

**UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI
KRÁLOVÉ**

Katedra analytické chemie

Stabilita vybraných léčiv v tekutých léčivých
přípravcích

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vedoucí práce: doc. PharmDr. Ludmila Matysová, Ph.D.

Hradec Králové 2018

Danica Pechová

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

Dne:

Podpis:

Ráda bych zde poděkovala vedoucí bakalářské práce doc. PharmDr. Ludmile Matysové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky při psaní mé práce.

Mgr. Kateřině Kučerové za její rady a čas.

Obsah

1.	ÚVOD	1
2.	CÍL PRÁCE	2
3.	STABILITA LÉČIV	3
4.	TYPY STABILITNÍCH TESTŮ	6
4.1.	STRESOVÉ TESTY.....	6
4.2.	ZRYCHLENÉ TESTY	6
4.3.	DLOUHODOBÉ TESTY	7
4.4.	NÁSLEDNÉ ZKOUŠKY STABILITY	9
5.	ZÁKLADNÍ POSTUPY PŘI ZKOUŠENÍ STABILITY LÉČIVÝCH PŘÍPRAVKŮ^[2]	10
5.1.	ORGANOLEPTICKÉ HODNOCENÍ	10
5.2.	FYZIKÁLNÍ ZKOUŠKY.....	10
5.3.	CHEMICKÉ ZKOUŠKY	11
5.4.	FOTOSTABILITA	11
5.5.	BIOLOGICKÉ A MIKROBIOLOGICKÉ ZKOUŠKY	11
6.	LÉČIVA A JEJICH STABILITA	12
6.1.	FENYLEFRIN HYDROCHLORID	12
6.2.	FAMOTIDIN	15
6.3.	PROPOFOL	17
6.4.	OXYTOCIN	19
6.5.	EPINEFRIN	22
6.6.	NOREPINEFRIN	25
6.7.	ROPIVAKAIN.....	28
6.8.	HEPARIN SODNÝ.....	29
6.9.	VASOPRESIN.....	31
7.	ZÁVĚR	32
8.	SEZNAM ZKRATEK	38
9.	SEZNAM OBRÁZKŮ	39
10.	ZDROJE	40

1. Úvod

Stabilitou léčiv se v dnešní době zabývá hodně institucí, jelikož degradační procesy ovlivňují účinnost léčiva a jeho nežádoucí účinky. Jedná se o souhrn testů, které prověří dané léčivo. Stanoví se podmínky skladování a uchování, doba použitelnosti a vhodné obalové materiály.

Stálost léčiva nebo léčivého přípravku se týká jeho odolnosti vůči fyzikálním, chemickým a mikrobiologickým vlivům, které ovlivňují jak vlastnosti výroby, tak transport a jeho skladování.

2. Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je shrnout stabilitu vybraných léčiv v roztocích. Práce se zabývá nejnovější postupy a doporučeními z oblasti stabilitních studií.

3. Stabilita léčiv

Léčivá látka je považována za stabilní, jestliže vyhovuje požadavkům za podmínek uchovávání 25 °C/60 % RV (Relativní vlhkost) po dobu 2 let a za podmínek uchovávání 40 °C/75 % RV po dobu 6 měsíců^[1].

Ve stabilitní studii se sledují všechny parametry léčivé látky, které se mohou během skladování měnit, a které by mohly mít vliv na jakost, bezpečnost a účinnost^[1].

Stabilitní studie má hodnotit fyzikální, chemické, biologické a mikrobiologické vlastnosti léčivé látky. Zkoušky musí být provedeny za použití validovaných a stabilitu indikujících kontrolních metod. U zkoušek se uvedou číselné limity, rozmezí, příp. další kritéria popsaných zkoušek, včetně horních limitů pro obsah jednotlivých nečistot a rozkladných produktů i pro jejich celkový obsah. Zdůvodnění těchto limitů má být založeno na požadavcích bezpečnosti a účinnosti. Pro léčivé látky popsané v monografii uznávaného lékopisu (Evropský lékopis nebo lékopisy členských států EU) mají být zkoušky provedeny v souladu s touto monografií nebo za použití metody, která byla validována oproti metodě lékopisné. Rovněž je třeba doložit, že všechny potenciální nečistoty (rozkladné produkty i nečistoty procházející ze syntézy nebo výrobního procesu) jsou dostatečně kontrolovány. Pro rostlinné látky a přípravky z nich platí: „Note for Guidance Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Herbal Drugs, Herbal Drug Preparations and Herbal Medicinal Products“ (CPMP/QWP/2820/00)^[1].

Stabilita léčiva nebo léčivého přípravku závisí na zachování vlastností jakostních znaků po určitou dobu a za určitých podmínek. Testuje se stabilitními testy, které dokumentují změny v kvalitě při působení vnějších vlivů. Stabilitní testy se využívají ke stanovení podmínek skladování, uchovávání, určují obalový materiál a dobu expirace^[2].

Stabilitu léčivého přípravku ovlivňují vnější a vnitřní faktory. Vnitřní faktory jsou většinou fyzikální a chemické vlastnosti, nečistoty a obal léčiva. Vnější faktory jsou teplota, světlo, kyslík, vlhkost, oxid uhličitý a mikroorganismy^[2].

Základním postupem pro testování stability léčivých přípravků je organoleptické hodnocení a fyzikální, chemické, biologické a mikrobiologické zkoušky. Léčivo je stabilní, pokud během testování nedojde ke ztrátě více jak 5 % produktu ve srovnání s původními hodnotami, nedochází k nálezům rozkladného produktu, a ke zvýšení pH nad stanovenou hodnotu a jestliže splní

požadavky na fyzikální vlastnosti a vzhled^[3]. Ve studiích je uváděno, že léčivo je stabilní při degradaci maximálně 10 %.

Cílem stabilitní studie je stanovit léčivé látky, vyhodnotit výsledky stabilitní studie a stanovit dobu reatestace pro všechny šarže léčiva vyrobené za podobných podmínek. Jestliže výsledky ukazují malou degradaci, a malou variabilitu, doba reatestace je garantována, není nutné provádět statistické vyhodnocení, ale pouze zdůvodnit, proč nebylo provedeno. Analýza výsledků kvantitativních parametrů, u nichž je očekáváno, že se budou měnit s časem, je pojata jako stanovení doby, za kterou 95 % protíná limit specifikace. Jestliže statistická analýza ukazuje, že variabilita šarží je malá, je výhodné kombinovat výsledky do jednoho celkového odhadu. Tomu by mělo předcházet použití vhodných statistických testů, kterými se testují sklony a zachycení regresních přímků jednotlivých šarží s hladinou významnosti $p=0,25$. Jestliže není možné výsledky jednotlivých šarží kombinovat, doba reatestace by měla odpovídat nejkratší době, po kterou je očekáváno, že šarže budou vyhovovat specifikaci. Závislost může být obvykle vyjádřena pomocí lineární, kvadratické nebo kubické funkce za použití aritmetického nebo logaritmického měřítka. Pro ověření toho, zda předpokládaná degradační křivka je použitelná pro všechny šarže, event. kombinované šarže, by se měly použít statistické metody. Zdůvodnění by mělo být založeno na tom, co je známo o mechanismu degradace, na výsledcích zrychlené stabilitní studie, jak výsledky odpovídají navrženému matematickému modelu, na velikosti šarží, existenci podpůrných stabilitních výsledků apod. Vyhodnocení by se nemělo týkat jen stanovení obsahu léčivé látky, ale také rozkladných produktů a dalších přiměřených parametrů^[1,4].

Protokol o stabilitě

Protokol o stabilitě je součástí registrační dokumentace a slouží jako doklad o provedených stabilitních zkouškách. Protokol obsahuje:

- název přípravku
- výrobce přípravku
- sílu a lékovou formu
- čísla a velikosti zkoušených šarží
- datum a místo výroby
- složení zkoušených šarží
- výrobce léčivé látky
- popis vnitřního obalu

Výsledky zkoušek jsou shrnuty do tabulek pro každou šarži. V tabulce jsou uvedeny počáteční hodnoty, výsledky získané během stabilitních zkoušek v předepsaných intervalech a limity jednotlivých zkoušek. V závěru protokolu jsou shrnuty výsledky, které jsou řádně okomentovány^[4].

Cíle pokynu Mezinárodní rady pro harmonizaci technických požadavků na léčivé přípravky pro humánní použití (ICH):

Cílem tohoto pokynu je doložit základní soubor údajů o stabilitě pro novou léčivou látku, ponechává dostatečnou flexibilitu, aby zahrnovala rozmanitost různých praktických situací, které se mohou vyskytnout v důsledku konkrétních vědeckých úvah a charakteristik^[5].

4. Typy stabilitních testů

4.1. *Stresové testy*

Stresové testy se provádějí před registrací léčiva jako předběžné stabilitní studie, většinou na jedné šarži výrobku. Léčivý přípravek se podrobí extrémní fyzikální a chemické zátěži, aby se urychlil chemický rozklad léčiva, konzervantů či antioxidantů. Účelem testu je stanovit primární vlastnosti v modelových zátěžových situacích, kde se testují radikální podmínky výroby, skladování, transportu a působení vnějších vlivů, identifikace degradačních produktů a ověření vhodnosti metody pro analýzu rozkladných produktů. Při stresových testech se stanovuje vliv zvýšené teploty (určuje se teplota, při které je látka nestabilní, zvýšením teploty o 10 °C, maximální teplota je 180 °C), účinek světla, pH (vliv pH na 1 % roztok léčiva při 60 °C), oxidace a vlhkost (75 % RV), také se zde zjišťuje vzájemná interakce s pomocnými látkami a obalem. Doba trvání stresového testu je nejvýše 3 měsíce při 5 °C, 50 °C nebo 75 °C^[2].

