

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Marko Šuvak

**TVARI KOJE SE EKSTRAHIRAJU I OTPUŠTAJU IZ
FARMACEUTSKIH SPREMNIKA**

Specijalistički rad

Zagreb, 2017.

Poslijediplomski specijalistički studij: Razvoj lijekova

Mentor rada: dr. sc. Ivica Malnar, znanstv. sur.

Specijalistički rad obranjen je dana 7. travnja 2017. godine na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu,

Domagojeva 2, pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc. Anita Hafner, Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet

2. dr. sc. Ivica Malnar, znanstv. sur., Agencija za lijekove i medicinske proizvode RH

3. doc. dr. sc. Ivan Pepić, Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Rad ima 40 listova.

Ovaj rad je izrađen u Agenciji za lijekove i medicinske proizvode RH u Zagrebu pod vodstvom mentora dr. sc. Ivica Malnar, znanstv. sur.

Sažetak

Cilj ovoga rada bio je prikupiti saznanja o tvarima koje se ekstrahiraju i otpuštaju iz materijala od kojih su izrađeni farmaceutski spremnici, metodama ispitivanja ovih tvari te razmotriti pristupe proizvođača lijekova u procjeni rizika, uz osvrt na regulatorne zahtjeve, uključujući postojeće smjernice i preporuke.

Za izradu specijalističkog rada provedeno je pretraživanje bibliografske baze podataka (*Science Direct*) prema zadanim ključnim riječima. Na temelju proučenih literaturnih podataka izvedena su vlastita razmatranja koja su sastavni dio rasprave ovog specijalističkog rada. Također su pregledane odgovarajuće smjernice i preporuke vezane uz farmaceutske spremnike.

Farmaceutski spremnici izrađeni od plastike i gume najznačajniji su izvor tvari koje se otpuštaju u lijek. Proizvođač je obavezan tijekom farmaceutskog razvoja svakog lijeka provesti procjenu rizika kako bi osigurao da je lijek opremljen u odgovarajući spremnik koji neće otpuštati tvari i posljedično imati utjecaj na kakvoću, sigurnost i djelotvornost lijeka. Procjena rizika ponajviše ovisi o farmaceutskom obliku i putu primjene lijeka. Raspoložive smjernice i preporuke pružaju osnovne upute o ispitivanjima koje je potrebno provesti. Dobivene rezultate potrebno je priložiti u dokumentaciju o lijeku koju proizvođač lijeka/podnositelj zahtjeva predaje regulatornom tijelu na ocjenu.

Farmaceutski pripravci i njihovi sastojci mogu stupiti u doticaj s komponentama i materijalima proizvodne opreme, kao i s komponentama primarnih i sekundarnih spremnika tijekom proizvodnje, opremanja, skladištenja, distribucije i primjene lijeka. Takav doticaj može dovesti do interakcije između farmaceutskog pripravka i navedenih komponenti i materijala. Jedna od takvih interakcija je migracija ili otpuštanje tvari iz bilo kojih od ovih komponenti i materijala u farmaceutski oblik nakon čega posljedično te tvari dolaze do pacijenta tijekom primjene lijeka. Kako bi se ocijenili sigurnosni rizici i moguće inkompatibilnosti, potrebno je identificirati ove tvari i njihove količine koje se mogu akumulirati u lijeku do kraja roka valjanosti. Proizvođač lijeka mora učiniti sve da koncentracija štetnih otpuštenih tvari ne poraste do razine koja će ugroziti zdravlje i život pacijenta, a ispitivanja treba započeti u ranoj fazi farmaceutskog razvoja lijeka.

Summary

The aim of this research was to gather information on substances that can be extracted and leached from the material the pharmaceutical containers are made of, methods for control of these substances and to examine the approach to the risk assessment that drug manufacturers have to make, with an overview of the regulatory requirements, including existing guidelines and recommendations.

The bibliographic databases (*Science Direct*) have been searched by default keywords. On the basis of the examined literature and its analysis the discussion has been written forming the integral part of this research. The relevant guidelines and recommendations related to pharmaceutical containers have also been reviewed.

Pharmaceutical containers made of plastic and elastomers are the most significant source of substances that are leached into drug products. During the pharmaceutical development the drug manufacturer is obliged to carry out a risk assessment to ensure that the drug is packaged in a suitable container that will not leach substances and consequently have an impact on the quality, safety and efficacy. Risk assessment largely depends on the pharmaceutical form and route of administration. Available guidelines and recommendations provide basic instructions on the tests to be carried out. The obtained results have to be included in the documentation of the drug which drug manufacturer / applicant submits to the regulatory body for assessment.

During the production, packaging, storage, distribution and use, pharmaceutical preparations and their ingredients can come into contact with components and materials of the manufacturing equipment as well as those of primary and secondary packaging. Such contact can result in interactions between the pharmaceutical preparation and the above mentioned materials. One such interaction is the migration or leaching of the substance of any of these components and materials into the formulation and consequently come to the patient during the administration of the drug product. In order to assess security risks and potential incompatibilities, it is necessary to identify these substances and their quantities that can accumulate in the drug product by the end of the shelf life. The drug product manufacturer has to do everything to accomplish that the concentration of harmful leached substances does not rise to a level that would endanger the health and life of the patient.

Sadržaj

1. Uvod i pregled područja istraživanja	1
2. Cilj istraživanja	5
3. Materijali i metode – Sustavni pregled saznanja o temi	7
4. Rasprava	9
4.1 Tvari koje se otpuštaju iz farmaceutskih spremnika i procjena rizika interakcije s lijekom..	10
4.2 Regulatorne smjernice i preporuke	15
4.3 Plastični spremnici kao izvori otpuštenih tvari	18
4.4 Tvari koje se mogu otpuštati iz gume (elastomera)	26
4.5 Staklo kao izvor otpuštenih tvari	29
4.6 Metal kao izvor otpuštenih tvari	33
4.7 Otpuštanje tvari iz sekundarnih spremnika i drugih komponenti pakiranja lijeka	34
4.8 Tinta kao izvor otpuštenih tvari	34
4.9 Otpuštanje tvari iz kombiniranih medicinskih proizvoda	37
4.10 Otpuštanje tvari iz proizvodne opreme i međuspremnika	37
4.11 Pregled metoda za ispitivanje tvari koje se otpuštaju i ekstrahiraju iz spremnika	39
4.11.1 Odabir komponenti spremnika za ekstrakcijska ispitivanja	40
4.11.2 Kontrolirana ekstrakcija	42
4.11.3 Simulirana ekstrakcija	44
4.11.4 Identifikacija i kvantifikacija ekstrahiranih tvari	44
4.11.5 Sigurnosni pragovi	49
4.11.6 Ispitivanja tvari koje se otpuštaju iz spremnika	51
4.11.7 Toksikološka evaluacija	53
4.11.8 Korelacija između otpuštenih i ekstrahiranih tvari	54
4.11.9 Primjer identifikacije otpuštene tvari u otopini kapi za oko	56
4.12 Razmatranja o zahtjevu kakvoće i granicama za otpuštene tvari u lijeku	58
4.13 Sažeti pregled ispitivanja tijekom farmaceutskog razvoja lijeka u svrhu odabira odgovarajućeg farmaceutskog spremnika	59
5. Zaključak	63
6. Literatura	66
7. Popis kratica	70
8. Životopis	72

1. Uvod i pregled područja istraživanja

Materijali od kojih se izrađuju farmaceutski spremnici, odnosno spremnici i ostala proizvodna oprema koja dolazi u kontakt s lijekom mogu u određenim uvjetima otpuštati tvari koje su njihov sastavni dio ili koje su nastale degradacijom tih tvari. Ove otpuštene tvari mogu biti toksične, mogu ulaziti u interakcije sa sastavnicama lijeka, odnosno mogu utjecati na kakvoću, sigurnost i djelotvornost lijeka. Posljednjih godina regulatorna tijela i proizvođači lijekova su osvijestili važnost procjene rizika od kontaminacije lijeka tvarima koje se mogu otpustiti iz spremnika lijeka. Za određene lijekove, ovisno o njihovom farmaceutskom obliku i putu primjene lijeka utvrđeni su različiti rizici koji proizlaze iz potencijalno otpuštenih tvari iz materijala spremnika. S obzirom da otpuštene tvari mogu imati utjecaj na kakvoću, sigurnost i djelotvornost lijeka, važno je da proizvođač tijekom razvoja lijeka provede procjenu rizika, odabere odgovarajući spremnik te provede odgovarajuća ispitivanja. Osim materijala primarnih spremnika kao izvora otpuštenih tvari, proizvođač treba uzeti u obzir i moguću kontaminaciju lijeka tijekom proizvodnje lijeka, uključujući otpuštanje tvari iz materijala od kojih je izrađena proizvodna oprema.

Materijali koji se koriste u proizvodnji spremnika nisu čiste tvari, već su složeni sustavi tvari. Oni nisu otporni na sve utjecaje iz okoline te nema apsolutno inertnih materijala te mogu uslijed interakcija otpuštati tvari. Prema literaturnim podacima interakcije koje se odnose na staklo i nehrđajuće čelike u dobroj se mjeri zanemaruju te se u regulativi veći naglasak daje na spremnike, odnosno proizvodnu opremu izrađenu od plastike, gume i višeslojnih materijala. Kod razmatranja migracija važno je razumjeti osnovnu razliku između ekstrahiranih tvari (engl. *extractables*) i otpuštenih tvari (engl. *leachables*). Ova tema pobuđuje sve veće zanimanje posljednjih godina, što je dovelo do dogovora i usuglašavanja u pogledu definiranja pojmova, što su "*extractables*", a što "*leachables*". "*Extractables*" su kemijske tvari koje se ekstrahiraju iz spremnika djelovanjem otapala (organskih ili anorganskih) i temperature kroz određeno vrijeme. "*Leachables*" su kemijske tvari koje se otpuštaju (migriraju/izlaze) iz materijala koji je u doticaju s formulacijom lijeka. One su rezultat djelovanja lijeka na opremu (tijekom postupka proizvodnje) ili spremnik (tijekom skladištenja i primjene lijeka unutar definiranog roka valjanosti) i obrnuto.

Probleme vezane uz otpuštene tvari davno su uočili stručnjaci farmaceutske i prehrambene industrije. Otpuštene tvari mogu utjecati na kakvoću lijekova i prehrambenih proizvoda te na njihovu uporabnu vrijednost. Da bi se razumjeli procesi otpuštanja tvari i kontaminacije lijekova bilo je potrebno proučiti mehanizme djelovanja (interakcije) na mjestu doticaja spremnika i proizvoda te spremnika i okoline. Na osnovi uočenih procesa i djelovanja trebalo je razviti tehnike praćenja i procjene učinaka. Za razumijevanje ekstrahiranih tvari potrebno je utvrditi njihovo porijeklo i koje su njihove mogućnosti djelovanja na lijek u slučaju kada postanu otpuštene tvari. Ovisno o porijeklu, ekstrahirane tvari se mogu podijeliti na primarne (tvari koje su sastavni dio formulacije materijala namijenjenog za proizvodnju spremnika), sekundarne (onečišćenja sirovina dodanih tijekom proizvodnog postupka ili ostaci iz prethodnih proizvodnih postupaka) i tercijarne (tvari nastale tijekom izrade spremnika). Unutar svake od navedenih grupa ovisno o aktivnosti ekstrahirane tvari nakon otpuštanja u lijek mogu se dalje podijeliti na pasivne (tvari koje se ne mijenjaju kroz mehanizam interakcije lijek/spremnik i obrnuto) i reaktivne (tvari koje se mijenjaju kroz mehanizam interakcije lijek/spremnik i obrnuto).

Ispitivanja ekstrahiranih tvari provode se iz više razloga, kao što su provjera sastava materijala od kojeg je spremnik proizveden, provjera prisutnosti ili odsutnosti toksičnih tvari (npr. nitrozamin, benzofenon, bisfenoli, monomeri vinilklorida), određivanje sadržaja ekstrahiranih tvari na osnovu čega će se u slučaju da otpuštene tvari koreliraju s ekstrahiranim provesti procjena sadržaja otpuštenih tvari u lijek. Da bi se utvrdile tvari koje mogu biti otpuštene u lijek, moraju se precizno isplanirati ispitivanja, odnosno određivanja ekstrahiranih tvari. Proučavanjem sastava materijala namijenjenih proizvodnji spremnika može se sastaviti veliki popis ekstrahiranih tvari (npr. monomeri, katalizatori, antioksidansi, retardanti, UV stabilizatori, bojila, otapala, punila itd.). Tijekom ispitivanja, uz sastav materijala, dodatno treba voditi računa i o izboru otapala (polarno i/ili nepolarno), tehnikama ekstrakcije (koja vrsta tvari će se ekstrahirati tijekom ispitivanja), mogućim dnevnim dozama kojima može biti izložen pacijent i sigurnosnoj granici otpuštene tvari, odabiru analitičkih metoda pomoću kojih će se moći provesti identifikacija i kvantifikacija ekstrahiranih tvari, kao i o uključivanju toksikologa u najranijoj fazi razvoja lijeka.

U Europskoj Uniji od regulatornih zahtjeva vezanih uz farmaceutske spremnike potrebno je istaknuti one koje propisuje Europska farmakopeja, a odnose na spremnike izrađene od plastičnih materijala, gume i stakla, Uredba Europske Komisije br. 10/2011 o plastičnim materijalima i proizvodima koji dolaze u doticaj s hranom, kao i smjernica Europske agencije za lijekove koja se odnosi na plastične materijale primarnog pakiranja (CPMP/QWP/4359/03). Posebno je važan rad konzorcija PQRI (engl. *Product Quality Research Institute*) koji je objavio preporuke za ispitivanje otpuštenih i ekstrahiranih tvari, pod nazivom „*Safety Thresholds and Best Practices for Extractables and Leachables in Orally Inhaled and Nasal Drug Products*“, a odnose se na lijekove koji se inhaliraju oralnim putem i lijekove s primjenom u nos. Radi dobivanja šire slike o praktičnom i racionalnom pristupu ispitivanja ovih tvari te potrebnoj procjeni rizika također je potrebno uzeti u obzir konkretna istraživanja iz prakse koja su proizvođači lijekova proveli u svrhu ispitivanja tvari koje se otpuštaju iz materijala od kojih su izrađeni spremnici.

2. Cilj istraživanja

U svrhu zaštite pacijenata, odgovornost je na proizvođaču lijeka i regulatornim tijelima da osiguraju visoku kakvoću, sigurnost i djelotvornost lijekova. Cilj ovog istraživanja bio je prikupiti saznanja o tvarima koje se ekstrahiraju i otpuštaju iz materijala od kojih se izrađuju farmaceutski spremnici, metodama ispitivanja ovih tvari te razmotriti pristupe proizvođača lijekova u procjeni rizika, uz osvrt na regulatorne zahtjeve, uključujući postojeće smjernice i preporuke.

Ova problematika pobuđuje sve veće zanimanje posljednjih godina. Interes su dodatno potaknule rasprave između regulatornih tijela i farmaceutske industrije. Tijekom postupka davanja odobrenja, kao i prilikom odobravanja izmjena u dokumentaciji o lijeku regulatorna tijela često traže dodatne informacije iz razloga što otpuštene tvari mogu biti toksične, mogu ulaziti u interakcije sa sastavnicama lijeka, odnosno mogu utjecati na kakvoću, sigurnost i djelotvornost lijeka.

3. Materijali i metode – Sustavni pregled saznanja o temi

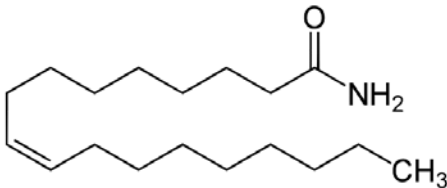
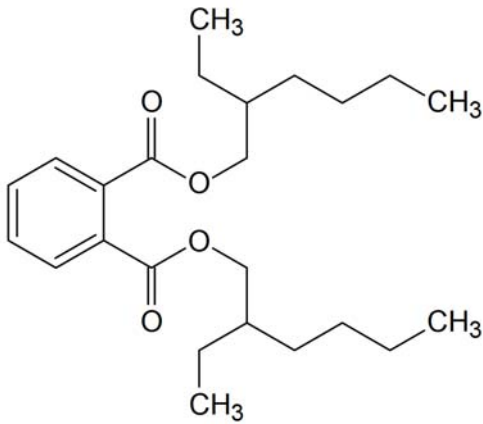
Za izradu specijalističkog rada provedeno je pretraživanje bibliografske baza podataka (*Science Direct*) prema ključnim riječima *leachables*, *extractables*, *extraction studies*, *interaction studies*, *migration studies*, *sorption studies*. Odabrane su publikacije relevantne za problematiku ovoga rada, uz izdvojene najvažnije rezultate, raspravu i zaključke. Na temelju proučenih literaturnih podataka izvedena su vlastita razmatranja proučavane problematike koja su sastavni dio rasprave ovog specijalističkog rada. Također su pregledane odgovarajuće smjernice i preporuke vezane uz farmaceutske spremnike koje je potrebno uzeti u obzir tijekom razvoja lijeka kako bi se osigurala odgovarajuća kakvoća i sigurnost lijeka u odabranom spremniku. Ovaj rad sadrži kritički osvrt na sakupljene materijale i saznanja stavljajući težište na procjenu rizika kontaminacije lijeka tvarima koje se otpuštaju iz farmaceutskih spremnika, ovisno o karakteristikama lijeka i materijala korištenih za izradu farmaceutskih spremnika.

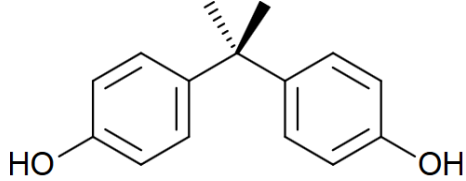
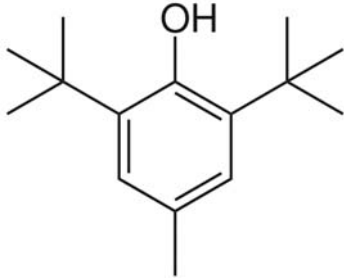
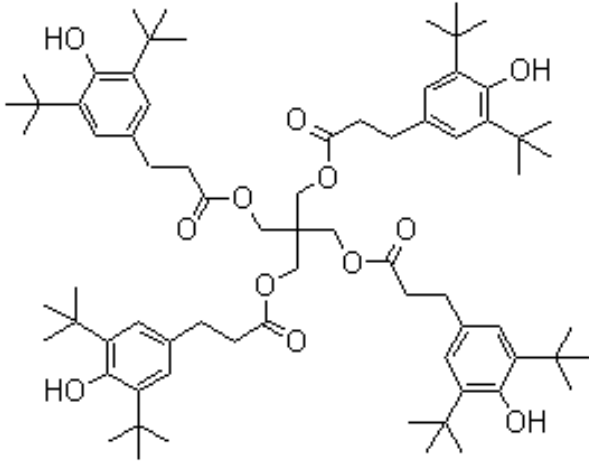
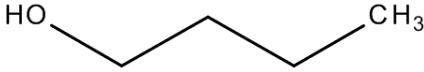
4. Rasprava

4.1 Tvari koje se otpuštaju iz farmaceutskih spremnika i procjena rizika interakcije s lijekom

Tvari koje se otpuštaju iz farmaceutskih spremnika (engl. *leachables*) su tvari koje migriraju u lijek iz spremnika pri normalnim uvjetima čuvanja. Izvor otpuštenih tvari može biti primarni spremnik koji je u izravnom kontaktu s lijekom (npr. inhalator, napunjena štrcaljka, umetak za kapanje, vreća za opremanje lijeka za intravensku primjenu, bočica, ampula itd.) i sekundarni spremnik koji nije u izravnom kontaktu s lijekom (npr. naljepnica, kartonska kutija, zaštitni omot, vanjski utjecaji itd.). Tvari otpuštene iz spremnika predstavljaju potencijalni sigurnosni rizik za pacijenta zbog toksičnosti i zbog mogućeg negativnog utjecaja na stabilnost i djelotvornost lijeka. U tablici 1 prikazani su primjeri učestalih tvari koje se otpuštaju iz spremnika. ^[1]

Tablica 1. Primjeri učestalih tvari koje se otpuštaju iz spremnika

Vrsta	Primjer	Kemijska struktura
Lubrikanti	oleamid	 <chem>CCCCC/C=C\CCCCCCCC(=O)N</chem>
Plastifikatori	di (2-etilheksil)ftalat	 <chem>CCCCC(CC)COC(=O)c1ccc(cc1)C(=O)OCC(C)CC</chem>

Vrsta	Primjer	Kemijska struktura
Monomeri	bisfenol A	
„Mali“ antioksidansi	butilhidroksitoluen	
„Veliki“ antioksidansi	Irganox 1010	
Organska onečišćenja (alkani, alkoholi i aldehidi)	1-butanol	

Farmaceutski spremnik, bez obzira radi li se o boci, vreći, kartonskoj kutiji, tubi ili omotu, u funkciji je zaštite ili čuvanja lijeka od vanjskih utjecaja, oštećenja, odnosno održavanja upotrebne vrijednosti lijeka. Razmatrajući tehnološke procese proizvodnje spremnika može se uočiti da se za proizvodnju koriste različite sirovine: staklo, metal, plastika, guma, papir itd. Analizom starenja (korozije) materijala namijenjenih proizvodnji spremnika može se zaključiti da nisu otporni na sve

utjecaje iz okoline te da nema apsolutno inertnih materijala. Svaki materijal od kojeg se proizvode spremnici ili dio opreme koji dolazi u doticaj s lijekom može pri određenim uvjetima otpuštati tvari koje su njihov sastavni dio ili su nastale degradacijom tih istih tvari. Čak i prividno inertan materijal, kao što je staklo Tip I, može reagirati s lijekom, npr. adsorpcija steroida, otpuštanje aluminija i uzrokovanje reakcije s albuminom, a također i metali (nehrđajući čelici) mogu biti podložni kemijskom djelovanju kiselih i lužnatih proizvoda te mogu otpustiti u proizvod određene katione i anione koji čine sastavni dio materijala. [2]

Proizvođači primarnih spremnika ne mogu uvijek pružiti potpuni popis tvari koje koriste u proizvodnji spremnika, zbog toga što smatraju da se radi o intelektualnom vlasništvu ili ne raspolažu cjelovitim podacima. Nedostatak podataka o sastavu čest je slučaj kod polimernih materijala. Glavni razlog što proizvođači primarnih spremnika ne raspolažu ovim podacima je da njihovi dobavljači materijala ne provode strogu kontrolu postupka proizvodnje. Na primjer, proizvođač smole može propisati zahtjev kakvoće smole koji se zasniva samo na fizičkim svojstvima, a smolu će isporučivati proizvođaču farmaceutskih spremnika, kao i proizvođaču namještaja. U ovom slučaju proizvođač smole ne vodi točnu evidenciju o količini i vrsti korištenih antioksidansa te je dovoljno da smola odgovara zahtjevu kakvoće proizvođača, no ovi antioksidansi, kao i drugi aditivi, mogu se otpuštati u lijek.

