

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**LORNOKSİKAM İÇEREN ENJEKSİYONLUK
LİYOFİLİZE TOZ ÜRÜNÜNÜN, TASARIMLA KALİTE
(QBD) ÇERÇEVESİNDE, RİSK DEĞERLENDİRMESİ İLE
FORMÜLASYON TASARIMI**

HABİBE KOÇAN


**DANIŞMAN
PROF. DR. ERDAL CEVHER**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI
İLAÇ MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, İlaç Mühendisliği Programında Yüksek Lisans öğrencisi Habibe Koçan tarafından Prof. Dr. Erdal Cevher'in danışmanlığında hazırlanan "LORNOKSİKAM İÇEREN ENJEKSİYONLUK LİYOFİLİZE TOZ ÜRÜNÜNÜN, TASARIMLA KALİTE (QBD) ÇERÇEVESİNDE, RİSK DEĞERLENDİRMESİ İLE FORMÜLASYON TASARIMI" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 09/09/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.



Jüri Başkanı-Danışman
Prof. Dr. Erdal CEVHER
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji A.B.D



Jüri
Doç. Dr. Meryem Sedef ERDAL
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji A.B.D



Jüri
Doç. Dr. Neşe Buket AKSU
Altınbaş Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji A.B.D

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Habibe KOÇAN

İTHAF

Babam merhum Ali İhsan Koçan'a ve amcam merhum Ecz. Atğm. Salih Koçan'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince eşsiz bilgi ve deneyimlerini paylaşarak her türlü destek ve imkanı sağlayan değerli danışman hocam Eczacılık Fakültesi Dekanı **Prof. Dr. Erdal CEVHER**'e, İlaç Mühendisliği yüksek lisans programını mümkün kılan ve Eczacılık Fakültesi bünyesinde eğitim almamızı sağlayan tüm İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji A.B.D öğretim üyelerine ve araştırma görevlilerine,

Tasarımla kalite ve yapay zeka programları konusunda bilgi ve deneyimleri ile destek olan değerli hocam **Doç. Dr. Buket AKSU**'ya ve sevgili arkadaşım **Arş. Gör. Gizem YEĞEN**'e,

Rompharm İlaç'ta her türlü desteği sağlayarak tez projemin gerçekleşmesini sağlayan direktörüm sayın **Livia SERBANESCU**'ya, genel müdürüm sayın **Aliaidin RAMADANOV**'a, ürün geliştirme yöneticisi değerli arkadaşım **Alexandru BADEA**'ya, yöneticim sayın **Murat GÜLTEKİN**'e ve katkılarından dolayı tüm çalışma arkadaşlarıma,

Her zaman desteklerini gördüğüm ve her an yanımda olduklarını bildiğim çok kıymetli ve sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xv
ÖZET	xviii
ABSTRACT.....	xix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Lornoksikam Hakkında Genel Bilgi	3
2.1.1. İsimlendirme	3
2.1.2. Yapısal Formülü.....	4
2.1.3. Genel Fizikokimyasal Özellikler	4
2.2. Parenteral Dozaj Formları Hakkında Genel Bilgiler	5
2.2.1. Enjeksiyonluk Dozaj Formları	5
2.2.1.1. Enjeksiyonlar.....	5
2.2.1.2. İnfüzyonlar	6
2.2.1.3. Enjeksiyon ve İnfüzyon İçin Konsantre Formlar	6
2.2.1.4. Enjeksiyon ve İnfüzyon İçin Tozlar	6
2.2.1.5. Enjeksiyon İçin Jeller	6
2.2.1.6. İmplantlar	6
2.2.2. Enjeksiyonluk Dozaj Formları Uygulama Yolları	6
2.2.3. Enjeksiyonluk Dozaj Formlarının Avantaj ve Dezavantajları	8
2.2.4. Farmasötik Teknolojide Kurutma Yöntemleri	10
2.2.4.1. Konvektif Kurutma	10
2.2.4.2. Köpükle Kurutma.....	11
2.2.4.3. Spray Kurutma	11

2.2.4.4. Spray Dondurarak Kurutma	11
2.2.4.5. Süper Kritik Akışkanla Kurutma	12
2.2.4.6. Mikrodalga Kurutma	12
2.3. Liyofilizasyon (Dondurarak Kurutma) Hakkında Genel Bilgiler	13
2.3.1. Liyofilizasyon Yönteminin Terminolojisi ve Tanımı	13
2.3.2. Liyofilizasyon Yönteminin Avantaj ve Dezavantajları	14
2.3.3. Liyofilizasyon Prosesi	16
2.3.4. Liyofilizasyon Prensibi	17
2.3.4.1. Isı Transferi	17
2.3.4.2. Kütle Transferi	19
2.3.5. Liyofilizasyon Proses Aşamaları	20
2.3.5.1. Dondurma Aşaması	22
2.3.5.2. Ön Şartlandırma Aşaması	29
2.3.5.3. Birincil Kurutma Aşaması	30
2.3.5.4. İkincil Kurutma Aşaması	32
2.3.5.5. Son Şartlandırma ve Depolama	34
2.3.6. Yapısal Analiz Metotları	34
2.3.6.1. Elektrik Direncinin Ölçümü	34
2.3.6.2. Diferansiyel Termal Analiz	35
2.3.6.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri Analizi	36
2.3.6.4. Taramalı Elektron Mikroskobu Yöntemi	37
2.3.6.5. Kriyomikroskop ve Dondurarak Kurutma Mikroskobu Yöntemi	37
2.3.6.6. Kriyo-Elektron Mikroskobu Yöntemi	39
2.3.6.7. Nükleer Manyetik Rezonans Yöntemi	40
2.3.6.8. Termomekanik Analiz	40
2.3.6.9. Raman Spektroskopisi	41
2.3.6.10. Dielektrik Analizi	41
2.3.6.11. X-Işını Kırınımı Yöntemi	42
2.3.7. Liyofilizatör Tasarımı	42
2.3.7.1. Kurutma Haznesi ve Raflar	44
2.3.7.2. Vakum Sistemi	45
2.3.7.3. Kondansatör	45
2.3.7.4. Soğutucu Sistem	46

2.3.7.5. Kontrol Sistemi	47
2.3.7.6. Yardımcı Fonksiyonlar.....	48
2.3.8. Dondurarak Kurutma Ekipman ve Yöntemleri.....	48
2.3.8.1. Manifold Yöntemi.....	52
2.3.8.2. Batch Yöntemi	52
2.3.8.3. Bulk Yöntemi	53
2.3.9. Liyofilizatör Seçiminde Göz Önüne Alınan Faktörler.....	54
2.3.10. Liyofilize Toz Üründe Genek Olarak Kullanılan Yardımcı Maddeler	58
2.3.10.1. Dolgu Maddesi/Hacim Artırıcılar	59
2.3.10.2. Tamponlayıcı Ajanlar.....	59
2.3.10.3. Liyoprotektanlar /Kriyoprotektanlar	60
2.3.10.4. Çözünürlük Artırıcılar	60
2.3.10.5. Tonisite Ajanı.....	61
2.3.10.6. Antimikrobiyal Ajanlar	61
2.4. Çalışmada Kullanılan Yardımcı Maddeler Hakkında Bilgiler.....	65
2.4.1. Trometamol.....	65
2.4.2. Disodyum EDTA	66
2.4.3. Mannitol	66
2.5. Dondurarak Kurutma Proses Kontrolü	67
2.5.1. Ürün Sıcaklığının İzlenmesi.....	67
2.5.2. Basıncın İzlenmesi	69
2.6. Tasarımla Kalite (QbD)	70
2.6.1. QbD Kavramları.....	73
2.6.1.1. Hedef Ürün Profili.....	73
2.6.1.2. Hedef Ürün Kalite Profili.....	73
2.6.1.3. Kritik Kalite Özelliği.....	74
2.6.1.4. Kritik Proses Parametresi	74
2.6.1.5. Kontrol Stratejisi	74
2.6.1.6. Tasarım Alanı.....	74
2.6.2. Tasarımla Kalite Uygulamaları	75
2.6.2.1. Tasarımla Kalitede Kullanılan Araçlar	77
2.7. Teknoloji Transferi	83
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	87

3.1. Gereçler.....	87
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	87
3.1.2. Kullanılan Ekipmanlar	87
3.1.3. Kullanılan Bilgisayar Programları	88
3.2. Yöntem.....	88
3.2.1. Deneylerin Tasarımı (DoE).....	88
3.2.2. Hedef Ürün Profilinin Belirlenmesi	88
3.2.3. Hedef Ürün Kalite Profilinin Belirlenmesi	89
3.2.4. Kritik Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi.....	90
3.2.5. Risk Değerlendirmesi.....	92
3.2.6. Kritik Proses Parametrelerinin Belirlenmesi.....	102
3.2.7. Kritik Kalite Özelliklerini Etkileyen Formülasyon Değişkenlerinin Belirlenmesi	103
3.2.8. Formülasyon Çalışmaları	104
3.2.8.1. Ön Formülasyon Çalışmaları	105
3.2.9. Çözelti Özelliklerinin İncelenmesi.....	108
3.2.9.1. Çözünürlük.....	109
3.2.9.2. Çözeltinin Görünüşü	109
3.2.9.3. pH.....	109
3.2.9.4. Ozmolalite	109
3.2.10. Üretim Prosesi Geliştirme	109
3.2.10.1. Liyofilizasyon Proses Geliştirme	111
3.2.11. Analitik Metot Validasyon Çalışmaları	116
3.2.11.1. Analitik Metot Validasyon Parametreleri	116
3.2.11.2. Analitik Metot Kullanılan Ekipmanlar.....	118
3.2.11.3. Tanıma ve Miktar Tayini Analitik Metot Validasyonu.....	118
3.2.11.4. İlgili Bileşikler Analitik Metot Validasyonu.....	121
3.2.12. Bitmiş Üründe Yapılan Kontroller.....	124
3.2.12.1. Görünüş	125
3.2.12.2. Su İçeriği	125
3.2.12.3. Sulandırılmış Çözeltinin Görünüşü.....	126
3.2.12.4. pH.....	126
3.2.12.5. Sulandırma Süresi	126

3.2.12.6. Dozaj Tekdüzeligi	126
3.2.12.7. Partikül Sayısı	127
3.2.12.8. Tanıma ve Miktar Tayini	127
3.2.12.9. İlgili Bileşikler	129
3.2.12.10. Sterilite	131
3.2.12.11. Bakteriyel Endotoksin	132
3.2.13. Verilerin Yapay Zeka Programı ile Değerlendirilmesi	132
3.2.13.1. Verilerin Nöro-Bulanık Mantık Kullanılarak Değerlendirilmesi	132
3.2.13.2. Verilerin Genetik Algoritma Kullanılarak Değerlendirilmesi	134
3.2.13.3. Optimizasyon	137
4. BULGULAR	139
4.1. Lornoksikam Formülasyon Çalışmasına Ait Bulgular	139
4.2. Liyofilizasyon Prosesine Ait Bulgular	141
4.3. Analitik Metot Validasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	142
4.3.1. Tanıma ve Miktar Tayini Analitik Metot Validasyon Bulguları	142
4.3.2. İlgili Bileşikler Analitik Metot Validasyon Bulguları	149
4.4. Liyofilizasyon Sonrası Bitmiş Üründe Yapılan Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Testlere Ait Bulgular	156
4.5. Yapay Zeka Programları Kullanılarak Elde Edilen Bulgular	158
4.5.1. Formülasyon Verilerinin Nöro Bulanık Mantık Kullanılarak Değerlendirilmesi	158
4.5.2. Liyofilizasyon Proses Verilerinin Yapay Sinir Ağı (ANN) İle Değerlendirilmesi	161
5. TARTIŞMA	170
KAYNAKLAR	177
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	182
ÖZGEÇMİŞ	183

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Lornoksikamın çözünürlüğü.	4
Tablo 2-2: Çalışmada kullanılan liyofilizatörün teknik bilgileri.....	57
Tablo 2-3: Liyofilize formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddeler, A.B.D. pazarı.	62
Tablo 3-1: Lornoksikam enjeksiyonluk liyofilize toz hedef ürün kalite profili.	89
Tablo 3-2: Lornoksikam enjeksiyonluk liyofilize toz kritik kalite özellikleri.....	91
Tablo 3-3: Kalite özelliklerinin puan ve tanımlanması.	92
Tablo 3-4: Kalite özelliklerinin puanlanması.	93
Tablo 3-5: Proses parametrelerinin puanlanması.....	93
Tablo 3-6 : Kalite Özellikleri ve Proses Parametreleri Risk Değerlendirmesi.	94
Tablo 3-7: Kritik Proses Parametreleri	102
Tablo 3-8: Kritik Kalite Özelliklerini etkileyen formülasyon değişkenleri.....	103
Tablo 3-9: Lornoksikam liyofilize toz kullanılan yardımcı maddeler.	104
Tablo 3-10: Referans ürün özellikleri.	104
Tablo 3-11: Referans ürün deformülasyonu.	105
Tablo 3-12 Lornoksikam ön formülasyon tasarım tablosu.	107
Tablo 3-13: Lornoksikam ön formülasyon başlangıç malzemelerinin % miktarı.	108
Tablo 3- 14: Ön formülasyon sıcaklık ve çözünme ortamı.	108
Tablo 3-15: Lornoksikam liyofilizasyon prosesi tasarım tablosu.....	115
Tablo 3-16: Analitik metot parametreleri.	116
Tablo 3-17: Tanıma ve miktar tayini analitik metot validasyon parametreleri.	120
Tablo 3-18: İlgili bileşikler analitik metot validasyon parametreleri.	122
Tablo 3-19: Bitmiş ürün spesifikasyonları.....	124
Tablo 3-20: ANN model eğitim parametreleri.	137
Tablo 4-1: Ön Formülasyon sonuçları.	140
Tablo 4-2: Lornoksikam final ürün formülasyonu.	141
Tablo 4-3: Dondurma ve ön şartlandırma aşaması bulguları.....	141
Tablo 4-4: Lornoksikam tanıma ve miktar tayini analitik metot validasyon bulguları.	143
Tablo 4-5: Lornoksikam ilgili bileşikler analitik metot validasyon sonuçları.....	150
Tablo 4-6: Bitmiş ürüne uygulanan testlerden elde edilen bulgular.	157

Tablo 4-7: FormRules programında kullanılan formülasyon veri tablosu.	158
Tablo 4-8: Bulanık mantık model eğitim sonuçları.	159
Tablo 4-9: Nöro-bulanık mantık modeline göre belirlenen kurallar.....	159
Tablo 4-10: InForm değerlendirme parametreleri girdi değerleri.	162
Tablo 4-11: InForm değerlendirme parametreleri çıktı değerleri.	162
Tablo 4-12: Yapay sinir ağı model eğitim sonuçları.	163
Tablo 4-13: ANN modeli tarafından belirlenen optimum proses değişkenleri ile kritik kalite özelliklerinin tahmini değerleri.	164

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Lornoksikam molekül yapısı.....	4
Şekil 2-2: Enjeksiyonluk dozaj formlarının uygulama yolları.....	8
Şekil 2-3: Intratekal enjeksiyon.	8
Şekil 2-4: Faz diyagramı.....	16
Şekil 2-5: Isı transferi tipleri.....	18
Şekil 2-6: Isı transferinde direnç.....	19
Şekil 2-7: Dirençler ve kütle transferiyle ilişkisi.	20
Şekil 2-8: Dondurarak kurutma proses döngüsü.....	22
Şekil 2-9: Dondurularak kurutulmuş pelletin üst yüzeyinin elektron mikroskobu ile taranması- su buharının uzaklaşması için membran yüzeyindeki yapı.....	23
Şekil 2-10: Dondurularak kurutulmuş pelletin orta kısmının elektron mikroskobu ile taranması- buz kristallerinin süblimasyonu sonucu oluşan yoğun gözenekli malzeme.	24
Şekil 2-11: Su molekülündeki elektrik yükü konfigürasyonu.	25
Şekil 2-12: Suda buz kristallerinin oluşumu, soğutma soldan sağa doğru artırılmıştır.	26
Şekil 2-13: Nükleasyon oranı	27
Şekil 2-14: Suyun faz diyagramı.	27
Şekil 2-15: Su-gliserin faz diyagramı.	28
Şekil 2-16: Flakon içinde kısmi dondurarak kurutulan ürünün radyasyon ve kondüksiyonla ısı transferi (A), birincil kurutma sırasında sıcaklık profili (B).	31
Şekil 2-17: DTA ölçüm hücresi.	35
Şekil 2-18: DSC şematik çizimi.....	36
Şekil 2-19: SEM şematik çizimi.	37
Şekil 2-20: Kriyomikroskop görünüşü.	38
Şekil 2-21: Cryo-EM temel çalışma prensibi.	39
Şekil 2-22: NMR spektrometresi şematik görünümü.	40
Şekil 2-23: Raman spektroskopisi şematik görünümü.	41
Şekil 2-24: XRD şematik görünümü (Shimadzu, XRD-6100/7000).....	42
Şekil 2-25: Liyofilizatör şematik görünümü, ASME 2014.....	43
Şekil 2-26: Manifold liyofilizatör (Beta 2-8 LSCplus, Martin Christ, Almanya).	49
Şekil 2-27: Kombine liyofilizatör (VirTis, SP Scientific, A.B.D.).....	49
Şekil 2-28: Raf tipi liyofilizatör (Smart Lyo, GEA, Almanya).	50

Şekil 2-29: Endüstriyel liyofilizatör (Lyomax, IMA Life, İtalya).....	51
Şekil 2-30: Pilot liyofilizatör (Liyofast, IMA Life, İtalya).....	51
Şekil 2-31: Banko üstü liyofilizatör (American Lyophilizer Inc., A.B.D.).....	51
Şekil 2-32: Bulk yöntemi ısı transferi.....	53
Şekil 2-33: Trometamolün molekül yapısı.	65
Şekil 2-34: Disodyum edta molekül yapısı.....	66
Şekil 2-35: Mannitol molekül yapısı.	67
Şekil 2-36: Sıcaklık izleme sensörünün flakona yerleşimi.	68
Şekil 2-37: Flakon içi ve flakon dışı nükleasyon sıcaklıklarının karşılaştırılması.	69
Şekil 2- 38: Tasarım alanı ve faaliyet alanı.	76
Şekil 2-39: Tasarım aralığı işlem akışı.	77
Şekil 2-40: Kalite risk yönetimi işlem akışı.....	78
Şekil 2-41: Liyofilize üründe QbD ve PAT uygulaması.	83
Şekil 3-1: Enjektabl liyofilize toz ürün üretim proses akış şeması.....	111
Şekil 4-1: DSC Analizi ile camsı geçiş sıcaklığının belirlenmesi.	142
Şekil 4-2: Referans çözelti kromatogramı (Lornoksikam: RT~9.4).....	148
Şekil 4-3: Lornoksikam pik tepe noktası.	148
Şekil 4-4: Referans çözelti kromatogramı (Lornoksikam: RT~9.2).....	155
Şekil 4-5: Sinyal/gürültü çözeltisi raporu kromatogramı (Lornoksikam: RT ~ 9,2)....	155
Şekil 4-6: Girdi parametreleri pH ilişkisi.	160
Şekil 4-7: Girdi parametreleri ozmolalite ilişkisi.	160
Şekil 4-8: Liyofilizasyon kritik proses parametrelerinin su içeriğine etkisi.	165
Şekil 4-9: Liyofilizasyon kritik proses parametrelerinin su içeriğine etkisi.	166
Şekil 4-10: Liyofilizasyon kritik proses parametrelerinin miktar tayinine etkisi.	167
Şekil 4-11: Liyofilizasyon kritik proses parametrelerinin sulandırma süresine etkisi..	168
Şekil 4-12: Liyofilizasyon kritik proses parametrelerinin impüriteye etkisi.	169

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- INN: Uluslararası Ortak Ad
CAS: Kimyasal Kuramlar Servisi
NSAİİ: Non-Steroid Anti-Inflamatuar
Avr. Farm: Avrupa Farmakopesi
WFI: Enjeksiyonluk Su
İ.C.: Intrakütan
S.C: Subkütan
I.M.: Intramüsküler
I.V.: Intravenöz
I.A.: Intra-artiküler
I.T.: Intratekal
I.S.: İntrasisternal
İ.L.: İhmal Limiti
Rp: Ürün Direnci
T_{eu}: Ötektik Sıcaklık
T_c: Çökme Sıcaklığı
T_g: Camsı Geçiş Sıcaklığı
ER: Elektrik Direnci
DTA: Diferansiyel Termal Analiz
DSC: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu
FDM: Dondurarak Kurutma Mikroskopsi
Cryo-EM: Kriyo-Elektron Mikroskobu
NMR: Nükleer Manyetik Rezonans
TMA: Termomekanik Analiz
DEA: Dielektrik Analiz
XRD: X-Ray Difraktometre
CFCs: Kloroflorokarbonlar
HCFC: Hidrokloroflorokarbonlar
GMP: İyi Üretim Uygulamaları
GAMP: İyi Otomasyon Uygulamaları

SCADA: Veri Tabanlı Kontrol Ve İzleme Sistemleri
PLC: Programlanabilir Mantık Kontrolü
CIP: Yerinde Temizlik
SIP: Yerinde Sterilizasyon
RTD: Direnç Tipi Sıcaklık Dedektörleri
PAT: Proses Analitik Teknolojisi
QbD: Tasarımla Kalite
ICH: Uluslararası Uyum Konferansı
FDA: Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi
CTD: Ortak Teknik Doküman
QbR: Kalite Temelli Gözden Geçirme
TPP: Hedef Ürün Profili
CMC: Üretim Ve Kontrol
QTPP: Hedef Ürün Kalite Profili
CQA: Kritik Kalite Özelliği
CPP: Kritik Proses Parametresi
DoE: Deney Tasarımı
FMEA: Hata Modu Etki Analizi
FMECA: Hata Modu, Etki Ve Kritiklik Analizi
FTA: Hata Ağacı Analizi
HACCP: Tehlike Analizi Ve Kritik Kontrol Noktaları
HAZOP: Tehlike İşletilebilirlik Analizi
PHA: Ön Tehlike Analizi
CAE: Etki Ve Tepki Analizi
MTM: Manometrik Sıcaklık Ölçümü
TDLAS: Ayarlanabilir Diyot Lazer Absorpsiyon Spektroskopisi
TVIS: Flakon Üzeri Empedans Spektroskopisi
ANN: Yapay Sinir Ağları
LOQ: Tayin Limiti
LOD: Teşhis Limiti

RSD: Bağıl Standart Sapma

HPLC: Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi

ÖZET

Koçan H. Lornoksikam içeren enjeksiyonluk liyofilize toz ürününün, tasarımı kalite (QbD) çerçevesinde, risk değerlendirmesi ile formülasyon tasarımı. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, İlaç Mühendisliği Programı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2019

Bu çalışmada, lornoksikam içeren, liyofilizasyon (dondurarak kurutma) yöntemiyle üretilen, uygun kalite özelliklerine sahip enjeksiyonluk liyofilize toz formülasyonunun “Tasarımla Kalite (QbD)” yaklaşımıyla ve yapay zeka programlarının yardımıyla geliştirilmesi amaçlanmıştır.

QbD kapsamında, deney tasarımı (DoE) oluşturulurken Kritik Kalite Özellikleri (Critical Quality Attributes - CQAs), kritik kalite özelliklerini etkileyen formülasyon değişkenleri ve Kritik Proses Parametrelerinin (Critical Proses Parameters - CPPs) belirlenmesi için ICH Q8 ve Q9 uyarınca risk bazlı yaklaşımla çalışılmıştır. Belirlenen formülasyon ve liyofilizasyon proses parametrelerine göre üretilen ürünlere uygulanan fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik testlerden elde edilen sonuçlar doğrultusunda deneysel bilgi alanı oluşturulmuştur. Deneysel bilgi alanını oluşturan veri seti, ilk önce FormRules (Nöro-bulanık mantık) programında; daha sonra optimizasyon yapmak ve tasarım alanı oluşturmak için InForm (yapay sinir ağları) programında değerlendirilmiştir.

Formülasyon çalışması sonucunda bulunan bulk çözelti formülü; 100 mL enjeksiyonluk suda 0,4 g lornoksikam, 0,6 g trometamol, 0,011 g disodyum EDTA ve 5,0 g mannitol içermektedir. Modelleme çalışması sonucunda bulunan optimum liyofilizasyon prosesi ise liyofilizasyon proses tasarım verileri ve ürün kalite özellikleriyle uyumludur.

Uygun kalite özellikleri gösteren liyofilize toz formülasyonu geliştirmek ve ürün kalitesini güvence altına almak için Tasarımla Kalite (QbD) yaklaşımının uygulanması, ürünün ve prosesin daha iyi anlaşılmasını sağlamış, geliştirme süreçlerinin verimliliğini arttırmıştır.

Anahtar Kelimeler: Lornoksikam, enjeksiyonluk liyofilize toz, liyofilizasyon, Tasarımla Kalite (QbD), InForm.

ABSTRACT

Koçan H. Design of an injectable lyophilized powder product formulation containing lornoxicam in the scope of Quality by Design (QbD) with risk assesment. Republic of Turkey Istanbul University Institute of Health Sciences, Department of Pharmaceutical Technology, Pharmaceutical Engineering Programme. M.S. Thesis. Istanbul. 2019

In this study, it was aimed to develop the lyophilized powder formulation containing lornoxicam which was produced by lyophilization (freze-drying) method with consistent quality attributes via “Quality by Design (QbD)” approach and with the help of artificial intelligence programs.

While creating the design of experiment (DOE) within the QbD, determination of the Critical Quality Attributes (CQAs), formulation variables and Critical Process Parameters (CPPs) that affect the CQAs were studied risk-based approach according to the ICH Q8 and Q9. Experimental knowledge area has been created with physical, chemical and microbiological tests results obtained from the produced products according to the designated formulation and lyophilization process parameters. Data sets forming the knowledge area were evaluated firstly with FormRules (neuro-fuzzy logic) program; later with InForm (artificial neural networks) program to make optimization and create a design space.

In consequence of formulation study; the bulk solution contains 0.4 g lornoxicam, 0.6 g tromethamol, 0.011 g disodium EDTA and 5.0 g mannitol in 100 mL water for injection. The optimum lyophilization process found as aresult of the modeling study is consistent with the lyophilization process design data and product quality attributes.

Applying the Quality by Design (QbD) approach to develop a lyophilized powder formulation that indicates appropriate quality characteristics and to ensure the product quality has provided a better understanding of the product and process and increased the efficiency of development processes.

Key Words: Lornoxicam, injectable lyophilized powder, lyophilization, Quality by Design (QbD), InForm.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlaç taşıyıcı sistemler, terapötik etki elde etmek için farmasötik bir bileşiğin uygulanmasına yönelik yöntemlerdir. Parenteral ilaç taşıyıcı sistemler ile hızlı fizyolojik etki ve biyoyararlanım sağlanmaktadır. Parenteral dozaj formu, enjeksiyonla uygulamaya uygun, çözelti, süspansiyon, emülsiyon veya sulandırılmış liyofilize toz formunda sunulmaktadır. Günümüzde, enfeksiyon tedavisinde kullanılan ürünler, biyoteknolojik ürünler ve liyofilize olarak üretilen *in vitro* diagnostikler dahil olmak üzere birçok yeni parenteral ürün geliştirilmektedir.

Parenteral olarak uygulanan liyofilize toz ürünler, liyofilizasyon veya diğer tanımla dondurarak kurutma yöntemi ile elde edilirler. Liyofilizasyon bir ürünün farmasötik ve terapötik özelliklerinden ödün vermeden, içeriğindeki sıvının düşük sıcaklıkta dondurulması ve vakum altında sıvı faza geçmeden katı fazdan doğrudan buhar fazına geçirilerek (süblimleşme) uzaklaştırılmasını sağlayan bir farmasötik teknoloji prosesidir. Liyofilizasyon yönteminin en önemli avantajı, katı haldeki ilaç formülasyonunun, etkin madde ve yardımcı maddelerinin immobilizasyonuna izin vermesidir. Bu nedenle hidroliz, oksidasyon, izomerizasyon, yoğunlaşma, rasemizasyon ve çözeltideki diğer bileşenlerle reaksiyonlar gibi kimyasal ve fiziksel bozunma yolları önemli ölçüde azalır, fiziksel ve kimyasal stabilite artırılır (66).

Lornoksikam klasik oksikamlar grubuna dahil, farmakodinamik açıdan analjezik ve antipiretik etkileri olan non-steroid antiinflamatuar bir ajandır. Lornoksikamın terapötik endikasyonu hafif ve orta şiddetli ağrının kısa süreli giderilmesidir (1,49). Piyasada farklı dozaj formlarında lornoksikam içeren ilaçlar bulunmaktadır.

Tasarımla Kalite (QbD), önceden tanımlanmış ürün kalitesinin sağlanması ve güvence altına alınması için formülasyon ve üretim proseslerinin tasarlanması ve geliştirilmesine yönelik sistemik bir yaklaşımdır. QbD ile formülasyon ve proses değişkenleri geliştirme aşamasında optimize edilerek farmasötik kalite sağlanmakta ve ürün ve sürecin daha iyi anlaşılmasıyla üretim proseslerinin verimliliği artmaktadır.

QbD'nin gerçekleştirilmesi amacıyla farklı araçlar kullanılmaktadır. Risk değerlendirmesi, deney tasarımı (DoE) ve proses analitik teknolojisi (PAT) QbD'de yaygın olarak kullanılan araçlardandır.

Farmasötik Teknoloji alanında yapay zekanın kullanımı, farklı formülasyon ve proses parametreleri arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır. Yapay sinir ağları (ANN), Genetik algoritma (GA), Bulanık mantık gibi birçok bilgisayar tabanlı sistem, farmasötik ürün geliştirme aşamasında gerekli olan veriler için deneysel bir alan tasarlamasıyla farmasötik ürün ve proses geliştirmeye yardımcı olmaktadır.

Bu alışma ile farklı formülasyon ve proses parametrelerini kullanarak, yapay zeka programlarının (FormRules, INForm) yardımı ile lornoksikam etkin maddesi içeren enjeksiyonluk liyofilize toz ürününün, tasarımıla kalite (QbD) yaklaşımı ile tasarlanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lornoksikam Hakkında Genel Bilgi

Lornoksikam klasik oksikamlar grubuna dahil, farmakodinamik açıdan analjezik ve antipiretik etkileri olan non-steroid antiinflamatuvar (NSAİİ) bir ajandır. Etki mekanizması, siklooksijenazların inhibisyonu ile prostaglandin sentezinin azaltılması ile ilgilidir.

Lornoksikamın terapötik endikasyonu hafif ve orta şiddetli ağrının kısa süreli giderilmesidir. Doğum ve jinekoloji, diş çekimleri, ortopedik cerrahi ve ameliyattan sonra akut ağrı, orta şiddetli ağrıya neden olan travma, akut siyatik ve bel ağrısı gelişmiş kanser, kronik bel ağrısı, osteoartrit, romatoid artrit, ankilozan spondilit tedavisinde kullanılır (1,49).

Lornoksikam oral ve parenteral dozaj formlarında bulunmaktadır. Lornoksikamın oral dozaj formlarında kullanımında, gastrointestinal rahatsızlıklar en sık görülen advers olaylardır. Lornoksikam parenteral uygulamada ameliyat sonrası ağrı giderme açısından morfin, pethidin ve tramadol kadar etkilidir ve morfin ve tramadolden daha fazla tolere edilir. Ayrıca lornoksikam kanser hastalarında , adjuvan analjezikler olarak morfin miktarını da azaltabilir (1,49).

2.1.1. İsimlendirme

Uluslararası ortak adı (INN): Lornoksikam

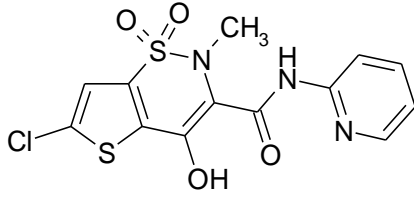
Kimyasal adı: 6-kloro-4-hidroksi-2-metil-3-(2-pridilkarbamoil)-2H-tiyeno [2,3-e]-1,2-tiyazin-1,1-dioksit

CAS Numarası: 70374-39-9

Eş Anlamlı İsimleri: Klorotenoksikam, Ro-13-9297, TS-110, Akos 93662

Ticari İsimleri: Xefo, Xefocam, Lorno, Lornex, Telos

2.1.2. Yapısal Formülü



Şekil 2-1: Lornoksikam molekül yapısı.

Şekil 2-1’de molekül yapısı verilen lornoksikamın moleküler formülü:



Moleküler ağırlığı: 371.82 g/mol’dür.

Elemental Bileşimi: C=%41,99 H=% 2,71 Cl=%9,53 N=% 11,30 O=% 17,21 S=% 17,25

2.1.3. Genel Fizikokimyasal Özellikler

Lornoksikam sarı renkli kristalize toz görünümündedir. Optik izomerlik ve kristalize polimorfizm göstermez, higroskopik değildir.

Lornoksikamın pH değeri çözünürlüğe bağlıdır. Lornoksikamın çözünürlüğü pH =1 ve pH=10 arasında artmaktadır. 37°C’de pH=1’de çözünürlük 100 µg/mL’den düşük iken 37°C’de pH=10’da çözünürlük yaklaşık 2 mg/ml değerine yükselmektedir (2).

Lornoksikamın su ve organik çözücülerdeki çözünürlüğü aşağıdaki tabloda belirtilmiştir (3).

Tablo 2-1: Lornoksikamın çözünürlüğü.

Çözücü	Çözünürlük
Su	Çözünmez (< 0,1 mg/mL)
0.1 M NaOH	Az çözünür (~ 1 mg/mL)
Metanol	Çok az çözünür (~ 0,11 mg/mL)
Etanol	Çözünmez (< 0,1 mg/mL)
Asetonitril	Çok az çözünür (~ 0,11 mg/mL)
Kloroform	Az çözünür (~ 1 mg/mL)

2.2. Parenteral Dozaj Formları Hakkında Genel Bilgiler

İnsan ve hayvanlara enjeksiyon, infüzyon ve implantasyon şeklinde uygulanan steril, ilaç şekillerine enjeksiyonluk veya parenteral dozaj formları adı verilir. Enjeksiyonluk dozaj formları direkt parenteral veya kullanım öncesi uygun çözücüde sulandırılarak uygulanırlar (4).

Enjeksiyonlar, çözelti, emülsiyon, süspansiyon veya kullanım öncesi sulandırılan toz ve liyofilize toz şeklindeki küçük hacimli dozaj formlardır. İnfüzyonlar; sulu çözelti veya devamlı fazı su olan emülsiyon şeklindeki steril ve apirojen büyük hacimli dozaj formlardır.

2.2.1. Enjeksiyonluk Dozaj Formları

Enjeksiyonluk fiziksel durumuna göre sınıflandırılırlar. Parenteral uygulama için amaçlanan altı temel dozaj formu tanımlanmaktadır (5).

- Enjeksiyonlar
- İnfüzyonlar
- Enjeksiyon ve infüzyon için konsantre formlar
- Enjeksiyon ve infüzyon için tozlar
- Enjeksiyon için jeller
- İmplantlar

2.2.1.1. Enjeksiyonlar

Enjeksiyonlar steril çözeltiler, emülsiyonlar veya süspansiyonlardır. Etkin madde ve eklenen yardımcı maddelerin, su, susuz sıvıda veya bu taşıyıcıların bir karışımında çözünerek, emülsiyon veya süspansiyon haline getirilerek hazırlanırlar. Tekli veya çoklu doz olarak ambalajlanırlar. Çok dozlu sulu enjeksiyonlarda, ürünün yeterli antimikrobiyal özelliklere sahip olmadığı durumlarda uygun konsantrasyonda uygun bir antimikrobiyal koruyucu içerir.

Enjeksiyonluk çözeltilerin uygun koşullar altında görünüşleri berrak ve partikülsüzdür. Enjeksiyonluk emülsiyonlar herhangi bir faz ayrımı göstermez. Enjeksiyonluk süspansiyonlar çalkalanınca kolayca dağılan çökelti gösterebilirler.

2.2.1.2. İnfüzyonlar

İnfüzyonlar steril sulu çözelti veya sürekli fazı su olan emülsiyonlardır. Genellikle büyük hacimli uygulamalar için ve izotonik olarak hazırlanırlar. İnfüzyonlar antimikrobiyal koruyucu madde içermezler. İnfüzyonluk çözeltilerin uygun koşullar altında görünüşleri berrak ve partikülsüzdür. İnfüzyonluk emülsiyonlar faz ayrımı göstermez.

2.2.1.3. Enjeksiyon ve İnfüzyon İçin Konsantre Formlar

Enjeksiyonluk ve infüzyonluk konsantreler, seyreltmeden sonra enjeksiyon veya infüzyon amaçlı uygulanan steril çözeltilerdir. Uygulamadan önce uygun bir sıvı çözücü ile önceden belirlenmiş bir hacme seyreltilirler. Seyreltikten sonra, enjeksiyon veya infüzyonların gerekliliklerine uygunluk gösterirler.

2.2.1.4. Enjeksiyon ve İnfüzyon İçin Tozlar

Enjeksiyon veya infüzyon için tozlar son kaplarında dağıtılan katı ve sterildir formlardır. Öngörülen hacimdeki steril bir çözücü ile çalkalandıklarında hızla berrak, pratik olarak partikülsüz çözeltiler veya üniform dağılım gösteren süspansiyonlar oluştururlar. Çözünme ya da süspansiyondan sonra, enjeksiyon ya da infüzyon için gerekliliklere uygundur. Parenteral uygulama için dondurularak kurutulmuş (liyofilize) ürünler de, enjeksiyon veya infüzyon için toz olarak kabul edilir.

2.2.1.5. Enjeksiyon İçin Jeller

Enjeksiyon için jeller, enjeksiyon bölgesinde etkin maddenin değiştirilmiş salımını garanti altına almak için uygun bir viskoziteye sahip olan steril jellerdir.

2.2.1.6. İmplantlar

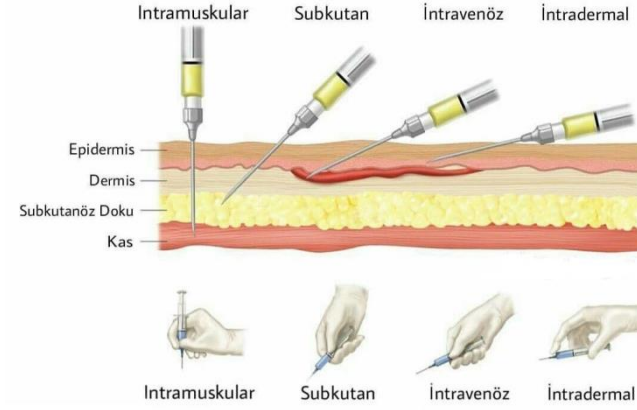
İmplantlar, parenteral implantasyon ve etkin maddenin uzatılmış süre boyunca salımı için uygun bir boyut ve şekle sahip steril, katı preparatlardır. Her doz, steril bir kapta tedarik edilir.

2.2.2. Enjeksiyonluk Dozaj Formları Uygulama Yolları

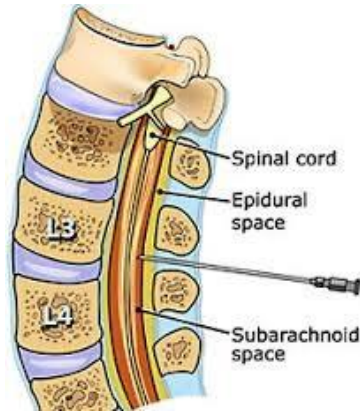
İlaçlar vücuda çeşitli yollarla taşınabilir. İlaç taşıyıcı sistemlerinin karakteristiği ve farmakodinamik özellikleri, ilaç için seçilen uygulama yoluna bağlı olarak değişir. Parenteral preparatlar bağırsak yolundan geçmez ve bu nedenle oral veya diğer formülasyonlarla ilişkili farmakodinamik özelliklere tabi değildir. Enjeksiyonluk

uygulamaların birçok yolu mevcuttur (6). Enjeksiyonluk dozaj formlarının başlıca uygulama yolları (7) :

- Deri arasına enjeksiyon: intrakütan (i.c.) veya intradermal enjeksiyonlar stratum korneumun altındaki epidermise yapılan enjeksiyondur. Sol kolun üst tarafı bu tip enjeksiyonlar için uygundur. Enjekte edilen hacim 0,1-0,5 mL arasındadır. Bu yol ile sistemik etki sağlanmaz, alerji ve teşhis testleri için kullanılır.
- Deri altına enjeksiyon: subkütan (s.c.) enjeksiyon dermisin altına yapılan enjeksiyonlardır. Enjekte edilen hacim 2 mL'yi geçmez ve pH ayarı yapılır. Aşılar, epinefrin ve insülin enjeksiyonları ve çok nadir olarak damarların kullanılmadığı durumlarda dekstroz ve elektrolit gibi büyük hacimli çözeltiler bu yolla verilebilir.
- Kas içine enjeksiyon: intramüsküler (i.m.) enjeksiyonda kalça ve omuz kasına uygulanır, enjekte edilen hacim en fazla 5 mL'dir. Yağlı ve sulu çözeltiler, süspansiyonlar ve emülsiyonlar kas içine verilebilirler, bu yol ile uzun etki sağlanır.
- Damar içine enjeksiyon: intravenöz (i.v.) enjeksiyon doğrudan damar içine yapılan enjeksiyondur. Enjekte edilecek hacim 1 mL ile 1000 mL arasındadır. Damar içine uygulanacak çözeltiler steril ve apirojen olmalıdır.
- Ekleme yapılan enjeksiyon: intraartiküler (i.a.) enjeksiyonlar lokal etki sağlamak amacıyla tedavi edilmesi gereken eklemlere uygulanan enjeksiyondur.
- İntratekal enjeksiyon (i.t.), subaraknoit bölgeye, beyin-omurilik sıvısına uygulanır, en fazla enjekte edilen hacim 10 mL'dir.
- İntrasisternal enjeksiyon (i.s.), beynin arka ve alt kısmındaki bölüme yapılır.
- İntrakardiyak enjeksiyon, kalp içine uygulanan enjeksiyondur.
- İntraoküler enjeksiyon, göz içine uygulanan enjeksiyondur.



Şekil 2-2: Enjeksiyonluk dozaj formlarının uygulama yolları.



Şekil 2-3: Intratekal enjeksiyon.

2.2.3. Enjeksiyonluk Dozaj Formlarının Avantaj ve Dezavantajları

Birçok ilaç sadece parenteral uygulama için uygun olduğu halde parenteral yol genellikle belirli koşullarda tercih edilen uygulama yöntemi olarak seçilmektedir.

Enjeksiyonluk Dozaj Formlarının Avantajları

- Birden fazla ilacın aynı anda, acil durumlarda ve özel dozlama rejimleri için uygulanması gereken durumlarda avantajlar sağlar. Çoğu zaman, kısıtlı tıbbi pencere için izlenmesi gereken ilaçlarla olduğu gibi optimal ilaç düzeylerini elde etmek için hastaya özel doz gereklidir. Ayrıca, belirli ilaçların parenteral olarak uygulanması ile, sürekli infüzyonlar ve hastaya özgü titrasyonlar elde edilebilir.
- Oral yolla alınan ilaçları tolere edemeyen ya da bilinci kapalı olan hastalar için parenteral ilaç alımı uygundur. Örneğin; fonksiyonel bir gastrointestinal sistemi

olmayan, oral yolla alımı kısıtlanmış, mide bulantısı veya kusma yaşayan hastaları kapsar. Bu hastalar için, parenteral dozaj formları etkili bir ilaç uygulama yoludur.

- Ayrıca, gastrointestinal sistemi atlamak, çok hızlı bir fizyolojik yanıt verebilir ve ilacın tamamıyla sistemik dolaşımını sağlayabilir. Örneğin, birçok antibiyotik, bazı oral antibiyotiklerin biyoyararlanımının sınırlı olması nedeniyle, oral yolla karşılaştırıldığında IV yol ile daha yüksek serum konsantrasyonları elde eder.
- Parenteral formların ağrı kesici ve acil durumlarda, hızlı etki başlangıcı ve biyoyararlanımı oral veya diğer formülasyonlara göre önemli bir avantajdır.
- Parenteral formlar aynı zamanda, romatizmal hastalıklarda kortikosteroidlerin intra-artiküler uygulanması gibi, lokalize ilaç verme avantajını da sunmaktadır.
- Enjeksiyonluk ilaçlar uzatılmış salınımlı ilaç olarak formüle edilebilir. Örneğin, kontraseptifler gibi belirli ilaçların depo enjeksiyon olarak uygulanması, tek bir enjeksiyonla uzatılmış bir etki sağlayabilir.

Enjeksiyonluk Dozaj Formlarının Dezavantajları

Parenteral uygulanan dozaj formlarının avantajlarının yanısıra potansiyel olarak önemli riskler ve dezavantajlar oluşturmaktadır.

- Parenteral ilaçlar, i.v. yolla olduğu gibi vücudun sistemik dolaşımına verilebildiğinden kolayca vücuttan uzaklaştırılmaz.
- Enjeksiyonluk dozaj formları, tam doğru ve sterilitiyi sağlayacak şekilde hazırlanmalı ve kontrol edilmelidir.
- Mikrobiyolojik açıdan kontamine olmuş preparatların hastaya verilmesi enfeksiyon ve potansiyel ölüm riski yaratır.
- Cam kırığı veya çökelti gibi fiziksel olarak kontamine olmuş parenteral dozaj formu damara veya artere uygulandığında bir emboliye neden olabilir.
- İmmünojenik aşırı duyarlılık reaksiyonları riski bulunmaktadır.
- Parenteral uygulamadaki genel maliyet, diğer formülasyonların maliyetinden yüksektir. İlaç maliyetinin yanısıra uygulama sırasında kullanılan tüp ve enjektör gibi sarf malzemeleri ve ilacı hazırlayan personel zamanını da

kapsamaktadır. Ayrıca, parenteral ilaçlar özel ve maliyetli ekipmanlara ihtiyaç duyabilir ve yalnızca uzman eğitilmiş personeller tarafından uygulanabilir.

- Parenteral ilaç alımıyla ilişkili yan etkiler için artan potansiyel nedeniyle, bu tür advers etkilerin hafifletilmesi daha fazla maliyet getirebilir.
- Parenteral ilaç alımıyla ilişkili artan potansiyel yan etkiler nedeniyle, bu tür advers etkilerin hafifletilmesi daha fazla maliyet gerektirebilir.

2.2.4. Farmasötik Teknolojide Kurutma Yöntemleri

Kurutma yöntemi farmasötik ve biyofarmasötik endüstrisinde sıklıkla kullanılan yöntemlerden biridir. Ürün yapısında bulunan mevcut suyun kurutma yöntemi ile uzaklaştırılmasının ürün stabilitesinin geliştirilmesi, işleme ve depolama kolaylığı, taşımacılık masraflarının azaltılması gibi birçok avantajı bulunmaktadır.

