



PLANOWANIE EKSPERYMENTÓW W PRAKTYCE W FARMACJI

Krzysztof Woyna-Orlewicz

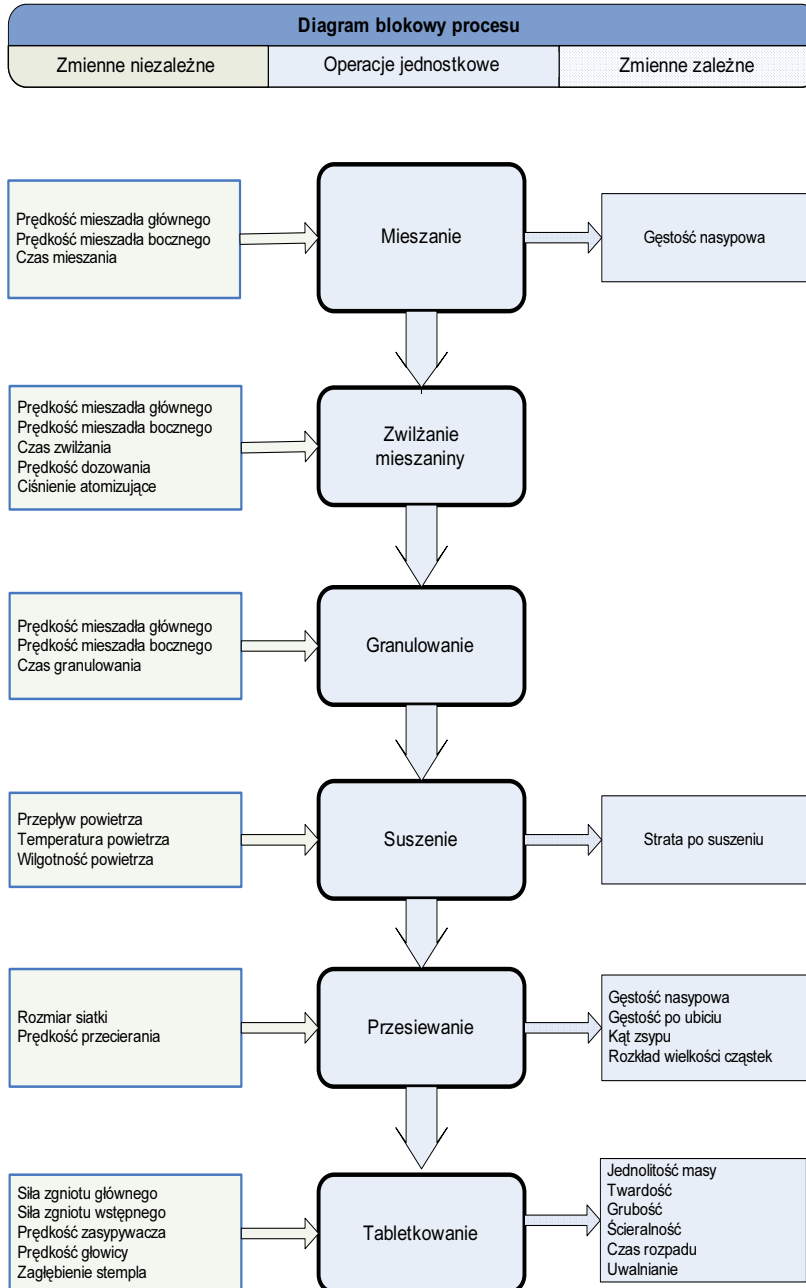
PLIVA Kraków, Zakłady Farmaceutyczne S.A.

Podstawowym zadaniem producentów leków jest dostarczanie odbiorcom produktów o odpowiedniej jakości, wyrażanej skutecznością terapeutyczną i bezpieczeństwem stosowania. W przypadku tabletek ocena jakości dokonywana jest m.in. na podstawie wyników pomiarów następujących parametrów:

- ◆ zawartości substancji leczniczej,
- ◆ jednolitości zawartości substancji leczniczej,
- ◆ szybkości uwalniania substancji leczniczej,
- ◆ czystości leku, tak w rozumieniu poziomu zanieczyszczeń wynikających z drogi syntezy substancji leczniczej, jak i produktów rozkładu tejże substancji, pojawiających się w wyniku niekorzystnego oddziaływania środowiska wytwarzania lub warunków atmosferycznych w okresie przechowywania leku.

Dodatkowo, tabletki powinny cechować odpowiednią wytrzymałość mechaniczną, żeby nie ulegały uszkodzeniu podczas pakowania, w transporcie czy w trakcie wydobywania ich z opakowania (np. wyciskania tabletek z blistra). Parametrami opisującymi odporność mechaniczną tabletek są ścieralność i twardość.