Tvari koje se otpuštaju iz spremnika mogu doći u interakciju s bilo kojim lijekom, uključujući čvrste farmaceutske oblike. Općenito, pripravci za inhalaciju, pripravci za nos, parenteralni pripravci i pripravci za oko su lijekovi s najvećim rizikom vezanim uz otpuštanje tvari iz spremnika. U tablici 2. su prikazani rizici vezani uz otpuštanje tvari iz spremnika za najčešće vrste lijekova. Niski rizik ne znači da nema rizika, čemu svjedoče slučajevi povlačenja čvrstih farmaceutskih oblika lijekova zbog tvari otpuštenih iz spremnika. Na primjer, doze inhalacijskog praška koje se nalaze u kapsuli ili blisteru za upotrebu u prašcima inhalata mogu biti kontaminirani hlapljivim tvarima otpuštenim iz kapsule ili materijala blistera. Čvrsti oralni farmaceutski oblici mogu biti kontaminirani organskim tvarima koji se nalaze u ljepilu naljepnice pričvršćene na plastičnu bocu s lijekom. Inhalacijske otopine opremljene u polietilenske spremnike mogu biti kontaminirane hlapljivim tvarima iz

komponentata terciarnog spremnika (drvene palete za transport). U posljednja dva slučaja, kemijske tvari mogu migrirati kroz plastične spremnike i isparavati u zrak te zatim kontaminirati lijek. Prilikom razmatranja strategije ispitivanja tvari koje se otpuštaju iz spremnika, proizvođač lijeka treba provesti procjenu rizika vezano uz otpuštanje tvari iz spremnika.

Tablica 2. Vjerojatnost interakcije različitih farmaceutskih oblika s primarnim spremnikom

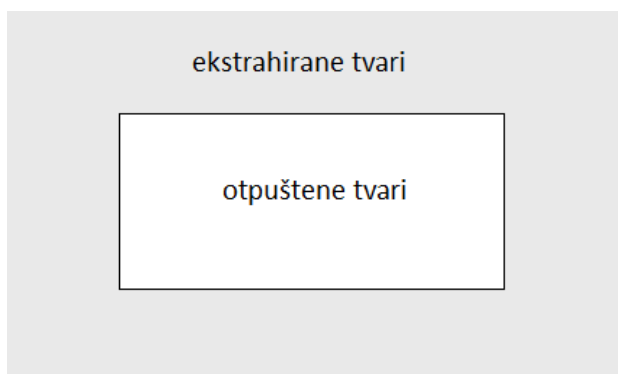
Stupanj utjecaja povezan s putem primjene lijeka	Vjerojatnost interakcije lijeka s primarnim spremnikom		
	Visoki	Srednje visoki	Niski
Najviši	-aerosoli i otopine za inhalaciju -otopine i suspenzije za parenteralnu primjenu	-sterilni prašci i prašci za injekciju -prašci inhalata	
Visok	-tekući pripravci za oko (otopine i suspenzije) -masti i transdermalni flasteri -aerosoli za nos i sprejevi za nos		
Nizak	-otopine i suspenzije za topičku primjenu -aerosoli za topičku i sublingualnu primjenu -oralne otopine i suspenzije	-prašci za topičku primjenu -prašci za oralnu primjenu	-tablete i kapsule za oralnu primjenu

Toksičnost tvari koje se otpuštaju iz spremnika ovisi o putu primjene lijeka. Na primjer, neka količina tvari koja se može unositi oralnim putem bez toksičnih učinaka može imati toksični učinak ako se ista količina inhalira. Slijedom navedenog, prilikom ocjene rizika vezanog uz otpuštanje tvari iz spremnika potrebno je uzeti u obzir put primjene lijeka.

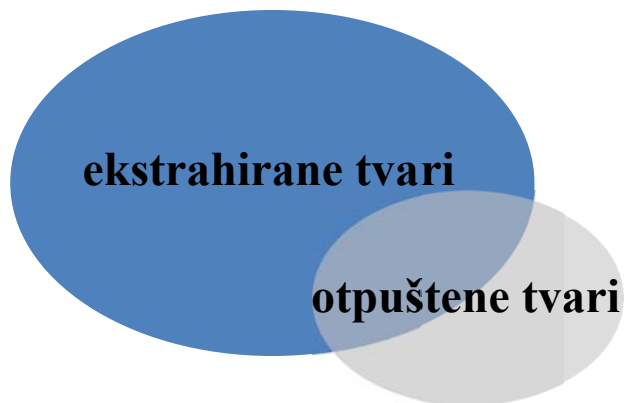
Tvari koje se otpuštaju iz spremnika predstavljaju jedinstveni izazov u analitici. S obzirom da ove tvari nisu kemijskom strukturom slične djelatnoj tvari, vjerojatno je da analitičke metode koje se koriste za određivanje onečišćenja u lijeku neće detektirati tvari otpuštene iz spremnika. Osim toga,

otpuštene tvari su prisutne u puno manjim količinama od srodnih tvari i razgrađnih produkata lijeka. Čak i ako se analitičkom metodom za ispitivanje onečišćenja u lijeku mogu detektirati otpuštene tvari iz spremnika, zbog razine osjetljivosti propisane metode nije moguće ispitivati ovako niske količine tvari. Stoga za analizu tvari otpuštenih iz spremnika proizvođač treba razviti zasebnu analitičku metodu.

Kao preduvjet razvoja analitičke metode moguće tvari koje se otpuštaju iz spremnika se trebaju prethodno identificirati. Identifikacija potencijalnih tvari koje se otpuštaju provodi se ekstrakcijskim ispitivanjima na primarnom spremniku lijeka u stresnim uvjetima, s ciljem identificiranja uočenih ekstrahiranih tvari. Ekstrahirane tvari su tvari koje mogu također biti tvari koje se otpuštaju iz spremnika pri normalnim uvjetima čuvanja lijeka. Slika 1 prikazuje povezanost između tvari koje se otpuštaju i ekstrahiraju iz spremnika, u idealnom sustavu, pri čemu su otpuštene tvari podskup ekstrahiranih tvari, no to nije uvijek tako, što najbolje prikazuje slika 2.



Slika 1. U idealnom sustavu otpuštene tvari su podskup ekstrahiranih tvari



Slika 2. Stvarni odnos ekstrahiranih i otpuštenih tvari

Uvjeti ekstrakcijskih ispitivanja se odabiru uzimajući u obzir svojstva lijeka/formulacije te su ova ispitivanja osmišljena tako da oponašaju „najgori slučaj“ za lijek koji se ispituje. Također je potrebno paziti na odabir uvjeta ispitivanja kako bi oni bili dovoljno agresivni da se ekstrakcijom obuhvate i sve moguće tvari koje se otpuštaju, dok s druge strane ne smiju biti previše agresivni kako se ekstrakcijom ne bi dobio nepraktično velik broj ekstrahiranih tvari koje se u normalnim uvjetima ne otpuštaju iz spremnika. Ekstrakcijska ispitivanja ne bi trebala dovesti do potpunog raspada materijala spremnika.^[1]

4.2 Regulatorne smjernice i preporuke

Regulatorne smjernice koje se odnose na materijale koji su u doticaju s hranom također se primjenjuju na lijekove. Prema članku 3. Uredbe Europskoga parlamenta i Vijeća br.1935/2004 o materijalima i predmetima koji dolaze u doticaj s hranom^[3] propisano je da se oni moraju proizvoditi u skladu s dobrom proizvođačkom praksom, tako da u normalnim i predvidivim uvjetima upotrebe sastojci spremnika ne prelaze u hranu (proizvod) u količinama koje bi mogle ugroziti zdravlje ljudi ili prouzročiti neprihvatljive promjene u sastojcima hrane (proizvoda) ili prouzročiti narušavanje senzorskih svojstava. Za proizvodnju spremnika koji se koriste za opremanje lijekova i medicinskih proizvoda uz navedenu uredbu primjenjuje se i ISO norma 15378 Kontaktna ambalaža za lijekove - Posebni zahtjevi za primjenu ISO norme 9001:2000, vezano uz dobru proizvođačku praksu.^[4]

Od regulatornih zahtjeva u Europskoj Uniji, uz Direktivu 2001/83/EC Europskog parlamenta i Vijeća od 6. studenoga 2001. o lijekovima za humanu primjenu^[5], za farmaceutske spremnike obvezujuće su monografije Europske farmakopeje^[6] koje se odnose na spremnike izrađene od plastičnih materijala, gume i stakla (vidjeti tablicu 3). Ove monografije obuhvaćaju opise materijala, njihove osobine, metode identifikacije, metode ispitivanja i zahtjeve kakvoće kojima trebaju udovoljavati te upute za označivanje spremnika.

Tablica 3. Monografije Europske farmakopeje koje se odnose na materijale za proizvodnju spremnika i spremnike

Broj mono-grafije	Naziv monografije	Broj mono-grafije	Naziv monografije
3.1	Materijali za proizvodnju spremnika	3.2	Spremnici
3.1.1	Materijali za spremnike ljudske krvi i krvnih sastojaka	3.2.1	Stakleni spremnici za farmaceutsku uporabu
3.1.1.1	Materijali temeljeni na plastificiranom poli(vinilkloridu), za spremnike ljudske krvi i krvnih sastojaka	3.2.2	Plastični spremnici i čepovi za farmaceutsku uporabu
3.1.1.2	Materijali temeljeni na plastificiranom poli(vinilkloridu), za cijevi u setu za transfuziju krvi i krvnih sastojaka	3.2.2.1	Plastični spremnici za vodene otopine za infuziju
3.1.3	Poli(olefini)	3.2.3	Sterilni plastični spremnici za ljudsku krv i krvne sastojke
3.1.4	Poli(etilen) bez aditiva, za spremnike za parenteralne i oftalmološke pripravke	3.2.4	Prazni sterilni spremnici od plastificiranog poli(vinilklorida) za ljudsku krv i krvne sastojke
3.1.5	Poli(etilen) s aditivima, za spremnike za parenteralne i oftalmološke pripravke	3.2.5	Sterilni spremnici od plastificiranog poli(vinilklorida) za ljudsku krv s otopinom protiv zgrušavanja
3.1.6	Poli(propilen) za spremnike i čepove za parenteralne i oftalmološke pripravke	3.2.6	Setovi za transfuziju krvi i krvnih sastojaka
3.1.7	Poli(etilen, vinilacetat) za spremnike i cijevi za pripravke za potpunu parenteralnu prehranu	3.2.8	Sterilne plastične štrcaljke za jednokratnu uporabu
3.1.8	Silikonsko ulje za uporabu kao mazivo	3.2.9	Gumeni čepovi za spremnike za vodene parenteralne pripravke, praške i liofilizate
3.1.9	Silikonski elastomer za čepove i cijevi		
3.1.10	Materijali temeljeni na neplastificiranom poli(vinilkloridu), za spremnike neinjekcijskih vodenih otopina		
3.1.11	Materijali temeljeni na neplastificiranom poli(vinilkloridu), za spremnike čvrstih oblika za oralnu primjenu		
3.1.13	Aditivi za plastične materijale		
3.1.14	Materijali temeljeni na plastificiranom poli(vinilkloridu), za spremnike vodenih otopina za intravensku infuziju		
3.1.15	Poli(etilen, tereftalat) za spremnike pripravaka koji nisu za parenteralnu primjenu		

Uredba Europske komisije br. 1935/2004 o materijalima i proizvodima koji dolaze u doticaj s hranom (od 27. listopada 2004.) ima svrhu osigurati učinkovito funkcioniranje unutarnjeg tržišta u pogledu stavljanja na tržište materijala i predmeta koji, izravno ili neizravno, dolaze u dodir s hranom te postaviti temelj za osiguranje visoke razine zaštite zdravlja ljudi i interesa potrošača. Primjenjuje se

na materijale i predmete koji su u obliku gotovog proizvoda namijenjeni da dolaze u dodir s hranom, koji su već u dodiru s hranom ili za koje se može razumno očekivati da će pod uobičajenim uvjetima upotrebe doći u dodir s hranom.^[3]

Uredba Europske Komisije br. 10/2011 od 14. siječnja 2011. o plastičnim materijalima i predmetima koji dolaze u doticaj s hranom ^[7] (s izmjenama i dopunama 321/2011, 1282/2011, 1183/2012, 202/2014, 865/2014, 2015/174 i 2016/1416) ^[8] obuhvaća posebne zahtjeve za proizvodnju i stavljanje na tržište plastičnih materijala i predmeta namijenjenih da dolaze u doticaj s hranom te sadrži opće zahtjeve, ograničenja i specifikacije, uključujući granicu specifične i globalne migracije za navedene materijale.

Smjernica Europske agencije za lijekove koja se odnosi na plastične materijale primarnog pakiranja (CPMP/QWP/4359/03 *Guideline on plastic immediate packaging materials*) ^[9] obuhvaća upute proizvođačima djelatnih tvari i lijekova o potrebnim ispitivanjima plastičnih materijala i dokumentaciji koju je potrebno priložiti za davanje odobrenja lijekova koji su u doticaju s plastičnim materijalima ili su opremljeni u plastične spremnike. Ova je smjernica, kao i Uredba 10/2011, detaljnije obrađena u poglavlju 4.3 *Plastični spremnici kao izvori otpuštenih tvari*.

ICH smjernica *Impurities In New Drug Products Q3B(R2)*, odnosno smjernica *Note for guidance on impurities in new drug products* ^[10] Europske agencije za lijekove koja se koristi za ocjenu onečišćenja u lijekovima ne obuhvaća tvari koje se otpuštaju i ekstrahiraju iz farmaceutskih spremnika. S obzirom na nedostatak smjernica za procjenu otpuštenih tvari, konzorcij PQRI (*Product Quality Research Institute*) je objavio preporuke za ispitivanje otpuštenih i ekstrahiranih tvari, pod nazivom „*Safety Thresholds and Best Practices for Extractables and Leachables in Orally Inhaled and Nasal Drug Products*“ (objavljene u rujnu 2006.), a koje se odnose samo na lijekove koji se inhaliraju oralnim putem i lijekove s primjenom u nos.^[11] Navedeni konzorcij od 2009. godine radi na izradi preporuka koje će se odnositi na parenteralne pripravke i pripravke za oko (*The Product Quality Research Institute Leachables and Extractables Working Group Initiatives for Parenteral and Ophthalmic Drug Products*).^[12]

U SAD-u su 1. kolovoza 2015. postala važeća dva nova opća poglavlja USP o tvarima koje se ekstrahiraju i otpuštaju (prvi put objavljena u izdanju USP38-NF33): <1663> *Assessment of Extractables Associated with Pharmaceutical Packaging/Delivery Systems*^[13] i <1664> *Assessment of Drug Product Leachables Associated with Pharmaceutical Packaging/Delivery systems*.^[14] Navedena farmakopejska poglavlja opisuju na koji način treba provesti procjenu tvari koje se otpuštaju i ekstrahiraju iz farmaceutskih spremnika, no ne navode specifična ispitivanja, eksperimentalne uvjete, analitičke metode i kriterije prihvatljivosti. Dodatno se planira izrada poglavlja <1665> o ocjeni sigurnosti tvari koje se otpuštaju i ekstrahiraju s toksikološkog stajališta. Navedena poglavlja o tvarima koje se otpuštaju i ekstrahiraju iz farmaceutskih spremnika će dobiti veći značaj kada budu implementirana u USP monografije ili u opća poglavlja o farmaceutskim oblicima.

