

Univerza v Ljubljani  
Fakulteta za farmacijo



BARBARA SKVARČ

**VPLIV TEMPERATURE IN VLAŽNOSTI ZRAKA NA FIZIKALNO-KEMIJSKE  
LASTNOSTI TABLET V OVOJNINI IN DOLOČITEV POGOJEV ZA  
TRANSPORT**

**THE INFLUENCE OF TEMPERATURE AND RELATIVE HUMIDITY ON THE  
PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF TABLETS IN PACKAGING  
MATERIAL AND ESTABLISHING TRANSPORT CONDITIONS**

Ljubljana, 2011

## **IZJAVA**

Izjavljam, da sem magistrsko delo izdelala samostojno pod mentorstvom izr. prof. dr. Odoni Planinška in somentorstvom mag. Katjuše Kreft ter delovnim mentorstvom Damijana Pogačarja, univ. dipl. inž.

Barbara Skvarč

Magistrsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom izr. prof. dr. Odonu Planinška in v Leku, d.d., Ljubljana, v enoti Kontrola kakovosti, pod somentorstvom mag. Katjuše Kreft in delovnim mentorstvom Damijana Pogačarja, univ. dipl. inž.

### **Zahvala**

Iskrena hvala mojemu mentorju prof. dr. Odonu Planinšku, ki me je s svojim znanjem in izkušnjami usmerjal na pravo pot.

Za strokovno oceno tega dela se najlepše zahvaljujem prof. dr. Mariji Sollner Dolenc in doc. dr. Mojci Kerec Kos.

Zahvaljujem se Katjuši Kreft za strokovne nasvete in za izkazano zaupanje že od samega začetka študija.

Damijanu Pogačarju se zahvaljujem, ker me je pri študiju vedno podpiral. Prav tako se mu zahvaljujem za ideje in strokovno pomoč pri izdelavi magistrske naloge.

Vsem neimenovanim, ki so mi kakorkoli pomagali pri nastajanju moje naloge se najlepše zahvaljujem.

Zahvaljujem se vsem odgovornim v Lek d.d., ki so mi omogočili podiplomski študij.

Iz vsega srca se zahvaljujem Juretu, Alenki in Domnu, ki so me vztrajno bodrili in vame zaupali tudi v najbolj zahtevnih trenutkih študija.

Hvala tudi mojima staršema, ki sta me v želji po znanju vedno podpirala.

Predsednica magistrske komisije:

prof. dr. Marija Sollner Dolenc

Članica magistrske komisije:

doc. dr. Mojca Kerec Kos

Ljubljana, junij 2011

**VSEBINA**

<b>VSEBINA</b> .....	<b>I</b>
<b>POVZETEK</b> .....	<b>III</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>V</b>
<b>SEZNAM OKRAJŠAV</b> .....	<b>VII</b>
<b>1 UVOD</b> .....	<b>1</b>
1.1 STABILNOSTNE ŠTUDIJE ZA DOLOČITEV TRANSPORTNIH POGOJEV . 3	
1.1.1 Enomesečna stabilnostna študija transportnih pogojev.....	3
1.1.2 Študija pospešene stabilnosti.....	5
1.1.3 Študija periodičnih temperaturnih sprememb.....	6
1.2 SPECIFIKACIJA IZDELKA IN PARAMETRI TESTIRANJA.....	6
1.3 NEAVTORIZIRANE FIZIKALNO-KEMIJSKE METODE VREDNOTENJA TRANSPORTNIH POGOJEV .....	7
1.3.1 Merjenje spektra tablet v srednjem IR območju s tehniko oslabiljene popolne odbojnosti (ATR) .....	8
1.3.2 Analiza tablet z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM).....	10
1.3.3 Merjenje spektra tablet z NIR spektrofotometrom.....	11
<b>2 NAMEN DELA</b> .....	<b>13</b>
<b>3 MATERIALI IN METODE</b> .....	<b>14</b>
3.1 MATERIALI .....	14
3.1.1 Tablete.....	14
3.1.2 Kemikalije, reagenti.....	15
3.1.3 Filtri in HPLC kolone.....	15
3.1.4 Raztopine za določitev fizikalno-kemijskih lastnosti tablet.....	16
3.2 APARATURE .....	19
3.3 METODE DELA .....	21
3.3.1 Avtorizirane fizikalno-kemijske metode preskušanja tablet .....	21
3.3.1.1 Splošne metode.....	21
3.3.1.2 Fizikalno-kemijske metode preskušanja tablete 1 .....	24

---

3.3.1.3	<i>Fizikalno-kemijske metode preskušanja tablete 2</i> .....	27
3.3.1.4	<i>Fizikalno-kemijske metode preskušanja tablete 3</i> .....	29
3.3.1.5	<i>Fizikalno-kemijske metode preskušanja tablete 4</i> .....	31
3.3.2	<i>Neavtorizirane fizikalno-kemijske metode preskušanja tablet</i> .....	34
3.3.2.1	<i>Merjenje spektra tablet v IR območju s tehniko oslabiljene popolne odbojnosti (ATR)..</i>	34
3.3.2.2	<i>Analiza tablet z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM)</i> .....	35
3.3.2.3	<i>Merjenje spektra tablet z NIR spektrofotometrom</i> .....	35
3.3.2.4	<i>Snemanje tablet z video kamero</i> .....	36
<b>4</b>	<b>REZULTATI IN RAZPRAVA</b> .....	<b>37</b>
4.1	VPLIV TRANSPORTNIH POGOJEV NA FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI TABLET .....	37
4.1.1	<i>Fizikalno-kemijske spremembe tablet določene z avtoriziranimi metodami</i>	38
4.1.2	<i>Spremembe fizikalno-kemijskih lastnosti tablet določene z neavtoriziranimi metodami</i> .....	44
4.1.2.1	<i>Izmerjeni spektri tablet v IR območju s tehniko oslabiljene popolne odbojnosti (ATR)..</i>	45
4.1.2.2	<i>Analiza tablet z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM)</i> .....	52
4.1.2.3	<i>Izmerjeni spektri tablet z NIR spektrofotometrom</i> .....	56
4.1.2.4	<i>Slike tablet posnete z video kamero</i> .....	60
<b>5</b>	<b>SKLEP</b> .....	<b>62</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURA</b> .....	<b>64</b>
	<b>PRILOGA</b> .....	<b>67</b>

---

## POVZETEK

Varnost, kakovost in učinkovitost izdelkov je osnovno poslanstvo farmacevtskega podjetja. Pri tem je pomembno ne le, da so izdelki, ki so sproščeni za trg, ustrezne kakovosti, temveč, da enako kakovostni prispejo do pacienta oz. obdržijo ustrezno kakovost do konca roka uporabnosti. Pri tem je eden izmed ključnih pogojev ustrezen transport, ki je odvisen tudi od postavitve ustreznih pogojev transporta za vsak posamezen izdelek.

Naš cilj je bil proučiti možne pristope k določitvi transportnih pogojev in nadalje preizkusiti enega izmed njih. Izbrali smo Novartisovo enomesečno študijo transportnih pogojev. Študijo smo izvedli na štirih vrstah tablet, ki smo jih poimenovali št. 1, 2, 3 in 4. Omenjene tablete so bile pakirane v različno ovojnino. Tablete smo izpostavili naslednjim temperaturnim pogojem in vplivom relativne vlažnosti zraka: + 50 °C, + 40 °C / 75 % RH, + 30 °C / 65 % RH, + 25 °C, + 5 °C, - 20 °C. Za izvedbo študije smo uporabili avtorizirane (regulatorno odobrene) analitske postopke. Dobljene rezultate smo vrednotili glede na predpisane meje v avtoriziranih specifikacijah. Hkrati pa smo primerjali med seboj rezultate tablet, ki so bili starane pri: + 50 °C, + 40 °C / 75 % RH, + 30 °C / 65 % RH, + 5 °C, - 20 °C z rezultati tablet staranih pri + 25 °C. Na osnovi analiz: barve in videza, trdnosti, izgube mase pri sušenju, vsebnosti vode, vsebnosti zdravilne učinkovine in sorodnih snovi, razkrojnih produktov, vsebnosti sproščene zdravilne učinkovine, razpadnosti in gastrozistence smo tabletam št. 1, 2, 3 in 4 določili transportne pogoje skladno z Novartisovim predpisom. Vsem štirim vrstam tablet smo določili transportne pogoje "Normal", ne glede na uporabljeno ovojnino. Omenjeno pomeni, da se transport omenjenih tablet lahko vrši pri  $T \leq + 40 \text{ °C}$  oz. so tablete lahko izjemoma za en dan izpostavljene  $T \leq + 50 \text{ °C}$ .

Nadalje nas je zanimalo, kako bi dva ekstremna pogoja: + 70 °C in - 70 °C vplivala na stabilnost testiranih formulacij. S temperaturo + 70 °C smo pri vseh štirih tabletah, ne glede na uporabljeno ovojnino, ugotovili neustrezno kakovost glede na specifikacijske predpise, medtem ko temperatura - 70 °C ni kvarno vplivala na kakovost tablet. Za izvedbo študije smo uporabili avtorizirane analitske postopke.

Med transportom in distribucijo ter skladiščenjem lahko pride do kratko ali dolgo trajajoče izpostavljenosti izdelka ekstremnim temperaturnim pogojem, mehanskim obremenitvam in povišani ali znižani vsebnosti relativne vlažnosti zraka. Odločili smo se, da na osnovi pisnih virov poiščemo metode, ki bi neodvisno od avtoriziranih metod podale hitro in zanesljivo oceno ustreznosti tablet. Izbrali smo IR spektroskopijo-tehniko oslABLJENE

popolne odbojnosti (ATR), vrstično elektronsko mikroskopijo (SEM), NIR spektroskopijo in snemanje z video kamero.

Z IR ATR tehniko oslABLJENE popolne odbojnosti smo primerjali spektre tablet št.1, 2, 3 in 4 iz različne ovojnine, ki so bile en mesec izpostavljene + 70 °C s spektri tablet, ki so bile izpostavljene + 25 °C oz. + 30 °C, 65 % RH. Ugotovili smo, da se značilni vrhovi v spektru tablet, ki jim je bila s fizikalno-kemijskimi metodami dokazana neustreznost razlikujejo po obliki in velikosti od tistih, katerih ustreznost je bila dokazana.

Z vrstičnim elektronskim mikroskopom smo analizirali zunanjo površino tablet in površino tablet v prečnem prerezu. Analizirali smo tablete št.1, 2, 3 in 4 iz različne ovojnine, ki so bile en mesec izpostavljene + 25 °C in + 70 °C. Pri gastrorezistentnih tabletah št. 4, ki so bile izpostavljene + 70 °C smo opazili večjo poroznost v primerjavi s tabletami, ki so bile izpostavljene + 25 °C. Za tablete št.1, 2 in 3, v različni obojnini in izpostavljenih en mesec pri + 70 °C, omenjena metoda ni podala ustrezne korelacije z rezultati fizikalno kemijskih meritev.

Spektroskopija bližnjega IR območja nam je z uporabo ustrezno postavljenih modelov in knjižnic podala podatke o istovetnosti zdravilne učinkovine v tabletah št. 1 in 2. Posnete spektre tablet št. 1 in 2, katere smo izpostavili naslednjim enomesečnim temperaturnim pogojem: + 25 °C, + 70 °C in – 70 °C smo primerjali s knjižnico spektrov.

Snemanje tablet z video kamero v vidnem, UV in NIR območju nam je omogočilo bolj natančen pogled površine tablet št.1 in 2 v primerjavi s prostim očesom. Med seboj smo primerjali slike tablet izpostavljene + 25 °C oz. + 30 °C/ 65 % RH, + 70 °C in - 70 °C. Že pri vizualnem pregledu tablet št.1 in 2, ki so bile izpostavljene T = + 70 °C smo ugotovili neustreznost glede na specifikacijske predpise. Pri snemanju z video kamero pa so omenjene nepravilnosti še bolj izstopile.

**ABSTRACT**

The safety, quality and efficacy of products are the basic missions of any pharmaceutical company. It is equally important for products released on the market to meet the standards of quality as it is for them to maintain the same level of quality when they reach the patient and until the end of an expiration date. One of the crucial conditions for this is appropriate transportation, which also depends on setting out appropriate conditions for the transport of each individual product.

Our aim was to study the potential approaches to setting out conditions for transportation and to test one such approach. We chose the Novartis one month study of transport conditions. The study was conducted using four types of tablets, named with the numbers 1, 2, 3 and 4. The tablets which were packaged in different types of packaging, were exposed to the following temperature and relative humidity conditions: + 50 °C, + 40 °C / 75 % RH, + 30 °C/ 65 % RH, + 25 °C, + 5 °C, - 20 °C. Authorised (regulatory approved) analytical procedures were used when conducting the study. The results thus obtained were evaluated based on the prescribed limits in the authorised specifications. At the same time, we compared the results obtained by exposing tablets at: + 50 °C, + 40 °C / 75 % RH, + 30 °C/ 65 % RH, + 5 °C, - 20 °C with the results obtained by exposing tablets at + 25 °C. Based on the analyses of colour and appearance, hardness, loss on drying, water content, the content of the active substance, the content of the related substances and degradation products, dissolution test, disintegration and gastric resistance, the transport conditions for tablets no. 1, 2, 3 and 4 were set out in accordance with the Novartis regulations. The “Normal” transport conditions were chosen for all four types of tablets, regardless of the packaging used. This means that the transportation of these tablets can be carried out at  $T \leq + 40 \text{ °C}$  and that the tablets can be subjected to  $T \leq + 50 \text{ °C}$  for no more than one day in exceptional circumstances.

Additionally, we wanted to determine the influence of extreme conditions of + 70 °C and - 70 °C on the stability of the tested formulations. After exposure to + 70 °C temperatures, all four types of tablets were found to be non-compliance with specification requirements, regardless of the packaging used, while the temperature of - 70 °C had no negative effect on their quality. Authorised analytical procedures were used when conducting the study.

Between transport, distribution and storage, products can be exposed for shorter or longer periods of time to extreme temperature conditions, mechanical loads and increased or reduced relative humidity. We decided to use written sources to find methods that would



provide a fast and reliable evaluation of the condition of the tablets independently of the authorised methods. IR spectroscopy – attenuated total reflectance (ATR), scanning electron microscopy (SEM), NIR spectroscopy and recording with a video camera were the methods chosen.

Using the IR attenuated total reflectance method, we compared the spectrums of tablets no. 1, 2, 3 and 4 from different types of packaging that were exposed to + 70 °C temperature for a month and the spectrums of tablets that were exposed to + 25 °C or + 30 °C / 65 % RH. The results showed that the typical peaks in the spectrum of tablets where non-compliance was determined using physical and chemical methods differ in shape and size from the peaks in the spectrum of tablets that proved to be adequate.

A scanning electron microscope was used to analyse the exterior and cross section surfaces of the tablets. We analysed tablets no. 1, 2, 3 and 4 from different types of packaging that had been exposed to + 25 °C and + 70 °C temperatures for a month. The gastro-resistant tablets no. 4 that had been exposed to + 70 °C were found to have a higher porosity than the tablets that had been exposed to + 25 °C. With tablets no. 1, 2 and 3 in different types of packaging and following one month of exposure to + 70 °C, this method gave no correlation to the results of the physical and chemical measurements.

With the use of correctly positioned models and libraries, the spectroscopy of the near IR area delivered results on the appropriate identity of the active substance in tablets no. 1 and 2. The recorded spectrums of tablets no. 1 and 2 that were exposed to temperatures of + 25 °C, + 70 °C and - 70 °C for a month were compared to the spectrum library.

Taking pictures of the tablets with a video camera in visible, UV and NIR areas enabled us to examine the surface of tablets no. 1 and 2 in more detail than possible with the naked eye. We compared the images of tablets exposed to + 25 °C or + 30 °C / 65 % RH, + 70 °C and - 70 °C. Visual examination of tablets no. 1 and 2 that were exposed to + 70 °C sufficed to determine their non-compliance with the prescribed specifications. Observing with a video camera only served to place an even greater focus on such irregularities.

---

**SEZNAM OKRAJŠAV**

<b>AFM</b>	mikroskopija na atomsko silo, angl. atomic force microscopy,
<b>ATC</b>	anatomsko terapevtska klasifikacija zdravil,
<b>at-line</b>	meritve, kjer vzorec odstranimo iz sistema in analiziramo v neposredni bližini procesa,
<b>ATR</b>	IR tehnika oslabiljene popolne odbojnosti, angl. attenuated total reflectance,
<b>BP</b>	Angleška farmakopeja, angl. British Pharmacopoeia,
<b>CI</b>	digitalna obdelava slik v kemiji, angl. chemical imaging,
<b>DR</b>	IR tehnika razpršene odbojnosti, angl. diffuse reflectance
<b>DSC</b>	diferenčna dinamična kalorimetrija, angl. differential scanning calorimetry,
<b>FDA</b>	Ameriška agencija za hrano in zdravila, angl. Food and Drug Administ.,
<b>FTIR</b>	angl. Fourier transform infrared,
<b>GDP</b>	dobra distribucijska praksa, angl. Good Distribution Practice,
<b>GMP</b>	dobra proizvodnja praksa, angl. Good Manufacturing Practice,
<b>GSP</b>	dobra skladiščna praksa, angl. Good Storage Practice,
<b>HPLC</b>	visokotlačna tekočinska kromatografija visoke ločljivosti, angl. High Pressure liquid chromatography,
<b>ICH</b>	angl. The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use,
<b>in-line</b>	vzorca ne odstranimo iz procesa, meritev je lahko invazivna ali neinvazivna,
<b>IR</b>	spektroskopija v infrardečem območju elektromagnetnega valovanja, angl. infrared spectroscopy,
<b>JP</b>	Japonska farmakopeja, angl. The Japanese Pharmacopoeia,
<b>NIR</b>	spektroskopija bližnjega infrardečega območja, angl. near infrared,
<b>on-line</b>	avtomatsko vzorčenje, vzorec ločimo od sistema in ga lahko ponovno vrnemo v sistem,
<b>PAT</b>	procesno analizna tehnologija, angl. The Process Analytical Technology,
<b>Ph.Eur.</b>	Evropska farmakopeja, angl. European Pharmacopoeia,
<b>SEM</b>	vrstični elektronski mikroskop, angl. scanning electron microscope,
<b>TGA</b>	termogravimetrična analiza, angl. thermogravimetric analysis,
<b>USP</b>	Ameriška farmakopeja, angl. United States Pharmacopoeia,
<b>UV-VIS</b>	spektroskopija v ultravijoličnem oz. vidnem območju elektromagnetnega sevanja, angl. ultraviolet-visible spectroscopy.
<b>XRD</b>	rentgenska difrakcija, angl. X-ray diffraction.

## 1 UVOD

Zagotavljanje varnosti, kakovosti in učinkovitosti izdelkov v farmacevtski industriji je osnovni pogoj za varovanje zdravja bolnikov in uspešno poslovanje farmacevtskega podjetja. Za zagotovitev omenjenega je agencija za zdravila v ZDA (FDA- Federal Drug Administration) izdala že v letu 1963 prvo verzijo GMP (dobra proizvodnja praksa, angl. Good Manufacturing Practice) vodil. Omenjena vodila so vsa leta dopolnjevali in jih v skupini ICH (angl. The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use) tudi harmonizirali. Tako veljajo enaka GMP pravila za vse države, ki so v svoji zakonodaji kot farmacevtski standard uzakonile Ph.Eur., BP, USP ali JP farmakopejo. GMP vodila zagotavljajo, da so farmacevtski izdelki izdelani in kontrolirani skladno s standardi kakovosti, ki so bili določeni ob izdaji dovoljenja za promet z zdravilom. Sestavni del GMP pa sta tudi GDP (dobra distribucijska praksa, angl. Good Distribution Practice) in GSP (dobra skladiščna praksa, angl. Good Storage Practice), ki obravnavata področja skladiščenja, transporta in distribucije zdravil. Omenjena standarda zagotavljata tudi, da so izdelki med transportom in skladiščenjem shranjeni pri ustrezno nadzorovanih pogojih in je v prostoru, kjer so skladiščeni možno ustrezno rokovanje z njimi ter, da je preprečena kontaminacija izdelka iz okolice in obratno. Z vpeljavo omenjenih standardov kakovosti v proces distribucije, skladiščenja in transporta zdravil dosežemo, da zdravilo prispe do uporabnika z nespremenjenimi lastnostmi. Z GDP nadalje zagotovimo tudi, da neustrezne izdelke prepoznamo in v takšnem primeru sprožimo ustrezen korektivni postopek. Za slednje je odgovoren proizvajalec zdravil (1).

Kljub raznolikosti predpisov, ki veljajo za posamezne države na tem področju, je osnova vsem Dobra distribucijska praksa EU in ZDA regulative. V preglednici I so nanizani predpisi EU in ZDA, ki opredeljujejo GDP ter ostali predpisi, ki so jih posamezne države vnesle v svojo regulativo. V Evropi je osnova GDP EU direktiva (angl. Directive of the Board of the European Community 2001/83/EC) (2), medtem, ko je v ZDA regulativa GDP, zbirka predpisov za proizvodnjo, transport in skladiščenje hrane in zdravil z oznako CFR 210/211 (angl. Code of Federal Regulation 21 ) (3) in USP (poglavje 1079, angl. Good storage and shipping practices) (4) .

## Preglednica I: Predpisi o transportnih in skladiščnih pogojih izdelkov po Svetu

<b>Država ali skupina držav</b>	<b>Naziv predpisa</b>
<b>EU, Rusija</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- European Community: Directive of the Board of the European Community Directive 2001/83/EC on the wholesale distribution of medicinal products for human use (1),</li> <li>- Guidelines on good distribution practice of Medicinal products for Human Use 94/C 63/03 (5),</li> <li>- ICH: Stability testing of new drug substances and products Q1A (R2), 6 February 2003 (6),</li> <li>- GMP Quality manual, 14.G Stability testing, update 06, 14.G.3.9 Analysis of transport conditions, Josef Kunzle, Bernd Schreiber (7).</li> </ul>
<b>Irska</b>	Irish Medicines Board: Guide to control and monitoring of storage and transportation temperature conditions for medicinal products and active substances, edition ind 003, version 01, March 2006 (8).
<b>Slovenija</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Zakon o zdravilih: Uradni list RS, št. 31/06 (9) .</li> <li>- Zakon o spremembah in dopolnitvah Zakona o zdravilih: Uradni list RS št. 45/08 (10).</li> <li>- Pravilnik o sistemu za sprejem, shranjevanje in sledljivost zdravil, Ur.l. RS, št. 81/09 (Dobra distribucijska praksa, Dobra skladiščna praksa) (11).</li> <li>- Pravilnik o natančnejših pogojih za promet na debelo z zdravili: Ur.l. RS, št. 75/2003 (12).</li> </ul>
<b>ZDA, Kitajska, Japonska</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- FDA: Code of Federal Regulations 21 CFR- Chapter I- Food and Drug Administration (3): <ul style="list-style-type: none"> <li>o part 210 Current good manufacturing practice in manufacturing, processing, packaging or holding of drugs,</li> <li>o part 211 Current good manufacturing practice for finished pharmaceuticals.</li> </ul> </li> <li>- USP &lt;1079&gt;: Good storage and shipping practices (4).</li> <li>- USP &lt;1150&gt;: Pharmaceutical stability (14).</li> <li>- USP &lt;1118&gt;: Monitoring devices- time, temperature and humidity (13).</li> <li>- USP: General notices: definition of temperatures (15).</li> <li>- ICH: Stability testing of new drug substances and products Q1A (R2), 6 February 2003 (6),</li> <li>- GMP Quality manual, 14.G Stability testing, update 06, 14.G.3.9 Analysis of transport conditions, Josef Kunzle, Bernd Schreiber (7).</li> </ul>
<b>Avstralija</b>	National coordinating committee on therapeutic goods: Australian Code of good wholesaling practice for medicines in schedules 2,3,4 and 8, Effective date 1 April 2011 (16).
<b>Kanada</b>	Health Products and Food Branch Inspectorate: Guidelines for Temperature Control of drug Products during Storage and Transportation, Guide-0069, 28.01.2011(17).
<b>Singapur</b>	Health Sciences Authority: Regulatory guidance, Guidance notes on good distribution practices, August 2010 (18).
<b>Indija in države v razvoju</b>	WHO: GDP For pharmaceutical products, working document QAS/04.068/Rev.2, 2005 (19).

Eden izmed pomembnih pogojev GDP je postavitve ustreznih pogojev transporta za posamezno zdravilo. Transportne pogoje farmacevtskega izdelka določimo že v času njegovega razvoja, na podlagi fizikalno-kemijskih, bioloških ter mikrobioloških lastnosti. Za izdelke, ki se že dolj časa prodajajo, pa je postavitve transportnih pogojev možna tudi na podlagi dolgoletnega poznavanja zdravila (npr. skozi spremljanje dolgoročne stabilnosti) ali na podlagi stabilnostnih študij. S stabilnostnimi študijami proizvajalec ponazori različne zunanje vplive, ki lahko vplivajo na integriteto izdelka med shranjevanjem ali transportom. Med zunanje vplive prištevamo:

- temperaturo (izpostavljenost ekstremnim temperaturnim pogojem),
- relativno vlažnost,
- mehanske obremenitve (vibracije, pritiski, premetavanje), ki lahko poškodujejo ovojnino, vsebnik ali celo vsebino vsebnika,
- kemijske reakcije (interakcije med vsebino vsebnika in okoljem, interakcije med snovmi v vsebniku).

## **1.1 STABILNOSTNE ŠTUDIJE ZA DOLOČITEV TRANSPORTNIH POGOJEV**

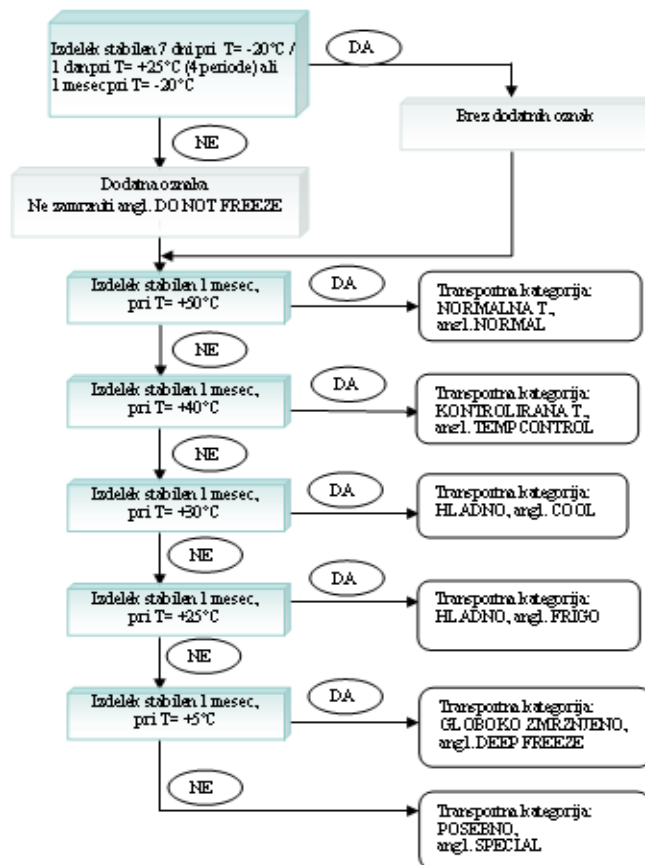
Znanih je več načinov izvedbe stabilnostnih študij, ki so osnova za postavitve transportnih pogojev izdelkov. V nadaljevanju se bomo osredotočili na naslednje: enomesečna stabilnostna študija transportnih pogojev, študija pospešene stabilnosti in študija periodičnih temperaturnih sprememb.

### **1.1.1 Enomesečna stabilnostna študija transportnih pogojev**

S testom skušamo ponazoriti transport izdelka, ki običajno ne poteka dlje od enega meseca. Izvedemo ga tako, da končni izdelek v obojnini za en mesec izpostavimo različnim temperaturnim pogojem:  $T = + 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $+ 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $+ 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $+ 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $+ 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $- 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Nato izvedemo fizikalno-kemijsko testiranje in rezultate testiranja primerjamo s specifikacijskimi mejami. Hkrati primerjamo med seboj rezultate testiranja izdelkov, ki so bili izpostavljeni  $+ 25\text{ }^{\circ}\text{C}$  in rezultate testiranja izdelkov, ki so bili izpostavljeni:  $T = + 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $+ 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $+ 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $+ 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $- 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Na koncu postavimo ustrezne transportne pogoje, glede na odločitveno

drevo, ki ga prikazuje preglednica II. V preglednici III so navedene kategorije pogojev pri katerih transportiramo izdelek, da ohrani svojo kakovost (20, 21).

**Preglednica II: Odločitveno drevo za določitev transportnih pogojev zdravila.**



**Preglednica III: Kategorije pogojev shranjevanja zdravil med transportom.**

Transportna kategorija	Transportni pogoji	Kratko-trajajoči transport ( $\leq 1$ dan)	Dodatne opombe
<b>DEEP FREEZE</b> (shranjaj in transportiraj zamrznjeno)	$\leq -15^{\circ}\text{C}$	$\leq +5^{\circ}\text{C}$	-
<b>FRIGO</b> (shranjaj in transportiraj v hladilniku)	$2-8^{\circ}\text{C}$ shranjeno v termo posodah	$\leq +25^{\circ}\text{C}$	Izdelkom, ki jih ne smemo zamrzovati, dodamo opombo "DO NOT FREEZE"
<b>COOL</b> (shranjaj v hladilniku)	$2-8^{\circ}\text{C}$ shranjeno v kartonasti ovojnini	$\leq +30^{\circ}\text{C}$	
<b>TEMPERATURE CONTROL</b> (shranjaj pod $+30^{\circ}\text{C}$ )	$\leq +30^{\circ}\text{C}$	$\leq +40^{\circ}\text{C}$	
<b>NORMAL</b>	$\leq +40^{\circ}\text{C}$	$\leq +50^{\circ}\text{C}$	
<b>SPECIAL</b>	Ovisno od primera.		