Poszczególne cechy jakościowe leku kształtowane są w trakcie procesu produkcyjnego. Proces technologiczny złożony jest z ciągu operacji jednostkowych (rys. 1), których zadaniem jest modelowanie określonych właściwości stosowanych materiałów [1]. Nadzór nad jego przebiegiem odbywa się za pośrednictwem kontroli jakości półproduktów, która wykonywana jest po zakończeniu wybranych operacji. Wynik kontroli umożliwia sterowanie kolejnymi etapami procesu przez dobór parametrów pracy urządzeń, tzw. parametrów operacyjnych. Wytwarzanie leków jest obszarem wzajemnych oddziaływań wielu zmiennych, mających źródło w specyfice budowy i działania urządzeń produkcyjnych, właściwościach materiałów wyjściowych, sposobie przeprowadzania kontroli międzyoperacyjnej półproduktów, wpływie środowiska wytwarzania. Podstawowe znaczenie ma dogłębne zrozumienie mechanizmów oddziaływania poszczególnych elementów procesu produkcyjnego na jakość postaci leku. Poznanie takie dokonuje się w trakcie tzw. prac formułacyjnych, ukierunkowanych na zdefiniowanie składu preparatu oraz drogi wytwarzania. Mając na uwadze fakt, że jakość finalnej postaci leku, a właściwie każdy parametr jakościowy jest wypadkową oddziaływania dużej liczby zmiennych, badanie zachodzących zjawisk wymaga stosowania specjalistycznej metodyki.



Rys. 1. Schemat blokowy procesu wytwarzania tabletek metodą granulacji na mokro.

Zaleca się konstruowanie eksperymentów z zastosowaniem tzw. planów czynnikowych [1-4]. Plany takie zakładają badanie efektów wzajemnych oddziaływań poszczególnych czynników procesu, występujących na różnych poziomach wartości. Eksperyment realizo-



wany jest przez wykonywanie kolejnych doświadczeń, których przebieg określa testowana kombinacja czynników, pełniących rolę zmiennych niezależnych. Im większa liczba czynników poddanych badaniu i im więcej poziomów, które przyporządkowuje się poszczególnym czynnikom, tym więcej kombinacji należy sprawdzić. Ilość kombinacji oblicza się wg wzoru: n^k , gdzie k to ilość czynników, a n to ilość poziomów przyporządkowanych pojedynczemu czynnikowi. Stąd do pełnego zbadania 6 czynników, każdego na 2 poziomach wartości, należało by sprawdzić efekty 64 kombinacji czynników, czyli wykonać 64 doświadczenia. Czasami wykonanie dużej ilości doświadczeń nie jest możliwe, co może wynikać ze względów ekonomicznych, ograniczonej ilości czasu itp. Dlatego w sytuacji występowania dużej ilości czynników stosowane są tzw. frakcyjne plany czynnikowe, powstałe przez wyeliminowanie z matrycy projektu części kombinacji. Okrojona macierz eksperymentu powinna cechować się zasadą ortogonalności, gwarantującą oszacowanie wpływu różnych kombinacji poziomów testowanych zmiennych. Im bardziej okrojony plan czynnikowy, tym mniej informacji dostarcza eksperyment. Granicznym przypadkiem są tzw. plany przesiewowe (eliminacyjne), które są okrojone w największym stopniu i służą weryfikacji dużej liczby czynników w ramach stosunkowo niewielkiej ilości doświadczeń, w celu wyselekcjonowania czynników silnie oddziałujących na proces i wyeliminowania tych o wpływie nieistotnym.

Program *STATISTICA* oferuje narzędzia do planowania doświadczeń czynnikowych i analizy ich wyników. Poniżej przedstawiono dwa przykłady zastosowania programu *STATISTICA* w badaniu procesów wytwarzania tabletek. Korzystano z modułu *Planowanie doświadczeń* wchodzącego w skład pakietu *STATISTICA + QC*.

Przykład 1.

Celem eksperymentu było wytypowanie parametrów operacyjnych procesu (czynników, zmiennych niezależnych) mających krytyczny wpływ na jakość produktu leczniczego. Badaniu poddano proces wytwarzania tabletek techniką granulacji szybkoobrotowej i suszenia fluidalnego. Na podstawie doniesień piśmiennictwa [5] oraz w oparciu o wstępne doświadczenia laboratoryjne w pracy zespołowej wybrano zmienne niezależne procesu o potencjalnie krytycznym znaczeniu dla jakości wytwarzanego leku. Poszczególnym zmiennym przyporządkowano wartości reprezentujące górną i dolną granicę szerokiego zakresu operacyjnego. Czynniki procesu poddane badaniu oraz przypisane im poziomy wartości przedstawiono w tabeli 1.

Testowano wpływ poszczególnych czynników na parametry tabletek w oparciu o zrandomizowany, frakcyjny plan przesiewowy Placketta-Burmana o rozdzielczości III, umożliwiający zbadanie oddziaływania siedmiu zmiennych w ramach ośmiu procesów. W celu oszacowania wielkości błędu wynikającego z wpływu zmiennych niekontrolowanych zrealizowano trzy dodatkowe procesy, podczas których zmiennym niezależnym przyporządkowano pośrednie (centralne) wartości. Plan matrycowy doświadczenia przedstawiono w tabeli 2.

Tab.1. Zmienne niezależne wytypowane do badania.