Podaci o farmaceutskim spremnicima trebaju u dokumentaciji o lijeku biti priloženi prema standardnom formatu opisanom u *Notice to Applicants (Volume 2B of The Rules governing Medicinal Products in the European Union)*.^[15] Podaci o spremniku za djelatne tvari prilažu se u dio 3.2.S.6 (Unutarnje pakovanje), a podaci o spremniku za lijek prilažu se u dijelove 3.2.P.2.4 (Farmaceutski razvoj/Primarno pakovanje) i 3.2.P.7 (Primarno pakovanje) dokumentacije. Sadržaj dokumentacije koju je potrebno priložiti propisan je Direktivom 2003/63/EC.^[16]

4.3 Plastični spremnici kao izvori otpuštenih tvari

Plastični materijali među najčešće su korištenim materijalima za izradu farmaceutskih spremnika. Plastika je naziv za različite umjetne ili poluumjetne polimere. U osnovne plastične polimere ubrajaju se polietilen tereftalat, polietilen visoke gustoće, polietilen niske gustoće, polivinilklorid, polipropilen, polistiren, poliester, polikarbonat i poliuretan. U plastičnim materijalima mogu biti prisutne i druge tvari, kao što su aditivi, poboljšivači tvari u proizvodnji polimera, nenamjerno dodane tvari i poboljšivači tvari u polimerizaciji. Aditiv je tvar koja se namjerno dodaje plastičnoj masi kako bi se postigli određeni fizikalni ili kemijski učinci za vrijeme proizvodnje plastike ili u konačnom materijalu ili predmetu; predviđeno je da bude prisutan u konačnom proizvodu ili

predmetu. Najčešće korištene vrste aditiva su sredstva protiv pjenjenja (smanjuju površinsku napetost), antioksidansi, antistatička sredstva, emulgatori, punila, plastifikatori (povećavaju fleksibilnost i trajnost), konzervansi, UV stabilizatori, boje, antiozonanti (usporavaju kvarenje plastike do koje dolazi uslijed izlaganja ozonu), klizna sredstva, ekspanzijska sredstva (koriste se za otpuštanje plina u plastiku ili smolu, radi smanjenja mase, omekšavanja, davanja svojstava izolacije, otpornosti ili svojstva apsorpcije udaraca), sredstva za vezanje (potiču fizičku ili kemijsku interakciju anorganskih tvari, npr. stakla ili metala, s polimerom) i sredstva za usporavanje gorenja. Poboljšivač u proizvodnji polimera je bilo koja tvar koja se koristi za osiguravanje prikladnog medija za proizvodnju polimera ili plastike; nije predviđeno da bude (iako može biti) prisutna u konačnom materijalu ili predmetu niti ima fizikalno ili kemijsko djelovanje u konačnom materijalu ili predmetu (npr. reagensi protiv pjenjenja, toplinski stabilizatori, puferska sredstva, koagulansi, emulgatori, otapala, surfaktanti, stabilizatori, tvari za zgušnjavanje). Nenamjerno dodana tvar označava onečišćenje u tvari koja se koristi ili međuproizvod nastao reakcijom tijekom proizvodnog postupka ili razgradni produkt ili nusprodukt reakcije. Poboljšivač u polimerizaciji je tvar koja pokreće polimerizaciju i/ili kontrolira formiranje makromolekularne strukture (npr. inicijatori, ubrzivači, katalizatori, deaktivatori katalizatora, nosači katalizatora, reagensi za cijepanje lanaca, sredstva za lančanu reakciju ili produženje lanca, reagensi za prekid lančane reakcije, sredstva za unakrsno vezivanje, inhibitori polimerizacije, reducirajuće i oksidirajuće tvari). ^{[8][17]}

Polimerne tvari podložne su procesima dugotrajne razgradnje (starenje materijala), a često i ubrzane razgradnje. Tijekom prerade polimeri su izloženi istodobnom utjecaju topline, kisika i mehaničkih naprezanja, dok tijekom korištenja u prirodnoj okolini na polimer djeluju svjetlost, kisik, vlaga, ozon, naprezanja i dr. Polimerni materijali podložni su i različitim vrstama zračenja, npr. UV zračenju, rendgenskom zračenju i gama zračenju koje se koristi u postupku sterilizacije. S obzirom na moguće razgradne produkte u polimernim materijalima koji se mogu otpuštati u lijek, proizvođač lijeka mora raspolagati što potpunijim podacima o materijalima koje koristi za opremanje lijeka. Osnovni podaci koje proizvođač lijeka treba tražiti od dobavljača materijala za opremanje lijeka su podaci o kemijskoj kompatibilnosti (otpornost na povišenu temperaturu, kemijska otpornost na

različite pH vrijednosti, otapala i oksidaciju), opis tipa polimera, popis aditiva (najvažniji su podaci o reaktivnim aditivima), podaci o ekstrahiranim tvarima i podaci o stabilnosti materijala.

Plastični materijali koriste se i u postupku proizvodnje lijekova (cijevi, filteri, vreće itd.) i za opremanje lijekova. U tablici 4 prikazani su primjeri učestalo korištenih plastičnih materijala, uobičajenih predmeta koji su od njih izrađeni, a koriste se u farmaceutskoj industriji te moguće tvari koje se iz njih mogu ekstrahirati i/ili otpuštati.

Tablica 4. Primjeri najčešće korištenih plastičnih materijala za izradu farmaceutskih spremnika i moguće ekstrahirane/otpuštene tvari

Materijal	Kratica	Tipična upotreba	Pridružene ekstrahirane i/ili otpuštene tvari
polietilen	PE	tube, spojnice, boce, bočice, spremnici	acetatna kiselina, etanol, propanol, izopropanol, heksan, kaprolaktam, epoksietan, 1,3-di-tert-butilbenzen, masne kiseline, razgradni produkti Irganoxa
polipropilen	PP	tijelo štrcaljki, boce, bočice, spojnice, spremnici	oktanska kiselina, stearatna kiselina, 1,3-di-tert-butilbenzen, razgradni produkti Irganoxa, erukamid, Irgafos 168
poliamid (npr. Nylon 6)	PA	spremnici, filterske membrane	acetatna kiselina, kaprolaktam (monomer, ciklični dimer, tetramer, pentamer, heksamer), bisfenol A, razgradni produkti Irganoxa, 2-etilpiridin
polivinilklorid	PVC	tube, spremnici, komponente	kloridna kiselina, monomer viniklorida, ksilen, ftalna kiselina, bisfenol A, 9,10-epoksistearatni ester, di-(2-etilheksil)-ftalat

U industriji prevladava trend povećanog korištenja jednokratnih sterilnih sustava. Postupak sterilizacije može dodatno povećati proces migracije tvari (gama zračenje može utjecati na razgradnju polimera i aditiva).

U Europskoj farmakopeji definirana je kakvoća određenog broja materijala namijenjenih proizvodnji farmaceutskih spremnika te su za njih pripremljene monografije, u kojima su opisane metode ekstrakcije i određivanja ekstrahiranih tvari. Prema postupcima opisanima u monografijama uglavnom se određuju svojstva ekstrakta (kiselost, lužnatost, koeficijent apsorpcije ekstrakta), teški

metali, ukupne ekstrahirane tvari u polarnim i nepolarnim otapalima te ekstrahirani aditivi. Aditivi namijenjeni za proizvodnju farmaceutskih plastičnih materijala, njih 23, navedeno je u monografiji 3.1.13 Aditivi za plastične materijale.^[6] Europska farmakopeja obuhvaća samo najčešće korištene plastične materijale, a ne obuhvaća, npr. cikličke olefinske kopolimere, polietilen tereftalat, polikarbonat, politetrafluoretilen i najlon, koji se također često koriste za izradu farmaceutskih spremnika.

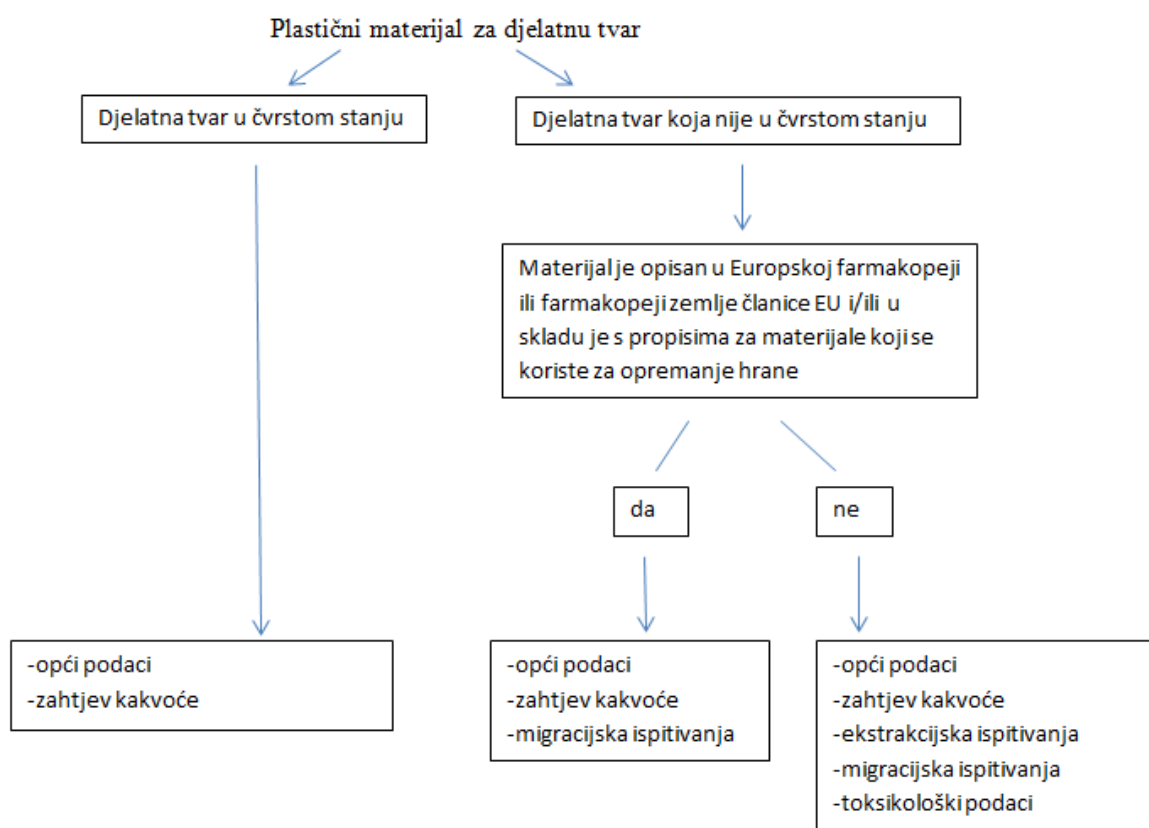
Osim zahtjeva Europske farmakopeje, plastični materijali moraju udovoljavati zahtjevima iz Uredbe Europske Komisije br. 10/2011 o plastičnim materijalima i proizvodima koji dolaze u doticaj s hranom (s izmjenama i dopunama 321/2011, 1282/2011, 1183/2012, 202/2014, 865/2014, 2015/174 i 2016/1416).^[8] Navedenom Uredbom, između ostalog, člankom 12. definirane su vrijednosti ukupnih dozvoljenih migriranih tvari: 10 miligrama ukupnih sastojaka otpuštenih po dm² površine koja dolazi u doticaj s hranom ili 60 miligrama ukupnih sastojaka otpuštenih po kilogramu modelne otopine. U Dodatku 1 ove Uredbe navedeni su monomeri i aditivi koji se mogu koristiti u proizvodnji sirovina namijenjenih proizvodnji kontaktne ambalaže za prehrambene proizvode. Uz nazive i referentne brojeve sirovina (FCM/jedinstveni identifikacijski broj tvari; Ref. No./ referentni broj materijala; CAS/ registarski broj) navedene su granice specifičnih i ukupnih specifičnih migracija (SML i SML(T)). U tablici Dodatka 1 Uredbe nalaze se i napomene o ograničenjima vezanim uz specifične migracije i napomene vezane uz verifikaciju zadovoljavanja zahtjeva za navedenu tvar. U Dodatku 2 Uredbe navedene su maksimalne dozvoljene koncentracije ekstrahiranih kemijskih elemenata Ba, Co, Fe, Li, Mg, Zn i primarnih aromatskih amina. U Dodatku 3 Uredbe navedena su ekstrakcijska sredstva koja se koriste za ispitivanja ekstrahiranih tvari iz ambalaže namijenjene za pakiranje određene vrste hrane, što je prikazano u tablici 5.^[2]

Tablica 5. Ekstrakcijska sredstva (model otopine) koja se koriste za određivanje ekstrahiranih tvari iz ambalaže namijenjene za pakiranje određene vrste hrane

Oznaka	Ekstrakcijsko sredstvo (model otopina)	Vrsta hrane za koju se model otopina primjenjuje
A	Etanol 10% (v/v)	Hidrofilnog karaktera
B	Octena kiselina 3% (w/v)	Hidrofilnog karaktera Hrana koja ima pH ispod 4,5
C	Etanol 20% (v/v)	Hidrofilnog karaktera koja sadrži: -manje od 20% etanola -određenu količinu sastojaka koji daju hrani lipofilni karakter
D1	Etanol 50% (v/v)	Lipofilnog karaktera koja sadrži -više od 20% etanola -uljne emulzije u vodi
D2	Biljno ulje	Lipofilnog karaktera koja na površini sadrži slobodne masti
E	Poli-(2,6-difenil-p-fenilen oksid) -veličina čestica 60-80 mesh -veličina pora 200 nm	Suha hrana

Značajnu pomoć u razmatranju ekstrahiranih i otpuštenih tvari iz materijala spremnika za djelatne tvari i farmaceutske oblike pruža smjernica CPMP/QWP/4359/03 *Guideline on plastic immediate packaging Materials*.^[9] Ova smjernica stupila je na snagu 1. prosinca 2005., a izdalo ju je Povjerenstvo za humane lijekove (CHMP) i Povjerenstvo za veterinarske lijekove (CVMP) Europske agencije za lijekove. Prema navedenoj smjernici dokumentacija o lijeku (dio 3.2.P CTD dokumentacije) treba sadržavati podatke koje je proizvođač lijeka prikupio tijekom razvoja lijeka, odnosno treba obrazložiti izbor plastičnog materijala primarnog spremnika koji proizlazi iz stabilnosti lijeka, kompatibilnosti lijeka, puta primjene lijeka i postupka sterilizacije (ukoliko se koristi). Proizvođač treba po potrebi priložiti rezultate ekstrakcijskih ispitivanja i rezultate interakcijskih ispitivanja, kao i toksikološke podatke, u svrhu dokazivanja kompatibilnosti plastičnih materijala s lijekom. Ukoliko razgradni produkti plastičnih materijala koji nastaju pod utjecajem svjetlosti imaju značajan utjecaj na kakvoću spremnika i njegovu kompatibilnost s lijekom, proizvođač lijeka treba priložiti i podatke o fotostabilnosti plastičnih materijala koje koristi za opremanje lijeka. Ukoliko

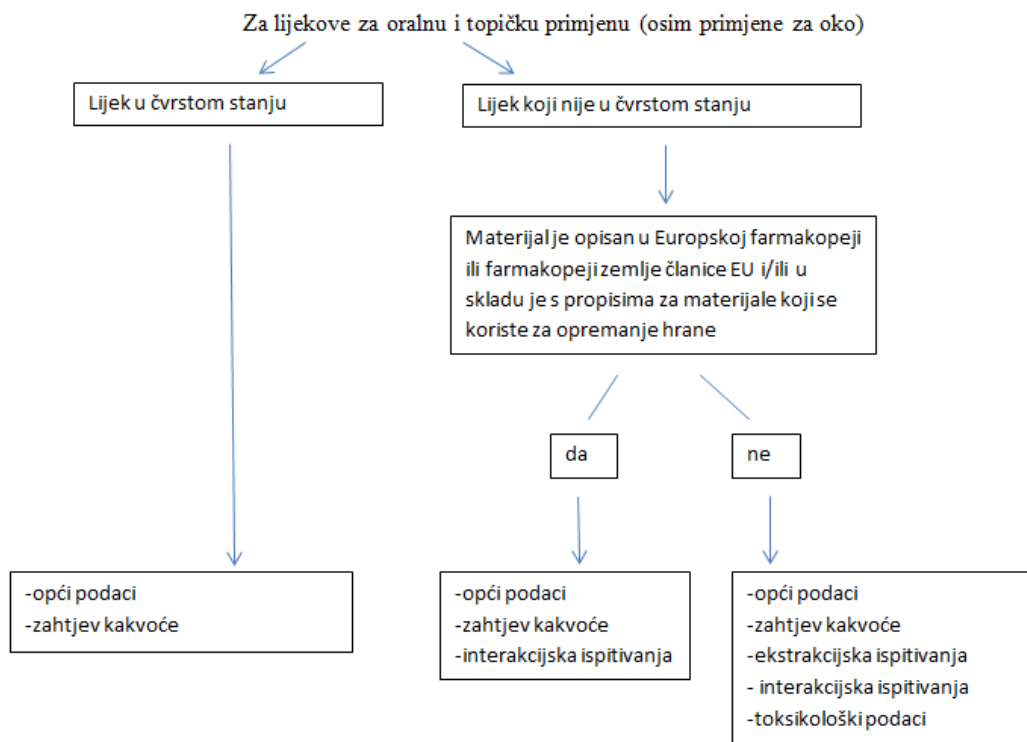
proizvodni postupak može imati utjecaja na plastični materijal spremnika (npr. postupak sterilizacije), potrebno je priložiti detaljnije podatke (npr. uvjeti postupka sterilizacije, utjecaj na spremnik). Dokumentacija o lijeku treba sadržavati opis primarnog spremnika lijeka koji navodi sve sastavne dijelove spremnika, opće podatke o plastičnim materijalima koji se koriste te zahtjeve kakvoće plastičnih materijala. Smjernica također sadrži upute za plastične spremnike djelatnih tvari. Za djelatne tvari koje nisu u čvrstom stanju potrebno je priložiti puno više podataka o spremniku u odnosu na one koje su u čvrstom stanju (vidjeti sliku 3).



Slika 3. Pregled potrebnih podataka o plastičnim materijalima za djelatne tvari

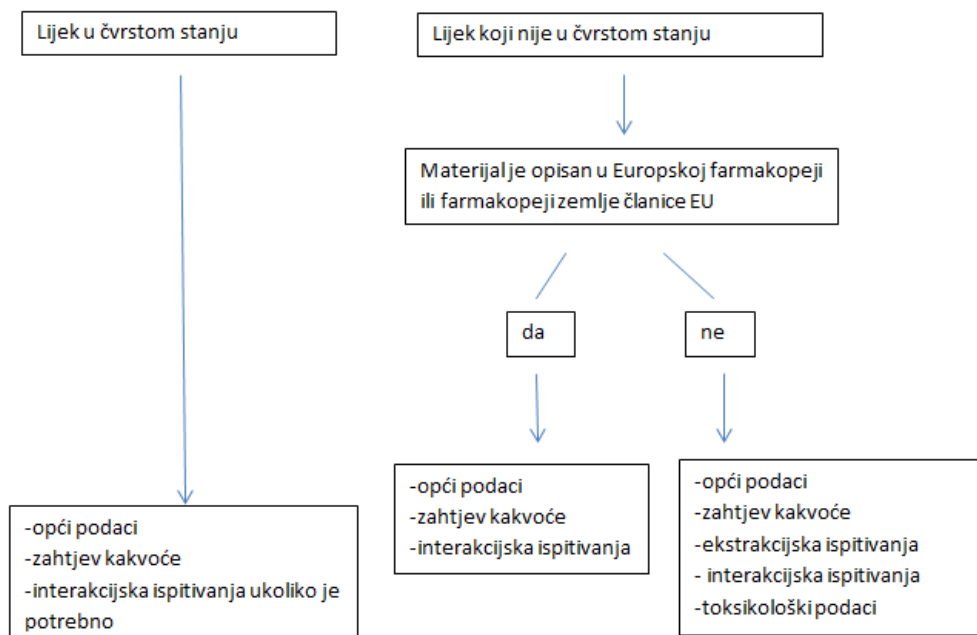
U odnosu na lijekove koji su u čvrstom stanju, za lijekove koji nisu u čvrstom stanju potrebno je priložiti više podataka (npr. podatke o cjelovitom kvalitativnom sastavu plastičnih materijala, uključujući aditive poput antioksidansa, stabilizatora, plastifikatora, lubrikanata, otapala i/ili boja). Za plastične materijale koji se koriste za primarno pakiranje lijekova koji su namijenjeni za inhalaciju, parenteralnu primjenu i primjenu za oko potrebno je dostaviti još detaljnije podatke. Slike 4 i 5

prikazuju pregled podataka koju proizvođač treba priložiti u dokumentaciji o lijeku, a odnose se na plastične materijale primarnih spremnika, ovisno o putu primjene lijeka i agregatnom stanju, odnosno farmaceutskom obliku lijeka.^[9]



Slika 4. Pregled podataka o plastičnim materijalima primarnih spremnika koji se koriste za opremanje lijekova za oralnu i topičku primjenu (osim primjene za oko)

Za lijekove za inhalaciju, parenteralnu i oftalmičku primjenu



Slika 5. Pregled podataka o plastičnim materijalima primarnih spremnika koji se koriste za opremanje lijekova za inhalaciju, parenteralnu primjenu i primjenu za oko

Kako bi obrazložio izbor odabranog pakovnog materijala, proizvođač treba dokazati kompatibilnost materijala primarnog spremnika za opremanje lijeka. Ispitivanje se može provesti na plastičnom materijalu, plastičnom dijelu spremnika ili na cijelom spremniku. Opseg i dizajn ispitivanja interakcija ovisi o farmaceutskom obliku lijeka. Za čvrste farmaceutske oblike rizik interakcije je nizak i obično ne zahtijeva ispitivanja interakcija sa spremnikom. Za čvrste farmaceutske oblike namijenjene za inhalaciju ili parenteralnu primjenu, kao što su liofilizati, ponekad je potrebno provesti ispitivanja interakcija između pakovnog materijala i sastavnica formulacije. Za tekuće farmaceutske oblike postoji veći rizik interakcija te je stoga potrebno provesti opsežna ispitivanja koja su specifična za pojedinu formulaciju. Tijekom ispitivanja potrebno je procijeniti kritična funkcionalna svojstva spremnika/naprava za primjenu i provjeriti da ne dolazi do značajnih promjena koje umanjuju kakvoću lijeka. Ispitivanja interakcija mogu obuhvatiti ispitivanja migracije tvari radi praćenja tvari koje se otpuštaju iz plastičnog materijala u formulaciju i/ili sorpcijska ispitivanja radi procjene smanjenja kakvoće lijeka zbog adsorpcijskog ili apsorpcijskog učinka.

