

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Význam toxikologického hodnocení léčiv v rámci procesu validace

čištění výrobních zařízení

Dominika Anežka Kolářová

Bakalářská práce

2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Dominika Anežka Kolářová**
Osobní číslo: **C14431**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Název tématu: **Význam toxikologického hodnocení léčiv v rámci procesu validace čištění výrobních zařízení**
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Zásady pro vypracování:

1. Popište typické zdroje kontaminace a křížové kontaminace ve farmaceutických výrobních a hlavní způsoby, jak lze uvedeným jevům předcházet. Zaměřte se zejména na problematiku křížové kontaminace ve sdílených výrobních zařízeních. Shrňte základní postupy čištění výrobních linek a vysvětlete význam pojmu validace čistícího procesu.
2. Popište, jak jsou definovány a od čeho jsou odvozeny limity využívané pro hodnocení úrovně kontaminace farmaceutických výrobních zařízení. Zvláštní pozornost věnujte limitům, k jejichž výpočtu jsou využívány informace o vedlejších a toxických účincích farmakologicky aktivních látek. Vysvětlete postup výpočtu indexu PDE (permitted daily exposure) a diskutujte jeho vztah k ostatním běžně užívaným limitům.
3. Pro skupinu vybraných léčiv proveďte praktický výpočet hodnoty PDE a pokuste se definovat podmínky, za kterých je tento limit přísnější, než ostatní běžně aplikované limity. Na základě získaných informací zhodnoťte význam zavedení daného limitu do reálné praxe farmaceutických podniků.
4. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 9/2012 "Pravidla pro zveřejňování závěrečných prací a jejich základní jednotnou formální úpravu".

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Všechna dostupná chemická literatura.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. Miloslav Pouzar, Ph.D.

Ústav environmentálního a chemického inženýrství

Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2017**

Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2017**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2017

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 3. 7. 2017

Dominika Anežka Kolářová

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Miloslavu Pouzarovi Ph.D. za odborné vedení a za cenné rady, které mi pomohly při zpracování této práce. Děkuji také mé rodině a nejbližším přátelům za podporu v průběhu studia.

ANOTACE

Tato bakalářská práce pojednává o významu toxikologického hodnocení léčiv v rámci procesu validace čištění výrobních zařízení. Vypovídá o současných používaných validačních limitech. Detailně je zaměřena na limit povolené denní expozice (PDE), který je v rámci bakalářské práce stanoven na základě toxikologických dat pro vybraná antihistaminika první, druhé a třetí generace.

KLÍČOVÁ SLOVA

validace, PDE, antihistaminika

TITLE

The importance of toxicological evaluation of pharmaceuticals in the process of validating the cleaning of production facilities

ANNOTATION

This bachelor thesis deals with the importance of toxicological evaluation of pharmaceuticals in the process of validation of the cleaning of production facilities. It refers to the current using of validation limits. The thesis focuses on the daily exposure limit (PDE), which is determined based on toxicological data for selected antihistamines of first, second and third generation.

KEYWORDS

validation, PDE, antihistamines

Obsah

Úvod.....	13
1. Validace a čištění farmaceutických výrobních zařízení.....	14
1.1 Historie a validace čištění.....	14
1.2 Kontaminace ve farmaceutických výrobních.....	15
1.3 Čištění.....	16
1.4 Limity.....	18
1.5 Validace.....	20
1.6 Testovací metody a analýza povrchu, odběr vzorku.....	22
2. PDE pro léčiva ze skupiny antihistaminik.....	23
2.1 Bilastin.....	24
2.1.1 Farmakodynamika a terapeutická dávka.....	24
2.1.2 Preklinické hodnocení.....	24
2.1.3 Klinické a epidemiologické studie.....	26
2.1.4 Výpočet PDE_1	26
2.1.5 Souhrnné hodnocení limitů pro bilastin.....	27
2.2 Cetirizin.....	28
2.2.1 Farmakodynamika a terapeutická dávka.....	28
2.2.2 Preklinické hodnocení.....	28
2.2.3 Klinické a epidemiologické studie.....	29
2.2.4 Výpočet PDE_1	30
2.2.5 Souhrnné hodnocení limitů pro cetirizin.....	30
2.3 Desloratadin.....	31
2.3.1 Farmakodynamika a terapeutická dávka.....	31
2.3.2 Preklinické hodnocení.....	31
2.3.3 Klinické a epidemiologické studie.....	32
2.3.4 Výpočet PDE_1	32
2.3.5 Souhrnné hodnocení limitů pro desloratadin.....	33
2.4 Fexofenadin.....	33
2.4.1 Farmakodynamika a terapeutická dávka.....	33
2.4.2 Preklinické hodnocení.....	34

2.4.3	Klinické a epidemiologické studie	35
2.4.4	Výpočet PDE1	35
2.4.5	Souhrnné hodnocení limitů pro fexofenadin.....	36
2.5	Hydroxyzin.....	36
2.5.1	Farmakodynamika a terapeutická dávka.....	36
2.5.2	Preklinické hodnocení	37
2.5.3	Klinické a epidemiologické studie	38
2.5.4	Výpočet PDE1	38
2.5.5	Souhrnné hodnocení limitů pro hydroxyzin.....	38
2.6	Chlorphenamin.....	39
2.6.1	Farmakodynamika a terapeutická dávka.....	39
2.6.2	Preklinické hodnocení	39
2.6.3	Klinické a epidemiologické studie	40
2.6.4	Výpočet PDE1	41
2.6.5	Souhrnné hodnocení limitů pro chlorphenamin.....	41
2.7	Loratadin	42
2.7.1	Farmakodynamika a terapeutická dávka.....	42
2.7.2	Preklinické hodnocení	42
2.7.3	Klinické a epidemiologické studie	43
2.7.4	Výpočet PDE1	44
2.7.5	Souhrnné hodnocení limit pro loratadin.....	44
2.8	Mepyramin	45
2.8.1	Farmakodynamika a terapeutická dávka.....	45
2.8.2	Preklinické hodnocení	45
2.8.3	Výpočet PDE1	46
2.8.4	Souhrnné hodnocení limit pro mepyramin.....	47
3.	Závěr	48
4.	POUŽITÁ LITERATURA	49

SEZNAM ROVNIC A TABULEK

Rovnice 1.1	obecná rovnice pro výpočet PDE.....	19
Rovnice 2.1	výpočet PDE ₁ bilastinu.....	26
Rovnice 2.2	obecná rovnice pro výpočet PDE ₂	27
Rovnice 2.3	výpočet PDE ₁ cetirizinu.....	30
Rovnice 2.4	výpočet PDE ₂ cetirizinu.....	31
Rovnice 2.5	výpočet PDE ₁ desloratadinu.....	33
Rovnice 2.6	výpočet PDE ₁ fexofenadinu.....	35
Rovnice 2.7	výpočet PDE ₂ fexofenadinu.....	36
Rovnice 2.8	výpočet PDE ₁ hydroxyzinu.....	38
Rovnice 2.9	výpočet PDE ₂ hydroxyzinu.....	39
Rovnice 2.10	výpočet PDE ₁ chlorphenaminu.....	41
Rovnice 2.11	výpočet PDE ₂ chlorphenaminu.....	41
Rovnice 2.12	výpočet PDE ₁ loratadinu.....	44
Rovnice 2.13	výpočet PDE ₂ loratadinu.....	44
Rovnice 2.14	výpočet PDE ₁ mepyraminu.....	46
Tabulka 1.1	obecné určení hodnot korekčních faktorů.....	20
Tabulka 2.1	genotoxické a karcinogenní účinky bilastinu.....	25
Tabulka 2.2	subchronické a chronické účinky bilastinu při opakovaném podání..	25
Tabulka 2.3	reprodukční a vývojová toxicita bilastinu.....	26
Tabulka 2.4	chronické užívání bilastinu pacienty.....	26
Tabulka 2.5	faktory F použité při výpočtu PDE ₁ pro bilastin.....	27

Tabulka 2.6	srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – bilastin.....	27
Tabulka 2.7	genotoxické a karcinogenní účinky cetirizinu.....	28
Tabulka 2.8	subchronické a chronické účinky cetirizinu při opakovaném podání.....	28
Tabulka 2.9	Reprodukční a vývojová toxicita cetirizinu.....	29
Tabulka 2.10	subchronické a chronické účinky cetirizinu při opakovaném podání pacientům.....	29
Tabulka 2.11	reprodukční a vývojová toxicita cetirizinu (pacienti).....	30
Tabulka 2.12	faktory F použité při výpočtu PDE ₁ pro cetirizin.....	30
Tabulka 2.13	srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – cetirizin.....	31
Tabulka 2.14	genotoxické a karcinogenní účinky desloratadinu.....	32
Tabulka 2.15	reprodukční a vývojová toxicita desloratadinu.....	32
Tabulka 2.16	subchronické a chronické účinky desloratadinu při opakovaném podání pacientům.....	32
Tabulka 2.17	faktory F použité při výpočtu PDE ₁ pro desloratadin.....	33
Tabulka 2.18	srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – desloratadinu.....	33
Tabulka 2.19	genotoxické a karcinogenní účinky fexofenadinu (in-vitro).....	34
Tabulka 2.20	genotoxické a karcinogenní účinky fexofenadinu (in-vivo).....	34
Tabulka 2.21	reprodukční a vývojová toxicita fexofenadinu.....	35
Tabulka 2.22	subchronické a chronické účinky fexofenadinu při opakovaném podání pacientům.....	35
Tabulka 2.23	faktory F použité při výpočtu PDE ₁ pro fexofenadin.....	36
Tabulka 2.24	srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – fexofenadin.....	36
Tabulka 2.25	subchronické a chronické účinky hydroxyzinu při opakovaném podání.....	37
Tabulka 2.26	reprodukční a vývojová toxicita hydroxyzinu.....	37

Tabulka 2.27	subchronické a chronické účinky hydroxyzinu při opakovaném podání (pacienti).....	38
Tabulka 2.28	faktory F použité při výpočtu PDE_1 pro hydroxyzin.....	38
Tabulka 2.29	srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – hydroxyzin.....	39
Tabulka 2.30	genotoxické a karcinogenní účinky chlorphenaminu (in-vitro).....	40
Tabulka 2.31	genotoxické a karcinogenní účinky chlorphenaminu (in-vivo).....	40
Tabulka 2.32	reprodukční a vývojová toxicita chlorphenaminu.....	40
Tabulka 2.33	subchronické a chronické účinky chlorphenaminu při opakovaném podání (pacienti).....	40
Tabulka 2.34	faktory F použité při výpočtu PDE_1 pro chlorphenamin.....	41
Tabulka 2.35	srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – chlorphenamin.....	42
Tabulka 2.36	genotoxické a karcinogenní účinky loratadinu (in-vitro).....	43
Tabulka 2.37	genotoxické a karcinogenní účinky loratadinu (in-vivo).....	43
Tabulka 2.38	reprodukční a vývojová toxicita loratadinu.....	43
Tabulka 2.39	subchronické a chronické účinky loratadinu při opakovaném podání pacientům.....	43
Tabulka 2.40	faktory F použité při výpočtu PDE_1 pro laratadin.....	44
Tabulka 2.41	srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – loratadin.....	45
Tabulka 2.42	genotoxické a karcinogenní účinky mepyraminu (in-vitro).....	45
Tabulka 2.43	genotoxické a karcinogenní účinky mepyraminu (in-vivo).....	46
Tabulka 2.44	subchronické a chronické účinky mepyraminu při opakovaném podání.....	46
Tabulka 2.45	faktory F použité při výpočtu PDE_1 pro mepyramin.....	46
Tabulka 2.46	srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – mepyramin.....	47

SEZNAM ZKRATEK

ADI	acceptable daily intake – akceptovatelný denní příjem
API	active pharmaceutical ingredient - farmakologicky aktivní látka
CA	chromosomal aberration – chromozomální aberace
CNS	central nervous system – centrální nervová soustava
COV	carryover values – povolený obsah 1/1000 terapeutické dávky
EKG	electrocardiography – elektrokardiogram
EMS	ethyl methanesulfonate – ethyl-metansulfonát
F	female – žena (samice)
FDA	Food and Drug Administration - Úřad pro kontrolu potravin a léčiv
GDA	generalized anxiety disorder – generalizovaná úzkostná porucha
HPLC	high performance liquid chromatography – vysokoúčinná kapalinová chromatografie
LD ₅₀	lethal dose – letální dávka
LDDE	lethal dose daily exposure – letální dávka denní expozice
LOAEL	lowest observed adverse effect level – limit nejnižší podané dávky s již pozorovanými nežádoucími účinky
M	male – muž (samec)
maxTD	maximum therapeutic dose – maximální terapeutická dávka
MI	mitotic index – mitotický index
minTD	minimal therapeutic dose – minimální terapeutická dávka
MMC	mitomycin C
MN	micronucleus test – mikronukleový test
MSA	methanesulfonic acid – metansulfonová kyselina
NDI	nuclear division index – index jaderného dělení
NOAEL	no-observed adverse effect level – nejvyšší dávka při níž v testu nebyl pozorován škodlivý účinek
OEL	occupational exposure limit – expoziční limit
OSCS	oversulfated chondroitin sulfate - sulfatovaný chondroitin sulfát
PDE	permitted daily exposure – povolená denní expozice
PDE ₁	permitted daily exposure – limit povolené denní expozice založený na hodnotě NOAEL, LOAEL nebo minTD

PDE ₂	permitted daily exposure – limit povolené denní expozice založený na hodnotě OEL
PI	proliferation index – index proliferace
PO	per os – perorální podání
QTc	QTc interval
SCE	sister chromatide exchange – test sesterských chromatid
SOP	standard operating procedure – standardní operační postup
TOC	total organic carbon – metoda stanovení celkového uhlíku (nespecifická)
TTC	treshold of toxicological concern – limit užívaný při prokázání vážné karcinogenity nebo genotoxicity u daného léčiva
USP	United States Pharmacopeia – Spojené státy Pharmacopeia
VHP	vapour hydrogen peroxide – plynný peroxid vodíku
VMP	validation master plans – řídicí plán validací

Úvod

V historii nastalo mnoho případů, kdy byla kontaminace farmaceutických zařízení, hotových léčiv nebo meziproduktů závažným problémem, který ohrožoval zdraví uživatelů. Častou příčinou bylo neadekvátní čištění farmaceutického zařízení a špatné zásady při výrobním procesu. Zavedení povinné validace s cílem zabránit nedostatkům v čistícím a pracovním procesu bylo jedním z nejdůležitějších kroků, který úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) podnikl.