### 1.1.2 Študija pospešene stabilnosti

S študijo pospešene stabilnosti (angl. accelerated stability) skušamo oceniti vpliv kratko trajajočih odklonov od predpisanih pogojev shranjevanja, do katerih lahko pride med transportom ali shranjevanjem.

Teste izvedemo z najmanj šest-mesečno izpostavljenostjo končnega izdelka v ovojnini pogojem nanizanim v preglednici IV.

Kot primer lahko vzamemo izdelek v končni ovojnini, ki je izpostavljen šest mesečnemu testiranju pri temperaturi  $+ 40\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$  in relativni vlažnosti zraka  $75\% \pm 5\%$ . Izdelek testiramo s fizikalno-kemijskimi metodami, v najmanj treh točkah: ob času 0, po 3 in po 6 mesecih in rezultate primerjamo s specifikacijskimi zahtevami. V primeru, da so rezultati znotraj specifikacijskih mej, je ustrezno shranjevanje za omenjen izdelek: pri kontrolirani sobni temperaturi  $20 - 25\text{ °C}$ .

Če pri pospešeni stabilnosti ugotovimo večje spremembe v fizikalno- kemijskih lastnostih izdelka glede na specifikacijske meje (previsoka ali prenizka trdnost tablet, povišana vsebnost sorodnih snovi, sprememba vsebnosti zdravilne učinkovine za najmanj 5 %, glede na začetno testiranje, neustreznost testa raztapljanja na 12 tabletah), moramo izvesti dodatna testiranja pri pogojih študije vmesne pospešene stabilnosti (angl. intermediate study). Študijo izvedemo z najmanj 12 mesečno izpostavljenostjo končnega izdelka v ovojnini naslednjim vplivom temperature in relativne vlažnosti zraka:  $+ 30\text{ °C} \pm 2\text{ °C}/65\% \text{ RH} \pm 5\% \text{ RH}$ . Fizikalno-kemijske analize ustreznosti izdelka izvedemo v najmanj štirih točkah: 0, 6, 9 in po 12 mesecih. Rezultate analiz vrednotimo skladno z mejami v specifikaciji izdelka (6).

**Preglednica IV: Pogoji testiranja pospešene stabilnosti.**

Pogoji shranjevanja	Pogoji testiranja
Kontrolirana sobna temperatura 20-25 °C	40 °C ± 2°C in 75% RH ± 5% RH, 6 mesecev
Shranjevanje v hladilniku 2-8 °C	25 °C ± 2°C in 60% RH ± 5% RH, 6 mesecev
Shranjevanje v zmrzovalniku -20 do -10 °C	5 °C, 6 mesecev

### 1.1.3 Študija periodičnih temperaturnih sprememb

S študijo periodičnih temperaturnih sprememb (angl. thermal cycling studies) skušamo ponazoriti temperaturne spremembe in spremembe relativne vlažnosti zraka, do katerih prihaja med transportom izdelka.

Test izvedemo skladno s pogoji v preglednici V. Tako lahko izvedemo periodično študijo na naslednji način: za dva dni zamrzujemo izdelek pri  $T = -20\text{ °C}$ , nato za dva dni izpostavimo izdelek  $T = +40\text{ °C}$ , 75 % RH. Omenjeno ponovimo v 3 ciklih in za tem izvedemo fizikalno-kemijsko testiranje. V primeru, da se rezultati nahajajo znotraj specifikacijskih mej, izdelek ustreza naslednjim pogojem shranjevanja: kontrolirana sobna temperatura 20 - 25 °C (22).

**Preglednica V: Pogoji testiranja študije periodičnih sprememb temperature.**

Pogoji shranjevanja	Pogoji testiranja
Kontrolirana sobna temperatura 20-25 °C	-20 °C za 2 dni, nato 40 °C / 75% RH za 2 dni
Shranjevanje v hladilniku 2-8 °C	-20 °C za 2 dni, nato 25 °C / 60% RH za 2 dni
Shranjevanje v zmrzovalniku -20 do -10 °C	-20 °C za 2 dni, nato 5 °C za 2 dni

## 1.2 SPECIFIKACIJA IZDELKA IN PARAMETRI TESTIRANJA

Rezultate stabilnostnih študij je potrebno ovrednotiti, kar izvedemo s primerjavo dobljenih rezultatov s specifikacijskimi mejami izdelka. Specifikacijo izdelka pripravi proizvajalec že v razvojni fazi izdelka. Specifikacija je eden izmed najpomembnejših dokumentov za zagotavljanje kakovosti farmacevtskega izdelka ter je sestavni del registracijske dokumentacije, ki jo proizvajalec priloži regulatornemu organu v državi, v kateri zaprosi za dovoljenje za promet z zdravilom. Po pridobitvi dovoljenja za promet z zdravilom specifikacija in ostala dokumentacija pridobi status odobrene dokumentacije oz. avtorizirane dokumentacije.

Specifikacija vsebuje parametre in meje vrednotenja za sproščanje zdravila na trg, kot tudi za spremljanje kakovosti zdravila tekom tekoče stabilnosti do konca roka uporabnosti. Parametre testiranja v specifikaciji določi proizvajalec zdravila na osnovi izkušenj,



fizikalno-kemijskih lastnosti zdravila in drugih podatkov o zdravilu pridobljenih v razvojnem obdobju izdelka. V primeru, da za izdelek že obstaja monografija v farmakopeji, lahko prevzame določitve in meje vrednotenja kar iz obstoječe monografije v farmakopeji. V primeru, da prevzame farmakopejsko monografijo v celoti (analitski postopki in specifikacijske meje ostanejo enake farmakopejskim) lahko izdelek deklarira skladno s farmakopejo (USP, BP). V takšnem primeru izvede le delno validacijo metod.

Osnovna vodila glede postavitve specifikacijskih parametrov za zdravilo se nahajajo v ICH smernicah: Q6A- angl. Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances (including Decision Trees) in Q1A (R2) - angl. Stability testing of new drug substances and products. Omenjeni smernici priporočata delitev mej vrednotenja v specifikacij na meje ob sproščanju zdravila (angl. release) in na meje za spremljanje zdravila do konca roka uporabnosti (angl. shelf life). Pojasnjujeta tudi, da je pri dolgoročni stabilnosti smiselno testirati parametre, ki se spreminjajo med shranjevanjem izdelka. Nadalje navajata, da je potrebno s testiranjem preveriti fizikalno-kemijske, biološke in mikrobiološke lastnosti izdelka. Dotakneta se tudi uporabe analitskih metod, ki morajo biti stabilnostno indikativne in validirane. Med najbolj uporabljenimi so naslednje: UV-VIS in IR spektrofotometrija ter HPLC.

Med osnovne specifikacijske parametre, ki jih spremljamo na dolgoročni stabilnosti, sodijo naslednje fizikalno-kemijske in mikrobiološke metode: barva, videz, trdnost, izguba mase pri sušenju, vsebnost vode, vsebnost zdravilne učinkovine in sorodnih snovi, test raztapljanja zdravilne učinkovine, razpadnost in mikrobiološka kakovost (23).

### **1.3 NEAVTORIZIRANE FIZIKALNO-KEMIJSKE METODE VREDNOTENJA TRANSPORTNIH POGOJEV**

Kadar se med transportom in distribucijo ter skladiščenjem pripetijo ekstremni dogodki kot so: dalj trajajoča izpostavljenost izdelka visokim ali izredno nizkim temperaturnim spremembam, mehanske poškodbe itd., mora proizvajalec podati hitro oceno o ustreznosti izdelka. V takšnih primerih je klasično HPLC testiranje zamudno, zato nas je zanimalo ali bi ga morda lahko nadomestili s hitrejšimi metodami. Na osnovi pregleda literature smo

predpostavili, da bi lahko za hitro oceno ustreznosti tablet po izpostavitvi ekstremnih pogojev transporta uporabili naslednje metode:

1. Merjenje spektra tablet v IR območju s tehniko oslabiljene popolne odbojnosti (ATR)
2. Analiza tablet z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM)
3. Merjenje spektra tablet z NIR spektrofotometrom
4. Snemanje tablet z video kamero

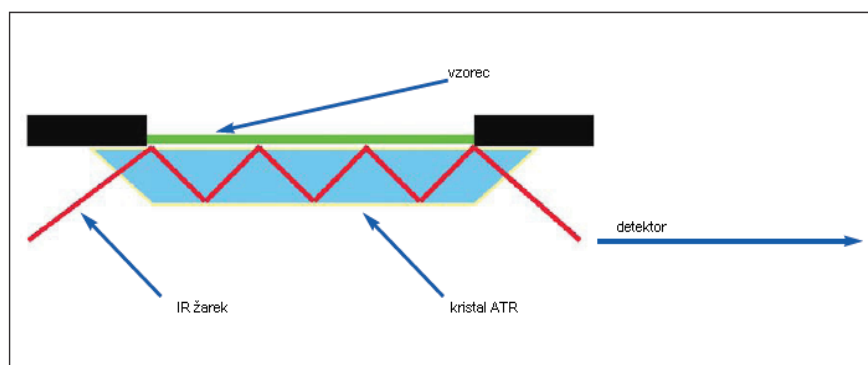
### **1.3.1 Merjenje spektra tablet v srednjem IR območju s tehniko oslabiljene popolne odbojnosti (ATR)**

IR spektroskopija srednjega območja IR je metoda, pri kateri pride do interakcij elektromagnetnega (EM) valovanja s snovjo v območju valovne dolžine: 3 – 50  $\mu\text{m}$  (24). Energija EM valovanja se prenese na absorbirajočo molekulo, kar povzroči vibracije ali rotacije molekul. IR EM valovanje absorbirajo le molekule, ki imajo dipolni moment (vektor usmerjen od negativnega k pozitivnemu naboju). IR spekter predstavlja "prstni odtis" vzorca z absorpcijskimi vrhovi, ki ustrezajo frekvenci vibracij med atomi. Vibracije so odvisne od jakosti vezi med atomi, od mase atomov in razporeditve le teh. Različni materiali so sestavljeni iz edinstvene kombinacije molekul in atomov, zato niti dva materiala ne dajeta popolnoma enakih IR spektrov. Zato IR spektroskopijo srednjega območja IR uvrščamo med specifične metode. Uporablja se za določitev prisotnosti posameznih funkcionalnih skupin (npr. - NH, - OH, - CH, - C=O, - C $\equiv$ N, - C=C) v vzorcu in za testiranje identifikacije zdravilnih učinkovin ali pomožnih snovi. V primeru identifikacije neznane snovi primerjamo IR spekter neznane snovi z IR spektrom znane snovi, ki se nahaja v knjižnici spektrov računalnika ali jo primerjamo s spektrom znane snovi, ki jo imamo na razpolago. Identifikacija je ustrezna, če se značilni vrhovi v spektru iskane snovi in značilni vrhovi v predhodno analiziranem spektru znane snovi ujemajo ter je razmerje med vrhovi primerljivo. Poleg tega lahko IR spektroskopijo uporabljamo tudi za ugotavljanje količine zdravilne učinkovine ali pomožnih snovi v farmacevtskih izdelkih, saj višina vrhov v IR spektru predstavlja sorazmerno količino prisotne substance, ter za ugotavljanje prisotnosti amorfnе ali kristalne oblike snovi (25).

FT-IR spektroskopija je izpeljanka IR, zato kot vir uporablja IR EM valovanje. Namesto prizme ali drugih optičnih elementov uporablja interferometer, ki pretvori vse valovne

dolžine IR EM valovanja v edinstven tip signala interferogram. Kar pomeni, da lahko absorpcijo vzorca pri vseh valovnih dolžinah izmerimo istočasno, zato je hitrejša metoda od klasičnega IR.

ATR (angl. Attenuated Total reflectance; tehnika popolne odbojnosti) FT-IR je izvedenka FT-IR. Princip merjenja pri FT-IR temelji na potovanju IR žarka, ki prehaja iz gostejšega (ATR kristal) v redkejši medij (vzorec). Ob tem pride na stiku obeh površin do popolnega odboja. Število odbojev je odvisno od kota vpadnega žarka. Preden se žarek odbije, prepotuje majhno razdaljo v redkejši medij in če pride v redkešem mediju do absorpcije sevanja določene valovne dolžine, je odbiti žarek oslavljen in nosi podatek o absorpcijskih lastnostih redkejšega medija- vzorca (slika 1). Oslabljeni žarki, ki zapustijo kristal, se zberejo na detektorju. Sistem nato iz izbranih signalov na detektorju ustvari IR spekter.



**Slika 1: Potovanje žarka pri ATR tehniki**

ATR FT-IR se uporablja predvsem za identifikacijo površine materialov (26, 27, 28). V literaturi (29) je naveden primer uporabe FT-IR za spremljanje stabilnosti zdravilne učinkovine nelfinavir mesilata v zdravilu (ATC, J05A). Raziskovalci so izvedli stabilnostno študijo stresnih pogojev, skladno z ICH smernicami (6). Zdravilno učinkovino so izpostavili temperaturnim obremenitvam (od 25 do 300 °C), svetlobi (7 dni, direktna svetloba), hidrolizi s kislino in bazo (metanolni raztopini nelfinavir mesilata so dodajali 1 N NaOH ali 1 N HCl) ter oksidaciji (metanolni raztopini nelfinavir mesilata so dodajali 5-30 % (v/v) vodikovega peroksida). Nato so spektre dobljene z ATR FT-IR in z DR FT-IR tehnikama primerjali s komplementarnimi tehnikami DSC, TGA, XRD, HPLC in dokazali korelacijo. Pokazale so se pomembne razlike v višini in obliki vrhov med spektri zdravil, ki so bila izpostavljena ekstremnim pogojem, v primerjavi s tistimi, ki niso bila izpostavljena.

### 1.3.2 Analiza tablet z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM)

Vrstični elektronski mikroskop deluje na enakem principu kot optični mikroskop, le da kot vir svetlobe uporablja elektrone. Elektronski curek primarnih elektronov tipa površino po vzporednih črtah. Ko elektronski snop trči na površino vzorca, nastanejo pri tem odbiti in sekundarni elektroni ter EM valovanje. Pri tem so odbiti elektroni tisti, ki pri vstopu v vzorec doživijo več trkov in spremenijo smer gibanja, tako, da zapustijo vzorec. Medtem, ko so sekundarni elektroni tisti, ki so bili v vzorcu, pa so jih primarni elektroni z elastičnimi trki izbili iz vzorca. Intenziteta produktov interakcij med elektronskim snopom in vzorcem je v veliki meri odvisna od kemijske sestave vzorca na tem mestu in od stanja površine. Ustrezen detektor zajame sekundarne elektrone, pri tem pa nastane v detektorju električni signal. Področja, kjer je vrstno število večje, je svetlejša kot področje z manjšim vrstnim številom, saj je število odbitih elektronov sorazmerno vrstnemu številu. Vrstični elektronski mikroskop ima globinsko ostrino do 1000 krat boljšo od svetlobnega mikroskopa in ločljivost 100 krat večjo od svetlobnega mikroskopa. Celotna elektronska slika ne nastane naenkrat, temveč z zaporednim premikanjem elektronskega curka po raziskovani površini.

SEM je sestavljen iz: elektronskega topa, v katerem nastane snop pospešenih elektronov, elektronskih leč, ki služijo za fokusiranje in odklanjanje elektronskega curka, detektorjev, ki sprejmejo elektrone in krmilja, ki ustvari sliko EM valovanja. Poleg tega je potrebna tudi vakuumsko enota, ki v komori zagotavlja nizek tlak do 0,00001 Pa (30, 31). SEM se uporablja za opazovanje površine in strukture vzorcev. V raziskavi so Seitavuopio in sodelavci skušali poiskati najustreznejšo metodo za ocenitev površine tablet (32). KCl in NaCl tablete so preiskovali z različnimi tehnikami: AFM, SEM, optično mikroskopijo in drugimi. Ugotovili so, da se SEM lahko uporablja kot pomožna metoda k AFM metodi za opredelitev hrapavosti površine vzorca, da pa ni najustreznejša za kvantifikacijo površine vzorca.

SEM lahko uporabljamo tudi za opredelitev faze granulacijskega procesa, kar so v raziskavi proučevali Oberegger in sodelavci. Raziskovalci so proučevali dve različni metodi granulacije s talino. Pri prvem postopku granulacije s talino so se večji delci veziva povezali z manjšimi delci ostalih komponent. Temperaturo granulacije so v tem primeru zvišali le do točke, da je postala zunanja površina večjih delcev veziva lepljiva. Na lepljivo površino delcev veziva so se nato vezali manjši delci ostalih komponent. Tako je nastala na

površini delca veziva mikro plast manjših delcev. Takšen granulacijski proces je imel za posledico nastanek delcev z enako porazdelitvijo velikosti kot so originalni delci veziva. Pri drugem postopku granulacije pa je bila temperatura granulacije takšna, da so delci veziva tvorili cementne mostičke med nestaljenimi delci, kar je imelo za posledico dobro premešanje komponent in tvorbo granul (33).

Nadalje so SEM uporabili tudi Platteeuw J.J. in sodelavci (34) za Tamsulozin tablete, ki se uporabljajo za zdravljenje benigne hipertrofije prostate (ATC, G04C). Raziskovalci so spremenili tehnološki postopek tako, da so odstraniti vodo iz granulacijskega procesa z namenom zmanjšati porabo časa in energije. Poleg tega so skušali preprečiti nastanek razkrojnih produktov, ki lahko nastanejo v fazi sušenja zrn. Nov tehnološki postopek omogoča izdelavo tablet brez uporabe tekočine, saj je zdravilna učinkovina razpršena v pomožnih snoveh. Dokazali so, da je s SEM mogoče identificirati tablete izdelane po obeh tehnoloških postopkih. V tabletah, ki so izdelane s "suho" tehnologijo, delci tamsulozina in vsaj ene pomožne snovi ohranijo svojo prvotno obliko in velikost, medtem, ko se delci tamsulozina pri vlažni granulaciji zaradi vode združujejo s pomožnimi snovmi ali med seboj v aglomerate.

### 1.3.3 Merjenje spektra tablet z NIR spektrofotometrom

NIR je spektroskopska metoda z elektromagnetnim valovanjem v območju bližnjega IR z valovno dolžino:  $0,78 - 3 \mu\text{m}$  (24). Gibanje molekul temelji, ravno tako kot pri srednjem IR, na vibraciji in rotaciji atomov znotraj molekul. Intenziteta vrhov in ločljivost sta v NIR območju veliko slabša (10- 1000 krat), kot v srednjem IR območju. V NIR območju vidimo tudi mnogokratnike osnovnih nihajnih frekvenc. Ta nihanja imenujemo višji harmonični toni. Ker ima vsaka molekula več različnih nihanj, se le-ta lahko pojavijo tudi kot kombinacije osnovnih nihajnih frekvenc. Tako v NIR območju opazujemo višje harmonične tone in kombinacije nihanj osnovnih frekvenc. V določenih primerih lahko z NIR spektroskopijo dobimo več informacij o kemijskih in fizikalnih lastnostih vzorca (npr. velikost delcev, površinske lastnosti), kot če opazujemo vzorec v srednjem IR območju. Zaradi nižje intenzitete vrhov v NIR območju ni potrebno razredčevati vzorcev s KBr ali parafinskim oljem, temveč lahko snemanje spektrov izvedemo direktno na nerazredčenih vzorcih. Zato je NIR spektroskopija hitra in nedestruktivna tehnika. Z NIR je mogoče

analizirati organske snovi, ki vsebujejo tudi C-H, N-H, O-H in S-H vezi. Tako lahko identificiramo zdravilne učinkovine in pomožne snovi s primerjavo analiziranih spektrov referenčnih standardov ali s pomočjo izdelanih knjižnic spektrov, ki si jih izdelamo sami. Poleg tega lahko izvedemo z NIR tudi kvantitativno analizo posameznih snovi. Pri kvantitativni analizi je NIR sekundarna metoda. Najprej je potrebno z neko drugo tehniko (npr. HPLC) določiti točne vrednosti in izdelati na podlagi tega kalibracijski diagram. NIR uporabljamo tudi za določevanje porazdelitve velikosti delcev. Uporabna vrednost NIR pa je bila dokazana tudi za identifikacijo, vsebnost in enakomernost vsebnosti zdravilne učinkovine, testa raztapljanja, trdnosti in določanje vsebnosti vode v farmacevtskih izdelkih. Avtorica Reich omenja veliko uporabno vrednost NIR za vrednotenje stabilnosti tablet (35). Za primer navaja spremljanje hidrolize acetilsalicilne kisline v salicilno kislino zaradi adsorpcije vode na tableto, kar se odraža na spektrih tablet pred in po hidrolizi. Poleg tega omenja tudi veliko uporabno vrednost NIR pri ugotavljanju polimorfizma (polimorfizem pa pomeni, da snov lahko kristalizira v različnih tipih kristalnih rešetk). Prehod iz ene polimorfne oblike v drugo ima za posledico spremembe v fizikalno kemijskih lastnostih substance. Spremeni se lahko temperatura tališča, gostota, topnost, hitrost raztapljanja, mehanske lastnosti kristalov, oblika in barva delcev, površinska energija, higroskopnost in stabilnost, kar vpliva na biološko uporabnost zdravila in je povezano s kakovostjo izdelka.

Z NIR spektroskopom lahko merimo refleksijo ali transmisijo. Aparatura, ki jo uporabljamo za merjenje refleksije ali transmisije v NIR območju svetlobe, se imenuje NIR spektroskop. S transmitanco merimo svetlobo, ki prehaja skozi vse plasti vzorca in prodre v globino, zato jo lahko uporabljamo za ugotavljanje homogenosti vzorca. Z refleksijo ali odbojnostjo pa merimo razpršeno odbojno energijo, ki prodre manj kot 1 mm v globino vzorca in jo lahko uporabljamo za merjenje debeline oblog, kar ima lahko velik pomen pri vrednotenju tablet s prirejenim sproščanjem. NIR spektroskop je sestavljen iz: vira svetlobe, detektorja in uklonske mrežice ter računalnika s katerim obdelujemo podatke.

Tradicionalna NIR je zelo robustna in fleksibilna tehnika, ki ima široko območje uporabe tako v kemijski analitiki kot v različnih razvojnih in industrijskih področjih. Uporaba NIR-CI (angl. Chemical imaging) pa nudi dodatno informacijo prostorske razporeditve, kar omogoča boljše razumevanje tehnološkega procesa in posledično ustrezno kontrolo proizvodnih procesov surovin in končnih izdelkov, kar lahko uporabimo v PAT (Procesno

Analizne Tehnologije) tehnologiji. Tako lahko NIR vključimo v “at-line”, “in-line” in “on-line” meritve tehnoloških procesov proizvodnje zdravil. Na ta način zagotovimo, da kljub spremenljivim vstopnim surovinam in s pomočjo fleksibilnega procesa dobimo ustrezno kakovosten izdelek (36, 37, 38).

## 2 NAMEN DELA

Osnovni namen magistrskega dela je določiti transportne pogoje tablet v ovojnini, ki zagotavljajo ustreznosti izdelka tudi med transportom in poiskati dodatne-neavtorizirane metode preskušanja, ki bi podale hitro informacijo o njegovi ustreznosti.

Izvedli bomo stabilnostno študijo transportnih pogojev tablet na štirih vrstah tablet, ki smo jih poimenovali s številkami 1, 2, 3 in 4. Tablete bomo izpostavili naslednjim temperaturnim pogojem in vplivom relativne vlažnosti zraka: + 50 °C, + 40 °C / 75 % RH, + 30 °C / 65 % RH, + 25 °C, + 5 °C, - 20 °C.

Predvidevamo, da se v okviru enomesečne stabilnostne študije kakovost tablet ne bo bistveno spremenila, zato bomo tablete izpostavili še dvema dodatnima ekstremnima pogojema: + 70 °C in - 70 °C. Na ta način bomo preverili ali ekstremna pogoja vplivata na spremembo fizikalno-kemijskih lastnosti tablet v končnih izdelkih. V kontrolnem laboratoriju podjetja Lek d.d. bomo na tabletah izvedli naslednja testiranja: trdnost tablet, vsebnost sorodnih snovi, preskus raztapljanja, vsebnost zdravilne učinkovine, vsebnost vode, izgubo mase pri sušenju, ocenili vizualne lastnosti tablet, gastrozistenco in razpadnost tablet. Rezultate testiranj bomo vrednotili skladno s specifikacijskimi zahtevami, ki so postavljene v avtorizirani specifikaciji zdravila. Hkrati pa bomo med seboj primerjali rezultate tablet, ki bodo starane pri: + 70 °C, + 50 °C, + 40 °C / 75 % RH, + 30 °C / 65 % RH, + 5 °C, - 20 °C, - 70 °C z rezultati tablet staranih pri + 25 °C.

Na osnovi rezultatov teh testiranj in na podlagi zahtev podjetja Novartis, bomo vsakemu zdravilu v različni ovojnini določili pogoje transporta, ki zagotavljajo njegovo ustrezno kakovost.

Fizikalno-kemijske lastnosti tablet bomo proučevali tudi z uporabo dodatnih, neavtoriziranih metod. Z dodatnimi metodami bomo testirali tablete, katerim bomo z avtoriziranimi metodami določili neustreznost in jih primerjali z ustreznimi vzorci. V ta namen bomo vzorce analizirali:

- z IR spektroskopom-tehniko oslabiljene popolne odbojnosti (ATR),
- z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM),
- z NIR spektroskopom,
- z video kamero.

### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 MATERIALI

##### 3.1.1 Tablete

Tablete, ki smo jih uporabili v raziskavi, se med seboj razlikujejo glede na zdravilno učinkovino, pomožne snovi, tehnologijo izdelave in ovojnino (preglednica VI).

**Preglednica VI: osnovni podatki o tabletah, ki smo uporabili za študijo transportnih pogojev**

	Vrsta tablete glede na kinetiko sproščanja	Tehnološki postopek	Rok uporabe	Shranjevanje	Ovojnina
<b>Tableta 1</b>	hitro razpadajoča tableta	vlažna granulacija in tabletiranje ter filmsko oblaganje	5 let	pri temperaturi do 25°C	stekleničke iz temnega stekla
<b>Tableta 2</b>	orodisperzibilna tableta	vlažna granulacija in tabletiranje	3 leta	pri temperaturi do 25°C, zaščiteno pred vlago	Al odlepni pretisni omot
<b>Tableta 3</b>	hitro razpadajoča tableta	vlažna granulacija in tabletiranje	4 leta	v nepropustni obojnini, zaščiteno pred svetlobo in vlago	Al pretisni omot
					PVC pretisni omot
					Al vrečka s sušilnim sredstvom
					PVC vrečka
<b>Tableta 4</b>	gastrorezistentna tableta	vlažna granulacija in tabletiranje ter filmsko oblaganje	3 leta	v nepropustni obojnini, zaščiteno pred svetlobo in vlago	Al vreča s sušilnim sredstvom
					Al pretisni omot
					plastenka s sušilnim sredstvom



### 3.1.2 Kemikalije, reagenti

- Delovni standardi zdravilnih učinkovin tablet št.1, št.2, št.3, št.4;
- Standardi znanih sorodnih snovi tablet št.1, št.2, št.3, št.4;
- Etanol 96 %;  $C_2H_5OH$  (Merck, Nemčija);
- Trinatrijev fosfat dodekahidrat;  $Na_3PO_4 \times 12 H_2O$  (Merck, Nemčija);
- Klorovodikova kislina;  $HCl$ , 37 % (Merck, Nemčija);
- Natrijev hidroksid;  $NaOH$  (Merck, Nemčija);
- Prečiščena voda;
- Acetonitril;  $CH_3CN$  (Merck, Nemčija);
- Fosforjeva (V) kislina 85 %;  $H_3PO_4$  (Merck, Nemčija);
- Kalijev dihidrogenfosfat (V);  $KH_2PO_4$  (Merck, Nemčija);
- Metanol;  $C_2H_5OH$  (Merck, Nemčija);
- Kalijev hidroksid;  $KOH$  (Merck, Nemčija);
- Trietilamin;  $(C_2H_5)_3N$  (Merck, Nemčija);
- Natrijev dihidrogenfosfat (V);  $NaH_2PO_4$  (Merck, Nemčija);
- Amonijev acetat;  $CH_3COONH_4$  (Merck, Nemčija);
- Natrijev dihidrogenfosfat (V) monohidrat;  $NaH_2PO_4 \times H_2O$  (Merck, Nemčija);
- Natrijev dihidrogenfosfat (V) dihidrat;  $NaH_2PO_4 \times 2H_2O$  (Merck, Nemčija);
- Dinatrijev hidrogenfosfat (V) dihidrat;  $Na_2HPO_4 \times 2H_2O$  (Merck, Nemčija);
- Brezvodni metanol;  $C_2H_5OH$  (Merck, Nemčija);
- Titrant za KF: Hydranal composite 5; (Fluka, ZDA);

### 3.1.3 Filtri in HPLC kolone

- membranski filter Millex-HV, velikosti por 0,45  $\mu m$  in premera 25 mm (Millipore, ZDA);
- membranski filter iz celuloznega nitrata MF-Millipore, velikost por 0,8  $\mu m$  in premera 13 mm (Millipore, ZDA);
- Kromatografska kolona za določanje sorodnih snovi tablet št.1: Nucleosil C18, 3 $\mu m$ , 150 x 4,6 mm;
- Kromatografska kolona za določanje vsebnosti zdravilne učinkovine tablet št.2: Nucleosil C18, 4  $\mu m$ , 150 x 3,9 mm;

- Kromatografska kolona za določanje vsebnosti sorodnih snovi tablet št.2: Hypersil BDS C18, 5  $\mu\text{m}$ , 250 x 4,6 mm;
- Kromatografska kolona za določanje vsebnosti zdravilne učinkovine tablet št.3: Lichrospher 100, RP 8, 5  $\mu\text{m}$ , 125 mm x 4,0 mm;
- Kromatografska kolona za določanje vsebnosti sorodnih snovi tablet št.3: Lichrospher 100, RP 8, 5  $\mu\text{m}$ , 250 mm x 4,0 mm;
- Kromatografska kolona za določanje vsebnosti zdravilne učinkovine in gastrorezistence tablet št.4: Xterra MS C8, 5  $\mu\text{m}$ , 250 mm x 4,6 mm;
- Kromatografska kolona za določanje vsebnosti sorodnih snovi tablet št.4: Symmetry, C18, 5  $\mu\text{m}$ , 250 mm x 4,6 mm.