Pregled dijelova CTD dokumentacije o lijeku u koje se prilažu podaci o farmaceutskim spremnicima priložen je u dijelu 4.2 ovog rada.

4.4 Tvari koje se mogu otpuštati iz gume (elastomera)

Gumeni čepovi za spremnike za vodene parenteralne pripravke, za praške i liofilizate opisani su u monografiji 3.2.9 Europske farmakopeje. Izrađeni su od materijala dobivenih vulkanizacijom (umrežavanjem) makromolekula organskih tvari (elastomera) s odgovarajućim aditivima. Elastomeri se proizvode polimerizacijom od prirodnih ili sintetičkih tvari. Izbor glavnih sastojaka i različitih aditiva (primjerice tvari za vulkanizaciju, ubrzivača, stabilizatora, boja) ovisi o traženim svojstvima gotovog proizvoda. Zahtjevi kakvoće navedeni u monografiji 3.2.9 ne primjenjuju se na čepove od silikonskog elastomera (koji su opisani u poglavlju Ph. Eur. 3.1.9 Silikonski elastomer za čepove i cijevi), na lamelirane čepove ili na lakirane čepove.

Gumeni čepovi mogu se svrstati u 2 vrste: čep I. vrste je onaj koji udovoljava najstrožim zahtjevima i kojeg je najbolje koristiti; čep II. vrste je onaj koji ima mehanička svojstva pogodna za posebnu uporabu (npr. višestruko probadanje) koji zbog svojeg kemijskog sastava ne može udovoljiti tako strogim zahtjevima kao čepovi I. vrste.

Čepovi koji su odabrani za uporabu s određenim pripravkom trebaju biti takvi da se sastojci pripravka koji su u kontaktu s čepom ne adsorbiraju na površinu čepa i ne prolaze u ili kroz čep u mjeri koja bi štetila pripravku. Osim toga, čep ne smije otpuštati u pripravak tvari u količinama koje bi naštetile njegovoj stabilnosti ili predstavljale rizik od toksičnosti. Čepovi trebaju biti kompatibilni s pripravcima za koje se koriste tijekom njihovog roka valjanosti.

Proizvođač lijeka mora od dobavljača dobiti potvrdu da sastav čepa nije promjenjiv i da je istovjetan onom čepu na kojem je provedeno ispitivanje kompatibilnosti s proizvodom. Ako dobavljač obavijesti proizvođača pripravka o izmjenama u sastavu, ispitivanje kompatibilnosti mora se u cijelosti ili djelomično ponoviti, ovisno o prirodi izmjene.

Svrha propisanih zahtjeva kakvoće nije identifikacija vrste gume korištene za izradu čepova. Identifikacijska ispitivanja propisana Ph. Eur. monografijom razlikuju čepove izrađene od gume od onih izrađenih od silikonskog elastomera i plastičnih materijala, ali ne razlikuju međusobno sve vrste gume. Mogu se provesti druga identifikacijska ispitivanja s ciljem detektiranja razlika među isporučenim serijama i onom korištenom u ispitivanjima kompatibilnosti. Jedna ili više analitičkih metoda može se koristiti u te svrhe: određivanje relativne gustoće, određivanje sulfatnog ostatka, određivanje sadržaja sumpora, tankoslojna kromatografija ekstrakta čepa, spektrometrija apsorpcije ultraljubičastog zračenja ekstrakta, spektrometrija apsorpcije infracrvenog zračenja pirolizata ili prigušena totalna refleksija.

Silikonski elastomer za čepove i cijevi opisan je u 3.1.9 monografiji Europske farmakopeje te su u njoj propisani zahtjevi kakvoće koje treba zadovoljiti. Silikonski elastomer dobiven je umrežavanjem linearnog polisiloksana, građenog uglavnom od dimetilsiloksi jedinica, s malim količinama metilvinilsiloksi grupa; krajevi lanca blokirani su trimetilsiloksi ili dimetilvinilsiloksi grupama. Za proizvodnju silikonskog elastomera rabe se aditivi kao što je silicijev dioksid i ponekad, u malim količinama, organosilikatni aditivi (α,ω -dihidroksipolidimetilsiloksan).^[6]

Najčešće korišteni elastomeri u farmaceutskoj industriji su prirodna guma, sintetski poliizopren (koristi se za gumene čepove, nastavke za kapaljke, štrcaljke za jednokratnu upotrebu, zaštitne kapice za igle), butil i halogenirani butil (koristi se za čepove za bočice s liofilizatima i pripravcima za parenteralnu primjenu, nastavke za kapaljke), silikon (koristi se za zatvarače bočica za pripravke za oko), etilenpropilendien (koristi se za lijekove s visokom pH vrijednosti), stiren butadien guma (koristi se za klipove štrcaljki za jednokratnu upotrebu) i nitril (nitril butadien, koristi se za lijekove koji sadrže ulja).

Za izradu formulacije gume koja se kasnije koristi kao dio primarnog spremnika lijeka koriste se osim osnovnog polimera i različiti aditivi poput punila, sumpor (za vulkanizaciju), ubrzivači (tiazoli, tiokarbamati, gvanidini), aktivatori (cinkov oksid, stearatna kiselina), omekšivači (mineralna ulja, masne kiseline, esteri, parafin), boje (npr. titanijev oksid) i antioksidansi (npr.

butilhidroksitoluen). Sve tvari ugrađene u gumenu formulaciju mogu se otpuštati u lijek i potencijalno stupiti u interakciju s komponentama lijeka. Osim ovih tvari, također se mogu otpuštati tvari koje su uobičajena onečišćenja u gumenim materijalima, tvari koje nastaju u postupku vulkanizacije i prerade gume ili tvari koje nastaju čuvanjem gumenog proizvoda (razgradni produkti).

Na lijekovima koji sadrže u formulaciji proteinske komponente zamijećene su različite interakcije sa spremnikom lijeka, npr. dimerizacija proteina, agregacija (radi slobodnih okom nevidljivih čestica silikonskog ulja), adsorpcija djelatne tvari na stijenke elastomernog dijela spremnika, povećana imunogenost (zbog interakcija lijeka s otpuštenim tvarima) i rezultati sadržaja vode izvan granica propisanih zahtjevom kakvoće (npr. za liofilizate).

Količina otpuštenih tvari iz gumenih materijala ovisi o tipu formulacije gume, broju komponenata u formulaciji, površinskoj obradi, sustavu otapala lijeka (voda, ulje ili organsko otapalo), volumenu otapala i površini gumenog materijala, temperaturi sterilizacije, transporta i čuvanja te o duljini izlaganja (rok valjanosti lijeka).

Novije formulacije gume su čišće te sadrže manji broj aditiva. Ponekad se gumeni materijali oblažu zaštitnim slojevima. Slojevi za oblaganje gumenih materijala se većinom zasnivaju na silikonu te time smanjuju mogućnost ekstrahiranja silikonskih ulja iz formulacije. Oblaganje „B2“ slojem se provodi polimerizacijom smjese silikona na površini gumenog materijala, npr. čepa te nastaje kemijska struktura slična polidimetiloksanu. Također se za oblaganje gumenih čepova koriste fluoropolimerni slojevi koji smanjuju adsorpciju i adsorpciju tvari iz formulacije lijeka, smanjuju otpuštanje tvari iz elastomerne formulacije te poboljšavaju opću kompatibilnost zatvarača s lijekom.

Popis mogućih otpuštenih/ekstrahiranih tvari iz gume može se izraditi provođenjem ekstrakcijskih ispitivanja i laboratorijskim analizama dobivenih uzoraka ili na temelju iskustva i detaljnog pregleda sirovih materijala koji su korišteni za dobivanje formulacije gume. Izvješće o ekstrahiranim tvarima može se pripremiti ispitivanjem više serija elastomernih materijala ukoliko imaju zahtjeve kakvoće s propisanim granicama za ekstrahirane tvari ili se može pripremiti detaljno izvješće u kojem se opisuju sva provedena ekstrakcijska ispitivanja za određenu formulaciju

elastomera, a uključuju i ispitivanja varijabli koje mogu imati utjecaj na profil ekstrahiranih tvari (postupak vulkanizacije, mjesto proizvodnje, dizajn komponente spremnika, postupak proizvodnje formulacije). Profili ekstrahiranih tvari dobivaju se korištenjem različitih uvjeta, otapala i opreme.

Proizvođač lijeka treba smanjiti mogućnost otpuštanja tvari iz elastomernih dijelova spremnika na više načina:

- odabrati formulaciju čepa koja je „najviše kompatibilna“ s čepom,
- koristiti moderne i čiste formulacije zatvarača,
- koristiti zatvarač najmanje moguće veličine,
- smanjiti vrijeme kontakta zatvarača s lijekom,
- koristiti najbolje uvjete za kontakt zatvarača s lijekom (liofilizat, ili čuvanje u zamrzivaču, hladnjaku, smanjenje vremena sterilizacije),
- koristiti čep koji je površinski obrađen (zaštitni sloj) radi smanjenja interakcija s lijekom.

4.5 Staklo kao izvor otpuštenih tvari

Staklo je anorganska, amorfna tvar koja nastaje hlađenjem i skrućivanjem taline bez kristalizacije. Često se koristi za opremanje lijekova jer je staklo dobro poznati materijal koji je kemijski i fizički inertan, otporan na povišenu temperatura, ne propušta plin i pare (npr. hlapljive komponente lijeka), a dodatna je prednost prozirnost materijala, odnosno prozirnost za vidljivi dio spektra elektromagnetskoga zračenja, dok je za ostali dio spektra uglavnom nepropusno.

U kemijskom pogledu, staklo je smjesa silikata te alkalijskih i zemnoalkalijskih oksida. Najčešće je građeno od tetraedara silicijeva dioksida (SiO_2) kao osnovnih jedinica, u kojima se silicijev atom nalazi u središtu, a kisikovi atomi na uglovima. Tetraedri su međusobno povezani preko kisikovih mostova pa tako čine trodimenzijsku mrežu. Raspored tetraedara nije simetričan, periodičan i pravilan kao u tvarima s kristalnom strukturom, nego je potpuno slučajajan i nepravilan. Maseni udio silicijevog dioksida je u staklima obično 55-80%. S povećanjem njegova udjela povećava se i temperatura taljenja, preradbe i transformacije te viskoznost, mehanička čvrstoća, kemijska otpornost,

a smanjuje se gustoća, toplinsko rastezanje i vodljivost, električna provodnost, indeks loma i apsorpcija ultraljubičastih zraka.

Prema kemijskom sastavu razlikuje se više vrsta stakla. Natrijsko staklo približnoga je sastava $\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{CaO} \cdot 6\text{SiO}_2$, ali obično sadrži i manje udjele drugih oksida, kao što su magnezijev i aluminijev. Od njega se proizvodi prozorsko staklo te boce za pakiranje pića. Laboratorijsko staklo treba biti vrlo postojano prema kemikalijama i naglim temperaturnim promjenama te čvrsto i male električne provodnosti. Takva svojstva imaju stakla s manjim udjelom oksida alkalijskih metala, a s više borova i aluminijeva oksida (borosilikatno i alumosilikatno staklo).

Za opremanje lijekova staklo se najčešće koristi kod ampula, bočica za injekcije, boce za infuziju, štrcaljke i bočice za čvrste farmaceutske oblike. Staklo koje se koristi kao materijal primarnih spremnika lijekova treba udovoljavati nizu zahtjeva koji su propisani farmakopejama i međunarodnim standardima (npr. ISO 720 i ISO 719). Prema Europskoj farmakopeji, odnosno prema hidrolitičkoj otpornosti stakleni se spremnici su kategorizirani u tri tipa: stakleni spremnici vrste I (neutralno staklo, s visokom hidrolitičkom otpornošću zbog kemijskog sastava stakla), stakleni spremnici vrste II (obično su od soda-vapno-silikatnog stakla s visokom hidrolitičkom otpornošću, kao rezultat odgovarajuće obrade unutarnje površine) i stakleni spremnici vrste III (obično su od soda-vapno-silikatnog stakla s umjerenom hidrolitičkom otpornošću). Tip I stakla je staklo najviše kvalitete te se preporuča za opremanje parenteralnih farmaceutskih pripravaka, dok staklo tipa III nije namijenjeno za takve lijekove. Staklo se može bojati dodavanjem metalnih oksida, izabranih ovisno o željenoj apsorpciji (npr. Fe_2O_3 , TiO_2 se koriste za smeđe staklo, CuO za plavo staklo i Mn_2O_3 za ljubičasto staklo). Za opremanje lijekova koristi se smeđe obojeno staklo.

Stakleni spremnici vrste I prikladni su za većinu pripravaka, bez obzira jesu li namijenjeni za parenteralnu uporabu ili nisu. Stakleni spremnici vrste II prikladni su za većinu kiselih i neutralnih vodenih pripravaka, bez obzira jesu li namijenjeni za parenteralnu uporabu ili nisu. Stakleni spremnici vrste III prikladni su za nevodene pripravke za parenteralnu uporabu, praške za parenteralnu uporabu (izuzev liofiliziranih pripravaka) te pripravke koji nisu za parenteralnu uporabu. Općenito, za

navedenu vrstu pripravka mogu se rabiti i stakleni spremnici veće hidrolitičke otpornosti od preporučene. Spremnik izabran za određeni pripravak treba biti izrađen od staklenog materijala koji ne otpušta tvari u takvim količinama koje bi nepovoljno utjecale na stabilnost pripravka ili bi bile rizične u smislu toksičnosti. U opravdanim slučajevima može biti nužno procijeniti utjecaj na kronične i posebno osjetljive skupine bolesnika. Pripravci za parenteralnu primjenu obično se pakiraju u bezbojno staklo, a obojeno se staklo može rabiti za tvari za koje je poznato da su osjetljive na svjetlo. Bezbojno ili obojeno staklo rabi se i za ostale farmaceutske pripravke. Preporučuje se da svi stakleni spremnici za tekuće pripravke i praške za parenteralnu uporabu budu takvi da omogućuju vizualni pregled sadržaja. Unutarnja se površina staklenih spremnika može posebno obraditi da bi se poboljšala hidrolitička otpornost, postigla odbojnost prema vodi itd. Vanjska se površina može također obraditi radi smanjenja trenja ili poboljšanja otpornosti prema abraziji. Obradom vanjske površine ne smije se onečistiti unutrašnjost spremnika.

Metode ispitivanja tipa stakla I, II i III opisane su u monografiji Europske farmakopeje 3.2.1 Stakleni spremnici za farmaceutsku uporabu. ^[6] Ispitivanja se dijele na:

- ispitivanje A – hidrolitička otpornost unutarnjih površina staklenih spremnika
- ispitivanje B – hidrolitička otpornost usitnjenog stakla
- ispitivanje C – ispitivanje jetkanjem (ispitivanje jesu li spremnici površinski obrađivani)
- ispitivanje arsena, primjenjuje se na staklene spremnike za vodene parenteralne pripravke
- spektralna transmisija spremnika od obojenog stakla.

Zagrijavanje stakla na visoke temperature tijekom postupka lijevanja stakla može dovesti do otpuštanja iona alkalijskih elemenata s površine stakla. Također se sastavnice zagrijanog stakla mogu isparavati i odlagati na površini stakla. Povišena temperatura potiče migraciju alkalijskih oksida iz unutrašnjosti na površinu stakla. Opisane migracije i otpuštanje alkalijskih iona zamijećene su na spremnicima načinjenim od cjevastog stakla i to ponajviše na spremnicima malog volumena. Na količinu otpuštenih tvari iz staklenih spremnika može utjecati i duljina postupka sterilizacije (duljom sterilizacijom veća je količina otpuštenih tvari), temperatura sterilizacije (na višoj temperaturi veća je

količina otpuštenih tvari), pH vrijednost (za višu pH vrijednost otopine veća je količina otpuštenih tvari) ili npr. obrada stakla (standardno u odnosu na modificirano). Kod procjene otpuštanja tvari iz staklenih spremnika također je potrebno uzeti u obzir tip pufera, površinski aktivne tvari, kompleksirajuća sredstva, veličinu i volumen spremnika te uvjete čuvanja.

Iako se iz stakla mogu otpuštati tvari, uobičajeno je to u manjim količinama te se općenito staklo smatra kao najprikladniji materijal za opremanje lijekova visokog rizika s obzirom na otpuštanje tvari. Tvari koje se mogu otpustiti iz stakla su anorganske tvari od kojih je staklo izrađeno:

- 1) Najčešće tvari koje se otpuštaju: Si i Na;
- 2) Tvari koje se otpuštaju u manjim količinama: K, B, Ca, Al;
- 3) Tvari koje se otpuštaju u tragovima: Fe (kod obojenog stakla), Mn, Zn.

Tvari otpuštene iz staklenih spremnika mogu utjecati na kakvoću lijeka, npr.:

-otpuštanje alkalijskih iona može promijeniti pH vrijednost otopine te smanjiti rok valjanosti lijeka ili uzrokovati taloženje sastavnica lijeka;

-otpuštanje silicija može dovesti do delaminacije, odnosno odvajanja unutarnje površine stakla u obliku tankih slojeva koji se nazivaju lamele ili ljuskice te time povećati udio čestica;

-otpuštanje aluminija u lijek je rizično zbog moguće povezanosti s nastajanjem Alzheimerove bolesti.

Smanjenje otpuštanja tvari iz staklenih spremnika može se postići površinskom obradom lijevanog stakla amonijevim sulfatom pri čemu alkalijski ioni stvaraju sulfatne soli koje se zatim mogu isprati s površine stakla. Navedeno se može postići sumporovim(IV)-oksidom ili elementarnim sumporom. Osim toga, površina stakla može se obložiti dimetildiklorosilanom koji stvara hidrofobni sloj koji smanjuje mogućnost interakcija s vodenim pripravcima. Ovaj postupak se provodi nanošenjem silikonskog ulja na površinu spremnika, na temperaturi 300 °C. Dodatno je potrebno uzeti u obzir i moguća onečišćenja u silikonskom ulju.

4.6 Metal kao izvor otpuštenih tvari

Metalni materijali se koriste za opremanje lijekova od početka 20. stoljeća, a njihova je prednost u maloj masi i nepropusnosti za svjetlost i vlagu. Najčešće korišteni materijali su aluminij i njegove slitine, nehrdajući čelik, čelik bez kositra i bijeli lim. U tablici 6 prikazani su farmaceutski spremnici i komponente spremnika i proizvodne opreme izrađene od metalnih materijala. Proizvodnja, obrada, čišćenje, karakterizacija i kvalifikacija materijala uvelike se razlikuju širom svijeta. Nedostatak zajedničkog osnovnog standarda dovodi u rizik ljudsko zdravlje u pogledu tvari koje se mogu otpuštati iz tih materijala ili mogu uzrokovati izravnu biološku reakciju u slučaju duljeg kontakta s tkivom.