4.2. *Zrychlené testy*

Zrychlené testy jsou součástí stabilitní studie prováděné za extrémních skladovacích podmínek, proto aby došlo k chemickému rozkladu nebo fyzikální změně léčiva. Všechna data se mohou používat k výběru vhodné technologie výroby, konečného složení přípravku a pro stanovení skladovacích podmínek. Při zrychleném testu za obecných podmínek se na léčivo nebo léčivý přípravek působí 40 °C a 75 % RV po dobu 6 měsíců, v přechodných podmínkách je to 30 °C a 65 % RV. Pokud se jedná o rostlinné přípravky, mohou být testy vynechány při uvedení dostatečných důvodů žadatelem a na obalu musí být vyznačeny podmínky uchovávání. Léčivé látky, které jsou určené k uchovávání v chladu se při zrychleném testu podrobují 25 °C ±2 °C a 60 % RV po dobu 6 měsíců. Testování se provádí na 3 šaržích a délka studie musí být dostačující, aby pokryla všechna kritéria. Teplota se musí udržovat v rozmezí ±2 °C a RV vzduchu v rozmezí ±5 %. Jako výrazná změna se považuje 5% ztráta oproti původním hodnotám. Pokud dojde k významným změnám při

uchovávání v chladu mezi 3 až 6 měsíci doba reatestace se navrhne dle výsledků dlouhodobé studie. Jestliže dojde za podmínek zrychlené stabilitní studie k významné změně během prvních 3 měsíců, předloží se komentář, hodnotící vliv krátkodobé odchylky od podmínek uchovávání vyznačených na obalu, ke které může dojít např. během přepravy nebo manipulace. Hodnocení může být doloženo, je-li to vhodné, dalšími zkouškami s jednou šarží léčivé látky prováděnými po dobu kratší než 3 měsíce, ale s větší četností zkoušek než obvykle. Dojde-li k významné změně během prvních 3 měsíců, není nutné pokračovat ve zkoušení léčivé látky po celou dobu 6 měsíců. Jiné skladovací podmínky mohou být povoleny, pouze v opodstatněných případech ^[1, 2].

4.3. *Dlouhodobé testy*

Dlouhodobé testy se provádějí za výrobcem doporučených podmínek skladování, podle kterých se určuje výsledná doba použitelnosti. Léčiva se testují v originálním obalu. Podle klimatického pásma, ve kterém se daný stát nachází, se určují podmínky skladování. Česká republika patří do I. klimatického pásma (Tab. 1.), testuje se při 25 °C a 60 % vlhkosti až po dobu 5 let. Proto se většina léčiv v ČR skladuje při 25°C. Pokud se testuje termolabilní látka přípravek je skladován při 5 °C (± 3 °C) nebo -20 °C (± 5 °C) po dobu 24 až 60 měsíců ^[3].

Tabulka 1: Podmínky dlouhodobých testů pro klimatická pásma^[6]:

Klimatické pásmo	Teplota	Relativní vlhkost	Interval hodnocení (měsíce)
I.-mírné pásmo (Severní Evropa, Kanada, Rusko)	25 °C	60 %	3, 6, 9, 12, 18, 24 (36, 48, 60)
II.-subtropické pásmo (USA, Japonsko, jižní Evropa)	30 °C	65 %	3, 6, 9, 12, 18, 24 (36, 48, 60)
III.-Klimatické pásmo (Írán, Súdán)	30 °C	35-75 %	3, 6, 9, 12, 18, 24 (36, 48, 60)
IV.-Klimatické pásmo (Brazílie, Ghana, Indonésie)	30 °C	75 %	3, 6, 9, 12, 18, 24 (36, 48, 60)

4.4. *Následné zkoušky stability*

Jedná se o dlouhodobé testování, které si zajišťuje výrobce léčivých přípravků průběžně u vybraných šarží celého výrobního sortimentu za účelem neustálého sledování a monitorování technologie výroby, sledování kvality surovin, obalového materiálu a jejich vlivu na kvalitu a stabilitu léčiv a léčivých přípravků. Testy se provádí nejméně na jedné výrobní šarži ročně za skutečných skladovacích podmínek. Zkouší se obvykle na začátku a pak po 6, 12 a 24 měsících a následně v ročních intervalech. Poslední zkouška je většinou rok po uplynutí doby expirace daného přípravku^[2].

5. Základní postupy při zkoušení stability léčivých přípravků [2]

Prvním krok je vypracování plánu stabilitní studie, který definuje cíl, účel, rozsah a podmínky zkoušek. Zkušební metody zahrnují fyzikální, chemické, biologické a mikrobiologické vlastnosti léčiva a organoleptická hodnocení. Metody musí být vhodné pro celý průběh testování a musí být validované.

Pro daný léčivý přípravek jsou prováděny zkoušky v závislosti na jejich povaze.

Hodnotí se:

- Vzhled (změny barvy, homogenita, čírost atd.)
- Fyzikální zkoušky (rozpadavost, pevnost, disoluce, hustota, pH, viskozita)
- Obsah účinných látek (minimálně 90 %)
- Obsah pomocných látek (minimálně 80 %)
- Rozkladné produkty (nesmí přesahovat dané limity, prokázaná neškodnost)
- Mikrobiální nezávadnost (lékopisné specifikace)

Je třeba se vyjádřit ke každému kritériu stabilitní studie. Na závěr je vypracován protokol o stabilitě léčivého přípravku s komentářem, podle kterého se určí expirace.

5.1. *Organoleptické hodnocení*

Mezi organoleptická hodnocení při testování stability léčivých přípravků patří sledování vzhledu, zápachu, barvy, chuti nebo průhlednosti roztoku. Hodnocení se provádí vizuálním porovnáním s barevnými standardy a spektrofotometricky.

5.2. *Fyzikální zkoušky*

U parenterálních roztoků se provádí zkouška průzračnosti. Suspenze se hodnotí pomocí rychlosti sedimentace, objemem sedimentu, rozkladu léčiva a roztřepatelnosti sedimentu po skladování. U polotuhých léčivých přípravků se stanovuje konzistence, viskozita a různorodost. Vliv skladování na uvolňování léčivé látky z přípravku se stanovuje u transdermálních lékových forem. Výraznější změny vypovídají o nestabilitě.

5.3. *Chemické zkoušky*

Sleduje se vznik rozkladných produktů (oxidace, hydrolýza a fotodegradace), stanovuje se obsah účinné látky a konzervační látky. Stanovení se provádí nejčastěji pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) a spektrofotometrických metod.

5.4. *Fotostabilita*

Tento test demonstruje, že vystavení produktu světlu nezpůsobí změny ve vlastnostech. Po skončení analýzy se vzorky testují na fyzikální a organoleptické změny.

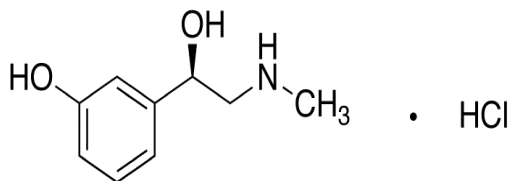
5.5. *Biologické a mikrobiologické zkoušky*

Tyto zkoušky zahrnují testování na sterilitu, biologickou nezávadnost, nepřítomnost pyrogenů, bakteriální endotoxiny, biologickou účinnost heparinu atd. Vzorek musí být patřičně popsán a testy musí pokrývat kritéria, která se mohou lišit během skladování. Opakování testů musí být dostatečné, aby byly podchyceny případné změny ve vlastnostech léčiva.

6. Léčiva a jejich stabilita

6.1. Fenylefrin hydrochlorid

Fenylefrin se jako účinná látka používá v perorálních přípravcích, nosních sprejích nebo očních kapkách. Používá se k udržení krevního tlaku. Je to adrenergní látka, která stimuluje alfa receptory, jedná se o sympatomimetikum^[7].



Obrázek 1-Fenylefrin hydrochlorid^[8]

Byla zkoumána stabilita, která byla sepsána Tyree H. Kiser et al.^[9], injekcí s fenylefrin hydrochloridem uložených v injekčních stříkačkách. Naředění fenylefrinu na koncentraci 100 µg/ml bylo provedeno za aseptických podmínek. Ke 100 mg fenylefrinu bylo přidáno 1000 ml 0,9 % chloridu sodného pro parenterální použití. Výsledný roztok byl uložen v 10 ml polypropylenových injekčních stříkačkách. Injekční stříkačky byly uloženy v mrazáku (-20 °C), v lednici (3–5 °C) nebo uchovávány při pokojové teplotě. Čtyři vzorky každého přípravku byly analyzovány ve dnech 0, 7, 15, 21 a 30. Fyzikální stabilita byla hodnocena vizuálně. Hodnota pH každé stříkačky byla měřena v každém časovém bodě. Chemická stabilita hydrochloridu fenylefrinu byla hodnocena pomocí HPLC. Pro analýzu byla využita chromatografická metoda popsána J. Jansen^[11]. Byla provedena nucená degradace fenylefrinu. Vzorky byly považovány za stabilní, pokud došlo k degradaci menší než 10 % počáteční koncentrace a nebyly pozorovány žádné sraženiny. Během trvání studie (30 dnů), byla pozorována minimální degradace. Fenylefrin hydrochlorid zředěný na koncentraci 100 µg/ml v injekčním roztoku chloridu sodného 0,9 % byl při skladování v polypropylenových stříkačkách stabilní po dobu nejméně 30 dnů.

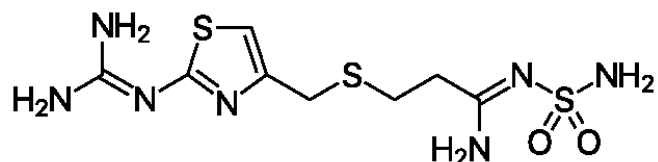
Rezk, Mamdouh R. et al.^[10] sepsali studii, ve které byly vyvinuty dvě metody, kterými byla určena stabilita farmaceutických složek. Metoda A byla založena na stanovení fenylefrinu pomocí HPLC. Pro separaci byla použita analytická kolona Waters Spherisorb ODS2 C18 a mobilní fáze složená z 0,1 % sodné soli heptan-1-sulfonové kyseliny v methanolu a vodě. Metodou B bylo TLC (chromatografie na tenké vrstvě) založené na denzitometrickém hodnocení s využitím silikagelových desek a mobilní fáze ve složení ethylacetát-methanol-amoniak. U obou metod byla využita UV detekce při 210 nm. Všechny degradační produkty byly odděleny a identifikovány pomocí hmotnostní spektrometrie. Metody byly validovány podle pokynů Mezinárodní konference o harmonizaci^[5].