V současné době je proces validace nepostradatelnou součástí managementu kvality farmaceutických výrob. V rámci validace jsou stanoveny limity, díky kterým lze určit přípustnost míry kontaminace. V rámci této práce je hlavním diskutovaným limitem povolená denní expozice (PDE). Ukázka výpočtu PDE je provedena na vybraných léčivech z řady Antihistaminik.

1. Validace a čištění farmaceutických výrobních zařízení

1.1 Historie a validace čištění

V současné době je proces validace čistících procesů nedílnou součástí managementu kvality farmaceutických výrob. První úvahy o nutnosti zavedení validace souvisí s případem kontaminace léčiva Cholestyramine Resin USP zemědělskými pesticidy z roku 1988. Důvodem křížové kontaminace bylo skladování výrobních rozpouštědel v kontejnerech, které byly dříve využívány pro skladování zemědělských pesticidů. Kontejnery nebyly dostatečně vyčištěny od pesticidů a byly použity pro skladování Cholestyraminu, který byl tak kontaminován. Některé zásilky tohoto pesticidem kontaminovaného farmaceutického meziprojektu byly dodávány do zařízení v jiné lokaci k dokončení výrobního procesu. Důsledkem bylo kontaminování sáčků, používaných ve fluidní sušárně, což vedlo ke křížové kontaminaci šarží vyrobených v místě, kde se pesticidy běžně nevyskytovaly. Následně Úřad pro kontrolu potravin a léčiv FDA (Food and Drug Administration) zavádí povinné ověřování (validace) čistícího postupu.¹ Jsou známy mnohé případy, kdy byl zanedbán čistící proces či výroba samotná. V roce 2003 došlo v Austrálii k incidentu souvisejícímu s užíváním léčiva Travacalm, v jehož důsledku bylo 19 osob hospitalizováno a dalších 68 osob bylo ohroženo na životě. Při výrobě tohoto přípravku působícího proti kinetóze pravděpodobně došlo k chybnému dávkování farmaceuticky aktivní látky (API – active pharmaceutical ingredient) v několikanásobně vyšším množství, než jaké bylo deklarováno v příbalovém letáku.² V roce 2007 bylo z evropského trhu staženo antiretrovirální léčivo Viracept, vyráběné firmou Roche ve Švýcarsku, kvůli kontaminaci toxickým (karcinogenní, mutagenní a teratogenní) EMS (ethyl-metansulfonátem). Viracept vyrábí i firma Pfizer v Kanadě a USA. Tank pro skladování MSA (metansulfonové kyseliny) byl vyčištěn podle standardů firmy Roche, tedy etanolem, avšak došlo k lidské chybě, kdy nebyl etanol patřičně vysušen a následně zbytkový etanol zreagoval s MSA, kterou byl tank po vyčištění naplněn a která je jednou ze složek Viraceptu. Následně byly zavedeny jednorázové tanky.³ Roku 2007 byly aplikovány ve 12 nemocnicích intratekální léky, pocházející z jedné farmaceutické továrny, jako je Methotrexát (léčba nádorů) nebo Cytarabin (léčba leukemie, cytostatikum), které však obsahovaly stopové množství Vincristinu (antimytotické cytostatikum – zabránění růstu rakovinných buněk), jehož výroba probíhala na stejných výrobních

zařízeních, využívaných i pro Cytarabin a Methotrexát. U pacientů, kterým byla tato léčiva aplikována, se projevovala paraplegie (soubor symptomů, způsobených poškozením míchy) a paraparéza (částečné ochrnutí).⁴ Jedním z případů, kdy nebyla dodržena patřičná kontrola produkce API byla i aféra kontaminovaného heparinu vyráběného v Číně v roce 2008. Heparin zabraňuje srážlivosti krve a získává se z mukózních tkání – obvykle z prasečích střev nebo kravských plic. Firma vyrábějící heparin přidávala do léčiva OSCS (oversulfated chondroitin sulfate), který má velice podobnou stavbu, ale účinky se liší, například zvyšuje krevní tlak, což byl jeden z projevů u pacientů užívajících kontaminovaný heparin. OSCS je získáván ze zvířecích chrupavek a do heparinu byl přidáván za účelem zvýšení objemu. Důsledkem bylo přes 60 úmrtí.⁵

1.2 Kontaminace ve farmaceutických výroбах

Hovoříme-li o kontaminaci, myslíme tím znečištění prostředí. Látky ovlivňující produkt během výroby. Residua, která jsou součástí složení výsledného produktu. Nečistoty neboli residua, která musí být identifikována, jsou například složky čistícího prostředku, konzervační látky, předchozí nebo výchozí materiály, meziprodukty, pracovní pomůcky, buněčné úlomky nebo metabolity, částice, endotoxiny, virové částice, barviva, příchutě, vůně a další. Důležitým krokem validace je identifikace potenciálního problému, kterým by mohla být ohrožena kvalita a bezpečnost užívání léčiv.

Kontaminace se dá rozdělit na několik typů: křížová kontaminace aktivní ingrediencí, kontaminace nezamýšleným materiálem nebo sloučeninou, mikrobiologická kontaminace, kontaminace z čištění nebo dezinfekce. Po křížové kontaminaci aktivní ingrediencí obsahuje farmaceutická substance nežádoucí, nadlimitní množství aktivní látky z jiné šarže. Může k tomu dojít například v případě, že je pro více výrobků využíváno jedné výrobní jednotky, která však mezi jednotlivými výrobami neprochází dostatečnou očištěnou. Při tomto typu znečištění produktu může mezi jednotlivými složkami dojít k synergickému efektu, tedy výsledný účinek současně působících složek je vyšší než souhrn účinků jednotlivých složek. Druhý typ kontaminace je možný v případě, kdy nejsou používány inertní materiály. Obvykle se jedná o čistící přípravky s nevhodným

neinertním složením nebo hadry, štětce, díly zařízení, maziva. Znečištění může být způsobeno vniknutím cizího předmětu z mimo-výrobního prostředí. Je nutné provádět také pravidelnou kontrolu, zda zařízení pro výrobu není napadeno nějakými mikroorganismy, které by se mohly dál množit a znemožnit tak bezpečný průběh výroby bez škodlivých dopadů na finálním produktu. Mikroorganismy se nejčastěji objevují, když je některá ze substancí nevhodně skladována, balena, transportována. Při využití čisticích prostředků, které jsou nadměrně toxické nebo nějakým způsobem reagují se syntetizovanou látkou, dochází k poslední z uvedených kontaminací.⁶

Kontaminaci je možné předcházet a to především v případě, že jsou známy nejčastější zdroje příčiny: prostory a konstrukce budov, lidé, výrobní operace, oblečení, nástroje a služby, vzduchotechnika. Výrobní oblasti by měly být zabezpečeny, aby byl eliminován výskyt hmyzu a cizích objektů z venkovního prostředí. Prostor pro výrobu by se měla vyhradit pouze pro osoby, které mají s výrobním procesem co do činění. Stropy a stěny místnosti by měly být hladké, bez spár, lehce čistitelné stejně jako stroje. Zařízení pro výrobu by mělo mít hladký povrch a inertní kontaktní plochy zabraňující procesům adheze a absorpce. Prostory k čištění by měly být lehce dostupné. Kvalifikovaný personál by měl mít pracovní oděv a ochranné pomůcky. Nemělo by docházet ke kontaktu lidské kůže s látkami účastnícími se procesu a každý zaměstnanec by se měl před vstupem do výrobních prostorů účastnit lékařské prohlídky. Systém vzduchotechniky by měl být vybrán s důrazem na kvalitu a měl by být s rozmyslem rozmístěn po prostorech tak, aby nedocházelo k nežádoucím situacím, kdy se bude prach cirkulací vzduchu přesouvat k pracovní ploše a ne naopak směrem od ní. Každá fáze zpracování by se měla prověřovat s důrazem na přítomnost mikrobiologického znečištění a měly by být vyměňovány případné balící povrchy jako obaly, sáčky a jiné za nové, tím se snižuje riziko kontaminace.⁷

1.3 Čištění

Čištění farmaceutických výrob je proces, kterým se snažíme zabránit vzniku kontaminace. Čištění je aplikováno na základě dokumentovaných postupů (SOP). SOP (standard operating procedure) je podrobný popis čistícího postupu. Prvním

krokem je vysávání zařízení za účelem odstranění pevných nečistot. Následuje kyselé čištění a oplachování vodou. Dalším krokem je bazické čištění následované opětným opláchnutím vodou. Nakonec je zařízení utřeno alkoholem. Celý tento sjednocený postup je doplněn o detaily pro specifické zařízení.⁶

K čištění mohou sloužit následující prostředky: polární a nepolární rozpouštědla, komoditní chemikálie a speciální čisticí směsi pro farmaceutické výroby.⁸ Voda je univerzální rozpouštědlo, nevýhodou je, že čištění obvykle probíhá nepříjemně dlouho. K čištění lze též používat matečné louhy z výrobních procesů. Ty však rozpustí pouze primární residua, proto je tu riziko zbytkového znečištění. Mezi komoditní chemické látky patří například hydroxid sodný, formaldehyd, acetaldehyd, kyselina chlorovodíková, styren, fenol a další. Velká zásaditost nebo kyselost komoditních chemikálií dělá komoditní chemikálie užitečné především při inaktivačních procesech. Díky nedostatku informací o čistících vlastnostech používaných chemických látek může být těžké jejich oplachování, na které se spotřebuje hodně času a vody. K nejrozšířenějším čistícím látkám patří detergenty, alkalické nebo kyselé látky, povrchově aktivní látky, maskovací činidla, cheláty a další látky. Tyto produkty mají takové chemické složení, aby příliš nepěníly a byly lehce oplachovatelné.⁷

Způsob čištění závisí na druhu kontaminace. Při výskytu biofilmu (funkčního společenství organismů) lze k jeho odstranění použít desinfekci nebo jiný účinný prostředek. Pokud však biofilm dospěje do fáze, kdy adherované bakterie začnou produkovat polysacharidové látky, které je chrání proti nepříznivým podmínkám, je jejich adheze k povrchu již ireverzibilní. V takovém případě je nutné použít k odstranění nejdříve mechanických metod, kdy se snažíme biofilm narušit a rozrušit tak jeho ochrannou vrstvu, a až poté lze použít mikrobicidní látky, které by po určitém čase a při požadované teplotě měly biofilm odstranit. Mezi účinné mikrobicidní látky patří alkalické detergenty, kvarterní amonné dezinfekční přípravky.⁹

Na očistu nádobí používaného při výrobě bývají firmy vybaveny doporučenými myčkami, které jsou speciálně upraveny pro chemické nádobí a příslušenství.

VHP (vapour hydrogen peroxide) dekontaminace udržuje sterilní pracovní prostředí, jako jsou izolátory, sušičky, plnicí linky atd. Výhodou je, že VHP je účinný proti širokému spektru mikroorganismů, je šetrný, netoxický a ekologický.

Léčiva ve formě přijatelné pacientem jako jsou tablety, čípky, pilulky jsou vytvářeny speciálními složitými zařízeními, která provádí operace jako je mletí, míšení, granulování, sušení, tvarování a povrchovou úpravu. Je zde složitější čištění, které zahrnuje alkalické čisticí prostředky pro svou schopnost proniknout do nejzazších míst a odstranit organické zbytky, dále neutrální čisticí prostředky neboli rozpouštědla s aktivním povrchem.¹⁰

1.4 Limity

Kontaminace se dá do určitých hodnot přehlížet, pokud není zdraví škodlivá a nebezpečná v jiných ohledech. Pro přípustnost míry kontaminace se využívá různých limitů.