Tablica 6. Metalni materijali u farmaceutskim spremnicima i komponentama spremnika i proizvodne opreme

Primarni spremnici	Sekundarni spremnici	Pomoćne komponente spremnika
alumijski spremnik za inhalatore	bubnjevi za djelatne tvari, pomoćne tvari, lijekove	igle
čelični ili alumijski spremnik (cilindar) za medicinski plin	vanjski omoti za parenteralne lijekove opremljene u plastične vrećice	
bubnjevi za djelatne tvari i pomoćne tvari	vrećice	
alumijske folije blistera (za tablete, pastile, kapsule)	zatvarači za parenteralne lijekove u bočicama	
tube za kreme, gelove, masti	zatvarači s navojem za tekuće oralne oblike	
Komponente proizvodne opreme	Medicinski proizvodi	
spremnici i ventili (za parenteralne i oralne tekuće oblike)	implantati – zglobovi i stentovi	

S obzirom da europska, japanska i američka farmakopeja ne sadrže specifične standarde za metalne materijale i spremnike, proizvođači lijekova procjenjuju prikladnost materijala ispitivanjem stabilnosti lijeka. Trenutno su u izradi tri monografije američke farmakopeje (USP) koje se odnose na

metalne spremnike: *Metal Packaging Systems and Their Materials of Construction* <662> koja će obuhvatiti metode ispitivanja i zahtjeve kakvoće za metalne materijale, *Metal Materials of Construction* <662.1> koja će pomoći proizvođačima utvrditi da li je materijal odgovarajuće karakteriziran (identifikacija, biološka reaktivnost, opća fizičko-kemijska svojstva, metali koji se mogu ekstrahirati) i *Metal Packaging Systems for Pharmaceutical Use* <662.2> koja će obuhvatiti metode ispitivanja i zahtjeve kakvoće metalnih spremnika.^[18]

4.7 Otpuštanje tvari iz sekundarnih spremnika i drugih komponenti pakiranja lijeka

Sekundarni spremnici nisu u izravnom kontaktu s lijekom, npr. kutije, tinte, naljepnice i omoti. Unatoč tome potrebno je razmotriti mogućnost otpuštanja tvari u lijek jer je moguća migracija tvari kroz primarni spremnik u lijek. Također je potrebno uzeti u obzir moguće otpuštanje tvari iz komponenti pakiranja lijeka koje se koriste prilikom primjene lijeka, npr. iz odmjerne čašice, žličice, kapaljke ili prazne sterilne štrcaljke.

Komponenta spremnika koju proizvođač ispituje metodama ekstrakcije može se rezati na manje dijelove što ubrzava ekstrakciju, ali u tom slučaju treba se ekstrahirane tvari izražavaju u odnosu na masu uzorka spremnika/materijala budući da je teško procijeniti površinu uzorka. Ukoliko se uzorak ne usitnjava potrebno je uzeti u obzir masu i površinu uzorka spremnika.

4.8 Tinta kao izvor otpuštenih tvari

Mnogo farmaceutskih spremnika na sebi ima oznake ispisane tintom, većinom na sekundarnim spremnicima, ali često i na primarnim spremnicima. Ispisani tekstovi služe kako bi na proizvodu bilo navedeno ime lijeka, informacije o lijeku za pacijenta i zdravstvene radnike (uvjeti čuvanja, način primjene, doziranje, upozorenja), broj serije, rok valjanosti, bar kodovi (za identifikaciju proizvoda) i ostalo.

U smjernici „*Guideline on Plastic Immediate Packing Materials*“ (CPMP/QWP/4359/03) navodi se preporuka da se u ispitivanja ekstrahiranih/otpuštenih tvari uključe tinte i adhezivi. Uredba 10/2011 ne obuhvaća oznake ispisane tintom.

Prije ispisa tinte su u tekućem ili polučvrstom stanju, koje printeri mogu koristiti. Tisak je moguć na različitim površinama, poput papira, kartona, polimernih materijala, pletenih i nepletelih tekstilnih materijala. Tijekom tiska tinta se prenosi na površinu materijala te se tada svojstva tinte mijenjaju. Tinta je vodena ili nevodena otopina ili suspenzija bojila/pigmenata (triarilmetansko bojilo za plavu tintu, za crvenu eozin, za bijelu titanijev dioksid, za zlatnu aluminijska bronca, za žutu izoindolinon, ftalocijanin za zelenu i plavu). Uz navedene sastojke, tinta sadrži i površinski aktivne tvari te sredstva za bolje prijanjanje uz papir i za očuvanje vlažnosti prije nanošenja te za konzerviranje. Otopala koja se koriste su ugljikovodici (petroleteri, toluen), alkoholi (etanol, izopropanol), etilenglikol i glikoleteri, esteri, ketoni (aceton, 2-butanon, n-butoksietanol, cikloheksanon), propilenkarbonat i voda. Kao vezivna sredstva koriste se modificirane prirodne i sintetske smole, nitroceluloza, oligomeri i polimeri vinilnih spojeva, stiren, akrilati, poliuretani, epoksidi, poliesteri, poliamidi i dr. Najčešće korišteni aditivi u tintama su prirodni i sintetski voskovi, amidi masnih kiselina, plastifikatori, emulgatori, pufferi, kompleksirajuća sredstva, fungicidi, baktericidi i sredstva protiv pjenjenja. Kao punila koriste se najčešće kalcijev karbonat, aluminijevi oksidi, barijev sulfat i silikati. ^[19]

Ispitivanje ekstrahiranih/otpuštenih tvari iz tinte se provodi na sličan način kao i za druge dijelove spremnika. Najprije je potrebno kritički evaluirati sastav tinte i farmaceutskog spremnika te svojstva formulacije lijeka. Ispitivanje ekstrahiranih tvari se provodi u stresnim uvjetima kako bi se ekstrahiralo što više tvari iz spremnika (bez uništavanja materijala) i tinte te se uspoređuju rezultati dobivenim ispitivanjem materijala spremnika bez tinte. Dodatni korak koji se može provesti je ispitivanje ekstrahiranih/otpuštenih tvari s otapalima ili placeboom u spremniku lijeka u uvjetima dugoročnog ispitivanja (potrebno je radi proučavanja učinaka koji ovise o vremenu, npr. difuzija, hidroliza). Zatim je potrebno evaluirati podatke dobivene ekstrakcijskim ispitivanjima, uključujući toksikološki aspekt te odabrati kritične tvari koje bi se mogle otpuštati. Ispitivanje tvari koje se

otpuštaju iz spremnika provodi se tijekom ispitivanja stabilnosti lijeka nakon optimizacije metode i validacije metode za odabrane tvari. U tablici 7 je navedena vjerojatnost interakcija ispisanih oznaka s formulacijom lijeka za različite farmaceutske oblike i pridruženi rizici s obzirom na put primjene lijeka.

Tablica 7. Procjena vjerojatnosti interakcija ispisanih oznaka s formulacijom lijeka

Stupanj rizika	Vjerojatnost interakcija ispisanih oznaka s formulacijom lijeka		
	Visoka	Srednja	Niska
Visoki	Parenteralni pripravci (npr. vreće za otopinu za infuziju, štrcaljke) s ispisanim oznakama na primarnom spremniku	Inhalacijski prašci opremljeni u polimerni materijal na kojem se nalazi ispisana oznaka	
Srednji	Otopine za primjenu za oko, transdermalne masti i flasteri opremljeni u polimerni materijal na kojem se nalazi ispisana oznaka		
Niski	Oralni pripravci opremljeni u polimerni materijal na kojem se nalazi ispisana oznaka		Svi pripravci u staklenim ili metalnim spremnicima ili spremnicima sa zaštitnim slojem koji sprječava migraciju

Zbog kompleksnog postupka tiska i velike brzine postupka, nije moguće sa sigurnošću utvrditi što se događa sa sastavnicama tinte, otapalima u tinti i mogućim produktima kemijskih reakcija. Osim toga, tijekom sušenja tinte mogu nastati nove tvari. Većina sastavnica tinte nije opisana u farmakopejama te se ne nalazi u popisima tvari koje su dozvoljene u materijalima koji dolaze u doticaj s hranom, što otežava procjenu tih tvari. U dokumentu „*Swiss Ordinance List*“ navodi se približno 5000 sastavnica tinta, no za većinu ovih tvari nisu dostupni toksikološki podaci.

Uobičajene analitičke metode za ispitivanje ekstrahiranih tvari iz tinte su izravna toplinska desorpcija povezana na plinsku kromatografiju sa spektrometrijom masa za početni pregled ostalih otapala, oligomera iz vezivnog sredstva, razgradnih produkata i nepoznatih onečišćenja, za kvantitativnu analizu ostalih otapala i hlapljivih tvari u vodenim ekstraktima; plinska kromatografija sa spektrometrijom masa za kvantitativnu analizu ekstrakta, specifičnu analizu oligomera, aditiva,

reakcijskih produkata i razgradnih produkata; tekućinska kromatografija sa spektrometrijom masa za kvantitativnu analizu ekstrakta za polarne tvari; spektroskopija masa uz induktivno spregnutu plazmu za analizu metala iz bojila i pigmentata te kombinacija spektrometrije magnetske rezonancije jezgre, spektrometrije masa i spektrofotometrije apsorpcije infracrvenog zračenja za identifikaciju nepoznatih tvari.

4.9 Otpuštanje tvari iz kombiniranih medicinskih proizvoda

Kod mnogih terapija, nije jednostavno povući crtu između medicinskog proizvoda i primarnog spremnika lijeka (npr. inzulinska pumpa s prethodno napunjenim brizgalicama). Ako je komponenta kombiniranog medicinskog proizvoda koja je u kontaktu s lijekom ujedno i njegov primarni spremnik i ako ta komponenta nije namijenjena za izravni kontakt s tkivom, treba se evaluirati jednako kao primarni spremnik. Ukoliko je komponenta kombiniranog medicinskog proizvoda namijenjena za izravni kontakt s tkivom, ispitivanja ekstrahiranih i otpuštenih tvari treba provesti u skladu s ISO standardom 10993-12 (*Biological evaluation of medical devices - Part 12: Sample preparation and reference materials*). Ukoliko je komponenta kombiniranog medicinskog proizvoda namijenjena za izravni kontakt s tkivom, a također je u kontaktu s lijekom potrebno je provesti procjenu rizika kojom će se odrediti kojim putem otpuštena tvar može najlakše dospjeti u organizam pacijenta te na temelju toga provesti ispitivanja ekstrahiranih i otpuštenih tvari.^[20]

4.10 Otpuštanje tvari iz proizvodne opreme i međuspremnik

Tijekom proizvodnje djelatnih tvari i lijekova koristi se raznolika proizvodna oprema koja može biti izvor onečišćenja, odnosno oprema može otpuštati tvari tijekom postupka proizvodnje. Primjeri proizvodne opreme koji se često koriste su filteri, vreće, cijevi, aseptički sustavi za prijenos i ostali polimerni materijali kao čepovi, bočice i brtve.^[21]

Kod naboranih filtera kritični parametar je velika površina filtera, kod vreća koje se koriste u proizvodnji kritična je mogućnost dugog čuvanja. Dobavljači trebaju provesti validaciju kritičnih aspekata opreme te dokazati prikladnost materijala i opreme. Podaci dobavljača obično uključuju

tehničke podatke i zahtjeve kakvoće, uvjete korištenja, podatke o kompatibilnosti, podatke o ispitivanju materijala u skladu s relevantnim standardima kakvoće i podatke o ekstrahiranim tvarima. Količina podataka dobavljača je varijabilna, mogu biti dostupni samo nespecifični podaci (npr. reference na vrste plastike prema farmakopejskoj klasifikaciji, reference na važeće metode ispitivanja kao što su teški metali, oksidirajuće tvari, rezultati ispitivanja na ukupni organski ugljik) ili su priloženi specifični podaci koji opisuju koje analitičke metode su korištene za razdvajanje, detekciju i identifikaciju pojedinačnih ekstrahiranih tvari te koja otapala i ekstrakcijski uvjeti su korišteni.

Kod filtracije organskih otopina očekivana je veća koncentracija otpuštenih tvari nego kod filtracije vodenih otopina. Ispiranje filtera prije upotrebe može smanjiti količinu otpuštenih tvari. Preporučeno je provesti ispitivanje otpuštenih tvari u slučaju kada je posljednji korak postupka proizvodnje sterilna filtracija prije postupka punjenja. Preporuke za kvalifikaciju i validaciju filtera navedene su u tablici 8.^[22]

Tablica 8. Preporuke za kvalifikaciju i validaciju filtera

Kriteriji	Korisnik filtera	Proizvođač filtera	
	cijeli uređaj	membranski disk	cijeli uređaj
Ekstrahirane tvari	V	Q	Q
Otpuštene tvari	E	-	-

OZNAKE: Q – kvalifikacija; V- validacija specifična za postupak proizvodnje; E – procjena potrebe ispitivanja

Zasad ne postoje smjernice koje obuhvaćaju procjenu otpuštenih tvari iz proizvodne opreme za jednokratnu upotrebu. Ekstrahirane i otpuštene tvari iz takve opreme potrebno je obuhvatiti ukupnom validacijom postupka proizvodnje, odnosno validacijom korištene proizvodne opreme.

4.11 Pregled metoda za ispitivanje tvari koje se otpuštaju i ekstrahiraju iz spremnika

Prvi korak u evaluaciji tvari koje se otpuštaju iz spremnika je provođenje ekstrakcijskih ispitivanja na spremniku. Postoje dvije vrste ekstrakcijskih ispitivanja, kontrolirana ekstrakcija i simulirana ekstrakcija, koje se mogu provoditi jedna za drugom ili paralelno, a ponekad je samo jedno ispitivanje dovoljno. Kontrolirana ekstrakcija se provodi u agresivnim uvjetima, najčešće pri temperaturi vrelišta otapala. Koriste se otapala koja predstavljaju „najgori slučaj“ kako bi se dobio veliki broj ekstrahiranih tvari. Simulirana ekstrakcija je dizajnirana kao manje agresivno ispitivanje u odnosu na kontroliranu ekstrakciju pa se njome identificira manji broj ekstrahiranih tvari. Prednost simulirane ekstrakcije je da će se njome s većom vjerojatnošću identificirati samo ekstrahirane tvari koje će se i otpuštati iz spremnika, u odnosu na kontroliranu ekstrakciju kojom se će se identificirati veći broj ekstrahiranih tvari koje se neće otpuštati iz spremnika. Nedostatak simulirane ekstrakcije je veća vjerojatnost da neće obuhvatiti sve moguće tvari koje se otpuštaju iz spremnika.

Neovisno o vrsti ekstrakcije, dobiveni ekstrakti se analiziraju pomoću najmanje tri metode, uključujući metodu plinske kromatografije spregnute sa spektrometrijom masa, metodu tekućinske kromatografije uz spektrometriju masa i metodu spektrometrije masa uz induktivno spregnutu plazmu. Cilj ovih analiza je identificirati što veći broj ekstrahiranih tvari i polukvantitativno odrediti sadržaj pojedinih ekstrahiranih tvari. Ponekad je potrebno provesti dodatne analize za specifične ekstrahirane tvari koje pokazuju visoku toksičnost. S obzirom da su ove analitičke metode dizajnirane za detekciju nepoznatih tvari, ne mogu se validirati. Rezultati analiza se izražavaju kao količina ekstrahirane tvari (obično u mikrogramima) po jedinici mase (obično u gramima) ili po površini (obično u kvadratnim centimetrima) uzorka.

Nakon završetka ekstrakcijskih ispitivanja dobiva se popis ekstrahiranih tvari s kojeg se odabiru ciljane tvari za daljnja ispitivanja. S obzirom da su ekstrahirane tvari dobivene simuliranom ekstrakcijom potencijalne tvari koje se otpuštaju iz spremnika, sve ekstrahirane tvari dobivene simuliranom ekstrakcijom se odabiru kao ciljani analiti. Ostale tvari s visokom toksičnošću dobivene

kontroliranom ekstrakcijom se također mogu odabrati kao ciljane tvari koje se otpuštaju iz spremnika ukoliko imaju potencijal migriranja u lijek. Ekstrahirana tvar se može izostaviti ako je prisutna u dovoljno niskoj količini koja ne predstavlja rizik od toksičnog učinka. Ako je prisutan veliki broj ekstrahiranih tvari, ponekad je dovoljno odabrati samo tvar koja je predstavnik grupe ciljanih tvari koje se otpuštaju. Kada se provede odabir ciljanih tvari, potrebno je izračunati analitički evaluacijski prag (AET od engl. *analytical evaluation threshold*) za tvari koje se otpuštaju. Vrijednost AET predstavlja granicu izvještavanja za otpuštene tvari.

Analitičke metode moraju biti dovoljno osjetljive da bi granica mjerljivosti/određivanja količine (LOQ) bila jednaka ili manja od AET vrijednosti. Radi postizanja odgovarajuće osjetljivosti metode posebnu pažnju je potrebno posvetiti pripremi uzorka. Nakon toga potrebno je validirati analitičke metode. S obzirom da se ovim metodama otkrivaju (detektiraju) vrlo niske količine otpuštenih tvari u matricama lijeka koje su često kompleksne, dozvoljena su neka odstupanja, odnosno blaži kriteriji prihvatljivosti u odnosu na metode koje se koriste za ispitivanje onečišćenja u lijeku.

Razvijene analitičke metode se zatim koriste za analizu lijeka opremljenog u namijenjeni spremnik uz propisane uvjete čuvanja. Ovo ispitivanje može biti dio protokola za ispitivanje stabilnosti lijeka ili zasebno migracijsko ispitivanje. Rezultati analize se bilježe kao koncentracija otpuštene tvari u lijeku. Ukoliko je količina otpuštene tvari veća od AET vrijednosti, potrebno je provesti dodatna ispitivanja radi identifikacije ove tvari. Ponekad je potrebno provesti dodatnu toksikološku evaluaciju radi procjene rizika za pojedinu otpuštenu tvar.^[1]

4.11.1 Odabir komponenti spremnika za ekstrakcijska ispitivanja

Sve komponente spremnika koje su u izravnom kontaktu s lijekom tijekom čuvanja ili primjene lijeka smatraju se primarnim komponentama spremnika. Sve komponente spremnika koje nisu u kontaktu s lijekom, no imaju mogućnost stupanja u interakciju s primarnim spremnikom

smatraju se sekundarnim komponentama spremnika. U tablici 9 su prikazani uobičajeni primjeri komponenti primarnog i sekundarnog spremnika.

Tablica 9. Uobičajeni primjeri komponenti primarnog i sekundarnog spremnika

Primjeri primarnog spremnika	Primjeri sekundarnog spremnika
sve komponente spremnika stlačenog inhalata doziranog preko odmjernog ventila (engl. <i>metered dose inhaler</i>)	naljepnice s ispisom (zalijepljene na primarni spremnik ili neka druga komponenta spremnika)
komponente napunjene štrcaljke (tijelo, klip i stožasti nastavak za iglu)	kutije
plastične vrećice s lijekom za intravensku primjenu (folija i otvori/nastavci)	aluminijске vrećice
aluminijска tuba i zatvarač za kremu za topičku primjenu	materijali za omatanje spremnika tijekom čuvanja i transporta
folije blistera	

Sve komponente primarnog spremnika trebaju biti uključene u ekstrakcijska ispitivanja. Ako se komponente spremnika obrađuju (npr. sterilizacijom) prije punjenja lijeka, uzorci spremnika koji se koriste u ekstrakcijskim ispitivanjima također trebaju biti obrađeni na sličan način.

Odabir komponenti sekundarnog spremnika za ekstrakcijska ispitivanja se zasniva na procjeni rizika. U ovoj procjeni rizika uzima se u obzir vjerojatnost da će se iz komponenti sekundarnog spremnika otpuštati tvari, kao i vjerojatnost da će otpuštene tvari prodirati kroz primarni spremnik. Od komponenti sekundarnog spremnika, uobičajeno se u ekstrakcijska ispitivanja uključuju naljepnice s ispisom kada su u izravnom doticaju s primarnim spremnikom, zbog toga što tinte za ispis često sadrže mnogo potencijalnih tvari koje se otpuštaju.

Za kontroliranu ekstrakciju veličina uzorka se zasniva na željenoj granici otkrivanja (detekcije) tvari koje se ekstrahiraju. Masa uzorka se računa prema formuli:

$$\text{Masa uzorka (g)} = \frac{\text{Volumen ekstrakcijskog otapala (ml)} \times \text{granica detekcije analitičke metode (\mu\text{g/ml})}}{\text{ciljana granica detekcije ekstrahirane tvari u materijalu spremnika (\mu\text{g/g})}}$$

Na primjer, materijal spremnika ima ciljanu granicu detekcije za tvari koje se ekstrahiraju od 1,0 ppm. Ako se uzorak ekstrahira s 50 ml otapala, a dobiveni ekstrakti se analiziraju metodom koja ima granicu detekcije od 0,1 µg/ml, masa uzorka spremnika treba biti 5,0 g.

Za simuliranu ekstrakciju površina uzorka spremnika koja se izlaže ekstrakcijskom otapalu (po jedinici volumena) nešto je veća od one koja je izložena formulaciji lijeka. Na primjer, u opremljenom lijeku je 10 ml lijeka u doticaju sa spremnikom površine 5 cm². Kod simulirane ekstrakcije potrebno je koristiti manje od 2 ml otapala po kvadratnom centimetru površine spremnika.