### 3.1.4 Raztopine za določitev fizikalno-kemijskih lastnosti tablet

- Medij za raztapljanje, za test raztapljanja tablet št.1:

V 800 ml 0,06 M HCl smo raztopili 11 g  $\text{Na}_3\text{PO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$ , bučo dopolnili do 1000 ml z 0,06 M HCl in raztopino premešali. Na koncu smo pH raztopine uravnali na 5,7 z 0,2 M NaOH ali 0,1 M HCl.

- Topilo za vsebnost sorodnih snovi v tabletah št. 1: acetonitril : voda = 2 : 3 (v/v).

- Mobilna faza za vsebnost sorodnih snovi v tabletah št. 1: fosfatni pufer, pH 3,5 : acetonitril: voda = 2 : 43 : 55 (v/v/v).

- 0,06 M HCl za pripravo medija, za test raztapljanja tablet št.1 :

1000 ml merilno bučo smo napolnili z vodo do dve tretjine. Nato smo v bučo odpipetirali 5,0 ml HCl 37 % in dopolnili z vodo ter raztopino previdno premešali.

- 0,2 M NaOH za pripravo medija, za test raztapljanja tablet št.1:

V 800 ml vode smo med stalnim mešanjem in ohlajanjem raztopili 8 g NaOH. Raztopino smo ohladili na sobno temperaturo in dopolnili z vodo do 1000 ml ter jo previdno premešali.

- Fosfatni pufer, pH = 3,5 za uravnavanje pH mobilne faze, za vsebnost sorodnih snovi v tabletah št.1:

V 100 ml vode smo raztopili 6,8 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . S 85 % raztopino  $\text{H}_3\text{PO}_4$  smo umerili pH raztopine na vrednost 3,5 in dobro premešali.

- 0,1 M HCl: Medij za test raztapljanja tablet št.2 in tablet št.3, raztopina za uravnavanje pH pri testu raztapljanja tablet št.1, medij za test razpadnosti tablet št.4

1000 ml merilno bučo smo približno do polovice napolnili z vodo. Med stalnim mešanjem smo dodali 8,4 ml 37 % raztopino HCl, jo ohladili na sobno temperaturo in dopolnili z vodo ter previdno premešali.

- Topilo za vsebnost zdravilne učinkovine v tabletah št. 2:

voda: metanol = 500 : 500 (v/v).

- Mobilna faza za vsebnosti zdravilne učinkovine v tabletah št. 2:

Fosfatni pufer, pH = 7,8: V 800 ml vode smo raztopili 1,74 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in dopolnili z vodo do 1000 ml. Raztopino smo premešali in z 1 M KOH uravnali pH na 7,8.

- Fosfatni pufer, pH = 7,8 za pripravo mobilne faze, za vsebnost zdravilne učinkovine v tabletah št.2:

V 800 ml vode smo raztopili 1,74 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in dopolnili z vodo do 1000 ml. Raztopino smo premešali in z 1 M KOH uravnali pH raztopine na 7,8.

- 1 M KOH za uravnavanje pH fosfatnega pufra pH = 7,8, za vsebnost zdravilne učinkovine v tabletah št.2:

V 900 ml vode smo raztopili 5,6 g KOH ob stalnem mešanju in hlajenju. Raztopino smo z vodo dopolnili do 1000 ml in jo premešali.

- Mobilna faza za vsebnost sorodnih snovi v tabletah št.2:

$\text{H}_2\text{O}$  : acetonitril: trietilamin = 500 : 500 : 1 (v/v/v), umerjenje pH s 85 %  $\text{H}_3\text{PO}_4$  na 3,5  $\pm$  0,1.

- Mobilna faza za vsebnost zdravilne učinkovine v tabletah št.3:

0,02 M fosfatni pufer: acetonitril = 90 : 10 (v/v), z razredčeno fosforjevo (V) kislino smo umerili pH na 4,5.

- Mobilna faza A za vsebnost sorodnih snovi v tabletah št.3:

0,02 M fosfatni pufer: acetonitril = 97 : 3 (v/v), z razredčeno fosforjevo (V) kislino smo umerili pH na 4,5.

- Mobilna faza B za vsebnost sorodnih snovi v tabletah št.3:

0,02 M fosfatni pufer: acetonitril = 80 : 20 (v/v), z razredčeno fosforjevo (V) kislino smo umerili pH na 4,5.

- 0,02 M fosfatni pufer za pripravo mobilne faze, za vsebnost zdravilne učinkovine in sorodnih snovi v tabletah št.3:

V 1000 ml merilno bučo smo natančno natehtali 2,4 g natrijevega dihidrogen fosfata (V). Raztopili smo ga v vodi in merilno bučo z vodo dopolnili do oznake.

- Razredčena fosforjeva (V) kislina: za uravnavanje pH mobilne faze na pH = 4,5, za vsebnost zdravilne učinkovine in vsebnost sorodnih snovi v tabletah št.3: 1,0 ml 85 % fosforjeve (V) kisline smo previdno dodali v 13 ml vode.
- Topilo za določitev vsebnosti sorodnih snovi v tabletah št. 4: V 1000 ml merilno bučo smo natehtali 1,54 g amonijevega acetata. Raztopili smo ga v vodi in raztopino redčili do oznake. Nato smo zmešali 40 delov tako pripravljene raztopine s 60 deli metanola.
- Mobilna faza za določitev vsebnosti sorodnih snovi v tabletah št. 4:  
Raztopina fosfatnega pufra pH = 6,8 : metanol = 40 : 60 (v/v).
- Mobilna faza za določitev vsebnosti zdravilne učinkovine in gastrorezistence v tabletah št. 4:  
Raztopina fosfatnega pufra pH = 7,5 : acetonitril = 68 : 32 (v/v).
- Raztopina fosfatnega pufra s pH 6,8 za test raztapljanja in za pripravo mobilne faze vsebnosti sorodnih snovi v tabletah št.4:  
V 1000 ml merilno bučo smo natehtali 1,54 g amonijevega acetata. Raztopili smo ga v 900 ml vode in dodali 5,0 ml trietilamina. Raztopino smo umerili s 85 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> na pH 6,8. Buči smo dopolnili z vodo do oznake in raztopino premešali.
- Raztopina fosfatnega pufra, pH 7,5, za pripravo mobilne faze, za gastrorezistenco tablet št.4: Natehtali smo 0,24 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> x H<sub>2</sub>O in 1,12 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O v 1000 ml merilno bučo. Raztopili smo ju v vodi in merilno bučo z vodo dopolnili do oznake ter dobro premešali. pH raztopine smo umerili s 85 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> na 7,5 ± 0,1.
- Raztopina fosfatnega pufra, pH 6,8 za test raztapljanja tablet št.4:  
Natehtali smo 7,04 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> x H<sub>2</sub>O in 8,72 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O v 1000 ml merilno bučo. Raztopili smo ju v vodi in merilno bučo z vodo dopolnili do oznake ter dobro premešali. pH raztopine smo umerili s 85 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> na 6,8 ± 0,0.

### 3.2 APARATURE

Pri eksperimentalnem delu smo uporabljali naslednje aparature:

- Vrstični elektronski mikroskop (SEM): FE-SEM, Supra 35 VP, Carl Zeiss, Nemčija;
- Aparatura za določitev trdnosti tablet: Kraemer HC, Nemčija;
- Aparatura za izvedbo testa razpadnosti tablet: Erweka ZT 304, Nemčija;
- Aparatura za izvedbo testa raztapljanja učinkovine iz tablet : Erweka DT 800, Nemčija;
- Vakuumski sušilnik za test izgube pri sušenju: Kambič VS, Slovenija;
- Aparatura za izvedbo KF (Karl-Fisher) titracije: titrator: Methrom 758 KFD Titrino in magnetno mešalo: 703 Titrino, Švica;
- HPLC kromatograf: separacijski modul: Waters 2695, UV-VIS absorpcijski detektor: Waters 2487 in Watersov programski paket Empower za obdelavo podatkov, ZDA;
- UV-VIS spektrofotometer: Varian, Cary 100 Bio, ZDA;
- FT-IR spektrometer: Thermo Nicolet, Nexus z detektorjem: DTGS KBr, diamantnim kristalom in programsko opremo za obdelavo podatkov Omnic, Anglija;
- NIR spektrofotometer: Bruker, MPA z detektorjem za refleksijo PbS in z detektorjem za transmisijo InGaAs ter s programsko opremo Opus 5.5, Nemčija;
- Optični elementi za snemanje v področju vidne svetlobe: Svetilni vir: FDSLS-DOME-180-RGB, kupola, bela svetloba, Kamera: Sony DFW-SX910, CCD, barvna, 1280x960 slikovnih elementov, Objektiv: Navitar TV Zoom 105 mm, Japonska;
- Optični elementi za snemanje v NIR področju: Svetilni vir: FDSLS-DOME-180-IR, kupola, 820 nm, Kamera: Sony XC-EI30, CCD, monokromatska, 760x570 slikovnih elementov, Objektiv: Navitar TV Zoom 105 mm, Japonska;
- Optični elementi za snemanje v UV področju: Svetilni vir: FDSLS-D-2UV, UV sijalka, 340 nm, Kamera: Sony DFW-SX910, CCD, barvna, 1280x960 slikovnih elementov, Objektiv: Navitar TV Zoom 105 mm, Japonska;
- Ultrazvočna kadička: WB-13, Kambič, Slovenija;

- Centrifuga: Heraeus, Megafuge 1.0, Anglija;
- pH meter: Mettler Toledo, pH-STA\_1, Švica;
- Analitska tehtnica: Mettler Toledo, AX 205 Delta Range, Švica;
- Stresalnik: IKA, HS 501 digital, ZDA;
- Magnetno mešalo: IKA, RT 15, ZDA;
- Sušilnik: Kambič, WTC, Slovenija;
- Sušilnik: Kambič, SP-190, Slovenija;
- Stabilnostna komora: Vötsch VP 1300, Nemčija;
- Hladilnik: LTH, HOM 600 BEM, Slovenija;
- Zmrzovalnik: SANYO, MDF-U333, ZDA;
- Zmrzovalnik: SANYO, MDF-U53V, ZDA;

### 3.3 METODE DELA

#### 3.3.1 Avtorizirane fizikalno-kemijske metode preskušanja tablet

V nadaljevanju so predstavljene analizne metode, ki smo jih uporabili pri vseh štirih vrstah preizkušanih tablet

##### *3.3.1.1 Splošne metode*

###### **Barva:**

Parameter smo testirali tako, da smo pripravili vzorec 20 tablet in opazovali barvo proti beli podlagi. Tablete so morale izkazovati enakomerno obarvanost, razen tablet, ki so bile izdelane iz raznobarnih granulatov. Barva tablet je bila ustrezna, če je opis ustrezal opisu v specifikaciji.

###### **Videz:**

Pripravili smo vzorec 20 tablet in preverili njihov videz. Tablete so morale izkazovati enakomerno obliko in velikost ter jasne oznake. Površina je morala biti gladka in nepoškodovana. Videz tablet je moral ustrezati opisu v specifikaciji.

###### **Trdnost:**

Trdnost tablet smo določili skladno s poglavjem 2.9.8. Trdnost tablet (angl. Resistance to crushing of tablets) v Ph.Eur (39). Merili smo najmanjšo silo, ki je bila potrebna, da se je tableta poškodovala. Test smo izvedli na 10 tabletah tako, da smo tableto položili vodoravno, med dve čeljusti, vedno na enak način glede na smer aplikacije sile (npr. razdelilne zareze). Rezultate smo vrednotili glede na specifikacijsko mejo. Podali smo jih v kp: srednja vrednost, maksimalna in minimalna vrednost. Tablete št.1 so ustrezale specifikacijskim predpisom glede trdnosti, če je njihova trdnost znašala min. 4,5 kp. Tablete št.2 so ustrezale specifikacijskim predpisom glede trdnosti, če je bila njihova trdnost v mejah od 1,0 do 3,5 kp. Tablete št.3 so ustrezale specifikacijskim predpisom glede trdnosti, če je bila njihova trdnost v mejah od 3,06 do 9,17 kp. Tablete št.4 so

ustrezale specifikacijskim predpisom glede trdnosti, če se je njihova trdnost gibala od 10,2 do 30,6 kp.

### **Razpadnost:**

Razpadnost smo izvedli, skladno s poglavjem 2.9.1. Razpadnost tablet in kapsul, angl. Disintegration of tablets and capsules v Ph.Eur (40).

Test smo izvedli na 6 tabletah, ki smo jih posamično namestili v cevko košarice aparata za razpadnost. Košarico smo potopili v vodo ali drugo ustrezno tekočino, pri temperaturi 37 °C ( $\pm 2$  °C) in vključili dvigovanje in spuščanje košarice. Po preteku časa, ki ga predpisuje specifikacija, smo dvignili košarico iz tekočine in pregledali morebitne ostanke. Razpadnost je bila dosežena, ko na mrežici, stenah ali disku aparata za razpadnost ni bilo nobenega nerazmehčanega ostanka, razen ostankov neraztopljene obloge tablet. Rezultate smo vrednotili glede na specifikacijsko mejo in jih podali z oznako ustreza ali ne ustreza. Test smo izvedli le na tabletah št.2, ker so hitro razpadajoče in morajo razpasti že v ustih (ODT, angl. orodispersible tablets). Tablete so ustrezale specifikacijskemu predpisu, če so bili rezultati znotraj 30 sekund.

### **Izguba mase pri sušenju:**

Izgubo mase pri sušenju smo izvedli skladno s poglavjem 2.2.32. Izguba pri sušenju (angl. Loss on drying) v Ph.Eur (41). Z omenjeno metodo gravimetrično določimo hlapne nečistote in prosto vodo.

Test smo izvedli v vakuumskem sušilniku tako, da smo predpisano količino vzorca točno natehtali v tehtič, ki smo ga predhodno sušili pri istih pogojih, ki so predpisani za vzorec. Vzorec smo sušili nad P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> do konstantne mase oz. po internem predpisu za posamezne tablete. Test smo izvedli le na tabletah št.1. Tablete so ustrezale specifikacijskemu predpisu glede izgube pri sušenju, če so bili rezultati padca mase manjši od 3 %.

### **Vsebnost vode:**

Testiranje parametra smo izvedli skladno s poglavjem 2.5.12. Titrimetrično določevanje vode s Karl Fisher reagentom (KFR), direktna titracija (angl. Water semi-micro determination, method A).



Titrimetrično določevanje vode temelji na kvantitativni reakciji proste in vezane vode v vzorcu z brezvodno raztopino žveplovega dioksida in joda v prisotnosti pufra, ki reagira z vodikovimi ioni vode. Za omenjeno določitev se uporablja aparatura, ki zagotavlja izključitev vpliva atmosferske vlage in ima možnost zaznavanja končne točke titracije. Končna točka se določi elektrometrično z merjenjem potenciala med dvema platinastima elektrodama, potopljenima v raztopino vzorca. Pri končni točki titracije majhen presežek reagenta povzroči odklon napetosti na 50 – 150  $\mu\text{A}$  in ostane stabilen 30 sekund do 30 minut, odvisno od vzorca, ki ga titriramo (42, 43).

Test smo izvedli s KF titratorjem tako, da smo predpisano količino tablet v prahu natančno natehtali in jo kvantitativno prenesli v titracijsko celico s topilom. Topilo smo predhodno titrirali s titrantom do končne točke (v topilu ni bilo več prisotne vode). Nato smo tudi raztopljen vzorec med mešanjem na magnetnem mešalu titrirali s titrantom do končne točke. Test smo izvedli le na tabletah št.2. Tablete so ustrezale specifikacijskemu predpisu glede vsebnosti vode, če smo določili v vzorcu do 3 % vode.

### **Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti:**

Kromatografija je postopek ločevanja posameznih komponent vzorca. Temelji na porazdelitvi vzorca med mobilno fazo, ki je lahko tekočina ali plin in stacionarno fazo, ki je lahko trdna snov ali tekočina. Kromatografska separacija je posledica razlik v hitrosti potovanja posameznih komponent pod vplivom mobilne faze, zaradi selektivnega zadrževanja komponent na stacionarni fazi. Posamezne komponente se med seboj ločijo zaradi različnih kemijskih in fizikalnih lastnosti, ter na podlagi različnih interakcij z mobilno fazo. Osnovne komponente HPLC sistema so: rezervoar z mobilno fazo, črpalka, injektor, kolona z detektorjem in rekorder (44, 45).

Testiranje vsebnosti sorodnih snovi, razkrojnih produktov, vsebnosti zdravilne učinkovine, določitev deleža raztopljene zdravilne učinkovine v tabletah s HPLC metodo smo izvedli skladno s poglavjem 2.2.46. Kromatografske separacijske tehnike (angl. Chromatographic separation techniques) v Ph.Eur. (46) in 2.2.29. Tekočinska kromatografija (angl. Liquid chromatography) v Ph.Eur. (47).

Za izvedbo kromatografske separacije smo uporabili reverzno fazno izokratsko ali gradientno metodo, kar pomeni, da smo pri eni analizi uporabili eno vrsto ali več mobilnih faz, ki je/so bile polarnega značaja. HPLC sistem smo pred injiciranjem stabilizirali 30 ali 60

minut, odvisno od dolžine kolone. V primeru gradientne tehnike smo naravnali razmerje mobilnih faz na začetne pogoje gradientnega programa. Injicirali smo mobilno fazo oz. topilo in preverili morebitne kromatografske vrhove, ki jih daje mobilna faza oz. topilo.

Injicirali smo standardno raztopino in preverili parametre testa ustreznosti kromatografskega sistema. Injicirali smo raztopine vzorcev in standardov. S pomočjo programskega paketa Empower smo dobljene kromatograme integrirali in iz dobljenih površin posameznih kromatografskih vrhov standardov in vzorcev ter z upoštevanjem parametrov kot so: natehte standardov in vzorcev, povprečne mase tablet, števila analiziranih enot, čistote standardov, deklarirane vsebnosti zdravilne učinkovine v tabletah, faktorja odzivnosti in redčenja standardov ter vzorcev določili vsebnost sorodnih snovi, razkrojnih produktov, vsebnost zdravilne učinkovine ali podali delež raztopljenе zdravilne učinkovine.

V nadaljevanju so predstavljene analizne metode, specifične za posamezno vrsto izmed štirih vrst preizkušanih tablet.

### *3.3.1.2 Fizikalno-kemijske metode preskušanja tablete 1*

#### **Vsebnost zdravilne učinkovine:**

Za določitev vsebnosti zdravilne učinkovine v tableti št. 1 smo uporabili validiran analitski postopek z UV spektrofotometrično določitvijo. Testiranje smo izvedli skladno s poglavjem 2.2.25. Absorpcijska spektrofotometrija: UV in vidna (angl. Absorption spectrophotometry ultraviolet and visible) v Ph.Eur. (48).

Pripravili smo raztopini standarda in vzorca s koncentracijo 0,01 mg/ml zdravilne učinkovine. V 100 ml merilno bučko smo natehtali natančno okoli 50 mg delovnega standarda zdravilne učinkovine, katerega smo raztopili in dopolnili z etanolom do oznake ter dobro premešali. 2,0 ml raztopine smo redčili na 100 ml z etanolom in premešali. Nato smo pripravili raztopino vzorca. Natehtali smo 20 tablet in jim določili povprečno maso. Tablete smo strli v fin prah in del prahu (ki ustreza 200 mg zdravilne učinkovine) natehtali v 200 ml merilno bučko, dodali smo približno 80 ml etanola ter bučko postavili v ultrazvočno kadičko za 20 minut. Raztopino smo ohladili na sobno temperaturo, dopolnili

z etanolom do oznake in dobro premešali. Del raztopine smo prelili v centrifugirko in centrifugirali do bistrega supernatanta. 2,0 ml bistrega supernatanta smo z etanolom razredčili na 200 ml in premešali. Raztopini standarda in vzorca smo izmerili absorbanco z UV-VIS spektrofotometrom, pri njenem maksimumu, v 1cm kiveti proti slepemu vzorcu (etanol). Določili smo vsebnost zdravilne učinkovine v tabletah, v odstotkih glede na deklarirano vsebnost. Tablete so ustrezale specifikacijskemu predpisu, če so se rezultati nahajali med 95,0 in 105,0 %.

### **Test raztapljanja zdravilne učinkovine:**

Test raztapljanja zdravilne učinkovine v tableti št. 1 smo izvedli na aparaturi Erweka DT 800, skladno s poglavjem 2.9.3 Test raztapljanja za trdne farmacevtske oblike, naprava 1, naprava s košaricami (angl. Dissolution test for solid Dosage forms, apparatus 1, basket method) v Ph.Eur (49). Uporabili smo validiran analitski postopek z UV spektrofotometrično določitvijo.

Najprej smo pripravili raztopino standarda s koncentracijo 0,0044 mg/ml zdravilne učinkovine. V 100 ml merilno bučko smo natehtali natančno okoli 44 mg delovnega standarda zdravilne učinkovine, ga raztopili in dopolnili z etanolom do oznake ter dobro premešali. 2,0 ml raztopine smo redčili na 200 ml z medijem za raztapljanje in premešali. Nato smo pripravili aparaturo za test raztapljanja in v vsako od 6 posod za raztapljanje prenesli 900 ml brezračnega medija za raztapljanje, temperiranega na  $37 \pm 0,5$  °C. V vsako od 6 suhih košaric smo prenesli po eno tableto. Naravnali smo hitrost vrtenja košaric na 100 obratov/minuto ter vključili vrtenje. Po točno 30 minutah smo odvzeli 50 ml vzorca z mesta na sredini med površino medija za raztapljanje in gornjim robom košarice in ne manj kot 1 cm od stene posode. Nato smo vzorec filtrirali skozi membranski filter iz celuloznega nitrata (MF-Millipore, velikost por 0,8 µm, premer 13 mm) in zavrgli prvih 15 ml filtrata. 2,0 ml bistrega filtrata smo razredčili na 50 ml z medijem za raztapljanje ter premešali. Raztopini standarda in vzorca smo izmerili absorbanco z UV-VIS spektrofotometrom, pri njenem maksimumu, v 1cm kiveti proti slepemu vzorcu (medij za raztapljanje). Določili smo odstotek raztopljenе zdravilne učinkovine v tableti glede na zahteve v specifikaciji. Tablete so ustrezale specifikacijskemu predpisu glede raztapljanja, če se je v 30 minutah iz tablete sprostilo min. 70 %(Q) zdravilne učinkovine.

**Vsebnost sorodnih snovi:**

Test vsebnosti sorodnih snovi v tableti št. 1 smo izvedli z izokratsko HPLC metodo eksternega standarda, na reverzni fazi. Uporabili smo validiran analitski postopek s HPLC določitvijo.

Najprej smo pripravili raztopino standarda s koncentracijo 0,002 mg/ml zdravilne učinkovine. V 20 ml merilno bučko smo natehtali natančno okoli 20 mg delovnega standarda zdravilne učinkovine, raztopili in dopolnili s topilom do oznake ter premešali. 1,0 ml raztopine smo nadalje odpipetirali v 50 ml merilno bučko, razredčili do oznake s topilom ter premešali (raztopina R). 1,0 ml raztopine R smo nato odpipetirali v 10 ml merilno bučko razredčili s topilom do oznake ter premešali. Nato smo pripravili raztopini standarda znanih sorodnih snovi 1 in 2. V 50 ml merilno bučko smo natehtali natančno okoli 2,5 mg standarda znane sorodne snovi 1 (raztopina A) ali standarda znane sorodne snovi 2 (raztopina C). Raztopili smo ga v topilu in bučko dopolnili s do oznake ter premešali.

Sledila je priprava resolucijske raztopine. V 50 ml merilno bučko smo odpipetirali 5,0 ml raztopine R, 3,0 ml raztopine A in 2,0 ml raztopine C, dopolnili s topilom do oznake in premešali. Na koncu smo pripravili raztopino vzorca s koncentracijo 1 mg/ml zdravilne učinkovine. Stehtali smo 20 tablet in jim določili povprečno maso. Tablete smo strli v fin prah. V 100 ml merilno bučko smo natehtali maso tabletnega prahu, ki ustreza 100 mg zdravilne učinkovine. Bučko smo s topilom dopolnili do oznake ter izpostavili ultrazvočni kadički za 10 minut. Vmes smo jo večkrat ročno pretresli. Standarde in vzorce smo pred analizo s HPLC sistemom filtrirali skozi membranski filter Millex-HV, velikosti por 0,45 µm in premera 25 mm. Hitrost pretoka mobilne faze skozi kolono je bila 1,0 ml/min pri temperaturi kolone 30 °C. Na koncu smo določili vsebnost znane sorodne snovi 1 in 2, neznanih sorodnih snovi ter vsoto sorodnih snovi v odstotkih. Tablete so ustrezale specifikacijskim predpisom, če so bili rezultati za znani sorodni snovi 1 in 2 ter za posamezno neznano sorodno snov maks. 0,2 %, rezultati za vsoto sorodnih snovi pa so bili maks. 0,5 %.

### *3.3.1.3 Fizikalno-kemijske metode preskušanja tablete 2*

#### **Vsebnost zdravilne učinkovine:**

Test vsebnosti zdravilne učinkovine v tableti št. 2 smo izvedli z izokratsko HPLC metodo eksterne standarda, na reverzni fazi. Uporabili smo validiran analitski postopek s HPLC določitvijo.

Pripravili smo raztopini standarda in vzorca s koncentracijo 0,2 mg/ml zdravilne učinkovine. V 50 ml merilno bučko prenesli točno okoli 50 mg delovnega standarda zdravilne učinkovine in ga raztopili v 25 ml metanola ter dopolnili z vodo do oznake. Raztopino smo nato ohladili in premešali. 5,0 ml dobljene raztopine smo odpipetirali v 25 ml merilno bučko in dopolnili s topilom do oznake ter premešali. Nato smo pripravili raztopino vzorca. V 500 ml merilno bučko smo prenesli 10 tablet, dodali 250 ml metanola in bučko izpostavili 20 minut ultrazvočni kadički. Dopolnili smo jo z vodo do oznake in premešali. Standarde in vzorce smo preden smo jih analizirali s HPLC sistemom filtrirali skozi membranski filter Millex-HV, velikosti por 0,45 µm in premera 25 mm. Hitrost pretoka mobilne faze skozi kolono je bila 1,5 ml/min pri temperaturi kolone 30 °C. Določili smo vsebnost zdravilne učinkovine v tabletah v odstotkih glede na deklarirano vsebnost. Tablete so ustrezale specifikacijskemu predpisu, če so bili rezultati med 95,0 in 105,0 %.

#### **Test raztapljanja zdravilne učinkovine:**

Test raztapljanja zdravilne učinkovine iz tablet št. 2 smo izvedli na aparaturi, skladno s poglavjem 2.9.3 Test raztapljanja za trdne farmacevtske oblike, naprava 2, naprava z vesli (angl. Dissolution test for solid Dosage forms, apparatus 2, paddle method) v Ph.Eur. (49). Uporabili smo validiran analitski postopek z UV spektrofotometrično določitvijo.

Najprej smo pripravili raztopino standarda s koncentracijo 0,01 mg/ml zdravilne učinkovine. V 200 ml merilno bučko smo natehtali natančno okoli 20 mg delovnega standarda zdravilne učinkovine. Raztopili smo ga v 0,1 M HCl in topilo dopolnili do 200 ml. 5,0 ml pripravljene raztopine smo odpipetirali v 50 ml merilno bučko in dopolnili do oznake z 0,1 M HCl ter premešali.

Nato smo pripravili aparaturo za test raztapljanja in v vsako od 6 posod za raztapljanje prenesli 900 ml brezračnega medija za raztapljanje, temperiranega na  $37 \pm 0,5$  °C. Hitrost vrtenja vesel smo naravnali na 50 obratov/minuto. V vsako od 6 posod za raztapljanje smo prenesli po eno tableto. Takoj, ko je tableta potonila na dno, smo vklopili vrtenje veslastih mešal. Po točno 15 minutah smo odvzeli 20 ml vzorca z mesta na sredini med površino medija za raztapljanje in gornjim robom veslastega mešala ter ne manj kot 1 cm od stene posode. Nato smo vzorec filtrirali skozi membranski filter iz celuloznega nitrata (MF-Millipore, velikost por  $0,8 \mu\text{m}$ , premer 13 mm) in zavrgli prvih 10 ml filtrata. Raztopini standarda in vzorca smo izmerili absorbanco z UV-VIS spektrofotometrom, pri njenem maksimumu, v 1cm kiveti proti slepemu vzorcu (0,1 M HCl). Določili smo odstotek raztopljenih zdravilnih učinkovin v tableti glede na zahteve v specifikaciji. Tablete so ustrezale specifikacijskemu predpisu glede raztapljanja, če se je v 15 minutah iz tablete sprostil najmanj 80 % (Q) zdravilnih učinkovin.