Není možné stanovit specifické limity nebo jeden druh analytické metody pro všechny firmy, protože postupy výroby, výrobní zařízení a lékové formy jsou v jednotlivých firmách rozdílné. Definice limitů musí respektovat vlastnosti konkrétního výrobního postupu. Často užívaným limitem je povolený obsah 1/1000 normální terapeutické dávky. Vychází z požadavku, že v terapeutické dávce látky B se nesmí objevit více než 1/1000 minimální terapeutické dávky látky A (COV – carryover values). Tohoto limitu lze využít pouze v případě, že známe terapeutickou denní dávku látky A. Dalšími používanými limity je obsah 10 ppm a nulový viditelný zbytek. Jsou využívány i další limity založené na toxikologických datech jako je výpočet povolené denní expozice PDE (permitted daily exposure), akceptovatelný denní příjem ADI (acceptable daily intake), využívaný především v potravinářském průmyslu, nebo také LDDE (lethal dose daily exposure). Při výpočtu přípustné denní expozice odvozené od letální dávky (LDDE) je využíváno LD₅₀ (lethal dose), což je v toxikologii označení pro dávku látky podané testovaným jedincům, která působí úhyn 50 % testovaných živočichů do 24 hodin od expozice. Přípustnou míru kontaminace lze rovněž odvodit s využitím expozičního limitu OEL (Occupational

exposure limit), což je nejvyšší přípustná koncentrace znečišťující látky v ovzduší v pracovním prostředí. Tento limit reguluje látky, které do organismu přestupují inhalační cestou. Při výpočtu přípustné míry kontaminace obvykle uvažujeme 100% biologickou dostupnost kontaminantu a objem vzduchu, který pracovník vydýchá během jedné směny, je odhadnut na 10 m³.

Povolená denní expozice PDE, stanovuje přípustnou denní dávku dané látky, která ani při celoživotní expozici nepředstavuje statisticky významné zdravotní riziko. Výpočet PDE se provádí podle **rovnice 1.1**. Klíčovým údajem pro výpočet PDE je NOAEL (no – observed adverse effect level) či LOAEL (lowest observed adverse effect level) z vhodně voleného toxikologického in vivo testu případně srovnatelný údaj z klinické či epidemiologické studie. F1 až F5 jsou faktory sloužící ke zohlednění hlavních zdrojů nejistot při výpočtu PDE. Jejich hodnoty se pohybují od 1 do 10 (viz **Tab. 1.1**). Faktor F1 je využíván k extrapolaci toxikologických dat mezi jednotlivými živočišnými druhy (zvíře vs. člověk). Faktor F2 umožňuje do výpočtu zahrnout efekty vnitrodruhové variability (rezistentní vs. senzitivní jedinci v dané populaci). Faktor F3 závisí na délce studie. Faktor F4 je do výpočtu zahrnut, pokud studovaná farmakologicky účinná látka vyvolává obzvláště závažné typy toxických účinků jako je reprodukční či vývojová toxicita případně teratogenita. Faktor F5 je aplikován, pokud jsou k výpočtu PDE použity toxikologické indexy s nižší citlivostí (např. LOAEL, minimální terapeutická dávka apod.). Pokud je výpočet PDE prováděn na základě dat z několika různých toxikologických studií, za platnou je považována nejnižší hodnota PDE. V případě, že je již známo, že je látka genotoxická je místo PDE využíván limit nazvaný TTC (Threshold of Toxicological Concern), který má hodnotu 1,5 µg/den. Vypočtená hodnota PDE by měla být podložena protokolem o výpočtu PDE, kde jsou podrobně shrnuty zdroje dat použitých při výpočtu a všechny informace, které nějakým způsobem ovlivnily určení hodnoty PDE.⁷

$$PDE = \frac{NOAEL \times hmotnost}{F_1 \times F_2 \times F_3 \times F_4 \times F_5}$$

Rovnice 1.1

Tabulka 1.1 Hodnoty korekčních faktorů *F*

Faktory		Hmotnost	50kg	Obvykle váha dospělé osoby
F ₁	Faktor pro extrapolaci mezi jednotlivými druhy	5	potkan → člověk	
		12	myš → člověk	
		2	pes → člověk	
		2,5	králík → člověk	
		3	opice → člověk	
		10	jiné zvíře → člověk	
F ₂	Faktor vnitrodruhové variability	10	Nižší hodnota F ₂ může být akceptovatelná, pokud je výpočet PDE založen na datech ze vhodných epidemiologických/klinických studií, kde byl již vliv vnitrodruhové variability zohledněn	
F ₃	Faktor zohledňující délku a průběh studie	1	Pro studie, probíhající alespoň polovinu běžné délky života zvířete (1rok pro hlodavce nebo králíky, 7 let pro kočky, psy a opice); pro studie vývojové toxicity, ve kterých je zahrnuto celé období organogeneze	
		2	6 měsíců pro hlodavce nebo 3,5 roku pro ostatní druhy	
		5	3 měsíce pro hlodavce nebo 2 roky pro ostatní druhy	
		10	Pro studie kratšího trvání	
F ₄	Faktor zohledňující zvlášť závažné typy toxických účinků	1	Pro fetální toxicitu spojenou s mateřskou toxicitou	
		5	Pro fetální toxicitu bez mateřské toxicity	
		5	Pro teratogenní efekt s mateřskou toxicitou	
		10	Pro teratogenní efekt bez mateřské toxicity	
F ₅	Efekt zohledňující citlivost použitého toxikologického indexu používaný pokud nebyla zjištěna hodnota NOAEL	10	Aplikován v případech, kdy není známá hodnota NOAEL ze studií reprodukční a vývojové toxicity, případně pokud jsou k výpočtu PDE použita data ze studií chronické toxicity	

1.5 Validace

Validace je systematické, dokumentované provádění zkoušek a testů, které prokáží spolehlivost všech prvků, které proces ovlivňují. Validace procesu čištění je nejvíce využívána ve farmaceutickém průmyslu, předchází se tak křížové kontaminaci a znečištění léků. Cílem validací čistících procesů je eliminace nadlimitních koncentrací nečistot v očekávaném produktu, které by mohly vyvolávat

nežádoucí vedlejší účinky nebo vážně poškodit zdraví uživatele kontaminovaného léčiva. Součástí kontroly jsou operátoři proškolení problematikou SOP. Variabilita výsledků operátorů by měla být minimální. Součástí procesu validace je také řídicí plán validací (VMP). Jedná se o dokumentaci validačního plánu a postupů, která popisuje zásady, u kterých se očekává, že budou splněny, patří sem: požadované validační aktivity, výčet validací na jednotlivé uživatelské objekty, termíny zkoušek, druhy zkoušek, požadavky na kvalifikovanost pracovníků, požadovaný formát protokolu a zpráv, nebo například validační tým. Do validačního týmu patří osoby, které se na procesu validace jakýmkoli způsobem podílí a každý plní určitou funkci. **Manažer validace** zpracovává validaci a řídí zkoušky. **Garant** je specialista v oboru, proto je garantem odborné části. **Vlastník procesu** je pracovník odpovědný za definovanou část procesu (výrobní, laboratorní, vývojová, podnikatelská). **Kontrolující** ověřuje data. **Vydavatel** je zodpovědný za vydání, distribuci a evidenci dokumentu.¹¹

Vizuální kontrola čistoty, analýza stěrů reziduí sledované látky, analýza posledního oplachového média a měření vodivosti, mikrobiologické hodnocení stěrů z povrchu zařízení nebo poslední oplachové vody – to jsou metody nejčastěji používané k hodnocení účinnosti čistícího procesu. Firmy by měly prověřovat kontrolovanou látku kombinací několika analytických metod.

Pomůckou při validaci může být tak zvané "grouping equipment", což je seskupování určitých přístrojů, které si musí být vždy v určitém ohledu podobné. Například je jejich charakteristikou, že se čistí stejným prostředkem nebo mají stejný způsob čištění, jsou rovnocenné z hlediska postavení nebo role ve výrobním procesu, splňují podobnou funkčnost, jsou skoro stejně konstruovány, zkrátka jsou v něčem téměř ekvivalentní. Díky zdokumentování těchto informací není nutné do budoucna provádět mnoho složitých testů.⁸

Validace je aplikována třikrát na počátku jakéhokoliv nového postupu čištění. Rutinní validace probíhá po každém ručním čištění zařízení, výsledky slouží zároveň jako kontrola pro případné kolísání postupu výkonu čištění. Pokud se přechází od výroby jednoho produktu k jinému nebo od používání určitého stroje ke koupi a používání jiného, je validace nezbytná, v případě údržby, přítomnosti atypické

nečistoty v systému, po odstávce stroje nebo po zamoření a kontaminování prostoru, přetrvávající mikrobiální úrovni se provádí validace.¹

1.6 Testovací metody a analýza povrchu, odběr vzorku

V rámci validace je nutná analýza povrchu čištěných zařízení. Vizuální kontrolou čistoty je kontrola lidským okem, tedy zrakem, který dokáže bezpečně rozeznat kontaminaci okolo 400 $\mu\text{g}/\text{dm}^2$. Dále se využívá metoda analýzy stěrů residuí sledované látky, která spočívá ve stěru plochy o rozměru 10x10 cm pomocí tyčinky Texwipe nebo jiného praktického nástroje s rozpouštědlem, následně je provedena extrakce a chemická analýza extraktu. Rovněž je využíváno suchých stěrů, které jsou prováděny černými PET utěrkami, které jsou dále vyhodnoceny počítačovou analýzou obrazu. Metoda analýzy posledního oplachového média a měření vodivosti je aplikována především v případech, kdy je obtížný přístup k prověřovanému místu.⁶

Existuje několik metod odběru vzorku, v následujícím textu jsou uvedeny ty nejznámější. **Přímá metoda odběru vzorku z povrchu zařízení:** Odběr je proveden pomocí filtračního papíru (případně tyčinky Texwipe) namočeného v rozpouštědle schopném rozpouštět, nikoli však degradovat, účinnou látku. Místo o ploše 25 cm^2 se za působení tlaku otre a druhým suchým filtračním papírem vysuší. Oba filtry jsou následně testovány na přítomnost aktivní látky či nežádoucích příměsí. Tato metoda se hodí především v případech, kdy došlo k vysušení nečistot, nebo jsou tyto nečistoty nerozpustné. **Vyplachovací metoda:** Provádí se s využitím rozpouštědla, které by mělo být schopno účinně rozpouštět aktivní látku. Nevýhodou je, že přítomný nežádoucí zbytek může být rozpustný jen omezeně nebo je fyzicky nepřístupný (uzavřen v zařízení). **Metoda placebo (placebo sampling):** V rámci dané metody se využívá placebo, které by mělo mít stejné nebo maximálně podobné parametry jako zákaznický produkt. Placebo je zpracováno podle stejných provozních postupů jako reálný produkt a následujícím krokem je zjišťování zbylých nežádoucích residuí.¹²

Validace je považována za úspěšnou v případě, že poslední 3 odběry vzorku splňují kritérium přijatelnosti, tedy naměřená hodnota je menší nebo rovna

požadovanému limitu. Pokud není validace vyhovující, je nutné provést rozbor procesu, zjistit příčinu nebo navrhnout nový čistící cyklus.

Dostatečná citlivost je nejdůležitějším faktorem při volbě testovací metody. Metody se dělí na specifické a nespecifické. Nejpoužívanější metody pro testování residuí jsou kapalinová chromatografie HPLC (specifická) a TOC (nespecifická), stanovující celkový obsah uhlíku v látce. TOC metoda je velice citlivá, ale nespecifická, detekuje všechny přítomný organický uhlík. Nevýhodou je to, že se dá použít pouze na vodné roztoky analyzované látky. HPLC je obvykle dostatečně citlivá na přítomnost residuí, byla vyvinuta pro určování koncentrace residuí 0,1% identifikované látky.

Kapalinová chromatografie (HPLC) využívá mnohonásobně opakovaného procesu distribuce látek mezi kapalnou mobilní a zpravidla tuhým stacionární fází, v jehož průběhu migrují látky ve směsi různou rychlostí ve směru toku mobilní fáze a při průchodu chromatografickým prostředím tak dochází k jejich vzájemné separaci.

TOC – metoda (stanovení celkového uhlíku) je založena na převedení všech forem organického uhlíku na oxid uhličitý, který je dále detekován a jeho obsah se kvantitativně vyhodnotí.⁶

2. PDE pro léčiva ze skupiny antihistaminik

V předchozím textu byla popsána historie a validace čištění, kontaminace ve farmaceutických výrobních zařízeních, čištění a validace farmaceutického zařízení, testovací metody přítomných residuí ve výrobním zařízení, analýza povrchu čištěných zařízení, metody odběru vzorku a limity používané ke stanovení míry kontaminace, kterou lze ještě připustit a kterou již ne. Z limitů je v této práci nejvíce poukazováno na limit povolené denní expozice – PDE. V následující kapitole je uveden výpočet PDE pro vybraná antihistaminika první, druhé a třetí generace. Antihistaminika jsou léčiva, která určitým způsobem blokují účinky histaminu na histaminergních receptorech. Jedná se o léčiva používaná k léčbě lehkých alergií, kopřivky a sezonní rýmy. Někdy se používají i k léčbě těžkých alergií a mohou být použity k potlačení

nevolnosti.¹³ Mezi vybraná antihistaminika pro výpočet PDE v následující kapitole patří: bilastin, cetirizin, desloratadin, fexofenadin, hydroxyzin, chlorphenamin, loratadin a mepyramin. Pro výpočet PDE jednotlivých antihistaminik je důležité znát chronickou, vývojovou a reprodukční toxicitu, genotoxicitu a karcinogenitu. Pomocí těchto údajů jsou stanoveny korekční faktory důležité pro výpočet PDE. Index PDE₁ platí pro PDE, které je vypočítáno na základě NOAEL nebo LOAEL vybrané z toxikologických studií. PDE₂ je index pro PDE vypočítané na základě expozičního limitu OEL. Kromě PDE je v následující kapitole počítáno i COV neboli 1/1000 minimální terapeutické dávky minTD. Limity jsou v konečné fázi porovnány a je vybrán nejvhodnější z nich. V případě závažné karcinogenity nebo genotoxicity je upřednostňován limit 1,5 µg/den.