Zmienne niezależne	Poziom dolny	Poziom górny
Ilość wody do zwilżania mieszaniny wstępnej	200 g wody/ 874.6 g mieszaniny	350 g wody/ 874.6 g mieszaniny
Prędkość mieszadła głównego podczas granulowania	150 obr./min	450 obr./min
Prędkość mieszadła bocznego podczas granulowania	500 obr./min	3000 obr./min
Czas granulowania	1 min	5 min
Temperatura powietrza suszącego	35°C	60°C
Zawartość wilgoci w granulacie	1 %	2 %
Rozmiar siatki użytej do kalibracji	1 mm	2.5 mm

W przebiegu 11 procesów technologicznych zrealizowanych zgodnie z założeniami matrycy eksperymentu wytworzono granulaty, które następnie prasowano w tabletki. Tabletki poddawano analizom jednolitości masy, twardości, ścieralności, czasu rozpadu oraz uwalniania.

Założono, że produkt powinien spełniać następujące kryteria akceptacji:

- ♦ masa każdej tabletki w zakresie: masa średnia $\pm 5\%$,
- ♦ ubytek masy tabletek w badaniu ścieralności mniejszy niż 1,0%,
- ♦ uwolnienie z tabletki więcej niż 85% substancji leczniczej po 15 minutach analizy,
- ♦ czas rozpadu tabletek krótszy niż 10 min.

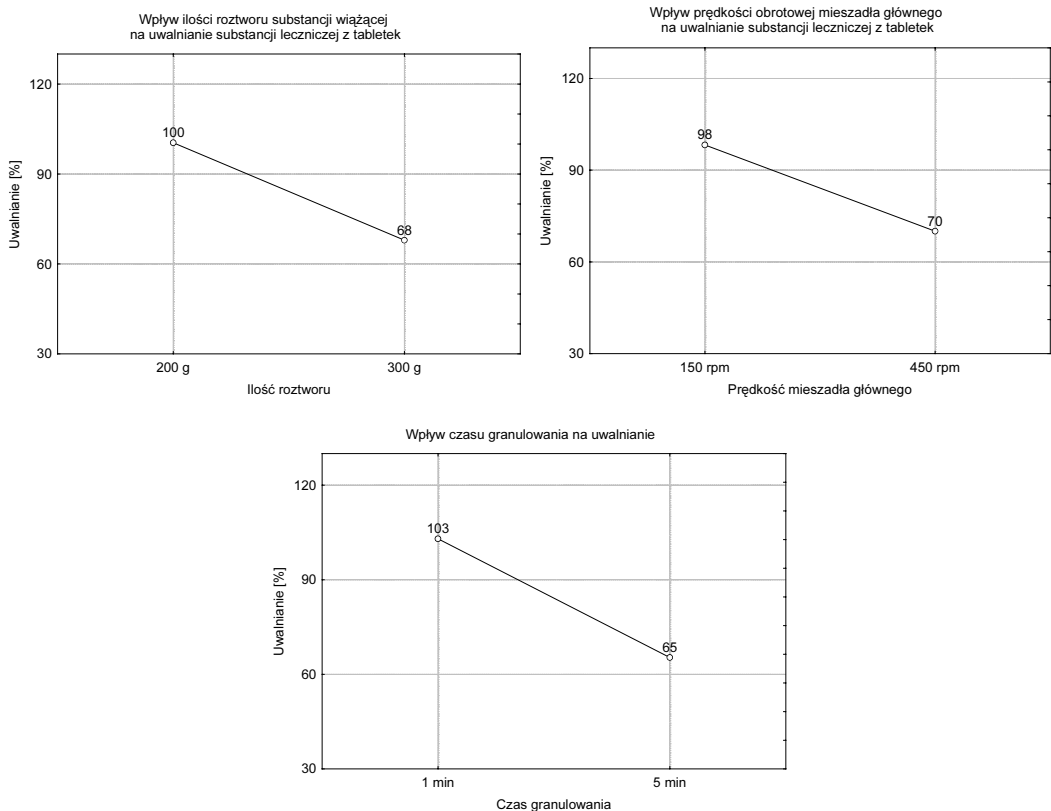
Wyniki doświadczenia czynnikowego wskazują na wystąpienie krytycznych wad produktu. Procesy nr 4 i 8 doprowadziły do powstania tabletek, które cechuje niedostateczne uwalnianie substancji leczniczej i zbyt długi czas rozpadu (tabela 2).

Na podstawie analizy statystycznej ukierunkowanej na wybranie parametrów procesu o zasadniczym wpływie na wielkość uwalniania substancji leczniczej z tabletek stwierdzono istotne statystycznie oddziaływanie czasu granulowania (efekt -3,89; $p < 0,05$) i ilości wody użytej do zwilżenia mieszaniny proszków (efekt -3,36; $p < 0,05$), a także znamieny wpływ prędkości obrotowej mieszadła głównego stosowanego do granulowania (efekt -2,92; $p = 0,06$). Ujemne znaki wartości efektów wskazują, że zwilżanie proszków dużą ilością wody, a następnie długotrwałe wyrabianie granulatu pod działaniem mieszadła głównego poruszającego się z dużą prędkością może prowadzić do wytworzenia tabletek, które charakteryzuje niedostateczne uwalnianie substancji leczniczej (rys. 2). Wysoka wartość współczynnika dobroci dopasowania modelu R^2 wynoszącego 0,92 wskazuje, że omawiane oszacowanie wyjaśnia ok. 92 % zmienności rozpatrywanej zmiennej zależnej.