Účelem studie, kterou sepsali Josiah J. Jansen et al. ^[11], bylo zjistit fyzikální a chemickou stabilitu fenylefrinu zředěného na 200 a 400 µg/ml v 0,9 % roztoku chloridu sodného v PVC (polyvinylchlorid) vaku, při pokojové teplotě a vystavení normálnímu osvětlení. Stabilita zředěných roztoků fenylefrinu byla hodnocena po dobu 60 dnů. Bylo přidáváno 50 a 100 mg fenylefrinu do 250 ml 0,9 % chloridu sodného v PVC sáčcích za aseptických podmínek. Vaky byly uchovávány při pokojové teplotě (23–25 °C). Pro hodnocení fyzikální a chemické stability byly vybrány tři vaky z každé koncentrace. Stabilita byla hodnocena ve dnech 0, 7, 14, 21, 30, 45 a 60. Fyzikální stabilita fenylefrinu byla hodnocena vizuálně. Roztoky byly pozorovány na černém (viditelné částice) a bílém (změny barvy) pozadí. Hodnota pH vzorků nebyla posouzena. Koncentrace fenylefrinu byly stanoveny pomocí HPLC s UV detekcí s vlnovou délkou nastavenou na 273 nm. Mobilní fáze byla složena z 0,02 M octanu amonného, 4 % acetonitrilu, upraveného pomocí 1 M hydroxidu sodného na pH 7,2. Průtok mobilní fáze byl 1 ml/min a do systému se nastříkovalo 20 µl. Pro validaci metody byla použita substance fenylefrinu. Kalibrace využívala 8 známých koncentrací od 100 do 450 µg/ml fenylefrinu a byla prováděna dvakrát denně v každém ze studovaných dnů. Přesnost testu splňovala podmínky pro validaci analytické metody. Všechny vzorky, pro všechny skladovací podmínky byly testovány duplicitně. Bylo stanoveno procento fenylefrinu v každém časovém bodě. Produkt byl považován za stabilní, pokud

degradovalo méně než 10 % původního produktu. Méně než 5 % degradace fenylefrinu bylo pozorováno během 60denního období studie. Roztoky zůstaly čiré a během studie nebyly pozorovány žádné fyzikální změny.

6.2. Famotidin

Famotidin je antagonist receptoru histaminu H₂, který inhibuje produkci žaludeční kyseliny. Obvykle se používá při léčení peptického vředového onemocnění a gastroezofageálního refluxu^[12].



Obrázek 2- Famotidin^[13]

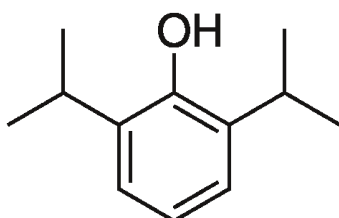
Byla studována stabilita, kterou popsali Bullock LS et al.^[14], intravenózního roztoku famotidinu v 5 % dextróze, 0,9 % roztoku chloridu sodného a sterilní vodě pro injekce, uchovávané při 4 °C po dobu 14 dnů. Koncentrace famotidinu ve vzorcích byla stanovována v časech 0, 7 a 14 dnů pomocí HPLC s využitím reverzních fází. Ve vzorcích byly také kontrolovány vizuální změny a změny pH. Výsledky HPLC analýzy ukázaly, že famotidin zůstal stabilní po celou dobu testování a degradace byla menší než 10 %.

Studie, kterou popsali Quercia RA et al.^[15] se zabývala stabilitou famotidinu v suspenzích při teplotě 4 °C a 25°C po dobu 30 dnů. Příprava vzorku famotidinu probíhala homogenizováním v třence a poté suspendováním v destilované vodě, směs poté byla naředěna třešňovým sirupem na celkový objem 60ml, výsledná koncentrace famotidinu byla 8 mg/ml. Směs byla rozdělena do dvou 30 ml tmavých lahviček a skladována při 4 °C a při pokojové teplotě. Vzorky z obou lahviček byly analyzovány na obsah famotidinu pomocí HPLC. Každý vzorek byl testován duplicitně v čase 0, 2, 5, 10, 15, 20, 25, a 30 dnů. Degradace famotidinu byla menší než 10 % po dobu 20 dnů při 4 °C a po dobu 15 dnů při pokojové teplotě. Po 30 dnech byla koncentrace famotidinu snížena o 24 %.

Účelem studie autorů Bullock LS. et al.^[16] bylo stanovit stabilitu famotidinu v parenterální výživě (TPN) s různou koncentrací aminokyselin. Dvě koncentrace famotidinu (20 mg/ml a 40 mg/ml) a dvě koncentrace aminokyselin (20 g/l a 42,5 g/l) byly skladovány za následujících podmínek. První testování probíhalo 24 hodin za snížené teploty. Druhá analýza probíhala 24 hodin při pokojové teplotě. Třetí pak 48 hodin při pokojové teplotě a 7 dní v lednici. Kontrolní roztoky TPN byly sledovány za stejných podmínek skladování. TPN obsahovala 25 % dextrózu, elektrolyty, stopové prvky a vitamíny. Koncentrace famotidinu byla stanovena po 0, 24, 48 hodinách a po 7 dnech pomocí HPLC. Po 24 hodinách si všechny roztoky uchovaly 95 % počáteční koncentrace famotidinu. Sedm z osmi roztoků famotidinu si uchovalo více než 95 % počáteční koncentrace i po 48 hodinách. Všechny vzorky skladované v chladničce obsahovaly více než 95 % počáteční koncentrace famotidinu. Koncentrace AMK nebyla ovlivněna.

6.3. Propofol

Propofol je krátkodobě působící hypnotikum podávané nitrožilně. Používá se k vyvolání a udržení celkové anestezie a k navození sedace. Využívá se i pro veterinární účely^[17].



Obrázek 3- Propofol^[18]

Byla studována stabilita propofolu, kterou popsali Bhatt-Mehta V. et al.^[19], ve třech TPN. Devět kombinací tří parenterálních roztoků (s koncentracemi aminokyselin 1,5, 2,5 a 5,0 %) a třemi koncentracemi propofolu (0,5, 2,0 a 3,0 mg/ml) bylo připraveno ve třech sériích a uloženo při 22 °C. U vzorků bylo stanoveno pH a byly zkontrolovány pro změnu barvy, vznik sraženin, tvorbu plynu. Obsah propofolu byl hodnocen pomocí HPLC po 0, 1, 3 a 5 hodinách. Koncentrace propofolu ve všech vzorcích zůstala nad 90% počáteční koncentrace. Pouze u kombinace propofolu 0,5 mg/ml a 1,5 % roztoku aminokyselin v parenterální výživě (PN) byla koncentrace snížena na 72 % počáteční koncentrace po 5 hodinách. Organoleptická analýza neodhalila žádné změny barvy, srážení a tvorbu plynu v žádné kombinaci propofolu a aminokyselin. Během studie nebyly zaznamenány žádné změny pH. Propofol v koncentracích 2 a 3 mg/ml byl stabilní 5 hodin při použití roztoků PN, obsahujících 1,5, 2,5 a 5 % aminokyselin. Propofol 0,5 mg/ml byl stabilní se stejnými roztoky PN po dobu 5 hodin, s výjimkou roztoku obsahujícího 1,5 % aminokyseliny.

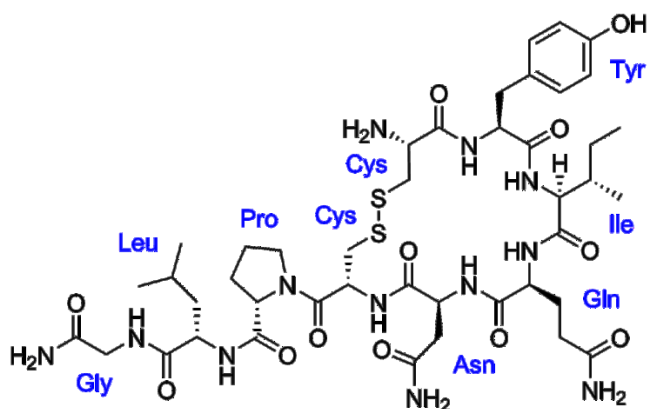
HPLC metoda pro určení stability byla sepsána Zhang H. et al.^[20] pro současné stanovení *cis*-atracurium besylátu a propofolu ve směsích. Na rozlišení a retenci látek byl zkoumán vliv organického modifikátoru, iontové síly a pH mobilní fáze. Základní separace byla provedena na analytické koloně s izokratickou elucí. Mobilní fáze obsahovala acetonitril a mravenčan amonný (pH 5,2, 0,3 M; 50:50 v/v). *Cis*-atracurium a propofol byly potvrzeny retenčním časem, a poměrem hmotnosti k náboji pomocí LC-MS. Kvantifikace těchto dvou léčiv byla provedena pomocí UV detekce při 280 nm. Tato metoda

ukázala linearitu pro *cis*-atracurium besylát a propofol v rozmezí 8-128 µg/ml a 37–592 µg/ml. Přesnost byla v rozmezí 0,4 až 1,4 a 0,4 až 2,9 % u obou analytů. Nebyly pozorovány produkty degradace propofolu.

Studie sepsaná Levadoux E. et al.^[21] se zabývala příslušnou kompatibilitou propofolu a alfentanilu s lékařskými plasty během infuze o různé průtokové rychlosti. Stanovení bylo provedeno ve směsi propofol/alfentanil 30/20 (V/V) a byla hodnocena stabilita. Hodnocení stability propofolu a alfentanilu bylo stanoveno pomocí HPLC. Koncentrace při pomalé infuzi (1 ml/h) po dobu 6 hodin se snížila. Při obvyklém průtoku nebyly zaznamenány výkyvy koncentrace. Pokud by během podávání infuze pacientovi, bylo potřeba přerušit průtok, neprokázalo se, že by byla snížena koncentrace a stabilita propofolu a alfentanilu. Stálost byla u směsi propofolu/alfentanilu vždy nižší než u obou léčiv samostatně.

6.4. Oxytocin

Oxytocin je peptidový lék používaný k vyvolání porodu a prevenci krvácení po porodu. Je to hormon, který se vytváří v hypotalamických jádrech. Nestabilita léčiva se prokázala při transportu a skladování v tropických podmínkách^[22].