2.1 Bilastin

2.1.1 Farmakodynamika a terapeutická dávka

Bilastin patří mezi antihistaminika druhé generace¹⁴. Antihistaminika jsou reverzními agonisty histaminu na jeho H₁-receptorech. Druhá generace antihistaminik se vyznačuje vyšší selektivitou k H₁-receptorům a jsou méně lipofilní. Toto léčivo lze díky prodloužené době účinku podávat jednou denně. Působí mírným protizánětlivým účinkem.¹⁵ Terapeutická dávka Bilastinu je 10 mg/den.¹⁶

2.1.2 Preklinické hodnocení

V rámci *in vitro* a *in vivo* studií bilastin nevykazoval ani mutagenní ani karcinogenní účinky. V testu chromozomových aberací na lidských lymfoidních buňkách nebyla u bilastinu při koncentracích do 500 µg/ml prokázána klastogenita. Mutagenita bilastinu byla testována pomocí Amesova testu (in vitro test na histidin auxotrofním kmenu bakterie *S. typhimurium*). Test poskytl negativní výsledky až do dávky 2 mg/jamku.¹⁷ V rámci dlouhodobých in vivo testů toxicity na myších a potkanech (104 týdnů) nebyl zjištěn zvýšený výskyt nádorů až do dávky 1200 respektive 2000 mg/kg/den, při dávce 1200 mg/kg/den byl však u potkanů zjištěn výskyt urolitázy – ledvinové kameny (viz **Tab. 2.1**). Testy chronické toxicity na potkanech, psech a myších neprokázaly žádné zjevné negativní účinky ani při nejvyšších testovaných dávkách 2000 mg/kg/den (viz **Tab. 2.2**). Při studiích reprodukční a vývojové toxicity na potkanech nebyl pozorován žádný účinek na plodnost, páření a vývoj plodu až do dávek 1000 mg/kg/den. Při testech

na králících byl zjištěn vliv na osifikaci plodu při dávkách toxických pro matku (400 mg/kg/den). Tento účinek byl patrně způsoben sníženým příjmem potravy u exponovaných samic (viz **Tab. 2.3**)

Tabulka 2.1 *Genotoxické a karcinogenní účinky bilastinu*

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	in-vitro, <i>S. typhimurium</i> , mutagenita	2 mg/jamka	[17]
NOAEL	in-vivo, potkan (M), PO, 104 týdnů, karcinogenita	1200mg/kg/den	[17]
NOAEL	in-vivo, myš (F+M), PO, 104 týdnů, karcinogenita	2000mg/kg/den	[17]
LOAEL	in-vivo, potkan (F), PO, 104 týdnů, karcinogenita → urolitiáza	1200mg/kg/den	[17]

Tabulka 2.2 *Subchronické a chronické účinky bilastinu při opakovaném podání*

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	beagle (F+M), 52 týdnů	2000 mg/kg/den	[18]
NOAEL	potkani (F+M), 104 týdnů	2000mg/kg/den	[18]
NOAEL	myši (F+M), 104 týdnů	2000 mg/kg/den	[18]
NOAEL	potkan, PO, 4týdny, bez klinických příznaků	2000 mg/kg/den	[17]
NOAEL	pes, PO, 4 týdny, bez klinických příznaků	800 mg/kg/den	[17]
LOAEL	pes, PO, 52 týdnů, mírně zvýšený QTc	800 mg/kg/den	[17]

Tabulka 2.3 Reprodukční a vývojová toxicita bilastinu

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	potkan (F+M), PO, vícegenerační studie, expozice před a během páření a během počáteční fáze březosti	1000mg/kg/d	[18]
NOAEL	potkan (F), PO, expozice během období organogeneze	1000mg/kg/d	[17]
NOAEL	potkan (F), PO, vícegenerační studie, expozice 6 – 21 den laktace – žádné účinky na F1 generaci	1000mg/kg/d	[18]
NOAEL	králík (F), expozice během období organogeneze – při dávkách toxických pro matky (400 mg/kg/den) zpožděná osifikace plodu	110mg/kg/d	[18]

2.1.3 Klinické a epidemiologické studie

V rámci randomizované dvojité zaslepené placebem kontrolované studie (fáze 2/3) byl bilastin podáván pacientům s alergickou rinokonjunktivitidou a kopřivkou ve věku 18-74 let v dávce 20 mg/den (101 pacientů), 10 mg/den (100 pacientů) a 0 mg/den (103 pacientů) po dobu 2 týdnů. Nežádoucí účinky byly mírné až střední intenzity. Nejčastějším nežádoucím účinkem byl zánět nosohltanu a poruchy nervového systému (ospalost, bolest hlavy, závratě apod.) (viz **Tab. 2.4**).

Tabulka 2.4 Chronické užívání bilastinu pacienty

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
minTD	100p. (18-74let) (F+M), 2týdny	10 mg/den	[19]

2.1.4 Výpočet PDE₁

Pro výpočet PDE bilastinu byla použita hodnota minTD z testu chronického užívání bilastinu pacienty. Podávaná denní dávka byla 10 mg/den.¹⁹ Hodnoty korekčních faktorů F použitých při výpočtu PDE jsou shrnuty v **Tab. 2.5**.

$$PDE_1 = \frac{10}{1 \times 10 \times 10 \times 1 \times 10} = 0,01[\text{mg/den}]$$

Rovnice 2.1

Tabulka 2.5 Faktory F použité při výpočtu PDE_1

Faktor	Zdůvodnění	Hodnota
F1	člověk	1
F2	vnitrodruhová variabilita	10
F3	studie kratšího trvání	10
F4	fetální toxicita spojená s mateřskou	1
F5	výpočet založen na hodnotě minTD	10

2.1.5 Souhrnné hodnocení limitů pro bilastin

V **Tab. 2.6** jsou shrnuty limity použitelné pro validaci čistícího procesu vypočtené různými postupy. Postup výpočtu PDE_1 je podrobně objasněn v kapitole 2.1.4. Limit PDE_2 se počítá z hodnoty limitu pro výskyt škodlivých látek v pracovním ovzduší OEL a vychází se z představy, že pracovník o hmotnosti 50 kg během směny vydýchá 10 m³ vzduchu a že biologická dostupnost látky je 100 %. Pro výpočet je tedy použita rovnice:

$$PDE_2 = \frac{OEL \times 10}{50}$$

Rovnice 2.2

V případě bilastinu však bohužel hodnota OEL nebyla stanovena, výpočet PDE_2 tedy nebylo možné použít.

Hodnota COV je vypočtena jako jedna tisícina minimální terapeutické dávky (minTD). V daném případě byla pro výpočet COV použita hodnota minTD = 10 mg/den²⁰. Jak je z **Tab. 2.6** zřejmé, v případě bilastinu zajišťuje použití indexu COV stejnou ochranu zdraví uživatelů léčiv jako použití indexu PDE_1 .

Tabulka 2.6 Srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – bilastin

PDE_1	PDE_2 (TOV)	COV
0,01 mg/den	X	0.01 mg/den

2.2 Cetirizin

2.2.1 Farmakodynamika a terapeutická dávka

Cetirizin je antihistaminikum druhé generace. Mechanismus účinku je stejný jako u ostatních antihistaminik druhé generace. Jedná se o reverzního agonistu histaminu na jeho H1-receptorech. Účinky jsou stejné jako u již zmiňovaného Bilastinu¹⁵. Terapeutická dávka pro pacienty ve věku 6 let a více je 10 mg/den.²¹

2.2.2 Preklinické hodnocení

V in vitro test prověřující schopnost cetirizinu způsobovat mikronuklea v lidských lymfocytových kulturách se cetirizin prokázal jako klastogen.²² V in vitro testech na myších při dávkách 4mg/kg/den (F+M) byla zaznamenána zvýšená incidence benigních nádorů jater.²³ Pro 16 mg/kg/den (M) byly pozorovány příznaky jako centrilobulární hypertrofie, proliferace buněk hladkého endoplazmatického retikula a zvýšení benigních nádorů.²⁴ Při dávce 20 mg/kg/den podávané potkanům po dobu 2 let nebyla prokázána karcinogenita (viz **Tab. 2.7**).²⁵ Při studiích chronického užívání cetirizinu nebyly zaznamenány žádné vážné vedlejší účinky (viz **Tab. 2.8**). V rámci studií reprodukční a vývojové toxicity byly prokázány teratogenní účinky cetirizinu (viz **Tab. 2.9**).²⁴

Tabulka 2.7 Genotoxické a karcinogenní účinky cetirizinu

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOEL	potkan (F+M), PO, 2 roky, neprokázána karcinogenita	20 mg/kg/den	[25]
LOAEL	myš (F+M), 2 roky, zvýšená incidence benigních nádorů jater	4 mg/kg/den	[23]
LOAEL	myš (M), 2 roky, centrilobulární hypertrofie, proliferace buněk hladkého endoplazmatického retikula, zvýšení benigních nádorů jater	16 mg/kg/den	[24]

Tabulka 2.8 Subchronické a chronické účinky cetirizinu při opakovaném podání

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	opice (F+M), PO, 1 rok	45 mg/kg/den	[26]
NOAEL	pes (F+M), PO, 1 rok	60 mg/kg/den	[25]
NOAEL	potkan (F+M), PO, 76 týdnů	75 mg/kg/den	[27]

Tabulka 2.9 Reprodukční a vývojová toxicita cetirizinu

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
LOAEL	myš (F), 2 roky, mateřská toxicita	16 mg/kg/den	[24]
LOAEL	králík (F), 2 roky, pokles na váze	135 mg/kg/den	[24]
LOAEL	myš (F),PO, 2 roky, snížená hmotnost jater	64 mg/kg/den	[24]
LOAEL	myš (F), 2 roky, rozštěp horního patra	4 mg/kg/den	[24]
LOAEL	potkan (F), 2 roky, mateřská toxicita	25 mg/kg/den	[24]
LOAEL	potkan (F), 2roky, snížení hmotnosti plodu	25 mg/kg/den	[24]

2.2.3 Klinické a epidemiologické studie

Při chronickém užívání dávky 10 mg/den dětmi ve věku 12 let byly u 2% z nich pozorovány nežádoucí účinky jako je únava, sucho v ústech a hltanu a závratě. Pro skupinu dětí ve věku 6-11 let byly pozorovány po chronickém užívání dávky 5 mg/den cetirizinu vedlejší nežádoucí účinky jako je bolest hlavy, faryngitida, bolesti břicha, kašel, ospalost, průjem, krvácení z nosu, bronchospasmus, nevolnost a zvracení.²⁸ Ve studii prověřující 3200 pacientů byly u 9,63% žen a mužů zjištěny psychiatrické poruchy a zvýšená spavost. U 7,42% byla pozorována bolest hlavy, 1,63 % pociťovala fyzickou slabost a 1,10% závratě, 1,07% pacientů trpěla nevolností (viz **Tab. 2.10**).²⁹ Při klinické studii zahrnující 542 těhotných žen v prvním trimestru byl nitroděložně podáván cetirizin. U 7 narozených dětí se jednotlivě objevila trizomie 18 (Edwardsův syndrom), aortální chlopní stenóza, defekt komorového septa, rozštěp patra, tříselná kýla, deformace končetin a kožní výrůstky (viz **Tab. 2.11**).³⁰

Tabulka 2.10 Subchronické a chronické účinky cetirizinu při opakovaném podání pacientům

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
maxTD	2% p. (12 let) (F+M), únava, sucho v ústech a hltanu, závratě	10mg/kg/den	[28]
maxTD	2% p. (6-11 let) (F+M), bolest hlavy, faryngitida, bolesti břicha, kašel, ospalost, průjem, krvácení z nosu, bronchospasmus, nevolnost, zvracení	5mg/kg/den	[28]
maxTD	3200 p., (F+M), 9,63% (psychiatrické poruchy, spavost), 7,42% (bolest hlavy), 1,63%(fyzická slabost), 1, 10% (závratě), 1,07% (nevolnost)	10mg/kg/den	[29]

Tabulka 2.11 Reprodukční a vývojová toxicita cetirizinu (pacienti)

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
maxTD	542 těhotných žen, první trimestr, nitroděložní expozice, 1 případ trizomie 18, 1 případ aortální chlopní stenózy, 1 případ defektu komorového septa, 1 případ rozštěpu patra, 1 případ tříselná kýla, 1 případ výskytu deformace končetin, 1 případ kožních výrůstků.	5 mg/kg/den	[30]

2.2.4 Výpočet PDE₁

Pro výpočet PDE cetirizinu byla použita hodnota LOAEL z testu vývojové a reprodukční toxicity při podávání cetirizinu myši. Podávaná dávka byla 4 mg/kg/den.²⁴ Hodnoty korekčních faktorů F použitých při výpočtu PDE jsou shrnuty v **Tab 2.12**.

$$PDE_1 = \frac{4 \times 50}{12 \times 10 \times 1 \times 10 \times 10} = 0,0167 \text{ [mg/den]}$$

Rovnice 2.3

Tabulka 2.12 Faktory F použité při výpočtu PDE₁

Faktor	Zdůvodnění	Hodnota
F1	přepočtení z myši na člověka	12
F2	vnitrodruhová variabilita	10
F3	po celé období organogeneze	1
F4	teratogenní efekt – bez mateřské toxicity	10
F5	výpočet založen na hodnotě LOAEL	10

2.2.5 Souhrnné hodnocení limitů pro cetirizin

V **Tab. 2.13** jsou shrnuty limity použitelné pro validaci čistícího procesu vypočtené různými postupy. Postup výpočtu PDE₁ je podrobně objasněn v kapitole 2.2.4. Limit PDE₂ se počítá z hodnoty limitu pro výskyt škodlivých látek v pracovním ovzduší OEL. Pro cetirizin je hodnota OEL 0,15 mg/m³.²⁶ Pro výpočet je použita rovnice:

$$PDE_2 = \frac{0,15 \times 10}{50} = 0,03[mg/den]$$

Rovnice 2.4

Hodnota COV je vypočtena pro cetirizin z minTD 10 mg/den. minTD je získána ze studie dospělých pacientů trpících kopřivkou.³¹ Získané COV je 0,01 mg/den. Z **Tab. 2.13** je zřejmé, že limity PDE₁ a COV si jsou velice podobné, přesto index COV zajišťuje nejvyšší ochranu z uvedených limitů.