### **Vsebnost sorodnih snovi:**

Test vsebnosti sorodnih snovi v tabletah št. 2 smo izvedli z izokratsko HPLC metodo eksternega standarda, na reverzni fazi. Uporabili smo validiran analitski postopek s HPLC določitvijo.

Najprej smo pripravili raztopino standarda s koncentracijo  $0,4 \mu\text{g/ml}$  zdravilnih učinkovin. V 50 ml merilno bučko smo natehtali natančno okoli 20 mg delovnega standarda zdravilnih učinkovin. Raztopili smo ga v 50 ml metanola. V 100 ml merilno bučko smo odpipetirali 5,0 ml dobljene raztopine in jo redčili z metanolom do oznake ter premešali. V 100 ml merilno bučko smo odpipetirali 2,0 ml dobljene raztopine, jo redčili z metanolom do oznake ter premešali. Nato smo pripravili raztopino vzorca s koncentracijo  $0,4 \text{ mg/ml}$  zdravilnih učinkovin. Stehtali smo 20 tablet in jim določili povprečno maso. Tablete smo strli v fin prah. V 100 ml merilno bučko smo prenesli tabletni prah, ki ustreza 40 mg zdravilnih učinkovin. Bučko smo z metanolom dopolnili do oznake ter izpostavili ultrazvočni kadički za 10 minut. Vmes smo jo večkrat ročno pretresli.

Standarde in vzorce smo, preden smo jih analizirali s HPLC sistemom, filtrirali skozi membranski filter Millex-HV, velikosti por  $0,45 \mu\text{m}$  in premera 25 mm. Hitrost pretoka mobilne faze skozi kolono je bila  $1,2 \text{ ml/min}$  pri temperaturi kolone  $30$  °C. Na koncu smo določili vsebnost posameznih neznanih sorodnih snovi ter vsoto sorodnih snovi v

odstotkih. Tablete so ustrezale specifikacijskemu predpisu glede sorodnih snovi, če so bili rezultati posamezne neznane sorodne snovi maks. 0,1 % in rezultati vsote neznanih sorodnih snovi maks. 0,3 %.

### *3.3.1.4 Fizikalno-kemijske metode preskušanja tablete 3*

#### **Vsebnost zdravilne učinkovine:**

Test vsebnosti zdravilne učinkovine v tableti št. 3 smo izvedli z izokratsko HPLC metodo eksterne standarda, na reverzni fazi. Uporabili smo validiran analitski postopek s HPLC določitvijo.

Najprej smo pripravili raztopino standarda s koncentracijo 0,22 mg/ml zdravilne učinkovine. Natehtali smo natančno okoli 10,9 mg delovnega standarda zdravilne učinkovine in ga kvantitativno prenesli v 50 ml merilno bučko. Raztopili smo ga v mobilni fazi in merilno bučko z mobilno fazo dopolnili do oznake. Za tem smo pripravili raztopino vzorca s koncentracijo 0,2 mg/ml zdravilne učinkovine. Stehtali smo 20 tablet, jim določili povprečno maso in jih nato zdrobili v fin prah. Natehtali smo tabletni prah, ki ustreza okoli 20 mg zdravilne učinkovine in ga kvantitativno prenesli v 100 ml merilno bučko. Dodali smo 70 ml mobilne faze in raztopino izpostavili ultrazvočni kadički za 10 minut. Nato smo jo stresali na stresalniku še 20 minut. Merilno bučko z mobilno fazo smo dopolnili do oznake in premešali. Standarde in vzorce smo preden smo jih analizirali s HPLC sistemom filtrirali skozi membranski filter Millex-HV, velikosti por 0,45 µm in premera 25 mm. Hitrost pretoka mobilne faze skozi kolono je bila 1,0 ml/min pri temperaturi kolone 50 °C. Določili smo vsebnost zdravilne učinkovine v tabletah v odstotkih glede na deklarirano vsebnost. Tablete so ustrezale specifikacijskemu predpisu, če so bili rezultati znotraj 95,0 in 105,0 %.

#### **Test raztapljanja zdravilne učinkovine:**

Test raztapljanja zdravilne učinkovine v tableti št. 3 smo izvedli na aparaturi, skladno s poglavjem 2.9.3 Test raztapljanja za trdne farmacevtske oblike, naprava 2, naprava z vesli,

angl. Dissolution test for solid Dosage forms, apparatus 2, paddle method v Ph.Eur. (49). Uporabili smo validiran analitski postopek z UV spektrofotometrično določitvijo.

Najprej smo pripravili raztopino standarda s koncentracijo 0,012 mg/ml zdravilne učinkovine. V 100 ml merilno bučko smo natančno natehtali okoli 30,2 mg delovnega standarda zdravilne učinkovine. Dodali smo približno 70 ml 0,1 M HCl in dobro pretresli. Raztopino smo za 5 minut izpostavili ultrazvočni kadički, ohladili smo jo in dopolnili do oznake z 0,1 M HCl ter dobro premešali. 2,0 ml raztopine smo nadalje redčili v 50 ml merilni bučki do oznake z 0,1 M HCl ter dobro premešali. Nato smo pripravili aparaturo za test raztapljanja in v vsako od 6 posod za raztapljanje prenesli 900 ml brezračnega medija za raztapljanje, temperiranega na  $37 \pm 0,5$  °C. Hitrost vrtenja vesel smo naravnali na 50 obratov/minuto. V vsako od 6 posod za raztapljanje smo prenesli po eno tableto. Takoj, ko je tableta potonila na dno smo vklopili vrtenje veslastih mešal. Po točno 30 minutah smo odvzeli 10 ml vzorca z mesta na sredini med površino medija za raztapljanje in gornjim robom veslastega mešala ter ne manj kot 1 cm od stene posode. Nato smo vzorec filtrirali skozi membranski filter iz celuloznega nitrata (MF-Millipore, velikost por 0,45  $\mu\text{m}$ , premer 25 mm) in zavrgli prvih 4 ml filtrata. Raztopini standarda in vzorca smo izmerili absorbanco z UV-VIS spektrofotometrom, pri njenem maksimumu, v 1 cm kiveti proti slepemu vzorcu (medij za raztapljanje).

Določili smo odstotek raztopljene zdravilne učinkovine v tableti glede na zahteve v specifikaciji. Tablete so ustrezale specifikacijskemu predpisu glede raztapljanja, če se je v 30 minutah iz tablete sprostilo najmanj 80 %(Q) zdravilne učinkovine.

### **Vsebnost sorodnih snovi:**

Test vsebnosti sorodnih snovi v tableti št. 3 smo izvedli z gradientno HPLC metodo po shemi, ki je podana v preglednici VII, z uporabo eksterne standarda, na reverzni fazi. Uporabili smo validiran analitski postopek s HPLC določitvijo.

Najprej smo pripravili raztopino standarda s koncentracijo 0,011 mg/ml zdravilne učinkovine. V 10 ml merilno bučko smo natančno natehtali okoli 21,78 mg delovnega standarda zdravilne učinkovine. Raztopili smo ga v mobilni fazi A in merilno bučko dopolnili do oznake z mobilno fazo A. 1,0 ml pripravljene raztopine smo odpipetirali v 10 ml merilno bučko in dopolnili do oznake z mobilno fazo A. 1,0 ml pripravljene raztopine smo nadalje odpipetirali v 20 ml merilno bučko in dopolnili do oznake z mobilno fazo A.



Za tem smo pripravili identifikacijsko raztopino, tako, da smo 2,0 mg referenčnega standarda zdravilne učinkovine raztopili v 1,0 ml mobilne faze A in raztopino premešali. Nato smo pripravili raztopino vzorca s koncentracijo 2,0 mg/ml zdravilne učinkovine. Stehtali smo 20 tablet in jim določili povprečno maso ter jih zdrobili v fin prah. V 10 ml merilno bučko smo natehtali tabletni prah, ki ustreza 20 mg zdravilne učinkovine. Dodali smo 7 ml mobilne faze A in disperzijo izpostavili ultrazvočni kadički za 5 minut. Razredčili smo jo z mobilno fazo A do oznake. Nato smo raztopino ponovno izpostavili ultrazvočni kadički za 5 minut in premešali. Standarde in vzorce smo preden smo jih analizirali s HPLC sistemom filtrirali skozi membranski filter Millex-HV, velikosti por 0,45 µm in premera 25 mm. Hitrost pretoka mobilne faze skozi kolono je bila 1,5 ml/min pri temperaturi kolone 50 °C.

Na koncu smo določili vsebnost znane sorodne snovi 1 in 2, neznanih sorodnih snovi ter vsoto sorodnih snovi v odstotkih. Tablete so ustrezale specifikacijskim predpisom, če so bili rezultati za znano sorodno snov 1 maks. 0,1 %, za sorodno snov 2 maks. 0,5 %, za posamezno neznano sorodno snov maks. 0,2 %, za vsoto neznanih sorodnih snovi maks. 1,0 % ter za vsoto znanih in neznanih sorodnih snovi maks. 1,5 % mase (odmerka) učinkovine.

***Preglednica VII: Gradientna HPLC shema.***

t (min)	% mobilne faze A	% mobilne faze B
0	100	0
35	60	40
45	60	40
50	100	0
60	100	0

### ***3.3.1.5 Fizikalno-kemijske metode preskušanja tablete 4***

#### **Vsebnost zdravilne učinkovine:**

Test vsebnosti zdravilne učinkovine v tableti št. 4 smo izvedli z izokratsko HPLC metodo eksternega standarda, na reverzni fazi. Uporabili smo validiran analitski postopek s HPLC določitvijo.

Najprej smo pripravili raztopino standarda s koncentracijo 0,042 mg/ml zdravilne učinkovine. V 100 ml merilno bučko smo natehtali natančno okoli 42,3 mg delovnega standarda zdravilne učinkovine in ga s pomočjo ultrazvočne kadičke raztopili v 60 ml mobilne faze. Bučko smo dopolnili z mobilno fazo in raztopino premešali. V 50 ml merilno bučko smo nato odpipetirali 5,0 ml pripravljene raztopine in razredčili z mobilno fazo do oznake. Nato smo pripravili raztopino vzorca s koncentracijo 0,04 mg/ml zdravilne učinkovine. Stehtali smo 20 tablet in jim določili povprečno maso. V 250 ml merilno bučko smo prenesli pet stehtanih tablet, dodali 200 ml mobilne faze in mešali 30 minut na magnetnem mešalu. Raztopino smo izpostavili ultrazvočni kadički za 10 minut. Dopolnili smo jo do oznake in premešali. Raztopino smo centrifugirali do bistrega supernatanta. V 50 ml merilno bučko smo odpipetirali 2,5 ml raztopine, jo razredčili z mobilno fazo do oznake in premešali. Standarde in vzorce smo pred analizo s HPLC sistemom filtrirali skozi membranski filter Millex-HV, velikosti por 0,45  $\mu\text{m}$  in premera 25 mm. Hitrost pretoka mobilne faze skozi kolono je bila 1,5 ml/min pri temperaturi kolone 30 °C. Določili smo vsebnost zdravilne učinkovine v tabletah v odstotkih glede na deklarirano vsebnost. Tablete so ustrezale specifikacijskemu predpisu, če so bili rezultati znotraj 95,0-105,0 %.

#### **Razpadnost tablet in Test raztapljanja zdravilne učinkovine:**

Najprej smo v aparaturi za razpadnost izvedli test razpadnosti v 800 ml 0,1 M HCl. Test smo izvedli na 6 tabletah. Po dveh urah izpostavitve tablet 0,1 M HCl pri temperaturi  $37 \pm 0,5$  °C smo tablete sprali z vodo in vizualno ocenili ali so se kakorkoli poškodovale pri izpostavitvi v 0,1 M HCl. Tablete niso smele razpasti. Nepoškodovane tablete smo nato prenesli v posode za test raztapljanja. Test raztapljanja zdravilne učinkovine v tableti št. 4 smo izvedli skladno s poglavjem 2.9.3 Test raztapljanja za trdne farmacevtske oblike, naprava 2, naprava z vesli, angl. Dissolution test for solid Dosage forms, apparatus 2, paddle method v Ph.Eur. (47). Uporabili smo validiran analitski postopek z UV spektrofotometrično določitvijo.

Nato smo pripravili aparaturo za test raztapljanja in v vsako od 6 posod za raztapljanje prenesli 1000 ml brezračnega fosfatnega pufru pH = 6,8, temperiranega na  $37 \pm 0,5$  °C. Hitrost vrtenja vesel smo naravnali na 100 obratov/minuto. V vsako od 6 posod za raztapljanje smo prenesli po eno tableto. Takoj, ko je tableta potonila na dno smo vklopili

vrtenje veslastih mešal. Po točno 30 minutah smo odvzeli 10 ml vzorca z mesta na sredini med površino medija za raztapljanje in gornjim robom veslastega mešala ter ne manj kot 1 cm od stene posode. Vzorec smo centrifugirali 5 minut pri 3000 obratih/min. 5,0 ml bistre raztopine smo nato razredčili na 10,0 ml s fosfatnim pufrom pH = 6,8 in premešali. Nato smo pripravili raztopino standarda s koncentracijo 0,021 mg/ml zdravilne učinkovine. V 100 ml merilno bučko smo natančno natehtali okoli 42,3 mg standarda zdravilne učinkovine, ga raztopili v metanolu, dopolnili do oznake in premešali. V 100 ml merilno bučko smo odpipetirali 5,0 ml raztopine in jo s fosfatnim pufrom pH = 6,8 razredčili do oznake in premešali. Raztopini standarda in vzorca smo izmerili absorbanco z UV-VIS spektrofotometrom, pri njenem maksimumu, v 1cm kiveti proti slepemu vzorcu (fosfatni pufer pH = 6,8).

Določili smo odstotek raztopljene zdravilne učinkovine v tableti glede na zahteve v specifikaciji. Tablete so ustrezale specifikacijskemu predpisu glede raztapljanja, če se je v 30 minutah iz tablete sprostil najmanj 75 %(Q) zdravilne učinkovine.

### **Gastrorezistenca:**

Test gastrorezistence tablete št. 4 smo izvedli z izokratsko HPLC metodo eksterne standarda, na reverzni fazi. Uporabili smo validiran analitski postopek s HPLC določitvijo. Najprej smo v aparaturi za razpadnost izvedli test razpadnosti v 800 ml 0,1 M HCl. Test smo izvedli na 6 tabletah. Po dvourni izpostavitvi tablet 0,1 M HCl smo tablete sprali z vodo in vizualno ocenili ali so se kakorkoli poškodovale pri izpostavitvi 0,1 M HCl. Tablete smo nato prenesli v šest 50 ml merilnih bučk ter vsako raztopili v 40 ml mobilne faze s 40 minutnim mešanjem na magnetnem mešalu. Bučke smo dopolnili z mobilno fazo in premešali. Nato smo raztopino centrifugirali s centrifugo 5 minut pri 3000 obratih/min. 2,5 ml raztopine smo nato redčili na 50,0 ml z mobilno fazo in premešali. Za tem smo pripravili raztopino standarda s koncentracijo 0,045 mg/ml zdravilne učinkovine. V 100 ml merilno bučko smo natančno natehtali okoli 45,1 mg standarda zdravilne učinkovine in ga raztopili v 60 ml mobilne faze s pomočjo ultrazvočne kadičke. Dopolnili smo do oznake z mobilno fazo in premešali. V 50 ml merilno bučko smo odpipetirali 5,0 ml raztopine in razredčili do oznake z mobilno fazo ter premešali. Standarde in vzorce smo preden smo jih analizirali s HPLC sistemom filtrirali skozi membranski filter Millex-HV, velikosti por 0,45  $\mu$ m in premera 25 mm. Hitrost pretoka mobilne faze skozi kolono je bila 1,5 ml/min.

pri temperaturi kolone 30 °C. Na koncu smo določili vsebnost zdravilne učinkovine v tableti, v odstotkih. Tablete so ustrezale specifikacijskemu predpisu glede gastrozestance, če so po dvo urni izpostavitvi 0,1 M HCl vsebovale več kot 90 % zdravilne učinkovine.

### **Vsebnost sorodnih snovi:**

Test vsebnosti sorodnih snovi v tableti št. 4 smo izvedli z izokratsko HPLC metodo eksterne standarda, na reverzni fazi. Uporabili smo validiran analitski postopek s HPLC določitvijo.

Najprej smo pripravili raztopino standarda zdravilne učinkovine s koncentracijo 0,02 mg/ml. V 50 ml merilno bučko smo natančno natehtali okoli 1 mg delovnega standarda zdravilne učinkovine in jo raztopili v topilu ter dopolnili do oznake. Nato smo pripravili raztopino vzorca s koncentracijo 0,4 mg/ml zdravilne učinkovine. Stehtali smo 20 tablet in jim določili povprečno maso. V 500 ml merilno bučko smo prenesli 5 stehtanih tablet in dodali topilo do dveh tretjin končnega volumna ter mešali 40 minut na magnetnem mešalu. Dopolnili smo s topilom do oznake. Na koncu smo raztopino centrifugirali s centrifugo 5 minut pri 3000 obratih/min. Standard in vzorec smo nato analizirali s HPLC sistemom. Hitrost pretoka mobilne faze skozi kolono je bila 1,0 ml/min pri temperaturi kolone 40 °C. Na koncu smo določili vsebnost posameznih neznanih sorodnih snovi ter vsoto sorodnih snovi v odstotkih. Tablete so ustrezale specifikacijskemu predpisu glede sorodnih snovi, če so bili rezultati posamezne neznane sorodne snovi maks. 0,2 % in rezultati vsote neznanih sorodnih snovi maks. 0,5 %.

## **3.3.2 Neavtorizirane fizikalno-kemijske metode preskušanja tablet**

### ***3.3.2.1 Merjejeve spektra tablet v IR območju s tehniko oslabiljene popolne odbojnosti (ATR)***

Vsako posamezno tableto smo postavili na kristal v FT-IR spektrofotometru, nato smo z vijakom pritisnili tableto na kristal in posneli njen refleksijski spekter (interferogram). Interferogram je nato računalnik s pomočjo programske opreme s Furierjevo transformacijo pretvoril v enožarkovni IR spekter. Posneli smo Refleksijske spektre tablet št. 1 (ovojnina: steklenička iz temnega stekla), tabletah št. 2 (ovojnina: Al odlepni pretisni omot), tablet št. 3 (ovojnina: PVC in Al pretisni omot ter PVC vreča) in tablet št. 4

(ovojnina: Al pretisni omot in plastenka). Med seboj smo primerjali spektre tablet, ki so bile izpostavljene  $T = + 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$  oz.  $T = + 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , 65 % RH in tablet, ki so bile izpostavljene najbolj ekstremnemu pogoju:  $T = + 70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . V primeru filmsko obloženih tablet, smo pred analizo odstranili filmsko oblogo. Zanimalo nas je ali se višine in oblike značilnih vrhov v spektru posamezne tablete med tabletami, ki so bile izpostavljene različnim temperaturnim vplivom med seboj razlikujejo.

### ***3.3.2.2 Analiza tablet z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM)***

S SEM smo preiskovali zunanjo površino tablet in površino tablet v prečnem prerezu. Analizo smo izvedli na tabletah št. 1 (ovojnina: steklenička iz temnega stekla), tabletah št. 2 (ovojnina: Al odlepni pretisni omot), tabletah št. 3 (ovojnina: PVC in Al vreča) in tabletah št. 4 (ovojnina: Al pretisni omot, plastenka in Al vreča). Primerjali smo slike tablet, katere smo izpostavili naslednjim enomesečnim temperaturnim pogojem:  $+ 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$  in  $+ 70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Zanimalo nas je kako se spremembe fizikalno-kemijskih lastnosti tablet odražajo v sami notranjosti tablete, kar smo opazovali pri 250 do 1000-kratni povečavi.

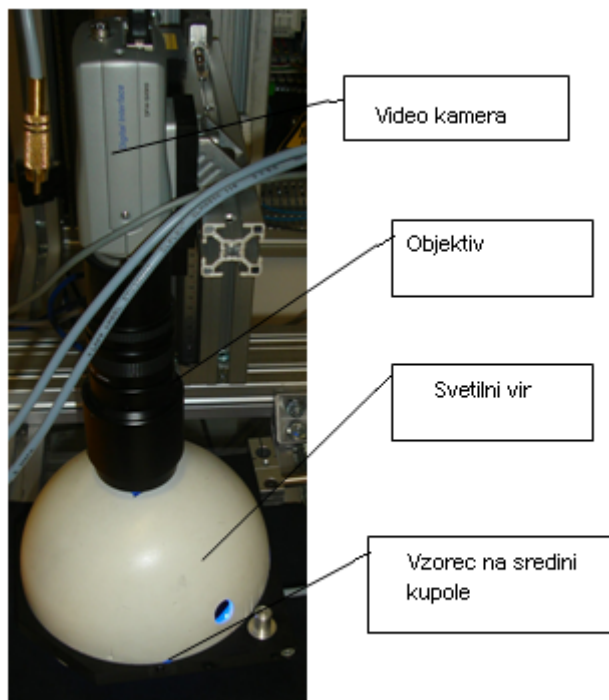
### ***3.3.2.3 Merjenje spektra tablet z NIR spektrofotometrom***

Z NIR spektrofotometrom smo posneli spektre tablet št. 1 (ovojnina: steklenička iz temnega stekla; filmsko obložene in obarvane tablete) in spektre tablet št. 2 (ovojnina: Al odlepni pretisni omot; neobložene in neobarvane tablete), katere smo izpostavili naslednjim enomesečnim temperaturnim pogojem:  $+ 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $+ 70 \text{ }^{\circ}\text{C}$  in  $- 70 \text{ }^{\circ}\text{C}$  ter spektre zdravilnih učinkovin, ki so sestavine teh tablet. Spektre analiziranih tablet smo primerjali z knjižnico spektrov različnih ustreznih serij posameznega izdelka posnetih v daljšem časovnem obdobju in ugotavljali istovetnost zdravilne učinkovine v tableti. Želeli smo ugotoviti ali se spekter zdravilne učinkovine bistveno razlikuje od spektra tablet, zato smo primerjali tudi spektre tablet in zdravilne učinkovine ter ugotavljali razlike med njimi.

### 3.3.2.4 Snemanje tablet z video kamero

Z video kamero smo želeli preveriti, ali je možno zaznati kakšno razliko v optičnih lastnostih med tabletami št. 1 in št. 2, ki so bile izpostavljene različnim pogojem shranjevanja. Tablete smo snemali v vidnem, UV in NIR območju.

V vseh primerih smo uporabili aktivni svetlobni vir s katerim smo osvetlili vzorce (slika 2), s kamero pa opazovali intenziteto odbite svetlobe – reflektanco.



Slika 2: Sestava video kamere za snemanje tablet

Izvedli smo tri poskuse: z vidno, UV in NIR svetlobo. Omejili smo se le na opazovanje zunanje površine tablet. Med seboj smo primerjali slike tablet št. 1 in št. 2, ki so bile izpostavljene  $T = + 25 \text{ }^\circ\text{C}$  ali  $T = + 30 \text{ }^\circ\text{C}$ , 65 % RH in tablet, ki so bile izpostavljene najbolj ekstremnim pogojem:  $T = + 70 \text{ }^\circ\text{C}$  in  $T = - 70 \text{ }^\circ\text{C}$ . Pri tem je bilo pomembno tudi, da je bila tableta št. 1 filmsko obložena in obarvana, tableta št. 2 pa neobložena in neobarvana.

*Prvo analizo* smo izvedli tako, da smo tablete osvetlili z NIR svetlobo pri  $\lambda = 820 \text{ nm}$  in jih opazovali z video kamero.

*Drugo analizo* smo izvedli, tako, da smo tablete osvetlili z vidno (belo) svetlobo in jih opazovali z video kamero v vidnem delu spektra.

*Tretjo analizo* smo izvedli dvakrat. Prvič s kamero s poudarjeno občutljivostjo v UV delu spektra, kjer nismo zaznali nobenih posebnosti. Med preskušanjem pa smo s prostim očesom opazili fluorescenco, zato smo UV kamero nadomestili s kamero, ki deluje v vidnem območju spektra. Tako smo v tem primeru tablete osvetlili z UV svetlobo  $\lambda = 340$  nm in snemali z video kamero v vidnem delu spektra. Rezultate smo primerjali z rezultati fizikalno-kemijskih metod preskušanja tablet in skušali poiskati korelacijo med rezultati.

## **4 REZULTATI IN RAZPRAVA**

### **4.1 VPLIV TRANSPORTNIH POGOJEV NA FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI TABLET**

Parametre, ki simulirajo transportne pogoje, smo izbrali na osnovi fizikalno-kemijskih lastnosti tablet. Tablete v ovojnini smo izpostavili naslednjim enomesečnim temperaturnim pogojem in relativni vlažnosti zraka: + 50 °C (Kambič, SP-190), + 40 °C/ 75 % RH (stabilnostna komora, Vötsch VP 1300), + 30 °C/ 65 % RH (stabilnostna komora, Vötsch VP 1300), 25 °C, + 5 °C (hladilnik, LTH, HOM 600 BEM) in - 20 °C (zmrzovalnik, SANYO, MDF-U333). Po enomesečni izpostavitvi tablet pri izbranih pogojih smo izvedli fizikalno-kemijske analize tablet skladno s specifikacijskimi zahtevami (priloga). Na osnovi dobljenih rezultatov smo vsaki od tablet določili ustrezne transportne pogoje (preglednica III), glede na odločitveno drevo, ki ga prikazuje preglednica II. Vsi rezultati fizikalno-kemijskih analiz so bili znotraj specifikacijskih mej, zato smo vsem tabletam določili transportne pogoje: NORMAL, brez dodatnih oznak. Kar posledično pomeni, da se transport omenjenih tablet lahko vrši pri temperaturi  $\leq + 40$  °C oz. so lahko tablete za en dan izpostavljene tudi temperaturi  $\leq + 50$  °C (preglednica III).

Pričakovali smo, da bodo tablete tudi pri izpostavitvi + 50 °C in - 20 °C ustrezale transportnim pogojem NORMAL, zato smo se odločili, da testiranja izvedemo pri dveh ekstremnih temperaturnih pogojih. Tablete v ovojnini smo za en mesec izpostavili - 70 °C (zmrzovalnik, SANYO, MDF-U53V) in + 70 °C (sušilnik, Kambič, WTC). Nato smo izvedli fizikalno-kemijska testiranja in primerjali rezultate z mejami v specifikaciji

(priloga). Pri tabletah, ki so bile izpostavljene + 70 °C, je prišlo do odstopanj od specifikacijskih vrednosti, medtem ko so bili rezultati tablet, ki so bile izpostavljene - 70 °C znotraj specifikacijskih mej.

V nadaljevanju sledijo komentarji k rezultatom fizikalno-kemijskih testiranj tablet, ki so bile en mesec izpostavljene temperaturi + 70 °C.

#### **4.1.1 Fizikalno-kemijske spremembe tablet določene z avtoriziranimi metodami**

##### **Spremembe fizikalno-kemijskih lastnosti tablet št. 1:**

Tablete št. 1 (ovojnina: steklenička iz temnega stekla), ki so bile izpostavljene + 70 °C so izkazovale neustrezno, komaj 3 % sproščanje zdravilne učinkovine v 30 minutah, kar je neprimerljivo s specifikacijsko mejo 75 % sproščene zdravilne učinkovine v 30 minutah.

##### **Spremembe fizikalno-kemijskih lastnosti tablet št. 2:**

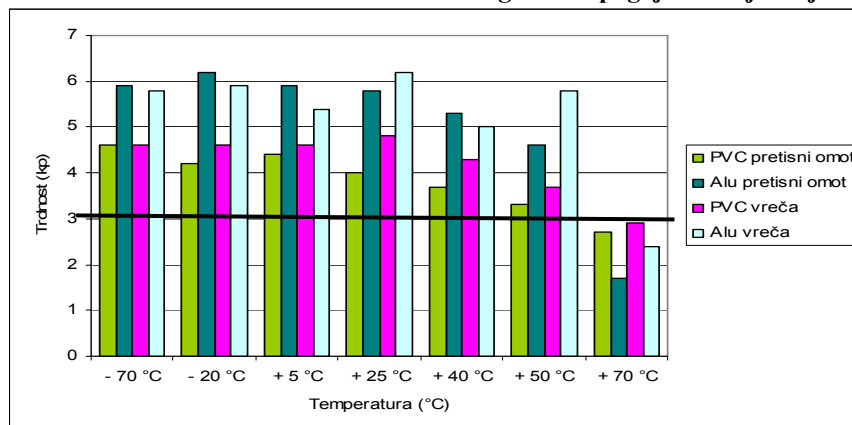
Tablete št. 2 (ovojnina: Al odlepni pretisni omot), ki so bile izpostavljene + 70 °C so izkazovale neustrezno barvo in videz. Rezultati vsebnosti posameznih sorodnih snovi (0,12 %) pa so se gibali na zgornji specifikacijski meji (0,1 %).