Tab. 2. Matryca eksperymentu reprezentująca założenia statystyki Placketta-Burmana (N = 8, k = 7) wzbogacona o trzy procesy ze zmiennymi o wartościach centralnych (C1, C2 i C3) oraz wyniki (efekty) doświadczenia czynnikowego. Szarym tłem wyróżniono procesy, które doprowadziły do wystąpienia krytycznych cech leku.

Proces nr	Czynniki poddane badaniu [k]							Efekty (odpowiedzi procesu)				
	Zwilżanie	Granulowanie			Suszenie		Ujednolicanie	Główne			Pomocnicze	
		Ilość wody [g]	Prędkość mieszadła głównego [obr/min]	Prędkość mieszadła bocznego [obr/min]	Czas granulacji i [min]	Temp. [°C]	Wilgotność granulatu [%]	Rozmiar siatki [mm]	Jednolitość masy min-max [%]	Uwalnianie [%]	Ścieralność [%]	Twardość [N]
	1	2	3	4	5	6	7	Śr. ± 5%	Min. 85%	Max. 1%		
1	200	150	500	5	60	2	1,0	- 1,0 + 0,6	96	0	165	5 ½
2	350	150	500	1	35	2	2,5	- 1,4 + 1,3	100	0	157	8 ¼
3	200	450	500	1	60	1	2,5	- 2,0 + 1,0	112	0	132	9 ¼
4	350	450	500	5	35	1	1,0	- 0,6 + 0,4	43	0	148	11 ¼
5	200	150	3000	5	35	1	2,5	- 0,9 + 1,2	95	0	145	6 ¾
6	350	150	3000	1	60	1	1,0	- 0,7 + 0,6	101	0	144	4 ¾
7	200	450	3000	1	35	2	1,0	- 0,9 + 0,9	98	0	148	5 ¾
8	350	450	3000	5	60	2	2,5	- 2,4 + 2,0	28	0	139	17 ¼
C1	275	300	1750	3	47,5	1,5	1,75	- 0,7 + 0,6	101	0	115	4 ¾
C2	275	300	1750	3	47,5	1,5	1,75	- 0,9 + 0,7	98	0	149	6 ¾
C3	275	300	1750	3	47,5	1,5	1,75	- 0,9 + 0,9	101	0	142	2 ¼

Oszacowanie wyników pomiarów czasu rozpadu tabletek wskazało na istotność statystyczną oddziaływania dwóch zmiennych: czasu granulowania (efekt 4,7; $p < 0,05$) oraz wielkości oczek siatki użytej do przecierania wysuszonego granulatu (efekt 5,1; $p < 0,05$). Krótszy czas granulowania oraz rozdrabnianie granulatu przez siatkę złożoną z drobnych oczek sprzyjają powstawaniu szybko rozpadających się tabletek. Wartość współczynnika dobroci dopasowania modelu R^2 wynosi 0,94.



Rys. 2. Bezwzględne wartości oceny efektów oddziaływania zmiennych o krytycznym znaczeniu dla jakości produktu.

Nie stwierdzono krytycznego oddziaływania badanych czynników procesu na pozostałe parametry jakościowe tabletek, jak jednolitość masy, ścieralność i twardość. Uzyskane wyniki pomiarów nie umożliwiają wybrania czynników procesu o znamionym wpływie na te parametry.

Podsumowując, stwierdzono krytyczne oddziaływanie następujących parametrów procesu:

1. ilości roztworu substancji wiążącej,
2. prędkości mieszadła głównego podczas granulowania,
3. czasu granulowania.

Prowadzenie procesu granulacji z ustawieniem ww. zmiennych na wysokich poziomach może skutkować wytworzeniem tabletek o długim czasie rozpadu, które będzie cechować niedostateczne uwalnianie substancji leczniczej.

Przykład 2.

Badaniu poddano proces wytwarzania tabletek metodą granulacji na mokro. Celem doświadczenia było zoptymalizowanie zakresów operacyjnych czynników o krytycznym wpływie na jakość produkowanego leku. Do analizy czynnikowej wybrano trzy parametry procesu: ilość roztworu substancji wiążącej użytego do zwilżenia mieszaniny proszków, prędkość mieszadła głównego podczas granulowania i czas granulacji. Każdą ze zmiennych badano na jednym z trzech poziomów: dolnym, środkowym i górnym (tab. 3).

Tabela 3. Czynniki poddane badaniu i przypisane im poziomy wartości.

Poziom czynnika	Operacja: granulacja szybkoobrotowa		
	Czynniki poddane badaniu		
	Ilość roztworu substancji wiążącej [g]	Prędkość mieszadła głównego [obr./ min]	Czas granulowania [min]
Górny	310	400	7
Środkowy (centralny)	270	350	5
Dolny	230	300	3

Doświadczenie zrealizowano z zastosowaniem zrandomizowanego frakcyjnego planu czynnikowego dla trzech zmiennych, którym przyporządkowano trzy poziomy wartości. Dla oszacowania błędu wynikającego z procedury badania, macrycę eksperymentu wzbogacono o trzy procesy ze zmiennymi ustawionymi na centralnych poziomach.