Za pripremu uzorka ne provodi se čišćenje niti obrada uzorka spremnika, osim ako se ovi koraci ne provode na završnom spremniku prije punjenja lijeka u spremnik. Uzorci se mogu usitniti do željene veličine i oblika pogodnog za ekstrakcijsko ispitivanje, pri čemu su moguće manje promjene u veličini površine.

4.11.2 Kontrolirana ekstrakcija

Kontrolirana ekstrakcija, koja se još naziva ispitivanje karakterizacije materijala, je ispitivanje kojim se može utvrditi cjeloviti popis mogućih tvari koje se otpuštaju. U kontroliranoj ekstrakciji, uzorak spremnika se izlaže dvama ili trima otapalima različite polarnosti. Otapala se odabiru na temelju svojstava ispitivanog lijeka, pri čemu je prvo otapalo slične polarnosti kao lijek, a druga dva otapala trebaju biti manje polarnosti. Koriste se agresivni uvjeti ekstrakcije, uključujući izlaganje uzorka spremnika otapalu pri temperaturi vrelišta otapala. Kombiniranim korištenjem sve manje polarnih otapala uz agresivne ekstrakcijske uvjete može se dobiti veliki broj ekstrahiranih tvari što predstavlja „najgori slučaj“ potencijalnih tvari koje se otpuštaju. Dobra strana ovog pristupa je dobivanje svih mogućih tvari koje se potencijalno otpuštaju, osim onih koje nastaju reakcijom s lijekom i onih koje nisu stabilne u ekstrakcijskim uvjetima. Nedostatak ovog pristupa je dobivanje većeg broja ekstrahiranih tvari, pri čemu nije moguće utvrditi koje od njih su moguće tvari koje će se otpuštati.

Kontrolirana ekstrakcija s tri otapala se mora provoditi za lijekove s najvećim rizikom u odnosu na put primjene lijeka (tablica 2, str. 13). Kontrolirana ekstrakcija s dva otapala se preporučuje za lijekove s manjim rizikom u odnosu na put primjene, a visoki je rizik interakcije komponente spremnika i farmaceutskog oblika. U tablici 10 prikazani su primjeri ekstrakcijskih otapala za lijek koji u svojoj formulaciji sadrži vodu.

Tablica 10. Primjeri ekstrakcijskih otapala

Polarna otapala	Otapala srednje polarnosti	Nepolarna otapala
<ul style="list-style-type: none"> voda 	<ul style="list-style-type: none"> etanol 	<ul style="list-style-type: none"> heksan
<ul style="list-style-type: none"> 50 mM pufer jednake pH vrijednosti kao lijek 	<ul style="list-style-type: none"> voda/izopropilni alkohol, 50/50 	<ul style="list-style-type: none"> metilenklorid
<ul style="list-style-type: none"> 0,9% otopina NaCl (fiziološka otopina) 		

Najčešće tehnike ekstrakcije su ekstrakcija pri temperaturi vrelišta otapala, Soxhlet ekstrakcija, ekstrakcija u pećnici i druge, kao npr. ekstrakcija u ultrazvučnoj kupelji ukoliko ranije navedene tehnike nisu prikladne za ispitivanje materijala spremnika. Potrebno je voditi računa da se postignu dovoljno agresivni uvjeti koji daju podatke o cjelovitom profilu tvari koje se ekstrahiraju iz materijala. Završetak ekstrakcije je trenutak kada ukupna koncentracija ekstrahiranih tvari postane konstantna. Navedeno se može ispitati kromatografskom metodom ili mjerenjem ukupnog organskog ugljika u vodenom ekstraktu. U nekim slučajevima ekstrakcija se prekida prije nego što su sve tvari ekstrahirane, npr. ako su ekstrahirane tvari nestabilne na povišenoj temperaturi. Ekstrakcijske tehnike koje se primjenjuju za hlapljive organske spojeve obično su izravno povezane na analitičke instrumente, a uključuju plinsku kromatografiju s ubrizgivačem para, izravnu toplinsku desorpciju povezanu na plinsku kromatografiju i termogravimetrijsku analizu s plinskom kromatografijom i spektrometrijom masa.

4.11.3 Simulirana ekstrakcija

Simulirana ekstrakcija je ispitivanje kojom se utvrđuje popis najvjerojatnijih mogućih tvari koje se otpuštaju iz materijala. U ovom ispitivanju komponente spremnika se izlažu dvama otapalima različitih polarnosti. Otapala se odabiru na osnovi predmetnog lijeka, pri čemu je prvo otapalo slične polarnosti kao lijek, dok je drugo otapalo manje polarnosti. Npr. za lijek koji je vodeni pripravak prvo otapalo može biti vodeni pufer, a drugo smjesa voda i etanola 80:20. Ekstrakcijski uvjeti koji se koriste zamišljeni su kao ekstremni uvjeti čuvanja lijeka u spremniku te su stoga dobivene ekstrahirane tvari vjerojatno tvari koje će se otpuštati iz spremnika. Navedeno olakšava odabir ciljanih analita za razvoj analitičkih metoda. Simuliranu ekstrakciju se preporuča provesti u slučaju kad se očekuje veliki broj ekstrahiranih tvari u kontroliranoj ekstrakciji, ili u slučaju kada doza lijeka ima veliki volumen (te zato i vrlo nisku AET vrijednost).

Komponente spremnika se mogu izložiti otapalu zasebno ili zajedno. Kada je to moguće, izlaganje spremnika treba prilagoditi na način da što veća površina spremnika bude izložena otapalu po jedinici volumena otapala, u odnosu na omjer izloženosti spremnika s lijekom. Temperatura ekstrakcije treba biti viša od temperature na kojoj se čuva lijek. Vrijeme ekstrakcije treba biti dovoljno dugo kako bi se ekstrahirale sve moguće tvari koje će se otpuštati iz materijala. Vrijeme ekstrakcije od 60 dana je dovoljno u većini slučajeva. Uzorci pojedinih ekstrakcijskih otapala se trebaju čuvati u inertnom spremniku u jednakim uvjetima kao i uzorci dobiveni ekstrakcijom te služe kao slijepa probe.

4.11.4 Identifikacija i kvantifikacija ekstrahiranih tvari

Nakon završetka ekstrakcijskih ispitivanja dobiva se popis ekstrahiranih tvari. Najveći izazov koji slijedi je odabir tvari koje će se najvjerojatnije otpuštati iz materijala, koje tvari predstavljaju najveći toksikološki rizik te koje količine tih tvari su prihvatljive u lijeku.

Tvari koje će se najvjerojatnije otpuštati su one koje su dobivene ekstrakcijom s najpolarnijim otapalom koje je predstavljalo model predmetnog lijeka. Navedeno vrijedi za ekstrahirane tvari u kontroliranoj i simuliranoj ekstrakciji. Ekstrahirane tvari koje se dobivaju u intermedijarnim nepolarnim otapalima se također mogu odabrati kao ciljane tvari koje se otpuštaju, ukoliko korišteno otapalo predstavlja realistični model predmetnog lijeka. Ekstrahirane tvari dobivene s otapalima koja predstavljaju „najgori slučaj“ se odabiru kao ciljane tvari koje se otpuštaju samo ako su jako toksične.

Kao ekstrahirane tvari označavaju se samo pikovi koji nisu uočeni ispitivanjem slijepe probe. Ukoliko se pik koji je vidljiv kod ispitivanja slijepe probe zamjećuje na uzorku ekstrakta sa značajno većim stupnjem odgovora (npr. površina pika na uzorku ekstrakta je tri puta veća nego kod slijepe probe), ovaj pik također treba označiti kao ekstrahiranu tvar, a površinu ispod pika treba ispraviti uzimajući u obzir površinu ispod pika kod slijepe probe. S obzirom da se ne mogu točno predvidjeti sve tvari koje će se ekstrahirati iz materijala, analitičke metode se ne mogu validirati prije analize. Za ispitivanje uzoraka odabiru se prikladne analitičke metode koje bi trebale detektirati većinu hlapljivih, poluhlapljivih i nehlapljivih organskih tvari koje se ekstrahiraju i anorganskih tvari koje se ekstrahiraju. Najčešće korištene metode su plinska kromatografija sa spektrometrijom masa, tekućinska kromatografija s detekcijom ultraljubičastog zračenja i spektrometrijom masa i spektroskopija masa uz induktivno spregnutu plazmu (vidjeti tablicu 11). Pojedine metode će detektirati različite ekstrahirane tvari, s obzirom na razlike u hlapljivosti tvari, a između različitih metoda moguće je djelomično preklapanje rezultata/detektiranih tvari. Ekstrahirane tvari se identificiraju koristeći maseni spektar.

Tablica 11. Pregled najčešće korištenih analitičkih metoda za ispitivanje ekstrahiranih tvari ^[2]

Metoda	Određivane tvari
HSGC-MS (plinska kromatografija s ubrizgivačem para i spektrometrijom masa)	Vrlo hlapljive tvari
GC-MS (plinska kromatografija sa spektrometrijom masa)	Hlapljive i poluhlapljive tvari
HPLC-MS (tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti sa spektrometrijom masa)	Poluhlapljive i polarne tvari srednje i visoke molekularne mase
FTIR (Spektroskopija infracrvenog zračenja s Fourierovom transformacijom)	Tvari visoke molekularne mase, lubrikanti na bazi mineralnih ulja, silikonska ulja i oligomeri
ICP-AES (spektroskopija atomske emisije uz induktivno spregnutu plazmu)	Kemijski elementi (metali i dr.)
IC (ionska kromatografija)	Anioni i kationi

Za analizu hlapljivih organskih ekstrahiranih tvari najčešće se koristi plinska kromatografija s ubrizgivačem para i spektrometrijom masa. Za analizu poluhlapljivih organskih ekstrahiranih tvari najčešće se koristi plinska kromatografija sa spektrometrijom masa kod koje se uzorak unosi direktno na kolonu. Za analizu nehlapljivih organskih ekstrahiranih tvari najčešće se koristi tekućinska kromatografija s detekcijom ultraljubičastog zračenja i spektrometrijom masa. Za analizu anorganskih ekstrahiranih tvari najčešće se koriste spektroskopija atomske emisije uz induktivno spregnutu plazmu i spektroskopija masa uz induktivno spregnutu plazmu.

Ovisno o vrsti materijala spremnika, ponekad je potrebno primijeniti dodatne metode za specifične ekstrahirane tvari. Česti primjer je analiza ekstrahiranih tvari iz elastomera, pri čemu treba primijeniti analitičke metode koje mogu detektirati niske količine nitrozamina i 2-merkaptobenzotiazola. Još jedan primjer je analiza spremnika koji sadrži biljni ugljen pri čemu se trebaju koristiti analitičke metode koje mogu detektirati nisku količinu policikličkih aromatskih ugljikovodika.

Standardi koji se odabiru za analizu organskih ekstrahiranih tvari trebaju predstavljati ekstrahirane tvari koje se očekuju u ispitivanom materijalu. U tablici 12 su prikazani primjeri standarda koji se koriste kod ispitivanja organskih ekstrahiranih tvari iz plastike. Za tekućinsku kromatografiju s detekcijom ultraljubičastog zračenja i spektrometrijom masa standardi se odabiru tako da je najmanje jedan standard detektiran pojedinim načinom detekcije (pozitivna ionizacija, negativna ionizacija, ultraljubičasto zračenje). Standardi za anorganske ekstrahirane tvari su obično kemijski elementi.

Tablica 12. Primjeri standarda za analizu organskih otpuštenih tvari iz plastike

Analitička metoda	Standard
HSGC-MS	butilirani hidroksitoluen heksan oktametilciklotetrasiloksan butanol
GC-MS s direktnim injektiranjem	butilirani hidroksitoluen dodekan heksadekamilciklooktasiloksan 4-metil-2-pentanon metilstearat
LC-UV-MS	Irgafos 168 (pozitivna ionizacija, UV) bis(2-etilheksil)ftalat stearatna kiselina (negativna ionizacija, UV) (pozitivna ionizacija, UV) oleamid (pozitivna ionizacija) Cyanox 1790 (pozitivna i negativna ionizacija, UV) Irganox 1010 (negativna ionizacija, UV) stearatna kiselina (negativna ionizacija) bisfenol A (UV)

Kad god je to moguće, potrebno je potvrditi identitet organskih ekstrahiranih tvari analizom izvornih materijala. Ako su vrijeme zadržavanja i maseni spektar izvornog materijala jednaki kao kod ekstrahirane tvari, potvrđena je identifikacija ekstrahirane tvari. Ako nije dostupan izvorni materijal, identifikacija organske ekstrahirane tvari se može potvrditi ako:

1. maseni spektar odgovara spektru u biblioteci GC-MS standarda
2. potvrđena je molekulska masa ili je ispitan sastav kemijskih elemenata
3. fragmentacija u masenom spektru odgovara kemijskoj strukturi

Ako se ne može potvrditi identitet organske ekstrahirane tvari, a maseni spektar odgovara spektru u biblioteci standarda i u ovom slučaju se može pripisati pouzdana identifikacija. Ako u biblioteci nije pronađen identični maseni spektar, organska ekstrahirana tvar se izvješćuje kao nepoznata tvar. Na temelju masenog spektra može se navesti općeniti opis o strukturi nepoznate tvari, npr. „nepoznati aromatski spoj“. Sve anorganske ekstrahirane tvari se mogu identificirati spektroskopijom masa uz induktivno spregnutu plazmu te je njihov identitet time potvrđen. ^[1]

U cilju potvrđivanja strukture svake pojedine ekstrahirane tvari treba odabrati metodu koja će dati pouzdani rezultat karakterizacije. Kako bi se provela verifikacija strukture ekstrahirane tvari te struktura proglašila potvrđenom, sigurnom ili vjerojatnom, poželjno je poslužiti se vodičem prikazanim u tablici 13.^[2]

Tablica 13. Elementi odlučivanja za potvrdu strukture ekstrahirane tvari

Rezultat	Elementi odlučivanja
Potvrđen	A, B (ili C) i D (ili E)
Siguran	Dovoljno podataka da se potvrde usko povezane strukture
Vjerojatan	Dobiveni podaci su pouzdani samo na razini grupe molekula
Oznaka	Rezultat karakterizacije
A	Fragmentacijsko ponašanje masenih spektara
B	Potvrda molekularne mase
C	Potvrda elementarnog sastava
D	Maseni spektar odgovara spektrima u bazi podataka
E	Maseni spektri i kromatografska retencijska vremena odgovaraju podacima referentnog uzorka

4.11.5 Sigurnosni pragovi

Iako otpuštene tvari predstavljaju posebnu klasu onečišćenja u lijeku, one nisu obuhvaćene sadašnjim regulatornim smjernicama. Pragovi koji se predlažu za otpuštene tvari u lijeku zasnivaju se na sigurnosti pacijenata ili na trenutnim mogućnostima analitičke tehnologije. Sigurnosni pragovi omogućuju određivanje prihvatljive količine otpuštenih tvari na temelju znanstvenih podataka i procjene rizika te se mogu temeljiti na rezultatima iz prekliničkih ispitivanja. Također se uzimaju u obzir dodatni faktori rizika, na primjer put primjene, dnevna izloženost i trajanje liječenja. Budući da se sigurnosni pragovi izvode iz podataka o izlaganju/unosu, razmatraju se u jedinicama kao što je ukupni dnevni unos (TDI, engl. *Total Daily Intake*). Dakle, svaki sigurnosni prag se treba prevesti u jedinice koncentracije (npr. mikrogram/ml), tako da se može primijeniti kao analitički prag u laboratoriju.

Primjer sigurnosnog praga koji se praktično primjenjuje u farmaceutskom razvoju je toksikološki prag (TTC vrijednost, od engl. *Threshold of Toxicological Concern*) za procjenu genotoksičnih onečišćenja, koristeći faktor rizika pojave karcinoma od 10^{-5} (1 u 100 000), odnosno sigurnosni prag za genotoksična onečišćenja od 1,5 mikrogram/dan. Razvoj TTC pristupa daje temelj za izvođenje sigurnosnog praga/SCT vrijednosti (engl. *Safety Concern Threshold*), koji uključuje faktor rizika 10^{-6} (1 u 1 000 000). Ovaj niži prag se smatra prikladnim za otpuštene tvari u lijekovima za primjenu u dišne putove zbog izravne dopreme ovih lijekova u oboljele organe osjetljive populacije pacijenata te uz pretpostavku da je izloženost doživotna. ^[14]

Konzorcij PQRI (*Product Quality Research Institute*) je osim SCT vrijednosti predložio kvalifikacijski prag (QT, engl. *Qualification Threshold*) za otpuštene tvari. Navedeni pragovi su razvijeni i predloženi za pojedinačne otpuštene tvari u lijekovima koji se inhaliraju oralnim putem i lijekovima s primjenom u nos. SCT vrijednost predstavlja najveću količinu tvari kojoj pacijent može biti izložen bez rizika za sigurnost primjene (zanemarivi kancerogeni i nekancerogeni učinci) te se najčešće izražava u mikrogramima otpuštene tvari po danu. PQRI preporučuje korištenje SCT vrijednosti od 0,15 µg/dan za svaku pojedinačnu otpuštenu tvar. Kvalifikacijski prag (QT) je prag

ispod kojeg se nekancerogena otpuštena tvar ne razmatra u procjeni sigurnosti primjene osim ako nema mogućeg značajnog odnosa strukture i aktivnosti. Kvalifikacijski prag za lijekove za primjenu u dišne putove je 5 µg/dan za pojedinačnu otpuštenu tvar. SCT i QT vrijednosti za lijekove za primjenu u dišne putove zasad se primjenjuju i za druge farmaceutske oblike.^{[11][23][24][25]}

Obično nije potrebno provoditi identifikaciju i sigurnosnu procjenu otpuštenih tvari koje su ispod SCT vrijednosti. Otpušteno tvari ispod QT vrijednosti, a koje nemaju strukturu koja upućuje na kancerogenost ili iritaciju obično ne zahtijevaju procjenu sigurnosti rizika. Treba napomenuti da ni SCT niti QT vrijednosti nisu granice koje se propisuju za otpušteno tvari, već su to pragovi za procjenu otpuštenih tvari. SCT vrijednost se ne može koristiti za neke specifične ekstrahirane tvari (nitrozamin, 2-merkaptobenzotiazol) za koje se koriste dostupni podaci iz literature.^[14]

Analitički evaluacijski prag (AET) ukazuje koje tvari u profilu otpuštenih tvari bi trebalo uzeti u obzir za kemijsku karakterizaciju (tj. potvrdu identifikacije), kvantifikaciju, sigurnosnu procjenu i kvalifikaciju. Prag analitičke procjene za pojedinu otpuštenu tvar u nekom lijeku računa se uzimajući u obzir SCT vrijednost (u mikrogramima/dan), broj doza lijeka koje se primjenjuju u jednom danu, broj doza u spremniku i volumen lijeka u spremniku.

$$AET = \frac{SCT (\mu g/dan)}{broj\ doza/dan} \times \frac{broj\ doza\ po\ spremniku}{masa\ spremnika\ (g)} \times faktor\ neizvjesnosti$$

AET vrijednost se izražava u mikrogramima po gramu, ukoliko nisu korištene druge jedinice u izračunu. U nekim slučajevima umjesto mase spremnika koristi se površina spremnika. Faktor neizvjesnosti se koristi kao ispravak pouzdanosti identifikacije i kvantifikacije ekstrahiranih tvari. Sve ekstrahirane tvari koje su prisutne u količini većoj od njihove AET vrijednosti se trebaju odabrati kao ciljane tvari koje se otpuštaju.^{[1][2]}

4.11.6 Ispitivanja tvari koje se otpuštaju iz spremnika

Nakon završetka ekstrakcijskih ispitivanja, iduća tri koraka su:

1. Razvoj analitičkih metoda koje su dostatno osjetljive za detekciju svih ciljanih otpuštenih tvari.
2. Validacija analitičkih metoda.
3. Ispitivanje otpuštenih tvari u uzorcima lijeka čuvanih u spremniku i u propisanim uvjetima čuvanja do kraja propisanog roka valjanosti.