Tabulka 2.13 Srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – cetirizin

PDE ₁	PDE ₂ (TOV)	COV
0,0167 mg/den	0,03 mg/den	0.01 mg/den

2.3 Desloratadin

2.3.1 Farmakodynamika a terapeutická dávka

Desloratadin je antihistaminikum druhé generace a je tedy reverzním agonistou histaminu na 1H-receptoru, kde vyvolává opačný efekt než histamin. Desloratadin díky omezenému průniku přes hemoencefalickou bariéru je nesedativní účinná látka a má i protizánětlivé vlastnosti. Jeho vazebná afinita je velmi vysoká, udává se až 10krát vyšší účinnost než u loratadinu. Biologická dostupnost není ovlivněna současně přijímanou potravou. Terapeutická dávka je 5 mg/den.³²

2.3.2 Preklinické hodnocení

Pomocí Amesova testu (in vitro test na histidin auxotrofním kmenu bakterie *S. typhimurium*) a 2 testů chromozomálních aberací (test klastogenicity lidských periferních krevních lymfocytů a mikronukleární test myší kostní dřeně) nebyla prokázána klastogenita ani genotoxicita.³³ V rámci in vivo testů byly samcům myši po dobu delší než 6 měsíců podávány dávky 16 a 40 mg/kg/den. Opakované podávání dávky 40 mg/kg/den vyvolalo benigní nádory jater. Dále byly samicím myši aplikovány dávky 32 a 40 mg/kg/den a ani při nejvyšší dávce nebyly zaznamenány žádné projevy karcinogenního účinku testované látky. U podávání desloratadinu potkanům v dávkách 10 mg/kg/den (M) a 25 mg/kg/den (F) byly

nalezeny benigní nádory jater (viz **Tab. 2.14**).³⁴ V rámci studií vývojové a reprodukční toxicity byl při dávce 12 mg/kg/den u potkanů zaznamenán snížený počet spermií a snížená motilita. Zároveň byly zpozorovány histopatologické změny varlat (viz **Tab. 2.15**).³⁵

Tabulka 2.14 *Genotoxické a karcinogenní účinky desloratadinu*

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	myš (M), 6m., karcinogeneze	16 mg/kg/den	[34]
NOAEL	myš (F), 6m., karcinogeneze	32 mg/kg/den	[34]
LOAEL	myš (M), 6m., nádory jater	40 mg/kg/den	[34]
NOAEL	myš (F), 6m., karcinogeneze	40 mg/kg/den	[34]
LOAEL	potkan (M), 6m., nádory jater	10 mg/kg/den	[34]
LOAEL	potkan (F), 6m., nádory jater	25 mg/kg/den	[34]

Tabulka 2.15 *Reprodukční a vývojová toxicita desloratadinu*

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	potkan (F), 1 rok, žádný vliv na plodnost	24 mg/kg/den	[35]
LOAEL	potkan (M), PO, 1 rok, snížený počet spermií, motility, histopatologické změny varlat	12 mg/kg/den	[35]
NOAEL	potkan(M), 1 rok, žádný vliv na plodnost	3 mg/kg/den	[35]

2.3.3 Klinické a epidemiologické studie

V rámci studií chronických a subchronických účinků desloratadinu na pacienty nebyly zaznamenány žádné závažné nežádoucí účinky (viz **Tab. 2.16**).

Tabulka 2.16 *Subchronické a chronické účinky desloratadinu při opakovaném podání pacientům*

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
minTD	190 p. (F+M)(12-79let) s CIU, 6 týdnů, změna intervalů EKG, bez závažných nežádoucích účinků	5mg/kg/den	[36]
minTD	160 p. (F+M)(18-69let) s CIU	5mg/kg/den	[37]
minTD	83 p. (F+M)(19-67let)	5mg/kg/den	[38]

2.3.4 Výpočet PDE₁

Pro výpočet PDE desloratadinu byla použita hodnota NOAEL z testu reprodukční toxicity na potkanovi 3 mg/kg/den.³⁵ Hodnoty korekčních faktorů F použitých při výpočtu PDE jsou shrnuty v **Tab 2.17**.

$$PDE_1 = \frac{3 \times 50}{5 \times 10 \times 1 \times 1 \times 1} = 3[\text{mg}/\text{den}]$$

Rovnice 2.5

Tabulka 2.17 Faktory F použité při výpočtu PDE_1

Faktor	Zdůvodnění	Hodnota
F1	přepočítání z potkana na člověka	5
F2	vnitrodruhová variabilita	10
F3	1 rok	1
F4	Fetální toxicita bez zvlášť závažné toxicity	1
F5	výpočet založen na hodnotě NOAEL	1

2.3.5 Souhrnné hodnocení limitů pro desloratadin

V **Tab 2.18** jsou shrnuty limity použitelné pro validaci čistícího procesu vypočtené různými postupy. Postup výpočtu PDE_1 je podrobně objasněn v kapitole 2.3.4. Pro desloratadin nebyla nalezena hodnota OEL, proto není uvedena hodnota PDE_2 .

Hodnota COV je vypočítána na základě minTD, která je 5 mg/den. MinTD je získána ze studie dospělých pacientů s alergickou rýmou.³⁹ Získané COV je tedy 0,005 mg/den. Z **Tab. 2.18** je zřejmé, že hodnota COV zajišťuje několikanásobně vyšší ochranu zdraví uživatelů léčiv než použití indexu PDE_1 .

Tabulka 2.18 Srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – desloratadinu

PDE_1	PDE_2 (TOV)	COV
3 mg/den	X	0.005 mg/den

2.4 Fexofenadin

2.4.1 Farmakodynamika a terapeutická dávka

Fexofenadin stojí na rozhraní druhé a třetí generace antihistaminik. Působí stejným způsobem jako antihistaminika druhé generace, která byla již zmíněna, ale je

účinnější při léčbě chronické kopřivky a výrazněji ovlivňuje nosní kongrese u chronické rýmy. Neproniká do CNS, tudíž je ne-sedativní. S narůstající dávkou se zvyšuje i účinnost, ale nedochází ke vzniku vedlejších účinků. V klinických studiích byla prokázána bezpečnost až čtyřnásobných dávek oproti běžným terapeutickým dávkám pro léčbu chronické kopřivky. Terapeutická dávka je 30 mg/den.³²

2.4.2 Preklinické hodnocení

Genotoxicita a cytotoxicita byly testovány v rámci *in vitro* studie na kultivovaných lymfocytech lidské periferní krve. Kultury byly vystaveny působení fexofenadinu o třech různých koncentracích (50, 100 a 150 µg/ml) po dobu 24 nebo 48 hodin. Analýza zahrnovala mitotický index (mitotic index – MI), index jaderného dělení (nuclear division index – NDI), chromozomální aberace (chromosomal aberrations – CA), mikronukleární test (micronucleus test – MN). Mitomycin C (MMC) byl použit jako pozitivní kontrola. V testech CA a MN fexofenadin ani v nejvyšší koncentraci nevykazoval genotoxicitu. Souhrn výsledků testů dokazuje, že Fexofenadin má cytotoxický účinek, ale ne genotoxický (viz **Tab. 2.19**).⁴⁰ V rámci studie genotoxicity a karcinogenity nebyly prokázány pomocí testů MI, NDI, CA a MN na kultivovaných lymfocytech periferní lidské krve žádné toxické účinky (viz **Tab. 2.20**). Při testování reprodukční a vývojové toxicity nebyly nalezeny žádné toxické účinky (viz **Tab. 2.21**).

Tabulka 2.19 *Genotoxické a karcinogenní účinky fexofenadinu (in-vitro)*

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	kultivované lymfocyty periferní lidské krve, 48hod. Metoda: MI, NDI, CA, MN, není genotoxický, je cytotoxický	150µg/ml	[40]

Tabulka 2.20 *Genotoxické a karcinogenní účinky fexofenadinu (in-vivo)*

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	potkan, myš (F+M), 18-24m., neprokázána karcinogenita	150 mg/kg/den	[41]

Tabulka 2.21 Reprodukční a vývojová toxicita fexofenadinu

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	potkan (F), PO, nebyla prokázána teratogenita	300 mg/kg/den	[42]
NOAEL	králík (F), PO, nebyla prokázána teratogenita	300 mg/kg/den	[42]
NOAEL	myš (F), PO, nebyla prokázána teratogenita	3730 mg/kg/den	[42]

2.4.3 Klinické a epidemiologické studie

V rámci studie subchronických a chronických účinků fexofenadinu nebyly nalezeny žádné vážné vedlejší účinky (viz **Tab. 2.22**).

Tabulka 2.22 Subchronické a chronické účinky fexofenadinu při opakovaném podání

Index	Detail	Hodnota	Cit.
minTD	231 p. (F+M), 1rok, QTc a EKG v pořádku	240mg/den	[43]
minTD	40 p. (F+M), 6 dní, 2 x denně 400mg, QTc a EKG v pořádku	800mg/den	[43]
minTD	32 p. (F+M), 1 měsíc, 2 x denně 690mg, QTc a EKG v pořádku	1380mg/den	[43]
minTD	15 p. (F+M), bez rušivých účinků na CNS	360 mg/den	[40]

2.4.4 Výpočet PDE1

Pro výpočet PDE fexofenadinu byla použita hodnota minTD z testu subchronických a chronických účinků. Hodnota použité minTD je 240 mg/den.⁴³ Hodnoty korekčních faktorů F použitých při výpočtu PDE jsou shrnuty v **Tab 2.23**.

$$PDE_1 = \frac{240}{1 \times 10 \times 10 \times 1 \times 10} = 0,24 \text{ [mg/den]}$$

Rovnice 2.6

Tabulka 2.23 Faktory F použité při výpočtu PDE_1

Faktor	Zdůvodnění	Hodnota
F1	člověk	1
F2	vnitrodruhová variabilita	10
F3	studie kratšího trvání	10
F4	x	1
F5	výpočet založen na hodnotě MinTD	10

2.4.5 Souhrnné hodnocení limitů pro fexofenadin

V **Tab 2.24** jsou shrnuty limity použitelné pro validaci čistícího procesu vypočtené různými postupy. Postup výpočtu PDE_1 je podrobně objasněn v kapitole 2.4.4. PDE_2 je vypočítáno z dostupné hodnoty OEL pro fexofenadin 0.8 mg/m^3 .⁴⁵

$$PDE_2 = \frac{0.8 \times 10}{50} = 0,16[\text{mg/den}]$$

Rovnice 2.7

Hodnota COV je vypočtena z minTD 30 mg/den . Výsledkem výpočtu COV je $1/1000 \text{ minTD}$ a to $0,03 \text{ mg/den}$. Z **Tab. 2.24** lze vyčíst, že hodnota COV je limit s nejvyšší ochranou zdraví uživatelů fexofenadinu.

Tabulka 2.24 Srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – fexofenadin

PDE_1	PDE_2 (TOV)	COV
$0,24 \text{ mg/den}$	$0,16 \text{ mg/den}$	0.03 mg/den

2.5 Hydroxyzin

2.5.1 Farmakodynamika a terapeutická dávka

Hydroxyzin je antihistaminikum první generace. První generace antihistaminik je charakteristická tím, že mimo histaminových receptorů obvykle ovlivňovala i muskarinové, serotoninové a dopaminové, to vede k mnohým nežádoucím účinkům.³² Nižší specifická k H1-receptorům a vyšší lipofilita je důvodem, proč se

antihistaminika první generace nevyužívají k dlouhodobé profylaxi, ale pouze krátkodobě. Jedním z nejdůležitějších vedlejších účinků je sedace způsobená právě vyšší lipofilitou, která vede ke snadnému prostupu hematoencefalickou bariérou. Dávkování léčiva se musí během dne opakovat, kvůli krátké době účinku léčivé látky.¹⁵ Anticholinergní účinek projevující se suchostí sliznic může být vhodný u pacientů se svědivým ekzémem nebo kopřivkou.⁴⁶ Terapeutická dávka u dospělé osoby je 50 mg/den.⁴⁷

2.5.2 Preklinické hodnocení

Amesův test hydroxyzinu byl negativní, jeho případný mutagenní účinek tak nebyl prokázán. Studie na karcinogenitu nebyla provedena, ale během několika desetiletí klinického využití nebyl hydroxyzin spojen s žádným zjevně zvýšeným rizikem výskytu nádorů.⁴⁸ Při studii toxicity po opakovaném podání látky nebyly zaznamenány žádné škodlivé vedlejší účinky (viz **Tab. 2.25**). Co se týče reprodukční a vývojové toxicity během podávání hydroxyzinu po dobu celé organogeneze prasat duroc (F) a opic makak (F) byla zaznamenána zvýšená četnost potratů pro denní dávky 5.5 mg/kg. V 70denní studii potkanů (M) byla pozorována snížená koncentrace a životaschopnost spermatocytů při denních dávkách 10 mg/kg (viz **Tab. 2.26**).