Genel olarak, kurutma yöntemi eş zamanlı işleyen üç aşamayı içerir. İlk olarak, enerji harici bir kaynaktan ürüne aktarılır. İkinci adım, sıvı fazın faz geçişi ile buhar veya katı faza dönüşümüdür. Son olarak, farmasötik üründen uzaklaştırılan buharın transferi gerçekleşir. Kurutulmuş partiküllerin özellikleri, sıcaklık, basınç, bağıl nem ve gaz besleme hızı gibi proses parametrelerinden ve ayrıca, yardımcı maddelerin kompozisyonu ve tipi, çözünenlerin konsantrasyonu, viskozite gibi özelliklerden etkilenir (36). Genellikle kullanılan kurutma yöntemleri, dondurarak kurutma, konvektif kurutma, köpükle kurutma, sprey kurutma, sprey dondurarak kurutma, süperkritik akışkanla kurutma, ve mikrodalga kurutma yöntemleridir.

2.2.4.1. Konvektif Kurutma

Konvektif kurutma, kurutma yöntemleri arasında en basit olan yöntemdir. Çözelti veya süspansiyon, ortamın bağıl nemi kontrol edilirken, sıcak hava veya ortam sıcaklığındaki havaya maruz bırakılarak kurutulur. Maya, probiyotikler, trombositler, antikorlar, enzimler gibi konvektif kurutmaya çok çeşitli biyolojik maddeler üretilir. Konvektif kurutmanın temel avantajı dondurarak kurutma yöntemiyle karşılaştırıldığında yalın bir yöntem olmasıdır. Bununla birlikte ortam sıcaklığındaki aşırı uzun kurutma süresi veya malzemenin yüksek sıcaklıklara maruz kalması ürün kalitesini düşürebilir. Ek olarak, konvektif kurutma, geniş yüzey alanlarına yayılmış küçük hacimler gerektirdiğinden işlemin ölçeklenebilirliği zayıftır. Elde edilebilir nihai su içeriği ile ilgili verilerin azlığı da bir endişe kaynağıdır. Birçok biyolojik üründeki

yüksek başlangıç su içeriği göz önüne alındığında, konvektif kurutma tek başına, biyoterapötik ürünlerin prosesi için uygun veya ekonomik bir seçenek olmayabilir (37).

2.2.4.2. Köpükle Kurutma

Köpükle kurutma, çözeltinin tek bir aşamada kurutulmuş köpük yapısına dönüştürüldüğü kurutma prosesidir. Genel yöntem, çözeltinin indirgenmiş buhar basıncı altında kaynatılması veya köpürtülmesini, ardından katılaşmış köpük yapısını bırakarak hızlı buharlaşmasını içerir. Köpük kurutmanın ortam sıcaklığına yakın çalışma yeteneği, enerji tüketimini azaltarak daha ekonomik proses sağlar ve ürün üzerindeki yüzey gerilimini azaltır. Köpükle kurutma yöntemi monoklonal antikor ve aşı üretiminde kullanılmaktadır (37).

2.2.4.3. Spray Kurutma

Spray kurutma, katı partikül üretmek için farmasötik uygulamalarda kullanılan en yaygın yöntemdir. Tek aşamalı proses olarak, istenen boyut ve morfolojiye sahip kuru partikül üretilebilir. Spray kurutma teknolojisi, atomizasyon, kurutma ve partiküllerin ayrılmasını içerir. Çözelti enjektörden kurutma haznesine püskürtülür. Damlacık oluşumu ve dehidrasyon, sıcak kurutma ortamında çok hızlı bir şekilde gerçekleştirilir. Elde edilen toz ürün siklona transfer edilir. Proses süresinin kısa olması nedeniyle inhalasyon ürünleri veya diğer uygulamalar için stabil protein tozları üretmek için uygun bir yöntem olmaktadır (36).

2.2.4.4. Spray Dondurarak Kurutma

Protein çözeltisinin kurutulmuş partiküllere dönüştürmek için kullanılan diğer etkili ve çok yönlü teknik, geleneksel dondurarak kurutma ve spray kurutma yöntemlerinin birleşimi olan spray dondurarak kurutma yöntemidir. Düşük sıcaklıkta atomizasyon, hızlı dondurma ve buzun süblimasyonu ile kurutma proses aşamalarından oluşur. Sıvı çözelti, sıvı azot gibi kriyojenik akışkan kullanılarak enjektör yoluyla bir buhar içine püskürtülür. Ürünün kimyasal bileşimi, protein çözeltisi konsantrasyonu, atomizasyon hızı, donma hızı ve kriyojenik sıvının sıcaklığı, elde edilen tozun yoğunluğu ve partikül büyüklüğü dağılımını belirlemede kilit rollere sahiptir.

Spray dondurarak kurutma yöntemi, mikropartiküller, liyofilize protein tozlarını hazırlamak için kullanılan bir yöntemdir ve pulmoner, intradermal, oftalmik, nazal gibi ilaç taşıyıcı sistemi uygulamalarında kullanılır. Partikül büyüklüğü ve dağılımı, yoğunluk, yüzey alanı ve hacim gibi spesifik fiziksel özellikler uygulamalarına bağlı olarak değişmektedir (36).

2.2.4.5. Süper Kritik Akışkanla Kurutma

Süperkritik akışkanla kurutmada, suyun uzaklaştırılması aşırı sıcaklık uygulanmadan hızla gerçekleştirilebilir. Bu yöntem ile ayarlanabilir partikül boyutu ve morfolojisine sahip büyük miktarlarda kuru biyofarmasötik ürün elde edilir. Süper kritik akışkanla kurutmada, kritik sıcaklık ve basıncın üzerinde etilen, metanol veya karbon dioksit gibi çözücüler kullanılmaktadır. Bir sıvının kritik sıcaklığı, ne kadar basınç uygulanırsa kullanılsın buharının sıvılaşmadığı sıcaklıktır. Bir gazı kritik sıcaklıkta yoğunlaştırmak için gereken basınç kritik basıncını tanımlar. Süper kritik akışkanlar, gazın penetrasyonu, sıvıların çözünürlüğü gibi gaz ve sıvının uygun özelliklerini gösterirler.

Süper kritik akışkanın yoğunluk, viskozite ve difüzyonunun kritik noktanın üstünde olması, çözücünün gaz ve sıvı halleri arasındadır. Kurutma yöntemi, kullanılan basınç ve sıcaklıkların modülasyonu yoluyla süper kritik akışkanın yoğunluğu ve çözücünün çözünürlüğünü ayarlayabilen çok yönlü bir işlemdir (36). Yöntem aerojel, metal kompozit, mikroeletromekanik sistemlerde, gıda endüstrisinde, ilaç endüstrisinde nanopartikül, mikropartikül, kolloidal partikül ve kompleks biyofarmasötik yapıların üretiminde kullanılmaktadır (38).

2.2.4.6. Mikrodalga Kurutma

Mikrodalga kurutma, geleneksel kurutma yöntemlerinden farklıdır. Mikrodalga kurutucularda kendisi ısı üretmez, fakat emilen enerji, ürünün içinde ısıya dönüştürülür. Mikrodalga enerjisiyle ısıtma, mikrodalga enerjisinin dipolar su molekülleri ve iyonik bileşenler tarafından emilmesi ile gerçekleştirilir. Taşıyıcı veya substrat, yavaşça kondüksiyon ile ısıtılır. Mikrodalga, elektromanyetik spektrumun bir parçasıdır ve 300 MHz ve 300 GHz arasında yer almaktadır. Kurutma işlemi için genellikle tercih edilen frekans 2,45 GHz'dir. Bu seviyede, mikrodalgalar moleküllerin titreşimine neden olur, titreşim moleküllerarası ısı oluşturur ve buharlaşma ile sonuçlanır.

Mikrodalga kurutma yöntemi; enzim, polimer ve maya üretiminde, gıda, farmasötik ve biyofarmasötik alanda sıklıkla kullanılmaktadır. Mikrodalga kurutma yönteminin en önemli avantajı, özellikle yüksek su içeriğine sahip ürünlerde kurutma süresini kısaltmasıdır (37).

2.3. Liyofilizasyon (Dondurarak Kurutma) Hakkında Genel Bilgiler

2.3.1. Liyofilizasyon Yönteminin Terminolojisi ve Tanımı

Liyofilizasyon veya diğer bir adıyla dondurarak kurutma, bir ürünün düşük sıcaklıkta dondurulması ve vakum uygulanması yolu ile çözücüsünün sıvı faza geçmeden doğrudan katı fazdan buhar fazına geçmesiyle (süblimleşme) uzaklaştırılmasını sağlayan bir farmasötik teknoloji prosesidir. Proses üç ayrı, kendine özgü ve birbirine bağlı proseslerden oluşur; dondurma, birincil kurutma (süblimasyon) ve ikincil kurutma (desorpsiyon) (5). Dondurarak kurutma işleminde proses süresince sıcaklık, kuru ürünün görünümünde ve özelliklerinde meydana gelebilecek değişikliklerden kaçınmak için düşük tutulur. Liyofilizasyon yönteminin amacı:

- Ürünün biyolojik aktivitesinin korunması
- Ürünün son ambalajında doğru ve steril dozlama sağlanması
- Ürün raf ömrü ve stabilitesinin uzatılması
- Isıya dayanıklı olmayan maddelerin kurutulması
- Soğuk depolama ihtiyacının giderilmesi
- Ürün ağırlığının azaltılarak taşıma maliyetinin azaltılması

Dondurarak kurutma yönteminin ilk uygulamalarının 15. yüzyılda İnka'lar tarafından uygulandığı ve dondurdıkları eti güneşin radyasyon ısıyla kuruttukları bilinmektedir. 1906 yılında ilk defa Paris Académie des Sciences'ta, Bordas ve d'Arsonval yayınladıkları makale ile duyarlı ürünlerin indirgenmiş vakum altında dondurularak kurutulabileceğini, oda sıcaklığında çok uzun süre stabil kalabileceğini ve bu tekniğin aşuların korunması için uygulanabileceğini göstermiştir (8).

1935 yılında Earl W. Flosdorf ve çalışma arkadaşları yayınladıkları araştırmada tekniğin adını, kuru ürünün rehidrate olabilme yeteneğini tanımlayan ve yunanca liyofil (suyu seven) kelimesinden türettikleri "liyofilizasyon" olarak tanımladılar (9). Dondurarak kurutma yöntemi endüstriyel olarak 2. Dünya Savaşı yıllarında

geliştirilmiştir. Dondurarak kurutma yöntemi ile kan kimyasal olarak stabil olarak, ek bir dondurucuya ihtiyaç duymadan sevk edilebilmiştir. Kısa bir süre sonra da penisiline uygulanmasıyla liyofilizasyon yöntemi gelişen önemli bir teknoloji haline gelmiştir.

Liyofilizasyon yönteminin uygulama alanları aşağıdaki gibidir:

- Proteinler
- Kan plazması ve kan fraksiyonlarında
- İnsan dokusu (arterler ve korneal doku)
- Bakteri ve virüs kültürleri
- Biyoteknolojik ürünler
- Diyagnostik ürünleri
- Bitki ekstraktları
- Farmasötik ürünler

Liyofilizasyon yöntemi sıklıkla enjeksiyonluk dozaj formlarının, biyoteknolojik ürünlerin üretiminde, ayrıca oral katı dozaj formları ve hızlı çözünme oranı istenen ürünlerin üretiminde kullanılır. Tıbbi ürünlerin üretimi haricinde dondurarak kurutma yöntemi gıda sanayinde kullanılan bir yöntemdir.

2.3.2. Liyofilizasyon Yönteminin Avantaj ve Dezavantajları

Liyofilizasyon yönteminin avantajları:

- Dondurulacak sıvı ürün aseptik olarak üretilir, steril operasyonlarla uyumludur.
- Sıvı ürünlerin dolum ağırlığı hassas bir şekilde kontrol edildiği için ürünün dolum ağırlığı doğrudur.
- Kurutma işlemi düşük sıcaklıklarda gerçekleştiği için ısıya duyarlı ürünlerin kimyasal bozunmasını azaltır.
- Üründeki su miktarı, ürünü ısıtmadan uzaklaştırılır.
- Dondurularak elde edilen kuru toz gelişmiş bir stabiliteye sahiptir.
- Dondurularak kurutulan ürünün yüksek yüzey alanına sahip olması hızlı ve kolay bir şekilde sulandırılmasını sağlar.

- Liyofilize toz ürünün uygulama öncesi sulandırılmasıyla elde edilen sıvı ürün doğru bir şekilde dozlanır.
- Denatürasyon oluşumu görülmez.
- Tuzların ve diğer çözünen maddelerin iyon göçü meydana gelmez.
- Uçucu madde kaybı daha az olur.
- Nem içeriği istenilen seviyede tutulabilir.
- Bitmiş ürünün su içeriği proses süresince kontrol edilebilir.
- Dondurularak kurutulan ürün uygun bir fiziksel forma sahiptir, partikül kontaminasyonu en aza indirilmiştir.

Liyofilizasyon yönteminin dezavantajları:

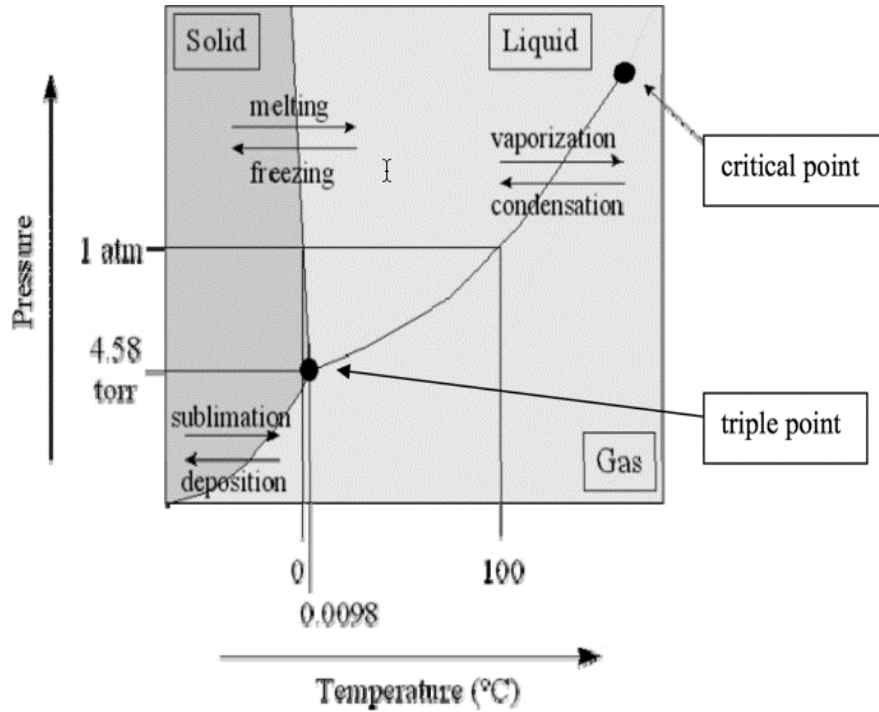
- Proses süresinin çok uzun olması
- Yatırım, işletme ve bakım maliyetleri çok yüksektir.
- Ekipman ve prosesin karmaşık olması kalifiye personel ve personelin sürekli eğitimini gerektirir.
- Yöntemin suda çözünmeyen çözücü içeren ürünlere adapte edilmesi zordur.
- Elde edilen ürünün sulandırılması için steril çözücü gereklidir.
- Katı haldeki ürünün stabilitesi, fiziksel durumuna bağlıdır.
- Genel bir kurutma yöntemi değildir, diğer yöntemlerle kurutulamayan kısıtlı sayıdaki pahalı ürünlerin kurutulması için kullanılır.
- Elde edilen ürünün poröz yapıda ve geniş yüzey alanına sahip olması nedeniyle oksidasyona eğilimlidir, bu nedenle ürün vakumla, inert gazla veya son kabı içinde ambalajlanmalıdır.

2.3.3. Liyofilizasyon Prosesi

Liyofilizasyon prosesi operasyonel olarak, kararsız ürünlerin vakumla kurutulması yoluyla kontrol edilebilen bir yöntem olarak tanımlanır. Teknik olarak, dondurarak kurutma aşağıdaki gibi tanımlanabilir:

- Sıvı numunesinin dondurulması, ardından suyun buza dönüşmesi ve kristalize olabilen çözünenlerin kristalleşerek, donmamış nem ile ilgili kristalleşmeyen çözünen içeren amorf bir matrisin yapının oluşması
- Donmuş buzun vakum altında süblimasyonu.
- Nemin amorf matriks yapıdan buharlaşması.
- Kurutulmuş kek içinde kimyasal olarak soğurulmuş suyun desorpsiyonu

Süblimasyon, katının (buz) sıvı faza (su) geçmeden doğrudan buhar fazına dönüşmesidir. Süblimasyon faz değişimidir ve meydana gelmesi için ısı enerjisi ve düşük basınç gereklidir. Liyofilizasyon, buzun süblimasyonuna izin vermek için, üçlü nokta altındaki sıcaklık ve basınç koşullarında yapılır. Bütün işlem düşük sıcaklıkta ve basınçta gerçekleştirilir.



Şekil 2-4: Faz diyagramı.

Liyofilizasyon, her adımın kritik olduğu çok aşamalı bir prosestir. Prosesin başarılı olması için tüm parametreler çok iyi tanınmalı ve sıkı kontrol altında tutulmalıdır. Ürün, yani etkin madde özellikleri muhafaza edilmelidir. Etkin maddeyi çevreleyen ortam hacim arttırıcı maddeler, stabilizatörler, emülsifiye edici maddeler, antioksidanlar, kriyoprotektanlar ve nem tamponlayıcı maddelerdir. Liyofilizasyon prosesinde kullanılacak ekipmanın (liyofilizatör) esnek, güvenilir ve nihai kullanım amacına yönelik olması gereklidir. Proses, spesifik gerekliliklere ve işlem altındaki farklı ürünlerin düşük sıcaklıktaki davranışlarına göre özgün durumlara adapte edilen bir prosestir.

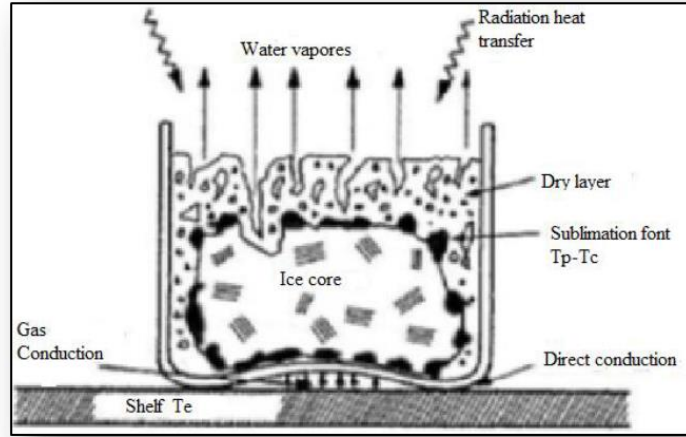
Bitmiş ürünün final şartlandırması ve depolama parametreleri, sadece bir maddeden diğerine değişkenlik göstermez, aynı zamanda ürünün beklenen terapötik ömrü ve pazarlama koşulları (örn. uzak tropikal ülkeler, uluslararası biyolojik standartlar vb.) ile ilişki içindedir. Diğer bir ifadeyle, dondurarak kurutma geleneksel bir denge değildir; farklı ürünlerde aynı şekilde uygulanmaz. Başarılı bir donma-kurutma işlemi için genel bir reçete yoktur ve “bir malzemenin dondurularak kurutulmaması” şeklindeki bir iddianın, prosesin her aşamasının, ürünle sistematik ve profesyonel bir şekilde ele alınana kadar hiçbir anlamı yoktur.

2.3.4. Liyofilizasyon Prensibi

Liyofilizasyon, sıvı fazdan geçmeden katı hal ile gaz halindeki durum arasındaki doğrudan dönüşümü içeren fiziksel bir olay olan süblimleşmeyi kullanır. Liyofilizasyon prensibi aşağıdaki gibidir:

2.3.4.1. Isı Transferi

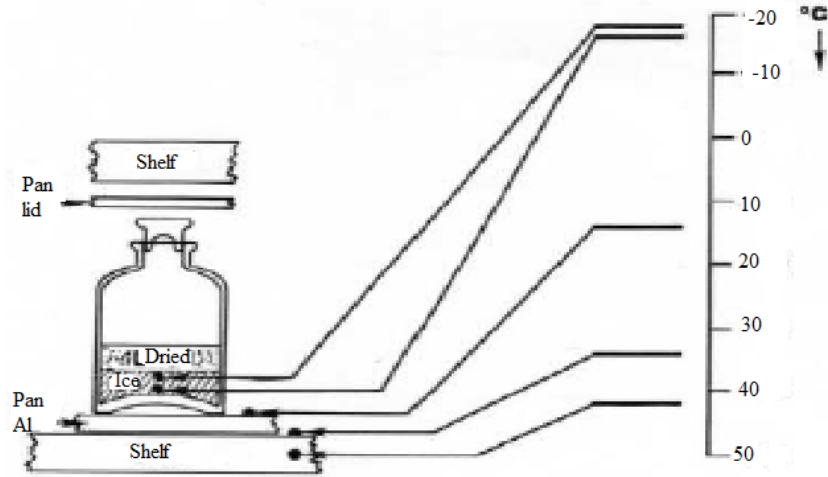
Isı, suyun süblimasyonu için gereken enerjiyi sağlar. Saf sudan oluşan buz kristali, kristal kafes olarak adlandırılır. Birçok molekül doğal titreşimler içerir, böylece termal enerji artar ve su moleküllerinin serbest kalma olasılığı artar. Su molekülleri serbest kaldığında, katının kuru yüzeyi boyunca yayılır ve süblimleşir. Numunenin dış yüzeyi kalınlaşır ve bu nedenle molekülleri kuru dış kabuktan geçirmek için daha fazla enerji gerekir. Ürüne ısı transferi üç bölüme ayrılır; doğrudan kondüksiyon, gaz kondüksiyonu ve radyasyon. Bu üç mekanizma yoluyla ısı enerjisinin transferi aşağıdaki Şekil 2-5'te gösterilmiştir (10).



Şekil 2-5: Isı transferi tipleri.

Kondüksiyon, ısı transferinde temel iletim yöntemidir, raf ile flakonun doğrudan temas halinde olduğunda raftan flakona ısı enerjisi iletilir. Kondüksiyon yoluyla ısı transferi kullanılan ürün kabının tipine bağlıdır, özellikle kalıplanmış flakonlar için ısı transferi düşüktür ve liyofilizasyon için tasarlanan tübüler flakonlar için bile sadece toplam flakon tabanının bir fraksiyonunu kapsar. İletilen ısı miktarı, şişe ve raf arasındaki sıcaklık farkı ile orantılıdır. Isı transferindeki itici güç, farklı katı maddeler arasındaki sıcaklık gradyanıdır. Isı transferi Fourier yasası ile modellenir. Katılar için, ısı transfer oranı, dirençlerin toplamına bölünmüş sıcaklık gradyanı olarak düşünülebilir. Isı transferine karşı dirençler Şekil 2-6'da gösterilmektedir.

Isı, elektrik bobinleri veya sıvı ile rafın iç kısmına verilir. İlk direnç, rafın iç kısmıyla yüzeyi arası sıcaklık farkıdır. Bir sonraki direnç, raf yüzeyi ve flakonların yerleştirildiği tepsinin üst yüzeyine kadar olan sıcaklık farkıdır. Üçüncü direnç, flakon içindeki ürün yüzeyi ve tepsi yüzeyi arasında sıcaklık farkı olan flakon camıdır. Dördüncü direnç, flakonun içindeki buz ve süblimasyon ara yüzeyindeki buz arasında bir sıcaklık gradyanı ile flakon içindeki dondurulmuş üründür.



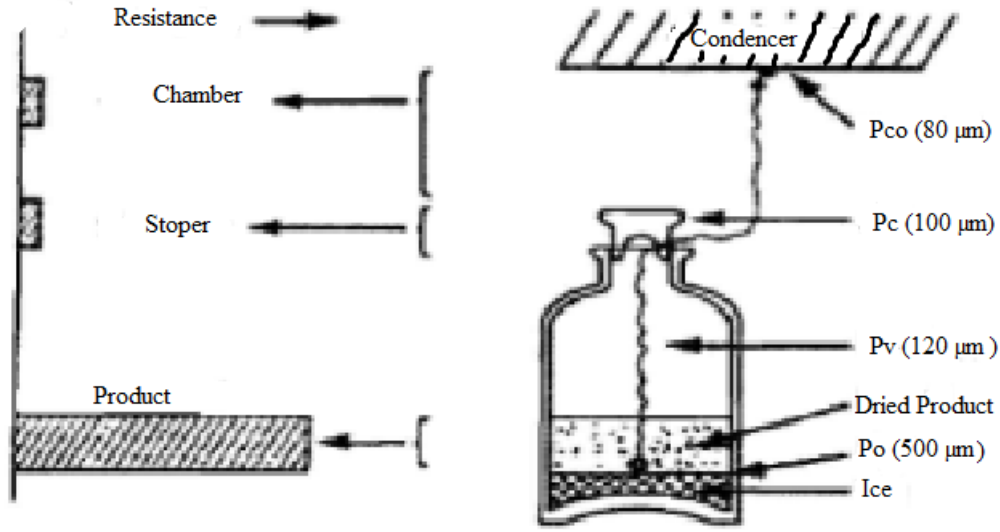
Şekil 2-6: Isı transferinde direnç.

Radyasyon yoluyla ısı transferi de liyofilizasyonda dikkate alınmalıdır. Radyasyonla ısı transferi, farklı sıcaklıklardaki iki yüzey arasında yani soğuk flakon ve raf, raf, ayrıca odanın kapı ve liyofilizatör hazne yüzeyi arasında gerçekleşir. Daha sıcak olan yüzey, daha soğuk elektromanyetik enerjiyi yayar, bu elektromanyetik enerji daha soğuk olan yüzey tarafından emilir. Radyasyon yoluyla ısı transferi yüzeyler ve sıcaklık farkına ve yüzeyler arasındaki mesafeye bağlıdır. Stefan-Boltzmann denklemi ile aşağıdaki gibi radyal ısı transferi modellenir.

Etkin yayılabilirlik katsayısı, liyofilizatör yapımında kullanılan yüzey malzemeleri için önemli bir parametredir. Akrilik cam yüksek emisyon gösterirken (0,95), parlatılmış paslanmaz çeliğin ki çok daha düşüktür (0,4). Farklı radyasyon özelliklerine sahip olan liyofilizatörler arasında yapılan transfer ve ölçek büyütme çalışmalarında bu katsayı dikkate alınmalıdır (10).

2.3.4.2. Kütle Transferi

Su buharının üründen kondansatör boyunca kütle transferi, akış hızını sınırlayan buhar akışına karşı dirençle belirlenir. En önemli faktör, kuru katmanın, ürün direnci (R_p) olarak adlandırılan kütle aktarımına olan direncidir. Süblimasyon fazında süblimleşen su buharının, kuru matriks yapıdaki küçük gözeneklerden nüfuz etmesi gerekir. Bu gözenekler, buz kristalleri süblimasyon ile uzaklaştırıldığında oluşur ve gözenek büyüklükleri, şekilleri ve interkoneksiyonları dondurma prosesinden etkilenir. R_p değerleri kuru kek tabakasının kalınlığına bağlıdır ve kurutma işlemi sırasında değişmektedir.



Şekil 2-7: Dirençler ve kütle transferiyle ilişkisi.

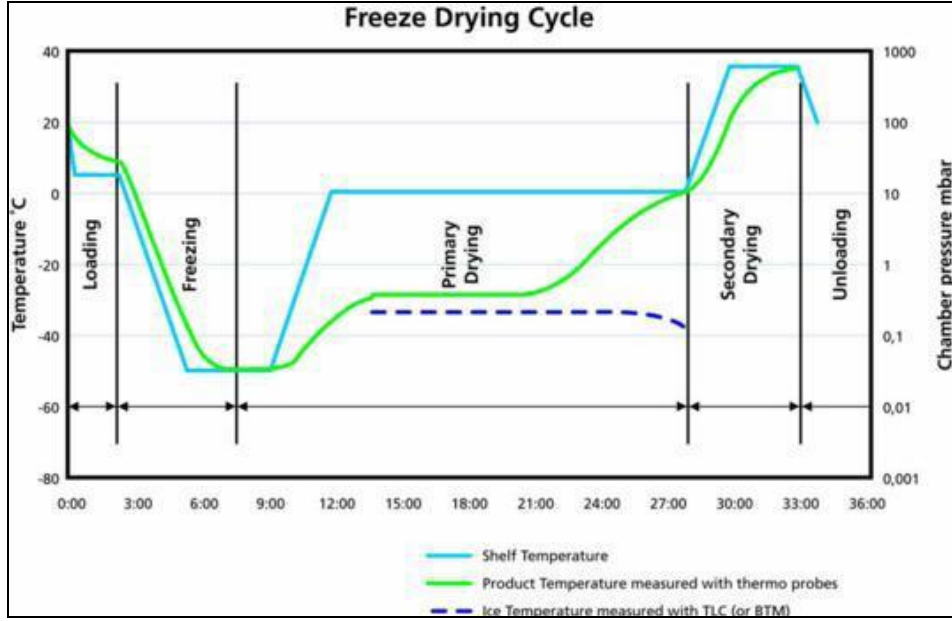
Birincil kurutmanın denge durumu süresince, ürüne transfer edilen ısı miktarı ile buzun süblimasyonunda çıkan ısı miktarı dengedir. Bu, esas olarak, ürüne transfer edilen tüm ısının süblimasyon yoluyla buz su buharına dönüştürmek için kullanıldığını ve ürün sıcaklığının sabit kaldığını varsaymaktadır. Bu basitleştirilmiş yaklaşım dondurarak kurutma işleminin sayısız modelleme yaklaşımlarının temelini oluşturmaktadır (10).

2.3.5. Liyofilizasyon Proses Aşamaları

Liyofilizasyon prosesi aşağıdaki aşamaları içerir ve proses döngüsü Şekil 2-8'de gösterilmektedir.

- **Dondurulacak ürünün hazırlanması** (katı, sıvı, emülsiyon fazında), ürünün temel özelliklerinin engellenmemesi için yüksek önem gerektirmektedir.
- **Dondurma**, malzemenin düşük sıcaklıkta katı haline gelerek donduğu adımdır. Çok kritik olan bu aşamada; tüm sıvılar, kristal, amorf veya cam gibi katı haline gelir. Çoğu kez su, kompleks bir buz ağına yol açar, ancak camsı yapılara gömülebilir veya hücre arası yapılarda az ya da çok sıkı bir şekilde bağlı kalabilir. Çözünen maddeler derişik hale gelir ve kristalleşebilir. Aynı zamanda, sistemin hacimsel genişmesi, artan hücre arası sıvı konsantrasyonu ile verilen ozmotik şokla birleşen güçlü mekanik strese neden olabilir (9).

- ***Sublimasyon fazı veya birincil kurutma***, vakum altında bulunan donmuş malzemenin, buzun süblimleşmesi için gerekli olan enerjiyi sağlamak üzere kademeli olarak ısıtılmasıyla gerçekleşir. Çok kritik olan bu aşama boyunca, ısı girişi (ısı transferi) ve su süblimasyonu (kütle transferi) arasında doğru bir denge ayarlanır, böylelikle kurutma aşaması, geri erime, şime veya çökme gibi donmuş malzemede ters reaksiyonlar meydana getirmeden devam edebilir. Isı girişinin donmuş malzemenin buharlaşma olasılığı ile ilişkilendirilmesi için çalışma basıncının sürekli ve hassas bir şekilde ayarlanması zorunludur. Desorpsiyon fazı veya sekonder kurutma, buz damıtıldıktan sonra başlar ve daha yüksek bir vakum, sıfırın altındaki sıcaklıklarda bağlı suyun ilerici ekstraksiyonuna izin verir. Bu, tekrar etmek kolay bir iş değildir çünkü aşırı kuruma, düşük maliyet kadar kötü olabilir. Her ürün için, belirli bir sıcaklık ve basınç altında uygun bir artık neme ulaşılmalıdır (9).
- ***Desorpsiyon fazı veya sekonder kurutma***, buz uzaklaştırıldıktan sonra başlar ve yüksek vakum, sıfırın altındaki sıcaklıklarda suyun ekstraksiyonuna izin verir. Bu kolay bir iş değildir çünkü aşırı kurutma, düşük kurutma kadar kötü sonuca yol açabilir. Her ürün için, belirli bir sıcaklık ve basınç altında uygun bir bakiye nem değerine ulaşılmalıdır (9).
- ***Son şartlandırma ve depolama***, ürünün ekipmandan çıkarılmasıyla başlar. Bu işlem sırasında, önceki adımlarda elde edilen kaliteyi kaybetmemeye özen gösterilmelidir. Bu nedenle şişeler ekipman içinde vakum veya inert gaz altında kapatılmalıdır. Bulk veya ampul ürünlerinin çıkarılması izolatörde yapılabilir. Su, oksijen, ışık ve kontaminantların hepsi önemli tehditlerdir, izlenmeli ve kontrol altında tutulmalıdır.
- ***Nihai depolama***, ürünlerin spesifikasyonuna göre oda sıcaklığında, 2-8 °C veya -20 °C'de gerçekleştirilir. Ürünün su buharı, oksijen (hava), ışık, aşırı ısı ya da steril olmayan ortama kontrolsüz maruziyeti dikkate alınması gereken başlıca faktörlerdir. Bu bağlamda ürün ambalaj malzemesinin bileşimi ve kalitesi (cam türü, tıpların elastomerleri) dikkate alınmaktadır.
- ***Sulandırma aşaması***, ürünün uygulama öncesi, yoğunluğunu geri kazanmak veya daha konsantre veya seyreltilmiş bir ürüne ulaşmak için su, tuz çözeltileri veya çözücülerle birçok farklı şekilde sulandırma aşamasıdır.



Şekil 2-8: Dondurarak kurutma proses döngüsü.

2.3.5.1. Dondurma Aşaması

Dondurma aşamasında ürün tamamen katılaşması için yeterince düşük bir sıcaklığa kadar dondurulur. Dondurma işlemi kritik bir aşamadır ve oluşan mikro yapı genellikle kurutma aşamasında elde edilen kuru ürünün mikro yapısını temsil eder.

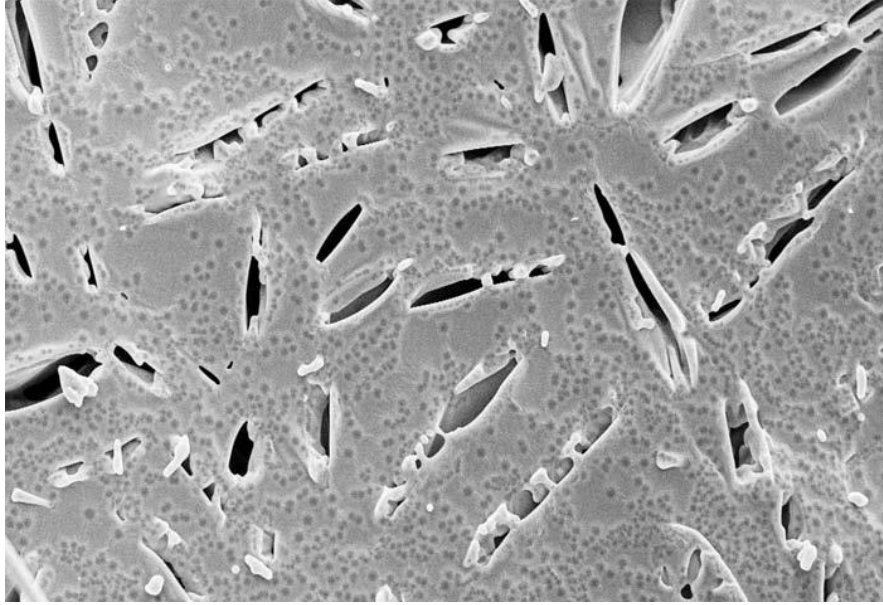
Dondurarak kurutulacak olan ürünlerin çoğu ötektiktir. Belirli bir ötektik karışımın en düşük donma veya erime sıcaklığı (T_{eu}) ötektik sıcaklık olarak adlandırılır. Birçok madde için ötektik sıcaklık belirlenebilir, ancak bazı maddelerde ötektik sıcaklık değeri mevcut değildir. Kristalizasyon birbirini etkileyen çeşitli faktörlere bağlıdır. Örneğin, soğutma hızı, başlangıç konsantrasyonu, soğuma son sıcaklığı ve bu sıcaklıktaki zaman. Bazı ürünlerde, kristalleşme gerçekleşmez ve ürün, amorf, cam benzeri bir fazda kalır veya her ikisinin bir karışımı oluşur.

Dondurma oranı kristallerinin boyutları üzerinde doğrudan etkiye sahiptir. Hızlı soğutma oranı ile küçük buz kristalleri oluşur, yapı korunduğu için mikroskobik olarak inceleme için faydalıdır ancak ürünün kurutulması zordur. Yavaş soğutma oranı birincil kurutma aşamasında daha kolay kuruyan büyük buz kristallerinin oluşmasını sağlar. Süblimleşmenin daha büyük olduğu ilk buz kristalleri ardında kalan gözenekler daha düşük bir kütle aktarım direncine neden olur. Yavaş soğutma oranının dezavantajı donma süresinin uzamasıdır. Bu nedenle, çok uzun donma süresinin olmaması ve

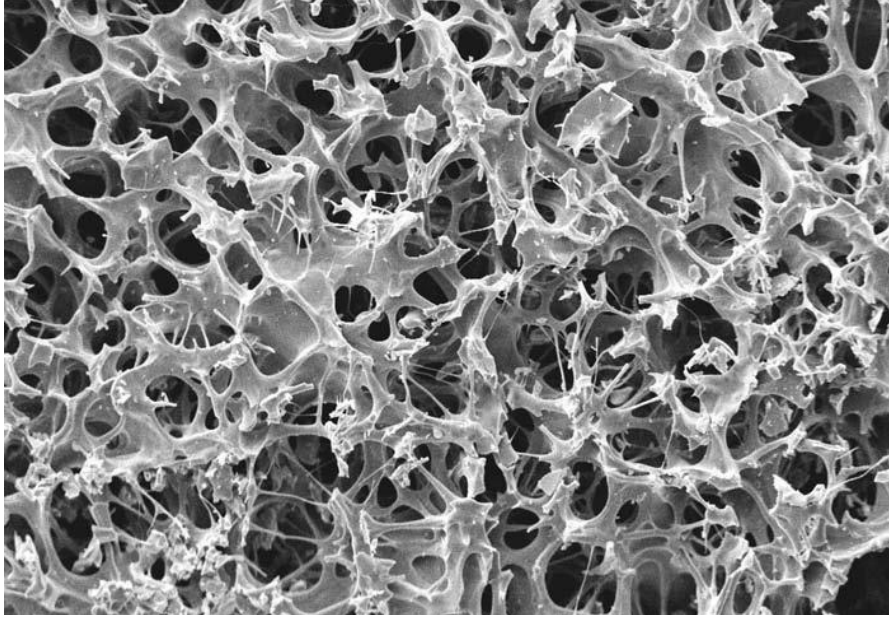
birincil kurutmada çok düşük kütle transfer direncinin oluşmaması için optimizasyon yapılmalıdır.

Seyreltilmiş çözeltilerde buz, soğutma süresince ya sıvı içinde soğuk raf yüzeyinden yukarı doğru hareket eden yada süper soğutulmuş sıvının tüm kütlelerinde aynı anda görünen sert özgül tohum bulutu olarak gelişebilir.

İlk durumda, özellikle soğutma hızı düşük olduğunda, üst katmanda katı konsantrasyonu artışıyla sonuçlanan alttan üste çözünme gradyanına neden olan ürünün krayokonsantrasyonu meydana gelebilir. Çoğu kez sonuç, proses sonunda kuru yüzeyde ince bir filmin oluşmasıdır, bu da sulandırma aşamasında problem yaratabilir ve kurutma aşaması sırasında su buharı (kütle) transferini engeller (Şekil 2-9, Şekil 2-10) (9).



Şekil 2-9: Dondurularak kurutulmuş pelletin üst yüzeyinin elektron mikroskobu ile taranması- su buharının uzaklaşması için membran yüzeyindeki yapı.



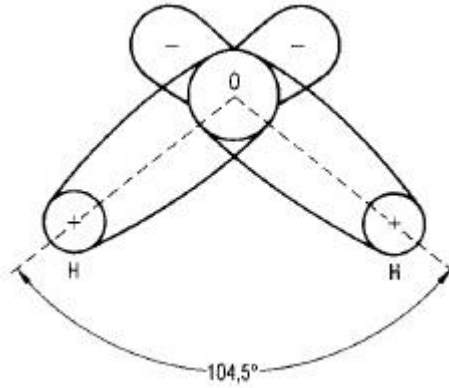
Şekil 2-10: Dondurularak kurutulmuş pelletin orta kısmının elektron mikroskobu ile taranması- buz kristallerinin süblimasyonu sonucu oluşan yoğun gözenekli malzeme.

İkinci durumda, nükleasyon sıvının tamamı boyunca bir kerede başladığında, donmuş kütlenin yapısı daha homojendir ve bu daha ince gözenekli bir kuru kek oluşumuna yol açabilir. Ancak süper soğutmanın derecesi önemliyse ve buz gelişimi oldukça hızlı ise flakonun kırılması ile sonuçlanabilir. Özel bir dondurma durumunda, işlemi daha iyi kontrol etmek için süper soğutmanın derecesine göre çözeltinin kristalleşme hızını ölçmek uygun olabilir.

Diğer bir mesele ise, süper soğutmanın bir raftan diğerine veya aynı rafta bile düzenli olmaması olabilir. Sonuç olarak, nükleasyon farklı sıcaklıklarda görülebilir veya işlem gören flakonlar arasında farklı yapılar oluşturabilir. Nükleasyon adımını eşit olarak kontrol etmek ve tüm batch için eş zamanlı hale getirmek için tüm ürünlerin yapısını kontrol etmek tavsiye edilir. Ultrasonik uyarıcıların akustik kullanımı bu probleme iyi bir çözüm getirmektedir. Eğer donma işlemi operasyonel nedenlerden dolayı gecikirse, sıvının flakon iç yüzeyi ile çok uzun bir süre temas halinde kalması sonucu çözelti ile cam yüzey arasında önemli bir etkileşim meydana gelebilir. Etkin madde adsorbe edilebilir veya sıvıya cam kimyasalları sızabilir. Sıvının kararsız bir emülsiyon olması ve prosesin hızlı olması gerektiğinde, dondurma işleminde kriyojeniklerden faydalanır (9).

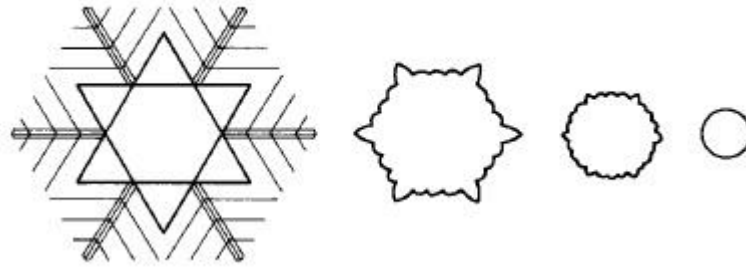
2.3.5.1.1. Suyun Yapısı

Su molekülü, yüksek sıcaklıklarda sıvı fazı üreten ve molekülleri saran bir yapı sağlayan belirgin bir dipol momentine sahip bir konfigürasyona sahiptir (Şekil 2-11). Bununla birlikte, kümeler de iyonsuz olarak su içinde bulunurlar; bunlar O – H – O grupları tarafından çevrelenmiş bir tetrahedral geometride yaklaşık 10 su molekülünden oluşur. Kümeler her zaman aynı moleküllere sahip sabit birimler değildir ve çevreleriyle sürekli olarak molekül değiştirirler. Donma gerçekleşene kadar sıcaklık düşürüldükçe kümelerin sayısı azalır (11).



Şekil 2-11: Su molekülündeki elektrik yükü konfigürasyonu.

Yabancı partiküllerden temizlenen suda, kümeler $-39\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de aşırı soğutulmuş suda kristalleşmeye başlar; buna homojen nükleasyon denir. Sudaki yabancı, çözünmemiş maddeler buzun kristalleşmesi için çekirdek olarak işlev görürler ve buna heterojen nükleasyon denir. Normal bir suyun partikül oranı 10^6 partikül/ cm^3 'tür. Bu partiküller kristalleşme için çekirdek olarak hareket eder, eğer bu partiküllerin yapısı suya benzerse, gittikçe daha etkili olurlar. Eğer bir çekirdek oluşmuşsa, dış kısım iç kısımdan daha hızlı oluşur ve soğutma hızına bağlı olarak yıldız yapısını üretir (Şekil 2-12). Daha fazla dondurma sırasında 60 ° 'lik bir açı oluştururlar. 1×10^{-9} mm^3 lük bir kristal için $2,7 \times 10^{10}$ adet molekül bir araya gelir. Böyle bir kristalin, saniyenin küçük bir bölümünde nasıl oluşacağını görselleştirmek zordur, ancak kristal oluşumunun birçok faktör tarafından etkileneceği açıktır.



Şekil 2-12: Suda buz kristallerinin oluşumu, soğutma soldan sağa doğru artırılmıştır.

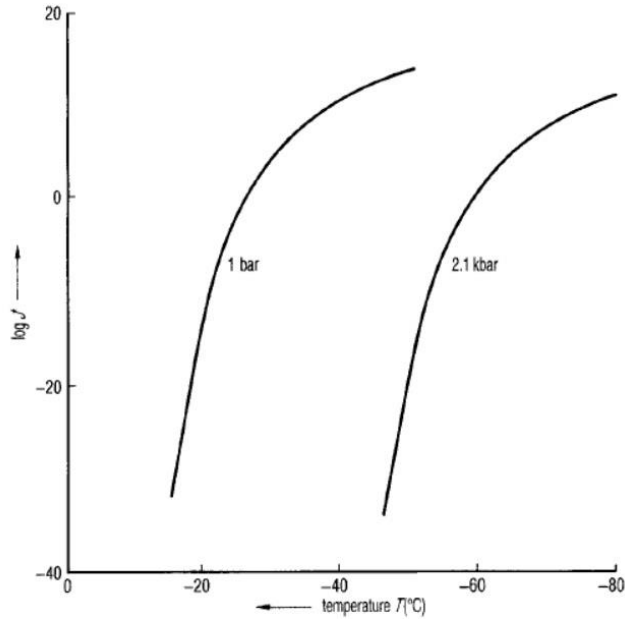
Nükleasyon oranı, farklı basınçlarda su-buz faz geçişinin sıcaklığının bir fonksiyonudur. Basınç altında su, çekirdeklerin gecikmeli oluşumu ile, daha fazla soğutulabilir. Kristallerin oluşumu, moleküllerin çekirdek yüzeyine difüzyonu ile belirlenir.