Prvi korak prilikom odabira analitičkih metoda za ispitivanje ciljanih tvari koje se otpuštaju iz materijala je računanje potrebne osjetljivosti metode. Izračun se sastoji od konverzije AET vrijednosti svake ciljane tvari u AET vrijednost u lijeku (AET_{dp}), prema formuli:

$$AET_{dp} = AET (\mu\text{g/g}) \times \frac{\text{masa komponente spremnika (g)}}{\text{ukupni volumen lijeka u spremniku (ml)}}$$

AET_{dp} vrijednost se najčešće izražava u mikrogramima po mililitru. Najvažnije je razviti analitičku metodu koja ima granicu detekcije jednaku ili manju od AET_{dp} vrijednosti. Sve otpuštene tvari koje su u ispitanim uzorcima nađene u količini većoj od AET_{dp} vrijednosti se trebaju izvijestiti.

Odabrane analitičke metode ne moraju biti jednake kao metode korištene u ekstrakcijskim ispitivanjima. Ako je identificiran veliki broj ciljanih tvari koje se otpuštaju, ponekad je potrebno koristiti više analitičkih metoda. Preporuča se koristiti univerzalne i robusne metode kao GC metodu s plamenoionizacijski detektorom ili HPLC metodu s UV detektorom ili detekcijom čestica aerosola s elektroničkim nabojem, ukoliko se njima može postići potrebna osjetljivost.

Za razvoj analitičke metode koja ima potrebnu osjetljivost često je potrebno uložiti dosta truda. Čest je slučaj u kojem je AET_{dp} vrijednost nekoliko puta manja od propisane granice za onečišćenje. Dodatno, matrice lijekova koji su namijenjeni za inhalaciju, parenteralnu i primjenu za oko su često kompleksne pa sam lijek interferira kod detekcije tvari koje se otpuštaju. Stoga je često potrebno posvetiti više vremena pripremi uzorka, koristeći različite tehnike ekstrakcije.

Validacija analitičkih metoda za ispitivanje tvari koje se otpuštaju provodi se u skladu sa smjernicom ICH Q2 (R1) *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*, kada je to moguće. Najčešće je dovoljno ispitati granicu detekcije, granicu kvantifikacije, specifičnost, linearnost, točnost i preciznost.

Tvari koje se otpuštaju iz spremnika potrebno je ispitivati u lijeku koji se čuva u spremniku koji je namijenjen za opremanje lijeka i u propisanim uvjetima čuvanja do kraja propisanog roka valjanosti lijeka. Najjednostavniji i najbolji pristup je uključivanje ovog ispitivanja u ispitivanje stabilnosti lijeka u uvjetima čuvanja koji su namijenjeni tom lijeku. S obzirom da je brzina migracije obično niska, ispitivanje otpuštenih tvari ne treba raditi u početnim vremenskim točkama ispitivanja stabilnosti. Ispitivanje otpuštenih tvari u srednjoj vremenskoj točki i na kraju ispitivanja stabilnosti može biti dostatna ako količine otpuštenih tvari ostaju niske.

Ispitivanje otpuštenih tvari se može provoditi i u ubrzanim uvjetima ispitivanja stabilnosti, ali je pritom potrebno obratiti pažnju kod procjene rezultata. Koncentracija otpuštenih tvari u lijeku ovisi o brzini difuzije otpuštenih tvari kroz materijal spremnika i raspodjeli između materijala spremnika i lijeka (što se može smanjiti kod viših temperatura), a ne o kemijskoj reakciji. Stoga kod ispitivanja otpuštenih tvari nije moguće primijeniti Arrheniusovu jednadžbu.

Općenito, uzorci lijeka za ispitivanje otpuštenih tvari čuvaju se u položaju spremnika namijenjenom za korištenje lijeka. Međutim, u nekim slučajevima potrebno je uzeti u obzir i druge položaje spremnika kako bi se povećao kontakt lijeka s komponentama spremnika. Na primjer, parenteralni vodeni pripravak koji se čuva u staklenoj bočici s gumenim čepom se može čuvati u obrnutom položaju kod ispitivanja otpuštenih tvari, što pruža pouzdaniju ocjenu rizika vezanog uz otpuštene tvari.

Korištenje kontrolnih uzoraka može uvelike pojednostaviti procjenu rezultata o otpuštenim tvarima. Preporuča se čuvati uzorke lijeka u različitim spremnicima u jednakim uvjetima čuvanja i jednakom vremenskom periodu. Rezultati ispitivanja otpuštenih tvari u različitim spremnicima trebali bi pokazati manji broj ili različite vrste otpuštenih tvari (npr. staklena bočica s kapicom premazanom

Teflonom). Ovakva kontrola se koristi za razlikovanje razgradnih produkata matrice od otpuštenih tvari.

U ispitivanju otpuštenih tvari, preporučeno je korištenje uzoraka s placebo koji se čuvaju u istom spremniku kao lijek. Ovi uzorci mogu pomoći potvrditi prisutnost otpuštenih tvari u lijeku, a isto tako otpuštene tvari koje nisu zamijećene u lijeku mogu se otkriti u uzorcima placeba. Ipak, ne može se zaključiti da pik koji je zamijećen na placebo, a ne i u lijeku, nije otpuštena tvar. Lijek može imati učinak na olakšavanje migracije ili može reagirati s otpuštenom tvari.

4.11.7 Toksikološka evaluacija

Toksikološka procjena mogućih otpuštenih tvari ili ekstrahiranih tvari provodi se pretragom baza poput MEDLINE, TOXLINE i TOMES. Toksikološko izvješće treba uključiti podatke o poznatoj toksičnosti tvari za ljude i općenito za sisavce (akutna oralna toksičnost, sistemski učinci), mutagenost i kancerogenost te reproduktivnu toksičnost.

Na kraju ispitivanja otpuštenih tvari, potrebno je procijeniti toksičnost nađenih otpuštenih tvari. Toksikolog treba odrediti SCT vrijednost za svaku nađenu otpuštenu tvar. Ako nisu dostupni literaturni podaci kojima se može utvrditi SCT vrijednost za određenu otpuštenu tvar, preporuča se provesti ispitivanja kojima će se procijeniti toksičnost tvari. Kada se definira SCT vrijednost za svaku otpuštenu tvar, potrebno je izračunati AET_{dp} vrijednost za svaku otpuštenu tvar.

Ako su u lijeku nađene otpuštene tvari u količini većoj od AET_{dp} vrijednosti, proizvođač lijeka treba poduzeti mjere da spriječi izlaganje pacijenata takvim količinama otpuštenih tvari. Proizvođač može skratiti rok valjanosti lijeka te time postići da količina otpuštene tvari ne prijeđe AET_{dp} vrijednost, ili može odabrati drugu vrstu spremnika. U slučaju promjene spremnika, potrebno je ispočetka provesti ekstrakcijska ispitivanja i ispitivanja otpuštanja tvari iz spremnika.

Ako otpuštene tvari nisu nađene u količini većoj od AET_{dp} vrijednosti, proizvođač može propisati rok valjanosti lijeka i uvjete čuvanja na temelju rezultata ispitivanja stabilnosti lijeka. Ako je otpuštena tvar od posebne važnosti, potrebno je razviti metodu kojom će se ispitati svaka serija primarnog spremnika prije opremanja lijeka. Ove metode uključuju ekstrakciju i zatim ispitivanje uzorka analitičkom metodom.

Za toksikološku procjenu proizvođačima lijekova je vrlo korisna baza podataka ELSIE, koju održava konzorcij „*The Extractables and Leachables Safety Information Exchange*“. Baza ELSIE sadrži sigurnosne podatke o tvarima koje se ekstrahiraju i otpuštaju iz različitih materijala, podatke o kontroliranim ekstrakcijama materijala koji se koriste za ispitivanja farmaceutskih spremnika i ekstrakcijama komponenti proizvodne opreme. Trenutno ova baza sadrži sigurnosne podatke za 399 kemijskih spojeva, a daljnjim prikupljanjem podataka će sadržavati sve više sigurnosnih podataka o mogućim ekstrahiranim i otpuštenim tvarima te podatke o velikom broju materijala. Baza je osmišljena kako bi pomogla farmaceutskim tvrtkama u odabiru materijala i dobivanju sigurnosnih podataka rano u procesu razvoja lijeka, a dostupna je samo registriranim članovima uz plaćanje.^[26]

4.11.8 Korelacija između otpuštenih i ekstrahiranih tvari

Korelacija između otpuštenih i ekstrahiranih tvari definira kvalitativnu i kvantitativnu povezanost između otpuštenih tvari u opremljenom lijeku s ekstrahiranim tvarima dobivenim u ispitivanjima ekstrahiranih tvari na pojedinim komponentama spremnika. Korelacije između otpuštenih i ekstrahiranih tvari su važne iz nekoliko razloga, uključujući opravdanost rutinskog ispitivanja ekstrahiranih tvari na komponentama spremnika umjesto ispitivanja otpuštenih tvari tijekom ispitivanja stabilnosti za lijekove visokog rizika vezanog uz otpuštanje tvari i utvrđivanje razloga rezultata analize izvan propisanih granica u lijeku niskog rizika vezanog uz otpuštanje tvari iz spremnika.

Kvalitativna korelacija se može pokazati kad se otpuštenu tvar može povezati izravno ili neizravno s ekstrahiranom tvari (tj. potencijalnom otpuštenom tvari). Na primjer, heksadekanoatna

kiselina zamijećena u profilu otpuštenih tvari se može izravno povezati s heksadekanoatnom kiselinom u profilima ekstrahiranih tvari jedne ili više komponenata spremnika. Etilni ester heksadekanoatne kiseline zamijećen u istom profilu otpuštenih tvari se može neizravno povezati s heksadekanoatnom kiselinom zamijećenom u jednom ili više profila ekstrahiranih tvari ako je etanol poznati sastojak formulacije lijeka te je pokazano da tijekom čuvanja lijeka može doći do reakcije esterifikacije. Da bi postojala odgovarajuća kvantitativna korelacija između otpuštenih i ekstrahiranih tvari, količina bilo koje pojedine otpuštene tvari tijekom čuvanja lijeka do kraja roka valjanosti mora biti matematički povezana s količinom odgovarajuće ekstrahirane tvari. Jedan od jednostavnijih matematičkih odnosa između ekstrahirane i otpuštene tvari je da količina otpuštene tvari u lijeku treba biti manja ili jednaka količini odgovarajuće ekstrahirane tvari. Na primjer, utvrđena je koncentracija butilhidroksitoluena prisutnog u lijeku od 5 mikrograma/mL. Butilhidroksitoluen je također ekstrahiran iz komponente primarnog spremnika u količini od 300 mikrograma/komponenti. Ako spremnik lijeka sadrži jednu od tih komponenti, a opremljeni pripravak ima volumen od 50 mL, može se odrediti korelacija između otpuštenih i ekstrahiranih tvari, s obzirom da je ekstrahirana količina butilhidroksitoluena bila 300 mikrograma/komponenti, a otpustila se u količini od 250 mikrograma (5 mikrograma/ml x 50 ml). Može se zaključiti da je u prosjeku 50 mikrograma butilhidroksitoluena nestalo, a ta količina ili nije otpuštena iz komponente spremnika u formulaciju (vjerojatno) ili je izgubljena u nekom drugom postupku (manje vjerojatno).

Za lijekove visokog rizika vezanog uz otpuštanje tvari iz spremnika, korelacije između otpuštenih i ekstrahiranih tvari se mogu utvrditi ispitivanjem više serija lijeka (u ubrzanim uvjetima čuvanja ili na kraju roka valjanosti) i više serija komponenti spremnika. Ekstrakcijska ispitivanja bi trebala provesti na puno komponenti koje su korištene u proizvodnji/opremanju serija lijeka na kojima se provodi primarno ispitivanje stabilnosti, odnosno na istim serijama lijeka na kojima je provedeno ispitivanje otpuštenih tvari radi određivanja korelacija između otpuštenih i ekstrahiranih tvari.

Ako je maksimalna količina bilo koje specifične otpuštene tvari u formulaciji tijekom ispitivanja stabilnosti znatno veća od izračunate maksimalne količine potencijalne iste otpuštene tvari, kako je utvrđeno u ekstrakcijskom ispitivanju, a ekstrakcijska ispitivanja su provedena na istim

serijama komponenata koje se koriste za opremanje serija koje se ispituju u primarnom ispitivanju stabilnosti, može se zaključiti da je ekstrakcijsko ispitivanje bilo neadekvatno i stoga se ne može uspostaviti korelacija između otpuštenih i ekstrahiranih tvari za tu određenu otpuštenu tvar. U ovom slučaju, potrebno je provesti potpunije ekstrakcijsko ispitivanje u kojem je količina ekstrahirane tvari veća od dobivene količine otpuštene tvari, ili treba propisati granicu za otpuštenu tvar u zahtjevu kakvoće lijeka (s obzirom da se njena količina ne može odgovarajuće ispitati prilikom provjere kakvoće spremnika).

Ako se ne može uspostaviti korelacija između otpuštenih i ekstrahiranih tvari, moguća objašnjenja su: neadekvatna procjena ekstrahiranih tvari iz komponenti spremnika; neprijavljene izmjene u sastavu komponenti spremnika ili proizvodne opreme.^[14]

4.11.9 Primjer identifikacije otpuštene tvari u otopini kapi za oko

U uzorku kapi za oko, otopine koja je opremljena u polupropusnu bočicu od polietilena niske gustoće na kojoj se provodilo ispitivanje stabilnosti, proizvođač je našao nepoznato onečišćenje. Početno ispitivanje uzorka tekućinskom kromatografijom s dvojnomo spektrometrijom masa (LC-MS-MS) pokazalo je da nepoznato onečišćenje nije strukturno slično djelatnoj tvari. Stoga se za nepoznato onečišćenje pretpostavilo da se radi o tvari koja se otpušta iz plastičnog materijala spremnika ili naljepnice na polupropusnim bočicama. Tijekom ispitivanja stabilnosti, nakon 6 mjeseci čuvanja na 40°C/20%RV nađeno je nepoznato onečišćenje u količini većoj od identifikacijskog praga od 0,1% u dva uzorka lijeka. Započeto je istraživanje kako bi se ispitaio izvor ovog onečišćenja te kako bi se ono identificiralo. Također je bilo potrebno utvrditi najveći dozvoljen dnevni unos te tvari. Provedene su kontrolirane ekstrakcije koristeći tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti (HPLC). Ispitivanja LC-MS-MS metodom i plinskom kromatografijom sa spektrometrijom masa (GC-MS) su provedene kako bi se utvrdila struktura nepoznate otpuštene tvari u uzorcima dobivenim kontroliranom ekstrakcijom svih dijelova spremnika te u uzorcima lijeka postavljenih na ispitivanje stabilnosti.

Kontrolirana ekstrakcija provedena je s 50 ml smjese vode i etanola (1:1) na 50°C tijekom 3 dana, pri čemu su ispitani svi dijelovi spremnika.

Metanol iz uzorka se uklonio uparavanjem, a zatim su organske tvari ekstrahirane iz vodene faze etilacetatom. Nakon uklanjanja etilacetata, sakupljene organske tvari otopljene su u metanolu te je uslijedilo ispitivanje tekućinskom kromatografijom sa spektrometrijom masa (LC-MS) i GC-MS metodom.

Na HPLC kromatogramu uzorka lijeka postavljenog na ispitivanje stabilnosti detektiran je nepoznati pik s vremenom zadržavanja od 9,2 min (protonirani molekularni ion m/z vrijednosti 197). Na osnovi spektra masa i spektra apsorpcije ultraljubičastog i vidljivog zračenja, zaključeno je da ova tvar nije strukturno slična djelatnoj tvari. Na HPLC kromatogramu ekstrakta polietilenske bočice sa zatvaračem nije nađen ovaj pik, no nađen je na HPLC kromatogramu ekstrakta naljepnice. S obzirom da naljepnica sadrži adhezivni papir, lak i tintu, provedena su zasebna ispitivanja. Na HPLC kromatogramu ekstrakta adhezivnog papira nije nađen pik traženog onečišćenja pa su zasebno ispitani lak i tinta, nakon otapanja po jedne kapi laka, odnosno tinte u metanolu. Oba uzorka su pokazala pikove s istim vremenom zadržavanja kao pik nepoznatog onečišćenja u uzorku lijeka postavljenog na ispitivanje stabilnosti, no dobiveni UV spektri su bili različiti. Maseni spektar dobiven od uzorka laka odgovarao je onome u uzorku lijeka nakon provedenog ispitivanja stabilnosti, a fragmentacija je također bila slična. Zaključeno je da je nepoznato onečišćenje tvar koja se otpušta iz laka s naljepnice na bočici. Dobiveni podaci o molekularnoj masi i o fragmentaciji molekule nisu bili dostatni za potvrdu strukture. Zatim je korištena GC-MS metoda s kemijskom ionizacijom pri čemu je pik s vremenom zadržavanja od 15,6 min odgovarao protoniranom molekularnom ionu m/z vrijednosti 197. Na masenom spektru uočeni su fragmenti koji odgovaraju fragmentima dobivenim LC-MS metodom, koji su identificirani putem biblioteke spojeva. Potvrđeno je da se radi o monometil derivatu mefenezina koji ima molekularnu masu 196 Da, s obzirom da su se pretpostavljene podstrukture mogućih razgradnih produkata ove molekule podudarale se s fragmentima iz masenih spektara.^[27]

4.12 Razmatranja o zahtjevu kakvoće i granicama za otpuštene tvari u lijeku

Validirane analitičke metode i informacije dobivene primjenom tih metoda u ispitivanju otpuštenih tvari u lijeku mogu se koristiti za razvoj zahtjeva kakvoće i granica za otpuštene tvari u lijeku. U određenim okolnostima, najčešće kod farmaceutskih oblika visokog rizika vezanog uz otpuštanje tvari (npr. lijekovi za primjenu u dišne putove), to može biti korisno, a ponekad i potrebno za redovno praćenje otpuštenih tvari u lijeku. U takvim okolnostima, potrebno je propisati granice za otpuštene tvari. Važno je napomenuti da granice za otpuštene tvari trebaju biti primjenjive na lijek kod puštanja u promet i do kraja roka valjanosti, s obzirom da se otpuštene tvari akumuliraju tijekom čuvanja lijeka. Prilikom izmjene za lijek za koji su propisani zahtjevi i granice za otpuštene tvari, važno je reevaluirati analitičku metodu i propisane granice. Promjene u komponentama spremnika koje rezultiraju povećanjem koncentracije otpuštenih tvari iznad granice kvalifikacije zahtijevati će toksikološku procjenu predloženih granica, kao što bi bio slučaj s bilo kojim onečišćenjem.

Kriteriji prihvatljivosti mogu biti i kvalitativni i kvantitativni za poznate i nespecificirane otpuštene tvari. Na primjer, tipični zahtjev za otpuštene tvari uključuje kvantitativnu granicu za ciljane otpuštene tvari do kraja roka valjanosti lijeka i kvantitativnu granicu za nespecificirane otpuštene tvari (identifikacija nespecificiranih otpuštenih tvari je potrebna za točnu kvantifikaciju i toksikološku procjenu).