##### **Spremembe fizikalno-kemijskih lastnosti tablet št. 3:**

- ***Trdnost***

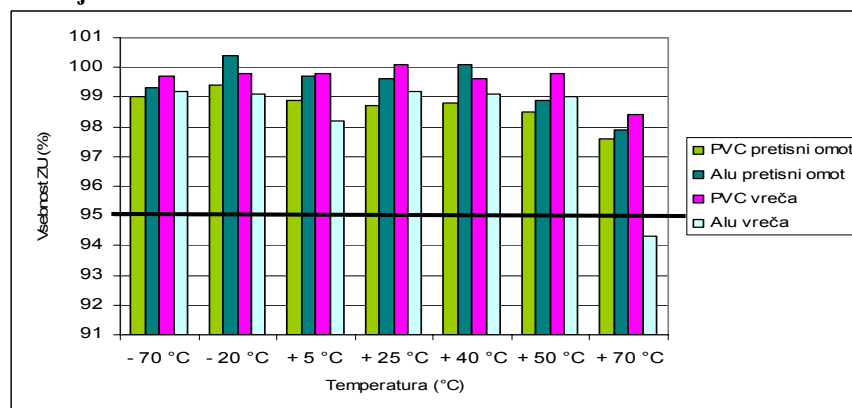
V preglednici VIII je prikazano, da je bila trdnost znotraj specifikacijskih mej (3,06 – 9,17 kp) pri pogojih od - 70 °C do + 50 °C, vendar najnižja pri uporabi PVC pretisnega omota in PVC vreče. Pri temperaturi + 70 °C je trdnost tablet padla pod specifikacijsko mejo, ne glede na vrsto ovojnine. Pri tem je bilo zaznati najbolj drastičen padec trdnosti pri tabletah iz Al vreče (2,4 kp) in iz Al pretisnega omota (1,7 kp). Spodnjo specifikacijsko mejo trdnosti predstavlja odebeljena vodoravna črta v preglednici VIII.



**Preglednica VIII: Prikaz rezultatov trdnosti tablete št. 3 glede na pogoje shranjevanja in ovojnino.**

- ***Vsebnost zdravilne učinkovine***

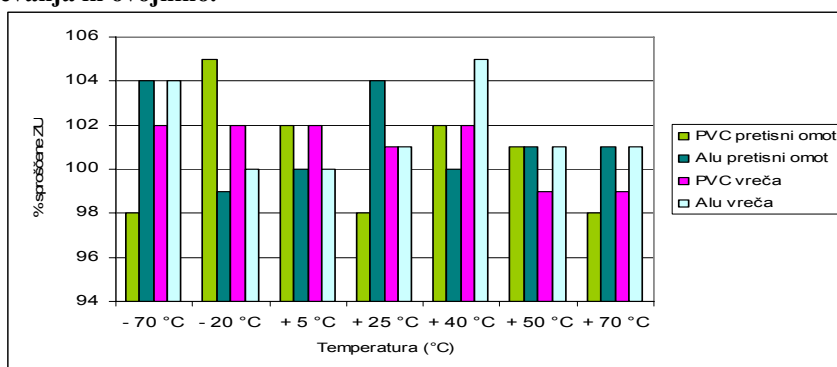
V preglednici IX je prikazano, da je vsebnost zdravilne učinkovine, ne glede na izbrano ovojnino pri pogojih od -70 °C do +50 °C, znotraj specifikacijskih mej (95 – 105 %). Pri temperaturi +70 °C je vsebnost zdravilne učinkovine v tableti padla pod specifikacijsko mejo le v primeru tablet iz Al vreče (94,3 %), medtem, ko je v ostalih ovojninah ostala v specifikacijskih mejah. Spodnjo specifikacijsko mejo vsebnosti zdravilne učinkovine predstavlja odebeljena vodoravna črta v preglednici IX.

**Preglednica IX: Prikaz rezultatov vsebnosti zdravilne učinkovine v tableti št. 3 glede na pogoje shranjevanja in ovojnino.**

- ***Test raztapljanja zdravilne učinkovine***

V Preglednici X so prikazani rezultati testa raztapljanja zdravilne učinkovine iz tablet, ki so bile izpostavljene različnim pogojem shranjevanja (od -70 °C do +70 °C). Vsi rezultati ustrezajo specifikacijski meji: min. 80 %(Q) zdravilne učinkovine se mora sprostiti v 30 minutah.

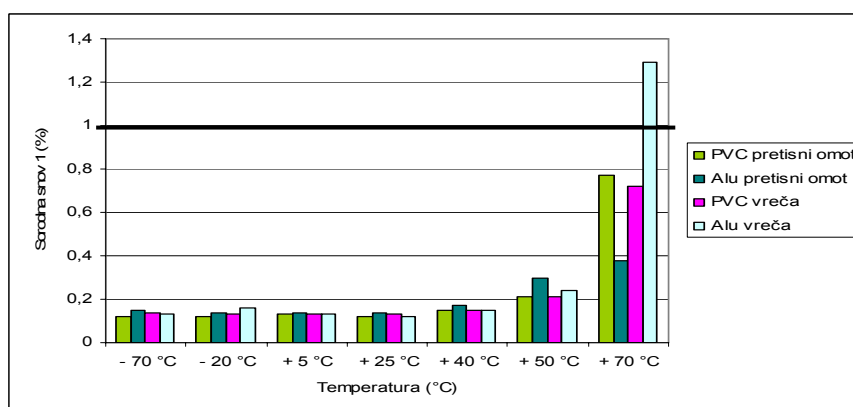
**Preglednica X: Prikaz deleža sproščene zdravilne učinkovine v tableti št. 3 po 30 minutah, glede na pogoje shranjevanja in ovojnino.**



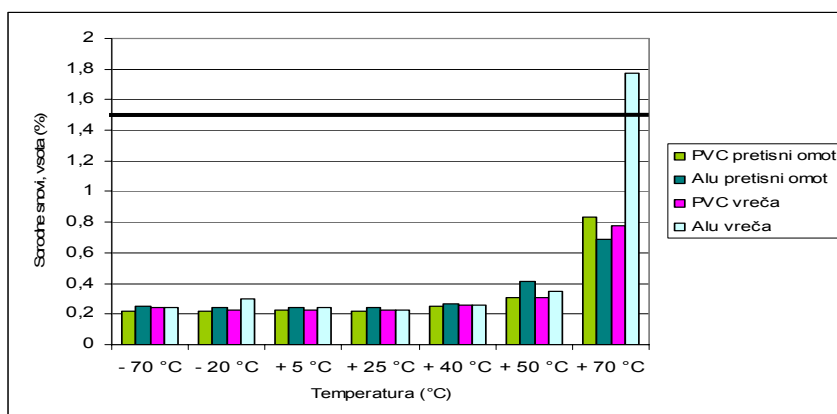
- **Vsebnost sorodnih snovi**

V preglednici XI je prikazan trend naraščanja vsebnosti znane sorodne snovi 1. Vrednosti se v območju med -70 °C in +40 °C ne spreminjajo, ne glede na uporabljeno ovojnino. Naraščati začnejo pri +50 °C, ne glede na ovojnino, vendar so še vedno znotraj predpisanih specifikacijskih mej (maks. 1,0 %). Pri +70 °C vsebnost znane sorodne snovi 1 naraste, predvsem v tabletah iz Al vreče in doseže 1,29 %, kar je na zgornji specifikacijski meji. Podoben trend je viden tudi pri vsoti znanih in neznanih sorodnih snovi (preglednica XII), kjer vrednost vsote sorodnih snovi v tabletah staranim pri +70 °C preseže specifikacijske okvire (maks. 1,5 %) in znaša 1,77 %. Zgornji specifikacijski meji za vsebnost sorodnih snovi predstavljata odebeljeni vodoravni črti v preglednicah XI in XII.

**Preglednica XI: Prikaz vsebnosti sorodne snovi 1 v tableti št. 3 glede na pogoje shranjevanja in ovojnino.**



**Preglednica XII: Prikaz vsebnosti vsote sorodnih snovi v tableti št. 3 glede na pogoje shranjevanja in ovojnino.**

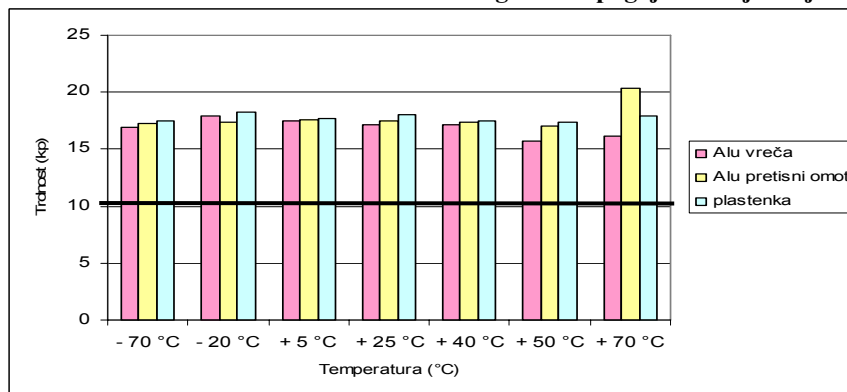


### **Spremembe fizikalno-kemijskih lastnosti tablet št. 4:**

- ***Trdnost***

V preglednici XIII je prikazano, da je trdnost tablet št. 4 znotraj specifikacijskih mej (10,2 – 30,6 kp) pri vseh temperaturnih pogojih od - 70 °C do + 70 °C, ne glede na uporabljeno ovojnino. Spodnjo specifikacijsko mejo za trdnost predstavlja odebeljena vodoravna črta v preglednici XIII.

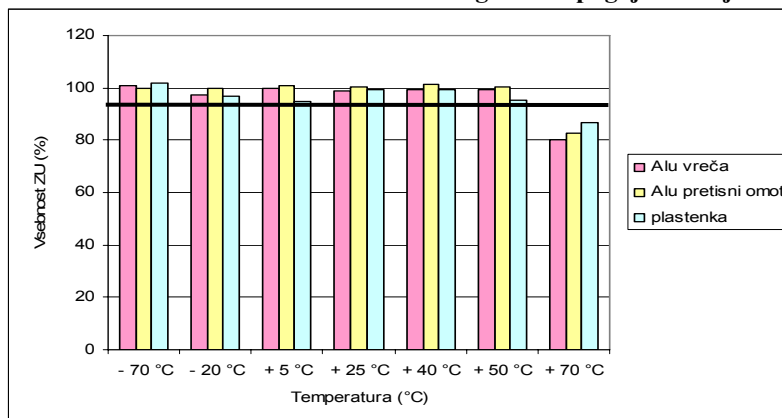
**Preglednica XIII: Prikaz rezultatov trdnosti tablete št. 4 glede na pogoje shranjevanja in ovojnino.**



- ***Vsebnost zdravilne učinkovine***

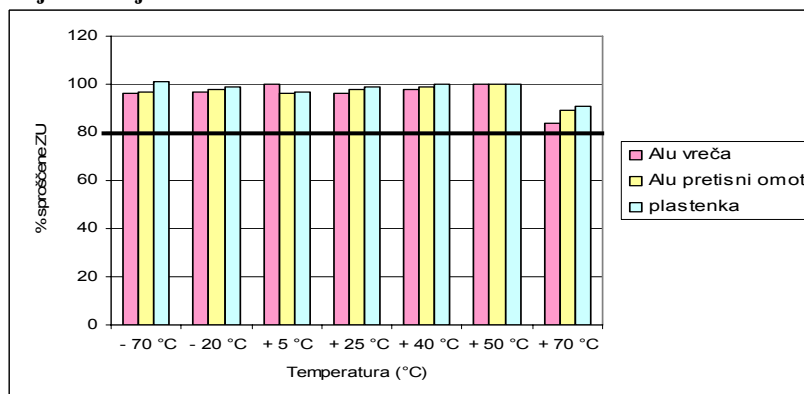
V preglednici XIV je prikazano, da je vsebnost zdravilne učinkovine, ne glede na izbrano ovojnino pri pogojih od - 70 °C do + 50 °C znotraj specifikacijskih mej.

Pri temperaturi + 70 °C vsebnost zdravilne učinkovine v tableti pade pod specifikacijsko mejo (95 - 105 %), ne glede na uporabljeno ovojnino (rezultati od 80,4 do 86,7 %). Spodnjo specifikacijsko mejo za vsebnost zdravilne učinkovine predstavlja odebeljena vodoravna črta v preglednici XIV.

**Preglednica XIV: Prikaz rezultatov vsebnosti tablete št. 4 glede na pogoje shranjevanja in ovojnino.**

- **Test raztapljanja**

Iz preglednice XV je razvidno, da je sproščanje zdravilne učinkovine iz tablete ustrezno, ne glede na izbrano ovojnino in ne glede na temperaturne pogoje v območju od - 70 °C do + 50 °C. Tudi pri temperaturi + 70 °C in v različni ovojnini je bilo sproščanje zdravilne učinkovine iz tablete še ustrezno min. 75 %(Q) zdravilne učinkovine se je sprostil v 30 minutah. Odebeljena vodoravna črta v preglednici XV predstavlja specifikacijsko mejo za test raztapljanja.

**Preglednica XV: Prikaz deleža sproščene zdravilne učinkovine v tableti št. 4 po 30 minutah, glede na pogoje shranjevanja in ovojnino.**

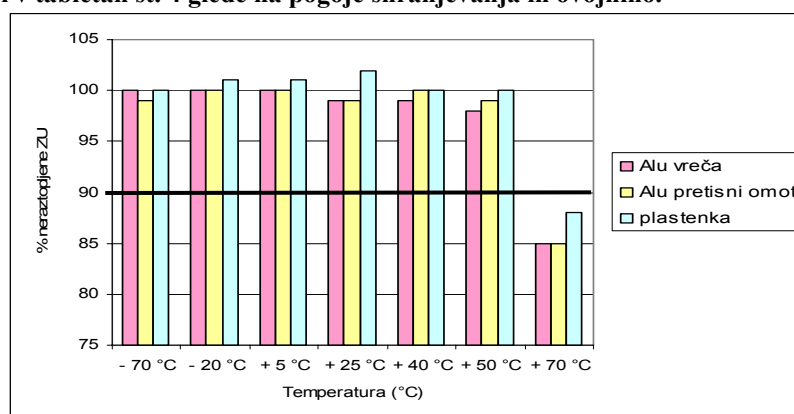
- **Gastrorezistenca**

V preglednici XVI so prikazani rezultati “in vitro” določanja gastrorezistence tablet (odpornost na želodčni sok in encime v želodcu), glede na temperaturne pogoje (od - 70 °C do + 50 °C) in glede na izbrano ovojnino. Rezultati so podani kot zaostala masa učinkovine v tableti po dvourni izpostavitvi 0,1M HCl. Pri temperaturi + 70 °C se iz tablete sprosti več zdravilne učinkovine kot je dovoljeno po specifikaciji (največ 10 %

zdravilne učinkovine se lahko sprosti oz. najmanj 90 % zdravilne učinkovine mora ostati nesproščene). Dobljeni rezultati gastrorezistence tablet št. 4 iz Al vreče, Al pretisnega omota in plastenke so bili neustrezni (vrednosti dobljenih rezultatov so se gibale med 85 – 88 %).

Odebeljena vodoravna črta v preglednici XVI predstavlja specifikacijsko mejo za gastrorezistenco.

**Preglednica XVI: Prikaz rezultatov deleža nesproščene zdravilne učinkovine po dvourni izpostavitvi tablet 0,1M HCl v tabletah št. 4 glede na pogoje shranjevanja in ovojnino.**

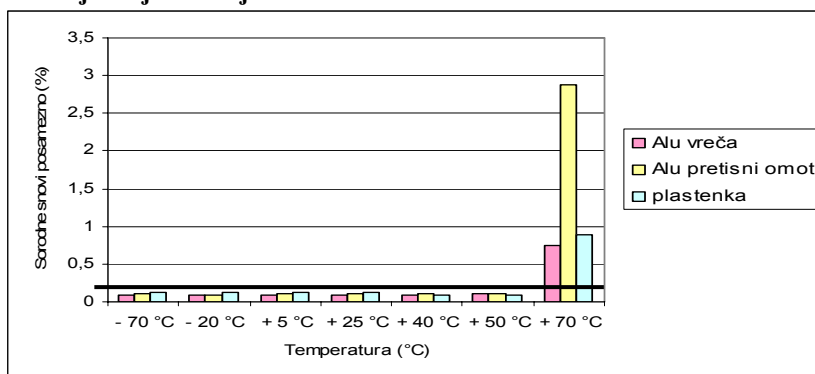


- **Sorodne snovi**

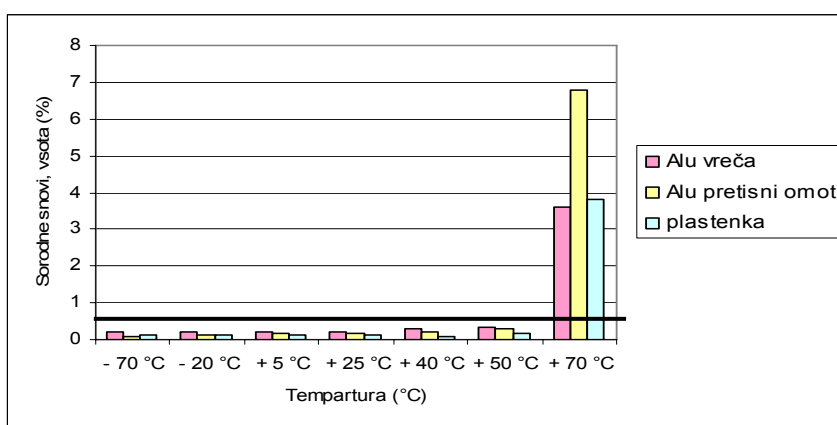
V preglednici XVII je prikazana odvisnost vsebnosti posameznih sorodnih snovi v tabletah od pogojev shranjevanja. Vsebnost posameznih sorodnih snovi v temperaturnem območju od -70 °C do +50 °C se ni spreminjala. Povišano vsebnost smo zaznali le pri +70 °C, zlasti v tabletah, ki so bile pakirane v Al pretisni omot. Največja posamezna sorodna snov je narasla na 2,87 %, kar je nad specifikacijsko mejo (maks. 0,2 %). Podoben trend smo zaznali tudi pri vsoti sorodnih snovi (preglednica XVIII), ko je vsebnost vsote sorodnih snovi pri +70 °C za nekajkrat presegla specifikacijske meje (maks. 0,5 %) in je znašala 6,80 %. Vsebnost največje sorodne snovi iz Al vreče je znašala 0,75 %, iz plastenke pa 0,89 %. Medtem, ko je vsebnost vsote sorodnih snovi znašala za tablete iz Al vreče 3,61 % in za tablete iz plastenke 3,80 %.

Zgornji specifikacijski meji za vsebnost sorodnih snovi predstavljata odebeljeni vodoravni črti v preglednicah XVII in XVIII.

**Preglednica XVII: Prikaz rezultatov vsebnosti največjih posameznih sorodnih snovi v tabletah št. 4 glede na pogoje shranjevanja in ovojnino.**



**Preglednica XVIII: Prikaz rezultatov vsote sorodnih snovi v tableti št. 4 glede na pogoje shranjevanja in ovojnino.**



#### 4.1.2 Spremembe fizikalno-kemijskih lastnosti tablet določene z neavtoriziranimi metodami

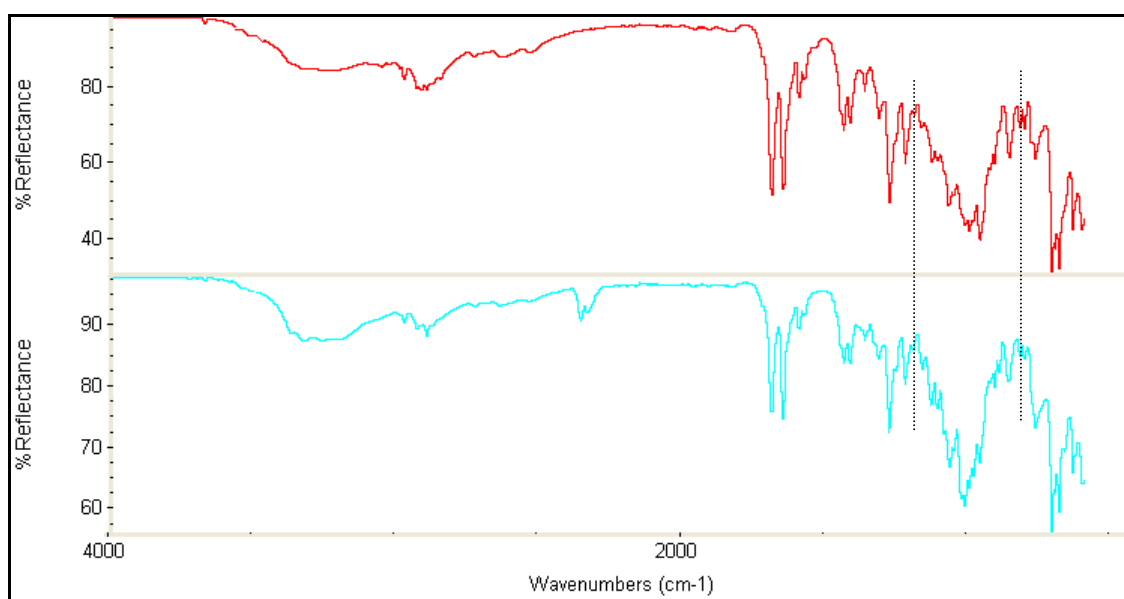
Z neavtoriziranimi metodami smo preiskovali tablete, katerim smo z avtoriziranimi oz. regulatorno odobrenimi fizikalno-kemijskimi metodami določili neustreznost. Analize smo izvedli na tabletah, ki so bile starane pri + 70 °C in pri - 70 °C ter rezultate primerjali s tabletami, ki niso bile izpostavljene ekstremnim temperaturam: + 25 °C oz. pri + 30 °C, 65 % RH in se njihove fizikalno-kemijske lastnosti niso spremenile.

#### 4.1.2.1 Izmerjeni spektri tablet v IR območju s tehniko oslabiljene popolne odbojnosti (ATR)

Analizo smo izvedli na tabletah št. 1 (ovojnina: steklenička iz temnega stekla), tabletah št. 2 (ovojnina: Al odlepni pretisni omot), tabletah št. 3 (ovojnina: PVC in Al pretisni omot ter PVC vreča) in tableti št. 4 (ovojnina: Al pretisni omot in plastenka). Posneli smo refleksijske spektre tablet, ki so bile izpostavljene + 25 °C oz. + 30 °C, 65 % RH in tablet shranjenih pri ekstremnih pogojih + 70 °C ter jih primerjali med seboj. Skušali smo najti razlike v spektrih.

#### **Primerjava spektrov tablet št. 1 iz stekleničke, iz rjavega stekla, staranih pri različnih pogojih**

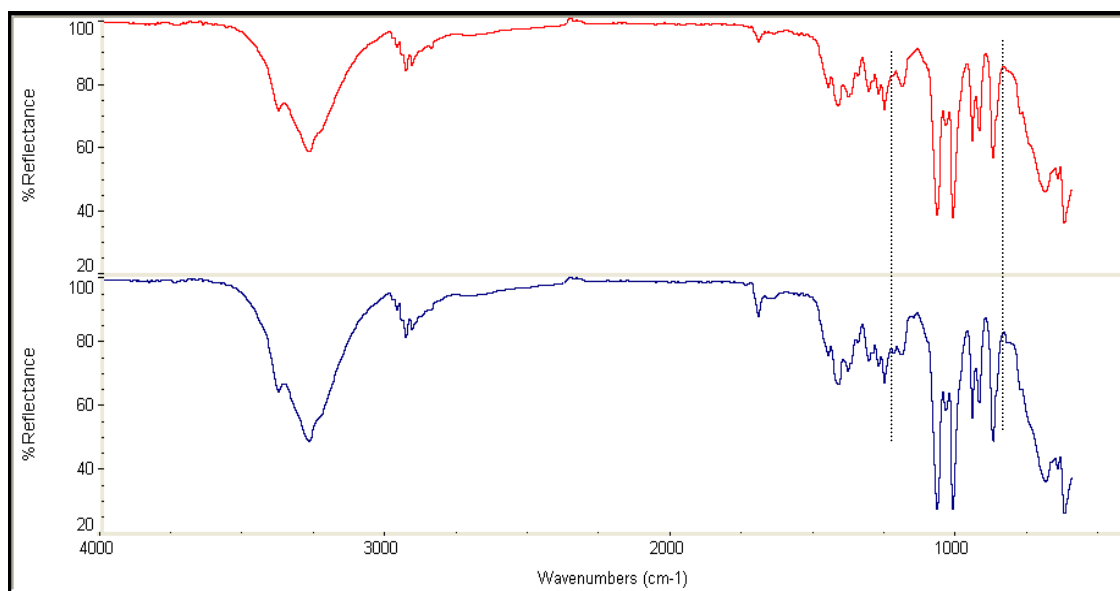
Poiskali smo razlike v obliki in višini vrhov spektrov tablet št. 1, ki so bile izpostavljene + 25 °C in + 70 °C (slika 3). Razlike so opazne pri valovnem številu od okoli 1200 cm<sup>-1</sup> do okoli 850 cm<sup>-1</sup>. Razlike smo poudarili z navpično črto.



Slika 3: FTIR spektra: Tableta št. 1, spektra pri + 25 °C (rdeč spekter) in pri + 70 °C (moder spekter).

### **Primerjava spektrov tablet št. 2 iz Al odlepnega pretisnega omota, staranih pri različnih pogojih**

Poiskali smo razlike v obliki in višini vrhov spektrov tablet št. 2, ki so bile izpostavljene + 25 °C in + 70 °C (slika 4). Razlike so opazne pri valovnem številu od okoli 1200 cm<sup>-1</sup> in okoli 800 cm<sup>-1</sup>. Razlike smo poudarili z navpično črto.

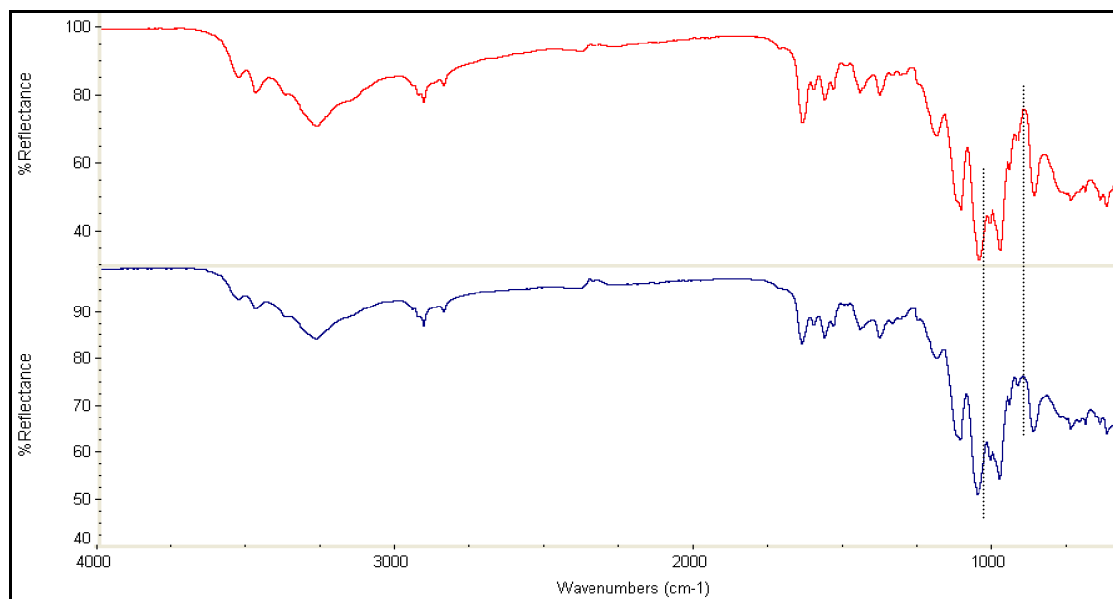


Slika 4: FTIR spektra: Tableta 2, spektra tablet pri + 25 °C (rdeč spekter) in pri + 70 °C (moder spekter).

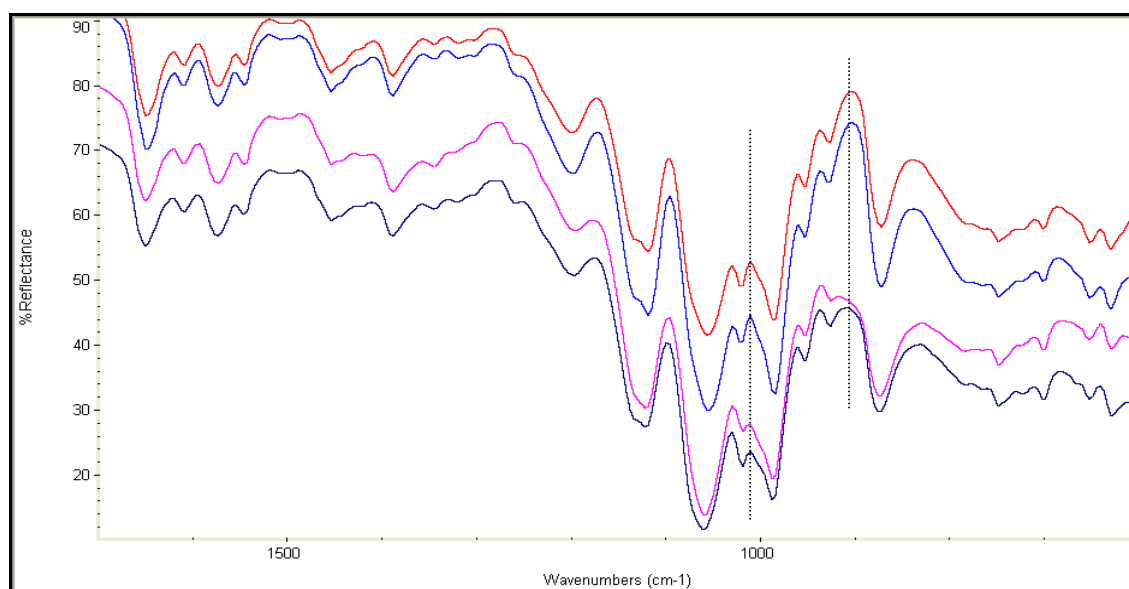
### **Primerjava spektrov tablet št. 3 iz PVC pretisnega omota, staranih pri različnih pogojih**

S primerjavo spektrov na sliki 5 smo pokazali razlike med spektri tablet št. 3 iz PVC pretisnega omota pri + 30 °C, 65 % RH in pri + 70 °C. Razlike smo izpostavili z bolj podrobnim pogledom omenjenega območja na sliki 6. Iz primerjave med spektri je razvidno, da so pri valovnem številu okoli 1010 cm<sup>-1</sup> in okoli 900 cm<sup>-1</sup> opazne razlike v ostrini in višini vrhov, katere smo poudarili z navpičnimi črtami.