Büyük kristal oluşumu için:

- Nükleasyon oranı küçük olmalıdır, bu nedenle alt soğutma küçük olmalıdır;
- Donma, çözelti ve kristal arasındaki yarı-denge durumunda gerçekleşmelidir.
- Sıcaklık mümkün olduğu kadar yüksek olmalıdır.
- Kristalizasyon için verilen süre arttırılmalıdır, çünkü kristalizasyon hızı kristalin büyüklüğü ile ters orantılıdır

Az sayıda kristal oluşumu veya kristal oluşmaması için:

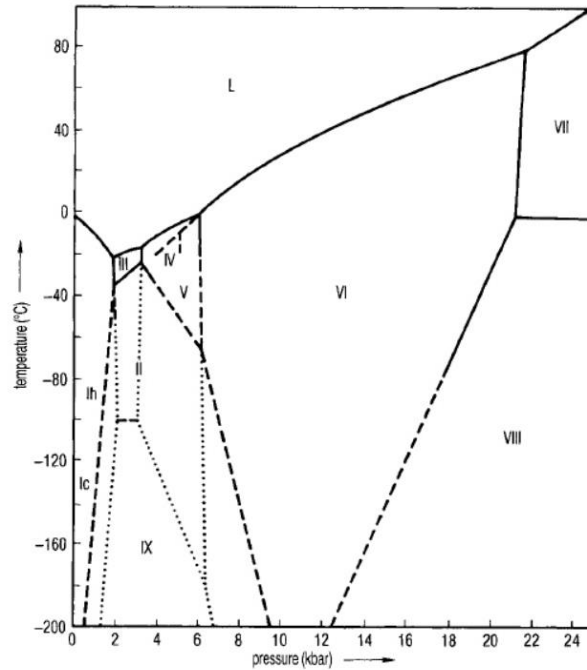
- Donma yüksek basınç altında gerçekleşmelidir (Şekil 2-13).
- Donma oranı, büyük ölçüde bir alt soğutma elde etmek için mümkün olduğu kadar yüksek olmalıdır.



Şekil 2-13: Nükleasyon oranı

J (Birim hacim ve zamandaki), su-buz faz dönüşüm sıcaklığının fonksiyonu olarak.

Saf suda, kübik buz fazı ve diğer fazlara sadece yüksek basınç altında ulaşılabilir (Şekil 2-14). -160 °C'nin üstündeki sıcaklıklarda fazlar, kübik ve psödo altıgen yapılarla sahip kristallerden oluşur.

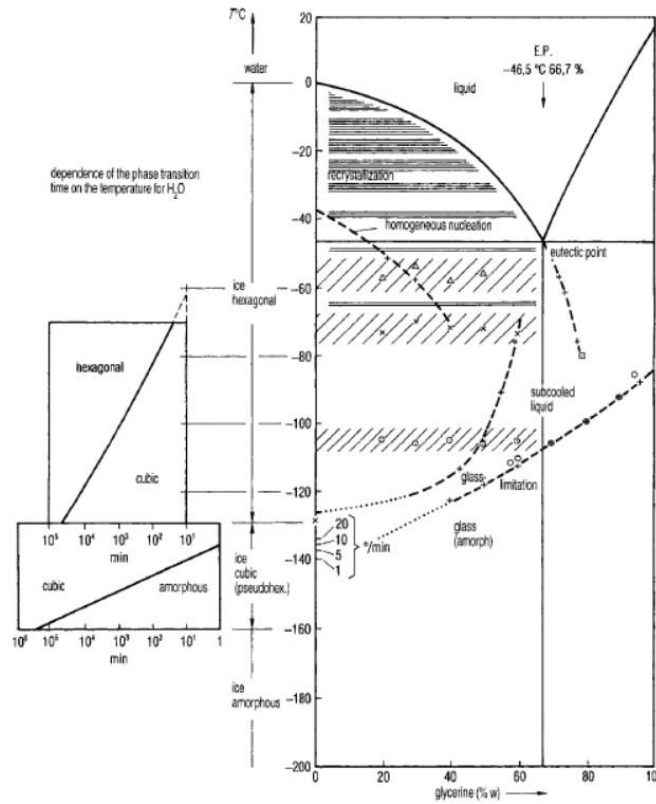


Şekil 2-14: Suyun faz diyagramı.

L=sıvı su, Ih=altıgen buz, Ic=kübik buz, III-IX buzun kristal şekli.

Şekil 2-15, normal basınç altında bulunan buzun üç fazını sıcaklığın bir fonksiyonu olarak göstermekte ve bir fazdan diğerine geçme süresini belirtmektedir. Su buharı soğuk yüzeyde çok ince film tabakası halinde yoğunlaşır, amorf buz oluşur ve çok uzun süre $-160\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de stabil olarak kalır. Amorf yapıdan kübik buz yapısına geçme süresi yaklaşık olarak 5×10^5 dakika veya yaklaşık bir yıldır. Aynı değişim hızı sıcaklığa bağlı olarak $-135\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de bir dakikadır. Bu faz değişikliği camsılaştırma olarak adlandırılır. $-125\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de kübik yapıdan altıgen buza geçiş süresi ~ 1000 saat sürerken, $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de yalnızca altıgen buz stabildir.

Özetle, amorf yapıdaki buz $-160\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'nin altında stabildir, $-125\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar amorf fazdan geri dönüşümsüz kübik buz, bu sıcaklığın üzerinde ise altıgen buz gelişir. -160 ile $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasında kübik buz, amorf yapı içine gömülü olabilir. Isınma sırasında bazı amorf buzlar doğrudan altıgen şekle dönüşür. -130 ve $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasında, zaman sıcaklığı fonksiyonuna bağlı olarak üç fazın tümü mevcut olabilir. Saf suyun bu davranışı sulu çözeltiler, süspansiyonlar ve karışımlar incelendiğinde, dondurarak kurutulacak hemen hemen tüm ürünler için değişmektedir.



Şekil 2-15: Su-gliserin faz diyagramı.

Sol tarafta, faz dönüşüm süresinin sıcaklığı üzerindeki ilişkisi görülmektedir: $-140\text{ }^{\circ}\text{C}$ amorf buz yaklaşık 10 dakikada kübik buza dönüşmektedir.

2.3.5.2. Ön Şartlandırma Aşaması

Ön şartlandırma aşamasında ürün donma sıcaklığının altına, camsı geçiş sıcaklığının üstünde bir sıcaklığa geçici olarak ısıtılmasıdır. Ön şartlandırmanın amacı, etkin veya yardımcı maddelerin kristalizasyon prosesine yardımcı olmaktır. Ön şartlandırma, kısmi bir tekrar dondurma adımıdır ve Ostwald olgunlaşması (yeniden kristalleşme) bu sistemlerde de görülür. Tipik bir ön şartlandırma aşamasında ürün tamamen dondurulduktan sonra, raf sıcaklığı en az 10–20 °C kadar çökme sıcaklığına (T_c) veya bu sıcaklığın üstüne çıkartılarak birkaç saat bu sıcaklıkta tutulur. Bekleme süresi sonunda raf sıcaklığı final dondurma sıcaklığına düşürülür ve liyofilizasyon prosesi başlar. Ön şartlandırma aşamasının faydaları:

- Buzun yapısını süblimasyon verimini artıran kristal bir forma dönüştürülür.
- Dondurma sırasında kristalleşmeyen çözünenlerin kristalizasyonu.
- Üründe daha homojen, kuru yapının sağlanması.
- Hızlı soğutma ile entegre edilen ön şartlandırma, numunede bir yüzey tabakasının gelişmesini en aza indirerek süblimasyonu kolaylaştırır.
- Ön şartlandırma, geliştirilen kurutma verimi ile daha gözenekli bir kek yapısı oluşturduğundan, geliştirilen çözünürlük ile kurutulmuş numunede daha düşük su içeriği elde edilebilir.
- Ön şartlandırma, ürün morfolojisine ve final ürün yüzey alanına etki eder.

Camsı geçiş sıcaklığının üstünde buz kısmen erir ve erime hızı buz kristallerinin boyutu ile ters orantılıdır. Su içeriğinin ve sıcaklığın artması camsı faz ve içindeki tüm bileşenlerin hareketliliğini teşvik eder. Ayrıca, Ostwald olgunlaşması, kritik bir büyüklükten daha küçük olan buz kristallerinin çözünmesini ve daha büyük kristallere birikimini kolaylaştırır ve olgunlaşmasına katkıda bulunur. Ortalama gözenek büyüklüğündeki artış ön şartlandırma zamanı ile doğru orantılıdır. Sonuç olarak, daha küçük buz kristali içeren numuneler büyük kristallere göre daha hızlı olgunlaşır ve batch içindeki gözenek yapısındaki heterojenliği ve kurutma davranışını azaltır (39).

Dondurma aşamasında ön şartlandırma, genellikle hacim artırıcı maddenin kristalizasyonu, ölçek büyütme çalışmalarında homojen ve tekrar üretilebilir buz kristali boyutu ve morfolojisini sağlamak ve/veya hızlı kurutma için düşük direnç elde etmek ve kütle transferini artırmak için buz kristali boyutunu artırmak için kullanılır (40).

Dondurularak konsantre edilen çözeltinin camısı geçiş sıcaklığı üzerindeki ön şartlandırma, sadece buzun yapısındaki değişikliklere izin vermez, aynı zamanda uyumsuz formülasyon bileşenlerinin faz ayrımı ile sonuçlanabilecek hareketliliğe izin verir (41).

Ön şartlandırma, liyofilizasyon döngüsünde dondurma aşamasının uzunluğunu artırmasına rağmen, ön şartlandırma işleminin kurutma verimliliğine etkisi nedeniyle genel olarak liyofilizasyon döngüsü süresini önemli ölçüde azaltabilir (20).

2.3.5.3. Birincil Kurutma Aşaması

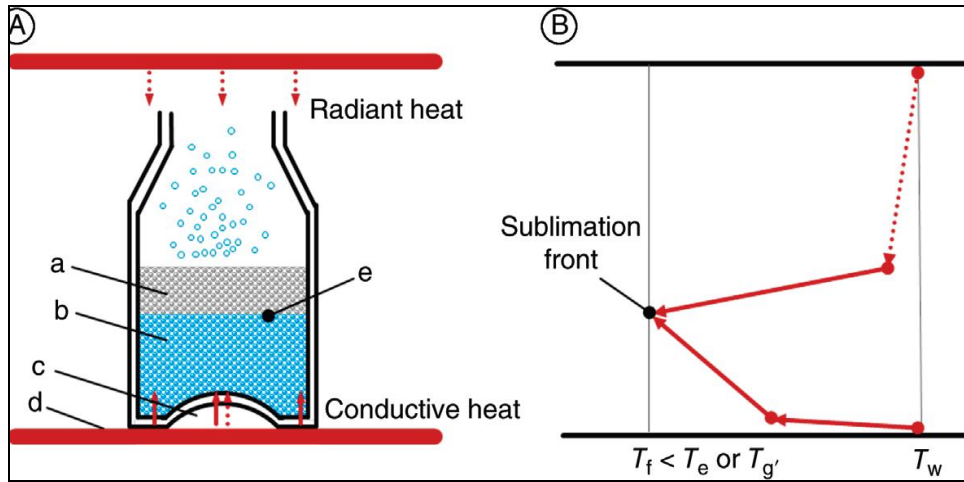
Birincil kurutma aşaması buzun süblimasyon aşamasıdır. Numune neminin %70 ile % 90'ını oluşturan buzun su buharına dönüştürüldüğü aşamayı temsil eder. Birincil kurutma sırasında tüm interstisyel buz kristalleri, vakum ve harici termal enerji varlığında katı matristen bir miktar suyla birlikte süblimleştirilerek uzaklaştırılır. Buz, sıvı ve buhar fazının birarada bulunduğu üçlü noktada atmosfer basıncının altında buz süblimasyon yoluyla doğrudan buhara dönüşür. Dondurulan numunenin süblimasyonu, çözünenlerin orijinal çözeltide veya süspansiyonda olduğu gibi uzamsal olarak düzenlendiği açık, gözenekli ve kuru bir yapıya neden olur.

Dondurularak kurutma prosesinin temeli, vakum altında buzun su buharına süblimasyonu ile bu buharın donmuş kütleden uzaklaştırılması arasındaki kritik dengenin korunmasına bağlıdır. Süblimasyonu sürdürmek için ürüne ısı enerjisi uygulanır. Kuruyan numuneden su buharı olarak elde edilen ısı ile numuneye verilen enerji miktarının dikkatli bir şekilde dengelenmesi gerekir. Bu denge korunmadığı sürece, ürün sıcaklığı düşerek kurutma verimliliğini etkiler ve ürün kalitesini tehlikeye atan erime ve çökmeyi tetikler. Kurutma hızı ve buharın uzaklaştırılmasını artırmak ve numune sıcaklığı arasındaki kritik denge, ısı ve kütle transfer denklemi ile tanımlanır. Süblimasyonun erken safhalarında dengenin korunması kolaydır çünkü kuru yapı buhar akışına minimum direnç gösterir. Bununla birlikte, kurutma ilerledikçe ve kuru katmanın derinliği arttıkça, buhar akışına direnç artacaktır ve proses sıcaklığı düşmedikçe numune ısınarak erime veya çökmek meydana gelecektir. Enerji girişinin azaltılması sonucu, kurutma oranını azalarak, proses döngü süresi uzayacaktır.

Dondurularak kurutmayı sürdürmek için, numuneden kondansatöre ve son olarak vakum pompasına basınç gradyanı oluşturmak gerekir, böylece su kurutma prosesi ilerledikçe numuneden taşınır. Suyun numuneden taşınmasını sağlamak için

numunenin sıcaklığı kondensatör sıcaklığından daha yüksek olsa da, sistem itici gücü numune ile kondensatör arasındaki sıcaklık farkından ziyade buhar basıncındaki farkı temsil eder.

Buz kristallerinin süblimasyonu için gerekli enerji raflar tarafından sağlanır. Bu enerji, kondüksiyon ve radyasyon mekanizmalarıyla vakum altında raflardan süblimasyon yüzeyine aktarılır. Bu proses sırasında, ısının, ürünün donmuş tabaka, raf, ürün taşıyıcı kap, raf yüzeyi ile kap tabanı arasındaki boşluk gibi bir iç ve birkaç dış bariyerden geçmesi gerekmektedir. Isıtma rafına yüklenen flakona doğru ısı transferi ve birincil kurutma sırasındaki sıcaklık profili Şekil 2-16'da gösterilmektedir (dondurarak kurutucunun yan duvarlarından radyasyonla ısı transferi ve gazla konveksiyon yoluyla ısı transferi gösterilmemektedir) (21).



Şekil 2-16: Flakon içinde kısmi dondurarak kurutulan ürünün radyasyon ve kondüksiyonla ısı transferi (A), birincil kurutma sırasında sıcaklık profili (B).

Şekilde görülebileceği gibi, birincil kurutma aşaması sırasında, ürün sıcaklığı (T_f) ötektik erime sıcaklığının (T_{eu}) veya camsı geçiş sıcaklığının (T_g) altında kalır. Aksi takdirde, ötektik kristal katı maddeler erir ya da amorf çözünen fazın viskozitesi düşer. Bu nedenle her iki faz değişimleri üründe yeterli akışa neden olabilir ve bu da buzun bitişindeki kurumuş bölgede gözenek yapısının kaybına neden olur. Dondurarak kurutulmuş üründe gözenek yapısının kaybı genellikle, kristalin erimesi veya amorf çökmesinden bağımsız olarak, "kek çökmesi" olarak bilinmektedir. Kek çöktüğü sıcaklığa çökme sıcaklığı denir; genellikle camsı geçiş sıcaklığının birkaç

derece üstündedir. Çökme sıcaklığı genellikle sadece amorf sistemlere uygulanır ve kristal sistemlerdeki ötektik erime sıcaklığına benzerdir. Optimize edilmiş kurutma döngüsü izin verilen maksimum ürün sıcaklığına yakın çalışmalıdır, yani kristal yapılar için ötektik erime sıcaklığına veya amorf yapılar için camsı geçiş sıcaklığına. Bu koşullar yerine getirildiğinde, dondurularak kurutulmuş ürün, iyi dehidrasyon özelliklerine ve kabul edilebilir bir görünüme sahip olan gözenekli kek formundadır (21).

Süblimasyon arayüzü, dondurulmuş numunenin üzerinde giderek daha derin bir kurutulmuş numune tabakası oluşturmak için donmuş numune boyunca hareket eden ayrı bir sınır olarak gözlenebilir. Süblimasyon arayüzü dondurma-kurutma işleminin gerçekleştiği bölge olduğundan, arayüz sıcaklığının izlenmesi ürünün izlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bununla birlikte, süblimasyon yüzeyi sürekli hareket ettiğinden, arayüz sıcaklıkları geleneksel sıcaklık problemleri kullanılarak etkin bir şekilde izlenememektedir. Süblimasyon arayüzü ayrı bir sınır olarak tanımlanmasına rağmen, bu yalnızca buz kristallerinin büyük, açık ve birbirine yakın olduğu ideal ötektik formülasyonlar için geçerlidir. Amorf formülasyonlarda süblimasyon yüzeyi daha geniştir ve amorf faza gömülmüş buz kristallerini içermektedir. Bu koşullar altında, buz, izole edilmiş kristaller içinde süblimleşmesine rağmen, su buharı, kurutulan numune matrisinden serbestçe transfer olana kadar amorf fazdan yayılır (20).

Süblimasyon verimli bir süreçtir, ancak birincil kurutmanın kesin süresi numune formülasyonuna ve kek kalınlığına bağlı olarak değişebilir. Süblimasyon verimliliğini artırmak için kondansatör sıcaklığını düşürmek yerine numune sıcaklığı artırılır. Yüksek proses sıcaklıklarının kullanılmasını sağlayan uygun yardımcı maddelerin seçilmesi numunenin kalitesinden ödün vermeden proses ve döngü gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (20).

2.3.5.4. İkincil Kurutma Aşaması

Birincil kurutma aşamasından sonra, ürün formülasyonuna bağlı olarak %5 ile %20 oranında buz oluşturmayan ve ürüne adsorbe olan su bulunmaktadır. Su kristalize üründe kristal yüzeyine bağlanabilir veya amorf ürüne dahil olabilir. Adsorbe olan suyun büyük bir kısmı uzaklaştırılmadıkça, numune yapısal ya da kimyasal olarak kararlı olmayacaktır. İkincil kurutma veya desorpsiyon, adsorbe edilmiş suyun difüzyon yoluyla uzaklaştırılmasıdır. Bu desorpsiyon hem zamanın hem de ürün sıcaklığının

fonksiyonudur. Süblimasyon aşamasında ikincil kurutma bir dereceye kadar gerçekleşirken, düşük raf sıcaklıklarında desorpsiyon oranı düşüktür. Bu nedenle raf sıcaklığı ikincil kurutma sırasında yükseltilir.

İkincil kurutma sırasında raf sıcaklığı ana faktördür. Hazne basıncı, basınç kontrolü azot ile yapıldığında, genellikle önemli bir faktör olarak kabul edilmez. İkincil kurutma, genel olarak 25-45 °C'lik raf sıcaklığı aralığında gerçekleştirilir. İkincil kurutmada raf sıcaklığı yavaş artırılır, çünkü hızlı sıcaklık artışı, amorf ürünün yüksek nem içeriği ve düşük camsı geçiş sıcaklığı nedeniyle ikincil kurutma sırasında çökme potansiyelini artırır. Kristal ürünler, ikincil kurutma sırasında herhangi bir çökme potansiyeli göstermediğinden, bu ürünler için daha yüksek bir ısıtma oranı önerilmektedir (43).

Dondurularak kurutulan ürünün stabilitesi, kalan su içeriğine bağlıdır ve ikincil kurutma süresi, ürün için hedeflenen nem limitine ulaşılacak şekilde optimize edilir. Üretim ölçeğinde ürünlerin spesifik yüzey alanı laboratuvar ölçeğine göre daha fazla iken, teorik olarak düşük desorpsiyon mesafesinden dolayı daha hızlı desorpsiyon oranıyla sonuçlanır. Sekonder kurutma, büyük ölçekli üretimlerde, raf ile ürün sıcaklığının dengelenmesindeki gecikmeler nedeniyle daha yavaş meydana gelir (42).

İkincil kurutma koşulları çözünen maddenin konsantrasyonuna da bağlıdır. Yüksek çözünen madde konsantrasyonunda, kurutulan ürün daha küçük spesifik yüzey alanına sahiptir ve adsorbe olan suyun uzaklaştırılması zorlaşır. Böylece ikincil kurutma daha uzun sürede veya daha yüksek sıcaklıkta gerçekleşir. İkincil kurutma için optimum süre, dondurarak kurutma prosesi sırasında numune alınarak ölçülebilir (43).

Adsorbe olan su, aynı sıcaklıktaki saf sıvı sudan daha düşük bir basınç uygular. Azalan basınç, suyun katı maddelere bağlanmasından kaynaklanır ve basıncın ne kadar azaldığını bağlanma kuvveti belirler. Su-katı bağının kuvveti, katı birim başına ilişkili su miktarı azaldıkça arttığından, ürün kurudukça su tarafından uygulanan basınç azalmaktadır. Belirli sıcaklıkta bir malzemenin su basıncı ve su içeriği arasındaki ilişkiyi veren sorpsiyon izotermi adı verilen diyagramlar vardır.

Suyun basıncı genellikle aynı sıcaklıkta saf su üzerindeki su (buhar) basıncına göre standardize edilerek ifade edilir. Standardize edilen su basıncı, su aktivitesi olarak adlandırılır ve sorpsiyon izotermi, genellikle bu gösterimi kullanır. Bir malzeme, sıcaklık değiştikçe, her nem seviyesinde, numunenin sıcaklığı arttıkça su basıncı artacak

şekilde farklı sorpsiyon değerlerine sahip olur. Adsorbe olan su molekülleri tarafından uygulanan su basıncı, suyu uzaklaştırmak için gereken kütle transferi itici gücünü belirleyen iki basınçtan biridir. Diğer basınç ise kondensatör basıncıdır. Teorik olarak numunedeki su basıncı kondensatördeki su basıncına eşit olduğunda kütle transferi tamamlanır. Sorpsiyon izotermi kullanarak, her numune sıcaklığı için nem içeriğini bulunabilir. Numune için bu sıcaklıktaki teorik olarak en düşük final nem içeriğidir. Gerçekte, son nem içeriği daha yüksek olur, çünkü su kaybı oranı, numune ile kondensatör arasındaki basınç farkı azaldıkça büyük ölçüde azalır (25).

2.3.5.5. Son Şartlandırma ve Depolama

Liyofilize ürünler aşırı higroskopiktir. Atmosferik ortama maruz kalmadan rehidrate olmasının önlenmesi için ikincil kurutma aşamasından sonra hava geçirmez kaplarda saklanırlar. Dondurarak kurutucular, ürün hazne içinde kısmi vakum altındayken ürünü kapatacak bir düzeneğe sahiptir. Proses başlangıcında hazne içine flakonlar kısmen kapatılmış olarak yerleştirilir. Raflar hareket eder ve böylece her raf bitişik rafta bulunan şişeleri / tıpaları aşağı iterek kapatır.

Ürünün kapatılmasından önce azot gibi inert bir gazla doldurulması, oksidasyon reaksiyonunun önlenmesi için kullanılan yaygın bir yöntemdir (65).

2.3.6. Yapısal Analiz Metotları

Dondurarak kurutmanın temel bir özelliği, hemen hemen her durumda, donmuş ürünün yapısı ve sıcaklığı arasında doğrudan bir korelasyon olmamasıdır çünkü tüm yapısal özellikler esas olarak malzemenin termal tarihine dayanmaktadır (9). Başarılı bir dondurarak kurutma prosesi büyük ölçüde donmuş ürünün yapısına bağlıdır ve bu yapıları daha niceliksel olarak analiz etmek ve anlamak için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Dondurulmuş maddenin elektrik direncinin yanı sıra, termodinamik davranışın dondurma prosesi ve dondurulmuş ürünü incelemek için de kullanılmaktadır

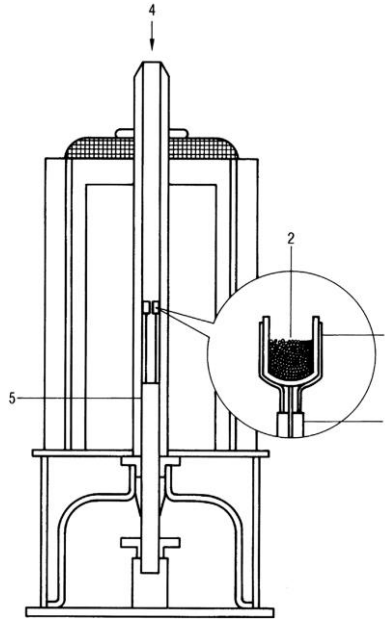
2.3.6.1. Elektrik Direncinin Ölçümü

Elektrik direncinin (ER) ölçümü, numunenin sıvı azot ile soğutulduğu ve elektrikle ısıtıldığı bir cihazla yapılır. Bir flakon içine yerleştirilen numuneye iki elektrot batırılır. İki elektrot arasındaki direnç 50 Hz'lik bir alternatif akım ile ölçülür. Elektrik direncinin ölçümü ve yorumlanmasında aşağıdakiler dikkate alınmalıdır (11):

- ER verileri, iyonların hareketliliğini sıcaklığın bir fonksiyonu olarak yansıtır.
- Numune boyutu, viallerdeki ürünle karşılaştırılabilir.
- Seçilen soğutma oranları, pilot ve üretim tesisindeki ile aynı ve ondan daha küçük olmalıdır.
- ER grafiğinin ilk türevi de hesaplanmalıdır.
- Ürün donmuşsa, cihazdaki numune flakonunun silindirik kısmı ısı transfer ortamından izole edilmelidir.

2.3.6.2. Diferansiyel Termal Analiz

Liyofilizasyon formülasyonlarında camsı geçiş sıcaklığı, ötektik ve erime sıcaklığı gibi termo fiziksel özellikleri incelemek için kullanılan diğer bir yöntem diferansiyel termal analizdir (DTA). Diferansiyel termal analizde numune ve referans aynı koşullar altında ısıtılırken, soğutulurken veya sabit bir sıcaklıkta tutulurken sıcaklık farklı ölçülür ve sıcaklık veya zamanın fonksiyonu olarak gösterilir. Bu, referans malzemede bulunmayan numunedeki ölçülebilir endotermik veya ekzotermik geçişlerin tespit edilmesini sağlar. Sıcaklık ölçüm cihazının yerleşimi ve sıcaklık ölçüm cihazlarına ısı akışındaki termal direnç DTA yönteminin dezavantajlarından biridir. Şekil 2-17’de DTA görünümü verilmiştir (11).



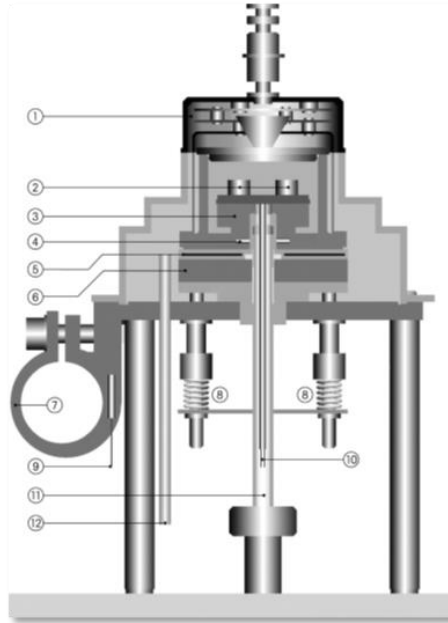
Şekil 2-17: DTA ölçüm hücresi.

1) numune potası, 2) numune, 3) sıcaklık ölçüm cihazı, 4) gaz girişi, 5) seramik destek

2.3.6.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri Analizi

Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC), zaman veya sıcaklığın bir fonksiyonu olarak endotermik ve ekzotermik enerjiyi ölçer. Erime, kristalleşme, camsı geçiş, çözücü kaybı ve enerji değişimini içeren prosesleri karakterize etmek için kullanılır.

Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile DTA'nın ölçüm prensibi aynıdır. Her ikisinde de numune ve referans bulunur. Farklı olarak güç telafisi prensibiyle çalışan DSC'de, numune sıcaklığı ile referans sıcaklığı aynı tutulur. Eğer numune ile referans arasında bir sıcaklık farkı saptanırsa, sıcaklığı aynı tutmak için numuneye verilen enerji miktarı değiştirilir. Bu yolla numunedeki faz değişimi sırasındaki ısı transferi miktarı saptanabilir. Toplam ısı akışı tersinir ve tersinir olmayan olarak ayrılabilir. Tersinir ısı akışı, özellikle toplam ısı akışı sinyalinde ya da tersinir olmayan durumlarda bulunması zor olan camsı geçiş durumlarını gösterir. Tersinir akış sinyali, ısı kapasitesini ve değişikliklerini hesaplamak için kullanılabilir. Tersinir olmayan bileşen, kristalleşme gibi kinetik olayları temsil eder. DTA ve DSC donmuş sistemin empedansı, erime meydana geldiğinde gözle görülür şekilde düştüğü için, düşük frekanslı elektrik ölçümleri ile avantajlı olarak birleştirilebilirler. Şekil 2-18'de DSC şematik görünümü verilmiştir (11).



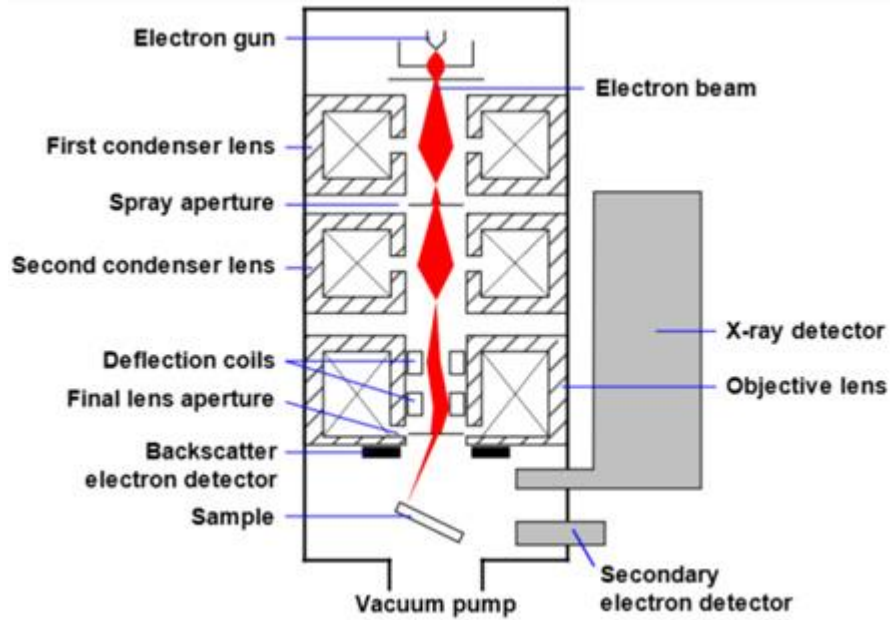
Şekil 2-18: DSC şematik çizimi

1) fırın kapağı, 2) DSC sensörü, 3) gümüş fırın, 4) PT100, 5) iki yalıtım diskisi arasındaki düz ısıtıcı, 6) soğutucu için termal rezistans, 7) soğutma flanji, 8) sıkıştırma yayı, 9) soğutma flanji PT100, 10) DSC ana sinyal amplifikatörü, 11) tahliye gazı girişi, 12) kuru gaz girişi (Mettler-Toledo GmbH, Gießen, Almanya).

2.3.6.4. Taramalı Elektron Mikroskobu Yöntemi

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), görüntü oluşturmak için bir yüzey üzerinde odaklanmış elektron ışınını tarar. Elektronlar numune ile etkileşime girerek numunenin yüzey ve bileşimi hakkında bilgi edinmek için kullanılabilir çeşitli sinyaller üretir (30).

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), dondurularak kurutulmuş katıların kek morfolojisini ve gözenek yapısını incelemek için kullanılan bir yöntemdir. SEM, yapı ve morfolojinin fazlar arası görünür bir fark olduğu durumlarda faz ayrımını incelemek için de kullanılır (Şekil 2-19).

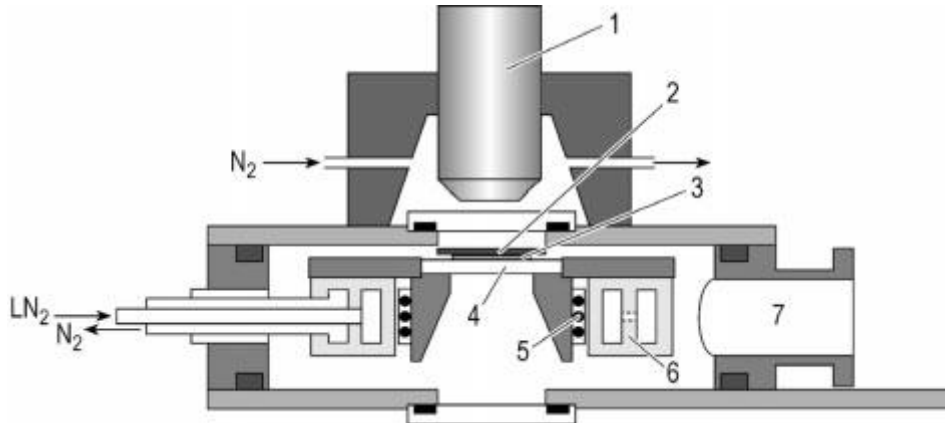


Şekil 2-19: SEM şematik çizimi.

2.3.6.5. Kriyomikroskop ve Dondurarak Kurutma Mikroskobu Yöntemi

Kriyomikroskopi ve Dondurarak Kurutma Mikroskopisi (FDM), çözelti ve formülasyonların dondurma ve liyofilizasyon davranışlarını doğrudan görüntülemek için kullanılan bir yöntemdir. FDM, ötektik sıcaklık T_{eu} , çökme sıcaklığı T_c gibi kritik formülasyon parametrelerinin, kristalizasyon olayının, katmanların oluşumunun, süblimasyonun, ön şartlandırmanın buz kristali oluşumu ve katı yapısı üzerine etkilerinin tanımlanabildiği bir yöntem olarak kullanılmaktadır.

FDM tasarımlarında, basınç kontrolü, numunenin kurutma bloğu ile iyi bir termal temas halinde olması ve şekilde cam kapak arasına sıkıştırılmış ince bir tabaka biçiminde olması nedeniyle önemsiz kılınmaktadır. Numuneye konveksiyonla ısı iletimi en aza indirilmekte ve numune haznesindeki basınç, numune sıcaklığına karşılık gelen buzun buhar basıncından daha düşük olmaktadır. Kısmen ince bir numunenin kullanılması, numune üzerindeki süblimasyon soğutmasının etkisini en aza indirir; aksi durumda sıcaklık kontrollü bloktan daha düşük bir sıcaklıkta yapılması gerekir (9). Şekil 2-20’de DSC şematik görünümü verilmiştir (11).



Şekil 2-20: Kriyomikroskop görünüşü.

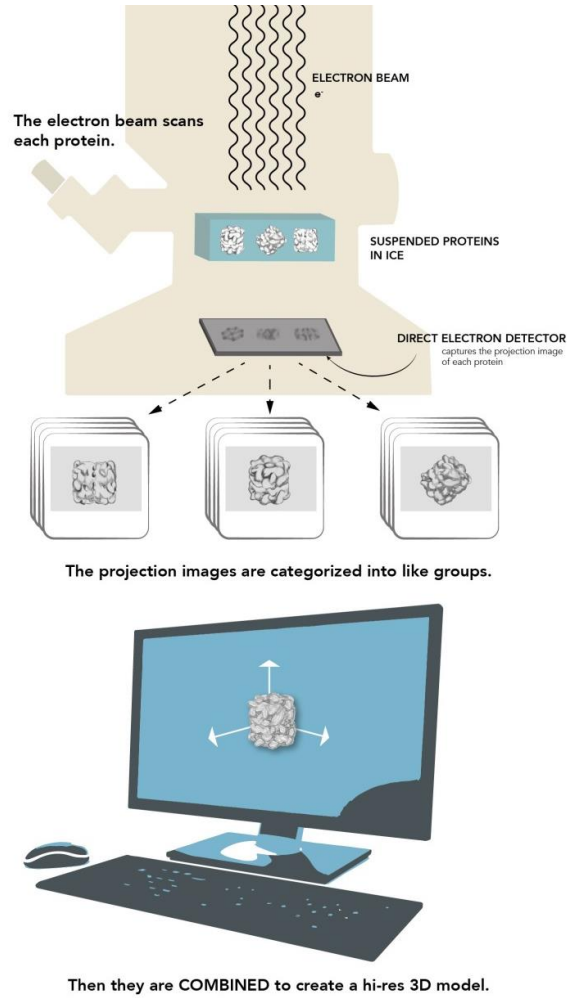
1-mikroskop objektifi, 2-cam kapak, 3-numune, 4-numune desteği, 5-elektirikli ısıtıcı, 6-sıvı azot bağlantılı soğutma haznesi, 7-vakum bağlantısı.

Kriyomikroskopi çalışmaları, dondurularak kurutulan ürünün ve yapısal değişiklikleri fotoğraflayarak gösterme avantajına sahiptir. Fotoğrafların kantitatif değerlendirmesine izin veren bir kriyomikroskop ünitesi dört farklı özelliğe sahiptir:

- Sıcaklık üretimi, ölçümü ve kontrolü programlanabilir.
- Mikroskop fotoğrafı, daha sonra kullanılmak üzere dokümanite edilebilir.
- Dokümanlar kısmi olarak otomatik fotoğraf tanıma için kullanılabilir.
- Dondurma prosesi matematiksel olarak tanımlanabilir ve hücrelerin proses boyunca davranışı tahmin edilebilir.

2.3.6.6. Kriyo-Elektron Mikroskobu Yöntemi

Kriyo-Elektron Mikroskobu (Cryo-EM), makromoleküllerin yapı ve fonksiyonlarını doğal ortamlarında bozunmadan izlemek ve görüntülemek için geliştirilmiş yöntemdir. Kriyo-Elektron Mikroskobu (Cryo-EM), protein çözeltisinin çok hızlı şekilde soğutularak su moleküllerinin kristalleşmeden amorf katı oluşturduğu vitrifikasyon prosesi ile başlar. Numune partikül konsantrasyonu, dağılımı ve oryantasyonu için görüntülenir. Elde edilen görüntü yüksek çözünürlükte sayısal olarak iki boyutlu ekstrakte edilir. Son aşamada iki boyutlu veriler, karmaşık biyolojik yapıların doğru, ayrıntılı, üç boyutlu modellerini veren bir yazılım ile üretilir. (19). Şekil 2-21'de Cryo-EM temel çalışma prensibi sunulmuştur (31).

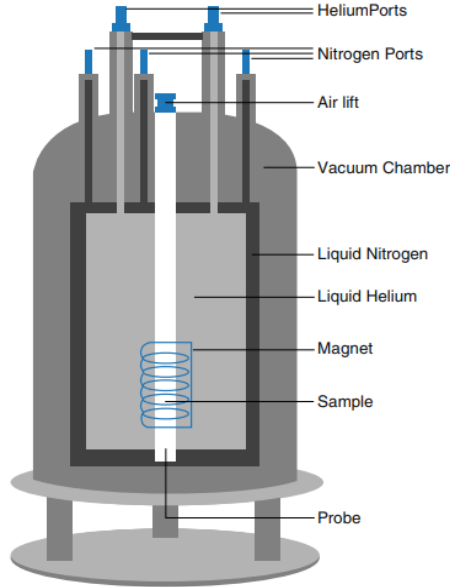


Şekil 2-21: Cryo-EM temel çalışma prensibi.

2.3.6.7. Nükleer Manyetik Rezonans Yöntemi

Nükleer Manyetik Rezonans (NMR), sulu çözeltiler ve protein çözeltilerinde dondurma sırasında suyun davranışını incelemek için kullanılan yüksek hassasiyette analitik bir yöntemdir. NMR kullanarak suyun diğer moleküllerle olan bağ yapısı, kristalleşmesi, donmamış suyun T_c 'ye olan etkisi, kurutma süresince konsantrasyon çözeltilerde camsı yapının değişimini belirlemek mümkündür.

NMR Spektroskopisi, kuvvetli bir manyetik alan içerisine yerleştirilen bir molekülde bulunan bazı atom çekirdeklerinin radyo frekansı alanındaki elektromanyetik ışınları absorblaması üzerine kuruludur, atom çekirdeğinin manyetik karakterine bağlı olarak, molekülün iskeleti hakkında bilgi verir. Şekil 2-22'de NMR spektrometresi sunulmuştur (32).



Şekil 2-22: NMR spektrometresi şematik görünümü.

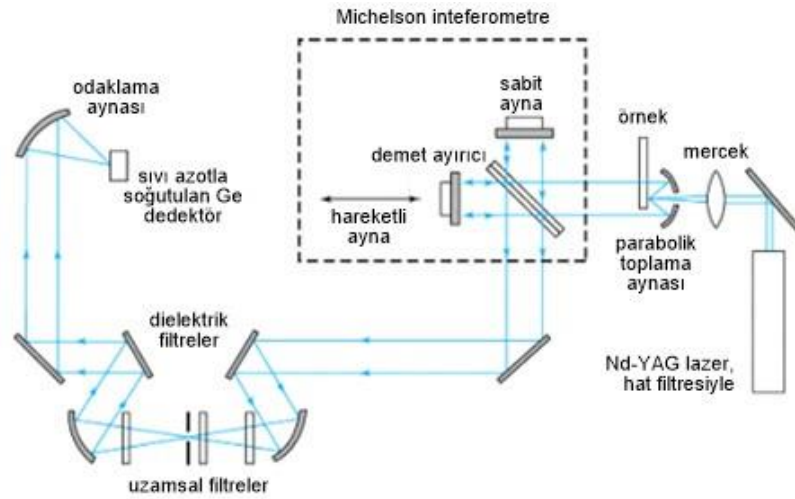
2.3.6.8. Termomekanik Analiz

Termomekanik Analiz (TMA), ısıtma veya dondurma sırasında sabit termomekanik kuvvet altındaki numunedeki boyutsal değişimi ölçmek için kullanılmaktadır. TMA yöntemi, T_g bölgesinde ve erimenin başlangıcında, koruyucuların donmuş çözeltilerinin mekanik özelliklerini araştırmak için ve çeşitli polimer eklenen farklı sakkaroz konsantrasyonlarının T_g bölgesindeki viskoelastik özellikleri üzerindeki etkilerini araştırmak için kullanılmıştır (33).

2.3.6.9. Raman Spektroskopisi

Bir numunenin monokromatik ışından oluşan güçlü bir lazer kaynağıyla ışınlanmasıyla saçılan ışının belirli bir açıdan ölçümüne dayanarak molekül içi ve moleküller arası kalitatif ve kantitatif bilgi edinilmesini sağlayan bir yöntemdir.

Malzeme bilimi, gıda bilimi ve ilaç endüstrisinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Raman, polimorfların araştırılması, tablet heterojenliği, protein yapılarının incelenmesinde, yardımcı madde etkileşimlerinde formülasyon incelenmesinde, in-line proses izlemede kullanılmaktadır. Dondurarak kurutma proseslerinde faz davranışları ve faz ayrımı çalışmalarında kullanılmaktadır. Şekil 2-23'te Raman cihazının şematik görünümü sunulmuştur (35).



Şekil 2-23: Raman spektroskopisi şematik görünümü.

2.3.6.10. Dielektrik Analizi

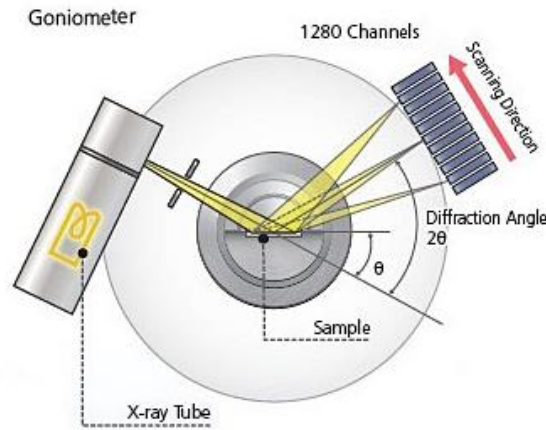
Dielektrik analizi (DEA), elektrik alanı varlığında moleküler hareketlilik tepkisine dayanır. Elektromanyetik bir alana yerleştirilmiş numunenin elektrik polarizasyon prosesinin büyüklüğünü ve frekansını ölçer. Düşük frekans sınırında, numunenin polarizasyonundan akan akım, uygulanan alanla faz dışıdır. Frekans arttıkça, elektriksel geçirgenliğin bileşeni, sistem daha yüksek frekanslara doğru gevşetirken uygulanan alanla aynı fazda olur (34).

Dielektrik analizi ile dondurarak kurutma prosesinin optimizasyonu aşağıdaki örneklerle sağlanabilir (11).

- Dielektrik gevşeme süresinin ürünün nem içeriğindeki kayba duyarlı olmasıyla dondurarak kurutma prosesinin sonu belirlenebilir.
- Bir malzemenin dielektrik tepkisi, kristal büyüklüğü ve hidratlaşma seviyesi ile ilgili olabilir.
- Yardımcı maddelerin camsı yapı oluşturma özelliği ve viskozitesi sıcaklık ve hidrasyondan kuvvetli bir şekilde etkilenir.

2.3.6.11. X-Işını Kırınımı Yöntemi

X-Işını Kırınımı (XRD) yöntemi, her bir kristalin kendine özgü atomik dizilimlerine bağlı olarak, X-ışınlarını karakteristik bir düzen içerisinde kırması esasına dayanır. X-Ray Difraktometre (XRD) yönteminde kristal faz amorf fazdan kolaylıkla ayırt edilir ve kristal yapıların kalitatif ve kantitatif değerlendirilmesi yapılabilir (Şekil 2-24). Bu yöntemle ayrıca bir maddenin hidrat ve polimorf özellikleri tanımlanabilir.



Şekil 2-24: XRD şematik görünümü (Shimadzu, XRD-6100/7000).