Tabulka 2.25 *Subchronické a chronické účinky hydroxyzinu při opakovaném podání*

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	psi (F+M), PO, 6 m.	20 mg/kg/den	[49]
NOAEL	potkani (F+M), PO, 24 t.	50 mg/kg/den	[49]

Tabulka 2.26 *Reprodukční a vývojová toxicita hydroxyzinu*

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
LOAEL	prasata (duroc) (F), opice (makak červenolící) (F), PO, celé období organogeneze, zvýšená četnost potratů	5,5 mg/kg/den	[50]
LOAEL	potkani (M), 70 dnů, snížení koncentrace a životaschopnosti spermatocytů	10 mg/kg/den	[49]

2.5.3 Klinické a epidemiologické studie

Při studii chronické toxicity byla pozorována zvýšená ospalost při užití 75 mg/kg/den.⁵¹

Tabulka 2.27 *Subchronické a chronické účinky hydroxyzinu při opakovaném podání*

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
minTD	369 p. (F+M), z toho 334 p. s generalizovanou úzkostnou poruchou (GDA), 12 týdnů	50 mg/den	[52]
minTD	16 p. (F+M), 1 týden	50 mg/den	[53]
maxTD	219 p. (F+M) (stáří 12let a víc), s kopřivkou, zvýšená ospalost než u skupiny s placebem	25mg/den	[51]

2.5.4 Výpočet PDE1

Pro výpočet PDE hydroxyzinu byla použita hodnota LOAEL z testu vývojové a reprodukční toxicity na praseti 5,5 mg/kg/den.⁵⁰ Hodnoty korekčních faktorů F použitých při výpočtu PDE jsou shrnuty v **Tab 2.28**.

$$PDE_1 = \frac{5,5 \times 50}{10 \times 10 \times 1 \times 5 \times 10} = 0,055 [mg/den]$$

Rovnice 2.8

Tabulka 2.28 *Faktory F použité při výpočtu PDE₁*

Faktor	Zdůvodnění	Hodnota
F1	přepočtení z prasete na člověka	10
F2	vnitrodruhová variabilita	10
F3	studie vývojové toxicity – celé období organogeneze	1
F4	fetální toxicita bez mateřské	5
F5	výpočet založen na hodnotě LOAEL	10

2.5.5 Souhrnné hodnocení limitů pro hydroxyzin

V **Tab. 2.29** jsou shrnuty limity použitelné pro validaci čistícího procesu vypočtené různými postupy. Postup výpočtu PDE₁ je podrobně objasněn v kapitole 2.5.4. PDE₂ je vypočítáno na základě hodnoty OEL 0,3 mg/m³.

$$PDE_2 = \frac{0,3 \times 10}{50} = 0,06 [mg/den]$$

Rovnice 2.9

Hodnota COV je získána na základě minTD 50 mg/den.⁴⁷ COV pro hydroxyzin je 0,05 mg/den. Z **Tab. 2.29** je zřejmé, že hodnoty limitů k zajištění bezpečnosti validace farmaceutických zařízení si jsou velice podobné a rozdíly mezi nimi jsou minimální.

Tabulka 2.29 Srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – hydroxyzin

PDE ₁	PDE ₂ (TOV)	COV
0,055 mg/den	0.06 mg/den	0.05 mg/den

2.6 Chlorphenamin

2.6.1 Farmakodynamika a terapeutická dávka

Chlorphenamin je antihistaminikum první generace. Agonista histaminových H1-receptorů. Jeho farmakodynamika je stejná jako u antihistaminik první generace. Používá se především při alergických reakcích, senné rýmě, rinitidě, kopřivce a astmatu. Oproti léčivům stejné generace způsobuje méně ospalosti a sedace.⁵⁴ Terapeutická dávka je 2 mg/den.⁵⁵

2.6.2 Preklinické hodnocení

U Chlorphenaminu byl proveden Amesův test na mutagenní účinek u křečků v preinkubaci. Test byl negativní.⁵⁶ Mutagenita nebyla potvrzena ani v testu na mutagenní účinek myšího lymfomu, avšak test chromozomových aberací na CHO buňkách byl vyhodnocen jako pozitivní na klastogenitu (viz **Tab. 2.30**).⁵⁷ Studie genotoxicity a karcinogenity na myších a potkanech neprokázaly žádné nežádoucí účinky (viz **Tab. 2.31**). U testů reprodukční a vývojové toxicity nebyly nalezeny žádné vedlejší nežádoucí účinky (viz. **Tab. 2.32**).

Tabulka 2.30 Genotoxické a karcinogenní účinky chlorphenaminu (*in-vitro*)

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	potkan (F+M), preinkubace, test Ames (<i>Salmonella Typhimurium</i>)	3333µg/plocha/d	[56]
NOAEL	křeček (F+M), preinkubace, test Ames (<i>Salmonella Typhimurium</i>)	3333µg/plocha/d	[56]
NOAEL	křeček (F+M), preinkubace, test Ames (<i>Salmonella Typhimurium</i>)	10000µg/plocha/d	[56]

Tabulka 2.31 Genotoxické a karcinogenní účinky chlorphenaminu (*in-vivo*)

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	50 potkan – F344 (M), žaludeční sonda (GS), 5d./týden po 2r.	30 mg/kg/d	[58]
NOAEL	50 potkan – F344 (F), GS, 5d./týden po 2r.	60 mg/kg/d	[58]
NOAEL	50 myš – B6C3F1 (M), GS, 5d./týden po 2r.	50 mg/kg/d	[58]
NOAEL	50 myš – B6C3F1 (F), GS, 5d./týden po 2r.	200mg/kg/d	[58]

Tabulka 2.32 Reprodukční a vývojová toxicita chlorphenaminu

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	myš (F), PO, bez embryotoxických a teratogenních účinků	30 mg/kg/den	[59]
NOAEL	králík (F), PO, bez embryotoxických a teratogenních účinků	100 mg/kg/den	[59]

2.6.3 Klinické a epidemiologické studie

V rámci testů chronické a subchronické toxicity nebyly zaznamenány nežádoucí účinky při denní dávce 12 mg/kg/den (viz **Tab. 2.33**).⁶⁰

Tabulka 2.33 Subchronické a chronické účinky chlorphenaminu při opakovaném podání (*pacienti*)

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
minTD	122 p.(F+M), 6 týdnů, idiopatická kopřivka, 4mg 3x denně	12mg/den	[60]

2.6.4 Výpočet PDE₁

Pro výpočet PDE chlorphenaminu byla použita hodnota minTD z testu subchronické a chronické toxicity na pacientovi 12 mg/den.⁶⁰ Hodnoty korekčních faktorů F použitých při výpočtu PDE jsou shrnuty v **Tab. 2.34**.

$$PDE_1 = \frac{12}{1 \times 10 \times 10 \times 1 \times 10} = 0,012 \text{ [mg/den]}$$

Rovnice 2.10

Tabulka 2.34 Faktory F použité při výpočtu PDE₁

Faktor	Zdůvodnění	Hodnota
F1	Člověk	1
F2	vnitrodruhová variabilita	10
F3	studie kratšího trvání	10
F4	fetální toxicita – s toxicitou pro matku	1
F5	výpočet založen na hodnotě MinTD	10

2.6.5 Souhrnné hodnocení limitů pro chlorphenamin

Postup výpočtu PDE₁ je podrobně objasněn v kapitole 2.6.4. PDE₂ vypočítané z hodnoty OEL, která je 0.008 mg/m³, má hodnotu 1,6·10⁻³ [mg/den].⁶¹

$$PDE_2 = \frac{0,008 \times 10}{50} = 0,0016 \text{ [mg/den]}$$

Rovnice 2.11

Hodnota COV je vypočtena z minTD chlorphenaminu 2 mg/den. MinTD⁵⁵ COV je 0,002 mg/den. Z **Tab. 2.35** je zřejmé, že v případě chlorphenaminu zajišťuje použití indexu PDE₂ několikanásobně vyšší ochranu zdraví uživatelů léčiv než použití indexu PDE₁ a COV.

Tabulka 2.35 Srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – chlorphenamin

PDE ₁	PDE ₂ (TOV)	COV
0,012 mg/den	0.0016 mg/den	0.002 mg/den

2.7 Loratadin

2.7.1 Farmakodynamika a terapeutická dávka

Loratadin je antihistaminikum druhé generace. Nesedativní antihistaminikum působící selektivněji na H₁-receptor než antihistaminika první generace. Rychlejší doba nástupu a delší účinnost umožňuje dávkování jednou denně. Výhoda oproti antihistaminikům první generace je schopnost reagovat na pozdní zánětlivou fázi, snižují migraci zánětlivých buněk a brání tak rozvoji eosinofilního zánětu. Mimo jiné snižují také produkci leukotrienů a cytokinů a ovlivňují aktivitu adhezivních molekul.⁴⁶ Terapeutická dávka loratadinu u dospělého pacienta s alergickou rýmou je jedenkrát denně 10 mg.⁶²

2.7.2 Preklinické hodnocení

Loratadin byl podroben in vitro testu na kultivovaných lidských lymfocytech periferní krve. Analýza zahrnovala test sesterských chromatid (sister chromatide Exchange – SCE), chromozomální aberace, mikronukleární test, index proliferace (proliferation index – PI), mitotický index, index jaderného dělení. Loratadin byl podán ve třech koncentracích (5, 15, 25 µg/ml) na dobu 48 hodin. Výsledky testů prokázaly genotoxicitu a cytotoxicitu pro koncentrace 15 a 25 µg/ml pro lymfocytární buňky periferní krve (viz **Tab. 2.36**). V testu chromozomálních aberací nebyla prokázána klastogenicita.⁶³ V in vivo testech na samcích potkanů při dávce 10 mg/kg/den a na samcích a samicích při dávce 25 mg/kg/den byl zaznamenán zvýšený výskyt hepatocelulárních nádorů. Stejně tak při testování na samcích myši byl detekován zvýšený výskyt hepatocelulárních nádorů při dávkách 40 mg/kg/den (viz **Tab. 2.37**). V rámci testů reprodukční a vývojové toxicity nebyly zaznamenány vedlejší nežádoucí účinky (viz **Tab. 2.38**).⁶⁴

Tabulka 2.36 *Genotoxické a karcinogenní účinky loratadinu (in-vitro)*

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
LOAEL	In-vitro, lidské periferní krevní lymfocyty, 48h., SCE, CA, MN, PI, MI, NDI, genotoxický efekt na lid.per.kr.lym.	5 mg/kg/den	[65]

Tabulka 2.37 *Genotoxické a karcinogenní účinky loratadinu (in-vivo)*

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
LOAEL	potkan (M), 2r., zvýšený výskyt hepatocelulárních nádorů	10 mg/kg/den	[64]
LOAEL	potkan (F+M), 2r., zvýšený výskyt hepatocelulárních nádorů	25mg/kg/den	[64]
LOAEL	myš (M), 18m., zvýšený výskyt hepatocelulárních nádorů	40 mg/kg/den	[64]

Tabulka 2.38 *Reprodukční a vývojová toxicita loratadinu*

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	potkan (F), doba výzkumu od 7. dne březosti – 4. postnatální den, přirozený porod	24 mg/kg/den	[66]
NOAEL	potkan (M), žádné nepříznivé efekty na reprodukčních org.	24 mg/kg/den	[66]

2.7.3 Klinické a epidemiologické studie

V rámci studie chronických a subchronických účinků loratadinu byl při testu 228 pacientů s celoroční alergickou rýmou zaznamenán výskyt sedace a sucha v ústech při denních dávkách 10 mg/den (viz **Tab. 2.39**).⁶⁷

Tabulka 2.39 *Subchronické a chronické účinky loratadinu při opakovaném podání*

maxTD	228 p. (F+M), 28 dní, celoroční alergická rýma, 14% výskyt sedace, 3% sucha v ústech	10mg/den	[68]
minTD	469 p. (F+M) (věk víc než 12 l.), 3týdny, sezónní alergická rýma	10mg/den	[64]
minTD	49 dětí (F+M) (3-6 let), sezónní alergická rýma	5mg/den	[69]
minTD	39 p.(F+M), rýma	10 mg/den	[64]

2.7.4 Výpočet PDE₁

Pro výpočet PDE loratadinu byla použita hodnota minTD z testu subchronické a chronické studie na dětech (3-6 let) 5 mg/den⁶⁹. Hodnoty korekčních faktorů F použitých při výpočtu PDE jsou shrnuty v **Tab. 2.40**.

$$PDE_1 = \frac{5}{1 \times 10 \times 10 \times 1 \times 10} = 0,005[mg/den]$$

Rovnice 2.12

Tabulka 2.40 Faktory F použité při výpočtu PDE₁

Faktor	Zdůvodnění	Hodnota
F1	Člověk	1
F2	vnitrodruhová variabilita	10
F3	3-6 let	10
F4	X	1
F5	výpočet založen na hodnotě minTD	10

2.7.5 Souhrnné hodnocení limit pro loratadin

Postup výpočtu PDE₁ je podrobně objasněn v kapitole 2.7.4. OEL pro výpočet PDE₂ má hodnotu 0,25 mg/m³.⁷⁰ Vypočítaná hodnota PDE₂ pak je 0,05 mg/den.

$$PDE_2 = \frac{0,25 \times 10}{50} = 0,05[mg/den]$$

Rovnice 2.13

Hodnota COV vychází z minimální terapeutické dávky 10 mg/den stanovenou pro dospělé s alergickou rýmou.⁶² Získané COV je tedy 0,01 mg/den. Z **Tab. 2.41** lze vyčíst, že nejvyšší ochranu zdraví uživatelů loratadinu zajišťuje index PDE₁ a naopak PDE₂ nejmenší.