W niniejszym badaniu niepożądanymi cechami produktu świadczącymi o krytycznym oddziaływaniu zmiennych zależnych określono:

- ◆ uwolnienie mniejszej niż 85% ilości substancji leczniczej z tabletki w ciągu 15 min analizy,
- ◆ dłuższy niż 10 min czas rozpadu tabletki (zalecany zakres dla średniego czasu rozpadu 2–5 min),
- ◆ rozrzut wyników pomiarów masy tabletek przekraczający zakres $\pm 5\%$ od wartości średniej.

Plan czynnikowy oraz wyniki doświadczenia przedstawiono w tabeli 4.

Wyniki analiz tabletek wytworzonych w przebiegu dwunastu procesów zrealizowanych w ramach doświadczenia czynnikowego wskazują na krytyczny wpływ zmiennych operacyjnych na jakość postaci leku. Odnotowano przypadki niedostatecznego uwalniania substancji leczniczej z tabletek oraz zbyt długiego czasu rozpadu tabletek (tabela 4).

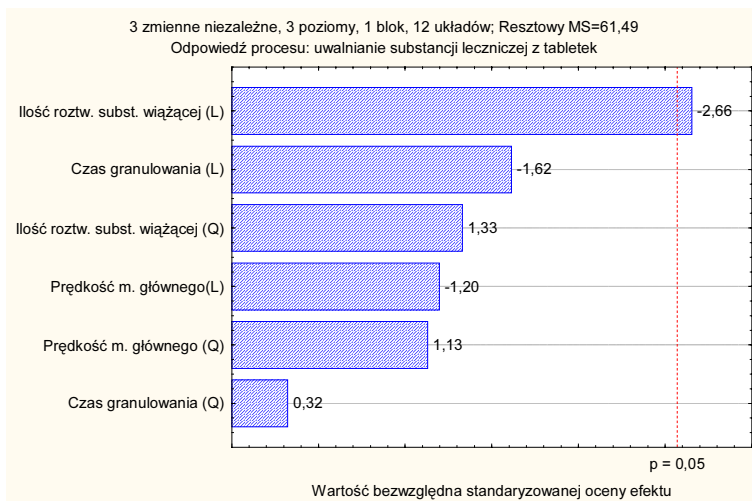
Tabela 4. Wyniki badania krytyczności czynników granulacji szybkoobrotowej. Procesy z czynnikami ustawionymi na poziomach centralnych oznaczono C1, C2 i C3. Szarym tłem zaznaczono proces, który doprowadził do wystąpienia krytycznych cech leku.

Proces nr	Matryca eksperymentu			Efekty (odpowiedzi procesu)		
	Ilość roztworu [g]	Prędkość mieszadła głównego [obr./ min]	Czas [min]	Jednolitość masy min-max [%]	Czas rozpadu [min]	Uwalnianie [%]
	1	2	3	Średnia ± 5 %	Max 10 min	Min 85 %
1	230	300	3	- 3,2 + 1,3	1 ¼	96
2	230	350	7	- 0,5 + 0,4	1 ¼	100
3	230	400	5	- 0,8 + 0,7	1 ½	99
4	270	300	7	- 3,2 + 1,3	1 ½	98
5	270	350	5	- 0,5 + 0,4	3 ¾	98
6	270	400	3	- 0,8 + 0,7	2 ¼	99
7	310	300	5	- 3,2 + 1,3	6	88
8	310	350	3	- 0,5 + 0,4	6	95
9	310	400	7	- 0,8 + 0,7	10 ½	61
C1	270	350	5	- 3,2 + 1,3	2 ½	100
C2	270	350	5	- 0,5 + 0,4	2 ½	98
C3	270	350	5	- 0,8 + 0,7	3 ¾	100

Wobec uwzględnienia trzech poziomów czynników analiza statystyczna umożliwiła aproksymację oddziaływania zmiennych operacyjnych procesu w oparciu o modele o charakterze liniowym, jak i kwadratowym. Zwiększa to wiarygodność oceny oraz pozwala na oszacowanie interakcji pomiędzy parametrami operacyjnymi.