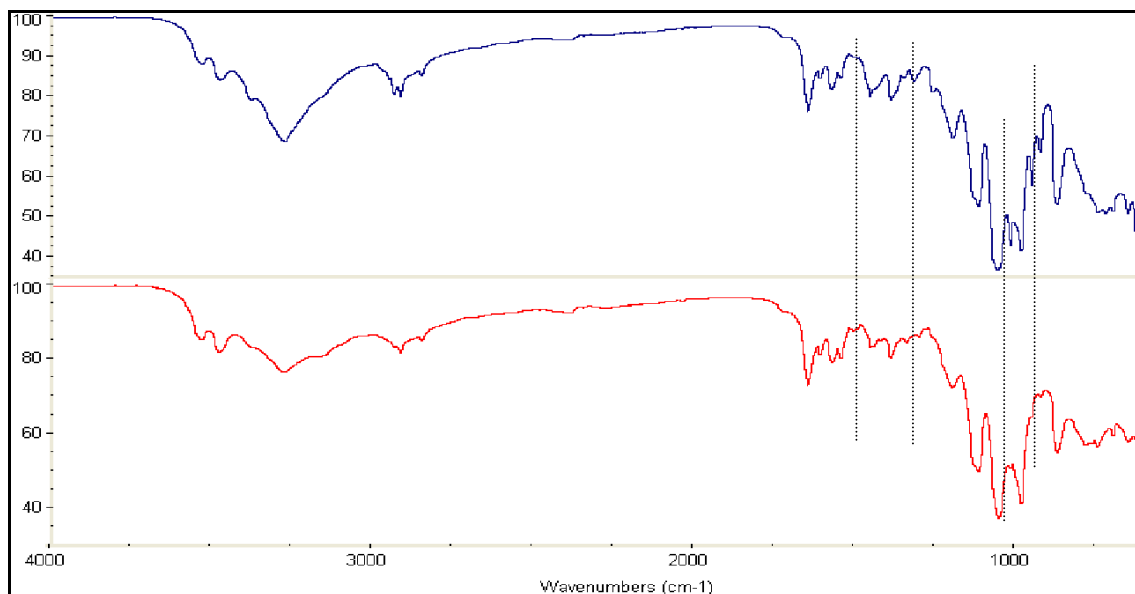
Slika 5: FTIR spektra: Tableta 3, PVC pretisni omot, primerjava spektrov pri + 30 °C, 65 % RH (rdeč spekter) in pri + 70 °C (moder spekter).



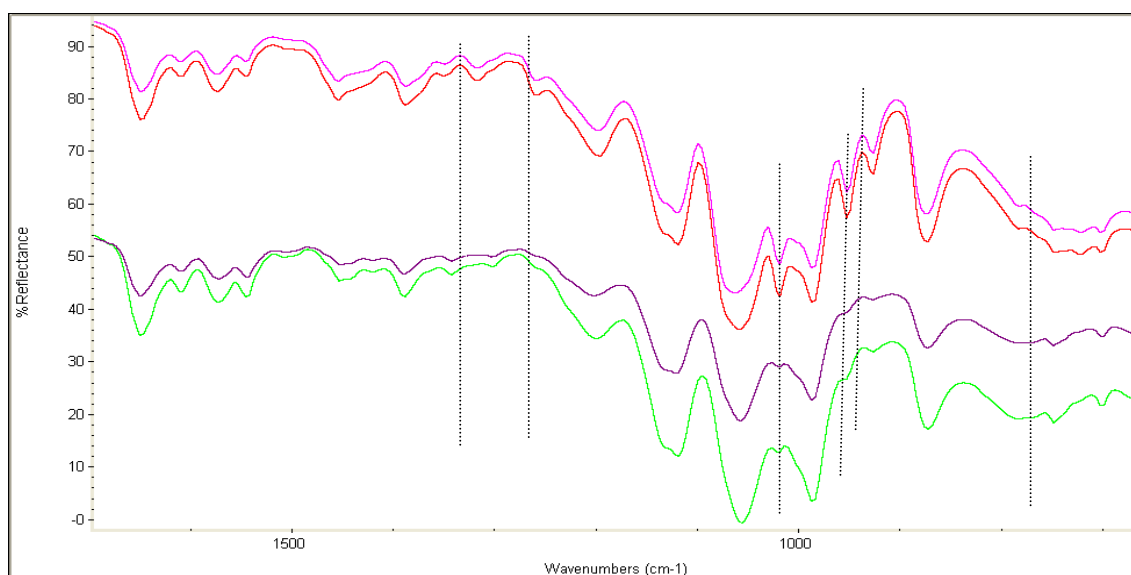
Slika 6: FTIR spektri: Tableta 3, PVC pretisni omot, primerjava spektrov pri + 30 °C, 65 % RH (svetlo moder in rdeč spekter) in pri + 70 °C (temno moder in vijoličen spekter).

### **Primerjava spektrov tablet št. 3 iz Al pretisnega omota, staranih pri različnih pogojih**

Na sliki 7 so opazne razlike v ostrini vrhov med spektri tablet št. 3 iz Al pretisnega omota, shranjevanih pri + 30 °C, 65 % RH in pri + 70 °C. Ugotovili smo, da so vrhovi tablet staranih pri + 70 °C manj intenzivni od vrhov tablet, ki so bile izpostavljene + 25 °C. Bolj podroben prikaz področja razlik v spektrih prikazuje slika 8: okoli 1420  $\text{cm}^{-1}$  do 1270  $\text{cm}^{-1}$ , okoli 1030  $\text{cm}^{-1}$ , okoli 970  $\text{cm}^{-1}$  do 900  $\text{cm}^{-1}$  in okoli 790  $\text{cm}^{-1}$  do 700  $\text{cm}^{-1}$ . Razlike smo poudarili z navpičnimi črtami.



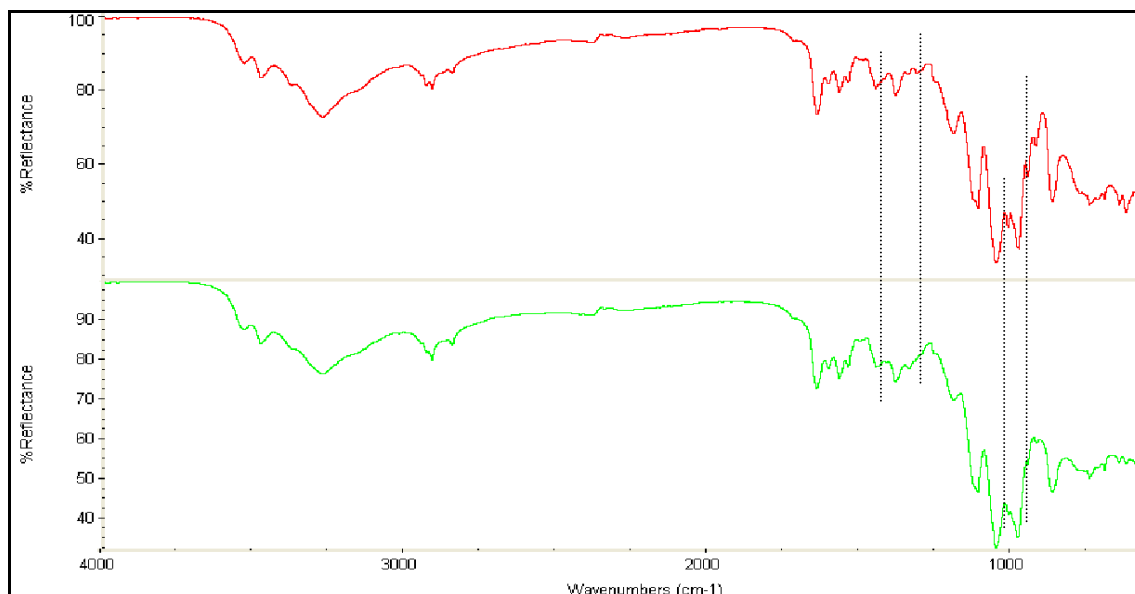
Slika 7: FTIR spektra: Tableta št. 3, Al pretisni omot, primerjava spektrov pri + 30 °C, 65 % RH (moder spekter) in pri + 70 °C (rdeč spekter)



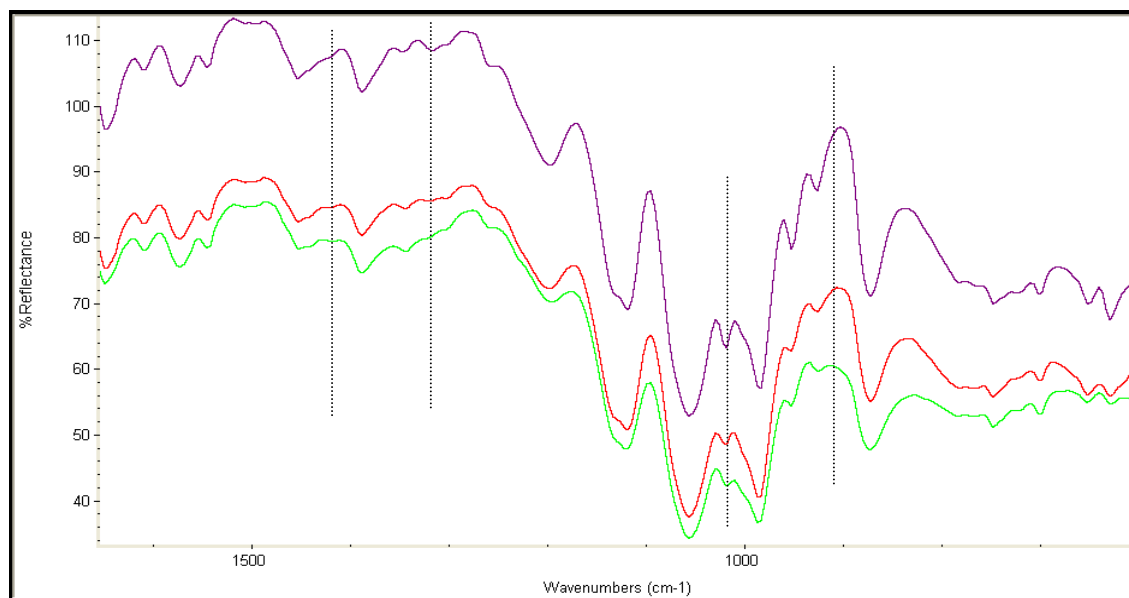
Slika 8: FTIR spektri: Tableta 3, Al pretisni omot, primerjava spektrov pri + 30 °C, 65 % RH (svetlo vijoličen in rdeč spekter) in pri + 70 °C (zelen in vijoličen spekter).

### **Primerjava spektrov tablet št. 3 iz PVC vreče, staranih pri različnih pogojih**

Na sliki 9 so opazne razlike v ostrini vrhov med spektri št. 3 iz PVC vreče, shranjevanih pri + 30 °C, 65 % RH in pri + 70 °C. Razlike smo izpostavili z bolj podrobним pogledom omenjenega območja na sliki 10. Primerjava med spektri je pokazala razlike v ostrini in višini vrhov med spektroma v naslednjih področjih valovnega števila: okoli 1400  $\text{cm}^{-1}$  do 1300  $\text{cm}^{-1}$ , okoli 1030  $\text{cm}^{-1}$  do 980  $\text{cm}^{-1}$  in okoli 970  $\text{cm}^{-1}$  do 890  $\text{cm}^{-1}$ . Razlike smo poudarili z navpičnimi črtami.



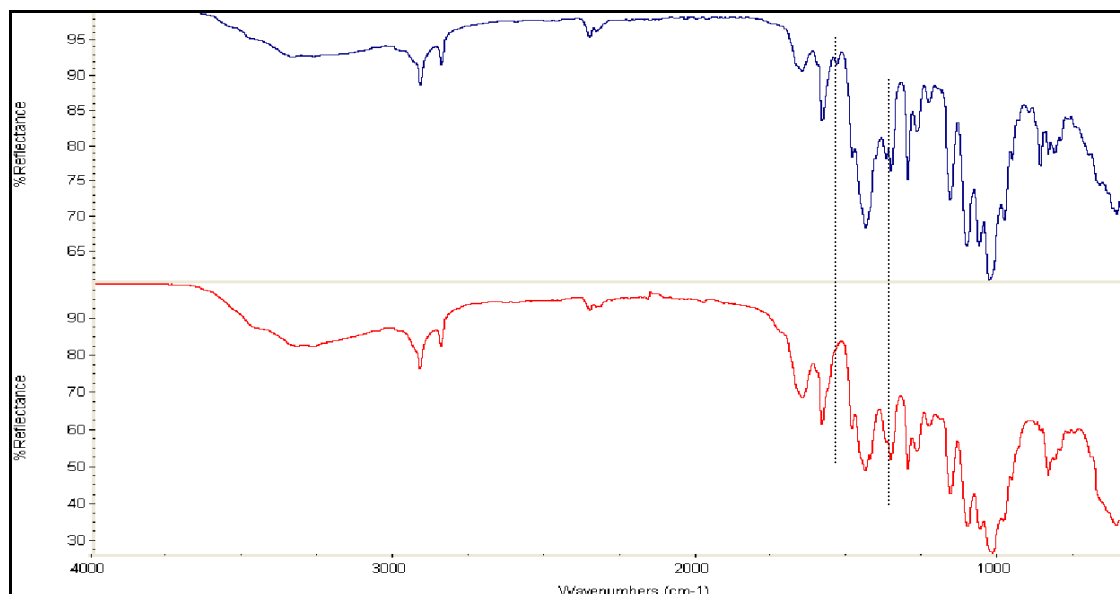
Slika 9: FTIR spektra: Tableta 3, PVC vreča, primerjava spektrov pri + 30 °C, 65 % RH (rdeč spekter) in pri + 70 °C (zelen spekter).



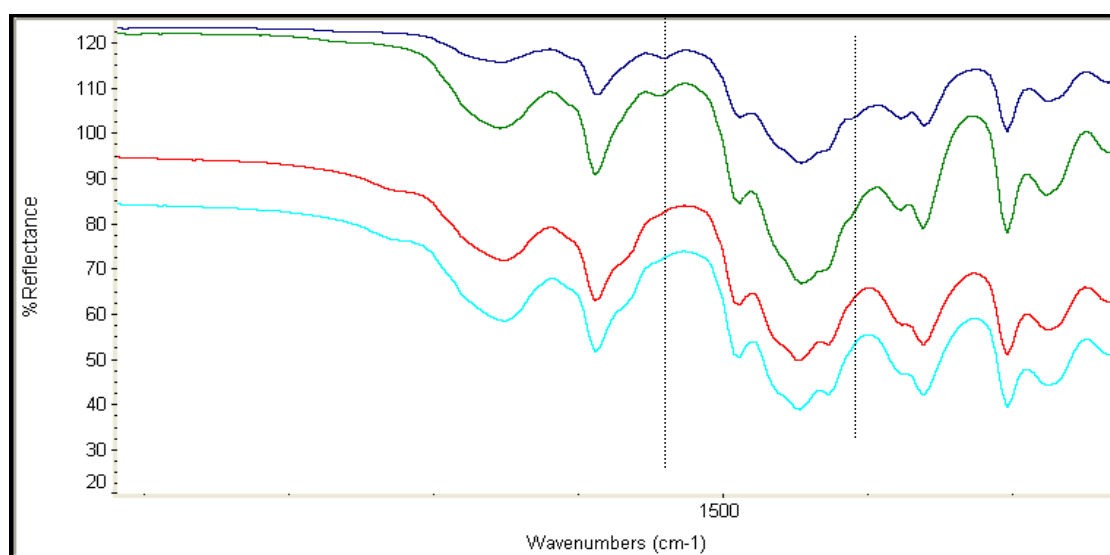
Slika 10: FTIR spektri: Tableta 3, PVC vreča, primerjava spektrov pri + 30 °C, 65 % RH (vijoličen spekter) in pri + 70 °C (zelen in rdeč spekter).

### **Primerjava spektrov tablet št. 4 iz Al pretisnega omota, staranih pri različnih pogojih**

Na sliki 11 so opazne razlike v ostrini vrhov med spektri tablet št. 4 iz Al pretisnega omota, staranega pri + 25 °C in pri + 70 °C. Opazne razlike smo izpostavili na sliki 12. Primerjava med spektri je pokazala razlike v ostrini in višini vrhov med spektroma v naslednjih področjih valovnega števila: okoli 1580 cm<sup>-1</sup> do 1360 cm<sup>-1</sup>. Razlike smo poudarili z navpičnimi črtami.



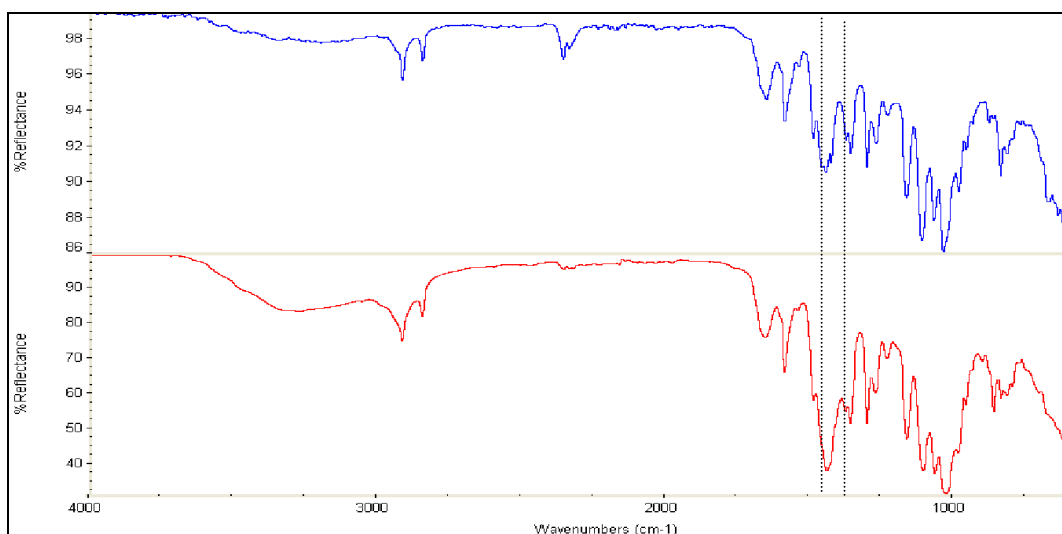
Slika 11: FTIR spektra: Tableta št. 4, Al pretisni omot, primerjava spektrov pri + 25 °C (moder spekter) in pri + 70 °C (rdeč spekter).



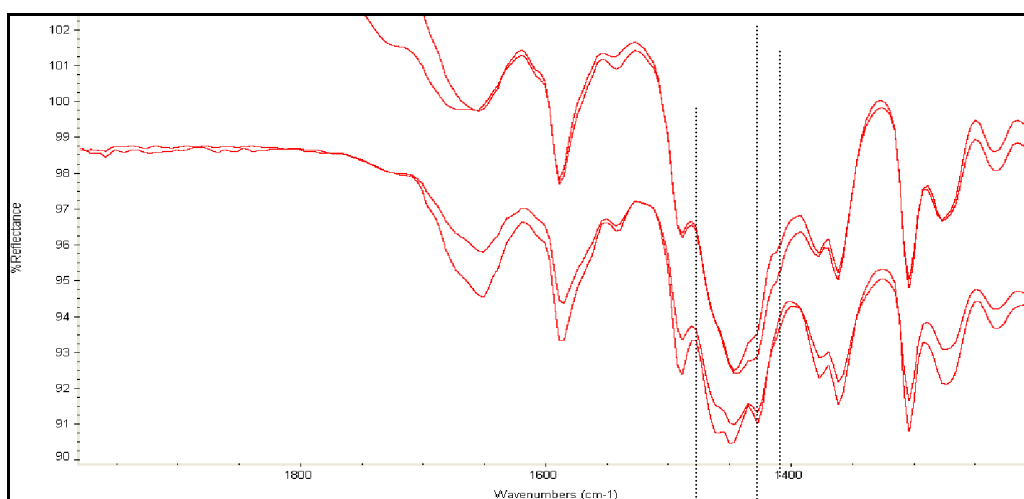
Slika 12: FTIR spektri: Tableta št. 4, Al pretisni omot, primerjava spektrov pri + 25 °C (moder in zelen spekter) in pri + 70 °C (svetlo moder in rdeč spekter).

### **Primerjava spektrov tablet št. 4 iz plastenke, staranih pri različnih pogojih**

Primerjali smo spektre tablet na sliki 13 in pokazali opazne razlike med spektroma tablet št. 4 iz plastenke, pri + 25 °C in pri + 70 °C. Opazne razlike smo izpostavili z bolj podrobnim pogledom omenjenega območja na sliki 14. Razlike v območju od okoli 1470 cm<sup>-1</sup> do 1410 cm<sup>-1</sup> smo poudarili z navpičnimi črtami.



**Slika 13: FTIR spektra: Tableta 4, plastenka, primerjava spektrov pri + 25 °C (moder spekter) in pri + 70 °C (rdeč spekter).**



**Slika 14: FTIR spektri: Tableta št. 4, plastenka, primerjava spektrov pri + 25 °C (zgornja rdeča spektra) in pri + 70 °C (spodnja rdeča spektra).**

Z IR ATR tehniko smo pokazali, da se značilni vrhovi v spektru tablet, ki jim je bila s fizikalno-kemijskimi metodami dokazana neustreznost razlikujejo po obliki, velikosti in intenziteti od tistih, katerih ustreznost je bila dokazana.

#### 4.1.2.2 Analiza tablet z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM)

Analizirali smo zunanjo površino tablet in površino tablet v prečnem prerezu. Analizo smo izvedli na tabletah št. 1 (ovojnina: steklenička iz temnega stekla), št. 2 (ovojnina: Al odlepni pretisni omot), št. 3 (ovojnina: PVC in Al vreča) in tabletah št. 4 (ovojnina: Al pretisni omot, plastenka in Al vreča). Primerjali smo slike tablet, katere smo izpostavili naslednjim enomesečnim temperaturnim pogojem: + 25 °C in + 70 °C.

##### **Primerjava slik tablet št. 1 iz stekleničke, iz temnega stekla:**

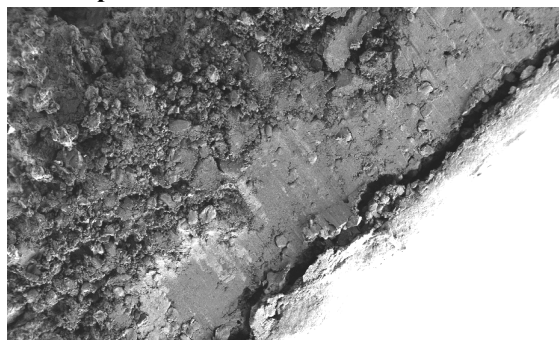
Z elektronskim mikroskopom nismo zaznali razlik na zunanji površini tablet ali na prerezu tablet št. 1, ki so bile izpostavljene + 70 °C, v primerjavi s tabletami, ki so bile izpostavljene + 25 °C (slike 15-18).



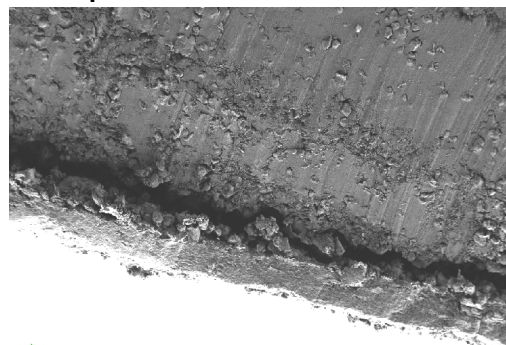
**Slika 15: Elektronsko mikroskopska slika zunanje površine tablete št. 1, pri + 25 °C; 1000 X povečava.**



**Slika 16: Elektronsko mikroskopska slika zunanje površine tablete št. 1, pri + 70 °C; 1000 X povečava.**



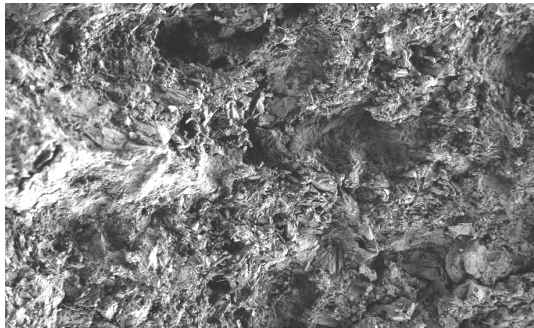
**Slika 17: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza tablete št. 1, pri + 25 °C; 500 X povečava.**



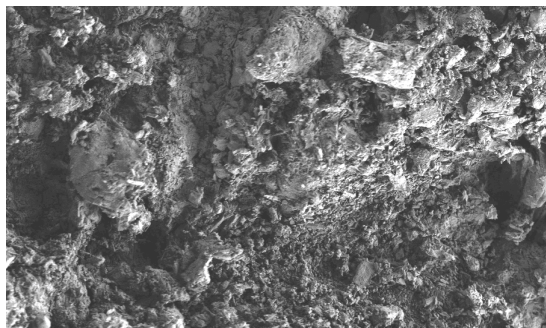
**Slika 18: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza tablete št. 1, pri + 70 °C; 500 X povečava.**

**Primerjava slik tablet št. 2 iz Al odlepnega pretisnega omota:**

Z elektronskim mikroskopom nismo zaznali razlik na površini prereza tablet št. 2, ki so bile izpostavljene + 70 °C, v primerjavi s tabletami, ki so bile izpostavljene + 25 °C (sliki 19, 20).



**Slika 19: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza tablete št. 2, pri + 25 °C; 1000 X povečava.**



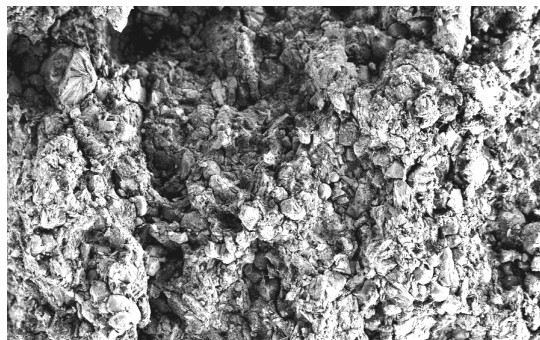
**Slika 20: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza tablete št. 2, pri + 70 °C; 1000 X povečava.**

**Primerjava slik tablet št. 3 iz Al vreče:**

Z elektronskim mikroskopom nismo zaznali razlik na površini prereza tablet št. 3, ki so bile izpostavljene + 70 °C, v primerjavi s tabletami, ki so bile izpostavljene + 25 °C (sliki 21, 22).



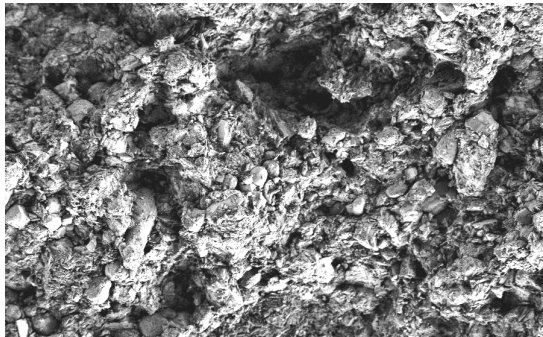
**Slika 21: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza tablete št. 3 iz Al vreče, pri + 25 °C; 1000 X povečava.**



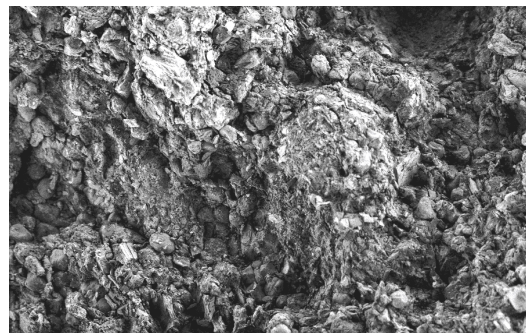
**Slika 22: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza tablete št. 3 iz Al vreče, pri + 70 °C; 1000 X povečava.**

**Primerjava slik tablet št. 3 iz PVC vreče:**

Z elektronskim mikroskopom nismo zaznali razlik na površini prereza tablet št. 3, ki so bile izpostavljene + 70 °C, v primerjavi s tabletami, ki so bile izpostavljene + 25 °C (sliki 23, 24).



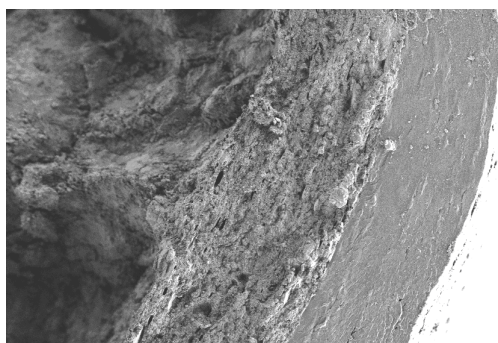
Slika 23: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza tablete št. 3 iz PVC vreče, pri + 25 °C; 1000 X povečava.