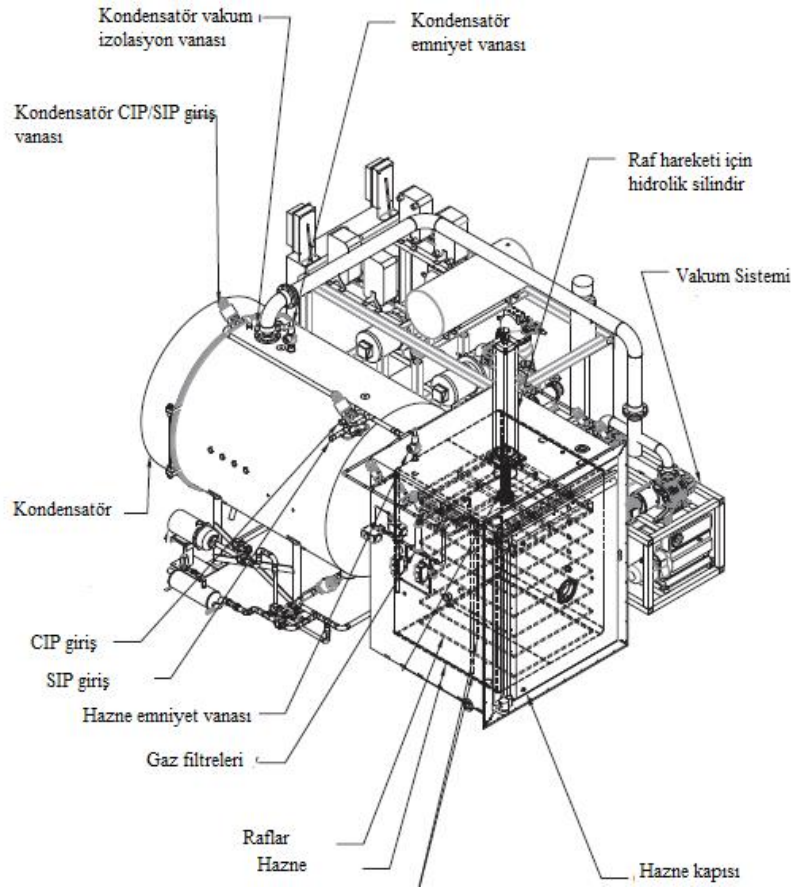
2.3.7. Liyofilizatör Tasarımı

Liyofilizasyon işlemi için gerekli koşullar liyofilizatör ekipmanı ile sağlanır. Liyofilizatörün düşük basınç koşulları altında süblimasyon için kullanılması liyofilizatörün karmaşıklığına ve maliyetine katkıda bulunur çünkü hazne vakumdan atmosfere kadar fark basınca dayanmalıdır. Liyofilizatör üretiminde buhar ve çok çeşitli dezenfektanlar temizlenebilmesi nedeniyle paslanmaz çelik kullanılır (20).

Farmasötik dozaj formlarının üretiminde kullanılan liyofilizatör sistemi aşağıdaki bileşenlerden oluşur (Şekil 2-25):

- Kurutma haznesi ve raf.
- Vakum sistemi.
- Kondensatör.
- Soğutma sistemi.
- Kontrol sistemi.

Liyofilizatörlerde ek bileşenler olarak; hazne ve kondansatör sterilizasyon sistemi, otomatik yerinde temizleme sistemi, otomatik flakon yükleme ve boşaltma sistemi, hazne içinde flakon kapatma sistemi bulunmaktadır. Liyofilizatörün şematik görünümü aşağıda verilmiştir (28).



Şekil 2-25: Liyofilizatör şematik görünümü, ASME 2014.

2.3.7.1. Kurutma Haznesi ve Raflar

Hazne, ısı transferini sağlayan akışkanın sirküle olduğu raf sistemine sahip, ürünün yerleştiği alandır. Kurutma haznesi; fanus, dikdörtgen, silindir veya ürün kabının yerleştirildiği manifold konfigürasyonunda olabilir. Haznenin iki temel fonksiyonu vardır:

- Tüm proses süresince ürün için güvenli ortam sağlamak.
- Prosesin her aşamasını gerçekleştirmek için gerekli olan sıcaklık ve basıncı sağlar.

Hazneler genel olarak paslanmaz çelikten üretilir ve yalıtımlıdır. Haznelerin temizlenmesi kolay, yüzeyler düzgün, köşeleri yuvarlatılmış olmalı, sızdırmazlığı sağlanmalı ve su buharı akışına karşı ölçülebilir direnç göstermemelidir. Hidrolik veya elektrikli motor ile kapı kapama düzeneğine sahiptir. Hazne kapısı paslanmaz çelik veya plastik malzemeden imal edilir.

Raflar ürün kaplarıyla uygun bir temas olmasını sağlamak için düz, düz yüzeyin korunmasını sağlamak için yeterli bir ağırlıkta imal edilir. Kapak kapama kuvvetine karşı dayanıklı olmalıdır. Raflarda sıcaklık kontrolü bulunabilir. Sıcaklık kontrollü raflar ısı transfer akışkanının sirkülasyonu için içi boş yapıdadır. Bu yapı ürünün daha iyi dondurulmasını ve sıcaklık homojenitesini sağlar. Sıcaklık kontrolü olmayan raflar, hazne içinde tüm ürüne eşit sıcaklık dağılımını sağlayamaz. Bu tip raflar genellikle bulk dondurarak kurutma işlemi için kullanılmaktadır.

Raf tasarımının proses süresince gerçekleştirilen fonksiyonlar nedeniyle karmaşık bir yapısı vardır. Raf, dondurma sırasında üründen enerji transferi, birincil ve ikincil kurutma sırasında ürüne enerji transferi nedeniyle ısı eşanjörü gibi hareket eder. Raflar soğutucu akışkan sistemine sabit veya esnek hortumlarla bağlanmaktadır (23). Raflar süblimasyon için gizli ısı sağlamak üzere konduksiyon ile ısıtılır. Bu durumda ortam, ürünün süblimasyonu için ısı sağlar.

Dondurularak kurutma prosesinde enerji değişimi sıvının raflardan istenilen sıcaklıkta sirkülasyonu ile gerçekleşir. Sıcaklık, soğutma eşanjörü ve elektrikli ısıtıcıdan oluşan harici ısı eşanjörü sistemi ile ayarlanır. Sirküle olan sıvı genellikle silikon yağıdır, pompa vasıtasıyla kapalı bir devre içinde düşük basınçta pompalanır (24).

Raf sisteminin performansı, soğutma/ısıtma performansı, soğutma/ısıtma oranı, sıcaklık dağılımı ve raf tekdüzeliği ile ilgilidir. Rafların, dondurarak kurutma proses basamaklarını uyuracak yeterlilikte olması gerekir. Soğutma ve ısıtma yeterliliği liyofilizatör raflarının ulaşabileceği maksimum ve minimum sıcaklıkları ifade etmektedir. Bu sıcaklıklara ne kadar hızlı ulaşılabilirdiği, soğutma ve ısıtma oranına bağlıdır. Sıcaklık dağılımı ve raf sıcaklığı homojenitesi, ürün tekdüzeliğini, kalitesini ve proses verimini önemli ölçüde etkiler (21).

2.3.7.2. Vakum Sistemi

Vakum sistemi, kondensatöre ve kurutma haznesine bağlı vakum pompasından oluşur. Kurutma haznesindeki yoğuşmayan gazların uzaklaştırılması ve hazne kondensatör hava basıncının düşürülmesinde kullanılır. Kondensatör sistemi ile birlikte birincil ve ikincil kurutma işlemlerinin gerçekleşmesi için gerekli basıncı sağlar. Vakum pompası, üçlü noktanın altına düşerek, kurutulan üründen buhar moleküllerinin ortalama serbest yolunun artırılmasını sağlar (22). Vakum performansı, vakum pompası düşürme oranını ve pompa sisteminin belli bir basınç seviyesine ulaşması için gereken süreyi ifade eder.

Dondurarak kurutucularda çalışma aralıklarına göre farklı vakum pompaları veya pompa kombinasyonları kullanılır. Düşük basınçlar, iki kademeli santrifüj vakum pompasıyla sağlanabilir. Yüksek pomplama kapasitesinin gerekli olduğu endüstriyel dondurarak kurutucularda hızlı pomplama süresi, yüksek pomplama hızı, kurutma aşamasındaki düşük basınç, yüksek işletme güvenilirliği açısından pompa kombinasyonları kullanılır. Dondurarak kurutucularda kullanılan vakum pompaları ya mekanik olarak yağlamalı ya da yağsız pomplama sistemidir.

2.3.7.3. Kondansatör

Haznenin ilk başta havasını boşaltmak ve proses sırasında sızabilecek havayı atmak için uygun bir vakum pompası kullanılırsa, vakum pompaları üründen süblime olan su buharını sürekli olarak uzaklaştırılmaz. Bu nedenle üründen uzaklaştırılan su buharını yoğunlaştırmak için proses kondansatörü kullanılır. Kondansatörün amacı, üründen süblime olan buharı çekerek yoğunlaştırmak ve tekrar kondansatör üzerinde katı forma dönüştürmektir. Süblimasyon sonucu buz kondansatörde yüzeyinde birikir ve dondurarak kurutma proses döngüsü sonunda defrost ile temizlenir.

Kondansatörler, serpantin veya plakalardan oluşur. Hazne içine yerleştirilen kondansatörler dahili, hazne ve pompa arasına yerleştirilen kondansatörler harici kondansatör olarak adlandırılır. Harici kondansatörler fiziksel olarak haznenin arkasına yan, alt veya üst konuma yerleştirilir. Dahili kondansatörde serpantin veya plakalar küçük ekipmanlarda rafların altına ve büyük ekipmanlarda rafların arkasına yerleştirilir. Her iki tasarımın da avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır.

Kondansatörün performansı, kondansatörün kapasitesi ve soğutma sıcaklığı ile ifade edilir. Kondansatörün kapasitesi, kondansatörün soğutma yüzeyinde (serpantin veya plaka) birikebilecek maksimum buz miktarının ağırlık olarak tanımlanmasıdır. Maksimum buz miktarı, soğutulan kondensatör yüzeyinin alanına bağlıdır. Yüzey alanı, buzu maksimum kalınlıkta yoğunlaştırmaya yetecek kadar büyük olmalıdır. Raf alanı ne kadar büyükse o kadar fazla ürün dondurularak kurutulur ve daha fazla buharın yoğunlaşması gerekir. Bu nedenle soğutma yüzeyi alanı ile raf alanı birbirine uyumlu olmalıdır. Kondansatörün minimum sıcaklığı kurutma sırasındaki set edilen basınca bağlıdır. Ayar noktası, cihaz için doyma sıcaklığından çok daha düşük bir değer olmalıdır. Set değeri faz diyagramındaki su buharı basıncı için karşılık gelen doyma sıcaklığından daha düşük bir değer olmalıdır (21).

Süblimasyon süreci doğrusal olarak gerçekleşmez. Birincil kurutmanın ilk çeyreğinde su buharının büyük bir kısmı süblime olur. Su buharının kondensatöre taşınması ve akış yönü büyük ölçüde ekipmanın geometrik dizaynına bağlıdır. Kondansatör ile hazne arası bağlantı dizaynı düz olmalıdır. Toplam serpantin alanında uniform yoğuşma sağlanması için kondensatör serpantini giriş ve çıkış sıcaklığı arasındaki fark düşük olmalıdır. Kondansatör dizaynı su buharının tamamıyla donmasını sağlamalı ve kalan su buharının basıncı buz yüzeyinde buhar basıncıyla pratik olarak eşit olmalıdır (11).

2.3.7.4. Soğutucu Sistem

Dondurarak kurutma sisteminde soğutucu sistem olarak buhar sıkıştırımlı soğutucu sistemi veya sıvı azot sistemleri kullanılmaktadır. Kompresörler hem rafları soğutmak hem de kondensatörü soğutmak için kullanılır. Kondansatör için soğutucu doğrudan serpantin veya plakalara enjekte edilirken, raflar çoğunlukla ısı transfer akışkanı ile soğutulur. Bu nedenle, kondensatör sıcaklığı raflardan daha düşüktür.

Buhar sıkıştırırmalı soğutucu sistemde, ısı transfer akışkanı kapalı bir devre içinde dolaşır ve faz değişimi ile soğutma işlemi gerçekleşir. Sistemde kompresör, evaporatörden gelen düşük basınçtaki doymuş buhar halindeki soğutucu akışkanı sıkıştırarak basınç ve sıcaklığını yükseltir. Kompresörden yüksek basınçta çıkan soğutucu akışkan kondensatöre gelir burada çevreye ısı (yoğunlaşma gizli ısı) atarak yoğunlaşır. Kondansatörden sıvı olarak çıkan soğutucu akışkan bir genişleme vanasından geçirilerek basıncı düşürülür. Düşük basınçta evaporatöre giren akışkan burada buharlaşır. Buharlaşma gerçekleşirken soğutulan ortamdan ısı (buharlaşma gizli ısı) çekilir ve böylece soğutma olayı gerçekleşmiş olur ve döngü tekrarlanır.

Küresel ısınma ve ozon tabakası incilmesi nedeniyle uluslararası düzenlemelerle soğutucu akışkan olarak kloroflorokarbonlar (CFCs) ve hidrokloroflorokarbonlar (HCFC) içeren soğutucuların kullanımı yasaklanarak florin bazlı hidroflorokarbon (HFC) içeren soğutucu gazların kullanımına başlanmıştır (26). R407A, R404A, R22 gibi gazlar oğutucu akışkan olarak kullanılan gazlardır.

Sıvı azot sistemleri kompresörlü soğutma sistemine alternatif olarak kullanılmaktadır. Azotun kaynama noktası $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'dir ve buharlaşma için 199 kJ ısı gereklidir. Bu nedenle sıvı azot soğutma sisteminin birçok avantajı bulunmaktadır, sistemin avantajları (27).

- Çok düşük sıcaklıklara ulaşabilir, hızlı soğutma ve dondurma sağlar.
- Elektrik enerjisi ihtiyacını azaltır.
- Kondensatörün sıcaklık kontrolünü sağlar.
- İkincil kurutma süresini düşürür.
- Kompresör sistemine göre yatırım ve bakım maliyeti düşüktür.
- Gürültü seviyesi düşüktür.

2.3.7.5. Kontrol Sistemi

Liyofilizasyon prosesi süresince parametrelerin kontrolü önemlidir. Kontrol sistemleri prosesin kontrol, izleme ve dokümantasyonunu sağlar. Endüstride kullanılan liyofilizatör kontrol sistemleri İyi Üretim Uygulamaları (GMP) ve İyi Otomasyon Uygulamaları (GAMP) standartlarına uygun veri tabanlı kontrol ve izleme sistemleri (SCADA) ve programlanabilir mantık kontrolü (PLC) ile yönetilirler. Kontrol sistemleri

ekipmanın dizaynına göre değişmekle birlikte genellikle sıcaklık, basınç ve zaman kontrolünü içerir. Liyofilizatörlerde kontrol manuel veya otomatik olabilir. Gelişmiş bilgisayarlı kontrol sistemleri, dondurularak kurutma reçetesinin programlanmasına izin verir ve proses değişkenleri izler ve verileri kayıt eder. Sıcaklık ölçümü için rezistanslı termometre veya T tipi ısı ölçüm çubukları kullanılır. Basınç ve vakum ölçümü içinse kapasitans manometre, Pirani vakum ölçer veya termoelektrik ölçerler kullanılır. Proses süresince kontrol edilen ve denetlenen parametreler;

- Raf sıcaklığı.
- Ürün sıcaklığı.
- Kondensatör sıcaklığı.
- Hazne basıncı.
- Kondensatör basıncı.
- Desorpsiyon oranı verilerinin kayıt edilmesi, kalan su miktarının hesaplanması.
- Sirkülasyon pompası ve ısı eşanjörü sonrası soğutucu akışkanın sıcaklığı.
- Elektrik motorlarının çalışma sıcaklığı.

2.3.7.6. Yardımcı Fonksiyonlar

Kurutma haznelerinde dizayn ve kullanım amacına göre proses sonunda flakonları kapatmak için otomatik kapama sistemi, otomatik yükleme ve boşaltma, yerinde temizlik (CIP) ve yerinde sterilizasyon (SIP) sistemleri, steril hava filtreleri bulunur.

2.3.8. Dondurarak Kurutma Ekipman ve Yöntemleri

Liyofilizatörler temel olarak üç gruba ayrılır; döner, manifold ve raf tipi dondurarak kurutucular. Her üç tip liyofilizatör için vakum pompası ve kondensatör bileşenleri ortaktır, dondurularak kurutulan maddenin kondensatör ile bağlantı yöntemi farklıdır. Liyofilizatörler hazne yapısı, liyofilizatörün kullanım amacı ve ebatına göre de sınıflandırılırlar. Hazne yapısına göre liyofilizatörler:

- Manifold liyofilizatör (Şekil 2-26).
- Her iki kurutma seçeneğine sahip kombine liyofilizatör (Şekil 2-27).
- Ürünün rafa yerleştirildiği raf tipi liyofilizatör (Şekil 2-28).



Şekil 2-26: Manifold liyofilizatör (Beta 2-8 LSCplus, Martin Christ, Almanya).



Şekil 2-27: Kombine liyofilizatör (VirTis, SP Scientific, A.B.D.)



Şekil 2-28: Raf tipi liyofilizatör (Smart Lyo, GEA, Almanya).

Kullanım amacı ve ebatına göre liyofilizatörler:

- Büyük ölçekleli üretimler için kullanılan endüstriyel liyofilizatörler (Şekil 2-29).
- Proses geliştirme ve ölçek büyütme için pilot liyofilizatörler (Şekil 2-30).
- Arge çalışmaları için laboratuvar tipi banko üstü liyofilizatörler (Şekil 2-31).

Dondurarak kurutmada gene olarak kullanılan üç farklı yöntem vardır. Her yöntemin kendine özgü bir amacı vardır ve kullanılan yöntem, ürüne ve istenen son konfigürasyona bağlıdır.

- Manifold yöntemi ile dondurarak kurutma.
- Batch yöntemi ile dondurarak kurutma .
- Bulk yöntemi ile dondurarak kurutma.



Şekil 2-29: Endüstriyel liyofilizatör (Lyomax, IMA Life, İtalya).



Şekil 2-30: Pilot liyofilizatör (Liyofast, IMA Life, İtalya).



Şekil 2-31: Banko üstü liyofilizatör (American Lyophilizer Inc., A.B.D.).

2.3.8.1. Manifold Yöntemi

Manifold yönteminde, şişe ampul veya flakonlar, bir manifold veya kurutma haznesinin portlarına ayrı ayrı yerleştirilir. Ürün, dondurucuda düşük sıcaklıktaki bir banyoya doğrudan daldırmayla veya ürünün yapısına ve dondurularak kurutulacak hacme bağlı olarak dondurulur. Soğuk banyoda kap, yavaşça kabuk kurutma yöntemiyle (shell-freezing) veya hızlıca döndürülür (spin-freezing) ve sıvının kap yüzeyindeki kalınlığı dondurma işlemi öncesi azaltılır. Manifold tipi dondurarak kurutucularda, kap ile kondansatörü bağlamak için genellikle kısa dairesel borular kullanılır.

Önceden dondurulmuş ürün, ısınmayı önlemek için hazne veya manifolda hızlıca bağlanır. Vakum ürün kabında hızlı bir şekilde oluşturulur. Bu yöntem genellikle küçük hacimler ve yüksek ötektik ve çökme sıcaklıkları olan ürünler için kullanılabilir. Taşıyıcılar manifolda tek tek bağlandıkları ve kollektör ile her flakon veya şişe, arası mesafe aynı olduğu için, manifold kurutmanın batch raf kurutmaya göre avantajı vardır.

Giren ısı, kapların ortam sıcaklığına maruz bırakılmasından veya sirkülasyon banyosundan etkilenebilir. Hassas sıcaklık kontrolünün gerekli olduğu bazı ürünler için, manifold yöntemi uygun olmayabilir. Manifold yöntemi ile farklı ürünler aynı anda, farklı büyüklükteki kaplarda, farklı kapatma sistemi ile dondurarak kurutulabilir. Her kap kurutma işlemi tamamlandıktan sonra manifolddan ayrı olarak çıkarılabilir. Kollektöre yakınlık aynı zamanda kurutma verimini en üst düzeye çıkaran bir ortam yaratır (68).

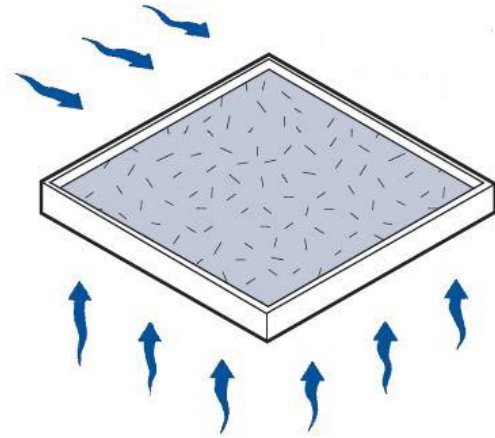
2.3.8.2. Batch Yöntemi

Batch yönteminde, aynı ürünü içeren çok sayıda benzer ebata sahip kap raflı kurutucuya yerleştirilir. Ürün genellikle kurutucunun rafında önceden dondurulur. Ürün sıcaklığının ve kurutma sırasında ürüne uygulanan ısı miktarının kontrolü hassas bir şekilde sağlanabilir. Genel olarak batchteki tüm flakonlar kurutma işlemi sırasında aynı şekilde işlem görür. Ancak sistemde farklı bölgelerdeki raflarda ısı girişine bağlı farklılıklar görülebilir. Rafın ön kısmında yer alan flakonlar, şeffaf kapıdan radyasyon ile ısı transferine maruz kalır. Bu gibi farklılıklar, üründe kalan nem miktarını etkileyebilir.

Batch yönteminde, tüm flakonlar aynı anda kapatılır. Flakonlar, vakumla veya inert gazla doldurulduktan sonra kapatılır. Tüm flakonların aynı anda kapatılması, her bir flakona homojen ortam ve ürünün depolanması sırasında homojen ürün stabilitesi sağlar. Batch yöntemi çok sayıda ampul veya flakonunu hazırlamak için kullanılır ve farmasötik endüstrisinde yaygın olarak kullanılır (68).

2.3.8.3. Bulk Yöntemi

Bulk yöntemi genellikle batch yöntemi gibi raflı kurutucuda gerçekleştirilir. Bununla birlikte, ürün taşıyıcı kaba dökülerek tek bir ünite halinde kurutulur. Ürün, rafın tüm yüzey alanı boyunca yayılmış ve flakonda kurutulmuş ürünle aynı kalınlıkta olmasına rağmen, ürün kütlesi içinde boş alanların olmaması, giren ısı oranını değiştirir. Isı transferi temel olarak Şekil 2-32’de gösterildiği gibi rafla temas yoluyla sağlanır (68).



Şekil 2-32: Bulk yöntemi ısı transferi.

Bulk yöntemi, manifold veya batch yöntemi gibi, kontrollü koşullar altında ürünün sızdırmazlığını sağlamaz. Genellikle ürün kapanmadan önce sistemden çıkarılır ve daha sonra hava geçirmez kaplara alınarak ambalajlanır. Bulk yöntemi genellikle oksijene veya neme çok hassas olmayan kararlı ürünlerde kullanılır.

2.3.9. Liyofilizatör Seçiminde Göz Önüne Alınan Faktörler

Liyofilizatör seçiminde ve işletilmesinde prosesin başarısı üzerinde önemli etkiye sahip ve göz önünde bulundurulması gereken faktörler bulunmaktadır. Ürün karakteristiği, ürünün primer ambalajı, gerekli olan raf alanı, üretilecek ürün miktarı, süblimleşecek çözücü miktarı ve kondens olacak buz miktarı göz önüne alınacak kriterlerdendir.

Ürün karakteristiği: Dondurularak kurutulacak maddenin özellikleri, kimyasal kompozisyonu, numunedeki katı madde konsantrasyonu bilgileri önemlidir. Kompozisyondan, numunenin ötektik veya bir camsı yapısı hakkında bilgi edinilir. Kompozisyon bilgisi ayrıca, ürünün kimyasal yapısına doğrudan bağlı olacağından, ürünün stabilite faktörleri değerlendirilir. Bu bilgi, kurutma ve ürün depolama sırasında hangi proses parametrelerine izin verilebileceğini belirlemek için de faydalıdır. Kimyasal kompozisyon ürünün yapısal stabilitesini de etkiler. Düşük miktarlarda yüksek moleküler ağırlıklı malzemelerin varlığı, dondurarak kurutma sırasında yapının tutulma olasılığını büyük ölçüde geliştirecektir. Dondurarak kurutma sonundaki stabilite için etkili olan nem miktarı ürünün kompozisyonuna bağlıdır. Ürünün ilk konsantrasyonu, dondurma sıcaklığında oluşacak buz miktarını belirler. Bu, dondurulmuş malzemenin yapısal dayanımı ve özellikle arayüzdeki stabiliteyi etkiler. Süblimasyon ve desorpsiyon aşamalarında buharın uzaklaştırılması da oluşan buz miktarına bağlıdır.

Katı konsantrasyonunun yüksek olduğu numunelerde, buz oluşumu düşüktür. Kuru tabakadaki buhar akış yolunun sınırlı olması ve ara yüzdeki azalan stabilite nedeniyle dondurarak kurutma zorlaşır. Çok düşük katı konsantrasyonuna sahip numunelerin, proses sonunda geri kazanımının zor olması nedeniyle teknik olarak dondurularak kurtulması zordur.

Numunenin fiziksel durumudur katı veya sıvı olması, ne tür kapların kullanılacağı veya numunenin nasıl dondurulacağını belirlemek için göz önünde bulundurulacak bir özelliktir.

Orijinal numunenin özelliklerini anlamak ve ürünün amacına uygun bir malzeme elde etmek için bunların değiştirilmesi gerekip gerekmediğini belirlemek önemlidir. Çoğu durumda, başarılı bir dondurularak kurutma elde etmek için malzemeyi değiştirmek gerekmeyecektir, ancak bazı durumlarda, malzemenin altında dondurularak

başarılı bir şekilde dondurulacaksa, numunenin bileşimini ve / veya konsantrasyonunu değiştirerek değişiklik yapılması gerekecektir. İstenen işlem koşulları veya başarılı bir şekilde dondurulmuş halde dondurulması (25).

Kondansatör kapasitesi: Kondansatör kapasitesi, buharın kondansatöre taşınma hızı hakkında bilgi vermez defrost aşamasından önce buz tutma kapasitesini gösterir. Dondurulacak ürün konsantrasyonunun belirlenmesinden sonra bu kapasite bilgisi, kondansatör defrost aşamasından önce prosese alınacak ürün miktarının hesaplanmasını sağlar.

Kondansatörün defrost periyodunda kullanılmaması nedeniyle (genellikle 2-4 saat eğer kondensatörde dahili defrost ısıtması yoksa daha uzun süre) defrost aşamasının sık olması istenmeyen bir durumdur. Öte yandan kondansatör maliyeti nedeniyle büyük kapasiteli kondensatör tercih edilmez. Kondansatör kapasitesi tek bir seride işlenecek ürün miktarı için yeterli olmalıdır.

Kondansatör kapasitesi, kurutma haznesinin ürün kapasitesi ile ilişkilidir. Sisteme harici manifold veya ekstra raf eklenmesiyle kondensatör miktarından fazla ürün işleme alınabilir. Fakat bu aşırı yüklenme dondurma aşamasının uzun sürmesine ve tam dondurma gerçekleşmemesine neden olur. Kondensatör boyutu, tek bir seri kapasitesinden büyük olabilir. Bu durumda defrost aşaması olmadan ardışık olarak dondurma aşaması gerçekleştirilebilir.

Dondurulacak kurutma kapasitesinin diğer önemli ölçüsü kondensatörün ısıyı uzaklaştırma ve buharı yoğunlaştırma oranıdır. Eğer iki tane dondurarak kurutucu defrost döngüsü arasında 10 kg buz 0,5 kg/saat ve 2,0 kg/saat oranında istenen proses kondensatör sıcaklığında yoğunlaştırdığında proseslerde farklı olacaktır. Yüksek yoğunlaşma hızına sahip olan sistem daha fazla esnekliğe sahip olacaktır, ancak bu daha pahalı bir aparatın maliyeti ile elde edilmektedir. Sabit bir ısı uzaklaştırma kapasitesine sahip kondansatör için, kondensatörde belirli bir sürede dondurmak için daha fazla su buharı gerekir, sıcaklık ve dolayısıyla basınç kondansatörde daha yüksek olacaktır.

Üretim miktarının artması ve kurutma oranının artmasıyla kondensatöre transfer edilen buhar oranı artar. Kondensatörün istenen çalışma sıcaklığını ve basıncını koruyabilmesi için öngörülen su buharı taşıma oranında yeterli ısı uzaklaştırma kapasitesine sahip olmasını sağlamak gerekir (25).

Kurutma Haznesi: Dondurarak kurutma işleminde ürün, ampul, flakon, şişe, tepsi gibi farklı kaplara yerleştirilir. Ürün kabının ve hazne tipinin seçimi (manifold, raf tipi, bulk yöntemi) nihai ürünün kullanım amacına bağlıdır. Kurutma haznesi ve ürün yapısı, belirli zaman aralığında ne kadar ürünün dondurularak kurutulacağına etki eden faktörlerdendir (25).

Dondurarak Kurutma Kapasitesi: Numune kalınlığı hem dondurarak kurutma süresini hem de ürün kabında bulunması gereken madde miktarını etkiler. Bir flakon ya da ampuldeki numune miktarının kalın olması yükleme kapasitesini artırır fakat prosesin uzamasına neden olur. Numune kalınlığının fazla olmasıyla, kurutma sırasında çok kalın kuru tabaka elde edilir ve ısı ve kütle transfer direncinin artmasına neden olur. Arayüzde enerji transferi için oldukça yüksek sıcaklık farkı gerekir ve çoğu ürün kaliteyle ilgili bir üst sıcaklık limitine sahip olacağından, genellikle aynı kurutma oranını korumak zor olacaktır. Numune kalınlığının artması kondensatörün toplam yükünü artıracaktır.

Dondurarak kurutma kapasitesini arttırmak için bir başka yöntem de kurutma oranını arttırmaktır. Bunu gerçekleştirmek için uygulanacak yöntemlerden biri, numunenin yüzeyini arttırmaktır. Isının numuneye transferi ve suyun numuneden uzaklaştırılması, numune yüzeyi boyunca gerçekleştiğinden ve numunenin yüzey alanı arttıkça, süblimasyon oranı artacaktır. Yüzey alanını arttırmak için manifold portu veya raf sayısının artırılması, daha büyük ürün kabı kullanılması, granülasyon yöntemi, döndürerek kurutma ve kabuk kurutma yöntemi kullanılabilir.

Dondurarak kurutma kapasitesini arttırmanın diğer bir yöntemi yapay, kontrol edilebilir ısıtma ile numuneye olan ısı transfer oranını arttırmaktır. Numunenin fiziksel veya kimyasal değişikliklere duyarlılığına göre ısı transfer oranı düzenlenebilir. Ortam sıcaklığının üzerindeki sıcaklıklarda ısıtma yönteminin kullanılmasıyla ısı transfer oranının artırılması, donma kurutma oranını ve dolayısıyla dondurarak kurutma kapasitesini arttırılması mümkündür. Stabilite kaybı ve kimyasal değişiklik sıcaklık limitinin belirlenmesinde göz önüne alınan faktördür.

Dondurarak kurutma kapasitesinin artırılması, kütle transfer oranını arttıracak ve numunedeki su basıncını yükselmesine ve eş zamanlı olarak sıcaklığın yükselmesine neden olacaktır. Stabilite sıcaklığının aşılmasıyla üründe kimyasal bozunma meydana gelebilecektir (25).

Çalışmada kullanılan liyofilizatöre ait teknik bilgiler Tablo 2-2’de sunulmuştur.

Tablo 2-2: Çalışmada kullanılan liyofilizatörün teknik bilgileri.

Parça	Özellik
Marka/Model	IMA Life/ Liyofast Mini 1.6
Hazne ve Kapılar	İç ölçüler: 847x966x782 mm
	Yapı Malzemesi 316L Paslanmaz çelik
	Yalıtım Cam elyafi ve polimer köpük
	Çalışma basıncı: 0-3,0 barA
	Kapı açılma & kilitleme: manuel kilit mandalı ile otomatik olarak sağdan sola doğru açılır
Kondensatör	Silindirik ve dikey monte
	İç ölçüler: 750x520 mm
	Yalıtım Cam elyafi ve polimer köpük
	Çalışma basıncı: 0-3,0 barA
	Defrost: buhar ile
	Bobin uzunluğu: 37,4 m
	Yüzey alanı: 2,6 m ² , kapasite 40 kg (12,7 mm buz kalınlığında)
Raf ve Aksamlar	Raf Sayısı: 3+1
	Raf ölçüsü: 615×915×18 mm
	Toplam raf alanı: 1,6 m ²
	Raf sıcaklık tekdüzeliği: 1,5°C (-40 and +40°C arası)
	Flakon kapama: üst yön
Soğutma Sistemi	Hermetik kaydırma kompresörü
	Raf soğutma süresi : 20°C ‘den - 40 °C’ye 40 dakika (boş,temiz, kuru halde)
	Raf minimum sıcaklık: -65 °C (boş,temiz, kuru halde)
	Kurutma süresince minimum raf sıcaklığı: -50 °C
	Kondensatör soğutma süresi: -40 °C’ye 30 dakika (boş,temiz, kuru halde)
	Kondener minimum sıcaklığı : - 85 °C (boş,temiz, kuru halde)
Vakum Sistemi	Hazne vakum sensör tipi : Pirani APG
	0,1 mbar: 30 dakika (temiz, kuru, kondensatör 40 ° C'nin altında)
Kontrol Sistemi	Kontrol yapısı: PLC+SCADA arayüzü
	Raf sıcaklık kontrolü: A sınıf PT100 sensörü, PLC kontrollü
	Vakum kontrolü: oransal vana, PLC kontrollü
	Ürün sıcaklık problemleri: T tipi termokupl

2.3.10. Liyofilize Toz Üründe Genek Olarak Kullanılan Yardımcı Maddeler

Liyofilize toz ürün formülasyonlarında ürünün fonksiyonel özelliklerini ve stabilitesini geliştirmek için bir veya birden fazla yardımcı madde kullanılır. Yardımcı maddelerin eklenmesinin aşağıda belirtilen amaçlara etkisi bulunmaktadır.

- Dondurma prosesine etki eder.
- Çözeltideki katı madde miktarının düşük olması durumunda stabil bir yapı oluşturmayı sağlar ve katı partiküllerin su buharı akışıyla flakon yüzeyine taşınmasını engeller.
- Çözeltinin pH'ını düzenler.
- İyi bir kek yapısı oluşmasını sağlar.
- Kristalizasyonu engeller veya kristalizasyona neden olur.
- Aktif bileşeni dondurma aşamasında korur.
- Liyofilizasyon prosesi süresince aktif bileşeni korur.
- Aktif bileşeni ürün raf ömrü boyunca korur (protein agregasyonu).
- Ürün mikrobiyal stabilitesini sağlar.
- Sağlam ve ekonomik liyofilizasyon prosesi geliştirilmesine yardımcı olur.

Formülasyon tasarımının amacı uygun yardımcı maddeleri tanımlamak, oranını optimize etmek ve tüm proses bitmiş ürünün raf ömrü süresince ilacın güvenlik, etkinlik ve stabilitesini sağlayacak bitmiş ürün konfigürasyonunu seçmektir.

Liyofilize toz ürün formülasyon tasarımında kullanılan başlıca yardımcı yardımcı maddeler ve özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

- a) Dolgu maddesi/hacim artırıcılar
- b) Tamponlayıcı ajanlar
- c) Liyoprotektanlar/ kriyoprotektanlar
- d) Çözünürlük artırıcılar
- e) Tonisite ajanı
- f) Antimikrobiyal ajanlar

2.3.10.1. Dolgu Maddesi/Hacim Artırıcılar

Dolgu maddeleri, hacim artırarak liyofilize ürünün düzgün kek oluşturmasını sağlayan ajanlardır. Özellikle düşük konsantrasyonda (örneğin %2) etkin madde içeren formülasyonlarda hacim artırıcı olarak kullanılmaktadır. Liyofilize kek yapısının uygun olması, kurutma aşamasında üründen buharın uzaklaştırılmasını sağlayan uygun gözenek oluşumuna yol açar. Ürünün kek yapısındaki kayıp, su buharı akışı için direnç oluşturarak ve nihai üründe daha yüksek nem içeriğine neden olur.

Liyofilize toz ürün formülasyonlarında genellikle kullanılan dolgu maddeleri:

- Şekerler: mannitol, laktoz, sorbitol, glukoz, sukroz, trehaloz ve rafinoz.
- Amino asitler: arjinin, glisin, histidin.
- Polimerler: dekstran, polietilen glikol.

Dolgu maddeleri, liyofilizasyon prosesi sonunda kristalize veya amorf katı olarak görülebilir. Dolgu maddesinin kristalizasyonu ürünün fiziksel stabilitesini etkileyeceği bazı durumlarda amorf dolgu maddesi tercih edilebilir. Kristalize dolgu maddeleri iyi mekanik özelliklere sahip düzgün kek yapısı oluşturur. Bunun yanı sıra, bu maddeler çoğu zaman emülsiyon, protein ve lipozom gibi ürünleri stabilize etmede etkisizdir, ancak küçük kimyasal ilaçlar ve bazı peptidler için uygun olabilir. Eğer madde kristal haldeyse mannitol, protein veya lipozom yapısında ise sukroz veya diğer disakkaritler kullanılabilir. Dolgu maddesi ve etkin madde oranı liyofilize kekin yapısını etkileyen önemli bir faktördür.

2.3.10.2. Tamponlayıcı Ajanlar

pH kontrolü, üretim prosesi, depolama ve yeniden sulandırma sırasında ilacın bozulmasını önlemek için kritiktir. Etkin maddenin liyofilizasyon öncesinde, liyofilizasyon süresince ve sonrasında stabilitesini sağlamak için tamponlayıcı ajanlar kullanılır. Tamponlayıcı ajanlar farmasötik formülasyonlarda pH stabilizasyonu için gereklidir.

Liyofilize ürün formülasyonunda tamponlayıcı ajanın seçimi kritiktir. Tamponlayıcı ajan seçimi etkin maddenin pH stabilite profiline bağlıdır. Bu amaçla, ilacın maksimum stabil pH'sı bilinmeli ve korunmalıdır.

Tamponlama ajanı yüksek çökme ve camsı geçiş sıcaklığına sahip olmalı, uçucu olmamalıdır. Yüksek çökme sıcaklığı birincil kurutmanın hızlandırır ve uçucu olmayan yapısı ürün stabilitesine olumsuz etki eden pH salınımlarını önler. Ayrıca yüksek camsı geçiş sıcaklığı, ürün stabilitesini raf ömrü süresince güvence altına alır. Asetat tamponları uçucu yapısı nedeniyle liyofilizasyon süresince kısmen kaybolacağından kullanılmaz (18).

Tamponlayıcı ajanların kristalizasyonu pH'ın ciddi değişimine ve aktif bileşenin bozulmasına neden olur. Sodyum ve fosfat tuzları içeren tamponlayıcı ajanlar özellikle de sodyum fosfat, dondurma aşamasında sert pH değişikliklerine neden olur. Bu nedenle sitrat ve histidin gibi donma aşamasında minimum pH değişikliğine neden olan tamponlayıcı ajanların kullanımı iyi bir yaklaşım olmaktadır.

Liyofilizasyon formülasyonlarında genellikle kullanılan tamponlayıcı ajanlar; sitrik asit, sodyum sitrat, potasyum sitrat, histidin, trometamol, tris asetat tuzları, tris hidroklorür, sodyum hidroksit, hidroklorik asit, arjinindir.

2.3.10.3. Liyoprotektanlar /Kriyoprotektanlar

Dondurma stresine karşı ürünü koruyan maddeler kriyoprotektan, kurutma aşamasındaki strese karşı koruyanlarda lyoprotektan olarak adlandırılırlar. Şekerler, polimerler, amino asitler, yüzey etkin maddeler, metal iyonları ve bazı inorganik tuzlar gibi bir çok yardımcı madde liyoprotektan/liyoprotektan olarak yaygın şekilde kullanılırlar.

Dondurma ve dehidratasyon aşamasındaki stres farklıdır. Bu nedenle tek bir stabilizatörün her iki amaca hizmet etmediği formülasyonlarda kriyoprotektan ve liyoprotektan karışımı seçilebilir.

2.3.10.4. Çözünürlük Artırıcılar

Kısıtlı çözünürlüğü olan etkin maddelerin çözünürlüğünü artırmak için, değişik yüzey etkin maddeler, yardımcı çözücüler ve kompleks oluşturucu ajanlar kullanılır. Formülasyonlarda genellikle kullanılan çözünürlük artırıcı yardımcı maddeler:

- Yüzey etkin maddeler: Polisorbat 80, polisorbat 20.
- Kompleks oluşturucu ajanlar: EDTA, siklodekstrinler.
- Yardımcı çözücüler: etanol, aseton, gliserol, isopropil alkol.

Çözünürlük artırıcılar protein stabilitesini ve sulandırma süresini etkilemede rol oynarlar. Kompleks oluşturucu ajanlar, çözücüdeki genellikle sudaki çözünürlüğünü artırmak için kullanılırlar.

Yüzey etkin maddeler, ürünün iyi bir ıslanma özelliğine sahip olmadığı durumlarda formülasyona çok düşük oranlarda eklenir. Ayrıca düşük doz içeren ürünlerde, yüzey adsorpsiyonundan kaynaklanan kayıpları en aza indirmek için kullanılırlar. Genellikle kullanılan noniyonik yüzey etkin madde olan polisorbitat 80 düşük camsı geçiş sıcaklığı nedeniyle çok düşük miktarlarda kullanılır. Organik çözücüler birincil kurutma oranını ve ürün stabilitesini arttırmak, ilacın ıslanabilirliğini veya çözünürlüğünü artırarak sulandırma süresini azaltmak için kullanılırlar.

Yardımcı çözücülerin liyofilizasyon prosesi sırasındaki kayıplarını en aza indirmek için düşük buhar basıncına sahip olmaları gerekir. Bununla birlikte, kurutma işlemi sırasında üründen daha hızlı uzaklaştırılması nedeniyle liyofilizasyon işlemini hızlandırmak için yüksek buhar basıncına sahip yardımcı çözücülerde kullanılır. Sulu olmayan yardımcı çözücülerin eklenmesi su varlığında oluşan aktif bileşenin bozunma hızını azaltabilir. Bazı durumlarda, çözücü aktif bileşenin stabilizasyonunda rol oynayabilir, son ürünün estetik özelliğini geliştirebilir.

2.3.10.5. Tonisite Ajanı

Parenteral yolla uygulanan ilaçlar genellikle izotonik veya hafif hipertoniktir. Bulk çözeltinin stabilize gereklilikleri ya da ilacın uygulama yolu için izotonik formülasyon gerekli olduğu durumlarda tonisite ajanları kullanılır.

Mannitol, sukroz, dekstroz, glisin, gliserol ve sodyum klorür gibi yardımcı maddeler iyi tonisite ajanlarıdır. Tonisite ajanları, düşük çökme sıcaklıkları nedeniyle tüm formülasyonun çökme sıcaklığını düşürebilir ve birincil kurutma süresini önemli ölçüde arttırabilir. Alternatif yaklaşım, tonisite ajanının liyofilizasyon prosesi yerine yeniden sulandırma aşamasında seyreltme maddesine eklenmesidir.

2.3.10.6. Antimikrobiyal Ajanlar

Antimikrobiyal ajanlar, çok dozlu formülasyonlara raf ömrü süresince mikrobiyal üremeyi önlemek için eklenir. Benzil alkol, fenol, m-krezol, metil paraben, etil paraben genellikle en çok kullanılan antimikrobiyal ajanlardır.

Antimikrobiyal ajanların çok düşük miktarlarda kullanımı formülasyonun çökme sıcaklığını düşürmez. Antimikrobiyal ajanın formülasyondaki diğer bileşenlerle uyumluluğu kontrol edilmelidir. Liyofilizasyon ürünlerinde genel olarak kullanılan yardımcı maddeler Tablo 2-3'te belirtilmiştir (29).

Tablo 2-3: Liyofilize formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddeler, A.B.D. pazarı.

İlaç	Kategori	Yardımcı Madde	Uygulama Yolu	Ticari Adı
Amifostine	Sitoprotektif ajan	-	IV infüzyon	Ethylol® (MedImmune Oncology)
Amfoterisin B kolesteril sülfat	Antifungal	Sodyum kolesteril sülfat Laktoz TRIS EDTA	IV infüzyon	Amphotec® (Sequus Pharmaceutica ls)
Amfoterisin B	Antifungal	Disterol Fosfatidil gliserol Hidrojenlenmiş soya fosfatidilkolin Kolesterol Alfa tokoferol Sakaroz Disodyum süksinat	IV infüzyon	Ambisome® (Astellas)
Asiklovir sodyum	Antiviral	-	IV infüzyon	Zovirax® (Glaxo Wellcome)
Allopurinol sodyum	Antigut	-	IV infüzyon	Aloprim® (Nabi Biopharmaceu ticals)
Alprostadil	Erektile disfonksiyon	α-siklodekstrin Laktoz	intrakavernozal	Edex® (Schwarz Pharma)
Alprostadil	Erektile disfonksiyon	Laktoz Sodyum sitrat Benzil alkol	intrakavernozal	Caverject® (Phamacia and Upjohn)
Azatiyoprin sodyum	İmmünoşpresif antimetabolit Ağır romatoid artrit tedavisi	-	IV bolus IV infüzyon	Imuran® (Glaxo Wellcome)
Azitromisin	Antibiyotik	Sitrik asit	IV infüzyon	Zithromax® (Pfizer)
Aztreonam	Antibiyotik	L-arjinin	IM IV bolus IV infüzyon	Azactam® (Bristol Myers Squibb)
Karmustin	Antineoplastik	-	IV infüzyon	BiCNU® (Bristol Myers Squibb)
Sefazolin sodyum	Antibiyotik	-	IM IV bolus IV infüzyon	Kefzol® (Lilly) Ancef® (GlaxoSmith- Kline)

Tablo 2-3: Liyofilize formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddeler, A.B.D. pazarı.