Obrázek 4- Oxytocin^[23]

Ve studii, která byla sepsána Christinou Avanti et al.^[24] se zjistilo, že stabilita oxytocinu v aspartátovém pufovaném přípravku se zlepšila přidáním iontů dvojmocných kovů. Stabilizační účinek Zn^{2+} byl mnohem lepší než u Mg^{2+} . LC-MS/MS měření ukázala, že kombinace aspartátového pufru a Zn^{2+} potlačila intermolekulární degradační reakce v blízkosti disulfidového můstku. Zn^{2+} mění v aspartátovém pufru konformaci oxytocinu, disulfidový můstek dimeru *N*-citril tri/tetrasulfid je chráněn před jeho prostředím a potlačuje intermolekulární reakce. Pro ověření této hypotézy byla zkoumána konformace oxytocinu v aspartátovém pufru v přítomnosti Mg^{2+} nebo Zn^{2+} za použití 2D NOESY (nukleární Overhauserova spektroskopie), TOCSY (Celková korelační spektroskopie), 1H - ^{13}C HSQC (Heteronukleární jednobarevná koherentní spektroskopie) a 1H - ^{15}N HSQC NMR spektroskopie (poskytuje závislost mezi atomem dusíku a amidovým protonem, který poskytuje vrchol ve spektrech HSQC). Téměř všechny 1H , ^{13}C a ^{15}N rezonance oxytocinu mohou být přiřazeny pomocí HSQC spektroskopie, aniž by bylo zapotřebí ^{13}C nebo ^{15}N obohacení. 1H - ^{13}C a 1H - ^{15}N HSQC spektra ukázaly, že samotný aspartátový pufr indukuje drobné změny v oxytocinu v D_2O s největšími změnami chemického posunu pozorovanými pro aspartát. Zn^{2+} způsobuje rozsáhlejší změny oxytocinu ve vodném roztoku než Mg^{2+} . Toto naznačuje, že karboxylátová skupina

aspartátu neutralizuje pozitivní náboj N-konce. Tyto interakce mohou vysvětlit ochranu disulfidového můstku před intermolekulárními reakcemi.

Byla zkoumána stabilita, která byla sepsána Gard W. J. et al.^[25], Ringerově laktátovém roztoku a v 5 % Ringerově dextrózovém roztoku po dobu 24 hodin při 25 °C a po dobu 7 dnů při 5°C. Do 1000 ml Ringerova laktátového roztoku a 1000 ml Ringerova dextrózového roztoku bylo přidáno 20 U/ml oxytocinu. Vzorke pro analýzu byly odebrány ve stanovených časech a skladovány při 5 °C a 25°C. Vzorke byly uchovávány při -70 °C pro pozdější analýzu. Bylo zjištěno, že dvacet jednotek oxytocinu v Ringerově laktátovém roztoku a v Ringerově dextrózovém roztoku je stabilní po dobu 7 dní při 5 °C a 24 hodin při 25 °C.

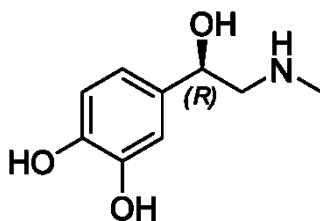
Kaushal G. et al.^[26] zkoumal stabilitu roztoků oxytocinu v PVC vacích. Roztoky byly skladovány ve třech různých teplotních podmínkách -20 °C, 2-6 °C a 22-25 °C. Byly odebrány tři roztoky z každé teploty a byla hodnocena stabilita ve dnech 0, 7, 15, 21 a 30 podle pokynů Amerického lékopisu^[27]. Stabilita oxytocinu byla stanovena metodou HPLC v každém časovém bodě. Během studie nebyly pozorovány žádné sraženiny, zákalý nebo změny barev. Stanovení ukázala, že si oxytocin zachová více než 90 % počáteční koncentrace po dobu 21 dnů. Při všech podmínkách skladování nedošlo k významným změnám hodnot pH po dobu 21 dnů. Oxytocinové parenterální roztoky v konečné koncentraci 0,02 U/ml a zředěné ve fyziologickém roztoku jsou stabilní po dobu nejméně 30 dnů při -20 °C a 2-6°C. Při pokojové teplotě byly roztoky oxytocinu stabilní po dobu nejméně 21 dnů.

Studie, kterou sepsali Triseel La et al.^[28], se zabývala fyzikální a chemickou stabilitou oxytocinu 0,08 U/ml s 5 % dextrózovým roztokem určenému k infuznímu podání, s 0,9 % roztoku chloridu sodného a s Ringerovým roztokem. Roztoky byly připraveny přidáním požadovaného množství oxytocinu do sáčků tří infuzních roztoků. Vzorke byly skladovány při pokojové teplotě a chráněny před světlem. Byly hodnoceny ve vhodných intervalech po dobu až 90 dnů. Fyzikální stabilita byla stanovena pomocí turbidimetrického měření a vizuální kontroly. Chemická

stabilita byla hodnocena HPLC metodou. V roztoku 5 % dextrózy a 0,9 % chloridu sodném, nedocházelo k viditelným změnám po dobu 90 dnů. Ringerův roztok zůstal čirý a bezbarvý po dobu 28 dnů. Po 35 dnech se objevilo v roztoku malé množství bílého mikroprecipitátu. HPLC analýza ukázala, že oxytocin je stabilní v Ringerově roztoku po dobu 28 dnů. Degradace větší než 10 % se ukázala po 35 dnech a větší než 21% po 60 dnech.

6.5. *Epinefrin*

Epinefrin je endogenní katecholamin, hormon a neuromediátor produkovaný dřením nadledvin. Má pozitivní účinek na srdce, působí na bronchodilataci, mydriázu, vazodilataci, vazokonstrikci, snižuje sekreci inzulínu a zvyšuje tonus svěračů. Používá se při epidurální analgezií při velkých operacích^[29].



Obrázek 5- Epinefrin^[30]

V této studii, kterou sepsali P.J. Dawson et al.^[31], byla testována stabilita fentanylu a bupivakainu při zředění 0,9 % chloridem sodným na 4 µg/ml a 0,1 % ve 100 ml v PVC vacích, samostatně a v kombinaci s epinefrinem. Změny koncentrace léčiva a pH byly zkoumány po dobu 56 dnů. Kombinace fentanylu, bupivakainu a epinefrinu byla testována za různých podmínek při 35 °C, 25°C, 4 °C, -18 °C, ve tmě a po autoklávování. Koncentrace epinefrinu se snížila o 37,3 % při 35 °C po 56 dnech. Roztoky obsahující epinefrin se po 56 dnech staly kyselějšími. Fentanyl a bupivakain byly stabilní.

V článku od I. Kjonniksen et al.^[32] bylo prokázáno složení a chemická stabilita kombinovaného roztoku epinefrinu 2 µg/ml, fentanylu 2 µg/ml a bupivakainu 1 mg/ml. Byly připraveny infuzní roztoky. Osm roztoků bylo analyzováno metodou HPLC s reverzní fází a stanovení byla provedena po 1, 45, 90 a 180 dnech skladování při teplotě 2 až 8 °C. Po 180 dnech byly roztoky uchovávány při 22 °C po dobu 4 dnů, než byly znovu analyzovány. Koncentrace epinefrinu a fentanylu poklesla přibližně o 3,5 % za 4 dny při 22 °C a po 180 dnech při 4 °C. U bupivakainu byl zřejmý nárůst koncentrace o 2,4 %. Nebyla zjištěna žádná absorpce PVC sáčků fentanylu a bupivakainu. U 28 vzorků byla degradace epinefrinu menší než 10 %. Třísložkový epidurální analgetický roztok zůstal stabilní během šesti měsíců skladování v chladu

a následně čtyři dny při pokojové teplotě. U infuzních roztoků vrácených z oddělení nebyla pozorována žádná významná degradace epinefrinu.

Stepensky D. et al.^[33] popsali kinetickou degradaci L-epinefrinu. Stanovoval se rozsah inaktivace léku různými cestami během a po stanovení degradačního času produktu ve 42 dávkách epinefrinových ampulí skladovaných za kontrolovaných podmínek. Obsah L-epinefrinu a produkty degradace byly stanoveny pomocí chirální HPLC a produkty degradace jako D-epinefrin a L- a D-epinefrin sulfáty, byly identifikovány hmotnostní detekcí. Kinetika změny obsahu při skladování byla měřena současně s L-epinefrinem a degradačními produkty za použití kinetického modelování. Nižší přijatelná hladina obsahu epinefrinu (90 % jako součet L- a D-izomerů) byla dosažena po 2 letech skladování, kdy obsah terapeuticky účinného L-isomeru činil až 85 %.

Cílem této studie od Shibaty Y. et al.^[34] bylo zhodnotit stabilitu epinefrinu u klinicky používaných roztoků s různým pH. Intraokulární zavodňovací roztok obsahující 1 µg/ml epinefrinu je široce používán během operace katarakty k udržení dilatace. Připravené roztoky se doporučují používat po dobu 6 hodin. Po 6 hodinách byl zbývající obsah epinefrinu 90,6 % ± 3,7 (pH 7,2), 91,1 % ± 2,2 (pH 7,5) a 65,2 % ± 2,8 (pH 8,0) počáteční koncentrace. Jednu hodinu po smísení byl zbývající obsah epinefrinu 97,6 % ± 2,0 (pH 7,2), 97,4 % ± 2,7 (pH 7,5) a 95,6 % ± 3,3 (pH 8,0). Degradace epinefrinu byla časově závislá při pH 8,0. Tyto výsledky ukazují, že koncentrace epinefrinu se po přípravě roztoků sníží. Stanovoval se vliv hydrogen-siřičitanu sodného na stabilitu epinefrinu v zavlažovacím roztoku. Obsah epinefrinu v zavlažovacím roztoku byla, po 6 hodinách od smísení při pH 8,0 obsahujícího hydrogen siřičitan sodný v koncentraci 0,5 µg/ml nebo 500 µg/ml, 57,5-97,3 %. Nízká koncentrace hydrogen-siřičitanu sodného v roztoku může být příčinou degradace epinefrinu. Proto se doporučuje intraokulární zavlažovací roztok s epinefrinem připravovat v čas potřeby.