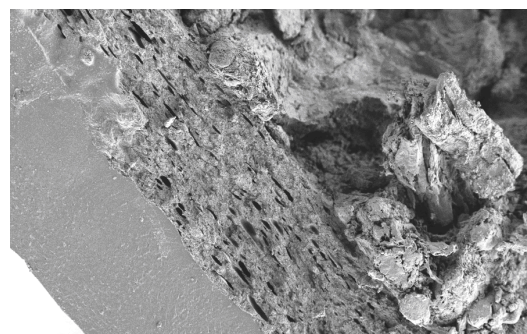
Slika 24: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza tablete št. 3 iz PVC vreče, pri + 70 °C; 1000 X povečava.

**Primerjava slik Tablet št. 4 iz Al pretisnega omota:**

Tehnološki postopek izdelave tablet št. 4 je vlažno granuliranje in tabletiranje ter filmsko oblaganje. Zdravilna učinkovina s pomožnimi snovmi se nahaja v jedru tablete, okoli njega pa je nanešena zaščitna suspenzija in okoli le te je nanešena gastrorezistentna disperzija. Z elektronskim mikroskopom smo v prečnem prerezu obloge tablet, ki so bile izpostavljene + 70 °C opazili povečano poroznost v zaščitni oblogi okoli jedra, v primerjavi s tabletami, ki so bile izpostavljene + 25 °C (sliki 25, 26). Medtem, ko v jedru tablete z elektronskim mikroskopom nismo opazili sprememb (sliki 27, 28).



Slika 25: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza obloge tablete št. 4 iz Al pretisnega omota, pri + 25 °C; 1000 X povečava.

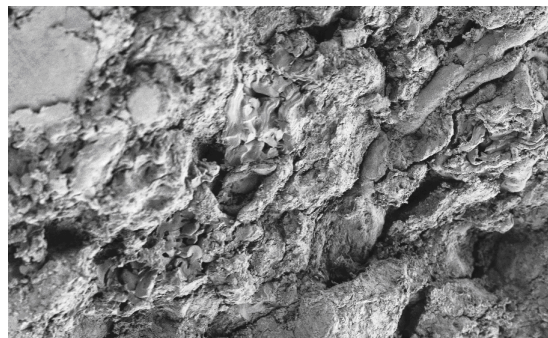


Slika 26: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza obloge tablete št. 4 iz Al pretisnega omota, pri + 70 °C; 1000 X povečava.





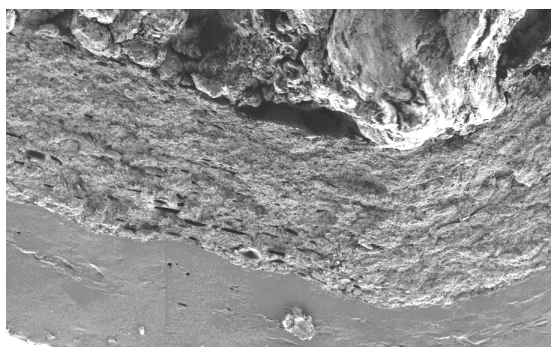
Slika 27: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza jedra tablete št. 4 iz Al pretisnega omota, pri + 25 °C; 1000 X povečava.



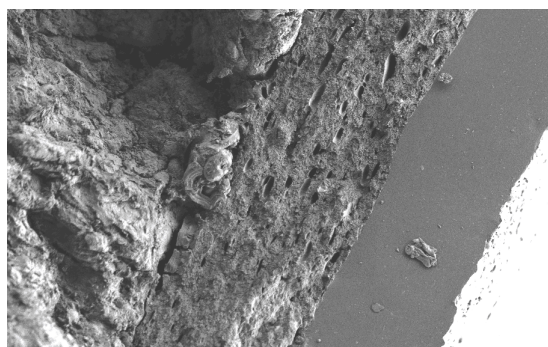
Slika 28: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza jedra tablete št. 4 iz Al pretisnega omota, pri + 70 °C; 1000 X povečava.

### Primerjava slik tablet št. 4 iz plastenke:

Z elektronskim mikroskopom smo v prečnem prerezu obloge tablet, ki so bile izpostavljene + 70 °C opazili povečano poroznost v zaščitni oblogi okoli jedra, v primerjavi s tabletami, ki so bile izpostavljene + 25 °C (sliki 29, 30). Medtem, ko v jedru tablete z elektronskim mikroskopom nismo opazili sprememb (sliki 31, 32).



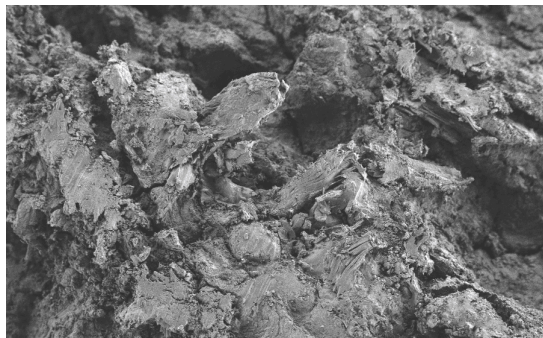
Slika 29: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza obloge tablete št. 4 iz plastenke, pri + 25 °C; 1000 X povečava.



Slika 30: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza obloge tablete št. 4 iz plastenke, pri + 70 °C; 1000 X povečava.



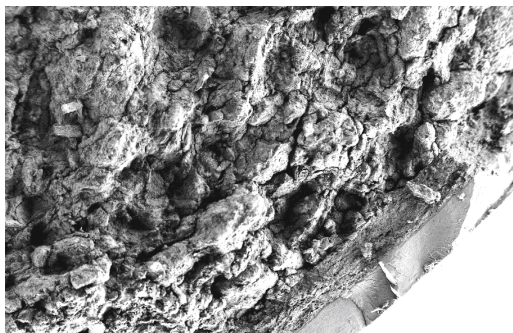
Slika 31: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza jedra tablete št. 4 iz plastenke, pri + 25 °C; 1000 X povečava.



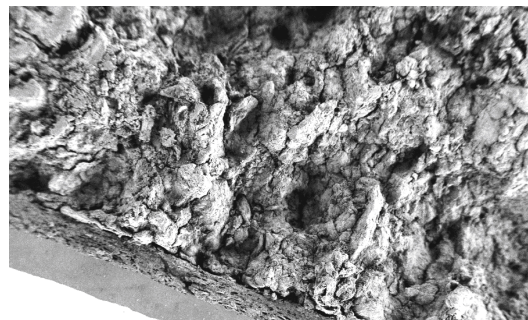
Slika 32: Elektronsko mikroskopska slika površine prereza jedra tablete št. 4 iz plastenke, pri + 70 °C; 1000 X povečava.

**Primerjava slik tablet št. 4 iz Al vreče:**

Z elektronskim mikroskopom smo v prečnem prerezu obloge tablet, ki so bile izpostavljene + 70 °C opazili povečano poroznost v zaščitni oblogi okoli jedra, v primerjavi s tabletami, ki so bile izpostavljene + 25 °C (sliki 33, 34).



**Slika 33:** Elektronsko mikroskopska slika površine prereza obloge tablet št. 4 iz Al vreče, pri + 25 °C; 1000 X povečava.



**Slika 34:** Elektronsko mikroskopska slika površine prereza obloge tablet št. 4 iz Al vreče, pri + 70 °C; 1000 X povečava.

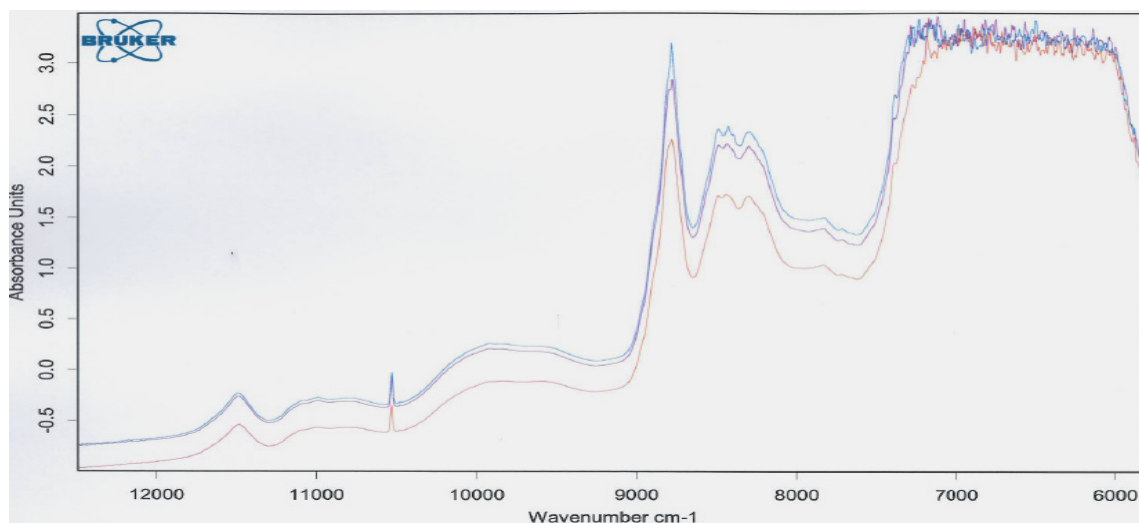
Uporaba vrstičnega elektronskega mikroskopa ni podala ustrezne korelacije z rezultati fizikalno kemijskih meritev za tablete št.1, 2 in 3, v različni ovojnini in izpostavljenih en mesec pri + 70 °C. Medtem, ko smo pri gastrorezistentnih tabletah št. 4, ki so bile izpostavljene + 70 °C opazili večjo poroznost v primerjavi s tabletami, ki so bile izpostavljene + 25 °C, kar pa lahko kaže na neustreznost tablet.

***4.1.2.3 Izmerjeni spektri tablet z NIR spektrofotometrom***

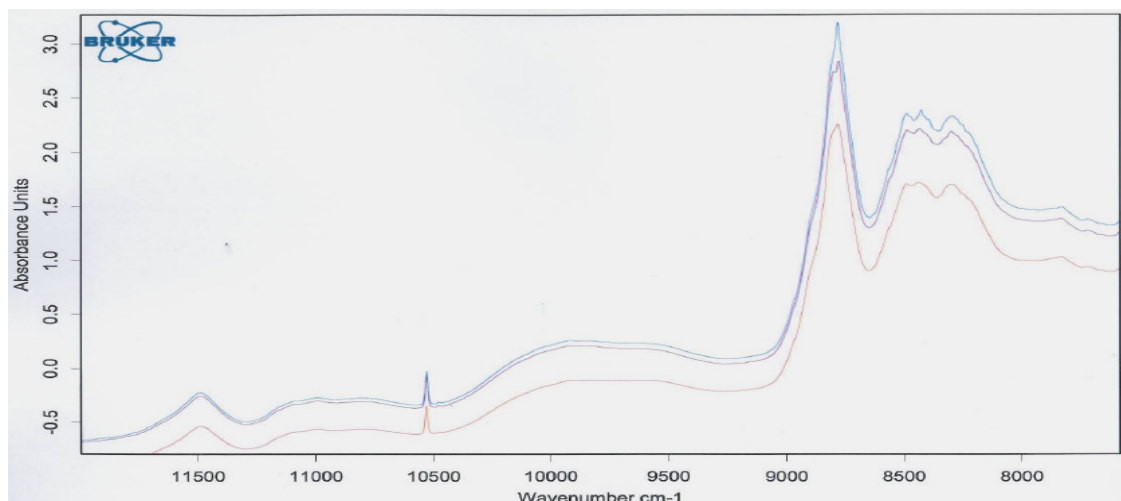
Posneli smo spektre tablet št. 1, katere smo izpostavili naslednjim enomesečnim temperaturnim pogojem: + 25 °C, + 70 °C in – 70 °C ter jih med seboj primerjali (sliki 35, 36). S programsko opremo in s pomočjo že izdelane knjižnice spektrov analiziranih tablet smo pokazali ustrezno identiteto tablet št. 1. Značilni vrhovi spektrov tablet pri + 25 °C, + 70 °C in – 70 °C so se ujemali z značilnimi vrhovi spektrov tablet v knjižnici spektrov (preglednica XIX).

Posneli smo tudi spekter zdravilne učinkovine (slika 37), ki je vstopala v tableto in primerjali značilne vrhove z značilnimi vrhovi v tableti. Ker tablete št. 1 vsebujejo okoli 44

% zdravilne učinkovine, ostalo pa pripada pomožnim snovem, spektra tablet in zdravilne učinkovine ni smiselno primerjati.



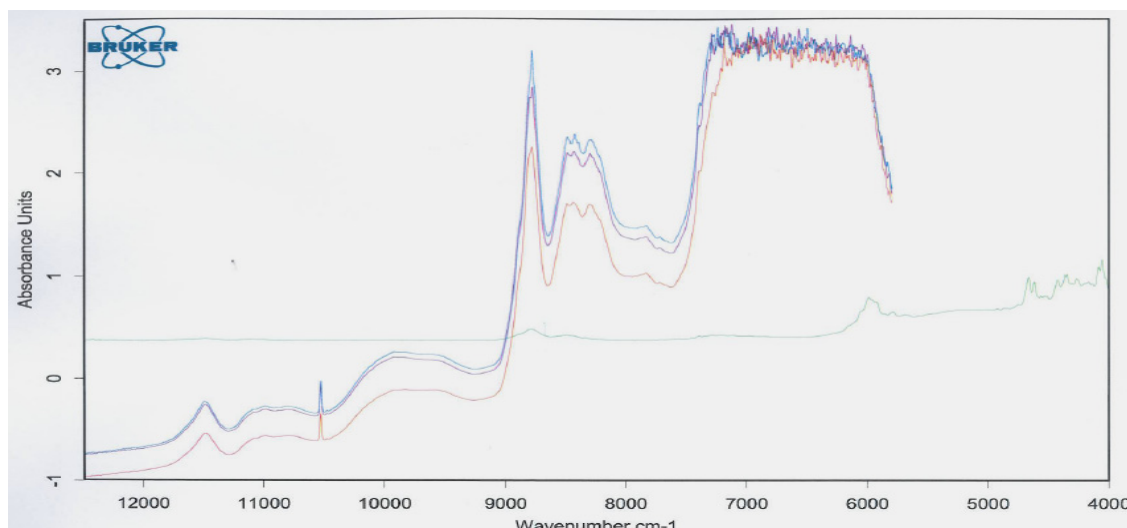
Slika 35: Primerjava spektrov tablet št. 1 pri + 25 °C (moder spekter), + 70 °C (roza spekter), - 70 °C (vijoličen spekter).



Slika 36: Primerjava spektrov tablet št. 1 pri + 25 °C (moder spekter), + 70 °C (roza spekter), - 70 °C (vijoličen spekter)- izpostavljeno področje, kjer se pojavljajo značilni vrhovi.

**Preglednica XIX: Računalniški izpis ustreznosti identifikacije zdravilne učinkovine v tabletah št.1 pri različnih pogojih.**

Position	Batch	Spectrum	Date/Time	Best Hit	Hit Quality (Threshold)	Identified
1	transportni pogoji -70 st.C	transportni pogoji -70 st.C. 1	2/24/2011 12:53:40 PM	zdravilna uč. tab.1	0.026 (0.119)	YES
2	transportni pogoji +70 st.C	transportni pogoji +70 st.C. 1	2/24/2011 12:54:37 PM	zdravilna uč. tab.1	0.041 (0.119)	YES
3	transportni pogoji +25 st.C	transportni pogoji +25 st.C. 1	2/24/2011 12:55:34 PM	zdravilna uč. tab.1	0.028 (0.119)	YES



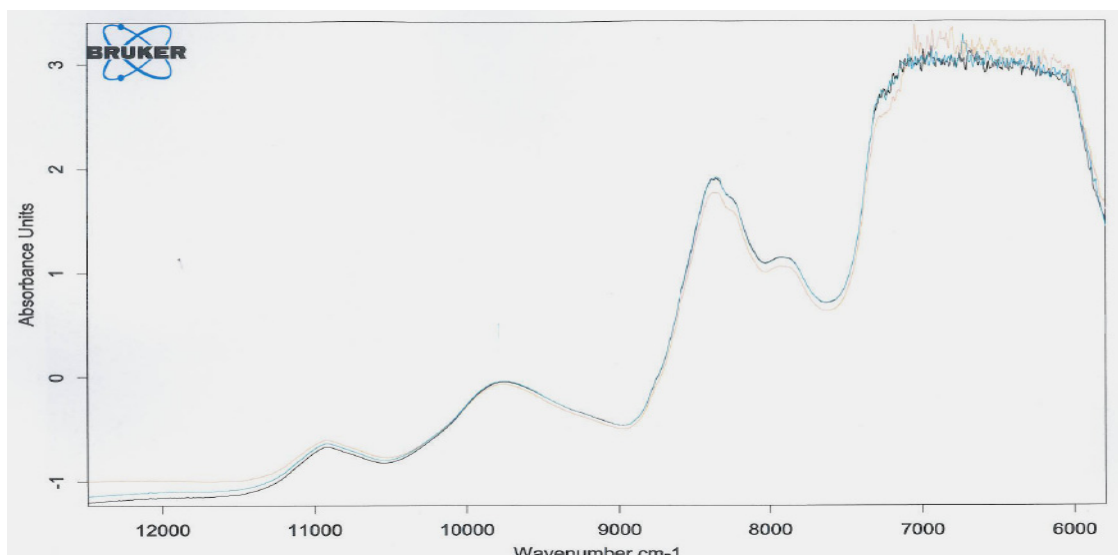
**Slika 37: Primerjava spektrov tablet št. 1 pri + 25 °C (moder spekter), + 70 °C (roza spekter), - 70 °C (vijoličen spekter) in zdravilne učinkovine, ki je vstopala v tableto (zelen spekter).**

Posneli smo tudi spektre tablet št. 2, katere smo izpostavili naslednjim enomesečnim temperaturnim pogojem: + 25 °C, + 70 °C in – 70 °C ter jih med seboj primerjali (sliki 38, 39). S programsko opremo in s pomočjo že izdelane knjižnice spektrov analiziranih tablet smo pokazali ustrezno identiteto tablet št. 2, ki so bile izpostavljene temperaturnim pogojem: + 25 °C in – 70 °C, medtem, ko je spekter tablet št.2, ki so bile izpostavljene + 70 °C spremenjen in zato jih računalniški program prepozna kot neustrezne (preglednica XX).

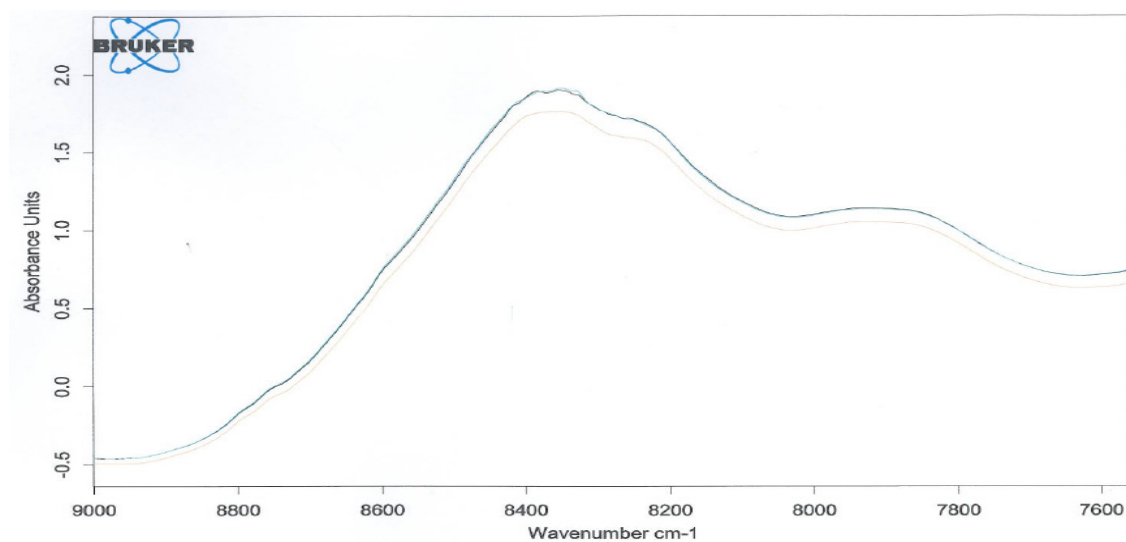
Posneli smo tudi spekter zdravilne učinkovine (slika 40) in primerjali značilne vrhove z značilnimi vrhovi v tableti. Ker tablete št. 2 vsebujejo le okoli 7 % zdravilne učinkovine, ostalo pripada pomožnim snovem, spektra tablet in zdravilne učinkovine ni smiselno primerjati.

**Preglednica XX: Računalniški izpis ustreznosti identifikacije zdravilne učinkovine v tabletah št.2 pri različnih pogojih.**

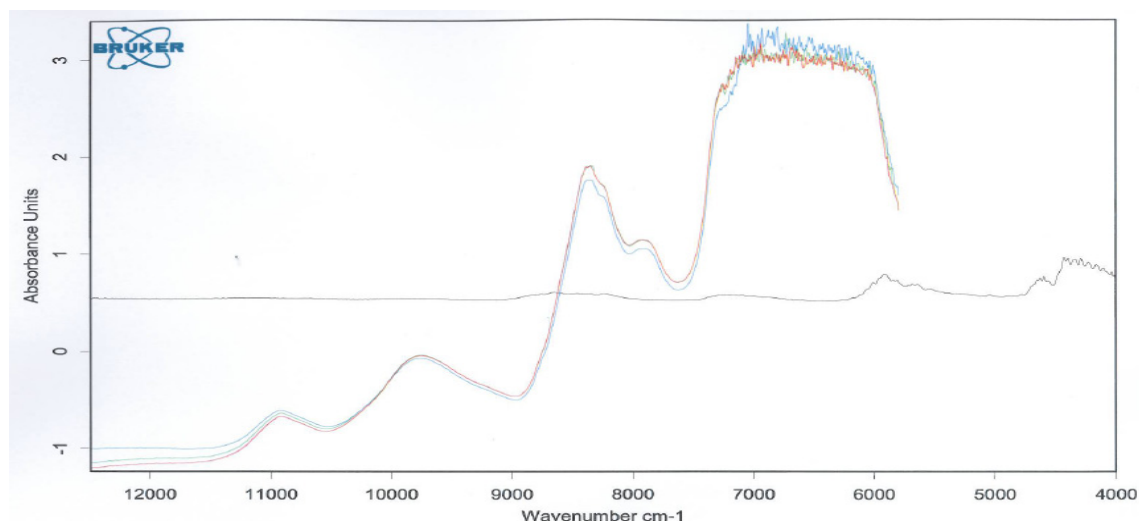
Position	Batch	Spectrum	Date/Time	Best Hit	Hit Quality (Threshold)	Identified
1	transportni pogoji 1- +25	transportni pogoji 1- +25.0	18.11.2010 12:46:28	zdravilna učinkovina tablete št. 2	0,034 (0,042)	YES
2	transportni pogoji 2- -70	transportni pogoji 2- -70.0	18.11.2010 12:47:23		0,025 (0,042)	YES
3	transportni pogoji 3- +70	transportni pogoji 3- +70.0	18.11.2010 12:48:17		0,066 (0,042)	NO



Slika 38: Primerjava spektrov tablet št. 2 pri + 25 °C (moder spekter), + 70 °C (oranžen spekter), - 70 °C (črn spekter).



Slika 39: Primerjava spektrov tablet pri + 25 °C (moder spekter), + 70 °C (oranžen spekter), - 70 °C (črn spekter)- izpostavljeno področje, kjer se pojavljajo značilni vrhovi.



**Slika 40: Primerjava spektrov tablet pri + 25 °C (roza spekter), + 70 °C (moder spekter), - 70 °C (rdeč spekter) in zdravilne učinkovine, ki je vstopala v tableto (črn spekter).**

Spektroskopija bližnjega IR območja nam je z uporabo ustrezno postavljenih modelov in knjižnic podala ustrezne podatke o identifikaciji zdravilne učinkovine v tabletah št.1 in 2 izpostavljenim + 25 °C, + 70 °C in - 70 °C. Rezultati meritev so ustrezno korelirali z rezultati avtoriziranih metod.

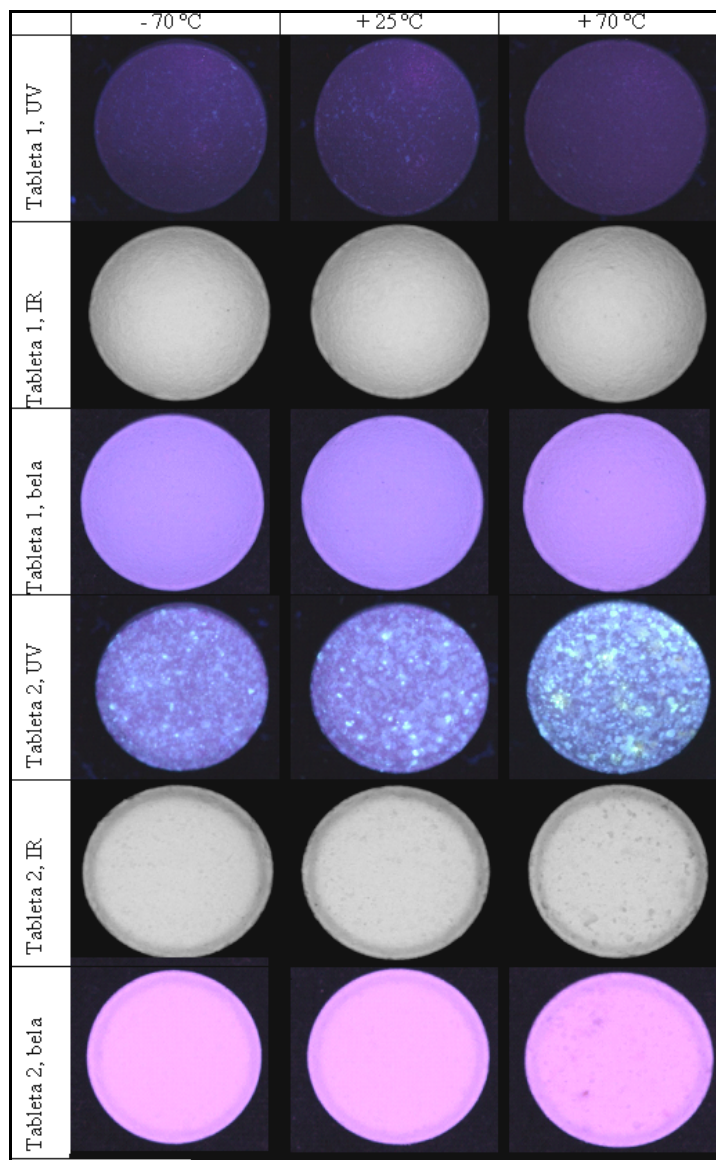
#### **4.1.2.4 Slike tablet posnete z video kamero**

Snemanje tablet smo izvedli z vidno, UV in IR svetlobo. Omejili smo se le na opazovanje zunanje površine tablet. Med seboj smo primerjali slike tablet št. 1, ki so bile izpostavljene  $T = + 25\text{ °C}$  in tablet, ki so bile izpostavljene najbolj ekstremnim pogojem:  $T = + 70\text{ °C}$  in  $T = - 70\text{ °C}$ . Enako smo postopali s tabletami št. 2.

Slike tablet št. 1 in 2 pri  $T = + 25\text{ °C}$  in pri  $T = - 70\text{ °C}$  se med seboj niso bistveno razlikovale (preglednica XXI). Medtem, ko smo z opazovanjem tablet št. 1 staranim pri  $T = + 70\text{ °C}$  v IR območju svetlobe ugotovili, da tablete niso enake tabletam, ki so bile izpostavljene + 25 °C. Spremenil se je njihov izgled, površina in robovi niso ustrezali specifikacijskim zahtevam.

Tablete št. 2, starane pri  $T = + 70\text{ °C}$  so bile že vizualno neustrezne saj so izkazovale drobne temne pike na svetli podlagi, kar ni ustrezno specifikacijskim zahtevam. Posledično smo tudi na slikah tablet št. 2 (preglednica XXI) staranih pri  $T = + 70\text{ °C}$  v vseh območjih snemanja (bela, UV, IR) opazili spremembo videza površine tablet.

**Preglednica XXI: Slike tablet 1 in 2 pri - 70 °C, + 25 °C in + 70 °C, ki so bile slikane z video kamero v različnih področjih elektromagnetnega valovanja.**



Snemanje tablet z video kamero v vidnem, UV in IR območju nam je omogočilo bolj natančen pogled površine tablet št.1 in 2 v primerjavi s prostim očesom. Ugotovili smo, da snemanje tablet z video kamero ustrezno korelira z očesno zaznavo izgleda tablet. Kar pomeni, da so tablete št. 1 in 2, katerim je bila dokazana že vizualna neustreznost, glede na specifikacijske meje bile neustrezne tudi v luči opazovanja skozi kamero.

## 5 SKLEP

Z rezultati uspešno izvedene Novartisove stabilnostne študije transportnih pogojev na štirih vrstah tablet smo potrdili naša pričakovanja glede stabilnosti vseh štirih formulacij. Le dodatna izpostavljenost ekstremni temperaturi + 70 °C je povzročila njihovo neustreznost.

Z omenjeno študijo smo različnim tabletam z oznakami št.1, 2, 3 in 4, ki so imele filmsko oblogo ali pa je niso imele in ki so bile pakirane v različno ovojnino, določili transportne pogoje: NORMAL, brez dodatnih oznak. Omenjena oznaka pomeni, da se transport tablet v izbrani obojnini lahko odvija pri temperaturi  $\leq + 40$  °C oz. se lahko tablete izjemoma za en dan izpostavi temperaturi  $\leq + 50$  °C.

Poleg avtoriziranih metod kot so: barva in videz, trdnost, izguba mase pri sušenju, vsebnost vode, vsebnost zdravilne učinkovine in sorodnih snovi, razkrojnih produktov, vsebnost sproščene zdravilne učinkovine, razpadnost in gastrozistenca smo uporabili tudi neavtorizirane. Izbrali smo naslednje metode: IR spektroskopijo-tehniko oslabiljene popolne odbojnosti (ATR), vrstično elektronsko mikroskopijo (SEM), NIR spektroskopijo in snemanje z video kamero.