İlaç	Kategori	Yardımcı Madde	Uygulama Yolu	Ticari Adı
Klorotiazid sodyum	Diüretik ve hipertansif	Mannitol Tiyomersal	IV bolus IV infüzyon	Diuril® (Merck)
Cisplatin	Antineoplastik	Mannitol Sodyum Klorür	IV infüzyon	Platinol® (Bristol Myers Oncology)
Kolfosceril palmitat	Düşük bebek doğum ağırlığı solunum yetmezliği sendromu	Setil alkol Tiloksapol Sodyum klorür	Intratrakeal	Exosurf neonatal® (Glaxo Wellcome)
Siklofosfamid	Antineoplastik	Mannitol	IM,IP IV infüzyon IV bolus Intraplevral	Cytosan® (Bristol Myers Squibb)
Daktinomisin	Antibiyotik	Mannitol	IV bolus IV infüzyon	Cosmegen® (Merck)
Dantrolen sodyum	Kas gevşetici	Mannitol	IV bolus IV infüzyon	Dantrium® (Procter & Gamble)
Daunorubisin hidroklorür	Antibiyotik	Mannitol	IV infüzyon	Cerubidine® (Bedford)
Deksrazoksan	Kardiyoprotektif ajan	-	IV	Zinecard® (Pharmacia & Upjohn)
Diltiazem	Antianjinal	Mannitol	IV bolus IV infüzyon	Cardizem® (Hoechst Marion Roussel)
Doksorubisin hidroklorür	Antineoplastik	Laktoz Metil paraben	IV	Rubex® (Bristol Myers Squibb)
Etoposid fosfat	Antineoplastik	Sodyum sitrat Dekstran 40	IV infüzyon	Etopophos® (Bristol Myers Squibb)
Epoprostenol sodyum	Antihipertansif	Mannitol Sodyum klorür Glisin	IV infüzyon	Flolan® (Glaxo Wellcome)
Etakrinik sodyum	Diüretik	Mannitol	IV bolus IV infüzyon	Sodium edecrin® (Merck)
Fludarabin fosfat	Antineoplastik	Mannitol	IV infüzyon	Fludara® (Berlex)
Gansiklovir sodyum	Antienfektif	-	IV infüzyon	Cytovene® (Roche)
Gemsitabin hidroklorür	Antineoplastik	Mannitol Sodyum asetat	IV infüzyon	Genzer® (Lilly)
Hemin	AIP	Sorbitol Sodyum karbonat	IV infüzyon	Panhematin® (Abbott)
Hidromorfon hidroklorür	Opioid analjezik	-	IV, IM, SC	Dilaudid-HP® (Abbott)
İndometasin sodyum	NSAID	-	IV bolus	Indocin I.V. ® (Merck)
Lansoprazol	Proton pompası inhibitörü	Mannitol Meglümin Sodyum hidroksit	IV	Prevacid® (TAP)
Levotiroksin	Hormon	Mannitol	IV, IM	Synthrod®

Tablo 2-3: Liyofilize formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddeler, A.B.D. pazarı.

İlaç	Kategori	Yardımcı Madde	Uygulama Yolu	Ticari Adı
sodyum		Sodyum Fosfat tribazik		(Knoll)
Melphalan hidroklorür	Antineoplastik	Povidon Propilen glikol Etil alkol Sodyum sitrat	IV infüzyon	Alkeran® (Celgene)
Metoheksital sodyum	Anestetik	Sodyum karbonat anhidrus	IM, IV	Brevital sodium® (KING)
Metilprednizolon süksinat sodyum	Hormon	Sodyum fosfat Laktoz Benzil alkol	IM IV bolus IV infüzyon	Solu-Medrol® (Pfizer)
Metranidazol	Antibakteriyel	Mannitol	IV bolus IV infüzyon	Flagyl® (Pfizer)
Mitomisin	Antineoplastik	Laktoz	IV infüzyon	Mutramycin® (Bristol Myers Squibb)
Pamidronat disodyum	Kemik rezorpsiyonunun inhibisyonu	Mannitol	IV	Aredia® (Novartis)
Pentostatin	Antineoplastik	Mannitol	IV bolus IV infüzyon	Nipent® (Supergen)
Fentolamin mesilat	Antihipertansif	Mannitol	IM IV bolus IV infüzyon	Regitine® (Novartis)
Pipekuroniyum bromür	Uzun etkili nöromusküler engelleyici ajan	-	IV bolus	Arduran® (Oryannon)
Pralidoxime klorür	Antikolinesteraz	-	IV bolus IV infüzyon	Protopam® (Baxter Healthcare)
Remifentanil hidroklorür	Analjezik	Gilisin	IV infüzyon	Ultiva® (GlaxoWellcome)
Streptozosin	Antineoplastik	Sitrik asit	IV bolus IV infüzyon	Zanosar® (Pharmacia & Upjohn)
Tazobaktam sodyum Piperasilin sodyum	Antibakteriyel	EDTA Sodyum sitrat	IV infüzyon	Zosyn® (Lederle)
Tiyopental sodyum	Anestezik	Sodyum karbonat	IV infüzyon	Pentothal sodium® (Baxter)
Tiyotepa	Antineoplastik	-	Intrakaviter Intravezikal IV bolus	Thioplex® (Immunex)
Tiyoteksen hidroklorür	Antipsikotik	Mannitol	IM	Navane® (Pfizer)
Ticarsilin disodyum	Antibakteriyel	-	IM IV bolus IV infüzyon	Ticar® (Smith Kline Beecham)
Tigesiklin	Antibakteriyel	-	IV infüzyon	Tygacil® (Wyeth)
Topotekan	Antineoplastik	Mannitol Tartarik asit	IV infüzyon	Hycamtin® (Smith Kline Beecham)

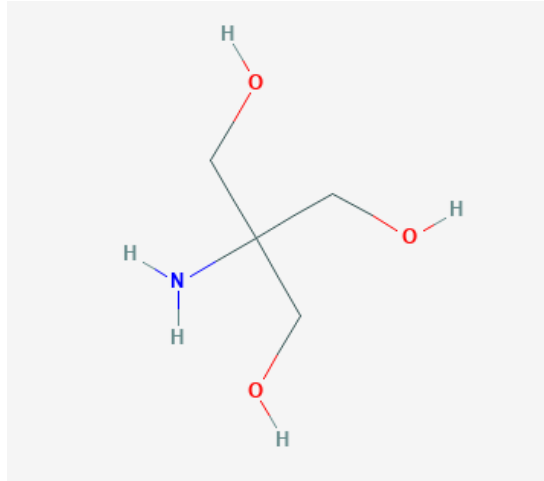
Tablo 2-3: Liyofilize formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddeler, A.B.D. pazarı.

İlaç	Kategori	Yardımcı Madde	Uygulama Yolu	Ticari Adı
Trimeteksat glukuronat	Zatürre tedavisi	-	IV infüzyon	Neutrexin® (U.S. Biosciences)
Vankomisin hidroklorür	Antibiyotik	-	IV infüzyon	Vancocin HCl® (Lilly)
Veküronyum bromür	Kas gevşetici	Mannitol Sitrik asit Sodyum fosfat dibazik	IV bolus IV infüzyon	Norcuron® (Organon)
Vinblastin sülfat	Antineoplastik	-	IV bolus	Velban® (Lilly)
Warfarin sodyum	Antikoagülan	Mannitol Sodyum klorür Sodyum fosfat, monobazik, monohidrat Sodyum fosfat, dibazik, heptahidrat	IV	Coumandin® (Bristol Myers Squibb)

2.4. Çalışmada Kullanılan Yardımcı Maddeler Hakkında Bilgiler

2.4.1. Trometamol

Trometamol molekül ağırlığı 121,136 g/mol ve molekül formülü $C_4H_{11}NO_3$ olan organik amin grubu proton alıcısıdır (Şekil 2-33). Trometamolün diğer kimyasal isimleri trometamin, tris, tris(hidroksipropil) aminometan, tris baz ve trisamindir.

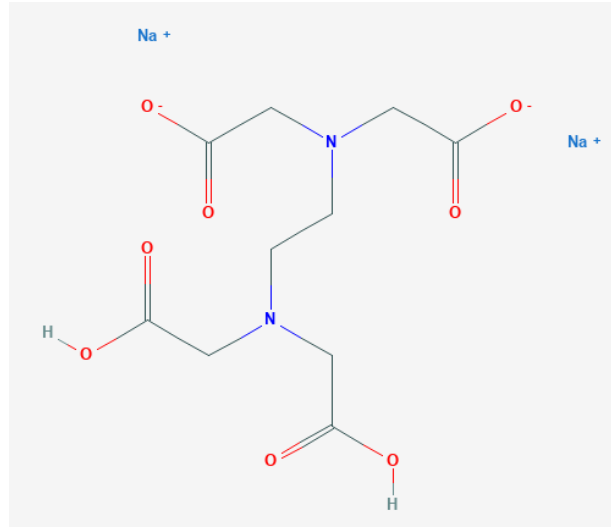


Şekil 2-33: Trometamolün molekül yapısı.

Trometamol, yüzey etkin maddelerin ve ilaçların sentezinde, kozmetik krem ve losyonlarda emülsiyon ajanı ve alkalileştirici, çözünürlük artırıcı olarak kullanılır. Liyofilizasyon formülasyonunda trometamol tamponlayıcı ajan olarak kullanılmaktadır.

2.4.2. Disodyum EDTA

Disodyum EDTA molekül ağırlığı 336.208 g/mol ve molekül formülü $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8$ olan kalsiyum gibi çok değerlikli katyonları tutan şelat ajanıdır (Şekil 2-34). Disodyum edetat, Edta disodyum tuzları, disodyum edta anhidrit kullanılan diğer kimyasal isimleridir. Beyaz, kokusuz kristal granülü veya toz halinde, yüksek saflıkta bulunur. Suda serbestçe çözünür fakat alkolde çözünmez.

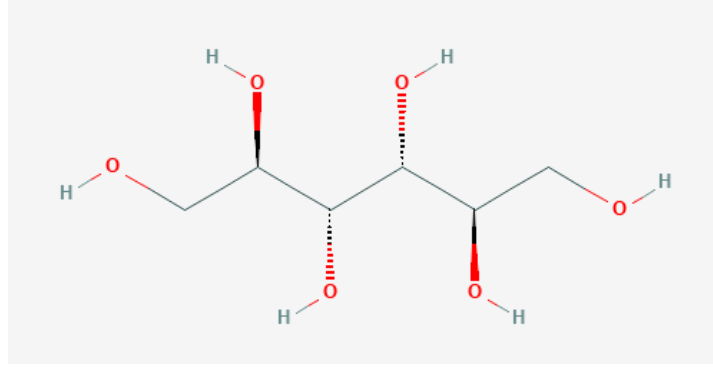


Şekil 2-34: Disodyum edta molekül yapısı.

Disodyum edta ilaç, kozmetik ve gıda sanayinde sıkça kullanılan bir maddedir. Şelat ajanı ilaç formülasyonlarında antikogulan ve şelat ajanı olarak, ağır metal iyonlarını uzaklaştırmak ve stabiliteyi artırmak için kullanılırlar. Disodyum edta gıda sanayinde ise katkı maddesi olarak kullanılır.

2.4.3. Mannitol

Mannitolün molekül formülü $C_6H_{14}O_6$ ve molekül ağırlığı 182,172 g/mol'dür (Şekil 2-35). Mannitol (D-mannitol) mannozla alakalı bir hekza-hidrik alkol olup sorbitolün izomeridir.



Şekil 2-35: Mannitol molekül yapısı.

Beyaz, kokusuz kristal toz halinde ya da serbest akışkan granül şeklinde bulunur. Tatlı bir tadı vardır, hemen hemen glikoz kadar tatlı olup, sakarozun yarı tadındadır ve ağızda ferahlama etkisi yaratır. Mannitol ayrıca bitkiler, bakteriler ve mantarlar dahil birçok türde doğal olarak bulunur. Gıda ürünlerinde ve farmasötik formülasyonlarda mannitol sıkça kullanılır. Farmasötik ürünlerde acı tatları maskeleyen, tablet ve kapsül formülasyonlarında seyreltici, tonisite ajanı ve liyofilize formülasyonlarda hacim artırıcı madde olarak kullanılmaktadır.

2.5. Dondurarak Kurutma Proses Kontrolü

Proses kontrol, üretim sırasında prosesi izlemek, gerekli durumlarda prosesi ayarlamak ve/veya spesifikasyonlara uygunluğu sağlamada kullanılan kontrolleri ifade etmek için kullanılan çok geniş kapsamlı bir terimdir (46).

Dondurularak kurutma prosesinin optimizasyonu ürün sıcaklığının, hazne ve kondansatör basıncının kontrol edilmesini gerektirmektedir.

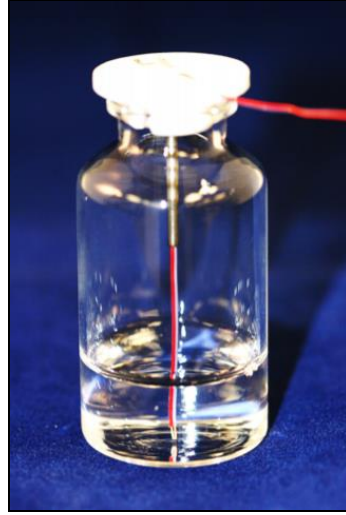
2.5.1. Ürün Sıcaklığının İzlemesi

Ürün sıcaklığının ölçümü proses döngüsünün geliştirilmesi ve ölçek büyütme çalışması için gereklidir. Sıcaklığın izlenmesinde genellikle termal çubuklar, direnç tipi sıcaklık dedektörleri (RTD) ve kablosuz sensörler kullanılmaktadır.

Ürün sıcaklığının ölçümünden en anlamlı verileri elde etmek için, uygun sıcaklık ölçüm cihazının kullanılması, sensörün flakon içindeki konumu ile sensörün yerleştirileceği flakonların raflardaki konumu önemlidir. Sıcaklık ölçüm cihazları flakon içindeki çözeltiliye ilave bir hacim getirmeyecek ve dondurma ve kurutma karakteristiğine etki etmeyecek büyüklükte olmalıdır. Manuel olarak yerleştirilen ölçüm

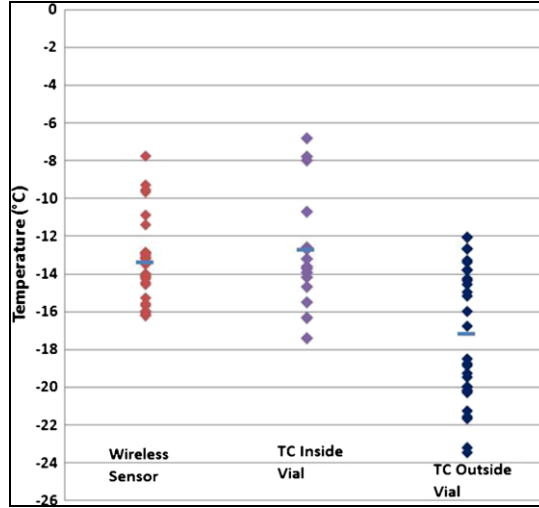
cihazlarının mikrobiyal kontaminasyon olasılığı sterilite güvence düzeyi için risk oluşturabilir.

Liyofilizatör hazne kapısı ve duvarlardan ısı transferi ve bunun kenar etkisiyle sonuçlanması, rafların kenarındaki flakonların daha hızlı kurumasına neden olur. Bu nedenle ürün sıcaklığını ölçmek için en uygun yer, orta rafın orta kısmıdır. Sıcaklık izleme cihazı flakonun tam ortası ve flakon taban yüzeyine (son buzun süblimasyon bölgesi) temas edecek şekilde yerleştirilmelidir (Şekil 2-36). Diğer bir açıdan ürün sterilite güvence düzeyinin azalma riski göz önüne alındığında, hazne kapısına yakın ön raf sıcaklık izleme lokasyonu olarakta kullanılmaktadır (44).



Şekil 2-36: Sıcaklık izleme sensörünün flakona yerleşimi.

Proses izlemede dikkate alınacak diğer bir nokta izleme yapılan flakonlardan alınan verilerin serinin kalanına göre yanıltıcı olma ihtimalidir. Bu, sıcaklık izleme cihazının buz kristalizasyonunun heterojen nükleasyonu için çekirdek bölgesi olarak işlev görmesi nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Şekil 2-37’de görüldüğü gibi flakon içine yerleştirilen sıcaklık ölçer ile flakon dış yüzeyine bağlanan sıcaklık ölçer arasındaki ortalama nükleasyon sıcaklık farkı flakon içinde 5°C daha yüksektir (45). İzlenen flakonlar daha az süper soğumaya maruz kalır, daha yavaş dondurulur, büyük ortalama buz kristali boyutuna sahiptir ve izlenmeyen flakonlara oranla daha hızlı süblimasyona uğrar. Bu farklılık döngü sonunu gösteren tek göstergenin ürün sıcaklığı olduğu durumlarda, birincil kurutma sonunu belirlemede göz önüne alınmalıdır.



Şekil 2-37: Flakon içi ve flakon dışı nükleasyon sıcaklıklarının karşılaştırılması.

Termal çubuklar, hassas sıcaklık ölçümü için direnç tipi sıcaklık dedektörlerinden (RTD) daha kullanışlıdır. Çünkü RTD için ölçüm elemanı daha büyüktür ve sıcaklık ölçümü ölçüm elemanının yüzeyi üzerinden alınan ortalama değerdir. Termal çubuklar ince, esnek ve hassas ölçümleri nedeniyle ürün sıcaklığının izlenmesinde tercih edilirler (44). RTD'ler doğruluk, doğrusallık ve stabilite açısından ısı transfer akışkanı, kondansatör ve drenaj sıcaklığı gibi sabit noktalardan sıcaklık ölçümünde kullanılırlar.

Kablosuz sıcaklık ölçüm elemanları ise termal çubuklar ve RTD'lere göre daha avantajlıdır. Bu sensörlerin avantajları arasında kablosuz ve bataryasız olmaları nedeniyle flakon içine yerleşimi daha hassastır, gerçek zamanlı ve doğru ölçüm sunarlar, hem laboratuvar hem de endüstriyel ölçekli liyofilizatörlerde kullanılırlar. Ayrıca kablosuz sensörlerin en önemli avantajı, proses geliştirme ve optimizasyon sırasında ürün sıcaklık profillerini izlemek için tamamlayıcı “Proses Analitik Teknolojisi” (PAT) aracı olarak kullanılmasıdır.

2.5.2. Basıncın İzlenmesi

Raf sıcaklığı ve dondurulmuş ve kısmen kurutulmuş kekin ısı ve kütle transfer özellikleri ile birlikte vakum seviyesi, flakondaki donmuş çözeltinin ürün sıcaklığını etkiler. Proses izlemede hazne ve kondansatördeki vakum seviyesi döngü süresince otomatik olarak kuru steril hava veya steril azot gazı ile kontrol edilir. Hem izleme hem

de kontrol amaçlı vakum seviyesini ölçmek için genel olarak kapasitans göstergesi ve termal iletkenlik tipi (Pirani) sensör kullanılmaktadır.

Termal iletkenlik tipi göstergenin önemli bir özelliği, tepkinin izlenmekte olan buhar fazı bileşiminin fonksiyonu olmasıdır. Haznedeki gaz fazının bileşimi, birincil kurutma fazı sırasında % 100 su buharından ikincil kurutma sonunda % 100 azota dramatik olarak değişir. Su buharının serbest moleküler iletkenliği, azotun serbest moleküler iletkenliğinden yaklaşık % 60 daha yüksektir. Kapasitans göstergeleri, sistemin geometrisini sabit tutarak ve dielektrik sabitinin değişmesine izin vererek veya sabit bir dielektrik sabiti olan değişken bir geometri ile iki şekilde çalışırlar. Kapasitans manometreler, geniş kullanım aralıkları ve ölçümlerdeki doğruluk, stabilite ve doğrusallıklarından dolayı tercih edilirler. Ayrıca kapasitans manometre gaz fazı bileşiminden bağımsız olarak gerçek basıncı ölçmektedir (45).

Hazne ve kondensatör basıncını izlemek için en iyi uygulama, kapasitans manometre ve Pirani göstergesini birlikte kullanmaktır. Bu konfigürasyon karşılaştırmalı basınç ölçümüne olanak sağlar. Karşılaştırmalı basınç ölçümünün temel avantajı, tek tek ürün flakonlarının izlenmesine bağlı olmadan haznedeki buhar fazının bileşimine bağlı olmasıdır. Dikkat edilmesi gereken hususlardan biri, herhangi bir flakon raftan hazneye düşer ve temsili olmayan oranda kurursa, bu flakonlar Pirani göstergesinin anormal tepki vermesine neden olur (45).

2.6. Tasarımla Kalite (QbD)

Tasarımla Kalite (Quality by Design, QbD), ürün yaşam döngüsü boyunca önceden belirlenmiş ürün kalitesini sağlamak için formülasyon ve üretim proseslerinin tasarlanması ve geliştirilmesidir. Farmasötik gelişime sistematik bilimsel bir yaklaşımdır ve kalite risk yönetimine dayalı ürün ve süreç anlayışı ve süreç kontrolünü vurgular (14).

“Kalite ürünlerde test edilemez; kalite tasarım aşamasında bulunmalıdır” olan QbD anlayışı ve QbD'nin kullanımı, kısaltılmış yeni ilaç başvurularının kimya, üretim ve kontrol incelemelerinin bilime dayalı farmasötik kalite değerlendirmesini sağlamaktadır (52).

Uluslararası Uyum Konferansı (ICH), 2005 yılında, “Farmasötik Gelişim (Q8)” kılavuzunu yayınlanmış ve tasarımı kalite (QbD) kavramı bu kılavuzla birlikte ilaç endüstrisine girmiştir. İlaç endüstrisi ve düzenleyici kuruluşlar tarafından kalite risk yönetiminde kullanılacak bazı temel araçlara genel bir bakış ve referans sağlamak amacıyla da ICH “Kalite Risk Yönetimi (Q9)” kılavuzunu yayınlamıştır. Ürün yaşam döngüsü boyunca kalite yönetim sistemlerini düzenlemek amacıyla ise “Farmasötik Kalite Sistemi (Q10)” kılavuzu yayınlanmıştır. Bunları izleyen kılavuz çalışmaları ise, ilaç hammadde üretimleri ile ilgili olarak “Etkin Maddenin Geliştirme ve Üretimi (Q11)” kılavuzu çıkarılmıştır. Henüz taslak aşamasında olan ve kimya, üretim ve kontrol (CMC) değişikliklerinin ürün yaşam döngüsü boyunca daha öngörülebilir ve verimli bir şekilde yönetimini kolaylaştıracak ve rehberlik sağlayacak “Farmasötik Ürün Yaşam Döngüsü Yönetimi (Q12)” kılavuzu bulunmaktadır. 2007 yılında, FDA’nın “Jenerik İlaç Ofisi (OGD)” resmi olarak “Kalite Temelli Gözden Geçirme”yi (QbR), kimya, üretim ve kontrol (CMC) değerlendirmesini, Kısaltılmış Yeni İlaç Başvurusuna (ANDA) dahil etmiştir.

ICH Farmasötik Gelişim Q8: Bilimsel yaklaşımların ve kalite risk yönetiminin uygulanmasıyla kazanılan bilgilerin, bir ürünün ve üretim sürecinin geliştirilmesinde kullanım fırsatı sunmaktadır. QbD prensipleri PAT veya modelleme gibi yeni teknolojilerin uygulanması yoluyla ürün ve üretim sürecinin kapsamlı bir şekilde anlaşılması amaçlanmaktadır. Ayrıca ürünün yaşam döngüsü boyunca yeniliği ve sürekli iyileştirmeyi kolaylaştırma yönünde fırsatlar sağlamaktadır (14).

ICH Q8’de tasarımı kalite yaklaşımının genel prensipleri açıklanmakta ve QbD: “önceden tanımlanmış amaçlarla ürün ve sürecin sağlam bilim ve kalite risk yönetimine dayalı olarak anlaşılmasının yerindeliğini vurgulayan sistematik bir ilaç geliştirme yaklaşımı” olarak tanımlanmaktadır. QbD yaklaşımı ile üretim süreçlerinin verimliliği artması, maliyetlerin, belirsizliklerin ve riskleri azalması, endüstrinin ve düzenleyici kurumların kaynaklarını en kritik alanlar üzerinde odaklanmaları sağlanmaktadır (48,56).

ICH “Kalite Risk Yönetimi Q9: Tıbbi ürünün üretimi ve kullanılması bir dereceye kadar risk yaratmaktadır. Ürün kalitesi riski, genel riskin sadece bir bileşenidir ve ürün kalitesinin ürün yaşam döngüsü boyunca sürdürülmesi gerekmektedir (53). Q9 kılavuzu, ilaç maddelerinin, tıbbi ürünlerin, biyolojik ve biyoteknolojik ürünlerin ürün

yaşam döngüsü boyunca geliştirme, üretim, dağıtım, denetim, başvuru/gözden geçirme işlemlerini içermektedir. Özellikle daha etkili ve tutarlı bir risk bazlı kararlar verebilecek ilkelere ve kalite risk yönetimi araçlarının bazılarına rehberlik etmektedir (53).

ICH Farmasötik Kalite Sistemi Q10: Bu kılavuz ISO kavramlarına dayanarak etkin bir ilaç kalite sistemi kuran kapsamlı bir yaklaşımdır ve Güncel İyi Üretim Uygulamaları (cGMP) düzenlemeleri ve ICH Q8 ve ICH Q9 kılavuzlarını da kapsamaktadır. Bu kılavuzun, biyoteknoloji ve biyolojik ürünler de dahil olmak üzere ürün ömür döngüsü boyunca eczacılıkla ilgili ilaç maddeleri ve ilaç ürünlerine uygulanması amaçlanmıştır (54).

ICH Q10 amaçları arasında; ürün oluşumu, kontrolü ve sürekli gelişiminin kolaylaştırılması yer alır. GMP gereklilikleri ve ICH Q7 kılavuzu ICH Q10'un temelini oluşturur. Bu temelle oluşturulan dört özel farmasötik kalite sistem unsuru Q10'da yer almaktadır (54).

- Proses performansı ve ürün kalite izleme sistemi
- Düzeltici ve önleyici faaliyetler sistemi
- Değişiklik yönetim sistemi
- Ürün kalitesinin ve proses performansının yönetimin gözden geçirmesi

ICH Etkin Maddenin Geliştirme ve Üretimi Q11: Bu kılavuz kimyasal ve biyoteknolojik/biyolojik maddeler dahil olmak üzere etkin maddelerin geliştirme ve üretim proseslerinin anlaşılması için yaklaşımları açıklamakta ve Ortak Teknik Doküman (CTD) Modül-3'te hangi bilgilerin verilmesi gerektiği konusunda rehberlik sağlamaktadır (55).

ICH Farmasötik Ürün Yaşam Döngüsü Yönetimi Q12: Taslak aşamasında olan Q12 kılavuzunun kimya, üretim ve kontrol (CMC) değişikliklerinin ürün yaşam döngüsü boyunca daha öngörülebilir ve verimli bir şekilde yönetimini kolaylaştıracak şekilde rehberlik sağlaması amaçlanmıştır. Q12, inovasyon ve sürekli iyileştirmeyi teşvik edecek ve tedarik zinciri düzenlemelerinin proaktif planlanması da dahil olmak üzere ürün kalite güvencesini ve güvenilir ürün tedarikini güçlendirecektir.

2.6.1. QbD Kavramları

QbD'nin unsurları hakkında çok sayıda kavram bulunmakta ve en yaygın kabul görenleri aşağıda belirtilmektedir.

2.6.1.1. Hedef Ürün Profili

FDA tarafından Hedef Ürün Profili (Target Product Profile, TPP), ilk defa 2007 yılında taslak rehber olarak yayınlanmıştır. TPP, tüm bitmiş ürün geliştirme programını içine alır ve ürünle ilgili geliştirilen her aşamasında bilgi verir, ürünün etiketindeki anahtar bölümler ve farmasötik geliştirme kapsamındaki çalışmalara dayanmaktadır (13).

TPP, öncelikli olarak klinik farmakoloji, endikasyon ve kullanım, kontrendikasyon, uyarı, önlem, yan etkiler, aşırı doz gibi klinik terimlerle ifade edilir. Ürün geliştirmeyi ilacın etiketi ile ilgili özel ifadelerle ilişkilendirir. Jenerik ürünü geliştirirken referans alınan orijinal ürünle aynı TPP sağlanmalıdır. Geliştirilecek ürünün orijinal ürünle aynı TPP'yi sağlaması için, farklı formülasyon ve tasarımlar kullanılabilir. Eğer geliştirilecek ürünün, orijinal üründen TPP'si farklı olursa; klinik çalışmalarla yeni güvenlik ve etkinlik verisine ihtiyaç vardır. TPP ilacın uygulama yolu, dozaj şekli ve büyüklüğü, maksimum ve minimum dozlar, farmasötik şekli, hedef hasta popülasyonu gibi bilgileri de dikkate alır (59).

2.6.1.2. Hedef Ürün Kalite Profili

Hedef Ürün Kalite Profili (Quality Target Product Profile QTPP), güvenlik ve etkinliği göz önünde bulundurarak, istenen kaliteyi sağlamak için ideal olarak elde edilecek bir ilaç ürününün kalite özelliklerinin olası bir özetidir (14).

QTPP, hedef bitmiş ürünün güvenlik ve etkinliğini sağlayan veya sağlaması için üretim prosesi ve formülasyonunun optimizasyonunda kullanılan tasarımdır. Ürün geliştirilmeden önce, ürün spesifikasyonlarının tanımlanması için kullanılabilir.

QTPP kapsamında, farmakokinetiği etkileyen özellikler, ilaç taşıyıcı sistemleri, ürün kap-kapak sistemleri ile ürün kalitesini etkileyen stabilite, sterilite, safsızlık gibi özellikler yer almaktadır (60). Eğer bir parametre hedef ürün kalite profilini etkiliyorsa kritik, etkilemiyorsa kritik olmayan bir parametre olarak değerlendirilmektedir.

2.6.1.3. Kritik Kalite Özelliği

Kritik Kalite Özelliği (Critical Quality Attributes CQA), ürünün kalitesini güvence altına almak için doğrudan veya dolaylı olarak kontrol edilmesi ve uygun bir limit aralığında olması gereken fiziksel, kimyasal, biyolojik veya mikrobiyolojik özellik veya karakteristiklerdir (14).

Potensiyel ürün için kritik kalite özellikleri, QTPP'den ve/veya önceki bilgilerden elde edilir, ürün ve proses geliştirmede kılavuz olarak kullanılır (60).

2.6.1.4. Kritik Proses Parametresi

Kritik Proses Parametresi (Critical Process Parameters CPP), bir işlem aralığında değişkenlik gösterdiklerinde CQA'lara doğrudan ve belirgin etkisi olan ve prosesin istenen kaliteyi üretmesini sağlamak için izlenmesi veya kontrol edilmesi gereken proses parametreleridir (14).

2.6.1.5. Kontrol Stratejisi

Bir kontrol stratejisi, sürekli kaliteyi güvence altına alan başlangıç maddesi kontrollerini, proses kontrollerini ve izlenmesini, tekli veya çoklu birim operasyon etrafındaki tasarım alanlarını ve/veya bitmiş ürün spesifikasyonlarını içerir. Kontrol stratejisi, örneğin hammadde özelliklerini, etkin madde özelliklerini, proses parametrelerinin çalışma aralıklarını, in-proses kontrollerini ve kabul kriterlerini, serbest bırakma testini ve etkin madde veya bitmiş ürün spesifikasyonları ile kabul kriterlerini içerebilir (61).

2.6.1.6. Tasarım Alanı

Tasarım Alanı (Design Space), kalite güvencesinin sağlamış olduğunun gösterildiği üzere, girdi değişkenlerinin (örneğin malzeme özelliklerinin) ve işlem parametrelerinin çok boyutlu kombinasyonları ve etkileşimidir. Tasarım alanı dahilinde çalışmak bir değişiklik olarak görülmemektedir. Tasarım alanının dışına çıkılması ise bir değişiklik olarak görülmektedir ve normal olarak bir ruhsatlandırma sonrası değişiklik işlemini başlatacaktır. Tasarım alanı, müracaatçı tarafından önerilir ve ruhsatlandırma değerlendirmesine ve onayına tabidir (14).

2.6.2. Tasarımla Kalite Uygulamaları

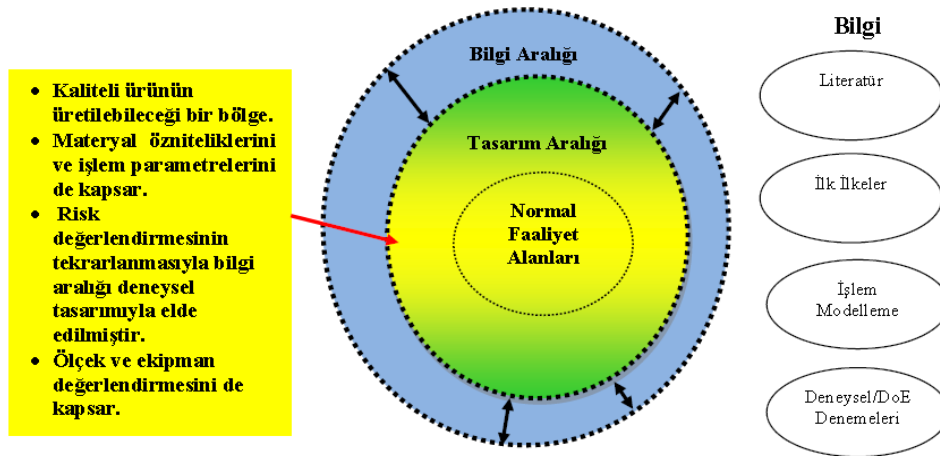
QbD kullanıldığında, formülasyon ve üretim değişkenlerinin anlaşılması ve kontrolü ile farmasötik kalite sağlanmış olur. QbD programının başarılı olması için gerekli özellikler şu şekilde sıralanmıştır (57):

- Ürün tasarımını ve proses geliştirmeyi içerir.
- Bilimsel temelli ve risk bazlıdır.
- Hasta güvenliği ve ürün etkinliği odak noktasıdır.
- İşletme faydaları gözetilir.
- Geliştirilmiş proses anlayışı, proses yeteneği ve sağlamlığı elde edilir.
- Sistematik geliştirme yapılıır.
- Bütünsel - geliştirmenin tüm yönlerine uygulanır.
- Çok değişkenlidir ve etkileşimleri modellenir.
- Tasarım alanı sağlar.
- Onay sonrası düzenleyici kuruluşların gözetiminde önemli bir azalma olur.

QbD'nin uygun bir şekilde uygulanmasının sağladığı avantajlar şu şekilde özetlenmektedir (58).

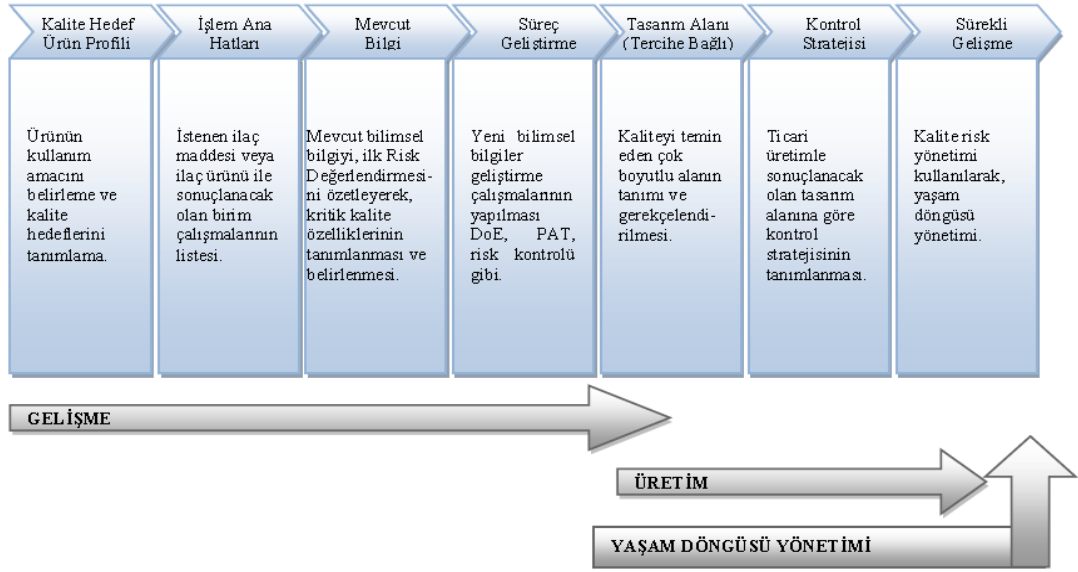
- Geliştirme zamanının ve maliyetlerinin daha etkili kullanılması.
- Düzenleyici kuruluşların beklentilerinin karşılanması ve uyum.
- Ruhsatlandırma süreçlerinde onay sürelerinin azalması ve ruhsatlandırma esnekliği sağlanması.
- Verimli, çevik, esnek sistem kurulmasını sağlanması.
- Üretim verimliliğini arttırarak, kalite maliyetlerin azalması.
- Tüm ürünler için bilimsel bilgi tabanı oluşturması.
- Tutarlı bilgi sağlanması ve bilginin yönetilebilir olması.
- Risk yönetimini etkili kullanılması ve risklerin azaltılması.

QbD kullanıldığında, formülasyon ve üretim değişkenlerinin anlaşılması ve kontrolüyle farmasötik kalite sağlanır. QbD ile formülasyon, ürün kalitesini karşılayacak biçimde, proses ise ürünün kritik kalite özelliklerini sürekli olarak karşılamak için tasarlanmaktadır. Ürün kalitesi geleneksel bakış açısında, üretim süreci ve son ürün testleri ile elde edilir. Üretim prosesi ve kontrollerde minör değişikliklerin uygulanmasında şart koşulan ağır koşullar kesintisiz “gerçek zamanlı” kalite güvencesi stratejilerini engeller. Kritik formülasyon ve işlem parametreleri göz önüne alınarak elde edilen tasarım alanı içinde (Şekil 2-38) çalışılır ve bu yüzden son ürün testi ürünün kalitesini doğrulama ihtiyacı kalmaz (48).



Şekil 2- 38: Tasarım alanı ve faaliyet alanı.

QbD amacı proses değişkenliğini ortadan kaldırmak değildir ve ürün kalitesini korumak için değişkenleri kabul edilebilir bir aralıkta tutmak için uygun bir yöntem geliştirmektir. Kritik kalite özelliklerine dayanan hedef ürün profilinden başlayarak tasarım alanını anlamak için uygun analitik metotlar ve çeşitli araçlar kullanılabilir. Ürün ve proses geliştirme sürecinde “Tasarım Aralığı Belirleme” işlem akışı Şekil 2-39’da belirtilmiştir (56, 48).



Şekil 2-39: Tasarım aralığı işlem akışı.

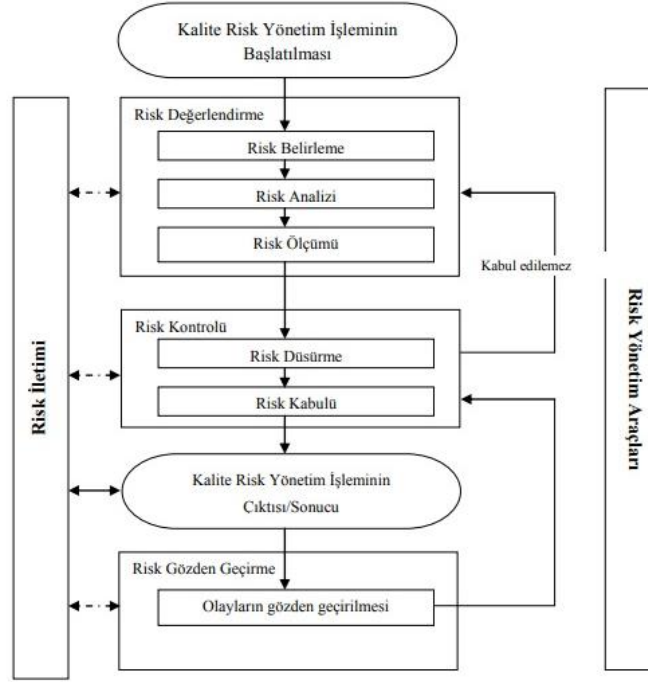
2.6.2.1. Tasarımla Kalitede Kullanılan Araçlar

QbD kavramının iki bileşeni vardır - tasarımın altında yatan bilim ve üretim bilimidir. Risk değerlendirmesi, deney tasarımı (DoE) ve proses analitik teknolojisi (PAT) QbD'de yaygın olarak kullanılan araçlardandır (60). Tasarımla kalitede deney tasarımı (işlemin anlaşılması için çoklu deneyler ve kritik kalite özelliklerinin belirlenmesi), gerekli üretim ve ürün ölçümlerinin yapılması (risk kontrollü ölçümler ve PAT sistemli ölçümler), veri analizi (istatistiksel yazılımlar, modelleme ve yapı-özellik ilişkisini tanımlama), tasarım alanının oluşturulması gerekmektedir (48, 56).

2.6.2.1.1. Risk Değerlendirme

Kalite risk yönetimi ürünün yaşam döngüsü boyunca kalitesi ile ilgili risklerin değerlendirilmesi, kontrolü, iletimi ve gözden geçirilmesi için sistematik bir yöntemdir. ICH Q9 ile kalitede risk yönetimine sistematik yaklaşım sağlanmıştır.

Risk yönetimi prosesi; risklerin değerlendirilmesi, risk kontrolü ve risk gözden geçirme adımlarından oluşur. Kalite risk yönetimi işlem akışı Şekil 2-40'ta belirtilmiştir (53).



Şekil 2-40: Kalite risk yönetimi işlem akışı.

Kalite risk yönetimi karar vermede bilimsel ve pratik bir yaklaşımı destekler. Riskin olasılığını, şiddeti ve bazen tespit edilebilirliğini değerlendirmek üzere mevcut bilgilere dayanarak kalite risk yönetimi sürecinin adımlarını gerçekleştirmek için belgelenmiş, şeffaf ve tekrarlanabilir yöntemler sunar. Risk yönetim araçları ise, riskleri değerlendirip yönetmede kullanılan araçlardır. Bu araçlardan bazıları (53):

- Temel risk yönetim kolaylaştırma yöntemleri (Etki ve tepki analizi (CAE), akış diyagramı, proses haritalandırma, Ishikawa diyagramı).
- Hata modu etki analizi (FMEA).
- Hata modu, etki ve kritiklik analizi (FMECA).
- Hata ağacı analizi (FTA).
- Tehlike analizi ve kritik kontrol noktaları (HACCP).
- Tehlike işletilebilirlik analizi (HAZOP).
- Ön tehlike analizi (PHA).
- Risk derecelendirme ve filtreleme
- İstatistiksel araçlarla destekleme

Etki ve Tepki Analizi (CAE)

Etki ve Tepki deneysel çalışma parametrelerini önceliklendirmek, girdileri çıktılara göre değerlendirmek için yöntem sağlar. Etki ve tepki analizi metodunda risklerin muhtemel spesifik nedenleri, kapsamı ve olası etkileri ile birlikte sistematik bir şekilde tanımlanır.

Kök nedenlerin araştırılmasının, sorunların belirlenmesinin ve farklı sebeplerin önemi karşılaştırılır. Nedenleri araştırmak ve sürekli olarak her bir nedenin neden veya nasıl olduğunu sormak sorunun daha iyi analiz edilmesini ve daha iyi anlaşılmasını sağlar.

Hata Modu Etki ve Kritikler Analizi (FMEA)

FMEA, prosesler için potansiyel hata modlarının değerlendirilmesini sağlar ve bunların çıktılar ve/veya ürün performansı üzerindeki etkilerini sunar. Hata modları kurulduktan sonra, risk indirgeme potansiyel hataları ortadan kaldırmak, içermek, azaltmak yada kontrol etmek için kullanılabilir. FMEA ürün ve prosesin anlaşılmasına dayanır. FMEA metodolojik olarak karmaşık proses analizlerini yönetilebilir adımlara ayırır. Önemli hata modlarının, bu hatalara neden olan faktörlerin ve bu hataların olası etkilerinin özetlenmesi için güçlü bir araçtır (53).

Hata Modu, Etki ve Kritiklik Analizi (FMECA)

FMECA'da yöntem, sonuçların şiddet derecesi, oluşma olasılıkları ve tespit edilebilirlikleri açısından genişletilmiştir. FMECA; ürün veya proses spesifikasyonları değerlendirilerek, üretim prosesleriyle ilgili hata ve risklerin bulunmasında kullanılır. Risklerin en aza indirilmesi için ürün ya da proses özelliklerinin yanısıra, ek önleyici faaliyetlere ihtiyaç duyulabilecek alanların belirlenmesi gerekmektedir (53).

Hata Ağacı Analizi (FTA)

Hata ağacı analizinde, ürün ya da prosesin işlevselliğinde bir hata olduğu varsayılarak, önlenmesinin önemli olduğu düşünülen hata veya problemin bütün olası kök nedenleri belirlenir. Bu yöntemde FTA yönteminde sistem/alt sistem hataları tek seferde değerlendirilir ve bu yöntemde nedensellik zincirleri tanımlanarak çoklu nedenlerin birleştirilir. Sonuçlar çeşitli semboller kullanılarak hata modları ağacı şeklinde sunulur ve bu ağacın her dalında hata modlarının kombinasyonları mantıklı sebepler bulmaya çalışılarak (VE, VEYA, vb.) tanımlanır. FTA, hatanın kök nedenine

giden yolu bulmak için kullanılabilir; çoklu faktörlerin belirli bir sorunu nasıl etkilediğinin değerlendirilmesinde etkin bir araçtır (53).

Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları (HACCP)

HACCP ürün kalitesi, güvenilirliği ve güvenliğinin temin edilmesi için sistematik, proaktif ve koruyucu bir araçtır. Tasarım, geliştirme, üretim ve ürünlerin kullanımından ötürü tehlikelerin olumsuz sonuçlarını ya da riskleri analiz etmek, değerlendirmek, önlemek ve kontrol etmek için teknik ve bilimsel ilkelere uygulanan yapılandırılmış bir yaklaşımdır. HACCP fiziksel, kimyasal ve biyolojik riskleri belirlemek ve yönetmek için kullanılabilir (53).

Tehlike ve İşletilebilirlik Analizi (HAZOP)

HAZOP risk olaylarının tasarım ya da çalışma amaçlarından sapmalardan kaynaklandığını varsayan bir teoriye dayanır. Bu teori, “kılavuz kelimeler” olarak adlandırılan kelimeler kullanarak zararların belirlenmesini sağlayan sistematik bir beyin fırtınası tekniğidir. Kılavuz kelimeler (örneğin; Hayır, Daha Fazla, Haricinde, Kısmen, vb.) potansiyel sapmaları belirlemeye yardımcı olmak için ilgili parametrelere (örneğin kontaminasyon, sıcaklık) uygulanır. Genelde proses ya da ürün tasarımı ve bunun uygulaması konusunda uzmanlaşmış bir takım bu süreçte yer alır. Üretim ve formülasyonun yanı sıra tedarikçiler, etkin maddeler ve bitmiş ürünler için, ekipman ve tesisler de dahil olmak üzere üretim proseslerine uygulanabilir (53).