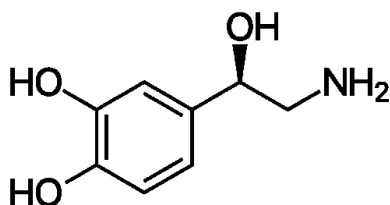
Carr RR. et al.^[35] vyhodnocoval stabilitu epinefrinu v 5 % vodném roztoku dextrózy za standardních koncentrací v infuzních vacích při teplotách 4 °C a 25 °C po dobu až 30 dnů.

Celkem bylo připraveno 6 infuzních sáčků s 200 ml roztoku epinefrinu, 2 sáčky pro každou standardní koncentraci (25, 50 a 100 µg/ml). Tři sáčky (jeden pro každou koncentraci) byly skladovány v chladničce (4 °C) a zbývající 3 sáčky byly skladovány při pokojové teplotě (25 °C). Fyzikální charakteristiky (včetně pH, barvy a přítomnosti sraženiny) byly denně vyhodnocovány po dobu prvních 14 dnů a poté 1–5 dnů po dobu 30 dnů. Tři 1,5 ml vzorky byly odebrány z každého vaku ihned po přípravě (čas 0) poté po každých 24 hodinách (po 24 hodinách, 48 hodinách, 72 hodinách, 96 hodinách atd.) po dobu prvních 14 dnů a poté v intervalu 1–5 dnů až do dne třicátého. Každý vzorek byl analyzován pomocí HPLC. Roztok byl považován za stabilní, pokud obsahoval alespoň 90 % koncentrace. V žádném z roztoků nebyly pozorovány významné změny pH, barvy nebo sraženiny. Všechny roztoky měly více než 95 % počáteční koncentrace epinefrinu po dobu 30 dnů.

Článek sepsaný Weeks PA. et al.^[36] popisuje infuzní roztok epinefrinu v kombinaci s chloridem vápenatým, který byl použit jako intravenózní inotropní roztok. Byla zde vyhodnocena chemická a fyzikální kompatibilita epinefrinu (0,032 mg/ml) s chloridem vápenatým (4 mg/ml) v roztoku pro intravenózní podání až 26 hodin při pokojové teplotě. Chemická stabilita epinefrinu byla sledována měřením koncentrací epinefrinu za použití HPLC. Fyzikální kompatibilita směsi byla stanovena měřením absorpance mezi 400 až 700 nm. Absorbance vyšší než 0,010 AU byla považována za indikátor přítomnosti sraženin. Výsledky ukázaly, že epinefrin společně s chloridem vápenatým byl stabilní ve fyziologickém roztoku po dobu 26 hodin při pokojové teplotě. Absorbance epinefrinu v průběhu studie byla nižší než 0,010 AU.

6.6. Norepinefrin

Norepinefrin (NE) je katecholamin produkovaný dřeni nadledvin. Způsobuje vazokonstrikci a zvyšuje krevní tlak. Infuze NE se běžně používají na jednotce intenzivní péče a na operačních sálech^[37].



Obrázek 6- Norepinefrin^[38]

Tato studie popisující stabilitu NE, byla sepsána Maryse Tremblay et al.^[39], v roztoku 5 % dextrózy ve vodě (D5W) a normálních solných roztocích (NS) podobu až 7 dnů. NE roztoky byly připraveny čtyřikrát, aseptickým ředěním 1 mg NE ve 250 ml D5W nebo NS a 4 mg NE ve 250 ml D5W nebo NS (konečné koncentrace 4 µg/ml a 16 µg/ml). Roztoky byly skladovány při pokojové teplotě. Vzorky byly odebírány v duplikátu, v časech 0, 24, 48, 72, 120 a 168 hodin uchovávány při -80 °C pro pozdější stanovení. Koncentrace NE byly měřeny HPLC metodou s elektrochemickou detekcí (koeficient variace 4,6%). Statistická analýza byla provedena pomocí opakovaných měření ANOVA (Friedmanův test). Nebyl zaznamenán žádný pokles koncentrace pro NE. Koncentrace NE po uplynutí 168 hodin byl 95,7-96,4 %. Pro NE 4 µg/ml a 16 µg/ml v D5W a NS byl 104,5-96,4 %. NE roztoky v koncentracích běžně užívaných v klinickém prostředí jsou chemicky stabilní po dobu sedmi dnů, při pokojové teplotě, běžném světle a při zředění buď v D5W nebo NS.

Cílem studie autorů Scott E. Walker et al.^[40] bylo vyhodnotit stabilitu jedné koncentrace NE (64 mg/l) zředěného fyziologickým roztokem (NS, 0,9 % chloridu sodného) nebo 5 % dextrózou ve vodě (D5W) a skladováno po dobu 2 měsíců při 4 °C a pokojové teplotě s ochranou před světlem, nebo bez ochrany. Mobilní fázi tvořila směs acetonitrilu a 0,05 M kyseliny fosforečné s heptan-sulfonovou kyselinou o koncentraci 1 mg/ml. Separace analytů byla provedena na koloně s C18 fází (15 cm x 4,6 mm, 3 µm) při průtoku 1,0 ml/min. Konstantní poměr acetonitrilu a kyseliny fosforečné (5:95) byl zachován po

celou dobu analýzy. Vzniklé chromatogramy byly zkontrolovány pro přítomnost dalších píků a výška píku NE byla porovnávána se vzorky. Hodnotila se změna koncentrace, retenční čas, tvar píku a spektrální čistota (200–320 nm). Oblast pod vrcholem NE při 280 nm byla podrobena lineární regresi a aktuální koncentrace NE v každém vzorku byla stanovena z kalibrační křivky.

10 ml vzorku norepinephrinu se upraví na pH 8,264 0,5 M hydroxidem sodným. Druhý 10 ml vzorek 40 mg/l bitartrátové injekce roztoku stejné dávky norepinephrinu se upraví na hodnotu pH 1,977 0,5 M kyselinou chlorovodíkovou.

Roztoky byly umístěny ve skleněných lahvičkách do vodní lázně o teplotě 80°C. Vzorky byly odebrány z lahvičky o pH 8,264 bezprostředně před tím, než byly umístěny do vodní lázně a dalších 7 vzorků bylo odebíráno v intervalu (2, 5, 10, 18, 26, 31 a 37 minut). Vzorky byly odebrány z ampule s roztokem o pH 1,977 bezprostředně před tím, než byly umístěny do vodní lázně a dalších 10 vzorků odebráno v intervalu (7, 15, 30, 63, 121, 180, 248, 2763, 4553 a 8513 min) přibližně 142 dnů.

Zásobní roztok 0,75 ml NE standardu v 5 ml destilované vodě (150 mg/l) byl dále zředěn, tak aby byly připraveny standardy s konečnou koncentrací 100, 50, 37,5, 18,75 a 12,5 mg/l. Kontrolní vzorky NE (koncentrace 25 a 75 mg/ml) byly analyzovány dvakrát denně a jejich koncentrace byly stanoveny a porovnány se známými koncentracemi.

Chyby byly vyhodnoceny variačním koeficientem. V den 0 studie byly z ampule odebrány 4 ml roztoku NE a dány do 50 ml sáčku (PVC) s D5W. Bylo připraveno 16 vaků s koncentrací 64,5 mg/l. Tento postup byl opakován s 0,9 % NS. Pro každý ředící roztok (D5W a NS) bylo 8 vaků skladováno při 4 °C a 8 vaků bylo skladováno při teplotě místnosti. Z toho byla polovina chráněna před světlem a další čtyři byly vystaveny okolnímu světlu. Ve studovaných dnech 0, 1, 2, 3, 4, 8, 9, 10, 11, 14, 18, 21, 23, 25, 28, 30, 36, 42 a 61 byla koncentrace NE stanovena dvojmo. Každý den analýzy byly odebrány vzorky o objemu 1 ml z každého sáčku a dávkováno přímo do chromatografického systému bez dalšího ředění.

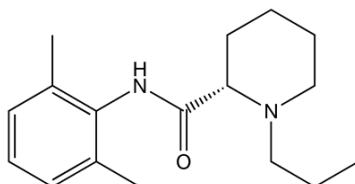
Degradace NE teplem a bazí (pH 8,264) se objevila relativně rychle, po 37 minutách zůstalo méně než 1 % počáteční koncentrace norepinephrinu. Degradace NE teplem a kyselinou (pH 1,977) probíhala pomaleji, přibližně 80 % počáteční koncentrace NE zůstalo po 142 hodinách. V důsledku

chromatografické separace těchto degradačních produktů z NE a podobnosti UV spektra byla analytická metoda ukazatelem stability. Zrychlená degradace NE – roztok NE 40 mg/l bitartrátové injekce ve vodě při pH 8,264 (čas 0) po 10 minutách při 80 °C zůstalo 26 % původní koncentrace.

Roztoky chráněné před světlem měly pomalejší rychlost degradace než roztoky skladované bez ochrany. Kontrola koncentrace v 61. dnu ukázala, že roztoky chráněné před světlem ztrácejí mezi 3,6–12,3 % své počáteční koncentrace. Bez ohledu na teplotu skladování. Naproti tomu roztoky vystavené světlu ztrácejí mezi 10,5–22,6 % své počáteční koncentrace. V roztocích NE zředěných v NS nebo D5W na koncentraci 64,5 mg/l a skladovaných po dobu 60 dnů chráněných před světlem, při teplotě 4 °C a poté při pokojové teplotě po dobu dalších 24 hodin zůstalo zachováno více než 95 % počáteční koncentrace. Roztoky, které nebyly chráněny před světlem, si uchovávaly pouze 90 % počáteční koncentrace při skladování po dobu 39 dnů při teplotě 4 °C.

6.7. Ropivakain

Ropivakain se běžně používá jako lokální anestetikum amidového typu odvozené od bupivakainu vhodné pro infiltrační a epidurální anestezii a periferní blokády nervů^[41].