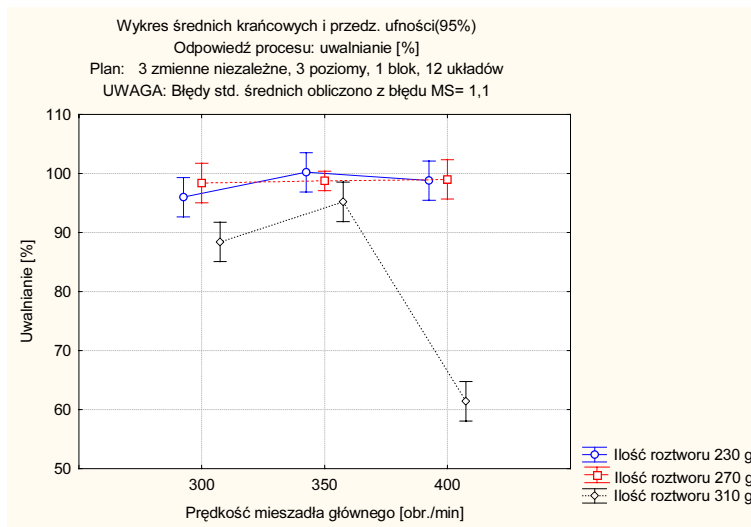
Analiza wpływu czynników procesu na wielkość uwalniania substancji leczniczej z tabletek wskazała na istotne statystycznie oddziaływanie ilości roztworu substancji wiążącej, którym zwilżano mieszaninę proszków (efekt -2,7; $p < 0,05$) – rys. 3.

Bezwzględna wartość efektu wynosi -17, co pozwala założyć, że zwilżanie mieszaniny proszków roztworem substancji wiążącej w ilości odpowiadającej górnemu poziomowi czynnika spowoduje, że tabletki wytworzone z powstałego w takich warunkach granulatu uwolnią o 17% mniej substancji leczniczej od tabletek wytworzonych z granulatu związanego roztworem użytym w ilości odpowiadającej dolnemu poziomowi czynnika. Opisana zależność ma charakter liniowy. Oszacowanie zostało przeprowadzone na podstawie modelu o zadowalającym współczynniku dobroci dopasowania R^2 wynoszącym 0,77.

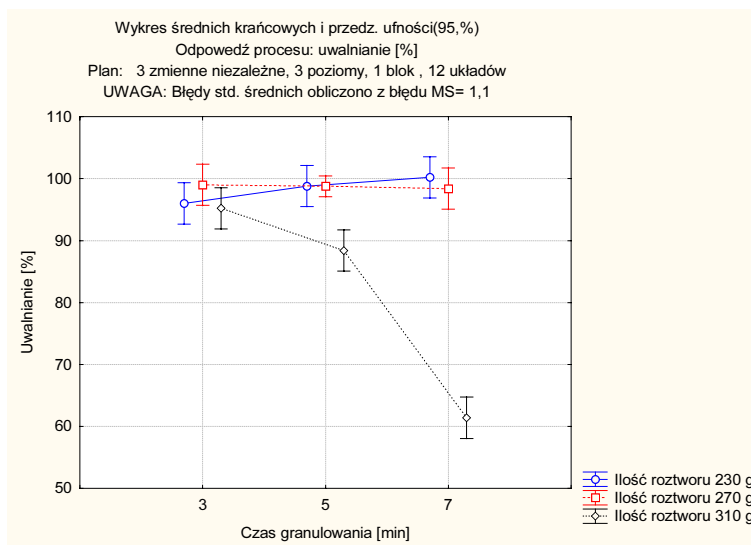


Rys. 3. Wykres Pareto obrazujący efekt oddziaływania badanych czynników procesu na wielkość uwalniania substancji leczniczej z tabletek.

W ocenie statystycznej rozpatrywanego modelu wpływ prędkości obrotowej mieszadła głównego stosowanego do granulowania oraz czasu trwania granulacji nie jest istotny. Niemniej czynniki te mogą modyfikować siłę efektu wywieranego przez ilość roztworu substancji wiążącej na parametr uwalniania substancji leczniczej z tabletek. Dlatego wyniki eksperymentu poddano dodatkowym analizom statystycznym w oparciu o nieliniowe modele matematyczne uwzględniające ocenę stopnia wzajemnych oddziaływań pomiędzy badanymi czynnikami, tzw. interakcji. Utworzone modele cechuje bardzo wysoki współczynnik dobroci dopasowania R^2 wynoszący 0,99, co pozwala założyć, że wyjaśniają one prawie 100% zmienności zmiennej zależnej. Wynik oszacowania wskazuje na występowanie istotnych statystycznie ($p < 0,01$) interakcji pomiędzy ilością roztworu substancji wiążącej i pozostałymi czynnikami procesu. W przypadku użycia dużej ilości roztworu substancji wiążącej do zwilżenia mieszaniny proszków (w niniejszym doświadczeniu 310 g) zastosowanie wysokiej prędkości obrotowej mieszadła głównego (400 obr./min) lub długiego czasu granulacji (7 min) powoduje spotęgowanie wpływu ilości roztworu na wielkość uwalniania substancji leczniczej z tabletek. W przypadku użycia mniejszych ilości roztworu substancji wiążącej zjawisko interakcji nie jest znaczące – rys. 4 i 5.