Ön Tehlike Analizi (PHA)

PHA, gelecekteki tehlikeleri, tehlikeli durumları ve zarara neden olabilecek olayları belirlemenin yanı sıra belirli bir aktivite, tesis, ürün yada sistem için bunların ortaya çıkma olasılığını tahmin etmek için bir tehlike yada arıza hakkındaki daha önceki deneyim ya da bilgiye dayanan bir analiz aracıdır (53).

Risk Derecelendirme ve Filtreleme

Risk derecelendirme ve filtreleme, risklerin karşılaştırılması ve sıralanması için kullanılan bir araçtır. Karmaşık sistemlerin risk sıralaması tipik olarak, her bir risk için çok çeşitli nicel ve nitel faktörlerin değerlendirilmesini gerektirir (53).

2.6.2.1.2. Deneş Tasarımı (DoE)

Deneş Tasarımı (Design of Experiment) kritik proses parametrelerinin belirlenmesi ve tasarım alanının oluşturulması aşamalarını içerir. DoE, en az sayıda analiz ile en fazla miktarda bilgi elde edebilmek için deneşlerin nasıl gerçekleştirilip planlanacağına dair bir metodolojiyi kapsamaktadır (48).

Deneş tasarımının genel özellikleri planlanmış testler, veri analiz yaklaşımı, eş zamanlı faktör değişimi ve bilimsel yaklaşımdır. İyi bir deneş tasarımı, ürünün sağlıklı bir şekilde tanınmasına ve üretim sırasında tüm prosesin etkin yönetimine dayanmaktadır. DoE çalışmaları daha iyi ürün ve proses anlayışı elde etmek için mekanizma tabanlı çalışmalarla birlikte çalışır. DoE, bir işlemin girdileri ve çıktıları arasındaki ilişkiyi belirlemek için etkili bir yöntemdir ve optimum koşulları, kritik malzeme özellikleri, kritik proses parametreleri ve tasarım alanını belirlemede yardımcı bir araçtır (60).

DoE, deneşin hedeflerinin tanımlanması ve değerlendirilmesi ile başlamaktadır. Deneş tasarımına dahil edilecek formülasyon veya proses faktörleri, ulaşılacak hedeflere bağlıdır. DoE'nin istatistiksel olarak birçok avantajı bulunmakta ve optimum tepkinin belirlenmesini sağlamaktadır. DoE sayesinde birçok faktör eş zamanlı olarak değiştirilirken her bir faktör birbirinden bağımsız olarak değerlendirilir (48).

2.6.2.1.3. PAT (Proses Analitik Teknolojisi)

Proses Analitik Teknolojisi (Process Analytical Technology, PAT) son ürünün kalitesini güvence altına almak için, hammaddelerin, in-proses maddelerin kritik kalite ve performans özelliklerinin zamanında ölçülmesi yöntemiyle üretimin tasarım, analiz ve kontrol edilmesine yönelik bir sistemdir (52).

PAT uygulaması ile “ölç ve kontrol et” sistemi yerine, “sürekli ölçerek kontrolü elinde tut” sistemi benimsenmektedir. Gerçek zamanlı geri bildirim sağlayan çok sayıda proses içi kontrol mekanizmasının dahil edilmesi riskleri azaltır ve bu kontroller kaliteli bir ürünü garanti altına alarak aynı zamanda yüksek maliyetli başlangıç malzemeleriyle ilgili mali riskleri de azaltır (48).

Bilimsel, risk yönetimli ilaç geliştirme, üretim ve kalite güvencesini anlamak için PAT çerçevesinde pek çok araç bulunmaktadır. PAT araçları; tasarım, veri toplama ve analizi için çoklu değişkenli araçlar, proses analizörü ve proses kontrol

araçları ve sürekli geliştirme ve bilgi yönetim araçları olmak üzere dört kategoride ayrılmaktadır.

Proses ölçümleri numunenin analizine göre hat yanı (numunenin prodesten izole edilerek analiz edilmesi), hat dışı (numunenin prodesten ayrıldığı, ölçüm sonrası tekrar proses akışına dönebildiği) ve hat içi (numunenin olmadığı, proses sırasında analizin yapıldığı) olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır.

PAT Araçlarının Liyofilizasyon Proseslerinde Kullanımı

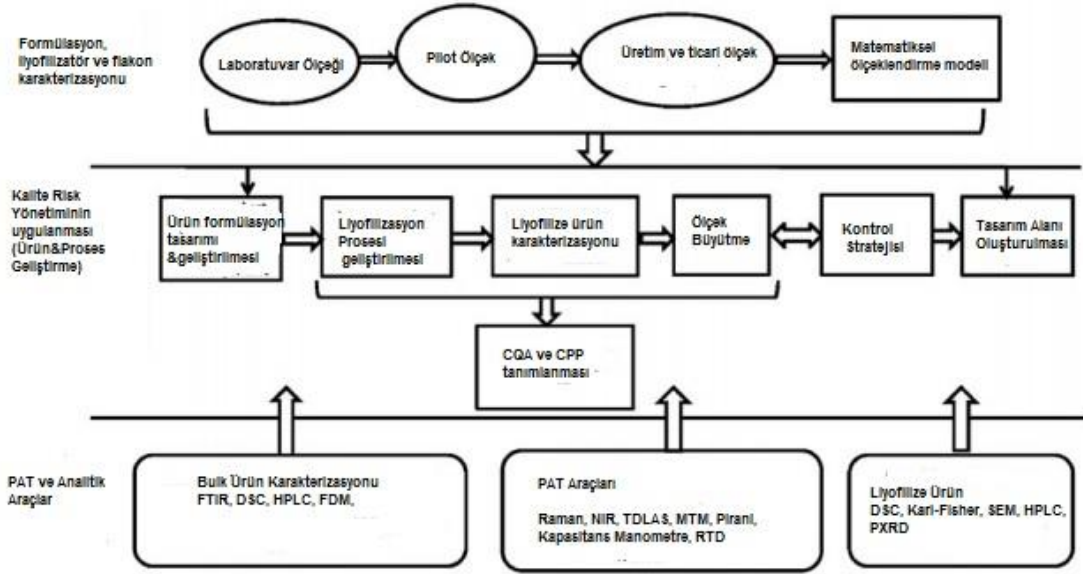
Farmasötik endüstrisinde son ürününün titiz bir şekilde test edilmesinden, risk bazlı sürekli izleme yaklaşımı ve üretim prosesinin kritik adımlarının kontrolü, proses analitik teknolojisi (PAT), liyofilizasyon proses geliştirilmesinin ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir.

Bulk çözeltinin camsı geçiş, ötektik ve çökme sıcaklıklarının belirlenmesinde genellikle DSC, FDM gibi (madde 2.3.6) yöntemler kullanılmaktadır. Dondurma aşamasında ControLyo™ (Nucleation On-Demand Technology) ile nükleasyon kontrolü sağlanır. Raman spektroskopisi ve yakın kızılötesi spektroskopi (NIR) ise kritik proseslerin ve ürün parametrelerinin izlenmesi için kullanılır. Raman problemleri flakonun üzerine, NIR problemleri flakonun yanına yerleştirilerek su-buz dönüşümü, ürün kristalleşmesi, polimorfik geçiş kinetiği gibi fiziksel ve kritik işlem adım değişikliklerini izlemek için kullanılır.

Ayrıca manometrik sıcaklık ölçümü (MTM) ve ayarlanabilir diyot lazer absorpsiyon spektroskopisi (TDLAS) birincil ve ikincil kurutma aşamasında sıcaklık izlenmesi için kullanılan diğer PAT araçlarıdır. analitik yöntemleri de farmasötik üretimde ve prosesin gerçek zamanlı izlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Flakon üzeri empedans spektroskopisi (TVIS), dondurma ve kurutma aşamasında bulk çözeltide meydana gelen elektriksel özellikteki değişiklikleri kullanan, geliştirme ölçeğindeki liyofilizasyon prosesini izlemek için kullanılan yeni bir proses analitik teknolojisidir.

PAT, bir prosesin sürekli gerçek zamanlı izlenmesine ve kontrolüne imkan veren, daha tutarlı ürün kalitesi ve üretim kapasitesinin daha verimli kullanılmasını sağlayan QbD bileşendir. QbD ve PAT daha az ekipman ve reçete bağımlısı olması ve proses çıktılarının bir fonksiyonu olması nedeniyle laboratuvar ölçeğinden üretime, bir

tesisten diğer tesise teknoloji ve proses transferini kolaylaştırmaktadır. Liyofilize ürün tasarlanması ve geliştirilmesinde QbD yaklaşımının kullanılması Şekil 2-41'de gösterilmiştir.



Şekil 2-41: Liyofilize üründe QbD ve PAT uygulaması.

2.7. Teknoloji Transferi

Ürünün pazarlama faaliyetleri sırasında, mevcut onaylanmış prosesi bir üretim tesisinden diğerine transfer etmek gerekebilir. Bu transferler genellikle tedarik risklerini azaltmak için ek kapasite veya ikili kaynak kullanımı ihtiyacı ile tetiklenmektedir.

Yeni bir ürün teknoloji transferi planlanırken, transfer edilen ürünün mevcut ürün akışları üzerindeki etkileri ve ilgili potansiyel sorunları değerlendirmek üzere geliştirme, mühendislik, üretim, kalite kontrol, kalite güvencesi, düzenleyici, satın alma, proje yönetimi ve diğer ilgili gruplardan oluşan işlevler arası bir ekip oluşturmak son derece yararlıdır. Başarılı bir teknoloji transferine doğru atılan ilk adım, ayrıntılı risk analizi yapmak ve proses performansını ve/veya ürün kalitesini etkileme potansiyeli olan risk alanlarını tespit etmektir. Örnek olarak liyofilize bir ürünün teknoloji transferi sırasında risk analizine dahil edilmesi gereken temel teknik alanların bazıları aşağıda belirtilmiştir (62).

Tesisler: Alan sınıflandırmaları, çevresel izleme, sıcaklık-nem kontrolü, depolama alanları (hammadde, bulk ürün, bitmiş ürün), temizlik, kontaminasyon faktörleri

Başlangıç malzemeleri: Hammadde, primer ambalaj malzemeleri spesifikasyonları, metotları ve depolama koşulları

Üretim ekipmanları: Spesifikasyonlar, kapasite, proses kontrol, temizlik/sterilizasyon prosedürleri

Üretim: Hammadde transferi, formülasyon, ambalaj bileşenlerinin hazırlanması (flakon, tıpa, kapak sterilizasyonu), steril filtrasyon, dolum, liyofilizasyon, optik kontrol, ürünle temas eden malzemelerin geçimliliği, proses sırasında sıcaklık nem kontrolü, bekleme ve proses süreleri

2.8. Yapay Zeka

Yapay zeka, insan beyninin çalışma sistemine benzer şekilde geliştirilmiş, zeki hesaplamalar yapma yeteneğine sahip yazılım üreten bilgisayar bilimidir. Yapay zeka geliştirme alanında iki ana kategori bulunmaktadır. Birincisi insani deneyimi simüle eden ve uzman sistemleri gibi kurallar dizisinden sonuç çıkaran yöntem ve sistemleri, ikincisi ise beynin nasıl çalıştığını modelleyen sistemleri içermektedir.

Yapay sinir ağları da insanlar gibi girdi verilerinden doğrudan bilgi almaktadır. Öğrenme algoritmasının iki ana formu bulunmaktadır. Ağın girdi verileriyle sunulduğu ve verilerdeki modeli tanımayı öğrendiği denetlenmemiş öğrenme, küçük miktarlarda veriyi daha az sayıda küme halinde düzenlemek için yararlıdır. Ağa “öğretme” ye benzeyen denetimli öğrenme için, ağ bir dizi girdi ve çıktı örneği sunulur ve girdileri çıktılara bağlayan ilişkileri öğrenir. Denetimli öğrenme, hedefin girdiler (içerikler ve proses koşulları) ve çıktılar (ölçülen özellikler) arasındaki sebep-sonuç ilişkilerini belirlemek olduğu formülasyonlarda faydalıdır (64).

Yapay zeka uygulamalarından; Yapay Sinir Ağları (ANN) (insan beyninin işleyişini taklit etme girişimi), Genetik algoritmalar (biyolojik sistemlerin kendilerini düzenlediği ve uyarladığı evrimsel bir sürecin taklit edilmesi girişimi) ve Bulanık mantık algoritmaları son yıllarda sıkça kullanılan programlama metotlarıdır. Bu metotları ayrı ya da birlikte kullanan yazılımlar bulunmaktadır (48).

2.8.1. Yapay Sinir Ağları (ANN)

Yapay sinir ağları, sinir ağını oluşturan katsayılar (ağırlıklar) ile bağlanan yüzlerce birim ve yapay nöronlardan oluşan ve biyolojiden esinlenerek oluşturulan hesaplama modelleridir. Bilgi işledikleri için işleme bileşenleri olarak da bilinmektedir. Tüm işleme bileşenleri, ağırlık girişi, aktarım fonksiyonu ve bir çıktıya sahiptir. (48).

2.8.2. Genetik Algoritma

Genetik algoritma, karmaşık çok boyutlu arama uzayında en iyinin hayatta kalması ilkesine göre bütünsel en iyi çözümü arayan bir yöntemdir. Genetik algoritmaların asıl amacı, hiçbir çözüm tekniği bulunmayan problemlere çözüm aramaktır. Genetik algoritmaların problemin çözümündeki başarısına karar vermedeki en önemli faktör, problemin çözümünü temsil eden verilerin gösterimidir. Her verinin problem için çözüm olup olmayacağına karar veren bir “uygunluk fonksiyonu” vardır. Uygunluk fonksiyonundan dönen değere göre yüksek değere sahip olan verilere, ortamdaki diğer verilerle çoğalmalarına fırsat verilir. Bu veriler çaprazlama işlemi sonunda yeni veriler üretir. Yeni veri, kendisini meydana getiren verilerin özelliklerini taşır. Yeni veriler üretilirken düşük uygunluk değerine sahip veriler daha az seçileceğinden bir süre sonra değerlendirme dışında bırakılır. Böylelikle, iyi özellikler pek çok yeni veri aracılığıyla bilgi ortamına yayılır ve genetik işlemler aracılığıyla diğer iyi özelliklerle birleşir. Uygunluk değeri yüksek olan ne kadar çok veri bir araya gelip yeni veriler oluşturursa arama alanı içerisinde o kadar iyi bir çalışma alanı elde edilir (48).

2.8.3. Bulanık Mantık

Bulanık Mantık, sembolik mantığın kesin olmayan veri ve sonuçlarla çalışmada ortaya çıkan zorlukları yenmek için doğru-yanlış ikileminden çıkıp değişen gri seviyelerini kullanan bir mantık sistemidir. Bulanık kümeleri için üyesi olma fonksiyonları, 0 ile 1 arasında herhangi sürekli bir değeri alabilir. İnsan dili ile ifade edilebilecek göreceli ifadeleri bir mantık sistemi içerisinde işleme özelliğine sahiptir (63).

Bir yapay zeka teknolojisi olarak bulanık mantık, optimizasyon amaçlarını tanımlamada kullanılabilir. Bulanık mantık, özellikle birbiriyle çelişen özellikler istendiğinde, uygun olduğunu kanıtlamıştır. Bulanık mantık aynı zamanda, işlem

kontrolünde de yaygın biçimde kullanılır, çünkü kuralların, IF (A) THEN (B) [Eğer (A) olur ise bu durumda (B) olur] şeklinde, bir kümeye üye olma fonksiyonlarıyla ilişkili olan bir bağlantılı güvenilirlik düzeyi ile sade bir lisanla ifade edilmesine imkan verir (48).

2.8.4. Optimizasyon

Ürünün istenen özelliklerine ulaşma amacıyla optimum bir formülasyon ve/veya işlem değişkenleri için optimum özellikleri tanımlamak için matematiksel optimizasyon teknikleri kullanılır. Bu yöntemlerin kullanılmasında amaç, bir formülasyondaki birbirleriyle çelişen kalite kriterleri arasında uygun bir orta yol bulunması, işlem ve/veya formülasyon değişkenlerinin “en iyi” uzlaşma çözümünün bulunması ve tercihen sağlam bir işlem ve formülasyon sonucunun doğması için sayısal model temel alınarak düzenlenmesidir (48).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Lornoksikam (Zhejiang Zhenyuan Pharmaceutical Co. Ltd/Çin)

Mannitol (Roquette/ Fransa)

Disodyum EDTA (Merck/Almanya)

Trometamol (Merck/ Almanya)

3.1.2. Kullanılan Ekipmanlar

Çözelti hazırlama tankı (Techninox / İtalya)

Çözelti filtrasyon ünitesi (Pall/A.B.D.)

Flakon yıkama makinası (Bosch/Almanya)

Flakon sterilizasyon tüneli (Bosch/Almanya)

Flakon dolum makinası (Bosch/Almanya)

Liyofilizatör (IMA Life Liyofast Mini 1.6 /İtalya)

HPLC (Agilent 1260 Infinity / A.B.D.)

Analitik Terazî (Mettler Toledo /A.B.D.)

pH metre (Mettler Toledo /A.B.D.)

Ultrasonik Banyo (Bandelin, Almanya)

Su Banyosu (Benchmark, A.B.D.)

Sıvıda partikül sayım cihazı (HIAC/A.B.D.)

Sterilite test cihazı (Merck Millipore/ A.B.D.)

Vakumlu Etüv (Vacusel, BMT Medical Technology/Czechia)

Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (Perkin-Elmer/A.B.D.)

3.1.3. Kullanılan Bilgisayar Programları

Intelligensys FormRules V3.32

Intelligensys INForm V3.9

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneylerin Tasarımı (DoE)

Deneylerin tasarımı (DOE), bir prosesi etkileyen faktörler ile bu prosesin çıktısı arasındaki ilişkiyi belirleyen sistematik bir yöntemdir. Başka bir deyişle, neden-sonuç ilişkilerini bulmak için kullanılır. Bu bilgiyi çıktıyı optimize etmek için işlem girişlerini yönetmek için ihtiyaç duyulur.

Deneylerin tasarımında üretken, uygun maliyetli ve niteliksel anlamda yeterli bir veri tabanı sağlanması hedeflenir. Deneysel tasarımın istatistiksel yöntemleri, deneylerin etkililiğini ve verimliliğini iyileştirmeyi ve optimize etmeyi amaçlamaktadır.

Sınırsız donanım ve yazılım kapasitesi, neredeyse sınırsız miktarda bilgi önermektedir. Bununla birlikte çok sayıda verinin, büyük miktarda bilgi ile mutlaka uyummadığı göz ardı edilir. Temel olarak bilgi açısından zengin veriler içeren verilerin toplanması arzu edilir. Deneysel tasarımın istatistiksel yöntemleri, bu tür bilgi bakımından zengin verilerin oranını arttırmak için bir olasılık sunmaktadır.

Verilerin anlaşılması ve prosesin kontrol etmenin yanı sıra, deneysel tasarımın birkaç temel fikri formüle edilir (12).

- Uygun değişkenlerin seçimi.
- Girdi verilerinin en uygun aralığının belirlenmesi.
- En uygun prosesin belirlenmesi.

3.2.2. Hedef Ürün Profiline Belirlenmesi

Hedef Ürün Profili (TPP), ürün geliştirme programının genel amacının açıklar ve ürün geliştirme aşamalarında ürün hakkında bilgi verir. TPP, ürün etiketindeki anahtar bölümlere göre düzenlenir ve ürün geliştirme faaliyetlerini kapsar (13).

TPP, ürün geliştirme sürecinde ürünle ilgili elde edilen bilgi arttıkça değişen dinamik bir özet olarak tanımlanabilir, her disiplinden bilgi içerebilir. Ürün etiketindeki

anahtar bölümler; endikasyon ve kullanım, kontrendikasyon, doz ve uygulama yolu, yan etkiler, klinik farmakoloji, klinik olmayan toksikoloji, aşırı doz gibi kavramları içerir.

TPP, ilacın etkili bir şekilde optimizasyonu, klinik araştırma stratejilerinin tasarımı gibi ilacın geliştirme sürecinde merkezi bir rol oynar. Jenerik bir ürünle referans alınan ürünün hedef ürün profili aynı olmalıdır. Jenerik ürün TPP'yi sağlamak için farklı formülasyon ve tasarım kullanabilir. Geliştirilecek ürünün TPP'sinin farklı olması durumunda ürünün güvenliliği ve etkililiğine dair yeni verileri gerektirir.

3.2.3. Hedef Ürün Kalite Profilinin Belirlenmesi

Hedef Ürün Kalite Profili (QTPP), bir ilacın güvenlik ve etkinliğini göz önünde bulundurarak, istenilen kaliteyi sağlamak için elde edilecek kalite karakteristiklerinin ileriye dönük bir özetidir (14). Ürünün etkililiğinin ve güvenliliğinin garanti edilmesi amaçlanır. Ürün kalitesi için TPP'nin bir koludur; formülasyon, üretim prosesi, kontrol ve optimizasyon aşamalarına odaklanır.

QTPP'ye, klinik olarak kullanım amacı, dozaj formu, uygulama yolu, ambalajlama, sterilite, tanıma, dissolüsyon, safsızlıklar, stabilite, miktar tayini gibi özellikleri kapsar. Tez çalışmasında geliştirilmesi amaçlanan Lornoksikam enjeksiyonluk liyofilize toz ürününe ait Hedef Ürün Kalite Profili Tablo 3-1'de sunulmuştur.

Tablo 3-1: Lornoksikam enjeksiyonluk liyofilize toz hedef ürün kalite profili.

QTPP Özellikleri	Hedef	Gerekçe
Dozaj Formu	Enjeksiyonluk Steril Liyofilize Toz, kullanım öncesi enjeksiyonluk su ile sulandırılmaya hazır	Farmasötik eşdeğerlik
Uygulama Yolu	Parenteral tek doz, kullanım öncesi enjeksiyonluk su ile sulandırılır.	Farmasötik eşdeğerlik
Dozaj Miktarı	8 mg/vial	Farmasötik eşdeğerlik
Kap Kapak Sistemi	Tip 1 şeffaf cam flakon, polipropilen geçme kapaklı kauçuk tıpa, alüminyum kapak	Hedef raf ömrünü ve ürünün dağıtım süresince ürün bütünlüğünü güvence altına almak
Raf Ömrü ve Saklama Koşulu	36 ay, sulandırılmış çözelti için 24 saat 25°C'nin altında oda sıcaklığında saklanır.	Farmasötik eşdeğerlik

Tablo 3-1: Lornoksikam enjeksiyonluk liyofilize toz hedef ürün kalite profili.

QTPP Özellikleri	Hedef	Gereke
Farmokokinetik	Xefo ile biyodeşdeğer	Ürün etiketinde belirtilen gerekliliklerin sağlanması
İlaç Ürünü Kalite Özellikleri	Kek görünüşü	Farmokope ve kalite standartlarına uygunluk
	Sulandırılmış çözeltinin rengi ve berraklığı	
	Toz kekin su içeriği	
	Tanıma	
	Miktar tayini	
	İmpürite	
	Dozaj formu tekdüzeliği	
	Sulandırılmış çözeltinin ozmolalitesi	
	Sulandırılmış çözeltinin pH'ı	
	Sulandırılmış çözelti gözle görülemeyen partikül sayısı	
	Sulandırma süresi	
	Mikrobiyal limit	

3.2.4. Kritik Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi

Kritik Kalite Özellikleri (CQA), ürün kalitesinin sağlanması için doğrudan veya dolaylı olarak kontrol edilmesi gereken fiziksel, kimyasal, biyolojik veya mikrobiyolojik özellikler veya karakteristiklerdir (15).

ICH Q8 R2'de CQA, istenilen ürün kalitesini sağlamak için uygun limit, aralık veya dağılımda olması gereken, fiziksel, kimyasal, biyolojik veya mikrobiyolojik özellik veya karakteristiklerdir.

CQA'lar genellikle ilaç etkin maddesi, yardımcı maddeler, ara ürünler (proses içi malzemeler) ve farmasötik ürün ile ilgilidir. Ürün ve proses geliştirmede rehberlik etmesi için, hedef ürün kalite profili ve/veya ön bilgilerden türetilen potansiyel ilaç ürünü CQA'ları kullanılır. Potansiyel CQA'ların listesi, formülasyon ve üretim prosesi belirlendiğinde ve ürün bilgisi ve proses kavrayışı arttıkça değiştirebilir.

Kalite risk yönetimi, sonraki değerlendirme için potansiyel CQA'ların listesini önceliklendirmede kullanılabilir. İlgili CQA'lar, değişikliklerin ürün kalitesi üzerine etkinin kapsamını değerlendiren yinelemeli bir kalite risk yönetimi süreci ve deneylerle tanımlanır (14).

Bu tez çalışmasında ürünün güvenlik ve etkinliğine etki eden formülasyon ve proses değişkenleri ile bitmiş ürün spesifikasyonunda bulunması gereken özellikler değerlendirilmiştir. Kritik Kalite Özellikleri Tablo 3-2’de sunulmuştur.

Tablo 3-2: Lornoksikam enjeksiyonluk liyofilize toz kritik kalite özellikleri.

Farmasötik Ürünün Kalite Özellikleri	Kritik (E/H)	Gerekeçe
Kek görünüşü	Evet	İlaç etkililiği ve güvenliliği için kritiktir. Çökelti kek; sulandırma sırasında çözünme ve dozlamamanın doğru yapılamaması sorununa neden olabilir, uygun olmayan kek görünüşünün ürün bozunmasının işareti olabilir.
Sulandırılmış çözeltinin rengi ve berraklığı	Evet	İlaç etkililiği ve güvenliliği için kritiktir. Sulandırılmış çözeltinin rengi ürün bozunmasının sonucu olabilir, berrak olmayan çözelti ürünün çözünme sorunu olduğunu gösterir.
Toz kekin su içeriği	Evet	İlaç etkililiği ve güvenliliği için kritiktir. İlaç bozunmaya uğrayan su varlığında istenmeyen safsızlıklar nedeyile stabil değildir.
Tanıma	Evet	İlaç etkililiği için kritiktir.
Miktar Tayini	Evet	İlaç etkililiği için kritiktir. İlaç miktarı terapötik aktivite içinde olmalıdır.
İmpürite	Evet	İlaç güvenliliği için kritiktir.
Sulandırılmış çözeltinin pH’ı	Hayır	Liyofilizasyon öncesi bulk çözeltinin pH’ı kontrol edilir.
Dozaj tekdüzeliği	Evet	İlaç etkililiği ve doğru dozlama için kritiktir.
Sulandırılmış çözeltinin ozmolalitesi	Hayır	Liyofilizasyon öncesi bulk çözeltinin ozmolalitesi kontrol edilir.
Sulandırılmış çözelti gözle görülemeyen partikül sayısı	Evet	İlacın intravenöz uygulama yolu göz önüne alındığında ilaç güvenirliliği için kritiktir.
Sulandırma süresi	Evet	Çözünme süresi kritiktir.
Sterilite	Evet	İlacın intravenöz uygulama yolu göz önüne alındığında ilaç güvenliliği için kritiktir.
Bakteriyel endotoksin	Evet	İlacın intravenöz uygulama yolu göz önüne alındığında ilaç güvenliliği için kritiktir.

3.2.5. Risk Değerlendirmesi

Çalışmada risk değerlendirmesi için Etki ve Tepki Analizi (Cause and Effect) yöntemi kullanılmıştır. Etki ve Tepki deneysel çalışma parametrelerini önceliklendirmek, proses parametrelerini (girdiler) kalite özelliklerine (çıktılara) göre değerlendirmek için yöntem sağlar. Bununla birlikte, potansiyel şiddet etkisini değerlendirmek için üretim kontrol sınırlarını (proses parametre aralıklarını) sağlamaz.

Etki ve tepki analizinin hedefi, ileri tektik ve deneysel tasarım alanlarını önceliklendirmek ve liyofilizasyon prosesini daha iyi anlamak için mevcut ve önceki bilgiler ile girdi ve çıktılar arasındaki ilişkiyi değerlendirmektir. Etki ve Tepki analizi yöntemi, bilgi alanının oluşturulmasını sağlayacak kalite özelliklerini etkileyen proses parametrelerini tanımlamaya yardımcı olur.

Risk değerlendirmesi, ürün kalite özellikleri üzerinde doğrudan veya dolaylı olarak etkileme olasılığı bulunan tüm parametrelerin analizini içermiştir. Ürün veya proses parametreleri (etki) ve ürün kalite özellikleri (tepki) olarak belirlenmiştir. Risk değerlendirmesinde, kalite özelliklerini sıralamada kullanılan puanlar ve tanımlayıcı terimler Tablo 3-3'te, kalite özellikleri ilgili sıralaması Tablo 3-4'te belirtilmiştir.

Tablo 3-3: Kalite özelliklerinin puan ve tanımlanması.

Puan	Tanımlama
10	Ürün güvenliliği ve etkililiği üzerine varolan veya beklenen doğrudan etki
7	Ürün güvenliliği ve etkililiği üzerine bilinmeyen veya beklenen dolaylı etki
5	Ürün güvenliliği ve etkililiği üzerine düşük veya bilinmeyen etki
1	Ürün güvenliliği ve etkililiği üzerine etkisi yok

Tablo 3-4: Kalite özelliklerinin puanlanması.

Kalite Özellikleri	Puanlama
Kek görünüşü	7
Sulandırılmış çözeltinin rengi ve berraklığı	10
Sulandırılmış çözeltinin pH'sı	5
Sulandırılmış çözeltinin ozmolalitesi	5
Toz kekin su içeriği	7
Tanıma	10
Miktar Tayini	10
İmpürite	10
Dozaj tekdüzeliği	10
Sulandırılmış çözelti gözle görülemeyen partikül sayısı	10
Sulandırma süresi	7
Sterilite	10
Bakteriyel Endotoksin	10

Ürün kalite özellikleri üzerinde doğrudan veya dolaylı olarak etkisi olan proses parametrelerinin puanlanması Tablo 3-5'te belirtilmiştir. Ürün kalite özellikleri ve proses parametreleri risk değerlendirmesi Tablo 3-6'da sunulmuştur.

Tablo 3-5: Proses parametrelerinin puanlanması.

Puan	Tanımlama
10	Güçlü etkisi olan
7	Etki olması beklenen
5	Kesin olarak bilinmeyen etki
1	Etkisi yok

Tablo 3-6 : Kalite Özellikleri ve Proses Parametreleri Risk Değerlendirmesi.

Proses Parametresi	Kalite Özelliği												Proses Performansı	Toplam Puan	Gerekçe	Önlemler
	Kek görünüşü	Su içeriği	Sulandırma süresi	Tanıma ve miktar tayini	İmpürite	Dozaj tekdüzelığı	Sulandırılmış çözeltinin rengi ve berraklığı	Sulandırılmış çözeltinin pH'sı	Sulandırılmış çözeltinin ozmolalitesi	Sulandırılmış çözelti gözle görülemeyen partikül sayısı	Sterilite	Bakteriyel Endotoksin	Proses Verimliliği			
Puan	7	7	7	10	10	10	7	1	1	10	10	10	7			
Dondurma Oranı	7	1	5	5	5	5	1	1	1	5	1	1	10	390	Dondurma oranı, buz kristali morfolojisini ve çökmeye neden olan kurutma özelliklerini etkiler. Hızlı dondurma oranı daha küçük buz kristalleri ile son üründe küçük gözeneklere ve daha uzun sulandırma süresine neden olur. Yavaş dondurma oranı düşük süper soğutmaya, büyük buz kristalleri ve büyük gözeneğe ve kısa sulandırma süresine neden olur.	Dondurma oranı optimize edilir.

Tablo 3-6 : Kalite Özellikleri ve Proses Parametreleri Risk Değerlendirmesi.

Proses Parametresi	Kalite Özelliği												Proses Performansı	Toplam Puan	Gerekçe	Önlemler
	Kek görünüşü	Su içeriği	Sulandırma süresi	Tanuma ve miktar tayini	İmpürite	Dozaj tekdüzeliği	Sulandırılmış çözeltinin rengi ve berraklığı	Sulandırılmış çözeltinin pH'sı	Sulandırılmış çözeltinin ozmolalitesi	Sulandırılmış çözelti gözle görülemeyen partikül sayısı	Sterilite	Bakteriyel Endotoksin	Proses Verimliliği			
Puan	7	7	7	10	10	10	7	1	1	10	10	10	7			
Dondurma Sıcaklığı	10	1	7	7	7	7	1	1	1	1	1	1	1	382	Dondurma sıcaklığı, tam donmanın sağlanması için T _g sıcaklığının altında olmalıdır. Tam donma sağlanmadan birincil kurutma aşamasına geçiş, ileri aşamada ürün stabilitesini etkileyecek kek yapısında kayba neden olur ve su içeriğini etkiler.	-
Dondurma Süresi	7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10	202	Donma için gereken minimum süreden daha uzun süre donma aşamasında tutulması etkisi gözlemlenmez.	-

Tablo 3-6 : Kalite Özellikleri ve Proses Parametreleri Risk Değerlendirmesi.

Proses Parametresi	Kalite Özelliği												Proses Performansı	Toplam Puan	Gerekçe	Önlemler
	Kek görünüşü	Su içeriği	Sulandırma süresi	Tanuma ve miktar tayini	İmpürite	Dozaj tekdüzeliği	Sulandırılmış çözeltinin rengi ve berraklığı	Sulandırılmış çözeltinin pH'sı	Sulandırılmış çözeltinin ozmolalitesi	Sulandırılmış çözelti gözle görülemeyen partikül sayısı	Sterilite	Bakteriyel Endotoksin	Proses Verimliliği			
Puan	7	7	7	10	10	10	7	1	1	10	10	10	7			
Ön Şartlandırma Oranı	1	1	1	5	1	5	1	1	1	1	1	1	10	240	Hızlı ön şartlandırma oranı daha düşük Ostwald olgunlaşmasına, yavaş ön şartlandırma oranı daha yüksek Ostwald olgunlaşmasına neden olur.	Ekipman yetenekleri ile sınırlıdır.
Ön Şartlandırma Sıcaklığı	7	5	5	5	7	5	5	1	1	5	1	1	10	466	Ostwald olgunlaşmasını sağlamak için T_g sıcaklığından yüksek olmalı ancak erime ile sonuçlanacak kadar yüksek olmamalıdır.	Ön şartlandırma sıcaklığı, kurutma süresini azaltmak ve kurutma aşamasında batch tekdüzeliğine ulaşmak için optimize edilir.

Tablo 3-6 : Kalite Özellikleri ve Proses Parametreleri Risk Değerlendirmesi.

Proses Parametresi	Kalite Özelliği												Proses Performansı	Toplam Puan	Gerekçe	Önlemler
	Kek görünüşü	Su içeriği	Sulandırma süresi	Tanuma ve miktar tayini	İmpürite	Dozaj tekdüzeliği	Sulandırılmış çözeltinin rengi ve berraklığı	Sulandırılmış çözeltinin pH'sı	Sulandırılmış çözeltinin ozmolalitesi	Sulandırılmış çözelti gözle görülemeyen partikül sayısı	Sterilite	Bakteriyel Endotoksin	Proses Verimliliği			
Puan	7	7	7	10	10	10	7	1	1	10	10	10	7			
Ön Şartlandırma Süresi	7	5	5	5	7	5	1	1	1	5	1	1	10	438	Buz kristali oluşumu ve Ostwald olgunlaşmasına ulaşmak için süre uzun olmalıdır. Sürenin kısa tutulması, ön şartlandırma aşamasının eklenmesinin avantajı olmaz.	Ön şartlandırma süresi, kurutma süresini azaltmak ve kurutma aşamasında batch tekdüzeliğine ulaşmak için optimize edilir.
Birincil Kurutma Raf Sıcaklığı Oranı	10	7	7	7	5	1	1	1	1	1	1	1	10	407	Sıcaklık artış oranının yüksek olması, hızlı buz süblimasyonuna neden olarak kondansatörde aşırı yüklenme ve basınçta sapmaya yol açar.	Ürün kalitesini etkilemeyecek raf sıcaklığı artış oranı optimize edilir.
Birincil Kurutma Sıcaklığı	10	7	7	7	5	7	5	5	5	5	1	1	10	543	Birincil kurutma sıcaklığı kek görünüşünü ve kurutma aşamasının bütünlüğünü etkiler. Düşük kurutma	Hedef ürün sıcaklık profilini elde etmek için raf sıcaklığı set

Tablo 3-6 : Kalite Özellikleri ve Proses Parametreleri Risk Değerlendirmesi.

Proses Parametresi	Kalite Özelliği												Proses Performansı	Toplam Puan	Gerekçe	Önlemler
	Kek görünüşü	Su içeriği	Sulandırma süresi	Tanuma ve miktar tayini	İmpürite	Dozaj tekdüzeligi	Sulandırılmış çözeltinin rengi ve berraklığı	Sulandırılmış çözeltinin pH'sı	Sulandırılmış çözeltinin ozmolalitesi	Sulandırılmış çözelti gözle görülemeyen partikül sayısı	Sterilite	Bakteriyel Endotoksin	Proses Verimliliği			
Puan	7	7	7	10	10	10	7	1	1	10	10	10	7			
															sıcaklığı uzun kurutma süresine neden olurken yüksek sıcaklık ürünün geri erimesine neden olur.	değeri belirlenir.
Birincil Kurutma Hazne Basıncı	10	7	7	7	5	7	5	5	5	5	1	1	10	543	Yüksek basınç, ürünün geri erimesine neden olabilir. Üretim ölçeğinde düşük basınç değerinin kontrolü zor olabilir.	Hedef ürün sıcaklık profilini elde etmek için hazne basıncı set değeri belirlenir.
Birincil Kurutma Süresi	10	7	7	7	5	7	5	1	1	5	1	1	10	535	Yetersiz birincil kurutma süresi, kekleşmeye veya yüksek su içeriğine neden olur.	Birincil kurutma aşamasının ikincil kurutma aşamasına geçmeden tamamlanması
İkincil Kurutma	10	7	7	7	5	7	7	5	5	5	1	1	10	557	Yüksek ikincil kurutma	Ürün kalitesini etkilemeyecek

Tablo 3-6 : Kalite Özellikleri ve Proses Parametreleri Risk Değerlendirmesi.

Proses Parametresi	Kalite Özelliği												Proses Performansı	Toplam Puan	Gerekçe	Önlemler	
	Kek görünüşü	Su içeriği	Sulandırma süresi	Tanuma ve miktar tayini	İmpürite	Dozaj tekdüzeliği	Sulandırılmış çözeltinin rengi ve berraklığı	Sulandırılmış çözeltinin pH'sı	Sulandırılmış çözeltinin ozmolalitesi	Sulandırılmış çözelti gözle görülemeyen partikül sayısı	Sterilite	Bakteriyel Endotoksin	Proses Verimliliği				
Puan	7	7	7	10	10	10	7	1	1	10	10	10	7				
Sıcaklık Oranı																sıcaklık oranı camsı geçiş ile kekleşmeye neden olur	sıcaklık artış oranı optimize edilir.
İkincil Kurutma Sıcaklığı	10	7	5	7	10	7	1	1	1	5	1	1	10	543	Çok düşük sıcaklık, istenen kalıntı su miktarını elde etmek için ikincil kurutma süresinin uzamasına neden olur. Çok yüksek sıcaklık ürün degradasyonuna neden olur.	İkincil kurutma sıcaklığı optimize edilir.	
İkincil Kurutma Hazne Basıncı	1	1	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	125	İkincil kurutma sırasında, ürün sıcaklığı raf sıcaklığına yakındır ve kısmi su basıncı hazne basıncından çok daha düşüktür. İkincil kurutmada hazne basıncının proses ve	-	

Tablo 3-6 : Kalite Özellikleri ve Proses Parametreleri Risk Değerlendirmesi.

Proses Parametresi	Kalite Özelliği												Proses Performansı	Toplam Puan	Gerekçe	Önlemler
	Kek görünüşü	Su içeriği	Sulandırma süresi	Tanuma ve miktar tayini	İmpürite	Dozaj tekdüzeligi	Sulandırılmış çözeltinin rengi ve berraklığı	Sulandırılmış çözeltinin pH'sı	Sulandırılmış çözeltinin ozmolalitesi	Sulandırılmış çözelti gözle görülemeyen partikül sayısı	Sterilite	Bakteriyel Endotoksin	Proses Verimliliği			
Puan	7	7	7	10	10	10	7	1	1	10	10	10	7			
																ürüne etkisi önemsizdir.
İkincil Kurutma Süresi	10	10	7	7	5	7	5	1	1	1	1	1	10	516	Yetersiz kurutma, üründe yüksek su içeriğine yol açar ve stabiliteye etkiler. Yüksek sıcaklıkta çok uzun sürede stabiliteyi de etkileyebilir.	İkincil kurutma aşmasının tamamlanması kontrol edilir.
Ürün Son Depolama Sıcaklığı	1	1	5	1	5	1	1	1	1	1	1	1	1	165	Amaçlanan depolama sıcaklığında depolanır.	Stabilite verileri ile desteklenir.
Kapak Kapama Öncesi Hazne Basıncı	1	1	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	125	Ön havalandırma basıncı sulandırma süresi üzerinde etkili olabilir.	Etkisini gözlemlemek için test edilir

Tablo 3-6 : Kalite Özellikleri ve Proses Parametreleri Risk Değerlendirmesi.

Proses Parametresi	Kalite Özelliği												Proses Performansı	Toplam Puan	Gerekçe	Önlemler
	Kek görünüşü	Su içeriği	Sulandırma süresi	Tanuma ve miktar tayini	İmpürite	Dozaj tekdüzelığı	Sulandırılmış çözeltinin rengi ve berraklığı	Sulandırılmış çözeltinin pH'sı	Sulandırılmış çözeltinin ozmolalitesi	Sulandırılmış çözelti gözle görülemeyen partikül sayısı	Sterilite	Bakteriyel Endotoksin	Proses Verimliliği			
Puan	7	7	7	10	10	10	7	1	1	10	10	10	7			
Kapak Kapama Basıncı	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10	10	1	267	Kapak kapama için yeterli kuvvet uygulanmalıdır. Ürün stabilitesi ve sterilitesine etki eder.Gereğinden fazla kuvvet uygulanması flakon kırılmasına neden olur	Kapak kapama performans kalifikasyon çalışması uygulanır.

3.2.6. Kritik Proses Parametrelerinin Belirlenmesi

Kritik Proses Parametreleri (CPP), çalışma aralığında değişkenlik gösterdiği zaman kritik kalite özellikleri üzerine doğrudan ve önemli etkisi olan proses girdileridir. Kritik proses parametreleri istenilen ürün kalitesini ve prosesin tutarlılığını sağlamak için izlenmeli ve kontrol altında tutulmalıdır. Risk değerlendirmesine göre toplam puanı 300'den büyük olanlar yüksek riskli, toplam puanı 200-300 arası olanlar orta riskli, toplam puanı 200'ün altında olanlar düşük riskli olarak belirlenmiştir. Risk değerlendirmesine göre toplam puanı > 300 olan parametreler kritik proses parametresi olarak değerlendirilmiştir.

Lornoksikam 8 mg enjeksiyonluk liyofilize toz ürünü liyofilizasyon prosesi için kritik proses parametreleri Tablo 3-7'de sunulmuştur.

Tablo 3-7: Kritik Proses Parametreleri

Proses Aşaması	Kritik Proses Parametresi	Kritik Kalite Özelliklerine Etkisi
Dondurma	Dondurma Oranı	Yüksek
	Dondurma Sıcaklığı	Yüksek
	Dondurma Süresi	Orta
Ön Şartlandırma	Ön Şartlandırma Sıcaklığı	Yüksek
	Ön Şartlandırma Süresi	Yüksek
	Ön Şartlandırma Oranı	Orta
Birincil Kurutma	Raf Sıcaklığı	Yüksek
	Raf Sıcaklığı Oranı	Yüksek
	Birincil Kurutma Süresi	Yüksek
	Hazne Basıncı (Vakum)	Yüksek
İkincil Kurutma	Raf Sıcaklığı	Yüksek
	İkincil Kurutma Süresi	Yüksek
	Raf Sıcaklığı Oranı	Yüksek
	Hazne Basıncı (Vakum)	Düşük
Kapak Kapama ve Son Şartlandırma	Kapak Kapama Öncesi Hazne Basıncı	Düşük
	Kapak Kapama Basıncı	Orta
	Ürün Son Depolama Sıcaklığı	Düşük

3.2.7. Kritik Kalite Özelliklerini Etkileyen Formülasyon Değişkenlerinin Belirlenmesi

Bir liyofilizasyon formülasyonu oluştururken hangi yardımcı maddelerin hangi miktarlarda kullanıldığı kritik kalite özelliklerini etkileyebilmektedir. Çalışmada daha önce belirlenmiş olan kritik kalite özelliklerini etkileyen formülasyon değişkenleri risk değerlendirmesi ile belirlenmiştir ve Tablo 3-8’de sunulmuştur.

Tablo 3-8: Kritik Kalite Özelliklerini etkileyen formülasyon değişkenleri

Kritik Formülasyon Faktörü	Puanlama	Etki Derecesi
Etkin madde nem içeriği	5	Potensi etkilemesi
Etkin madde morfolojik özellikleri	5	Potensi ve dissolüsyonu etkilemesi
Etkin madde görünüş	1	Ürün rengi
Etkin madde stabilitesi	5	İmpürite profili
Etkin madde çözünme süresi	7	Potensi ve proses süresini etkiler
Bileşenlerin eklenme sırası	10	Dissolüsyonu etkiler
Tamponlayıcı ajan konsantrasyonu	7	Yüksek konsantrasyonda tamponlayıcı ajan kullanılması kristalizasyonu etkileyebilir
Dolgu maddesi konsantrasyonu	7	Ozmolalite ve dissolüsyonu etkiler
Çözelti hazırlama sıcaklığı	10	Dissolüsyonu ve etkin madde bozunmasını etkiler
Formülasyon pH’ı	10	Formülasyonun pH’sı potensi etkileyebilecek olan çözelti stabilitesini etkilemektedir. pH’nın, liyofilize katı ürünün fiziksel durumu üzerindeki etkisi bilinmemekle birlikte fiziksel durum, ilacın katı haldeki stabilitesini etkilemektedir

3.2.8. Formülasyon Çalışmaları

Lornoksikam 8 mg enjeksiyonluk liyofilize toz dozaj formu için referans ürün olarak Nycomed/Avusturya GmbH firmasına ait Xefo 8 mg Enjektabl Liyofilize Toz Flakon ürünü alınmıştır. Bu nedenle kapsamlı etkin madde ve yardımcı madde uyumluluk çalışmaları gerçekleştirilmemiştir. Etkin madde ve yardımcı madde uyumluluk çalışmaları stabilite çalışmaları ile sürdürülecektir.

Lornoksikam 8 mg ürünü için kullanılacak yardımcı maddeler Xefo 8 mg ürün kompozisyonu ve parenteral ürün gereklilikleri baz alınarak belirlenmiştir. Seçilen tüm yardımcı maddeler, güncel Avrupa Farmakopesi'ndeki ilgili monograflara uygundur. Lornoksikam 8 mg için kullanılacak yardımcı maddeler Tablo 3-9'da sunulmuştur.