Tabulka 2.41 Srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – loratadin

PDE ₁	PDE ₂ (TOV)	COV
0,005 mg/den	0,05 mg/den	0.01 mg/den

2.8 Mepyramin

2.8.1 Farmakodynamika a terapeutická dávka

Mepyramin, známý také jako pyrilamin, je antihistaminikum první generace. Agonista histaminových H1-receptorů se stejnými vlastnostmi jako antihistaminika první generace již zmiňovaná (Hydroxyzin, Chlorphenamin). Rychle proniká do CNS, působí velmi sedativně. Užívá se v kombinovaných přípravcích pro léčbu nachlazení a menstruačních příznaků.⁶⁴ Terapeutická dávka mepyraminu pro dospělého pacienta je 40 mg/den a podává se po 20 mg po 12 hodinách tedy dvakrát denně.⁷¹

2.8.2 Preklinické hodnocení

Pro antihistaminikum mepyramin byl proveden Amesův test na mutagenitu, který vyšel pozitivně (viz **Tab. 2.42**).⁷² Při in vivo testech nebyl pozorován žádný toxický účinek (viz **Tab. 2.43**). Při studii opakované toxické dávky na potkanech při dávkách 11 mg/kg/den bylo zaznamenáno snížení nadledvinových feochromocytů, fibroadenomů mléčných žláz a zmenšení štítné žlázy u samic a u samců cytoplazmatická vakuolizace jater.⁷³ U myši po 2 letech studie bylo pozorováno při dávkách 176 mg/kg/den snížení hmotnosti a to jen u samic (viz **Tab. 2.44**).⁷⁴

Tabulka 2.42 Genotoxické a karcinogenní účinky mepyraminu (in-vitro)

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	Ames Salmonella Typhimurium, preinkubace	1000µg/plato	[72]
NOAEL	Ames Salmonella Typhimurium, preinkubace, potkan	3333 µg/plato	[72]

Tabulka 2.43 Genotoxické a karcinogenní účinky mepyraminu (in-vivo)

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	57 potkan – Fischer 344 (F+M), 2 roky	150mg/kg/den	[73]
NOAEL	60 myš – B6C3F1 (F+M), 2 roky	176 mg/kg/den	[74]
NOAEL	potkan (F+M), 110týdnů	2000 ppm/den	[75]
NOAEL	potkan (F+M), 2 roky	3000ppm/den	[75]

Tabulka 2.44 Subchronické a chronické účinky mepyraminu při opakovaném podání

Index	Detaily	Hodnota	Cit.
NOAEL	Potkan – Wistar (M), léčba 3-5 týdnů, vystavení stresu	5 mg/kg/den	[76]
LOAEL	57 potkan – Fischer 344 (F+M), 2 roky, cytoplazmatická vakuolizace jater (M), snížení nadledvinových feochromocytů, fibroadenomů mléčných žláz, zmenšení štítné žlázy (F)	11mg/kg/den	[73]
LOAEL	60 myš – B6C3F1 (F+M), 2 roky, snížení hmotnosti (F)	176mg/kg/den	[74]

2.8.3 Výpočet PDE₁

Pro výpočet PDE mepyraminu byla použita hodnota NOAEL z testu subchronických a chronických účinků na potkanovi 5 mg/kg/den.⁷⁶ Hodnoty korekčních faktorů F použitých při výpočtu PDE jsou shrnuty v **Tab 2.45**.

$$PDE_1 = \frac{5 \times 50}{5 \times 10 \times 10 \times 1 \times 1} = 0,5 [mg/den]$$

Rovnice 2.14

Tabulka 2.45 Faktory F použité při výpočtu PDE₁

Faktor	Zdůvodnění	Hodnota
F1	přepočítání z potkana na člověka	5
F2	vnitrodruhová variabilita	10
F3	3-5 týdnů	10
F4	x	1
F5	výpočet založen na hodnotě NOAEL	1

2.8.4 Souhrnné hodnocení limit pro mepyramin

Postup výpočtu PDE₁ je podrobně objasněn v kapitole 2.8.4. Limit PDE₂ se počítá z hodnoty limitu pro výskyt škodlivých látek v pracovním ovzduší OEL, která pro mepyramin bohužel nebyla nalezena.

Hodnota COV je vypočítána na základě hodnoty minimální terapeutické dávky. MinTD pro mepyramin je 40 mg/den.⁷¹COV má pak hodnotu 0,04 mg/den. Z **Tab. 2.46** je zřejmé, že použití indexu COV má několikanásobně vyšší ochranu zdraví uživatelů léčiv než použití indexu PDE₁.

Tabulka 2.46 Srovnání limitů pro validaci čistícího procesu – mepyramin

PDE ₁	PDE ₂ (TOV)	COV
0,5 mg/den	X	0.04 mg/den

3. Závěr

V předchozí kapitole byly vypočítány hodnoty indexů PDE₁, PDE₂ a COV pro 8 vybraných antihistaminik. V pěti z osmi použitých antihistaminik zajišťoval limit COV vyšší ochranu zdraví uživatelů léčiv než indexy PDE₁ a PDE₂. U bilastinu jsou PDE₁ a PDE₂ stejné hodnoty. Loratadin má nejnižší limitní hodnotu u indexu PDE₁ a limit PDE₂ zajišťuje nejvyšší ochranu zdraví uživatelů chlorphenaminu. Velmi podobné hodnoty PDE₁ mají léčiva jako je bilastin, cetirizin, hydroxyzin a chlorphenamin. Hodnoty jejich PDE₁ se pohybují v rámci 0,01 až 0,05 mg/den. Fexofenadin a mepyramin mají PDE₁ s hodnotou mezi 0,2 až 0,5 mg/den. Desloratadin má hodnotu PDE₁ 3 mg/den. Opakovaným příznakem v rámci studie genotoxicity a karcinogenity je zvýšená incidence benigních nádorů jater u cetirizinu, desloratadinu a loratadinu u myši a potkanů. V případě vývojové a reprodukční toxicity lze nalézt podobnost u antihistaminik desloratadin a hydroxyzin, kdy je detekována snížená plodnost samců. Desloratadin může při určitých dávkách snižovat počet a motilitu spermií u potkanů a hydroxyzin může způsobovat sníženou koncentraci a životaschopnost spermatocytů také u potkanů. Podobnost chronické toxicity lze najít u loratadinu, hydroxyzinu a cetirizinu, kdy je po chronickém užívání těchto léčiv zaznamenána sedace a sucho v ústech. V porovnání jednotlivých generací je zřejmé, že pro antihistaminika první a druhé generace byly nalezeny v mnohých případech pozitivní genotoxické a karcinogenní studie, vývojové a reprodukční studie a studie chronické a subchronické toxicity. Pro fexofenadin, antihistaminikum na rozhraní druhé a třetí generace, nebyly nalezeny žádné toxické účinky.

4. POUŽITÁ LITERATURA

1. U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Validation of Cleaning Processes [online]. New Hampshire Avenue: Silver spring. Last Revised 2014 [cit.12.03.2017]. Dostupné: <https://www.fda.gov/ICECI/Inspections/InspectionGuides/ucm074922.htm>.
2. MCEWEN, John; THOMPSON, Barry R.; PURCELL, Patric M.; KELLY, Larry F.; KRAUSS, Adrian S.. Widespread hyoscine hydrobromide toxicity due to contract manufacturer malpractice: the travalcam episode. *Drug Safety*. 2007.vol.30/5.s.375–378. ISSN: 0114-5916
3. SINGER, Thomas D.; MÜLLER, Lutz. EMS in Viracept – The course of events in 2007 and 2008 from the non – clinical safety point of view. *Toxicology Letters*. 2009.vol.190/3.s.243–247. ISSN: 0378-4274
4. ZENG, Guang; MA, Huilai; WANG, Xiangbo; YAN, Huifang; WAN, Xinhua; JIANQ, Bin; FONTAINE, Robert E.; WU, Zhenglai; LIN, Shaobin; RUAN, Feng; LIU, Huihui; Paraplegia and paraparesis from intrathecal methotrexate and cytarabine contaminated with trace amounts of vincristine in China during 2007. *Journal of clinical oncology*. 2011.vol.29/13.s.1765–1770. ISSN: 0732-183X
5. HOPPENSTEADT, Debra A.; FAREED, Jawed; JESKE, Walter P.; LITINAS, Evangelos; GRAY, Angel L.. Interactions of oversulfated chondroitin sulfate (OSCS) from different sources with unfractionated heparin. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2012.vol.18/2.s.166–173. ISSN: 1076-0296
6. PRABU, Lakshmana Sakthivel; PRAKASH, Suriya TNK. Cleaning validation and its importance in pharmaceutical industry. *Pharma Times*. 2010.vol.42.s.21–25.ISSN: 0031-6849
7. FARRIS, John P.; MASON – HOME, Justin J.. Potent compound safety in the laboratory. *International Journal of Chemistry and Biotechnology*.2014. vol.32/1.s.27–28. ISSN:1097-4660
8. LODHI, Babita; PADAMWAR, Poonam; PATEL, Arif. Cleaning validation for the pharmaceuticals, biopharmaceuticals, cosmetic and neutraceuticals industries. *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*. 2014. Vol.1/1.s.27–38. ISSN: 2349-2759

9. SIMOES, Manuel; SIMOES, Lúcia C.; VIEIRA, Maria J.. A review of current and emergent biofilm control strategies. *Food Science and Technology*.2010.43.s.573–583.ISSN:0023-6438
10. DHOLE, Amol; NEERAJKUMAR, Fuloria. An Overview on Cleaning Validation of API Manufacturing Plants. *Journal of Current Pharma Resarch*. 2013.4/1.s.1097–1104. ISSN: 2230-7842
11. REDDY, Venkateswara B.; SANDEEP, P.; UJWALA, P.; NAVANEETHA, K.; REDDY, Ramana Venkata K.. Water treatment process in pharma industry – a review. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 2014.vol.4/2.s.7–18. ISSN: 2230-7605
12. MURTHY, Narayana D.; CHITRA, K.. A review article on cleaning validation. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*.2013.vol.4/9. s.3317–3327. ISSN: 0975-8232
13. GURVINDER, Dr. Rull. Antihistamines. *Patient*. Revision date: 17.04.2014.s.1–5. ISSN: 1178-1661
14. TOGAWA, Michinori; YAMAYA, Hidetoshi; RODRIGUEZ, Monica; NAGASHIMA, Hirotaka. Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Population Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Modelling of Bilastine, a Second – Generation Antihistamine, in Healthy Japanese Subjects. *Clinical Drug Investigation*. **2016**.s.1011–1021.v.36/12.ISSN: 1173-2563
15. HLOCH, Karel; DOSEDĚL, Martin. Alergická rýma – jak může pomoci lékárník? *Solen medical education*. **2017**. S.30–35.v.13/1. ISSN: 1803-5329
16. JAUREGUI, Ignacio; RAMAEKERS, Johannes G.; YANAI, Kazuhiko; FARRE, Magi; REDONDO, Esther; VALIENTE,Roman; LABEAGA, Luis. Bilastine: a new antihistamine with an optimal benefit – to – risk ratio for safety during driving. *Expert Opinion on Drug Safety*.**2016**.s.89-98.v.15/1.ISSN:1474-0338
17. Aralez Pharmaceuticals Trading DAC.Blexten. *Product monograph including patient medication information*.**2016**.s.1–30.Dostupné z: <https://aralez.com/wp-content/uploads/2016/12/BLEXTEN-Product-Monography-English.pdf>
18. LUCERO, Maria Luisa; ARTECHE, Joseba K; SOMMER, E.W.; CASADESUS, Agustin. Preclinical toxicity profile of oral bilastine. *Drug and Chemical Toxicology*.**2012**.s.25–33, v.35/1. ISSN: 0148-0545

19. HIDE, Michihiro; YAGAMI, Akiko; TOGAWA, Michinori; SAITO, Akihiro; FURUE, Masutaka. Efficacy and safety of bilastine in Japanese patients with chronic spontaneous urticaria: A multicenter, randomized, double – blind, placebo – controlled, parallel – group phase II/III study. *Allergology International: official journal of the Japanese Society of Allergology*.**2017**.s.317–325.v.66/2. ISSN: 1440-1592
20. SADABA, Belen; AZANZA, Jose Ramon; GOMEZ-GUIU, Almudena; RODIL, Raquel. Critical appraisal of bilastine for the treatment of allergic rhinoconjunctivitis and urticaria. *Therapeutics and Clinical Risk Management*.**2013**.s.197–205.v.9/1.ISSN: 1176-6336
21. Zyrtec. Drugs.com[online]. USA.Major pharmaceutical. Last Revised: 30.01.2017.Dostupné z: <https://www.drugs.com/zyrtec.html>
22. VLASTOS, D; STEPHANOU, G. Effects of cetirizine dihydrochloride on human lymphocytes in vitro: micronucleus induction. Evaluation of clastogenic and aneugenic potential using CREST and FISH assays. *Archives of dermatological research*.**1998**.s.312–318.v.290/6.ISSN: 0340-3696
23. American Society of Health System Pharmacists; AHFS Drug Information 2009. Bethesda, MD. (2009), p. 29
24. SNAH, Jui; MCGOVERN, Timothy. Zyrtec Chewable tablets. *Pharmacology/Toxicology review*. **2004**.s.7–11
25. PFIZER PHARMACEUTICALS GROUP. Material safety data sheet. Cetirizine HCl Film Coated Tablets – Zyrtec ®. New York. Revision date: 2.1.2007.v.1.4.s.1–7
26. PFIZER PHARMACEUTICALS GROUP. *Material safety data sheet*. Cetirizine HCl Film Coated Tablets – Zyrtec ®. New York. Revision date: 13.12.2007.v.1,4.s.1–9.
27. LAWRENCE, Sancilio; JOSEPH, Sun. *Pharmacology/Toxicology reviews*. Center for drug evaluation and research.**2007**
28. American Society of Health System Pharmacists; AHFS Drug Information **2009**. Bethesda, MD. (2009), p. 27