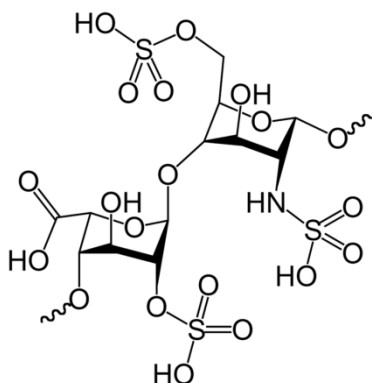


Obrázek 7- Ropivakain^[42]

V této studii, která byla sepsána Sánchez del Águila MJ. et al.^[43], byl přidán heroin ke 200 ml 0,2 % roztoku ropivakainu, aby se dosáhlo koncentrace 25 µg/ml a k 50 ml 1 % roztoku ropivakainu, aby se dosáhlo koncentrace 45 µg/ml. Vak a stříkačky byly uchovávány při teplotě 40 °C, 21 °C a 4 °C po dobu 120 dnů. Zjistilo se, že teplota skladování a počáteční koncentrace ovlivňují rychlost degradace heroinu jak v PVC sáčcích, tak i v injekčních stříkačkách. Degradace ropivakainu menší než 10 % v injekčních stříkačkách byla při 40 °C 6 dnů, při 21 °C 16 dnů a při 4 °C 30 dnů. Ve vaku byla degradace menší než 10 % 6 dní při 40 °C, 28 dní při 21 °C a 70 dní při 4 °C.

6.8. Heparin sodný

Heparin je mukopolysacharid, který zasahuje do koagulační kaskády v těle. Heparin umí tlumit některé z faktorů (trombin, faktor X atd.) a tak narušuje proces srážení krve^[44].



Obrázek 8- Heparin sodný^[45]

Účelem studie, kterou sepsali Kenneth A. Jandik et al.^[46], bylo stanovení heparinu ze sliznice střev prasete. Heparin byl nejprve inkubován v 0,1 M kyselině chlorovodíkové a 0,1 M hydroxidu sodném při teplotě 30 °C a 60 °C a vzorky byly odebrány v intervalu od 0 do 1000 hodin. Vzorky heparinu byly dále připraveny v 10 mM pufru fosforečnanu sodného o pH 7,0 v uzavřených ampulích, které byly probublány dusíkem a inkubovány při 100°C. Vzorky odebrané v časovém intervalu od 0 do 4000 hodin byly analyzovány. Během prvních 500 hodin byl heparin poměrně stabilní a poté rychle degradoval. Heparin, testovaný pomocí amidolytických metod protilátek proti faktoru Xa a anti-faktoru IIa, si zachoval 80-90 % své aktivity během prvních 500 hodin, ale tato aktivita se snížila na cca 6 % počáteční aktivity po 1000-2000 h. Tento rychlý rozklad začal až poté, co byla pufrovací kapacita roztoku zahlcena kyselou degradací, což způsobilo pokles pH.

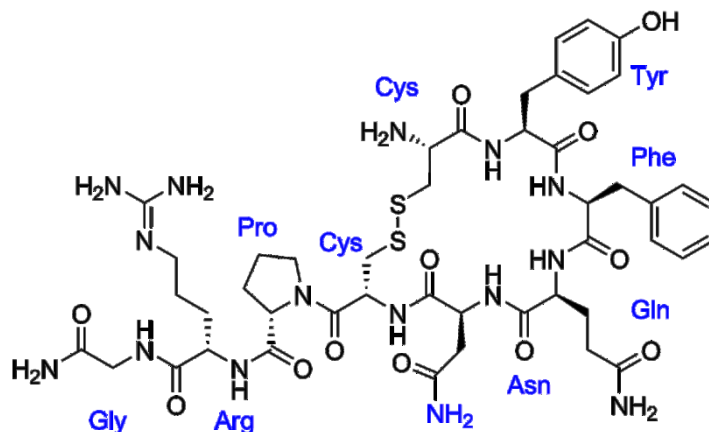
Ve studii od J. Jacobs et al.^[47] byla zkoumána chemická stabilita a antikoagulační aktivita heparinu (20 U/ml) byla studována v pěti intravenózních roztocích při pokojové teplotě. Heparin zůstal stabilní po dobu 24 hodin ve fyziologickém roztoku, k rychlé inaktivaci ovšem došlo (40-55 %) v roztoku obsahujících dextrans nebo laktát. Pro určení změn byly použity chemické a biologické metody. Vysoké koncentrace

benzylpenicilinu, ampicilinu nebo meticilinu neměly žádný účinek na heparinovou aktivitu ve fyziologickém roztoku nebo v 5 % dextróze ani stabilita penicilinů v těchto tekutinách nebyla výrazně ovlivněna přítomností heparinu. Heparin může být podáván intravenózně v normálním fyziologickém roztoku s benzylpenicilinem, ampicilinem nebo meticilinem. Bylo zjištěno, že několik dalších antibiotik není vhodných pro souběžnou infuzi heparinu.

Ortega R. et al.^[48] sepsali studii, kde popisovali stabilitu daptomycinu 5 mg/ml a heparinu sodného 100 U/ml v kombinaci s Ringerovým laktátovým roztokem. Stříkačky byly uchovány při teplotě 4 °C a -20 °C. Byly připraveny dva vzorky směsi daptomycinu 5 mg/ml a heparinu sodného 100 U/ml zředěného v Ringerově laktátovém roztoku a rozděleny po 5 ml pro skladování po dobu 14 dnů. Procento výchozí koncentrace léčivých přípravků zbývajících v injekčních stříkačkách bylo hodnoceno metodou HPLC, potvrzující stabilitu pro obě léčiva. Studie s degradací byly prováděny nezávisle s každým léčivem zředěným v Ringerově laktátovém roztoku. Jeden vzorek z každé uložené stříkačky byl analyzován ve třech vyhotoveních ve dnech 0, 1, 2, 3, 4, 7 a 14. V průběhu analýzy byly použity vzorky kontroly kvality každé testované koncentrace. Vzorky směsí byly vizuálně zkontrolovány z hlediska barvy, čirosti a tvorby částic. HPLC analýza neprokázala významnou ztrátu v koncentraci daptomycinu a heparinu zředěného v Ringerově laktátovém roztoku. Žádný z chromatografických píků degradačních produktů ve vzorcích po degradaci nebyl zjištěn v žádném vzorku během čtrnácti denní studie. Všechny vzorky uchovávané v injekční stříkačce zůstaly po dobu trvání studie čiré a bezbarvé při organoleptické analýze.

6.9. Vasopresin

Vasopresin je neurosekreční hormon. Zvyšuje resorpci vody v ledvinách a zvyšuje krevní tlak^[49].



Obrázek 9- Vasopresin^[50]

Studie, kterou publikovali Bi M. et al.^[51], popisuje stabilitu vasopresinu jako pufru. Vasopresin byl analyzován HPLC s využitím reverzní fáze. Výsledky ukázaly, že pH pufru ovlivnilo rychlost degradace vasopresinu. Koncentrace tlumivých iontů (H_2PO_4^- a HPO_4^{2-}) a solí neměly žádný vliv na degradaci vasopresinu. Maximální stabilita byla dosažena při pH 3,35 mezi testovanými hodnotami pH. Rychlost degradace vasopresinu v kůži (plocha: 9 cm^2 , tloušťka: $0,5 \text{ mm}$) byla $0,22\text{h}^{-1}$.

7. Závěr

Tato bakalářská práce byla zpracována jako rešerše na téma stabilita vybraných léčivých přípravků.

Stabilita léčivého přípravku závisí na zachování jakostních znaků po určitou dobu za určitých podmínek. Testování se provádí pomocí stabilitních testů, kterými se určí podmínky skladování, uchovávání, určí se obalový materiál a doba expirace^[3,4].

Typy stabilitních testů jsou stresové (provádí se před registrací léčiva), zrychlené (provádí se za extrémních skladovacích podmínek), dlouhodobé (provádí se za podmínek určených výrobcem) a následné zkoušky stability (dlouhodobé testování výrobcem)^[2,3].

Mezi základní postupy při provádění testů patří organoleptické hodnocení, fyzikální zkoušky, chemické zkoušky, fotostabilita, biologické a mikrobiologické zkoušky^[2].

Prvním krokem při zkoušení stability je vypracování plánu stabilitní studie, který definuje cíl, účel, rozsah a podmínky zkoušek. Metody musí být vhodné pro dané testování a musí být validované^[2].

Léčivo se pokládá za stabilní, pokud nedojde ke ztrátě více jak 5 % produktu. Studie uvádějí degradaci méně než 10 %. Vydává se protokol o stabilitě, kde je vše shrnuto a tento protokol slouží jako doklad o provedených stabilitních zkouškách^[3].

Mezi vybrané léčivé přípravky, které jsou popsány v této práci patří Fenylefrin, Famotidin, Propofol, Oxytocin, Epinefrin, Norepinefrin, Ropivakain, Heparin a Vasopresin. Ke každému léčivému přípravku byly vyhledány odborné články, ve kterých se určovala stabilita daného léčiva v infuzním nebo injekčním roztoku.

V tabulce 2 jsou nalezené stability léčiv a jejich ředění. U každého léčiva jsou roztoky, v kterých je dané léčivo testováno a čas, při kterém zůstane stabilní. Chromatografické podmínky analýzy daných léčiv jsou shrnuty v tabulce 3 a ostatní metody používané pro analýzu podmínky v tabulce 4.