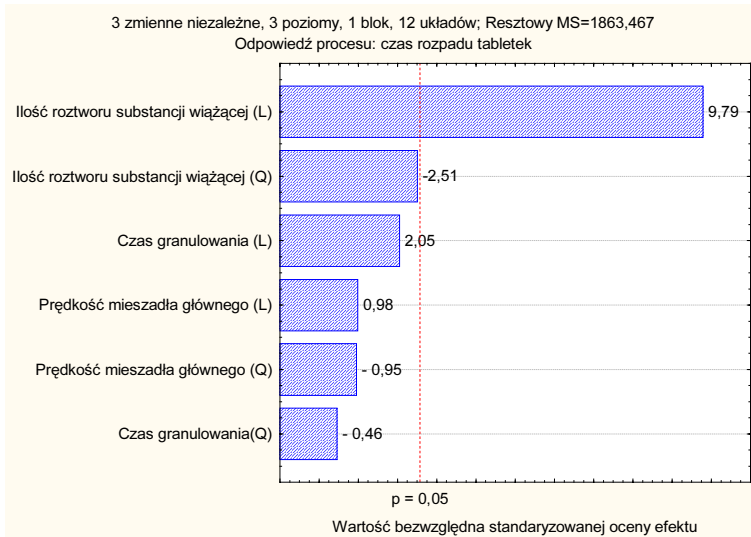
Rys. 4. Wpływ interakcji ilości roztworu substancji wiążącej oraz prędkości obrotowej mieszadła głównego na wielkość uwalniania substancji leczniczej z tabletek.



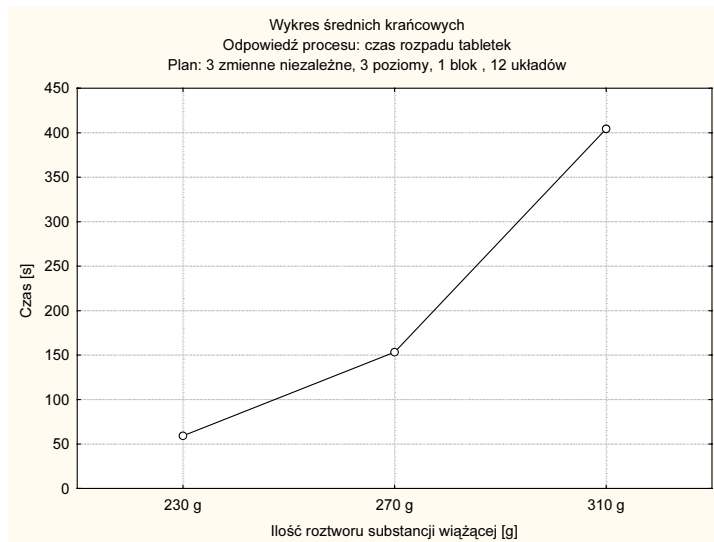
Rys. 5. Wpływ interakcji ilości roztworu substancji wiążącej oraz czasu granulowania na wielkość uwalniania substancji leczniczej z tabletek.

Podobne spostrzeżenia odnotowano na podstawie analizy statystycznej wyników pomiarów czasu rozpadu tabletek. Oszacowanie przeprowadzone na podstawie modelu o wysokiej wartości współczynnika dobroci dopasowania R^2 wynoszącej 0,96 pozwoliło wyłonić ilość substancji wiążącej jako czynnik o najsilniejszym wpływie na czas rozpadu tabletek (efekt 9,8, $p < 0,01$) – rys. 6. Bezwzględna wartość efektu wynosząca 345 s wskazuje, że zmiana

ilości roztworu substancji wiążącej odpowiadająca przejściu z dolnego poziomu na górny spowoduje wydłużenie czasu rozpadu tabletek o prawie 6 min – rys. 7.



Rys. 6. Wykres Pareto obrazujący standaryzowaną ocenę efektów oddziaływania czynników procesu na czas rozpadu tabletek.



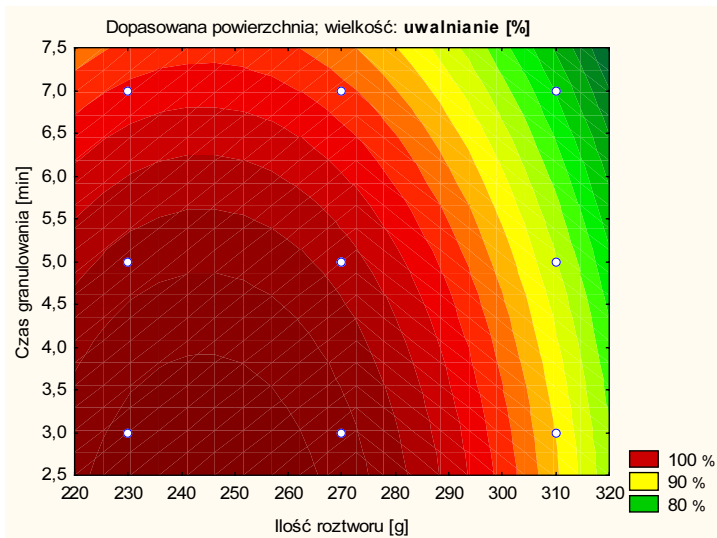
Rys. 7. Wartość bezwzględna efektu oddziaływania ilości substancji wiążącej na czas rozpadu tabletek.

