠ J., STARÁ V., KLOVRZOVÁ S., NOVÁKOVÁ L., ČAPKOVÁ Š., ŠVOJGR K., JEŘÁBKOVÁ V., CYPROVÁ S., CHÁŇOVÁ M., KOZÁK J., KOCMICHOVÁ B., SUKOP A., HŘÍBAL Z., PÁDR R. Betablokátory v léčbě hemangiomů dětského věku. *Čes-slov Pediat*, 2014, vol. 69, s. 274-282. ISSN 0069-2328.

46. ČAPKOVÁ, Š., ČADOVÁ, J., MALIŠ J., KLOVRZOVÁ S.: Terapeutické možnosti hemangiomů. *Dermatol. Praxi,* 2013, 7(3), s. 109-112. ISSN 1802-2960.

47. KUNZI-RAPP, K.: Topical propranolol therapy for infantile hemangiomas. *Pediatric Dermatology,* 2012; 29(2): 154–159, ISSN 0736-8046

48. KLOVRZOVÁ, S., LÁZNIČKA, L.: Nové možnosti magistraliter přípravy v dermatologii, *Remedia* 2015: 25, s.221-224, ISSN 0862-8947

49. KLOVRZOVÁ, S., BRTNOVÁ, S., NOVOTNÁ L.: Nové možnosti magistraliter přípravy v dermatologii – inovativní pěnový základ Espumil, *Dermatol. Praxi,* 2016, 10 (2), s. 84-87. ISSN 1802-2960.

50. *Deutscher Arzneimittel-Codex®/ Neues Rezeptur-Formularium®* (DAC/NRF). 2016, Stuttgart: Deutscher Apotheker-Verlag. ISBN 978-3-7741-0044-2

51. LÄER, S., ELSHOFF, J.P., MEIBOHM, B., WEIL, J., MIR, T.S., ZHANG, W., HULPKE-WETTE, M.: Development of a safe and effective pediatric dosing regimen for sotalol based on population pharmacokinetics and pharmacodynamics in children with supraventricular tachycardia. *J Am Coll Cardiol,* 2005, 46, s.1322–1330. ISSN 0735-1097

52. KŘÍŽ T.: *Tekuté pediatrické přípravky - 1. Sotalol hydrochlorid*, Diplomová práce. 2013. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, 53 s.

53. DUPUIS, L.L., JAMES, G., BACOLA, G.: Stability of a sotalol hydrochloride oral liquid formulation. *Can J Hosp. Pharm,* 1988, 41, s.121-123. ISSN 0008-4123

54. NAHATA, M.C., MOROSCO, R.S.: Stability of a sotalol in two liquid formulations at two temperatures. *Ann Pharmacother,* 2003, 37, s. 506-509. ISSN 1060-0280.

55. SIDHOM, M.B., RIVERA, N., ALMOAZEN, H.: Stability of sotalol hydrochloride in extemporaneously prepared oral suspension formulations. *Int J Pharm Compound.,* 2005, 9, s. 402-406. ISSN 1092-4221

56. http://www.perrigo.com/files/rx/pdfs/pds173-ORA-Plus.pdf datum náhledu 17.10.2016

57. http://dacnrf.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=10 datum náhledu 17.10.2016

58. MATYSOVÁ, L., ZAHÁLKOVÁ, O., KLOVRZOVÁ, S., ŠKLUBALOVÁ, Z., SOLICH, P., ZAHÁLKA, L.: Development of a gradient HPLC method for the

simultaneous determination of sotalol and sorbate in oral liquid preparations using solid core stationery phase; *J. Anal. Methods Chem.,* 2015, Article ID 806736, 6p. ISSN 2090-8865

59. KLOVRZOVÁ, S., ŠKLUBALOVÁ, Z.: Formulace tekutých pediatrických přípravků pro magistraliter přípravu a hodnocení jejich stability. In: *Pokroky v lékových formách*, *Praha*, (přednáška), Čes. slov. Farm., 2013, 62 (1), 54-55. ISSN 1210-7816.

60. KLOVRZOVÁ S., KŘÍŽ T., ŠKLUBALOVÁ Z., ZAHÁLKA L., MATYSOVÁ L., HORÁK P.: Development of sotalol hydrochloride oral solution for cardiologic paediatric patients; In: *19th Congress of the EAHP, Barcelona, 26-28 March , 2014* (poster), EJHP: Science and practice, Abstract Book, A129, ISSN 2047-9956.

61. KLOVRZOVÁ, S., ZAHÁLKA, L., KŘÍŽ, T., ZAHÁLKOVÁ, O., MATYSOVÁ, L., ŠKLUBALOVÁ, Z., HORÁK, P.: Extemporaneous sotalol hydrochloride oral solutions for use in paediatric cardiology: formulation and stability study. *Eur. J. Hosp. Pharm.,*2016, 23, s. 33–37. doi:10.1136/ejhpharm-2015-000711, ISSN 2047-9956.

62. GHANEKAR, A.K., GUPTA, V.D., GIBBS, C.W.: Stability of furosemide in aqueous systems. *J Pharm Sci*, 1978, 67, s. 808-11. ISSN 0022-3549.

63. NAHATA, M.C., VINITA, B.P.: *Pediatric Drug Formulation*, 6th Ed., 2011, Cincinnati: HWBC. ISBN 0-929375-32-8.

64. *Herstellungsvorschriften aus Krankenhausapotheken*. 6. Aufl., 2005, Stuttgart: DAV, ISBN 3-7692-3888-5.

65. *Formularium der Nederlandse Apothekers* (FNA). 4th Ed., 2009, Den Haag: KNMP, 835 s., ISBN 978-90-812445-5-8.