29. Zyrtec and associated names. Ema. europa [online]. United Kingdom (London). European medicines agency. [cit.21.07.2013]. Dostupné z: <http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=search.jsp&q=cetirizine&btnG=Search&mid=>
30. GOINDI, Shishu; KUMAR, Gautam, KAUR, Amanpreet. Novel flexible vesicles based topical formulation of levocetirizine: in vivo evaluation using oxazoloneinduced atopic dermatitis in murine model. *Journal of liposomeresearch*. **2014**.vol.24/3.s.249–257.
31. MAJOR PHARMACEUTICALS. Cetirizine Hydrochloride. Drugs.com.Revision date: 1.02.2012.
32. BYSTRONĚ, Jaromír. Moderní antihistaminika v klinické praxi. *Postgraduální medicína*.**2015**. ISSN:1212-4184
33. WILLIAM, Bruce Leslie. Clarinex.*Gentleman and Scholars: College and Community in the “Age of the University“*.**2002**.s.26. ISSN:0040-3423
34. BRAMBILLA, Giovanni; MATTIOLI, Francesca; ROBBIANO, Luigi; MARTELLI, Antonietta. Update of carcinogenicity studies in animals and humans of 535 marketed pharmaceuticals. *Reviews in Mutation Research*.**2012**.s.1–51.v.750/1.ISSN: 1383-5742
35. Aerius (Desloratadine Tablets) and Aerus Kids (Desloratadine Syrup). Bayer Inc.,Consumer care.Mississauga.Date revision:[7.1.2016].s.1–40. Dostupné z: <http://omr.bayer.ca/omr/online/aerius-aeriuskids-pm-en.pdf>
36. RING, Johanes; HEIN,Rüdiger; GAUGER, Anke; BRONSKY, Edwin; MILLER, Bruce. Once – daily desloratadine improves the signs and symptoms of chronic idiopathic urticaria: a randomized, double – blind, placebo – controlled study. *Wiley on Library*.**2001**.s.72–76.v.40/1.ISSN: 0011-9059
37. LORENZO, Gabriele Di; PACOR, Luisa Maria; MANSUETO, Pasquale; PELLITTERI, Maria Esposito; BIANCO, Claudia Lo; DITTA, Vito; MARTINELLI, Nicola; RINI, Giovam Battista. Randomized placebo – controlled trial comparing desloratadine and montelukast in monotherapy and desloratadine plus montelukast in combined therapy for chronic idiopathic urticaria.*Journal of Allergy and Clinical Immunology*.**2004**.s.619–625.v.114/3.ISSN:1411-1722

38. STAEVSKA, Maria; POPOV, Todor A.; KRALIMARKOVA, Tanya; LAZAROVA, Cvetelina; KRAEVA, Steliana; POPOVA, Dora; CHURCH, Diana S.. The effectiveness of levocetirizine and desloratadine in up to 4 times conventional doses in difficult – to – treat urticaria. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.**2010**.s.676–682.v.125/3.ISSN: 1411-1722
39. MAJOR PHARMACEUTICALS. Desloratadine Dosage. *Drugs.com*.Review date: 2.05.2017.
40. KASURKA, Ceren Borcek; SEKEROGLU, Zualal Atli; SEKEROGLU, Vedat. Evaluation of the genotoxicity and cytotoxicity of fexofenadine in cultured human peripheral blood lymphocytes. *Toxicology In Vitro*. **2011**.s.1480–1484.v.25/7.ISSN: 0887-2333
41. McEvoy, G.K. (ed.). American Hospital Formulary Service. AHFS Drug Information. American Society of Health – System Pharmacists, Bethesda, MD. **2006.**, p. 34
42. Fexofenadine. *Drugs.com*[online]. USA.Teva Pharmaceutical. Last Revised: 08.2012.Dostupné z: <https://www.drugs.com/pro/fexofenadine.html>
43. McEvoy, G.K. (ed.). American Hospital Formulary Service. AHFS Drug Information. American Society of Health – System Pharmacists, Bethesda, MD. **2006.**, p. 33
44. HINDMARCH, I.; SHAMSI, Z.; KIMBER, S.. An evaluation of the effects of high – dose fexofenadine on the central nervous systém: a double – blind, placebo – controlled study in healthy volunteers. *Clinical and Experimental Allergy*. **2002**.s.133–139.v.32/1. ISSN: 0954-7894
45. A SANOFI COMPANY. Product and Company Identification. *Sanofi*.**2015**.s.1–10.
46. JANÍČKOVÁ, Hana. Antihistaminika s imunomodulačným účinkem v léčbě alergií. *Pediatric pro Praxi*.**2007**.s.33–35.v.1.ISSN:1803-5264
47. MAJOR PHARMACEUTICALS. Hydroxyzine Dosage. *Drugs.com*.Last reviewed: 15.03.2017.v.8,01.
48. GLAXO SMITH KLINE PHILIPPINES INC. Hydroxyzine Dihydrochloride.s.1–6.Revision date: 17.6.2013

49. GLAXO SMITH KLINE PHILIPPINES INC. Hydroxyzine Dihydrochloride. *GlaxoSmithKline*©2013. Makati city. Last revised: [17.6.2013]. Dostupné z: http://www.thefilipinodoctor.com/brand_pdf/Iterax.pdf
50. STEFFEK, Anthony J.; KING, Cecil T. G.; WILK, Ann L.. Abortive effects and comparative metabolism of chlorcyclizine in various mammalian species. *Teratology*.**1968**.s.399–406.v.1/4.ISSN: 0040-3709
51. KALIVAS, James; BRENNEMAN, Debra; THARP, Michael; BRUCE, Suzanne; BIGBY, Michael. Urticaria: Clinical efficacy of cetirizine in comparison with hydroxyzine and placebo. *The Journal of allergy and clinical immunology*.**1990**.s.1014–1018.v.86/6.ISSN: 0091-6749
52. LLORCA, Pierre – Michel; SPADONE, Christian; SOL, Olivier; DANNIAU, Anne; BOUGEROL, Thierry; CORRUBLE, Emmanuelle; FARUCH, Michel; MACHER, Jean –Paul; SERMET, Eric; SERVANT, Dominique. Efficacy and safety of hydroxyzine in the treatment of generalized anxiety disorder: a 3 –month double –blind study. *The Journal of Clinical Psychiatry*. **2002**.s.91.v.63/11.ISSN:1020-1027
53. GOETZ, David W.; JACOBSON, James M.; APALISKI, Stephen J.; REPPERGER, Daniel W.; MARTIN, Michael E.. Objective antihistamine side effects are mitigated by evening dosing of hydroxyzine. *Annals of allergy*. **1991**.s.448-454.v.67/4.ISSN: 0003-4738
54. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Chlorpheniramine. *PubChem Compound Database*.**2017**. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2725>
55. EMEA. Committee for veterinary medicinal products. *The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products*.**1999**.s.1-3
56. Chlorpheniramine Maleate. *Toxnet*®[online]. Bethesda: U.S.National Library of Medicine, ©2005.Last Update: 4.5.2006. Dostupné z: <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~XwtidT:4>
57. MAJOR PHARMACEUTICALS. Hydrocodone, Chlorpheniramine and Pseudoephedrine. Drugs.com.Revision date: 1.2007
58. National Toxicology Program. NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Chlorpheniramine Maleate (CAS No. 113-92-8) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies).*Journam Article*.**1986**.s.1–198.v.317.ISSN: 0888-8051

59. WEIDMANN, Hans; GRAUWILER, Jules; FROFFITH, Robert; ROEMER, Dietmar; TAESCHLER, Max; ZEHNDER, Karl. Pharmacology, pharmacokinetics, and toxicology of the new antihistamine HS592 (Tavegil). *Bollettino Chimico Farmaceutico*.**1967**.s.467–496.v.106/7.ISSN: 0006-6648
60. GRANT, Andrew; BERNSTEIN, David I.; BUCKLEY, Edward C.; CHU, Theodore. Double-blind comparison of terfenadine, chlorpheniramine, and placebo in the treatment of chronic idiopathic urticaria. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.**1988**.s.57–579.v.81/3. ISSN:1411-1722
61. GLAXOSMITHKLINE US. Piriton Syrup. *GlaksoSmithKline*. **2014**.s.1–12.v.4.
62. MAJOR PHARMACEUTICALS. Loratadine Dosage. *Drugs.com*. Revision date: 20.02.2015.v.9,02.
63. WYETH. Dimetapp Solid Products. *Safety data sheet*.**2007**.s.1–6. Dostupné z: http://www.pfizer.com/files/products/material_safety_data/WC00015.pdf
64. Loratidine. *Toxnet*®[online]. Bethesda: U.S.National Library of Medicine, ©2005. Last Update: 14.2.2013.[cit.23.1.1997]. Dostupné z: <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~u2SLNM:3>
65. KONTAS, Seval; ATLI; Şekeroğlu Zülal. Investigation of cytotoxic and genotoxic effects of the antihistaminic drug, loratadine, on human lymphocytes. *Drug and Chemical Toxicology*.**2015**.s.57–62.v.38/1.ISSN: 0148-0545
66. SHEPARD, Thomas H.; LEMIRE, Ronald J.. Catalog of teratogenic agents. 11th.ed.London: Baltimore.**2004**.s.245.ISBN: 0-8018-7953-1
67. OKUBO, K.; GOTOH, M.; SHIMADA, K.; RITSU, M.; OKUDA, M.; CRAWFORD, B.. Fexofenadine improves the quality of life and work productivity in Japanese Patients with seasonal allergic rhinitis during the peak cedar pollinosis season. *Allergy and Immunology*.**2005**.v.136/2.s.148–154. ISSN: 1018-2438
68. BRUTTMAN, G.; CHARPIN, D.; GERMOUTY, J.; HORAK, F.; KUNKEL, G.; WITTMANN, G.. Evaluation of the efficacy and safety of loratadine in perennial allergic rhinitis. *The Journal of allergy and clinical immunology*.**1989**. s.411–416.v.83/2. ISSN: 0091-6749

69. LUTSKY, Barry N.; KLOSE, Patrick; MELON, J.; MENARDO, Jean Luc; MOLKHOUS, Paul; RONCHETTI, Roberto; SUONPAA, Jouko T K; WAHN, Ulrich; WESSEL, Francois. A comparative study of the efficacy and safety of loratadine syrup and terfenadine suspension in the treatment of 3- to 6-year-old children with season allergic rhinitis. *Clinical Therapeutics*. **1993**.s.855–965.v.15/5. ISSN: 0149-2918
70. SCHERING – PLOUGH HEALTHCARE PRODUCTS. Loratadine Reditabs [Bulk Product Formulation]. *Schering – Plough*. **2010**.s.1–6. MSDS: SP001447
71. CARAVATI, E. Martin; MCGUIGAN, Michael A.; WHYTE, Ian MacGregor; DAWSON, Andrew H.; SEIFERT, Steven A.; SCHONWALD, Seth; M.D., Luke Yip; KEYES, C. Daniel; HURLBUT, Katherine M.; ERDMAN, Andrew R.; DART, Richard C.. *Medical Toxicology*. Philadelphia, USA. **2004**.s.398.3th. ISBN: 0-7817-2845-2
72. ZEIGER, E, ANDERSON, B, HAWORTH, S, LAWLOR, T, MORTELMANS, K AND SPECK, W; SALMONELLA MUTAGENICITY TESTS: III. RESULTS FROM THE TESTING OF 255 CHEMICALS; ENVIRON. MOL. MUTAGEN. 9(SUPPL.9):1-110, 1987
73. GREENMAN, David L.; CRONIN, G.M.; DAHLGREN, R.; ALLEN, Richard ; ALLABEN, W.. Chronic Feeding Study of Pyrilamine in Fischer 344 Rats. *Toxicological Sciences*. **1995**.v.25/1. DOI: <https://doi.org/10.1093/toxsci/25.1.1>
74. GREENMAN, David L.; ALLEN, Richard; DAHLGREN, Robert; CRONIN, G.M.; ALLABEN; William T.. Chronic Toxicity /Carcinogenicity Study of Pyrilamine in B6C3F1 Mice. *Journal of the American College of Toxicology*. **1995**.s.148–157.v.14/2. ISSN: 0730-0913
75. U.S. Pharmacopeia. Pyrilamine Maleate. Safety data sheet. Revision date: 6.9.2014. s.1–6. v.2
76. PAPP, Mariusz; MORYL, Elisabeta; WILLNER, Paul. Pharmacological validation of the chronic mild stress model of depression. *European Journal of Pharmacology*. **1996**.s.99.v.310/1. ISSN: 0014-2999