Tablo 3-9: Lornoksikam liyofilize toz kullanılan yardımcı maddeler.

Yardımcı Madde	Formülasyondaki İşlevi	Spesifikasyon
Mannitol	Dolgu Maddesi	Avr. Farm.
Disodyum EDTA	Çözünürlük Artırıcı	Avr. Farm.
Trometamol	Tamponlayıcı Ajan	Avr. Farm.
Enjeksiyonluk Su	Sulandırma Ortamı	Avr. Farm.

Seçilen yardımcı maddeler, terapötik aktif doz-terapötik etki-terapötik etkinlik korelasyonu üzerinde çalışılmış ve doğrulanmış olan, referans ürün Xefo'nunki ile benzer bir formülasyonu sağlamaktadır. Referans ürün Xefo'nun özellikleri Tablo 3-10'da sunulmuştur.

Tablo 3-10: Referans ürün özellikleri.

Özellik	Xefo 8 mg Enjektabl Liyofilize Toz Flakon
Farmasötik formülasyon	Liyofilize toz ve enjeksiyonluk su
Ruhsat Sahibi	Nycomed Avusturya GmbH
Uygulama Yolu	İntramasküler veya intravenöz
Etki Dozu	8 mg
Kompozisyonu	
Etkin Madde	Lornoksikam
Yardımcı Maddeler	Mannitol, Disodyum EDTA, Trometamol
Primer Ambalaj Malzemesi	4R tip I amber renkli cam flakon, bromobütül kauçuk igloo tipi tıpa ve şeffaf alüminyum geçme kapak

3.2.8.1. Ön Formülasyon Çalışmaları

Lornoksikam 8 mg enjeksiyonluk liyofilize toz, farmakopenin gerektirdiği fizikokimyasal ve mikrobiyolojik kalite parametrelerini elde etmek ve ürünün medikal özelliklerini korumak için geliştirilmiştir.

Formülasyon geliştirmede aşağıdaki hususlar göz önüne alınmıştır:

- Her flakonun 8 mg lornoksikam etkin maddesi içermesi.
- Parenteral formülasyonlar için ana koşul olan sterilitenin bitmiş ürün serbest bırakma ve raf ömrü boyunca sağlanması.
- Enjeksiyon için liyofilize toz olarak formüle edilmiş parenteral preparatlara özel gereksinimler ve optimum proses parametreleri ile üretim prosesinin sürekliliğinin sağlanması.

Referans ürün deformülasyon çalışması sonrası elde edilen sonuçlar Tablo 3-11’de sunulmuştur.

Tablo 3-11: Referans ürün deformülasyonu.

Etkin madde	Birim miktar flakon (mg)
Lornoksikam	8
Yardımcı Madde	Birim miktar flakon (mg)
Mannitol	100
Disodium EDTA	0,2
Trometamol	12

Formülasyon bileşenleri testleri referans ürün analiz sonuçları ve referans ürün patent formülasyonu göz önüne alınarak gerçekleştirilmiştir. Berrak çözelti elde etmek ve ileri safhadaki liyofilizasyon işlemine uygun olması için çözünme testleri gerçekleştirilmiştir.

Formülasyon-1:

İlk test için, 5,01 g mannitol, 0,6 g trometamol, 11 mg disodyum EDTA dihidrat içeren plasebo çözeltisi 100 mL enjeksiyonluk su içinde oda sıcaklığında çözündürülerek hazırlanmıştır. Daha sonra 20 mg lornoksikam tartılarak referans ürün sulandırılmış çözeltisine karşılık gelen hacimdeki plasebo çözeltisi ile oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Çözünme kontrol edilerek, çözelti 60 °C'ye ısıtılmış ve bu sıcaklıkta karıştırılmıştır. Hazırlanan çözelti oda sıcaklığına soğutularak pH ve ozmolalite ölçülmüştür.

Formülasyon-2:

Mannitol miktarının, lornoksikam etkin maddesinin oda sıcaklığında düşük çözünürlüğüne etkisi ve ozmolaliteye olan etkisini gözlemlemek için formülasyonda mannitol miktarı azaltılmıştır. İkinci test için 353 mg mannitol, 60 mg trometamol ve 1,1 mg disodyum EDTA dihidrat tartılmış ve 10 mL enjeksiyonluk su içinde karıştırma altında oda sıcaklığında çözündürülmüştür. 40 mg lornoksikam tartılarak karıştırma altında oda sıcaklığında beherdeki plasebo çözeltisine eklenmiştir. Çözünme kontrol edilmiş, beherdeki disodyum EDTA dihidrat miktarı 12 mg'a tamamlanmıştır. Daha sonra çözelti 60 °C'ye ısıtılarak karıştırılmıştır. Hazırlanan çözelti oda sıcaklığına soğutularak pH ve ozmolalite ölçülmüştür.

Formülasyon-3:

Üçüncü test sırasında, lornoksikamın oda sıcaklığında trometamol çözeltisi içinde, referans ürün sulandırılmış çözeltisine karşılık gelen konsantrasyonda hazırlandığında çözünüp çözünmeyeceğini doğrulamak üzere yardımcı maddelerin ilave edilme sırası değiştirilmiştir. Üçüncü test için 30 mg trometamol tartılmış 5 mL enjeksiyonluk su ile çözündürülmüştür. Daha sonra behere tartılan 20 mg lornoksikam eklenmiş trometamol çözeltisi ile karıştırılmıştır. Daha sonra çözelti hacmi, lornoksikam konsantrasyonunu %66,6 (2,66 mg/mL) azaltmak için 2,5 mL enjeksiyonluk su ilave edilerek arttırılmıştır. Sonrasında çözeltiye 1 mg disodyum EDTA eklenmiş ve çözelti karıştırılmış, çözünme kontrol edilmiştir.

Formülasyonlardaki % miktarlar Tablo 3-13'te sunulmuştur. Hesaplama enjeksiyonluk su yoğunluğu 1 g/mL olarak alınmıştır.

Tablo 3-13: Lornoksikam ön formülasyon başlangıç malzemelerinin % miktarı.

% Miktar	Formülasyonlar					
	R	F1	F2	F3	F4	F5
Lornoksikam	0,377	0,019	0,382	0,264	0,379	0,377
Trometamol	0,566	0,568	0,573	0,397	1,035	0,566
Disodyum EDTA	0,009	0,010	0,115	0,013	0,017	0,010
Mannitol	4,717	4,742	3,373	0,000	4,694	4,716
Enjeksiyonluk Su	94,331	94,660	95,557	99,326	93,875	94,330

Lornoksikam etkin maddesinin ön formülasyon çalışmalarında karıştırma sıcaklığı ve çözünme ortamı Tablo 3-14'te belirtilmiştir.

Tablo 3- 14: Ön formülasyon sıcaklık ve çözünme ortamı.

	Formülasyonlar					
	R	F1	F2	F3	F4	F5
Çözelti hazırlama sıcaklığı (°C)	60	60	60	23	23	60
Çözünme Ortamı	Plasebo çözeltisinde	Plasebo çözeltisinde	Plasebo çözeltisinde	Trometamol çözeltisinde	Trometamol çözeltisinde	Plasebo çözeltisinde

3.2.9. Çözelti Özelliklerinin İncelenmesi

Çözeltinin görünüşü, etkin madde çözünürlüğü, pH ve ozmolalitesinin kontrolü önformülasyon aşamasında önemli olup, formülasyonun içerik tekdüzeliği, homojenitesi, çözünme hızı, parenteral ürünün pH ve izotonik açıdan kabul edilebilir olması için kontrol altında tutulmalıdır. Hazırlanan formülasyonlar lornoksikam çözünürlüğü, çözelti görünüşü, pH ve ozmololite açısından incelenmiştir.

3.2.9.1. Çözünürlük

Etken madde çözünürlüğü görsel olarak kontrol edildi.

3.2.9.2. Çözeltinin Görünüşü

Hazırlanan çözeltinin görünüşü görsel olarak kontrol edildi.

3.2.9.3. pH

Hazırlanan çözeltinin pH metre ile pH kontrolü yapıldı.

3.2.9.4. Ozmolalite

Ozmolalite, çözelti içindeki osmotik basıncı etkileyen tüm çözünenlerin ölçülmesi sonucunda elde edilen çözelti ozmatik basıncıdır. Ozmolite formülü:

$$\zeta_m = v m \Phi$$

Eğer çözücü iyonize değilse $v=1$ 'dir veya çözücü molekülünde bulunan veya oluşan toplam iyon sayısına eşittir.

m = Çözeltinin molalitesi

Φ = Osmotik molal katsayı

Çözeltinin ozmolalitesi suyun donma noktası ve çözeltinin donma noktası arasındaki farkın ölçülmesiyle de belirlenebilir.

$$\zeta_m = \frac{\Delta T}{1.86}$$

Çözeltinin ozmolalitesi ozmometre ile ölçüldü. Ölçüm öncesi cihazın sıfır noktası su ile kontrol edildi. 50 µl çözelti ölçüm kabına eklendi, sıcaklık sensörü çözelti içine tamamen batırıldı ve numune kabı soğutucu sisteme yerleştirildi. Ölçüm sonucu osmol/kg birimi olarak kayıt edildi.

3.2.10. Üretim Prosesi Geliştirme

Final ürün formülasyonundan başlayarak lornoksikam liyofilize toz ürünü için teknolojik proses tasarlanmıştır. Çözelti hazırlığı sonrası bulk ürün filtrasyon yöntemiyle steril edilmiş ve tüm ileri proses aşamaları (dolum, flakonların kısmi kapaması, flakonların liyofilizatöre yüklenmesi, liyofilizasyon işlemi, final kapama ve flakonların liyofilizatörden alınması) aseptik olarak gerçekleştirilmiştir.

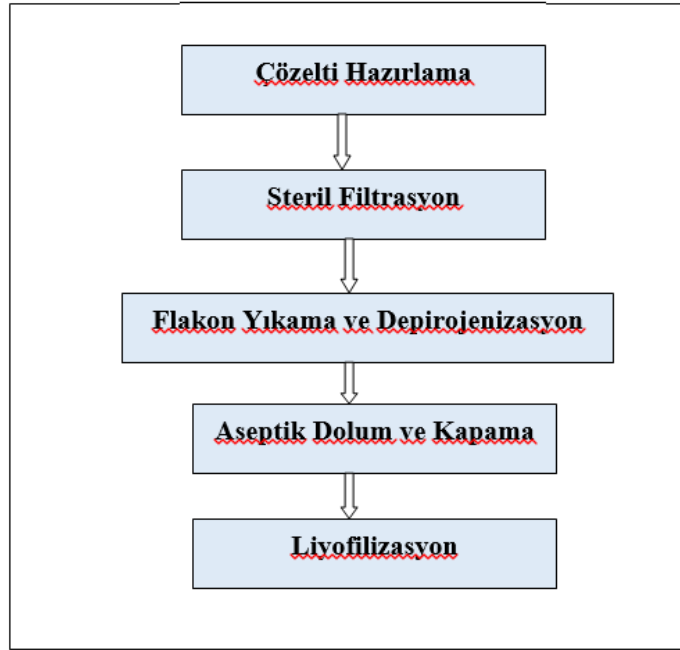
Lornoksikam 8 mg enjeksiyonluk liyofilize toz ürünü üretim prosesi seçilen çalışma koşullarında uyumludur. Üretim prosesinde bulk çözeltinin hazırlanması, bulk çözeltinin steril filtrasyonu, dolum, ikinci kurutma sonunda flakonların kapatılması steril azot gazı altında gerçekleştirilmiştir.

Ürün formülasyonu doğrultusunda bulk çözelti aşağıdaki koşullarda hazırlanır:

- Teorik şarj boyutunun %90'ı oranında enjeksiyonluk su hazırlama tankına alınır, en az 10-15 dakika steril azot gazı ile doyurularak havanın uzaklaşması sağlanır.
- Mannitol hazırlık tankına karıştırma altında eklenir ve çözündürülür.
- Trometamol hazırlık tankına karıştırma altında eklenir ve çözündürülür.
- Disodyum EDTA hazırlık tankına karıştırma altında eklenir ve çözündürülür.
- Yardımcı maddeleri içeren çözelti 60 °C'de 15 dakika ısıtılır.
- Lornoksikam karıştırma altında hazırlık tankına eklenir ve 60 °C'de 15 dakika karıştırılarak çözündürülür.
- Çözelti 25 °C'ye soğutulur.
- Çözelti enjeksiyonluk su ile son hacmine tamamlanır.
- Elde edilen final çözelti sarı berrak renkli olmalıdır.

Lornoksikam hem katı halde hem de ürünün sulandırılan çözeltisinde ısıya hassastır, ısı ile sterilizasyon yöntemi uygun değildir. Bu nedenle lornoksikam sterilizasyonu için steril filtrasyon yöntemiyle sterilizasyon işlemi uygulanmıştır. Bu kapsamda, çözelti 0,22 µm por çapında membran filtre kullanılarak süzülmüştür.

Filtrasyon sonrası steril lornoksikam çözeltisi aseptik koşullar altında 4R flakonlara doldurulmuş, doldurulan flakonlar liyofilizasyon işlemi için kısmi olarak kapatılmıştır. Lornoksikam enjektabl liyofilize toz ürün üretim proses akış şeması Şekil 3-1'de belirtilmiştir.



Şekil 3-1: Enjektabl liyofilize toz ürün üretim proses akış şeması.

3.2.10.1. Liyofilizasyon Prosesi Geliştirme

Aseptik dolun ve kısmi kapama sonrası flakonlar aseptik koşullar altında liyofilizatöre transfer edilmiştir. Liyofilizasyon prosesi IMA Life Liyofast Mini 1.6 liyofilizatöründe gerçekleştirilmiştir. Liyofilizasyon döngüsü dondurma ve ön şartlandırma, birincil kurutma ve ikincil kurutma, son şartlandırma olmak üzere dört aşamadan oluşmaktadır. Liyofilizasyon prosesi kek tozun final kalitesini güvence altına almak ve liyofilizasyon döngüsünün zaman ve maliyetini en aza indirmek için geliştirilmiştir.

3.2.10.1.1. Dondurma Aşaması

DSC analizi ile ürün donma sıcaklığı belirlenmiştir. Ürünün tam katılaşma ve süper soğutmanın sağlanması için dondurma aşamasında raf sıcaklığı yeterince düşük sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir ve tüm çalışmalarda sabit tutulmuştur.

Dondurma oranı buzun morfolojisi üzerine direkt etkisi vardır ve bu aşama sublimasyon oranı ile kurutma sonrası kekin gözenek boyutunu etkiler. Yavaş dondurma oranı birincil kurutma aşamasında daha kolay kuruyan büyük buz kristallerinin oluşumunu sağlar. İlk buz kristallerinin süblimleşmesinden sonra geriye

büyük gözenekler kalır ve düşük kütle transferi direnci ile sonuçlanır. Yavaş dondurma oranının dezavantajı dondurma süresinin uzamasıdır. Hızlı soğutma oranı küçük buz kristallerinin oluşumu ile sonuçlanır. Dondurma oranının buzun morfolojisi üzerine etkisini değerlendirmek için değişken olarak alınmıştır.

3.2.10.1.2. Ön Şartlandırma Aşaması

Ön şartlandırma aşaması, birincil kurutma süresini azaltma ve batch homojenitesini geliştirme, ürün morfolojisi üzerine etkisini değerlendirmek üzere test edilmiştir. Ön şartlandırma aşamasında raf sıcaklığı çökme sıcaklığının T_c üstünde belirlenen donma sıcaklığına yükseltilmiş ve bu sıcaklıkta belirlenen sürede tutulmuştur. Ön şartlandırma oranı uygulanan çalışmalarda sabit tutulmuştur.

3.2.10.1.3. Birincil Kurutma Aşaması

Birincil kurutma aşaması liyofilizasyon prosesinin kritik bir aşamasıdır. Kritik parametre olan ürün sıcaklığı dolaylı olarak raf sıcaklığı ve hazne basıncının ayarlanması ile kontrol edilmiştir. Liyofilizasyon prosesi süresince raf sıcaklığı, hazne basıncı ve kondensatör sıcaklığı izlenmiştir.

Lornoksikam çözeltisi amorf özellik göstermektedir. Dondurulmuş lornoksikam bulk çözeltisinin ısıtılmasıyla, DSC analizi ile camsı geçiş sıcaklığı belirlenmiştir. Çökme sıcaklığı (T_c), camsı geçiş sıcaklığının (T_g) birkaç santigrat derece üstündedir. Birincil kurutma aşaması boyunca ürün sıcaklığı kek tozun çökme sıcaklığı (T_c) altında tutulmuştur.

Birincil kurutma sırasında hazne basıncı, çökme sıcaklığının altında buz sublimleşme sıcaklığına izin verecek şekilde değişken olarak alınmıştır.

Birincil kurutma aşamasının sonu kapasitans manometre ile ölçülen vakum ve Pirani göstergesi ile ölçülen vakum arasındaki fark değerlendirilerek kontrol edilmiştir. Bu fark gazların termal iletkenliğini baz alan Pirani göstergesinin bir sonucudur. Su buharı azottan daha yüksek bir termal iletkenliğe sahiptir. Bu nedenle birincil kurutma bitene kadar Pirani göstergesi, kapasitans manometresi tarafından ölçülen mutlak basınçtan daha yüksek bir basınç kaydetmiştir. Birincil kurutma sonunda, Pirani göstergesi tarafından ölçülen basınç düşerek kapasitans manometre tarafından ölçülen basınç değerine ulaşmıştır.

Ayrıca, liyofilizasyon döngüsü geliştirmesi süresince, birincil kurutma aşamasının sonunu iki defa kontrol etmek için basınç yükseltme testleri gerçekleştirilmiştir. Bu test süresince hazne ve kondensatör arasındaki ana vana buzun süblimasyonundan kaynaklı buharın hazne içinde tutulması için kapatılmış ve basınç izlenmiştir. 1 dakika süresince 50 µbar'dan daha fazla basınç artışı, flakonlarda halen buzun mevcut olduğunun göstergesidir ve başarısız bir test olarak değerlendirilmiştir.

3.2.10.1.4. İkincil Kurutma Aşaması

İkincil kurutma aşamasında raf sıcaklığı ikincil kurutma sıcaklığına belli bir kurutma oranında yükseltilmiş, ürün kuruyana ve gerekli olan nem oranına ulaşmaya kadar bu sıcaklıkta tutulmuştur. Isıtma oranı kekin çökmesini önleyecek yavaşlıkta ayarlanmış ve değişken olarak alınmıştır. İkincil kurutma süresince vakum değeri tüm çalışmalar için sabit değer olarak ayarlanmıştır.

3.2.10.1.5. Proses Geliştirme Çalışmaları

Liyofilizasyon prosesi tasarlanan beş farklı liyofilizasyon prosesi ile incelenecektir. Her deneme prosesi ve proses aşamaları için belirlenen kritik proses parametreleri aşağıda sunulmuştur.

Deneme 1: Dondurma aşaması dondurma ve ön şartlandırma (pretreatment) olarak iki basamaklı olarak tasarlanmıştır. İlk önce raf sıcaklığı -45°C 'ye dondurulmuş, daha sonra çökme sıcaklığının üstündeki bir sıcaklık olarak belirlenen -20°C ön şartlandırma sıcaklığına ısıtılarak, bu sıcaklıkta tutulmuştur. Sonrasında tekrar -45°C 'ye soğutularak dondurma sıcaklığında toplam 9 saat 10 dakika bekletilmiştir. Ürün -27°C birincil kurutma sıcaklığında 150 µbar vakum altında 76 saat süresince tutulmuştur. İkincil kurutma aşamasında ise ürün 25°C sıcaklığa ısıtılarak 50 µbar vakum altında 33 saat bekletilmiştir.

Deneme 2: Dondurma aşamasında ürün -45°C 'ye dondurularak dondurma sıcaklığında 8 saat 10 dakika tutulmuştur. Ürün -27°C birincil kurutma sıcaklığında 150 µbar vakum altında 91 saat bekletilmiştir. İkincil kurutma aşamasında ise ürün 30°C sıcaklığa ısıtılarak 50 µbar vakum altında 32 saat süresince bekletilmiştir.

Deneme 3: Dondurma aşamasında ürün -45°C 'ye dondurularak dondurma sıcaklığında 12 saat 10 dakika tutulmuştur. Ürün -28°C birincil kurutma sıcaklığında

110 µbar vakum altında 91 saat bekletilmiştir. İkincil kurutma aşamasında ise ürün 30 °C sıcaklığa ısıtılarak 50 µbar vakum altında 32 saat bekletilmiştir.

Deneme 4: Dondurma aşamasında ürün -45 °C'ye dondurularak dondurma sıcaklığında 12 saat 10 dakika tutulmuştur. Ürün -30 °C birincil kurutma sıcaklığında 110 µbar vakum altında 91 saat bekletilmiştir. İkincil kurutma aşamasında ise ürün 30 °C sıcaklığa ısıtılarak 50 µbar vakum altında 32 saat bekletilmiştir.

Deneme 5: Bu çalışmada dondurma aşaması Deneme-1 prosesindeki gibi dondurma ve ön şartlandırma (pretreatment) olarak iki basamaklı tasarlanmıştır. İlk önce ürün -45 °C'ye dondurulmuş, daha sonra camsı geçiş sıcaklığının üstündeki bir sıcaklık olarak belirlenen -20 °C ön şartlandırma sıcaklığına ısıtılarak bir süre tutulmuştur. Sonrasında tekrar -45 °C'ye soğutularak dondurma sıcaklığında toplam 11 saat bekletilmiştir. Ürün -26 °C birincil kurutma sıcaklığında 150 µbar vakum altında 56 saat bekletilmiştir. İkincil kurutma aşamasında ise ürün 20°C sıcaklığa ısıtılarak 50 µbar vakum altında 16 saat bekletilmiştir. Deneme-5 proses parametresi ile iki farklı batch üretimi yapılarak ikinci batch sonuçları Deneme-6 olarak adlandırılmıştır.

Lornoksikam liyofilizasyon prosesi tasarım tablosu Tablo 3-15'te sunulmuştur.

Tablo 3-15: Lornoksikam liyofilizasyon prosesi tasarım tablosu.

Parametre	D1	D2	D3	D4	D5	D6
Ürün Miktarı (adet /flakon)	300	660	660	750	300	300
Yükleme Sıcaklığı (°C)	20	20	20	20	25	25
Dondurma Sıcaklığı (°C)	-45	-45	-45	-45	-45	-45
Dondurma Oranı (°C/dakika)	0,5	0,5	0,3	0,3	0,5	0,5
Dondurma Süresi (dakika)	550	490	730	730	660	660
Ön Şartlandırma Sıcaklığı (°C)	-20	-	-	-	-20	-20
Ön Şartlandırma Süresi (dakika)	180	-	-	-	180	180
Ön Şartlandırma Oranı (°C/dakika)	0,5	-	-	-	0,5	0,5
Birincil Kurutma Sıcaklığı (°C)	-27	-27	-28	-30	-26	-26
Birincil Kurutma Oranı (°C/dakika)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Birincil Kurutma Süresi (dakika)	4560	5460	5460	5460	3360	3360
Birincil Kurutma Süresince Hazne Basıncı (µbar)	150	150	110	110	150	150
İkincil Kurutma Sıcaklığı (°C)	25	30	30	30	20	20
İkincil Kurutma Oranı (°C/dakika)	0,3	0,5	0,5	0,5	0,1	0,1
İkincil Kurutma Süresi (dakika)	1980	1920	1920	1920	960	960
İkincil Kurutma Süresince Hazne Basıncı (µbar)	50	50	50	50	50	50

3.2.11. Analitik Metot Validasyon Çalışmaları

Analitik metot validasyonu bir analiz yönteminin sürekli olarak doğru ve kesin sonucu verdiğini kanıtlamak amacıyla yapılmaktadır.

Lornoksikam 8 mg enjeksiyonluk liyofilize toz ürününe ait lornoksikam etkin madde tanıma, miktar tayini ve ilgili bileşikler analiz metodları HPLC yöntemi ile ICH Q2 (R1) kılavuzu doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Tanıma ve miktar tayini analitik metodlarının aynı olması sebebiyle tek bir validasyon çalışması olarak gerçekleştirilmiştir. Tablo 3-16'da belirtilen analitik metod validasyon parametreleri uygulanmıştır.

Tablo 3-16: Analitik metot parametreleri.

Analitik Metot Parametreleri	Analitik Metot		
	Tanıma	Miktar Tayini	İlgili Bileşikler
Spesifiklik	+	+	+
Doğrusallık	+	+	+
Doğruluk	+	+	+
Kesinlik	+	+	+
Sağlamlık	+	+	+
Çözelti Stabilitesi	+	+	+
Teşhis Limiti (LOD)	-	-	+
Tayin Limiti (LOQ)	-	-	+

+: Parametrenin uygulandığını gösterir. -: Parametrenin uygulanmadığını gösterir.

3.2.11.1. Analitik Metot Validasyon Parametreleri

- a) **Spesifiklik:** Spesifiklik, analitin var olması beklenen bileşenlerin varlığında kesin olarak değerlendirilebilme yeteneğidir. Bunlar safsızlıklar, bozunma ürünleri vb. olabilir. Analitik prosedürdeki spesifiklik eksikliği diğer destekleyici analitik prosedürlerle telafi edilebilir. Prosedür, lornoksikamın yardımcı madde ve plasebodan ayrılma kabiliyeti olarak ifade edilen kromatografik kolonun seçiciliği ile lornoksikam ve ilgili bileşikleri, sentez prosesinde ve bozunma prosesinde görülebilen sonuç olarak UV alanında

absorbe olan potansiyel impüritelere ayırabilme yeteneği olarak ta ifade edilen kromografik metodun spesifikliğini değerlendirir.

- b) Doğrusallık:** Analitik prosedürün doğrusallığı, numunedeki analitin konsantrasyonu/miktarı ile doğru orantılı olarak test sonuçlarını elde edebilme (belirli bir aralık dahilinde) yeteneğidir.
- c) Doğruluk:** Analitik bir prosedürün doğruluğu, referans değere yakın sonuç üretebilme yeteneğidir.
- d) Kesinlik:** Analitik metodun kesinliği, öngörülen koşullar altında aynı homojen numuneden yapılan ardışık örneklemelemlerden elde edilen sonuçlar arasındaki yakınlığını ifade eder. Kesinlik, homojen ve doğru numuneler kullanılarak araştırılmalıdır. Ancak homojen bir numune elde etmenin mümkün olmadığı durumlarda yapay olarak hazırlanmış numune veya numune çözeltisi kullanılarak araştırılabilir. Kesinlik üç seviye olarak göz önüne alınır; tekrarlanabilirlik, ara kesinlik ve üretebilirlik. Tekrarlanabilirlik; kısa bir zaman aralığında aynı çalışma koşulları altındaki kesinliği ifade eder. Ara kesinlik; farklı gün, farklı analist, farklı ekipman gibi laboratuvar içindeki varyasyonları ifade eder. Üretebilirlik; laboratuvarlar arasındaki kesinliği ifade eder.
- e) Sağlamlık:** Analitik prosedürün sağlamlığı, metod parametrelerindeki değişikliklerden etkilenmeme kapasitesinin ölçüsüdür ve metodun normal kullanımı sırasında güvenilirliğinin bir göstergesidir.
- f) Çözelti Stabilitesi:** Analizi yapılacak çözeltilerin analiz koşullarında bozunmadan stabil kaldığı süre belirlenir. Seçilecek bekletme süresi analize özgüdür.
- g) Teşhis Limiti (LOD):** Analitik prosedürün teşhis limiti, numunede tespit edilebilen, ancak kantitatif bir değer olarak ölçülemeyen en düşük analit miktarıdır.
- h) Tayin Limiti (LOQ):** Analitik prosedürün tayin limiti, bir numunedeki en düşük miktardaki analittir ve uygun hassasiyet ve doğrulukla kantitatif olarak belirlenebilir. Tayin limiti, numune matrislerindeki düşük seviyelerde bileşikler için kantitatif analizlerin parametresidir ve özellikle impürite ve bozunma

ürünlerinin belirlenmesi için kullanılır. Amaç, sinyal gürültü oranına sahip tayin limiti (LOQ) ve teşhis limiti (LOD) değerlerini belirlemektir.

3.2.11.2. Analitik Metot Kullanılan Ekipmanlar

Analitik metot validasyonunda kullanılan ekipmanlar aşağıda belirtilmiştir.

- Kromatografik sistem: Agilent 1260 Infinity HPLC, donanımları:
 - Çözücü kompartmanı
 - Otomatik numune alma cihazı (2 µL hacim aralığı)
 - Yüksek basınçlı degazör dörtlü pompa (minimum 200 bar)
 - Vakumlu degazör
 - Kolon termostatu (40 °C aralığı)
 - DAD (Diyot dizinli dedektör) (190-400 nm)
 - HPLC kolonu: LUNA C18 (2) 100Å, 150 mm , 4.6 mm iç çap, 3 µm partikül çapı (veya eşdeğeri).
- Analitik terazi
- pH-metre
- Ultrasonik banyo
- Su termostatlı banyo 60-80°C aralığında
- Vakumlu etüv

3.2.11.3. Tanıma ve Miktar Tayini Analitik Metot Validasyonu

Lornoksikam tanıma ve miktar tayini analitik metodu çalışma yöntemi şu şekildedir:

Lornoksikam tanıma analizi için referans çözeltisi ve test çözeltisi enjeksiyonları kullanılır. Elde edilen kromatogramlarda lornoksikamın alıkonma süresi kaydedilir. Referans çözelti ve test çözeltisi için maksimum absorpsiyona karşılık gelen lornoksikam pik spektrumu elde edilir. Lornoksikam miktar tayini analizi için referans çözeltisi üç kez enjekte edilir. Her kromatogramda elde edilen lornoksikam piki entegre edilir. Ortalama alan ve % RSD hesaplanır. Lornoksikam pik alanı % RSD, %2'den fazla olmamalıdır, lornoksikam pik simetrisi 0,8-1,5 arasında olmalıdır, lornoksikam piki için teorik plaka sayısı en az 10000 olmalıdır. Her bir test çözeltisi enjekte edilir.

Elde edilen kromatogramların her birinde, lornoksikama karşılık gelen pik entegre edilir. Her numune için lornoksikam miktar tayini hesaplanır. İki numune arasındaki fark %2'den fazla olmamalıdır. Sonuçlar arasındaki fark %2'den fazla değilse ve sonuçlar kabul kriterlerini sağlıyorsa, nihai sonuç bu iki sonucun ortalaması olarak kabul edilir. Üründeki lornoksikam konsantrasyonu aşağıdaki formüle göre hesaplanır.

$$C_{Ref} (\mu\text{g/ ml}) = \frac{M_{Ref}}{V_{Ref}} \times \frac{P_{Ref}}{100} \times \frac{2}{10} \times 1000$$

$$\text{Miktar Tayini (mg/flakon)} = \frac{A_{Test}}{A_{Ref}} \times C_{Ref} \times \frac{1}{1000} \times \frac{\bar{M}}{M_{ürün}} \times V_{Test}$$

$$M_{ürün} (\text{mg / flakon}) = M_{dolu_flakon} - M_{boş_flakon}$$

Hesaplama;

M_{Ref} = Referans stok çözeltisi hazırlamak için kullanılan lornoksikam referans standardı ağırlığı (mg)

P_{Ref} = Referans stok çözeltisinde kullanılan lornoksikam referans standardının saflığı (%)

V_{Ref} = Referans stok çözeltisi hazırlamak için kullanılan balon jopenin hacmi (mL)

C_{Ref} = Referans çözeltideki lornoksikam konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)

A_{Test} = Test çözeltisi kromatogramlarında lornoksikama karşılık gelen pik alanı (mAUxs)

A_{Ref} = Referans çözelti kromatogramlarında lornoksikama karşılık gelen ortalama pik alanı (mAUxs)

\bar{M} = 10 flakon ürünün ortalama ağırlığı (mg)

$M_{product}$ = Test çözeltisi hazırlamak için tartılan ürün ağırlığı (mg/flakon)

V_{Test} = Test çözeltisi hazırlamak için kullanılan balon jopenin hacmi (mL)

M_{dolu_flakon} = Tartılan dolu flakonun ağırlığı (mg)

$M_{boş_flakon}$ = Kurutma sonrası tartılan boş flakonun ağırlığı (mg)

Miktar Tayini (mg/flakon) = Bir flakon üründeki lornoksikam miktarı (mg/flakon)

Tanıma ve miktar tayini analitik metot validasyon parametreleri ve kabul kriterleri Tablo 3-17'de sunulmuştur.

Tablo 3-17: Tanıma ve miktar tayini analitik metot validasyon parametreleri.

Validasyon Parametreleri	Deneysel Koşullar	Kabul Kriterleri
Spesifiklik	Lornoksikam hammaddesi, sentetik ürün ve plasebo çözeltileri metoda göre analiz edilir. Plasebo (lornoksikam içermeyen karışım), çözücü, sentetik ürün ve lornoksikam hammaddesi aşağıdaki koşullarda stress altındadır. UV: 254 nm UV maruziyet Vis: VIS radyasyona maruziyet Termal: Etüvde 70 °C'de kapalı flakonda maruziyet HCl: 0, 1 M hidroklorik asit çözeltisi ile etkileşim NaOH: 0,1 M sodyum hidroksit çözeltisi ile etkileşim H₂O₂: 0,1 M hidrojen peroksit çözeltisi ile etkileşim Bozunma süresi 72 saattir. Eğer bozunma ileri derecede ise daha kısa bozunma süresi kullanılır.	Plasebo ve çözücüye bağlı pikler, hem stresli hem de stresli olmayan çözeltiler için, lornoksikam pikiyle aynı alıkonma zamanında görünmemelidir. Lornoksikamın stresli ve stresli olmayan koşullar altında pik saflık faktörü en az 990 olmalıdır.
Doğrusallık ve Doğruluk	Doğrusallık ve doğruluk, metodun tüm aralığını kapsayan (%80-120) 5 farklı lornoksikam konsantrasyonunda 10 çözelti kullanılarak çalışılır.	Lornoksikam için korelasyon katsayısı en az 0,999 olmalıdır. Kalıntılar rastgele dağıtılmalıdır. Lornoksikamın geri kazanım yüzdesi %98-102 aralığında olmalıdır
Kesinlik	Gerçek üründen %100 çalışma konsantrasyonunda altı çözelti hazırlanır. Numuneler metoda göre analiz edilir. Prosedür başka bir deney bölümünde tekrarlanır.	Her çalışma bölümünde % lornoksikam miktar tayini için hesaplanan rölatif standart sapma (RSD) %2'den küçük olmalıdır. Her iki bölümde, tüm çözeltiler için belirlenen lornoksikam miktar tayini için hesaplanan % RSD, %2'den küçük olmalıdır.
Sağlamlık	Sağlamlık referans çözelti üzerinden değerlendirilir. Test aşağıdaki kromatografik koşullarda gerçekleştirilir. Kolon sıcaklığı: 39, 40, 41 °C Akış hızı : 0,9, 1,0, 1,1 mL/dakika Enjeksiyon hacmi: 1, 2, 3 µl Çözücü A (tampon çözeltisi): pH=3,0, 3,1, 3,2 Mobil faz oranı: 62, 63, 64% Çözücü A	Lornoksikam pik simetresi 0,8-1,5 aralığında olmalıdır. Teorik plaka sayısı 10000'den büyük olmalıdır.
Çözelti Stabilitesi	Çözelti stabilitesi, referans çözeltisi ve test çözeltisi kullanılarak, metot konsantrasyonunda t ₀ ve 24 saat sonra metot doğrultusunda, 24. saatte hazırlanan referans çözelti karşılaştırma için kullanarak analiz edilir.	Referans çözelti ve test çözeltisi için lornoksikam bağıl miktar tayini 24 saat sonra, % 98-%102 aralığında ise çözeltilerin stabil olduğu

Tablo 3-17: Tanıma ve miktar tayini analitik metot validasyon parametreleri.

Validasyon Parametreleri	DeneySEL Koşullar	Kabul Kriterleri
	Referans çözelti ve Test çözeltisi oda sıcaklığında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.	varsayılmaktadır. (t_0 'da elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında).

3.2.11.4. İlgili Bileşikler Analitik Metot Validasyonu

İlgili bileşikler analiz metodu çalışma yöntemi şu şekildedir:

Sinyal/gürültü raporu için çözelti enjekte edilir ve lornoksikama karşılık gelen pikler entegre edilir. Prosedür sadece sinyal/gürültü raporu en az 10 ise devam eder. Referans çözelti üç numune olarak enjekte edilir ve lornoksikama karşılık gelen pikler entegre edilir. Ortalama pik alanı ve %RSD hesaplanır. Lornoksikam pik alanı %RSD, %5'ten fazla olmamalıdır. Lornoksikam pik simetrisi 0,8-1,5 arasında olmalıdır, lornoksikam piki için teorik plaka sayısı en az 10000 olmalıdır. Plasebo çözeltisi enjekte edilir ve kromotogramdaki tüm pikler entegre edilir. Test çözeltisi enjekte edilir, plasebo çözeltisi dışında görünen tüm pikler entegre edilir. Lornoksikam piki ilgili bileşikler tutunma zamanının belirlenmesi için entegre edilir. %0,05'ten az konsantrasyona sahip olan pikler dikkate alınmaz. Üründeki her bir impürite için içerik (lornoksikamın beyan edilen içeriğine göre) ve toplam impürite aşağıdaki formüle göre hesaplanır.

$$C_{Ref} (\mu\text{g/ ml}) = \frac{M_{Ref}}{V_{Ref}} \times \frac{P_{Ref}}{100} \times \frac{2}{10} \times \frac{0.2}{100} \times 1000$$

$$C_i (\%) = \frac{A_{Test} \times C_{Ref}}{A_{Ref}} \times \frac{1}{C_{Lornoxicam}} \times 100 \times F$$

$$T(\%) = \sum_{i=1}^n C_i (\%)$$

Hesaplama:

M_{Ref} = Referans stok çözeltisi hazırlamak için kullanılan lornoksikam referans standardı ağırlığı (mg)

P_{Ref} = Referans stok çözeltisinde kullanılan lornoksikam referans standardının saflığı (%)

V_{Ref} = Referans stok çözeltisi hazırlamak için kullanılan balon jogenin hacmi (mL)

A_{Test} = Test çözeltisi kromotogramından lornoksikam ilgili bileşikler pik alanı (mAUxs)

A_{Ref} = Referans çözelti kromotogramlarında lornoksikam ortalama pik alanı (mAUxs)

C_{Ref} = Referans çözeltideki lornoksikam konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)

$C_{\text{Lornoxicam}}$ = Test çözeltisinde lornoksikam teorik konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)

$C_i(\%)$ = Üründeki her bir impüritenin yüzde konsantrasyonu (%)

F = Düzeltme faktörü (Herhangi bir tanımlanamayan impürite için 1);

n = impürite sayısı

$T(\%)$ = Üründeki toplam impürite konsantrasyonu (%).

toplam impürite konsantrasyonu (%).

İlgili bileşikler analitik metot validasyon parametreleri ve kabul kriterleri Tablo 3-18'de sunulmuştur.

Tablo 3-18: İlgili bileşikler analitik metot validasyon parametreleri.

Validasyon Parametreleri	DeneySEL Koşullar	Kabul Kriterleri
Spesifiklik	Lornoksikam hammaddesi, sentetik ürün ve plasebo çözeltileri metoda göre analiz edilir. Plasebo (lornoksikam içermeyen karışım), çözücü, sentetik ürün ve lornoksikam hammaddesi aşağıdaki koşullarda stress altındadır. <i>UV</i> : 254 nm UV radyasyonuna maruziyet <i>Vis</i> : VIS radyasona maruziyet <i>Termal</i> : Etüvde 70 °C'de kapalı flakonda maruziyet <i>HCl</i> : 0, 1 M hidroklorik asit çözeltisi ile etkileşim <i>NaOH</i> : 0,1 M sodyum hidroksit çözeltisi ile etkileşim <i>H₂O₂</i> : 0,1 M hidrojen peroksit çözeltisi ile etkileşim Bozunma süresi 72 saattir. Eğer bozunma ileri derecede ise daha kısa bozunma süresi kullanılacaktır.	Plasebo ve çözücüye bağlı pikler, hem stresli hem de stresli olmayan çözeltiler için, lornoksikam ve bozunma ürünü pikiyle aynı alıkonma zamanında görünmemelidir. Lornoksikamın stresli ve stresli olmayan koşullar altında pik saflık faktörü en az 990 olmalıdır.
Doğrusallık	Doğrusallık metodun tüm aralığını kapsayan (%0,05-%1,2) yedi farklı lornoksikam konsantrasyonunda, yedi farklı çözelti kullanılarak çalışılır.	Korelasyon katsayısı en az 0,999 olmalıdır. Kalıntılar rastgele dağılmış olmalı, belirgin bir model görülmemelidir.
Doğruluk ve Kesinlik	Doğruluk ve kesinlik, lornoksikamın bilinen miktarlarda bir plasebo çözeltisine eklenmesiyle metodun tüm aralığını kapsayan (çalışma konsantrasyonunun % 0,05-%1,2'si) 14 farklı konsantrasyonda Lornoksikam içeren 28 çözelti	Ortalama geri kazanım %90-%110 aralığı içinde olmalıdır. 28 çözeltinin tümü için lornoksikamın geri kazanımı için hesaplanan rölatif standart sapma

Tablo 3-18: İlgili bileşikler analitik metot validasyon parametreleri.

Validasyon Parametreleri	Deneysel Koşullar	Kabul Kriterleri
	kullanılarak çalışılır. Prosedür diğer deney bölümünde tekrarlanır.	% (RSD) her gün için 10'dan küçük olmalıdır. Her iki günde tüm çözeltiler için lornoksikam gerikazanım için hesaplanan % RSD, 10'dan küçük olmalıdır
LOD ve LOQ	LOD ve LOQ, doğrusallık çalışmasında (%0,05) kullanılan minimum çözelti konsantrasyonuna karşılık gelen kromotogramın sinyal/gürültü raporu kullanılarak hesaplanır. LOQ'daki metodun doğruluğu ve kesinliği ve LOD'deki impüritelerin görünürlüğü sağlamak için LOD ve LOQ değeri önerilmiştir. Önerilen LOQ ve LOD değerlerinde birer çözelti hazırlanarak altışar defa enjekte edilir.	Önerilen LOQ değeri, uygulanabilir aralığının en düşük sınırına eşit veya daha küçük olmalıdır (% 0,050). Önerilen LOD değerinde, lornoksikama bağlı pikler görünür olmalıdır. Metot, önerilen LOQ değerinde kesinliğini sağlamalıdır. Lornoksikam geri kazanımı için hesaplanan %RSD, tüm çözeltiler için 10'dan küçük olmalıdır.
Sağlamlık	Sağlamlık referans çözelti üzerinden değerlendirilir. Test aşağıdaki kromatografik koşullarda gerçekleştirilir. Kolon sıcaklığı: 39, 40, 41°C Akış hızı : 0,9, 1,0, 1,1 mL/dakika Enjeksiyon hacmi: 24, 25, 26 µL Çözücü A (tampon çözeltisi): pH=3,0, pH=3,1, pH=3,2 Mobil faz oranı: % 62, 63, 64 Çözücü A	Lornoksikam pik simetresi 0,8-1,5 aralığında olmalıdır Teorik plaka sayısı 10000'den büyük olmalıdır.
Çözelti Stabilitesi	Çözelti stabilitesi, referans çözeltisi ve test çözeltisi kullanılarak, metot konsantrasyonunda t ₀ ve 24 saat sonra metot doğrultusunda, 24. Saatte hazırlanan referans çözeltinin karşılaştırma için kullanarak analiz edilir. Referans çözelti ve Test çözeltisi oda sıcaklığında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.	Referans çözelti ve test çözeltisi için lornoksikam bağlı miktar tayini 24 saat sonra, % 90-%110 aralığında ise çözeltilerin stabil olduğu varsayılmaktadır. (t ₀ 'da elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında). Referans çözeltideki lornoksikam pik simetresi 0,8-1,5 aralığında olmalıdır. Teorik plaka sayısı en az 10000 olmalıdır.

3.2.12. Bitmiş Üründe Yapılan Kontroller

Lornoksikam 8 mg enjeksiyonluk liyofilize toz ürünü Tablo 3-19’da belirtilen bitmiş ürün spesifikasyonlarına ve kontrol test yöntemlerine göre analiz edilerek elde edilen sonuçların spesifikasyonlara uyup uymadığı saptandı.

Tablo 3-19: Bitmiş ürün spesifikasyonları.

Spesifikasyon	Kabul Kriteri	Test Metodu
Görünüş	Silindir şeklinde sarı toz kek	Görsel
Su İçeriği (Karl-Fischer), a/a	En fazla %3	Avr. Farm. 2.5.12
Sulandırılmış Çözeltinin Görünüşü	Görünür partikül ve çökelti içermeyen sarı sıvı	Görsel
Sulandırılmış Çözeltinin pH’ı	8,0 - 9,5	Avr. Farm. 2.2.3
Sulandırma Süresi (2ml enjeksiyonluk su ile)	En fazla 60 saniye	Görsel
Dozaj tekdüzeliği (ağırlık varyasyonu)	AV<15	Avr. Farm. 2.9.40
Sulandırılmış çözelti gözle görülemeyen partikül sayısı/flakon	≥ 10 µm en fazla 6000 ≥ 25 µm en fazla 600	Avr. Farm. 2.9.19
Tanıma, Lornoksikam	Test ve referans çözeltisi lornoksikam piki spektrumları benzer olmalıdır.	Avr. Farm. 2.2.29
	$t_{R,Test} \in (t_{R,Ref} \pm 0,5)$ dakika	
Miktar tayini, Lornoksikam	7,60-8,40 mg/flakon	
İlgili bileşikler		
Tanımlanamayan herhangi bir impürite	En fazla % 0,2	Avr. Far. 2.2.29
Toplam impürite	En fazla % 2,0	
Sterilite	Steril	Avr. Far. 2.6.1
Bakteriyel Endotoksin	En fazla 300 EU/flakon	Avr. Far. 2.6.14

3.2.12.1. Görünüş

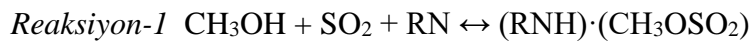
Liyofilizasyon sonrası liyofilize toz ürün özellikleri görsel olarak kontrol edildi. Üretilen her bir flakondan 10 adet alınarak görünüş spesifikasyona uygunluk değerlendirildi.