Tipičan scenarij za uspostavljanje strogog i opravdanog kriterija prihvatljivosti bi trebao uključivati ispitivanje najmanje tri serije lijeka. Nakon temeljite kemijske i sigurnosne procjene, kriteriji prihvatljivosti za ciljane otpuštene tvari mogu se utvrditi na temelju kvalitativnih i kvantitativnih rezultata ispitivanja otpuštenih tvari, razmatranja proizvodnog postupka, potencijalnog utjecaja otpuštenih tvari na sigurnost, kompatibilnost ili kakvoću lijeka.^[14]

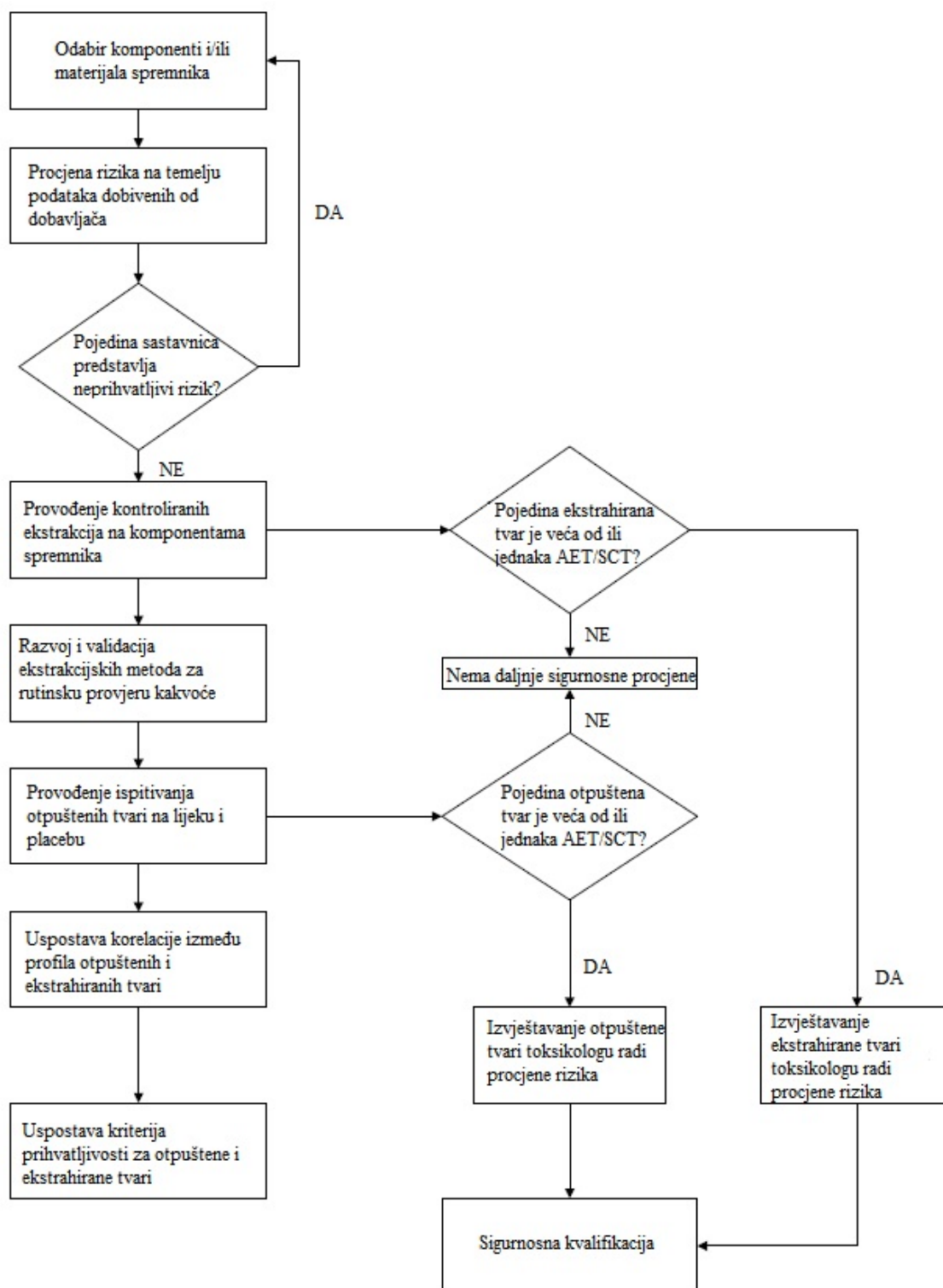
4.13 Sažeti pregled ispitivanja tijekom farmaceutskog razvoja lijeka u svrhu odabira odgovarajućeg farmaceutskog spremnika

Tijekom farmaceutskog razvoja lijeka proizvođači se najčešće fokusiraju na spremnik tek u posljednjim fazama razvoja, no odabir spremnika ne bi trebalo ostaviti za kraj razvoja ukoliko je proizvođaču bitno što prije staviti lijek na tržište. S obzirom na potrebna ispitivanja stabilnosti lijeka i ispitivanja tvari koje se otpuštaju iz spremnika, odabir spremnika treba započeti nekoliko godina prije predviđenog dana stavljanja lijeka na tržište. Za novu vrstu spremnika ili sustav za primjenu potrebno je uložiti više vremena te je potrebno započeti odabir materijala spremnika vrlo rano u farmaceutskom razvoju. Za jednostavnije vrste spremnika i spremnike koji se već koriste za opremanje lijekova, preporučeno je započeti ispitivanja ekstrahiranih/otpuštenih tvari najkasnije dvije godine prije proizvodnje registracijskih serija lijeka.^[28] Proizvođač također treba detaljno proučiti i poznavati vlastiti postupak proizvodnje lijeka, izraditi popis materijala koje koristi u proizvodnji te raspolagati svim važnim podacima koji mogu utjecati na ekstrakciju/otpuštanje tvari iz materijala, kao što su sastav formulacije (pH vrijednost, prisutnost površinski aktivnih tvari), površina doticaja i vrijeme doticaja formulacije s materijalima, temperatura, prethodna obrada spremnika (npr. sterilizacija) itd.

Sigurnosna procjena ili procjena rizika vezanog uz ekstrahirane i otpuštene tvari treba biti dio farmaceutskog razvoja kako bi se utvrdila sigurnost ekstrahiranih i mogućih otpuštenih tvari u ranim fazama razvoja lijeka. Ovu procjenu je moguće provesti u tri ključne točke tijekom farmaceutskog razvoja: tijekom odabira komponenti spremnika i materijala, na ekstrahiranim tvarima dobivenim u kontroliranim ekstrakcijskim ispitivanjima i na otpuštenim tvarima dobivenim tijekom ispitivanja otpuštenih tvari.

Proizvođač treba tijekom razvoja raspolagati što potpunijim podacima o sastavu i postupku proizvodnje pojedinih komponenti spremnika te zaključiti koje komponente su kritične. Nakon početne procjene rizika uobičajeno se provode kontrolirane ekstrakcije uzimajući u obzir izračunati analitički evaluacijski prag (AET) koji se temelji na sigurnosnom pragu (SCT). Dobiveni profili ekstrahiranih tvari se razmatraju s toksikološkog stajališta kako bi se ekstrahirane tvari, odnosno

moguće otpuštene tvari, identificirale rano u razvoju lijeka. Nakon toga mogu se provesti ispitivanja otpuštenih tvari na opremljenom lijeku i može se postaviti odnos između tvari koje se ekstrahiraju i otpuštaju. Po potrebi mogu se propisati dozvoljene granice za otpuštene tvari u zahtjevu kakvoće lijeka. Na slici 6 prikazan je dijagram koji opisuje slijed postupaka vezanih uz ekstrahirane i otpuštene tvari tijekom farmaceutskog razvoja lijeka za primjenu u dišne putove, dok je na slici 7 prikazan primjer postupka kvalifikacije otpuštene tvari uz primjenu sigurnosnih pragova.^[11]



Slika 6. Slijed postupaka vezanih uz ekstrahirane i otpuštene tvari tijekom farmaceutskog razvoja
 KRATICE: AET: analitički evaluacijski prag, SCT: sigurnosni prag

5. Zaključak

Tijekom proizvodnje, opremanja, skladištenja, distribucije i primjene; farmaceutski pripravci i njihovi sastojci mogu stupiti u kontakt s komponentama i materijalima proizvodne opreme, kao i s komponentama primarnih i sekundarnih spremnika. Takav kontakt može dovesti do interakcije između farmaceutskog pripravka i navedenih komponenti i materijala. Jedna od takvih interakcija je migracija ili otpuštanje tvari iz bilo kojih od ovih komponenti i materijala u farmaceutski oblik nakon čega posljedično te tvari dolaze do pacijenta tijekom primjene lijeka. Najveći rizik interakcije lijeka s primarnim spremnikom imaju aerosoli i otopine za inhalaciju, otopine i suspenzije za parenteralnu primjenu te pripravci za oko, što proizlazi iz farmaceutskog oblika i puta primjene lijeka. Za navedene farmaceutske oblike potrebno je posvetiti najviše pažnje prilikom ispitivanja ekstrahiranih i otpuštenih tvari iz farmaceutskih spremnika. Iako je za tekuće farmaceutske oblike vjerojatnost interakcije lijeka s primarnim spremnikom viša, kod procjene otpuštanja tvari iz spremnika potrebno je obuhvatiti i čvrste farmaceutske oblike. Pacijenti također mogu biti izravno izloženi tim tvarima putem izravnog doticaja s farmaceutskim spremnikom ili napravom za primjenu tijekom primjene lijeka.

Pregledom materijala koji se koriste za izradu farmaceutskih spremnika može se zaključiti da materijali izrađeni od plastike i gume predstavljaju veći rizik otpuštanja tvari u lijek, dok su staklo i metalni spremnici manje značajni izvori otpuštenih tvari. Preporučeno je koristiti moderne formulacije plastike, gume i stakla koje sadrže aditive u skladu s regulatornim smjernicama. Također je moguće smanjiti otpuštanje tvari iz gumenih zatvarača i staklenih spremnika površinskom obradom koja smanjuje mogućnost interakcija materijala s formulacijom lijeka.

Tvari koje se otpuštaju iz farmaceutskih spremnika mogu biti organske i anorganske tvari raznovrsnih kemijskih struktura te im se posvećuje posebna pozornost radi potencijalnog sigurnosnog rizika za pacijenta i potencijalnih inkompatibilnosti s lijekom (npr. interakcija s djelatnom tvari, razgradnja djelatne tvari, promjena pH vrijednosti, promjena izgleda, nastajanje čestica, agregacija proteina, strukturne promjene i dr.). Kako bi se ocijenili sigurnosni rizici i moguće inkompatibilnosti, potrebno je identificirati ove tvari i njihove količine koje se mogu akumulirati u lijeku do kraja roka valjanosti. Ovi podaci mogu se koristiti za utvrđivanje opsega izloženosti pacijenta te time i sigurnosnog rizika koji predstavlja pojedina otpuštena tvar, kao i vjerojatnosti nastanka

inkompatibilnosti u lijeku. Slika o ponašanju lijeka u stvarnom okruženju najbolje se može dobiti ispitivanjem otpuštenih tvari tijekom ispitivanja stabilnosti lijeka. Tvari koje postaju predmet praćenja definiraju se tijekom provedbe ispitivanja ekstrahiranih tvari iz materijala, odnosno dijelova farmaceutskih spremnika. Tvari za koje je potvrđena visoka toksičnost i/ili kancerogeno/mutageno djelovanje moraju se pratiti i mora se utvrditi njihov sadržaj u lijeku. Analitičke metode za provjeru kakvoće lijeka za ispitivanje stabilnosti, s ciljem utvrđivanja otpuštenih tvari, moraju se bazirati na iskustvima dobivenim tijekom provođenja ispitivanja ekstrahiranih tvari na materijalima farmaceutskog spremnika, a kod određivanja ciljanih granica detekcije i kvantifikacije treba primijeniti isti princip kao i tijekom ispitivanja ekstrahiranih tvari. Razvijene i validirane metode moraju biti u mogućnosti kvantificirati otpuštene tvari, kao i druge tvari koje mogu nastati kao reakcija otpuštenih tvari i sastavnica formulacije. Uzimajući u obzir ukazanu važnost odabira odgovarajućeg farmaceutskog spremnika i dugotrajnost postupka ispitivanja ekstrahiranih i otpuštenih tvari, važno je započeti s odabirom spremnika u ranim fazama farmaceutskog razvoja. S obzirom da tvari otpuštene iz farmaceutskih spremnika mogu imati utjecaj na kakvoću, djelotvornost i sigurnost primjene lijeka, proizvođači lijekova trebaju odabrati odgovarajuće spremnike te osigurati da količina toksičnih otpuštenih tvari ne poraste do razina koje će ugroziti zdravlje i živote pacijenata.

6. Literatura

1. Moyer KL, Scull J. Extractables and leachables. U: Riley CM, Rosanske TW, Rabel Riley SR, ur. Specification of Drug Substances and Products. Elsevier Ltd.; 2014. 265-289.
2. Berljak I. Belupo stručni prilog, Ekstrahirane i otpuštene tvari. Belupo Glasilo; 2013, 168:46-50.
3. Regulation (EC) No 1935/2004 of the European Parliament and of the council of 27 October 2004 on materials and articles intended to come into contact with food and repealing Directives 80/590/EEC and 89/109/EEC. Official Journal of the European Union; 2004. L338:4-17.
4. Primary packaging materials for medicinal products -- Particular requirements for the application of ISO 9001:2008, with reference to Good Manufacturing Practice (GMP). ISO 15738:2015, Reference number ISO 15378:2015(E), Document published on: 2015-10-01.
5. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use. Official Journal of the European Union; 2001. L311:67-128.
6. Council of Europe. European pharmacopoeia 8.0, 2013. Volume I:373-422
7. Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food. Official Journal of the European Union, 2011. L12:1-89.
8. EUR-Lex, Commission Regulation (EU) No 10/2011, consolidated text. Available at: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:02011R0010-20160914>. Accessed November 1, 2016.
9. Guideline on Plastic Immediate Packaging Materials (Reference number CPMP/QWP/4359/03). The European Medicines Agency, 2005.
10. Note for guidance on impurities in new drug products (Reference number CPMP/ICH/2738/99) The European Medicines Agency, 2006.
11. Safety Thresholds and Best Practices for Extractables and Leachables in Orally Inhaled and Nasal Drug Products. PQRI Leachables and Extractables Working Group, September 9, 2006. Available at http://pqri.org/wp-content/uploads/2015/08/pdf/LE_Recommendations_to_FDA_09-29-06.pdf Accessed November 1, 2016.
12. Paskiet D, Jenke D, Ball D i sur. The Product Quality Research Institute Leachables and Extractables Working Group Initiatives for Parenteral and Ophthalmic Drug Products. PDA J Pharm Sci and Tech 2013, 67 430-447

13. Assessment of Extractables Associated with Pharmaceutical Packaging/Delivery Systems. USP 39-NF 34, The United States Pharmacopeial Convention, 2015. Volume 1:1835-1849.
14. Assessment of Drug Product Leachables Associated with Pharmaceutical Packaging/Delivery systems. USP 39-NF 34, The United States Pharmacopeial Convention, 2015. Volume 1:1850-1861.
15. Notice to Applicants (EudraLex Volume 2B of The Rules governing Medicinal Products in the European Union). Available at http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-2/b/update_200805/ctd_05-2008_en.pdf Accessed November 1, 2016.
16. Directive 2003/63/EC, amending Directive 2001/83/EC for human medicinal products, Annex I, Part 1, Module 3, sections 3.2.1.6, 3.2.2.2 and 3.2.2.7. Official Journal of the European Union, 2003. L159:46-94.
17. Meronek S, Hubball J, Bolgar M, Groeger J. Handbook for the Chemical Analysis of Plastic and Polymer Additives. CRC Press, 2007, str.1–17.
18. Stimuli to the Revision Process: Metal Packaging Systems and Their Materials of Construction for Pharmaceutical Products. U.S. Pharmacopeia Pharmacopeial Forum Issue 39, Volume 4.
19. Tinta. Mrežno izdanje Hrvatske enciklopedije. Available at <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=61384> Accessed November 1, 2016.
20. Biological Evaluation of Medical Devices-Part 12: Sample Preparation and Reference Materials. ISO 10993–12, Reference Number ISO 10993-12:2012(E), Document published on 2012-07-01.
21. Jenke DR, Story J, Lalani R. Extractables/leachables from plastic tubing used in product manufacturing. International Journal of Pharmaceutics; 2006, 315:75–92.
22. Technical Report No. 26. Revised 2008. Sterilizing Filtration of Liquids. PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 2008; Volume 62, No.S-5.
23. Jacobson-Kram D, Snyder RD. Concept and application of safety thresholds in drug development. U: Ball DJ, Norwood DL, Stults CLM, Nagao LM ur. Leachables and Extractables Handbook: Safety Evaluation, Qualification, and Best Practices Applied to Inhalation Drug Products. Wiley, 2012, str.37-44.
24. Vogel WM, The development of safety thresholds for leachables in orally inhaled and nasal products. U: Ball DJ, Norwood DL, Stults CLM, Nagao LM ur. Leachables and Extractables Handbook: Safety Evaluation, Qualification, and Best Practices Applied to Inhalation Drug Products. Wiley, 2012, str.45-58.
25. Norwood DL, Mullis JP, Pennino SJ. The analytical evaluation threshold (AET) and its relationship to safety thresholds. U: Ball DJ, Norwood DL, Stults CLM, Nagao LM ur.

- Leachables and Extractables Handbook: Safety Evaluation, Qualification, and Best Practices Applied to Inhalation Drug Products. Wiley, 2012, str.59-78.
26. Nagao L, Beierschmitt W, Ball D, Shaw A, Beck S. The ELSIE Extractables and Leachables Database. Pharmaceutical Outsourcing, 2011. *Available at* <http://www.pharmoutsourcing.com/Featured-Articles/37828-The-ELSIE-Extractables-and-Leachables-Database/> Accessed November 1, 2016.
27. Pan C, Harmon F, Toscano K, Liu F, Vivilecchia R. Strategy for identification of leachables in packaged pharmaceutical liquid formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 46 (2008) 520–527.
28. Ball DJ, Beierschmitt WP, Shaw AJ. Pharmaceutical container closure systems: Selection and qualification of materials. U: Ball DJ, Norwood DL, Stults CLM, Nagao LM ur. *Leachables and Extractables Handbook: Safety Evaluation, Qualification, and Best Practices Applied to Inhalation Drug Products*. Wiley, 2012, str.217-240.

7. Popis kratica

AET - (*Analytical evaluation threshold*) analitički evaluacijski prag

AETdp - (*Analytical evaluation threshold/drug product*) analitički evaluacijski prag u lijeku

CAS - (*Chemical Abstracts Service*) odjel Američkog kemijskog društva koji dodjeljuje registarske brojeve za kemijske elemente, spojeve, polimere, biološke sljedove, smjese i slitine

CPMP – (*Committee for Proprietary Medicinal Products*) Povjerenstvo za humane lijekove (raniji naziv za CHMP - *The Committee for Medicinal Products for Human Use*)

CTD – (*Common Technical Document*) Zajednički tehnički dokument

ELSIE – (*The Extractables and Leachables Safety Information Exchange*) konzorcij i baza za razmjenu podataka o otpuštenim i ekstrahiranim tvarima

FCM – (*Food contact materials*) jedinstveni identifikacijski broj tvari koji se koriste u materijalima koji su u doticaju s hranom

FTIR – (*Fourier transform infrared spectroscopy*) Spektroskopija infracrvenog zračenja s Fourierovom transformacijom

GC-MS – (*Gas chromatography–mass spectrometry*) plinska kromatografija sa spektrometrijom masa

HPLC – (*High Performance Liquid Chromatography*) tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

HSGC-MS - (*Headspace Gas Chromatography/Mass Spectrometry*) – plinska kromatografija s ubrizgivačem para i spektrometrijom masa

ICH – (*The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*) Međunarodna konferencija o usklađivanju tehničkih zahtjeva za lijekove

ICP-AES - (*Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy*) spektroskopija atomske emisije uz induktivno spregnutu plazmu

IC - (*Ion chromatography*) ionska kromatografija

ISO - (*International Organisation for Standardisation*) Međunarodna organizacija za standardizaciju

LC-MS – (*Liquid chromatography–mass spectrometry*) tekućinska kromatografija sa spektrometrijom masa

LC-MS-MS – (*Liquid chromatography- tandem mass spectrometry*) tekućinska kromatografija s dvojnou spektrometrijom masa

LC–UV-MS – (*liquid chromatography coupled to diode array UV detection and mass spectrometry*) tekućinska kromatografija s detekcijom ultraljubičastog zračenja i spektrometrijom masa

PA – (*Polyamide*) poliamid

PE – (*Polyethylene*) polietilen

PP – (*Polypropylene*) polipropilen

PQRI – (*Product Quality Research Institute*) Istraživački institut za kakvoću proizvoda

PVC – (*Polyvinyl chloride*) polivinilklorid

QT - (*Qualification Threshold*) kvalifikacijski prag

QWP – (*Quality Working Party*) Radna skupina za kakvoću lijekova

Ref. No. – (*Reference number*) referentni broj materijala spremnika Europske ekonomske zajednice

SAR - (*structure–activity relationship*) odnos strukture i reaktivnosti

SCT - (*Safety Concern Threshold*) sigurnosni prag

SML – (*Specific migration limit*) granica specifičnih migracija

SML(T) – (*Total specific migration limit*) granica ukupnih specifičnih migracija

TDI – (*Total Daily Intake*) ukupni dnevni unos

TTC – (*Threshold of Toxicological Concern*) toksikološki prag

USP-NF – (*The United States Pharmacopeia and The National Formulary*) Američka farmakopeja

UV – (*Ultraviolet*) – ultraljubičasto zračenje