Tabulka 2: Výsledky stability léčiv

Léčivo	Ředění	Stabilita (teplota)
Fenylefrin hydrochlorid	100 µg/ml v 0,9 % NaCl	30 dnů
	200 µg/ml a 400 µg/ml v 0,9 % NaCl	60 dnů
Famotidin	2 mg/ml v 5 % dextróze a 0,9 % NaCl	14 dnů (4 °C)
	8 mg/ml v destilované vodě	20 dnů (4 °C) 15 dnů (25 °C)
	20 mg/ml a 40 mg/ml v parenterální výživě	48 hodin (25 °C) 7 dnů (4 °C)
Propofol	2 mg/ml a 3 mg/ml v PN	5 hodin (25 °C)
Oxytocin	20 jednotek v Ringerově roztoku nebo Ringerově dextrózovém roztoku	7 dnů (4 °C) 24 hodin (25 °C)
	0,02 U/ml ve fyziologickém roztoku	30 dnů (-20 °C) 30 dnů (2–6 °C) 21 dnů (25 °C)
	0,08 U/ml v 5 % dextróze, 0,9 % NaCl a 0,08 U/ml v Ringově roztoku	90 dnů (25 °C) 28 dnů (25 °C)
Epinefrin	2 µg/ml v infuzním roztoku	6 měsíců (2-6 °C)
	1 µg/ml v roztoku	6 hodin
	25, 50 a 100 µg/ml v 5 % dextróze	30 dnů
	0,032 mg/ml s 4 mg/ml NaCl ve fyziologickém roztoku	26 hodin (25 °C)

Léčivo	Ředění	Stabilita (teplota)
Norepinefrin	Roztoky v různých koncentracích 64,5 mg/ml v NS nebo D5W	7 dnů (25 °C) 60 dnů (4 °C, chráněno před světlem) 39 dnů (4 °C)
Ropivakain	200 ml 0,2 % ropivakainu s heroinem, výsledná koncentrace 25 µg/ml	6 dnů (40 °C) 16 dnů (25 °C) 30 dnů (4 °C)
	50 ml 1 % ropivakainu s heroinem, výsledná koncentrace 45 µg/ml	6 dnů (40 °C) 28 dnů (25 °C) 70 dnů (4 °C)
Heparin sodný	20 U/ml ve fyziologickém roztoku	500 hodin 24 hodin
	100 jednotek/ml v Ringerově roztoku	14 dnů (-20° a 4 °C, v injekčních stříkačkách)

Tabulka 3: Chromatografické podmínky při analýze léčivých přípravků

Léčivo	Chromatografické podmínky
Fenylefrin hydrochlorid	<p>HPLC^[10]</p> <ul style="list-style-type: none"> → analytická kolona (C18) → mobilní fáze (roztok 0,1 % sodné soli a heptan-1-sulfonové kyseliny v methanolu a vodě) → UV detekce při 210 nm <p>TLC^[10]</p> <ul style="list-style-type: none"> → denzitometrické stanovení pomocí silikonových desek → mobilní fáze (ethylacetát-methanol-amoniak) → UV detekce při 210 nm <p>HPLC^[11]</p> <ul style="list-style-type: none"> → mobilní fáze (0,02 M octanu amonného, 4 % acetonitril) → analytická kolona (C18) → UV detekce při 273 nm
Famotidin	<p>HPLC^[14]</p> <ul style="list-style-type: none"> → s využitím reverzních fází
Propofol	<p>HPLC^[20]</p> <ul style="list-style-type: none"> → analytická kolona (C18)s izokratickou elucí → mobilní fáze (acetonitril a mravenčan amonný) → UV detekci při 280 nm
Epinefrin	<p>HPLC^[32]</p> <ul style="list-style-type: none"> → s využitím reverzní fáze <p>HPLC^[33]</p> <ul style="list-style-type: none"> → analytická kolona (C18) → identifikace pomocí hmotnostní detekce

Léčivo	Chromatografické podmínky
Norepinefrin	HPLC ^[39] → elektrochemickou detekcí (koeficient variace 4,6 %) HPLC ^[40] → analytická kolona (C18) → mobilní fáze (směs acetonitrilu a 0,05 M kys. fosforečné) → izokratická eluce → UV detekce při 280nm
Heparin sodný	HPLC ^[48] → detektor s diodovým polem
Vasopresin	HPLC ^[51] → s využitím reverzní fáze

Tabulka 4: Podmínky při analýze léčivých přípravků

Léčivo	Stanovení
Epinefrin	Fyzikální stabilita ^[36] → spektrofotometrická absorpance mezi 400-700nm
Oxitocin	Měření kompatibility ^[24] → LC-MS/MS Fyzikální stabilita ^[28] → turbidimetrické měření

8. Seznam zkratek

AMK-aminokyselina
ANOVA-analýza rozptylu
ČR-Česká republika
D₂O-těžká voda
D5W-5 % roztok dextrózy ve vodě
EU-Evropská unie
HPLC-vysokoúčinná kapalinová chromatografie
¹H-¹⁵N HSQC NMR- heteronuclear single quantum coherence spectroscopy
HSQC-heteronuclear single quantum coherence spectroscopy
ICH-mezinárodní rada pro harmonizaci technických požadavků na léčivé přípravky pro humorální použití
LC-MS-kapalinová chromatografie s hmotnostním spektrometrem
LC-MS/MS-kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií
NE-norepinefrin
NS-normální solný roztok
NOESY-nukleární Overhauserova spektroskopie
NMR-nukleární magnetická rezonance
RV-relativní vlhkost
PN-parenterální roztok
PVC-polyvinylchlorid
UV-Ultravioletové záření
TLC-Chromatografie na tenké vrstvě
TOSCY-celková korelační spektroskopie
TPN-celková parenterální výživa

9. Seznam obrázků

Obrázek 1-Fenylefrin hydrochlorid ^[8]	12
Obrázek 2- Famotidin ^[13]	15
Obrázek 3- Propofol ^[18]	17
Obrázek 4- Oxytocin ^[23]	19
Obrázek 5- Epinefrin ^[30]	22
Obrázek 6- Norepinefrin ^[38]	25
Obrázek 7- Ropivakain ^[42]	28
Obrázek 8- Heparin sodný ^[45]	29
Obrázek 9- Vasopresin ^[50]	31

10. Zdroje

1. REG-83 - Požadavky na stabilitní studie v registrační dokumentaci. *SUKL* [online]. 2005 [cit. 2017-10-05]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/leciva/reg-83>
2. VETCHÝ, David. TESTOVÁNÍ STABILITY LÉČIVÝCH PŘÍPRAVKŮ. *Chem. Listy* [online]. 2005, , 24-29 [cit. 2017-10-05]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2006_01_24-29.pdf
3. VETCHÝ, David. Stabilitní testy ve farmacii. *Praktické lékařství* [online]. (6), 276-277 [cit. 2017-10-05]. Dostupné z: <https://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2006/06/09.pdf>
4. *Zkoušení léčiv* [online]. [cit. 2017-10-15]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/el/1431/jaro2012/c8790/um/31610507/Farm07.pdf>
5. *ICH Official web site: ICH* [online] [vid. 2017-07-02]. Dostupné z: <http://www.ich.org/home.html>
6. Klimatická pásma, 2014. Podnebné (klimatické) pásy. *Počasí* [online]. [vid. 2017-11-21]. Dostupné z: <http://aaapocasi.cz/podnebne-klimaticke-pasy/>
7. Fenylefrin. WAGNER, Robert. *Kardioanestezie a perioperační péče v kardiochirurgii*. Praha: Grada Publishing, 2009, s. 109. ISBN 978-80-247-1920-7.
8. Fenylefrin, nedatováno. *PHENYLEPHRINE HYDROCHLORIDE* [online] [vid. 2017-11-19]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5284443>
9. KISER, Tyree H., Alan R. OLDLAND a Douglas N. FISH, 2007. Stability of phenylephrine hydrochloride injection in polypropylene syringes. *American Journal of Health-System Pharmacy* [online]. 64(10), 1092–1095. ISSN 1079-2082, 1535-2900. [cit. 2017-10-01]. Dostupné z: <http://www.ajhp.org/content/64/10/1092?sso-checked=true>
10. REZK, Mamdouh R., Ahmed S. FAYED, Hoda M. MARZOUK a Samah S. ABBAS. Chromatographic Determination of Cyclopentolate Hydrochloride and Phenylephrine Hydrochloride in the Presence of Their Potential Degradation Products. *Journal of AOAC International* [online]. 2017, **100**(2), 434-444 [cit. 2017-09-18]. DOI: 10.5740/jaoacint.16-0215. ISSN 1060-3271. Dostupné z: <http://www.ingentaconnect.com/content/10.5740/jaoacint.16-0215>
11. JANSEN, Josiah J., Alan R. OLDLAND a Tyree H. KISER. Evaluation of Phenylephrine Stability in Polyvinyl Chloride Bags. *Hospital Pharmacy* [online]. 2014, **49**(5), 455-457 [cit. 2017-10-08]. DOI: 10.1310/hpj4905-455. ISSN 0018-5787. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1310/hpj4905-455>
12. Famotidin. *DrugBank* [online]. [cit. 2017-11-09]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00927>
13. Famotidin., nedatováno. *Monographie - Famotidine - Stabilis 4.0* [online] [vid. 2017-11-19]. Dostupné z: <http://www.stabilis.org/Monographie.php?IdMolecule=39&PHPSESSID=7da132585099c15a871cd2b31f329812&codeLangue=SK-sk>

14. BULLOCK, L. S., J. F. FITZGERALD a H. I. MAZUR, 1989. Stability of intravenous famotidine stored in polyvinyl chloride syringes. *DICP: the annals of pharmacotherapy*. 23(7–8), 588–590. ISSN 1042-9611. [online]. [cit. 2017-10-08].
Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2763581>
15. QUERCIA, R. A., G. T. JAY, C. FAN a M. S. CHOW, 1993. Stability of famotidine in an extemporaneously prepared oral liquid. *American Journal of Hospital Pharmacy*. 50(4), 691–693. ISSN 0002-9289 [online]. [cit. 2017-10-08].
Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8470686>
16. BULLOCK, L., J. F. FITZGERALD, M. R. GLICK, R. B. PARKS, J. G. SCHNABEL a B. G. HANCOCK, 1989. Stability of famotidine 20 and 40 mg/L and amino acids in total parenteral nutrient solutions. *American Journal of Hospital Pharmacy*. 46(11), 2321–2325. ISSN 0002-9289 [online]. [cit. 2017-10-08]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2511752>
17. Propofol. *DrugBank* [online]. [cit. 2017-11-09]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00818>
18. Propofol., nedatováno. *Propofol, Diprivan | Anesteziologie a urgentní medicína* [online]. [vid. 2017-11-19]. Dostupné z: <http://ans.arim.cz/leky-a-jejich-pouziti/anestetika/propofol-diprivan/>
19. BHATT-MEHTA, V., R. E. PAGLIA a D. A. ROSEN, 1995. Stability of propofol with parenteral nutrient solutions during simulated Y-site injection. *American journal of health-system pharmacy: AJHP: official journal of the American Society of Health-System Pharmacists*. 52(2), 192–196. ISSN 1079-2082 [online]. [cit. 2017-11-08]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12879548>
20. ZHANG, H, P WANG, M.G BARTLETT a J.T STEWART. HPLC determination of cisatracurium besylate and propofol mixtures with LC-MS identification of degradation products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 1998, **16**(7), 1241-1249 [cit. 2017-10-18]. DOI: 10.1016/S0731-7085(97)00262-8. ISSN 07317085. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0731708597002628>
21. LEVADOUX, E. Medical plastics: compatibility of alfentanil and propofol alone or mixed stability of the alfentanil-propofol mixture. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 1996, **127**(2), 255-259 [cit. 2017-10-18]. DOI: 10.1016/0378-5173(95)04241-5. ISBN 10.1016/0378-5173(95)04241-5. ISSN 03785173. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0378517395042415>
22. Oxytocin. *Hormone Health* [online]. [cit. 2017-10-09]. Dostupné z: <https://www.hormone.org/hormones-and-health/hormones/oxytocin>
23. Oxytocin., nedatováno. *Oxytocin* [online] [vid. 2017-11-19]. Dostupné z: <http://www.dugi.xf.cz/Chemie/Oxytocin.htm>