SEM tehnika ni podala ustrezne korelacije z rezultati avtoriziranih metod in ni primerna za kvantitativno podajanje rezultatov.

NIR CI angl. Chemical Imaging je bil povod za snemanje tablet z video kamero. S CI dobimo poleg standardnih podatkov o vsebnosti, tudi podatke o morfologiji, in površinski porazdelitvi komponent v vzorcu. Snemanje tablet z video kamero le pri nekaj valovnih dolžinah je za ovrednotenje rezultatov stabilnostnih študij neprimerna metoda, primernost NIR CI pa bi bilo potrebno preveriti z ustrežno opremo.

Za spremljanje stabilnostnih študij sta primerni IR ATR in NIR tehniki.

Z IR ATR tehniko bi lahko ob uporabi ustreznih referenčnih standardov tablet, s točno deklarirano vsebnostjo zdravilne učinkovine ali z referenčnimi spektri tablet, tudi kvantitativno ovrednotili vsebnost zdravilne učinkovine v tabletah.



Z NIR tehniko bi lahko izvedli tudi kvantitativno analizo vsebnosti zdravilne učinkovine v tableti, tako, da bi najprej s HPLC metodo določili točne vrednosti, izdelali kalibracijski diagram in določili korelacijo z NIR metodo. Prav tako bi lahko izdelali kalibracijske krivulje trdnosti na podlagi metode za trdnost in vrednosti zopet korelirali na NIR. Velika uporabna vrednost NIR in njena nedestruktivnost kaže na to, da bi jo lahko uporabili za vrednotenje naslednjih parametrov v stabilnostnih študijah: vsebnost in sproščanje zdravilne učinkovine, trdnost in vsebnost vode.

## 6 LITERATURA

1. [http://www.csas.ed.ac.uk/data/assets/pdf\\_file/0011/38828/GMPinPharmaIndustry.pdf](http://www.csas.ed.ac.uk/data/assets/pdf_file/0011/38828/GMPinPharmaIndustry.pdf).
2. Direktiva 2001/83/ES Evropskega parlamenta in Sveta, o zakoniku Skupnosti o zdravilih za uporabo v humani medicini, Uradni list L 311 , 28/11/2001 str. 0067 – 0128.
3. FDA, Code of Federal Regulations 21 CFR, Chapter I, Food and Drug Administration 210/211.
4. USP 34, <1079>: angl. Good storage and shipping practices.
5. [http://www.arpeggh.at/kwpc\\_Downloads/Pharmarecht%20EU/RL%20GDP%20HumanAM%20%28E%29.pdf](http://www.arpeggh.at/kwpc_Downloads/Pharmarecht%20EU/RL%20GDP%20HumanAM%20%28E%29.pdf).
6. ICH guideline: Stability testing of new drug substances and products Q1A (R2), 6 February 2003.
7. [https://store.pda.org/bookstore/pdf/excerpt\\_stability.pdf](https://store.pda.org/bookstore/pdf/excerpt_stability.pdf)
8. Guide to control and monitoring of storage and transportation temperature conditions for medicinal products and active substances, edition ind 003, version 01, Irish Medicines Board, March 2006.
9. Zakon o zdravilih: Ur.l. RS, št. 31/2006.
10. Zakon o spremembah in dopolnitvah Zakona o zdravilih: Ur.l. RS št. 45/2008.
11. Pravilnik o sistemu za sprejem, shranjevanje in sledljivost zdravil: Ur.l. RS, št. 81/2009.
12. Pravilnik o natančnejših pogojih za opravljanje dejavnosti prometa z zdravili na debelo in ugotavljanju izpolnjevanja teh pogojev ter o postopku priglasitve dejavnosti ali pridobitve dovoljenja za promet z zdravili na debelo: Ur.l. RS, št. 46/2009.
13. USP 34 <1118>: Monitoring devices- time, temperature and humidity.
14. USP 34 <1150>: Pharmaceutical stability.
15. USP 34: General notices: definition of temperatures.
16. Australian Code of good wholesaling practice for medicines in schedules 2,3,4 and 8, National coordinating committee on therapeutic goods, Effective date 1 April 2011.
17. Guidelines for Temperature Control of drug Products during Storage and Transportation, Guide-0069, Health Products and Food Branch Inspectorate of Canada, 28.01.2011.

18. Guidance notes on good distribution practices, Health Sciences Authority regulatory guidance of Singapore, August 2010.
19. WHO, GDP For Pharmaceutical Products, working document QAS/04.068/Rev.2, 2005.
20. GMP Quality Manual, Procedures and Requirements for the Correct Transport of APIs and Pharmaceutical Products, Edition 01, Novartis implementation guideline.
21. GMP Quality manual, Definition, Assignment, Validation and Monitoring of Transport Conditions, Edition 3, Novartis guideline.
22. Lucas T.I., Bishara R.H. and Seevers R.H., A Stability Program for the Distribution of Drug Products, Pharmaceutical Technology, July 2004, 68-73.
23. ICH guideline: Q6A- Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances (including Decision Trees).
24. [http://en.wikipedia.org/wiki/Infrared#cite\\_note-6](http://en.wikipedia.org/wiki/Infrared#cite_note-6)
25. Ph.Eur.7.0, 2.2.24. IR absorpcijska spektrofotometrija angl. Absorption spectrophotometry, infrared.
26. Planinšek O., Planinšek D., Zega A., Breznik M., Srčič S., Surface analysis of powder binary mixtures with ATR FTIR spectroscopy, International Journal of Pharmaceutics 2006; 319: 13-19.
27. <http://mmrc.caltech.edu/FTIR/FTIRintro.pdf>
28. <http://mee-inc.com/ftir.html#1>
29. Singh P., Mehrotra R., Bakhshi A.K., Stress degradation studies of nelfinavir mesylate by Fourier transform infrared spectroscopy, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2010, 53 (3), 287-294.
30. [http://sl.wikipedia.org/wiki/Vrsti%C4%8Dni\\_elektronski\\_mikroskop](http://sl.wikipedia.org/wiki/Vrsti%C4%8Dni_elektronski_mikroskop)
31. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Schmidt P., Secondary Electron Microscopy in Pharmaceutical Technology, Informa Healthcare USA 2007: 3217-3255.
32. Seitavuopio P., Rantanen J., Yliruusi J., Tablet surface characterisation by various imaging techniques, International Journal of Pharmaceutics 2003, 254 (2), 281-286.
33. Oberegger W., Zhou F., Maes P., Turchetta S., Jackson G., Massardo P., Salch M.A. Modified-release formulations of a Bupropion salt. US Patent, Patent number 20100222435A1, date of patent: Sep. 2, 2010.

34. Platteeuw J.J., Dalen F., Lemmens J.M. Tamsulosin tablets. US Patent, Patent number 20030147955A1, date of patent: Aug. 7, 2003.
35. Reich G., Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications, *Advanced Drug Delivery Reviews* 2005, 57 (8), 1109-1143.
36. Lewis E.N., Schroppelrei J.W., Lee E., Kidder L.H., *Process Analytical Technology. Near-Infrared Chemical Imaging as a Process Analytical Tool*, Blackwell Publishing, 2005, 187- 223.
37. Kreft K. Razvoj modela validacije metode bližnje infrardeče spektroskopije, Magistrsko delo. Univerza v Ljubljani. Fakulteta za farmacijo, 2002.
38. Ciurczak E.W., *Principles of Near-Infrared Spectroscopy*. In *Handbook of Near-Infrared Analysis*, Marcel Dekker, New York, 2001: 7-18.
39. Ph.Eur.7.0, 2.9.8. Trdnost tablet, angl. Resistance to crushing of tablets.
40. Ph.Eur.7.0, 2.9.1. Razpadnost tablet in kapsul, angl. Disintegration of tablets and capsules.
41. Ph.Eur.7.0, 2.2.32. Izguba pri sušenju, angl. Loss on drying.
42. Ph.Eur.7.0, 2.5.12. Titrimetrično določevanje vode s Karl Fisher reagentom, direktna titracija angl. Water semi-micro determination, method A.
43. <http://www.melvynbecerra.cl/images/KFTitrationBasics.pdf>
44. Žorž M, HPLC, Ljubljana: samozaložba, 1991.
45. Harris D.C.: *Quantitative Chemical Analysis*, Fifth Edition, W.H. Freeman and Company, New York, 1998, 713- 742.
46. Ph.Eur.7.0, 2.2.46. Kromatografske separacijske tehnike angl. Chromatographic separation techniques.
47. Ph.Eur.7.0, 2.2.29. Tekočinska kromatografija angl. Liquid chromatography.
48. Ph.Eur.7.0, 2.2.25. Absorpcijska spektrofotometrija: UV in vidna angl. Absorption spectrophotometry ultraviolet and visible.
49. Ph.Eur.7.0, 2.9.3. Dissolution test for solid dosage forms angl. Test raztapljanja za trdne farmacevtske oblike.

## PRILOGA

Preglednica XX: Rezultati fizikalno kemijskega preskušanja za tableto št. 1.

Določitev/metoda	Specifikacijska meja	Enomesečna izpostavljenost različnim vplivom okolja								
		-70 °C	-20 °C	+5 °C	+25 °C	+30 °C/ 65 % RH	+40 °C/ 75 % RH	+50 °C	+70 °C	
<b>Barva</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Videz</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Trdnost</b>	min. 4,5 kp	Min.: 10,2 Max.: 18,0 Povp.: 13,5	Min.: 9,8 Max.: 14,4 Povp.: 11,6	Min.: 10,0 Max.: 13,6 Povp.: 12,0	Min.: 9,8 Max.: 13,2 Povp.: 11,5	Min.: 11,2 Max.: 14,2 Povp.: 12,6	Min.: 14,6 Max.: 17,4 Povp.: 15,9	Min.: 7,2 Max.: 19,8 Povp.: 16,1	Min.: 10,4 Max.: 18,0 Povp.: 14,0	
<b>Izguba pri sušenju</b>	maks. 3 %	2,9	2,9	2,8	2,7	2,8	2,8	2,8	2,6	
<b>Vsebnost</b>	Zdravilna učinkovina: 95,0 – 105,0 %	101,8	102,3	101,4	101,0	101,8	101,2	101,7	101,4	
<b>Test raztapljanja</b>	Zdravilna učinkovina: min. 70 % (Q) v 30 min.	100 100 102 102 102 101	100 101 102 104 101 100	99 102 99 101 100 102	102 100 100 99 99 100	96 98 98 98 99 99	99 98 101 99 99 100	96 94 97 95 89 92	4 2 2 2 6 2	Povp.:3 RSD:55,7
<b>Sorodne snovi</b>		Povp.:101 RSD:1,0	Povp.:101 RSD:1,5	Povp.:101 RSD:1,4	Povp.:100 RSD:1,1	Povp.:98 RSD:1,0	Povp.:99 RSD:1,0	Povp.:94 RSD:3,1		
Sorodna snov 1	maks. 0,2 %	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02
Sorodna snov 2	maks. 0,2 %	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02
Sorodne snovi neznane posamezno	maks. 0,2 %	0,08	0,08	0,07	0,08	0,07	0,08	0,09	0,11	
Sorodne snovi vsota	maks. 0,5 %	0,29	0,29	0,28	0,29	0,28	0,31	0,36	0,38	

Preglednica XXI: Rezultati fizikalno kemijskega preskušanja za tableto št. 2.

Določitev/metoda	Specifikacijska meja	Enomesečna izpostavljenost različnim vplivom okolja									
		-70 °C	-20 °C	+5 °C	+25 °C	+30 °C/ 65 % RH	+40 °C/ 75 % RH	+50 °C	+70 °C		
<b>Barva</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ne ustreza
<b>Videz</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ne ustreza
<b>Trdnost</b>	1,0 - 3,5 kp	Min.:2,0 Max.:2,4 Povp.:2,2	Min.:1,8 Max.:2,4 Povp.:2,2	Min.:1,8 Max.:2,4 Povp.:2,1	Min.:2,0 Max.:2,4 Povp.:2,3	Min.:1,8 Max.:2,4 Povp.:2,5	Min.:1,8 Max.:2,4 Povp.:2,1	Min.:2,2 Max.:3,2 Povp.:2,8	Min.:2,8 Max.:3,2 Povp.:2,9		
<b>Voda</b>	maks. 3 %	2,6	2,2	2,1	2,0	1,9	1,9	1,9	1,6		
<b>Razpadnost</b>	maks. 30 s (brez diskov)	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza		
<b>Vsebnost</b>	Zdravilna učinkovina: 95,0 – 105,0 %	100,2	101,0	101,7	101,6	101,5	100,2	100,8	100,0		
<b>Test raztapljanja</b>	Zdravilna učinkovina: min. 80 % (Q) v 15 min.	97 101 99 98 100 98 Povp.:99 RSD:1,5	102 103 102 101 103 102 Povp.:102 RSD:0,7	97 98 100 101 100 102 Povp.:100 RSD:1,9	98 103 97 98 99 101 Povp.:99 RSD:2,3	99 102 101 101 99 98 Povp.:100 RSD:1,6	98 94 99 99 98 101 Povp.:98 RSD:2,4	97 97 94 97 101 100 Povp.:98 RSD:2,6	99 94 97 95 97 96 Povp.:96 RSD:1,8		
<b>Sorodne snovi</b>											
posamezna	maks. 0,1 %	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,12		
vsota	maks. 0,3 %	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,10	0,13	0,24		

Preglednica XXII: Rezultati fizikalno kemijskega preskušanja za tableto št. 3, ovojnina: PVC pretisni omot.

Določitev/metoda	Specifikacijska meja	Enomesečna izpostavljenost različnim vplivom okolja								
		-70 °C	-20 °C	+5 °C	+25 °C	+30 °C/ 65 % RH	+40 °C/ 75 % RH	+50 °C	+70 °C	
<b>Barva</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Videz</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Trdnost</b>	3,06 -9,17 kp	Min.:4,2 Max.:5,1 Povp.:4,6	Min.:3,7 Max.:4,8 Povp.:4,2	Min.:3,8 Max.:5,0 Povp.:4,4	Min.:3,6 Max.:4,6 Povp.:4,0	Min.:3,6 Max.:4,8 Povp.:4,3	Min.:3,3 Max.:4,1 Povp.:3,7	Min.:2,6 Max.:3,7 Povp.:3,3	Min.:2,2 Max.:3,1 Povp.:2,7	
<b>Vsebnost</b>	Zdravilna učinkovina: 95,0 – 105,0 %	99,0	99,4	98,9	98,7	99,7	98,8	98,5	97,6	
<b>Test raztapljanja</b>	Zdravilna učinkovina: min. 80 % (Q) v 30 min.	97 98 97 98 100 99	106 104 105 106 102 104	103 104 104 100 101 102	100 97 98 96 100 98	100 97 96 99 99 99	101 103 99 101 102 103	99 103 101 101 99 103	99 97 96 96 99 100	Povp.:98 RSD:1,2
<b>Sorodne snovi</b>										
Sorodna snov 1	maks. 1,0 %	0,12	0,12	0,13	0,12	0,13	0,15	0,21	0,77	
Sorodna snov 2	maks. 0,5 %	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	
Sorodne snovi neznane posamezno	maks. 0,2 %	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,06	
Sorodne snovi neznane vsota	maks. 1,0 %	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,06	
Vsota (sorodne snovi znane in neznane)	maks. 1,5 %	0,22	0,22	0,23	0,22	0,23	0,25	0,31	0,83	

**Preglednica XXIII: Rezultati fizikalno kemijskega preskušanja za tableto št. 3, ovojnina: Al pretisni omot.**

Določitev/metod	Specifikacijska meja	Enomesečna izpostavljenost različnim vplivom okolja								
		- 70 °C	- 20 °C	+ 5 °C	+ 25 °C	+ 30 °C/ 65 % RH	+ 40 °C/ 75 % RH	+ 50 °C	+ 70 °C	
<b>Barva</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Videz</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Trdnost</b>	3,06 -9,17 kp	Min.:4,7 Max.:6,9 Povp.:5,9	Min.:5,6 Max.:6,8 Povp.:6,2	Min.:4,8 Max.:7,3 Povp.:5,9	Min.:5,0 Max.:7,1 Povp.:5,8	Min.:5,2 Max.:7,5 Povp.:6,1	Min.:4,9 Max.:6,0 Povp.:5,3	Min.:3,9 Max.:5,0 Povp.:4,6	Min.:1,5 Max.:2,5 Povp.:1,7	
<b>Vsebnost</b>	Zdravilna učinkovina: 95,0 – 105,0 %	99,3	100,4	99,7	99,6	99,8	100,1	98,9	97,9	
<b>Test raztapljanja</b>	Zdravilna učinkovina: min. 80 % (Q) v 30 min.	107 103 103 103 103 104 Povp.:104 RSD:1,5	101 96 99 100 99 98 Povp.:99 RSD:1,7	101 100 98 99 99 100 Povp.:100 RSD:1,1	105 103 104 101 103 105 Povp.:104 RSD:1,5	105 102 104 104 104 101 Povp.:103 RSD:1,5	99 100 101 100 99 101 Povp.:100 RSD:0,9	101 100 102 102 102 100 Povp.:101 RSD:1,0	100 100 101 102 101 102 Povp.:101 RSD:0,9	
<b>Sorodne snovi</b>										
Sorodna snov 1	maks. 1,0 %	0,15	0,14	0,14	0,14	0,15	0,17	0,30	0,38	
Sorodna snov 2	maks. 0,5 %	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,14	
Sorodne snovi neznane posamezno	maks. 0,2 %	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,06	0,12	
Sorodne snovi neznane vsota	maks. 1,0 %	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,11	0,17	
Vsota (sorodne snovi znane in neznane)	maks. 1,5 %	0,25	0,24	0,24	0,24	0,25	0,27	0,41	0,69	



Preglednica XXIV: Rezultati fizikalno kemijskega preskušanja za tableto št. 3, ovojnina: PVC vreča.

Določitev/metoda	Specifikacijska meja	Enomesečna izpostavljenost različnim vplivom okolja									
		-70 °C	-20 °C	+5 °C	+25 °C	+30 °C/ 65 % RH	+40 °C/ 75 % RH	+50 °C	+70 °C		
<b>Barva</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Videz</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Trdnost</b>	3,06 -9,17 kp	Min.:3,9 Max.:5,0 Povp.:4,6	Min.:4,1 Max.:5,7 Povp.:4,6	Min.:4,0 Max.:5,3 Povp.:4,6	Min.:4,4 Max.:5,2 Povp.:4,8	-	Min.:4,2 Max.:4,7 Povp.:3,7	Min.:3,2 Max.:4,1 Povp.:3,7	Min.:2,5 Max.:3,2 Povp.:2,9		
<b>Vsebnost</b>	Zdravilna učinkovina: 95,0 – 105,0 %	99,7	99,8	99,8	100,1	-	99,6	99,8	98,4		
<b>Test raztapljanja</b>	Zdravilna učinkovina: min. 80 % (Q) v 30 min.	105 97 105 103 97 103	102 102 102 100 103 100	101 102 101 103 102 102	101 99 102 102 99 101	-	104 101 101 101 101 101	99 101 99 100 98 99	101 98 99 98 101 99	Povp.:102 RSD:3,6	Povp.:99 RSD:1,4
<b>Sorodne snovi</b>											
Sorodna snov 1	maks. 1,0 %	0,14	0,13	0,13	0,13	-	0,15	0,21	0,72		
Sorodna snov 2	maks. 0,5 %	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	-	<0,05	<0,05	<0,05		
Sorodne snovi neznane posamezno	maks. 0,2 %	0,05	0,05	0,05	0,05	-	0,06	0,05	0,06		
Sorodne snovi neznane vsota	maks. 1,0 %	0,10	0,10	0,10	0,10	-	0,11	0,10	0,06		
Vsota (sorodne snovi znane in neznane)	maks. 1,5 %	0,24	0,23	0,23	0,23	-	0,26	0,31	0,78		

Preglednica XXV: Rezultati fizikalno kemijskega preskušanja za tableto št. 3, ovojnina: Al vreča.

Določitev/metoda	Specifikacijska meja	Enomesečna izpostavljenost različnim vplivom okolja									
		- 70 °C	- 20 °C	+ 5 °C	+ 25 °C	+ 30 °C/ 65 % RH	+ 40 °C/ 75 % RH	+ 50 °C	+ 70 °C		
<b>Barva</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Videz</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Trdnost</b>	3,06 -9,17 kp	Min.:4,3 Max.:6,9 Povp.:5,8	Min.:4,9 Max.:6,6 Povp.:5,9	Min.:4,4 Max.:6,4 Povp.:5,4	Min.:5,5 Max.:7,2 Povp.:6,2	-	Min.:4,5 Max.:6,0 Povp.:5,0	Min.:5,1 Max.:6,4 Povp.:5,8	Min.:2,1 Max.:2,7 Povp.:2,4		
<b>Vsebnost</b>	Zdravilna učinkovina: 95,0 – 105,0 %	99,2	99,1	98,2	99,2	-	99,1	99,0	94,3		
<b>Test raztapljanja</b>	Zdravilna učinkovina: min. 80 % (Q) v 30 min.	105 105 101 103 103 104 Povp.:104 RSD:1,5	98 100 101 101 101 101 Povp.:100 RSD:1,2	103 100 100 99 99 100 Povp.:100 RSD:1,5	101 101 102 100 102 100 Povp.:101 RSD:0,9	-	106 103 104 106 105 104 Povp.:105 RSD:1,3	102 102 101 98 101 102 Povp.:101 RSD:1,5	101 99 102 101 103 102 Povp.:101 RSD:1,4		
<b>Sorodne snovi</b>											
Sorodna snov 1	maks. 1,0 %	0,13	0,16	0,13	0,12	-	0,15	0,24	1,29		
Sorodna snov 2	maks. 0,5 %	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	-	<0,05	<0,05	0,12		
Sorodne snovi neznane posamezno	maks. 0,2 %	0,06	0,07	0,06	0,06	-	0,06	0,06	0,21		
Sorodne snovi neznane vsota	maks. 1,0 %	0,11	0,14	0,11	0,11	-	0,11	0,11	0,36		
Vsota (sorodne snovi znane in neznane)	maks. 1,5 %	0,24	0,30	0,24	0,23	-	0,26	0,35	1,77		

Preglednica XXVI: Rezultati fizikalno kemijskega preskušanja za tableto št. 4, ovojnina: Al vreča.

Določitev/metoda	Specifikacijska meja	Enomesečna izpostavljenost različnim vplivom okolja								
		- 70 °C	- 20 °C	+ 5 °C	+ 25 °C	+ 30 °C/ 65 % RH	+ 40 °C/ 75 % RH	+ 50 °C	+ 70 °C	
<b>Barva</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Videz</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Trdnost</b>	10,2 – 30,6 kp	Min.:15,4 Max.:18,2 Povp.:16,9	Min.:16,2 Max.:19,4 Povp.:17,9	Min.:14,8 Max.:19,0 Povp.:17,5	Min.:16,2 Max.:18,0 Povp.:17,1	Min.:16,4 Max.:19,0 Povp.:17,4	Min.:15,6 Max.:18,6 Povp.:17,1	Min.:14,4 Max.:17,0 Povp.:15,7	Min.:14,6 Max.:17,2 Povp.:16,2	
<b>Vsebnost</b>	Zdravilna učinkovina: 95,0 – 105,0 %	100,7	97,5	100,0	98,9	99,5	99,5	99,5	80,4	
<b>Test raztapljanja</b>	Zdravilna učinkovina: min. 75 % (Q) v 30 min.	95 96 96 97 97 97	95 97 97 98 96 97	98 100 100 100 100 99	96 91 98 98 99 96	97 98 98 98 100 99	95 99 98 98 99 98	100 98 100 98 102 99	82 86 83 84 86 81	Povp.:94 RSD:2,5
<b>Gastrorezištenca</b>	min. 90 % neraztopljene zdravilne učinkovine	97 101 100 98 101 100	100 101 100 100 99 101	100 100 100 101 100 99	99 101 94 101 98 99	101 101 99 101 101 99	98 100 99 101 100 99	98 98 98 98 98 98	83 86 85 85 85 87	Povp.:98 RSD:1,5
<b>Sorodne snovi</b>										
posamezna neznana	maks. 0,2 %	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,11	0,75
celokupne	maks. 0,5 %	0,21	0,21	0,21	0,23	0,29	0,30	0,33		3,61

Preglednica XXVII: Rezultati fizikalno kemijskega preskušanja za tableto št. 4, ovojnina: Al pretisni omot.

Določitev/metoda	Specifikacijska meja	Enomesečna izpostavljenost različnim vplivom okolja									
		- 70 °C	- 20 °C	+ 5 °C	+ 25 °C	+ 30 °C/ 65 % RH	+ 40 °C/ 75 % RH	+ 50 °C	+ 70 °C		
<b>Barva</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Videz</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Trdnost</b>	10,2 – 30,6 kp	Min.:15,6 Max.:18,0 Povp.:17,3	Min.:16,6 Max.:18,2 Povp.:17,4	Min.:17,0 Max.:18,6 Povp.:17,6	Min.:15,4 Max.:19,4 Povp.:17,5	Min.:16,0 Max.:18,6 Povp.:17,4	Min.:16,4 Max.:18,6 Povp.:17,4	Min.:15,6 Max.:18,0 Povp.:17,0	Min.:17,2 Max.:24,4 Povp.:20,3		
<b>Vsebnost</b>	Zdravilna učinkovina: 95,0 – 105,0 %	99,9	99,9	100,7	100,1	100,2	101,5	100,2	82,8		
<b>Test raztapljanja</b>	Zdravilna učinkovina: min. 75 % (Q) v 30 min.	95 96 96 97 98 99 100 Povp.:97 RSD:1,8	97 97 98 97 99 99 Povp.:98 RSD:1,0	95 98 96 98 96 95 95 Povp.:96 RSD:1,4	99 96 99 97 95 100 Povp.:98 RSD:2,0	99 98 100 100 100 101 Povp.:100 RSD:1,0	100 99 99 99 99 97 Povp.:99 RSD:1,0	99 101 101 100 100 100 Povp.:100 RSD:0,8	91 91 86 87 89 91 Povp.:89 RSD:2,5		
<b>Gastrorezistenca</b>	min. 90 % neraztopljene zdravilne učinkovine	99 98 98 99 100 99 Povp.:99 RSD:0,6	99 99 101 99 97 102 Povp.:100 RSD:1,7	100 99 101 100 99 100 Povp.:100 RSD:0,6	100 100 99 98 100 98 Povp.:99 RSD:0,9	99 99 99 99 98 99 Povp.:99 RSD:0,6	101 101 98 100 99 100 Povp.:100 RSD:0,9	98 99 99 99 99 99 Povp.:99 RSD:0,5	86 86 85 86 87 81 Povp.:85 RSD:2,4		
<b>Sorodne snovi</b>											
posamezna neznana	maks. 0,2 %	0,10	0,09	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	2,87	
celokupne	maks. 0,5 %	0,10	0,14	0,15	0,15	0,21	0,22	0,29	6,80		

Preglednica XXVIII: Rezultati fizikalno kemijskega preskušanja za tableto št. 4, ovojnina: platenka.

Določitev/metoda	Specifikacijska meja	Enomesečna izpostavljenost različnim vplivom okolja								
		- 70 °C	- 20 °C	+ 5 °C	+ 25 °C	+ 30 °C/ 65 % RH	+ 40 °C/ 75 % RH	+ 50 °C	+ 70 °C	
<b>Barva</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Videz</b>	-	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza	ustreza
<b>Trdnost</b>	10,2 – 30,6 kp	Min.:15,6 Max.:18,8 Popv.:17,5	Min.:17,0 Max.:19,2 Popv.:18,2	Min.:17,0 Max.:18,2 Popv.:17,7	Min.:17,0 Max.:19,2 Popv.:18,0	-	Min.:16,8 Max.:17,8 Popv.:17,5	Min.:15,4 Max.:18,8 Popv.:17,4	Min.:16,0 Max.:19,6 Popv.:17,9	
<b>Vsebnost</b>	Zdravilna učinkovina: 95,0 – 105,0 %	101,7	96,8	95,0	99,2	-	99,2	95,2	86,7	
<b>Test raztapljanja</b>	Zdravilna učinkovina: min. 75 % (Q) v 30 min.	100 100 101 101 101 101 100 Popv.:101 RSD:0,5	99 100 100 98 99 98 Popv.:99 RSD:0,9	96 98 99 93 98 97 Popv.:97 RSD:2,2	97 98 99 99 99 99 Popv.:99 RSD:0,8	-	100 100 100 100 100 101 Popv.:100 RSD:0,4	96 100 99 100 100 102 Popv.:100 RSD:2,1	86 94 92 95 87 90 Popv.:91 RSD:4,0	
<b>Gastrorezistenca</b>	min. 90 % neraztopljene Zdravilne učinkovine	100 100 101 101 99 100 Popv.:100 RSD:0,8	102 101 100 101 101 101 Popv.:101 RSD:0,6	100 101 100 102 100 100 Popv.:101 RSD:0,6	103 100 101 105 100 101 Popv.:102 RSD:1,8	-	99 101 100 100 101 100 Popv.:100 RSD:0,8	99 100 100 100 100 102 Popv.:100 RSD:0,8	87 88 87 89 87 88 Popv.:88 RSD:0,9	
<b>Sorodne snovi</b>										
posamezna neznana	maks. 0,2 %	0,13	0,13	0,13	0,13	-	0,09	0,09	0,89	
celokupne	maks. 0,5 %	0,13	0,13	0,13	0,13	-	0,09	0,17	3,80	