Analiza ukierunkowana na ocenę interakcji zachodzących pomiędzy badanymi zmiennymi, wykonana na podstawie wyników pomiarów czasu rozpadu tabletek prasowanych pod działaniem wysokiej siły zgniotu, wskazała na podobne zależności do tych, które wynikły

z oszacowania wpływu zmiennych operacyjnych procesu na parametr uwalniania substancji leczniczej z tabletek. Współdziałanie dużej ilości substancji wiążącej i wysokiej prędkości obrotowej mieszadła głównego podczas granulowania albo dużej ilości substancji wiążącej i długiego czasu granulacji powoduje wystąpienie znacznie dłuższego czasu rozpadu tabletek niż w przypadku stosowania innych kombinacji czynników. Efekty te są statystycznie istotne ($p=0,05$), co stwierdzono na podstawie analizy przeprowadzonej w oparciu o model o bardzo wysokim współczynniku dobroci dopasowania ($R^2=0,99$).

W oparciu o wyniki doświadczenia czynnikowego stwierdzono krytyczność wpływu ilości roztworu substancji wiążącej na czas rozpadu tabletek oraz na wielkość uwalniania substancji leczniczej z tabletek. Stwierdzono nasilone oddziaływanie czynników w przypadku stosowania dużej ilości roztworu substancji wiążącej, wysokiej prędkości obrotowej mieszadła głównego i długiego czasu granulacji. Zasadnicze znaczenie dla powodzenia procesu produkcyjnego ma sprawowanie kontroli nad przebiegiem granulacji szybkoobrotowej.

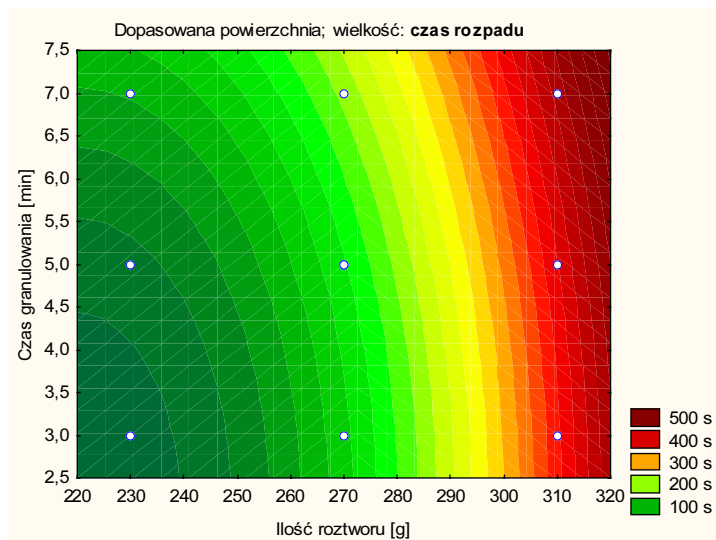
Ze względu na krytyczny wpływ granulowania na parametr uwalniania substancji leczniczej z tabletek dopasowano ilość roztworu substancji wiążącej i czas granulowania do ustalonej prędkości mieszadła głównego (rys. 8).



Rys. 8. Dopasowanie parametrów granulowania w odniesieniu do uwalniania substancji leczniczej z tabletek. Dopasowano ilości roztworu substancji wiążącej względem czasu granulowania przy założeniu stałej prędkości mieszadła głównego - 350 obr./ min. Ilość uwolnionej substancji leczniczej (100%, 90%, 80%) zaznaczono kolorami.

Powyższe oszacowanie wskazuje, że zastosowanie pośredniej prędkości obrotowej mieszadła głównego umożliwi wytworzenie tabletek uwalniających substancję leczniczą w odpowiedniej ilości, nawet wobec stosowania długiego czasu granulowania ($> 7 \frac{1}{2}$ min) oraz dużej ilości roztworu substancji wiążącej (ok. 310 g).

Wykonano podobną analizę w celu przewidzenia warunków granulowania, które doprowadzą do powstania tabletek o średnim czasie rozpadu zawierającym się w przedziale 2–5 min (120–300 s). Rezultat dopasowania przedstawiono na rys. 9.



Rys. 9. Dopasowanie parametrów granulowania w odniesieniu do czasu rozpadu tabletek. Dopasowano ilości roztworu substancji wiążącej względem czasu granulowania przy założeniu stałej prędkości mieszadła głównego - 350 obr./min. Ilość uwolnionej substancji leczniczej (100%, 90%, 80%) zaznaczono kolorami.

Według wskazań oszacowania zastosowanie nie większej niż 300 g ilości substancji wiążącej umożliwi wytworzenie tabletek o średnim czasie rozpadu krótszym niż 300 s (5 min), nawet wobec długiego granulowania ($> 7 \frac{1}{2}$ min) prowadzonego przy pośredniej prędkości mieszadła głównego (350 obr./min).

Literatura

1. FDA, „Pharmaceutical CGMPs For the 21st Century – A Risk-Based Approach, Final Report”, 2004.
2. FDA, „Guidance for Industry PAT – A Framework for Innovative Pharmaceutical Development, Manufacturing and Quality Assurance”, 2004.
3. ICH, „Q8 – Pharmaceutical Development”, 2005.
4. Hendrix Ch. D. „What every technologist should know about experimental design”, CHEMTECH, March, 1979.
5. Dilip M. Parikh „Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology”, Marcel Dekker Inc., Nowy Jork, 1997.