24. AVANTI, Christina, Nur Alia OKTAVIANI, Wouter L.J. HINRICHS, Henderik W. FRIJLINK a Frans A.A. MULDER. Aspartate buffer and divalent metal ions affect oxytocin in aqueous solution and protect it from degradation. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2013, **444**(1-2), 139-145 [cit. 2017-10-18]. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.01.051. ISSN 03785173. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517313001026>
25. GARD, John W., James M. ALEXANDER, Roger E. BAWDON a Jon T. ALBRECHT. Oxytocin preparation stability in several common obstetric intravenous solutions. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. 2002, **186**(3), 496-498 [cit. 2017-10-08]. DOI: 10.1067/mob.2002.121104. ISSN 00029378. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002937802690180>
26. KAUSHAL, Gagan. *Stability-indicating HPLC method for the determination of the stability of oxytocin parenteral solutions prepared in polyolefin bags* [online]. 2012, , - [cit. 2017-10-08]. DOI: 10.5582/ddt.2012.v6.1.49. ISSN 18817831. Dostupné z: <http://www.ddtjournal.com/getabstract.php?id=509>
27. Americký lekopis., nedatováno. | *USP* [online] [vid. 2017-10-21]. Dostupné z: <http://www.usp.org/>
28. ATRISSEL, Lawrence A., Yanping ZHANG, Kate DOUGLAS a Eric KASTANGO, 2006. Extended stability of oxytocin in common infusion solutions. *International Journal of Pharmaceutical Compounding*. 10(2), 156–158. ISSN 1092-4221 Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23974190>
29. Adrenalin. *Hormone Health* [online]. [cit. 2017-11-09]. Dostupné z: <https://www.hormone.org/hormones-and-health/hormones/adrenaline>
30. Adrenalin., nedatováno. Szerkezeti kémiai képletek modell adrenalin epinefrin. *123RF Stock Photos* [online] [vid. 2017-11-19]. Dostupné z: /photo_29001478_szerkezeti-kémiai-képletek-modell-adrenalin-epinefrin.html
31. DAWSON, P.J., A.R. BJORKSTEN, I.P. DUNCAN, R.K. BARNES a G.H. BEEMER. STABILITY OF FENTANYL, BUPIVACAINE AND ADRENALINE SOLUTIONS FOR EXTRADURAL INFUSION. *British Journal of Anaesthesia* [online]. 1992, **68**(4), 414-417 [cit. 2017-10-08]. DOI: 10.1093/bja/68.4.414. ISSN 00070912. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0007091217466517>
32. KJONNIKSEN, I., J. BRUSTUGUN a G. NIEMI. Stability of an epidural analgesic solution containing adrenaline, bupivacaine and fentanyl. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* [online]. 2000, **44**(7), 864-867 [cit. 2017-09-08]. DOI: 10.1034/j.1399-6576.2000.440713.x. ISSN 0001-5172. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1034/j.1399-6576.2000.440713.x>
33. STEPENSKY, David, Michael CHORNY, Ziad DABOUR a Ilana SCHUMACHER. Long-term stability study of L-adrenaline injections: Kinetics of sulfonation and racemization pathways of drug degradation. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2004, **93**(4), 969-980 [cit. 2017-10-08]. DOI: 10.1002/jps.20010. ISSN

00223549. Dostupné z:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002235491631485X>
34. SHIBATA, Yuuka, Yasuhiro KIMURA, Takanori TAOGOSHI, Hiroaki MATSUO a Kenji KIHARA. *Stability of Adrenaline in Irrigating Solution for Intraocular Surgery* [online]. 2016, **39**(5), 879-882 [cit. 2017-10-10]. DOI: 10.1248/bpb.b15-00916. ISSN 0918-6158. Dostupné z:
https://www.istage.ist.go.jp/article/bpb/39/5/39_b15-00916/article
35. CARR, Roxane R., Diane DECARIE a Mary H. H. ENSOM, 2014. Stability of epinephrine at standard concentrations. *The Canadian Journal of Hospital Pharmacy*. 67(3), 197–202. ISSN 1920-2903. [online]. [cit. 2017-10-08]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4071081/>
36. WEEKS, Phillip A., Yang TENG, Lei WU, Mary SUN, Zhen YANG a Diana S.-L. CHOW, 2014. Chemical and physical compatibility of an intravenous solution of epinephrine with calcium chloride. *International Journal of Pharmaceutical Compounding*. 18(2), 152–158. ISSN 1092-4221 [online]. [cit. 2017-10-08]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24881119>
37. Noradrenalin. WAGNER, Robert. *Kardioanestezie a perioperační péče v kardiochirurgii*. Praha: Grada Publishing, 2009, s. 109-110. ISBN 978-80-247-1920-7. [cit. 2017-10-08].
38. Noradrenalin., nedatováno. *Norepinefrin (Noradrenalin) Nedir? – Bilim Treni* [online] [vid. 2017-11-19]. Dostupné z: <https://www.bilimtreni.com/norepinefrin-noradrenalin-nedir/>
39. TREMBLAY, Maryse, Martin R. LESSARD, Claude A. TRÉPANIÉ, Pierre C. NICOLE, Linda NADEAU a Gilles TURCOTTE. Stability of norepinephrine infusions prepared in dextrose and normal saline solutions. *Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie* [online]. 2008, **55**(3), 163-167 [cit. 2017-10-18]. DOI: 10.1007/BF03016090. ISSN 0832-610x. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF03016090>
40. WALKER, Scott E, Shirley LAW, Jill GARLAND, Esther FUNG a John IAZZETTA, 2010. Stability of Norepinephrine Solutions in Normal Saline and 5% Dextrose in Water. *The Canadian Journal of Hospital Pharmacy*. 63(2), 113–118. ISSN 0008-4123 [online]. [cit. 2017-08-08]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2858500/>
41. Ropivakain. *DrugBank* [online]. [cit. 2017-11-09]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00296>
42. Ropivakain., nedatováno. *Substans - FASS Allmänhet* [online] [vid. 2017-11-19]. Dostupné z: <http://www.fass.se/LIF/substance?substancelid=IDE4POFIUB0QMVERT1>
43. ÁGUILA, Sánchez del, M. J, M. F. JONES a A. VOHRA, 2003. Premixed solutions of diamorphine in ropivacaine for epidural anaesthesia: a study on their long-term stability. *BJA: British Journal of Anaesthesia* [online]. 90(2), 179–182.

- ISSN 0007-0912 [online]. [cit. 2017-09-08]. Dostupné z: <https://academic.oup.com/bja/article/90/2/179/247029>
44. Heparin. *DrugBank* [online]. [cit. 2017-11-09]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01109>
45. Heparin., nedatováno. *Heparin Sodium Injection, USP* [online] [vid. 2017-11-19]. Dostupné z: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/archives/fdaDrugInfo.cfm?archiveid=43585>
46. JANDIK, Kenneth A., Dale KRUEP, Michelle CARTIER a Robert J. LINHARDT. Accelerated Stability Studies of Heparin. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 1996, **85**(1), 45-51 [cit. 2017-09-08]. DOI: 10.1021/js9502736. ISSN 00223549. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022354915499769>
47. JACOBS, J., Dina KLETTER, E. SUPERSTINE, K. R. HILL, B. LYNN a R. A. WEBB, 1973. Intravenous infusions of heparin and penicillins. *Journal of Clinical Pathology*. 26(10), 742–746. ISSN 0021-9746 [online]. [cit. 2017-11-08]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4750455>
48. ORTEGA, R., A. SALMERON-GARCIA, J. CABEZA, L. F. CAPITAN-VALLVEY a N. NAVAS. Stability of daptomycin 5 mg/mL and heparin sodium 100 units/mL combined in lactated Ringer's injection and stored in polypropylene syringes at 4 and -20 C. *American Journal of Health-System Pharmacy* [online]. 2014, **71**(11), 956-959 [cit. 2017-10-08]. DOI: 10.2146/ajhp130481. ISSN 1079-2082. Dostupné z: <http://www.ajhp.org/cgi/doi/10.2146/ajhp130481>
49. Vasopresin. WAGNER, Robert. *Kardioanestezie a perioperační péče v kardiochirurgii*. Praha: Grada Publishing, 2009, s. 110. ISBN 978-80-247-1920-7
50. Vasopressin, Supplement, 2017. Vasopressin – Antidiuretic Hormone Controller For Brain Dehydration? *Supplement Police* [online]. [vid. 2017-11-19]. Dostupné z: <https://supplementpolice.com/vasopressin/>
51. BI, Mingda a Jagdish SINGH, 2000. Effect of buffer pH, buffer concentration and skin with or without enzyme inhibitors on the stability of [Arg8]-vasopressin. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 197(1), 87–93. ISSN 0378-5173. [online]. [cit. 2018-01-08]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10704796>