3.2.12.2. Su İçeriği

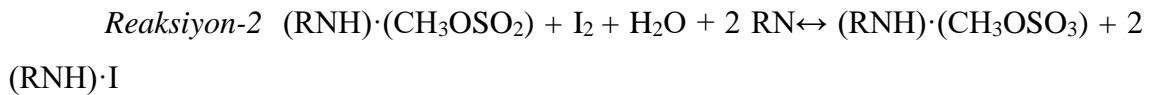
Liyofilizasyon sonrası üründe kalan su miktarı Karl Fischer (KF) nem tayini yöntemi ile Avr. Far. 2.5.12. monografına uygun olarak belirlendi. Metot, uygun tamponlama kapasitesine sahip bir baz varlığında uygun susuz ortamda, suyun kükürt dioksit ve iyot ile kantitatif reaksiyonuna dayanmaktadır.

Cihaz, iki özdeş platin elektrot, çözücü ve titrant girişi, hava girişi, numune girişi ve titrasyon kabından oluşur. Titrasyon bitiş noktası volumetrik titrasyon yöntemi ile belirlenir. Voltametrik titrasyonda titrasyonun bitiş noktası, eklenen titrant miktarının fonksiyonu olarak incelenecek ve sabit bir akımda tutulacak çözelti içine batırılmış iki elektrot arasındaki ölçülen voltaj değişiminin izlenmesi ile belirlenir. Titrasyonun son noktası, numunede mevcut olan toplam su miktarı ile reaksiyon için gereken titrantın hacmini temsil eder.

Analiz iki reaksiyondan meydana gelir. Bir asidik ester formunda sülfür dioksidin içinde yer almak için ön reaksiyona sebep olur sonra bazın (RN) eklenmesiyle nötürleşir.



Suyun varlığıyla, alkol sülfid anyon iyot ile oksitlenerek alkol sülfat olur. Bu süreç, sarı kahverengi iyotu azaltarak renksiz iyodüre dönüştürür.



Reaksiyon, su tamamıyla bitene kadar devam eder ve titrasyon çözeltisinde serbest iyot tespit edilir. Volumetrik titrasyon göstergesi olan polarizeli çift platin-İğneli elektrotta voltaj 100mV altına düşerek titrasyon son noktası belirlenir.

Analiz için numune beheri kuru metanol çözücüsü ile büret kompozit 5 (imidazol, I₂, SO₂) titrantı ile dolduruldu. İlk olarak sistem beherdeki çözeltiyi reaksiyon dengesine getirmek için kompozit 5 ile sabit mV değerine otomatik olarak

getirdi ve cihaza numune koymak için hazır hale geldi. Numune hazırlandı ve terazide darası alındı. Daha sonra numune belirtilen miktarda beherin üzerinde bulunan numune ekleme noktasından eklendi. Terazide tekrar koyularak okunan ve yazdırılan ağırlığı ekrana girildi. Numunenin behere eklenmesiyle değişen mV değerinden cihaz composite 5 ile tekrar suyu sıfırlamak için titrasyona başladı, reaksiyon tamamlanıncaya kadar dozajlamaya devam etti. Bu dozajlanan miktar ile su miktarını otomatik olarak hesaplayarak çıktı verdi.

3.2.12.3. Sulandırılmış Çözeltinin Görünüşü

Liyofilize toz ürünün sulandırılmasından sonra elde edilen çözeltinin görünüşü görsel olarak kontrol edildi. Üretilen her bir flakondan 10 adet alındı ve 2 mL enjeksiyonluk su ile çözündürüldü. Elde edilen çözeltinin görünüşünün spesifikasyonlara uygunluğu değerlendirildi.

3.2.12.4. pH

Sulandırılmış çözeltinin pH'sı pH metre ile ölçüldü.

3.2.12.5. Sulandırma Süresi

Liyofilize toz ürünün sulandırma süresi görsel olarak kontrol edildi. Üretilen her bir flakondan 10 adet alındı ve 2 mL enjeksiyonluk su ile çözündürüldü. Sulandırma süresi kayıt edilerek spesifikasyona uygunluğu değerlendirildi.

3.2.12.6. Dozaj Tekdüzeliliği

Dozaj tekdüzeliliği Avr. Far. 2.9.40. monografi ağırlık sapması yöntemine göre belirlenir.

Ağırlık sapması analizi için 10 tane flakon alınarak tek tek tartıldı. Her flakon içeriği uygun bir şekilde alındıktan sonra boş flakonlar tartıldı. Boş flakon ağırlıkları ilk tartım sonucundan çıkarılarak her flakonun net içerik kütlesi hesaplandı. Miktar tayini sonucu ve net içerik kütlesinden her flakondaki etkin madde miktarı hesaplandı. Farmakopede belirtilen formüle göre kabul değeri hesaplandı ve sonuçlar değerlendirildi.

3.2.12.7. Partikül Sayısı

Sulandırılmış çözeltilerdeki gözle görülemeyen partikül miktarı Avr. Far. 2.9.19 monografına, ışık engellemesi ile partikül sayım metoduna uygun olarak gerçekleştirilir. Partikül boyutunun ve partikül boyutuna göre partikül sayısının otomatik olarak belirlenmesi için ışık engellemesi prensibine dayanan sıvıda partikül sayım cihazı kullanılır. Cihaz, 10 µm ila 25 µm arasında bilinen ebatlardaki küresel partiküllerin dispersiyonlarından oluşan uygun sertifikalı referans malzemeleri kullanılarak kalibre edilir.

Numune hazırlığı için 20 adet flakon alındı ve enjeksiyonluk su ile sulandırılarak kompozit numune hazırlandı. Hazırlanan numune çözeltisi sıvıda partikül sayım cihazının enjeksiyon bölümüne yerleştirildi, prob yüksekliği numune kabına göre ayarlandı. Hazırlanan numune çözeltisi otomatik olarak her biri en az 5 ml olacak şekilde 4 parçada cihaza enjekte edildi. Ölçüm başlatılarak, numune içindeki $\geq 10 \mu\text{m}$ ve $\geq 25 \mu\text{m}$ partikül sayısı otomatik olarak sayılarak, ilk enjekte edilen numune ölçüm sayısı elenerek diğer üç numunenin ortalama partikül sayısı otomatik olarak verildi.

3.2.12.8. Tanıma ve Miktar Tayini

Etken madde tanıma ve miktar tayini için HPLC metodu kullanılır. HPLC metoduna ait kromatografik şartlar aşağıda verilmiştir.

Kromatografik koşullar:

- Kromatografik yöntem: İzokratik
- Kolon: Luna C18, 150 x 4,6 mm x 3 µm (veya eşdeğeri)
- Kolon Sıcaklığı: 40°C
- Enjeksiyon hacmi: 2 µl
- Akış Hızı: 1,0 ml/dakika
- Mobil faz kompozisyonu:

Çözücü A: 27,2 g potasyum dihidrojen fosfat suda çözünür ve su ile 1000 ml'ye seyreltilir. %85 o-fosforik asit ile pH 3,1'e ayarlanır.

Çözücü B: 225 ml metanol ile 775 ml asetonitril karıştırılır ve 5 dakika süreyle ultrasonik banyoya tutulur.

- Deteksiyon :UV
- Analitik Dalga Boyu: 264 nm
- Spektrum Aralığı: 190 – 400 nm
- Cevap Süresi: 2 saniye
- Kromatogram Süresi: 20 dakika

Çözeltilerin Hazırlanması:

Numune Çözücüsü: Su: Çözücü B 63:37 h/h

Referans Stok Çözeltisi: ~400µg/ml lornoksikam reaktifi içeren çözelti hazırlanır, çözücü olarak trometamol çözeltisi kullanılır. 60-80 °C’de Lornoksikamın tam çözünmesi gerçekleşir.

Referans Çözelti: 2,0 ml referans stok çözeltisi 10,0 ml çözücü ile seyreltilir. (~ 80 µg/ml lornoksikam)

Test Çözeltisi: Bir flakon liyofilize toz ile tartılır (yaklaşık 8 mg / flakon lornoksikam içerir). Flakonun içeriği 2,0 ml su ile çözünür ve flakon içeriği 100 ml balon jojeye aktarılır. Flakon 23,0 ml su ile yıkanır ve bu çözelti numune içeren balon jojeye ilave edilir. Çözücü ile hacme tamamlanır. Çift olarak hazırlanır (~80 µg/ ml lornoksikam). Boş flakon yaklaşık 10 dakika 60°C’de etüvde kurutulur, soğuduktan sonra tartılır. Dolu flakon ve boş flakon arasındaki ağırlık farkı göz önüne alınan ürün miktarıdır (mg).

Hesaplama:

$$C_{Ref} (\mu\text{g}/\text{ml}) = \frac{M_{Ref}}{V_{Ref}} \times \frac{P_{Ref}}{100} \times \frac{2}{10} \times 1000$$

$$\text{Miktar Tayini (mg/flakon)} = \frac{A_{Test}}{A_{Ref}} \times C_{Ref} \times \frac{1}{1000} \times \frac{\bar{M}}{M_{ürün}} \times V_{Test}$$

$$M_{ürün} (\text{mg} / \text{flakon}) = M_{dolu_flakon} - M_{boş_flakon}$$

Hesaplama;

M_{Ref} = Referans stok çözeltisi hazırlamak için kullanılan lornoksikam referans standardı ağırlığı (mg)

P_{Ref} = Referans stok çözeltisinde kullanılan lornoksikam referans standardının saflığı (%)

V_{Ref} = Referans stok çözeltisi hazırlamak için kullanılan balon jopenin hacmi (ml)

C_{Ref} = Referans çözeltideki lornoksikam konsantrasyonu ($\mu\text{g/ml}$)

A_{Test} = Test çözeltisi kromatogramlarında lornoksikama karşılık gelen pik alanı (mAUxs)

A_{Ref} = Referans çözelti kromatogramlarında lornoksikama karşılık gelen ortalama pik alanı (mAUxs)

\bar{M} = 10 flakon ürünün ortalama ağırlığı (mg)

$M_{product}$ = Test çözeltisi hazırlamak için tartılan ürün ağırlığı (mg/flakon)

V_{Test} = Test çözeltisi hazırlamak için kullanılan balon jopenin hacmi (ml)

M_{dolu_flakon} = Tartılan dolu flakonun ağırlığı (mg)

$M_{boş_flakon}$ = Kurutma sonrası tartılan boş flakonun ağırlığı (mg)

Miktar Tayini (mg/flakon) = Bir flakon üründeki lornoksikam miktarı (mg/flakon)

3.2.12.9. İlgili Bileşikler

İlgili bileşikler analizi için HPLC metodu kullanıldı. HPLC metoduna ait kromatografik şartlar aşağıda verilmiştir.

Kromatografik koşullar:

- Kromatografik yöntem: İzokratik
- Kolon: Luna C18, 150 x 4,6 mm x 3 μm (veya eşdeğeri)
- Kolon Sıcaklığı: 40°C
- Enjeksiyon hacmi: 25 μl
- Akış Hızı: 1,0 ml/dakika
- Mobil faz kompozisyonu: Çözücü A: Çözücü B = 63:37 (h/h)

Çözücü A: 27,2 g potasyum dihidrojen fosfat suda çözüldü ve 1000 mL'ye seyreltildi. %85 O-fosforik asit ile pH 3,1'e ayarlandı.

Çözücü B: 225 ml metanol ile 775 ml asetonitril karıştırıldı ve 5 dakika süreyle ultrasonik banyoda bekletildi.

- Deteksiyon :UV
- Analitik Dalga Boyu: 264 nm

- Spektrum Aralığı: 190 – 400 nm
- Cevap Süresi: 2 saniye
- Kromatogram Süresi: Referans çözelti 15 dakika, Test çözeltisi 30 dakika

Çözeltilerin Hazırlanması:

Numune Çözücüsü: Su ve Çözücü B 63: 37 h/h

Referans Stok Çözeltisi: ~400µg/mL lornoksikam reaktifi içeren çözelti hazırlandı, çözücü olarak trometamol çözeltisi kullanıldı. 60-80 °C’de lornoksikamın tam olarak çözünmesi sağlandı.

Referans Çözelti: 2,0 mL referans stok çözeltisi 10,0 mL numune çözücüsü ile seyreltilti. Bu çözeltiden 0,2 mL alınarak 100,00 mL numune çözücüsü ile seyreltilti (~ 0,16 µg/mL lornoksikam).

Test Çözeltisi: Bir flakon içeriği olan liyofilize toz tartıldı (yaklaşık 8 mg/flakon lornoksikam içerir). Flakonun içeriği 2,0 mL su ile çözündürüldü ve 100 mL’lik balon jojeye aktarıldı. Flakon 23,0 mL su ile yıkandı ve bu çözelti de numune içeren balon jojeye ilave edildi. Numune çözücüsü ile hacmine tamamlandı (~80 µg/mL lornoksikam).

Plasebo: 500 mg mannitol, 60 mg trometamol ve 1 mg EDTA 100 mL balon jojeye alındı ve 80 mL su ile çözündürüldü. Çözünme sonrası 100,0 mL’ye su ile tamamlandı (400µg/mL lornoksikam).

Plasebo Çözeltisi: 2,0 mL plasebo 10,0 mL numune çözücüsü ile seyreltilti (~80 µg/mL lornoksikam)

Sinyal-gürültü raporu için çözelti: 2,0 mL referans çözeltisi 100,00 mL numune çözücüsü ile seyreltilti, bu çözeltiden 0,5 mL alınarak 100 mL’ye numune çözücüsü ile seyreltilti (~ 0,04 µg/mL lornoksikam).

Hesaplama:

$$C_{\text{Ref}} (\mu\text{g/ml}) = \frac{M_{\text{Ref}}}{V_{\text{Ref}}} \times \frac{P_{\text{Ref}}}{100} \times \frac{2}{10} \times \frac{0.2}{100} \times 1000$$

$$C_i (\%) = \frac{A_{\text{Test}} \times C_{\text{Ref}}}{A_{\text{Ref}}} \times \frac{1}{C_{\text{Lornoxicam}}} \times 100 \times F$$

$$T(\%) = \sum_{i=1}^n C_i(\%)$$

M_{Ref} = Referans stok çözeltisi hazırlamak için kullanılan lornoksikam referans standardı ağırlığı (mg)

P_{Ref} = Referans stok çözeltisinde kullanılan lornoksikam referans standardının saflığı (%)

V_{Ref} = Referans stok çözeltisi hazırlamak için kullanılan balon jolenin hacmi (mL)

A_{Test} = Test çözeltisi kromotogramından lornoksikam ilgili bileşikler pik alanı (mAUxs)

A_{Ref} = Referans çözelti kromotogramlarında lornoksikam ortalama pik alanı (mAUxs)

C_{Ref} = Referans çözeltideki lornoksikam konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)

$C_{Lornoxicam}$ = Test çözeltisinde lornoksikam teorik konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)

C_i (%) = Üründeki her bir impüritenin yüzde konsantrasyonu (%)

F = Düzeltme faktörü (Herhangi bir tanımlanamayan impürite için 1)

n = impürite sayısı

$T(\%)$ = Üründeki toplam impürite konsantrasyonu (%)

3.2.12.10. Sterilite

Sterilite testi Avr. Far. 2.6.1 monografına uygun olarak gerçekleştirilir. Sterilite testi numune içerisindeki canlı mikroorganizma varlığını test eder. Numunenin 14 gün inkübasyonda bekletilmesiyle hem aerobik (oksijenli) ortamda hemde anaerobik ortamda (oksijensiz) yaşayabilen ve hem hızlı hemde yavaş gelişen mikroorganizmaların üreyebilmesi sağlanır.

Sterilite testi aseptik koşullarda ürünü kontaminasyondan korumak için B sınıfı temiz alan içerisindeki A sınıfı LAF kabini içinde gerçekleştirildi. Numune Avr. Far. 2.6.1.'de tanımlanan membran filtrasyon metodu ile filtre edilerek, Tryptic Soy Broth besiyeri içerisinde aerobik ortamda 20-25 °C'de 14 gün, Fluid Thioglycolate Medium besiyeri içerisinde 30-35 °C'de anaerobik ve aerobik ortamda 14 gün inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda bulanıklık gözlenmeyerek numunenin steril olduğu belirlendi.

3.2.12.11. Bakteriyel Endotoksin

Bakteriyel endotoksin gram negatif bakterilerin hücre zarlarında bulunan lipopolisakkaritler veya lipo-oligosakkaritlerdir. Temelde canlı hücre değil hücrenin protein yapılarıdır. Dolayısı ile bir numunenin steril olması yani canlı mikroorganizma içermemesi endotoksin içermediği anlamına gelmemektedir. Bakteriyel endotoksin testi Avr. Far. 2.6.14'e uygun olarak Jel-Clot Limulus Amebosit Lizat (LAL) tekniği kullanılarak gerçekleştirilir. Lizatın hassasiyetine göre endotoksin varlığında jelleşme tespit edilir.

Bakteriyel endotoksin testinde atnalı yengecinden elde edilen limulus amebosit lizat gram negatif bakteri kökenli endotoksinlerin saptanması ve ölçülmesi için kullanıldı. Numune, seçilen hassasiyette lizat ile eşit hacimde karıştırıldı. $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 60 dakika bekletildi, jelleşme görülmediği için endotoksin olmadığı belirlendi.

3.2.13. Verilerin Yapay Zeka Programı ile Değerlendirilmesi

Dondurarak kurutma yöntemiyle üretilen enjeksiyonluk liyofilize toz formülasyonlarından elde edilen veriler FormRules V3.32 ve INForm V3.9 ticari programları kullanılarak değerlendirildi.

3.2.13.1. Verilerin Nöro-Bulanık Mantık Kullanılarak Değerlendirilmesi

Çalışmada kullanılan FormRules V3.32, Intelligensys Ltd. firması tarafından hazırlanan ve nörobulanık mantık teknolojisini baz alan veri madenciliği yazılımıdır. Verilere en uygun modeli bulmak için bir dizi modeli deneyerek sonrasında modeli iyileştirmektedir. Yazılımın modeli iyileştirebilmesi için öncelikle eğitilmesi gerekmektedir.

Eğitim adımı, özelliklerden her biri için ayrı bir model geliştirilmektedir. Model eğitim parametreleri tüm modeller için aynı uygulanabilir veya kişisel özellik seçeneği ile farklı seçim yapılabilir.

FormRules V3.32, farklı modeller oluşturarak bu modellerden hangisinin seçileceğini görmek için test eder. Model seçim kriteri için beş farklı seçenek bulunmaktadır.

- Asgari Tanımlayıcı Uzunluk (MDL).
- Yapısal Riski En Aza İndirgeme (SRM).

- Bayesian Bilgi Kriteri (BIC).
- Çapraz Doğrulama (CV).
- Bir Değeri Dışarıda Bırakan Çapraz Validasyon (LOOCV).

MDL, SRM ve BIC iki terimi içeren bir kriteri en aza indirgemeyi hedefleyen istatistik yöntemleridir; biri veri setinde hesaplanan tahmin hataları ile ilgiliyken diğeri modeldeki parametrelerle ilgilidir. CV ve LOOCV seçenekleri ise verileri test veya eğitim için kullanılan alt setlere bölen doğrulama yöntemidir.

FormRules model eğitim çalışması:

Model tipi: Bulanık Mantık Setleri

- 2. sıra bulanık mantık set yoğunlukları: Seçim listesi: 2
- Kullanılan liste: 2-3
- Maks. alt model girdileri: 3
- Her bir girdi için maks. düğüm : 10
- *Parametrelerin uygulanması:* Tüm özellik modelleri

Model seçimi: LOOCV

- SRM parametresi C1: 0.808
- Alt setlerin sayısı: 10
- *Parametrelerin uygulanması:* Tüm özellik modelleri

Minimizasyon parametreleri:

- Tepe regresyon faktörü: $1e^{-06}$
- *Parametrelerin uygulanması:* Tüm özellik modelleri

Model eğitimi sonrası ***Eğitim Sonuçları*** sayfasından ***Seçenekler, Tablolar ve Grafik*** bölümlerinden inceleme yapılır.

Seçenekler: Kuralları ve kuralların grafiksel gösterimini kontrol eder. Kurallar EĞER (A) SONRA (B) şeklinde verilmektedir. Standart (**Standard**), Birleşik (**Combined**) ve ASMOD olmak üzere üç adet kural tipi vardır. Çalışmada kullanılan Standart kural tipi kuralları aşağıdaki şekilde verir:

EĞER “A” DÜŞÜK İSE, O ZAMAN “ B” YÜKSEKTİR. (1. 00)

EĞER “A” YÜKSEK İSE O ZAMAN “B” DÜŞÜKTÜR (1. 00)

Kuralda “B” DÜŞÜK veya YÜKSEK olabilir. Parantez içindeki sayılar güven seviyelerini gösterir ve alt modelde özellik değerine en fazla katkısı olan kural kırmızı ile görüntülenir.

Tablolar: Kurallar Tablosu (**Rules Sheet**) alt modeller için oluşturulan tüm kuralları özetler. *Model istatistik tablosu*, modellerin ne kadar iyi olduğunu gösterir. Bu tablo, modeller için ANOVA (ANalysis Of VAriance) istatistiklerini içerir. İncelenmesi gereken R^2 değeri arttıkça; model, eğitim verilerinde o kadar fazla değişken yakaladığını gösterir. R^2 , % 70 ve % 99,9 arasındaysa, arka plan yeşil renktedir ve modelin güvenilir olduğunu gösterir. R^2 , % 50-%70 arasındaysa, arka plan sarı renktedir ve model hakkında uyarıda bulunmaktadır. $R^2 < \%50$ ise, arka plan kırmızı renktedir ve modelin güvenilir olmadığını gösterir. $R^2 \geq \% 99,9$ olması durumunda aynı şekilde arka plan kırmızı renkte olacaktır, büyük bir olasılıkla modelin aşırı derecede uyumlu olduğunu göstermektedir. *Training Log* eğitim sırasında denenen ve atılan tüm modellerin kaydının ve özetinin olduğu alandır. *Eğitim verileri*, gerçek olanlarla karşılaştırılabilecek tahmini değerlendirir.

Grafik: Bu bölümde nöro bulanık sonuçlar (**Neurofuzzy Results**) görüntülenir.

Sonuçların Üç Boyutlu Grafikleri bölümünde ise girdi değişkenleri ve özelliklerin seçimi ile üç boyutlu grafikler oluşturulur.

Değerlendirme bölümünde ise içerik maddeleri (**ingredient**) ve özellikler (**properties**) mevcut veri veya istenen verilerin kullanımıyla, sonuçların öngörülen (**predict**) ve en iyi uyum yapan (**best match**) formülasyonu bulabilmesine imkan tanır.

3.2.13.2. Verilerin Genetik Algoritma Kullanılarak Değerlendirilmesi

INForm programı nöral ağları kullanarak, programa sunulan veriden öğrenen, “eğer denenirse”, verilen aralık içindeki bileşen miktarının veya işlem koşullarının değişmesi halinde ne olabileceğini gösterir (47). INForm sinir ağı yazılım paketi olarak isimlendirilmesine rağmen, sadece farklı geri yayılma algoritması türlerine sahip sinir ağlarını değil, aynı zamanda genetik algoritma, bulanık mantık, istatistik teknikleri ve grafiksel görselleştirme olanaklarını da kapsamaktadır. Merkezi model oluşturma görevi

sinir ağı bileşeni tarafından gerçekleştirilirken, genetik algoritma ve bulanık mantık, eğitilmiş modeller de formülasyon optimizasyonu için kullanılır.

INForm programına veriler içe aktararak veya farklı çalışma sayfalarından kopyalanarak girilir. Veri aktarımı sonrası değişkenler belirlendikten sonra eğitim bölümünde sinir ağı modelleri geliştirilir. Standart Kademeli, Standart Seri, RPROP, Quickprop, ve Açık Yönelimli Öğrenme olmak üzere beş çeşit geri yayımlı öğrenme algoritması ile çok katmanlı algılayıcı sinir ağı bulunmaktadır. INForm'da kaliteli modeller için farklı öğrenme algoritmalarının uygulanması gerekmektedir. Böylece modeller farklı şekillerde oluşturulacaktır. Bu nedenle INForm, sadece tek bir gizli katman kullanmakta ve katmandaki düğümlerin sayısı, veri örneklerinin sayısına göre otomatik olarak belirlenmektedir. Aşırı eğitimi önlemek için en fazla eğitim yinelemesi sayısının belirlenmesi ve eğitim sırasında modellerin genelleştirilmesinin iyileştirilmesinin izlenmesi yaklaşımları kullanılır. Bu fonksiyonlarla ilgili parametreler aşağıda sunulmuştur.

Akıllı seçim: Test verilerinin seçilmesi için kullanılmaktadır. Veri noktalarının alınma seçimi rastgele yapılmaktadır. Bir noktanın çıkarılması için seçilmesi halinde, INForm ilk olarak çok boyutlu alanda yakında başka noktaların olduğundan emin olmak için kontrol gerçekleştirmektedir. Bu, aralıkların uçlarındaki gibi önemli noktaların eğitim dizileri sırasında çıkarılmamasını sağlamaktadır.

Akıllı durdurma: Aşırı eğitim gerçekleşmeden önce eğitim işleminin durdurulması fonksiyonudur. Eğitim işleminin durdurulmasının en iyi olacağı noktayı belirlemek için eğitim hataları ve test hatalarının optimum kombinasyonunu değerlendirmektedir. Böylelikle ağ, daha uzun eğitimde herhangi bir iyileşme olup olmadığını veya eğitim hatalarının büyük bir artış gösterip göstermeyeceğini görmek için ileriye bakmaktadır .

Yineleme aşımı: “akıllı durdurmaların” “ileri bakarken” almaları gereken evre sayısını göstermektedir. Modelin düzgün eğitilmemesi ve bu durumun test hatası/ eğitim hatası değerlerindeki dalgalanmalarla da kanıtlanması durumunda, daha büyük bir “ileriye bakma” işlemiyle, erken durma gerçekleşir .

Asgari yineleme: “Akıllı durdurma” uygulamaya konulmadan önce kaç evrenin geçmesi gerektiğini göstermektedir. Değerin çok küçük olması durumunda da model geliştirilir. Fakat bu model, özellikle “yineleme aşımının” da düşük olması halinde kısıtlı olacaktır.

Parametreler, en iyi modelin geliştirilebileceği bir dizi uygun parametrenin bulunabilmesi için eğitim sırasında ayarlanmaktadır.

Nöral ağ, eğitim sırasında verilerden öğrenir; ancak öngöründe bulunamadığı zaman veriyi hatırlıyormuş gibi davranır. Bunu engellemek için, “*validasyon*” uygulanmalıdır. Bu uygulamada bir miktar veri, test verisi olarak ayrı tutulur ve bu test verisi için girdiler kullanıp, özellikler tahmin edilir.

Nöral ağın eğitilmesinden sonra sonuçlara, *sonuçları görme (View results)* bölümünden *model istatistikleri (Model statistics)*, *eğitim verisi (Train data)*, *test verisi (Test data)* ve *eğitim günlüğü (Training log)* bilgilerine ulaşılır.

Sonuç sayfasındaki Model İstatistikleri tablosu ANOVA istatistiklerini içerir. R^2 'li eğitim seti (**Train set R-squared**) ve hesaplanmış *f-oranı (Computed f-ratio)* incelenir. Daha yüksek R^2 'li eğitim seti, daha çok modelin, veride *değişiklik (variation)* yakaladığını göstermektedir ve 4'ten büyük bir *f-oranı* değeriyle desteklenmiş, %70'ten büyük bir değer uygun olarak değerlendirilmektedir. Sonuçlar, R^2 değerleri, $\geq \%70$ ve $\leq 0,95$ olarak değerlendirildiğinde arka plan durumun iyi olduğunu belirten yeşil renk ile 0,50 ile 0,70 arasında ise dikkatli olunması gerektiğini belirten sarı renk ile $R^2 \leq 0,50$ olduğunda ise modelin iyi olmadığını gösteren kırmızı renk ile gösterilir. Ayrıca $R^2 \geq 0,99,9$ ise, modelin gereğinden fazla eğitilmiş olması olasılığı nedeniyle kırmızı renk ile tanımlanır.

Eğitimin tamamlanması, modelin “şayet” araştırmaları ve optimizasyon için kullanıma hazır olduğunu gösterir (48). ANN programı ile eğitime çalışmaları Tablo 3-20’de sunulmuştur.

Tablo 3-20: ANN model eğitim parametreleri.

Ağ yapısı: Gizli katman sayısı=1 Düğüm sayısı=2
Geri yayımlı tip: RPROP Açı yönelimli öğrenme
Geri yayılma parametreleri: Momentum faktörü=0,8 Öğrenme hızı =0,7
Hedefler: Hedef devirler =1000 Ortalama karesel hata=0,0001 Rastgele başlangıç noktası =10000
Gizli katmanda aktarım fonksiyonları: Girdi: Asimetrik sigmoid (Tanımlanamayan herhangi bir impürite için simetrik sigmoid) Çıktı: Lineer (Partikül Sayısı/flakon $\geq 10 \mu\text{m}$ için Simetrik sigmoid)
Akıllı durdurma: Asgari yineleme = 20 Test hata tartımı = 0,2 Yineleme aşımı = 200 Otomatik ağırlık: açık Akıllı durdurma aktif: açık

3.2.13.3. Optimizasyon

Optimizasyon, ulaşmak istenilen özellikleri belirlemeye ve modeldeki hangi bileşen ve işlem koşullarının bunlara yaklaştığını gösterir.

INForm'daki Genetik algoritma en uygunlaştırıcı (**Optimizer**) ile çözümler arar ve bunları bir "uyumluluk" kriterine göre değerlendirir. Program optimizasyon sırasında kalite özellikleri arasında önem sırası oluşturmamızı sağlayarak, ayrıca sahip olmak istediğimiz özelliklerin değerlerini tanımlama ve optimizasyon parametrelerini seçme imkanı sunmaktadır (48).

Liyofilizasyon prosesine ait deneysel verilerden model oluşturularak verilerin optimizasyonu INForm V.3.9 programı ile aşağıdaki parametreler doğrultusunda yapılmıştır.

Optimizasyon çalışmalarında kullanılan parametreler:

Popülasyon Sayısı (Number of Populations): 1

Popülasyon Büyüklüğü (Population Size): 100

Jenerasyon Sayısı (Number of Iterations): 100

Gen Sayısı (Mutation SD): 0,1

Rastlantısal Başlangıç Değeri (Random Seed): 1.

4. BULGULAR

4.1. Lornoksikam Formülasyon Çalışmasına Ait Bulgular

Ön formülasyon çalışmalarında beş farklı lornoksikam içeren çözelti hazırlanmış ve referans ürünle karşılaştırılmıştır. Formülasyonlarda lornoksikamın çözünürlüğü, çözeltinin görünüşü, çözeltinin pH ve ozmolalitesi kontrol edilmiştir.

Sulandırılmış referans ürünün analiz sonucunda ozmolalitesi 344 ± 5 mOsm/kg, pH'sı ise 8,7 olarak bulunmuştur. Referans ürünün analiz sonuçları ile ruhsat sahibi firma Nycomed /Avusturya GmbH tarafından gerçekleştirilen ürün orijinal patent sonuçları ile uyumludur (16).

Formülasyon-1'de (F1), lornoksikam oda sıcaklığında plasebo çözeltisinde çözünmemiş, çözeltinin 60° C'ye ısıtılması ile çözünme sağlanmış ve sarı berrak çözelti elde edilmiştir. Hazırlanan çözeltinin ozmolalitesi 444 mOsm/kg, pH'sı ise 8,7 dir.

Formülasyon-2'de (F2), lornoksikam etkin maddesinin oda sıcaklığında çözünmemesinde mannitol miktarının etkisini gözlemlemek ve ozmolaliteyi düşürmek için manntitol miktarı azaltılmıştır. Çözelti görünüşü opelasans olmasına rağmen lornoksikam oda sıcaklığında plasebo çözeltisinde çözünmemiştir. Eklenen Disodyum EDTA miktarı 12 mg'a tamamlanmış, lornoksikam yine çözünmemiştir. Çözelti 60°C'ye ısıtılarak lornoksikam çözüldürülmüş, sarı ve berrak bir çözelti elde edilmiştir. Hazırlanan çözeltinin ozmolalitesi 296 mOsm/kg, pH'sı ise 8,7 dir.

Formülasyon-3'te (F3), lornoksilaminin oda sıcaklığında, trometamol çözeltisi içinde, çözünüp çözünmeyeceğini test etmek için yardımcı madde ekleme sırası değiştirilmiş, çözeltiye mannitol eklenmemiştir. Lornoksikam oda sıcaklığında trometamol çözeltisinde çözünmemiştir.

Formülasyon-4'te (F4), oda sıcaklığında trometamol konsantrasyonunu artırarak ve yardımcı madde ekleme sırası değiştirilerek gerçekleştirilmiştir. Lornoksikamın oda sıcaklığında çözünmesi sağlanmış, çözünme sonunda sarı berrak bir çözelti elde edilmiştir. Hazırlanan çözeltinin ozmolalitesi 385 mOsm/kg, pH'sı ise 8,9 dur.

Formülasyon-5'te (F5), Lornoksikam 60°C'ye ısıtılan plasebo çözeltisi içine eklenerek 60°C'de karıştırılarak çözündürülmüş, sarı ve berrak çözelti elde edilmiştir. Hazırlanan çözeltinin osmolalitesi 351 mOsm/kg, pH'sı ise 8,6 dır.

Ön formülasyon çalışmaları sonucunda lornoksikamın çözünürlüğü, çözeltinin görünüşü, pH'sı ve ozmolalitesine ait sonuçlar Tablo 4-1'de sunulmuştur.

Tablo 4-1: Ön Formülasyon sonuçları.

Kontroller	Referans Ürün (R)	Formülasyonlar				
		F1	F2	F3	F4	F5
Çözünürlük	Çözünür	Çözünür	Çözünür	Çözünmez	Çözünür	Çözünür
Görünüş ve Renk	Berrak, sarı çözelti	Berrak, sarı çözelti	Berrak, sarı çözelti	Uygun Değil	Berrak, sarı çözelti	Berrak, sarı çözelti
pH	8,7	8,7	8,7	-	8,9	8,6
Ozmolalite (mOsm/kg)	344	444	296	-	385	351

Beş farklı çözünme testine ait sonuçlar göz önüne alındığında, lornoksikamın 60 °C'ye ısıtılarak çözünmesi kullanılacak metot olarak belirlenmiştir. Eklenen trometamol miktarının artırılması oda sıcaklığında çözünmeyi kolaylaştırmış çözeltinin ısıtılmasını engellemiştir. Fakat orjinal ürün formülasyonundan uzaklaşılması ve gereken miktardan çok daha fazla yardımcı madde kullanılması nedeniyle tercih edilmemiştir. Ön formülasyon çalışmaları sonucunda **Formülasyon-5 (F5)** liyofilizasyon prosesi için kullanılacak ideal formülasyon olarak belirlenmiş ve içeriği Tablo 4-2'de verilmiştir.

Tablo 4-2: Lornoksikam final ürün formülasyonu.

Hammadde	g/100mL bulk çözelti liyofilizasyon öncesi	mg/flakon
Lornoksikam	0,4	8
Mannitol	5,0	100
Disodyum EDTA dihidrat	0,011	0,22
Trometamol	0,6	12
Enjeksiyonluk Su	100 mL'ye tamamlanır	-

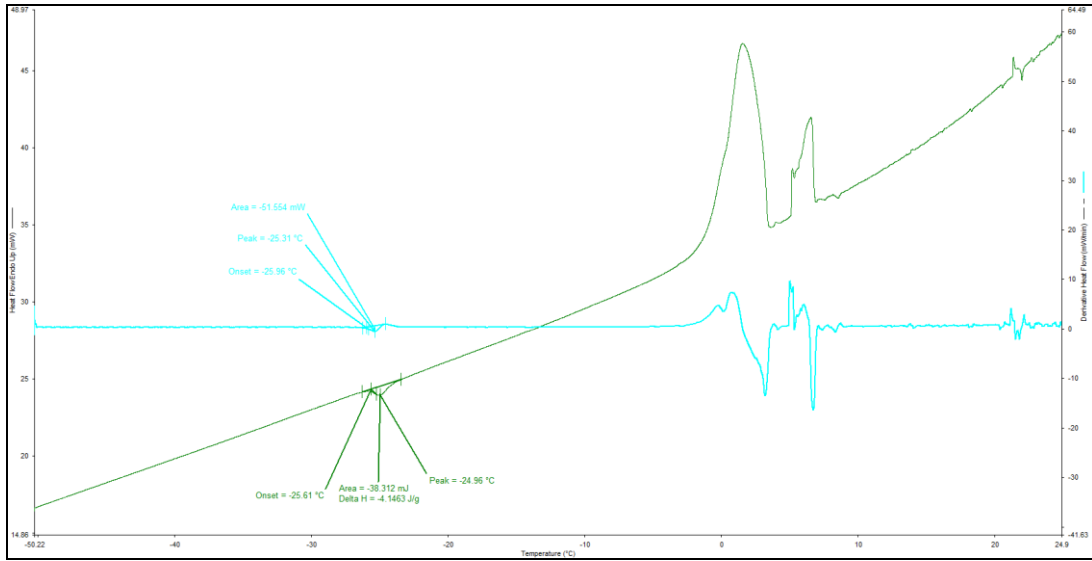
4.2. Liyofilizasyon Prosesine Ait Bulgular

DSC analizi ile bulk çözeltinin donma sıcaklığı $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ olarak kayıt edilmiştir. Liyofilizasyon prosesi için beş farklı proses parametresi tasarlanmıştır. Liyofilizasyon prosesi için beş farklı proses parametresi tasarlanmıştır (D1-D5). D5 proses parametresi ile iki farklı batch üretimi yapılarak ikinci batch sonuçları D6 olarak adlandırılmıştır. Ön şartlandırma aşaması D1, D5 ve D6 çalışmalarında uygulanmıştır. Dondurma ve ön şartlandırma aşamasından elde edilen veriler Tablo 4-3'te sunulmuştur.

Tablo 4-3: Dondurma ve ön şartlandırma aşaması bulguları

	D1	D2	D3	D4	D5	D6
Ortam Sıcaklığı ($^{\circ}\text{C}$)	20	20	20	20	25	25
-45°C'ye soğutma süresi	2 s 10 dk	2 s 10 dk	4 s 10 dk	4 s 10 dk	2 s	2 s
-45°C'de tutulma süresi	2 s	6 s	8 s	8 s	2 s	2 s
-20°C'ye ısıtma süresi	1 s	-	-	-	1 s	1 s
-20°C'de tutulma süresi	2 s	-	-	-	2 s	2 s
-45°C'ye soğutma süresi	1 s	-	-	-	1 s	1 s
-45°C'de tutulma süresi	4 s	-	-	-	6 s	6 s
Dondurma toplam süresi	9 s 10 dk	8 s 10 dk	12 s 10 dk	12 s 10 dk	11 s	11 s
Ön şartlandırma toplam süresi	3 s	-	-	-	3 s	3 s

Dondurulmuş lornoksikam bulk çözeltisinin ısıtılmasıyla, DSC analizi ile camısı geçiş sıcaklığı başlangıç $-25.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ olarak kayıt edilmiştir. Camısı geçiş sıcaklığı Şekil 4-2’de yeşil trend olarak görülmektedir. Termogramın ilk türevinde hesaplanan camısı geçiş sıcaklığı başlangıcı $-26.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ’dir. Şekil 4-1’de açık mavi trend olarak görülmektedir.



Şekil 4-1: DSC Analizi ile camısı geçiş sıcaklığının belirlenmesi.

4.3. Analitik Metot Validasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.3.1. Tanıma ve Miktar Tayini Analitik Metot Validasyon Bulguları

Lornoksikam 8 mg enjeksiyonluk liyofilize toz ürününe ait tanıma ve miktar tayini analitik metot validasyon çalışmaları validasyon parametreleri metotta verilen kriterlere göre gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Tablo 4-4’te sunulmuştur.

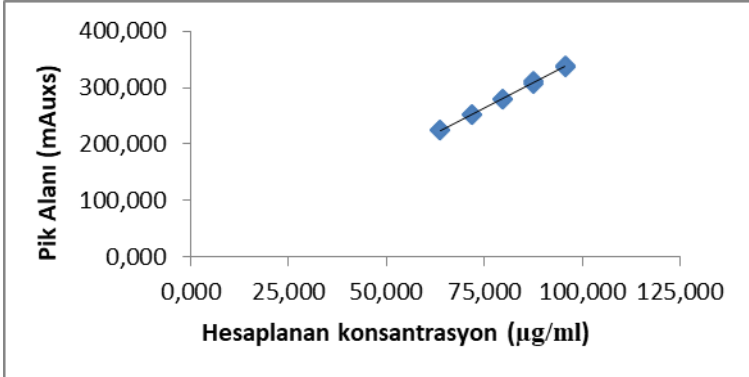
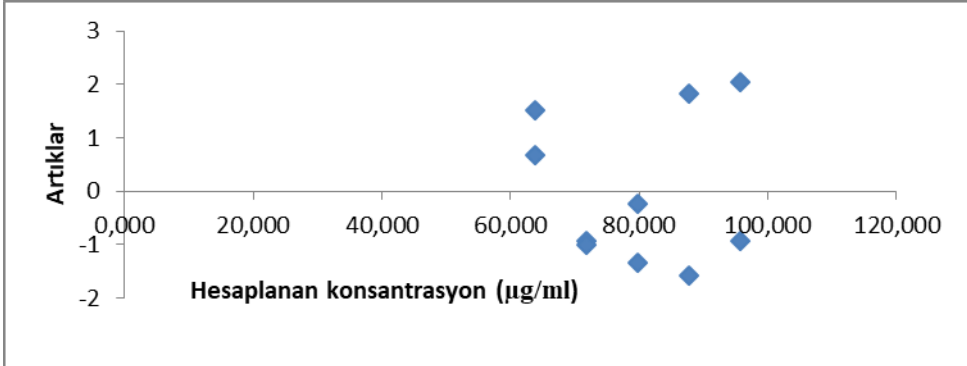
Tablo 4-4: Lornoksikam tanıma ve miktar tayini analitik metot validasyon bulguları.

Validasyon Parametreleri	Kabul Kriterleri	Sonuç		
Spesifiklik	Plasebo ve çözücüye bağlı pikler, hem stresli hem de stresli olmayan çözeltiler için, lornoksikam pikiyle aynı alıkonma zamanında görünmemelidir.	Test sonucunda yardımcı maddeler, bozunma ürünleri ve potansiyel safsızlıklara bağlı pikler, lornoksikam piki ile aynı alıkonma süresinde görünmemiştir.		
		Numune Adı	Pik Alanı (mAUxs)	Geri Kazanım (%)
		Lornoksikam - t ₀	265,42	100,0
		Lornoksikam – VIS 72s	237,13	89,3
		Lornoksikam - UV 72s	261,58	98,6
		Lornoksikam - Termal (70°C) 72s	173,70	65,4
		Lornoksikam - HCl 72s	255,60	92,6
		Lornoksikam NaOH 72s	274,70	103,5
		Lornoksikam - H ₂ O ₂ 72s	157,60	59,4
		Numune Adı	Pik Alanı (mAUxs)	Geri Kazanım (%)
		Sentetik ürün - t ₀	277,78	100,0
		Sentetik ürün - VIS 72 s	229,72	82,7
		Sentetik ürün - UV 72 s	270,96	97,5
		Sentetik ürün - Termal (70°C) 72s	168,28	60,6
		Sentetik ürün - HCl 72 s	253,26	87,7
Sentetik ürün - NaOH 72 s	269,14	96,9		
Sentetik ürün - H ₂ O ₂ 72 s	145,21	52,3		

Tablo 4-4: Lornoksikam tanıma ve miktar tayini analitik metot validasyon bulguları.

Validasyon Parametreleri	Kabul Kriterleri	Sonuç																														
	Lornoksikamın stresli ve stresli olmayan koşullar altında pik saflık faktörü en az 990 olmalıdır.	<p>Lornoksikam için pik saflık faktörü stresli ve stresli olmayan koşullar koşullarda en az 990'dır.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Numune Adı</th> <th>Pik Saflık Faktörü</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Lornoksikam - t₀</td> <td>999,909</td> </tr> <tr> <td>Lornoksikam VIS 72 s</td> <td>999,947</td> </tr> <tr> <td>Lornoksikam - UV 72 s</td> <td>999,856</td> </tr> <tr> <td>Lornoksikam - Termal (70°C) 72s</td> <td>999,845</td> </tr> <tr> <td>Lornoksikam HCl 72 s</td> <td>999,730</td> </tr> <tr> <td>Lornoksikam - NaOH 72 s</td> <td>999,921</td> </tr> <tr> <td>Lornoksikam - H₂O₂ 72 s</td> <td>999,879</td> </tr> <tr> <td>Sentetik ürün - t₀</td> <td>999,915</td> </tr> <tr> <td>Sentetik ürün - VIS 72 s</td> <td>999,848</td> </tr> <tr> <td>Sentetik ürün - UV 72 s</td> <td>999,936</td> </tr> <tr> <td>Sentetik ürün - Termal (70°C) 72s</td> <td>999,782</td> </tr> <tr> <td>Sentetik ürün - HCl 72 s</td> <td>999,947</td> </tr> <tr> <td>Sentetik ürün - NaOH 72 s</td> <td>999,809</td> </tr> <tr> <td>Sentetik ürün - H₂O₂ 72 s</td> <td>999,712</td> </tr> </tbody> </table>	Numune Adı	Pik Saflık Faktörü	Lornoksikam - t ₀	999,909	Lornoksikam VIS 72 s	999,947	Lornoksikam - UV 72 s	999,856	Lornoksikam - Termal (70°C) 72s	999,845	Lornoksikam HCl 72 s	999,730	Lornoksikam - NaOH 72 s	999,921	Lornoksikam - H ₂ O ₂ 72 s	999,879	Sentetik ürün - t ₀	999,915	Sentetik ürün - VIS 72 s	999,848	Sentetik ürün - UV 72 s	999,936	Sentetik ürün - Termal (70°C) 72s	999,782	Sentetik ürün - HCl 72 s	999,947	Sentetik ürün - NaOH 72 s	999,809	Sentetik ürün - H ₂ O ₂ 72 s	999,712
Numune Adı	Pik Saflık Faktörü																															
Lornoksikam - t ₀	999,909																															
Lornoksikam VIS 72 s	999,947																															
Lornoksikam - UV 72 s	999,856																															
Lornoksikam - Termal (70°C) 72s	999,845																															
Lornoksikam HCl 72 s	999,730																															
Lornoksikam - NaOH 72 s	999,921																															
Lornoksikam - H ₂ O ₂ 72 s	999,879																															
Sentetik ürün - t ₀	999,915																															
Sentetik ürün - VIS 72 s	999,848																															
Sentetik ürün - UV 72 s	999,936																															
Sentetik ürün - Termal (70°C) 72s	999,782																															
Sentetik ürün - HCl 72 s	999,947																															
Sentetik ürün - NaOH 72 s	999,809																															
Sentetik ürün - H ₂ O ₂ 72 s	999,712																															
Doğrusallık	Lornoksikam için korelasyon katsayısı en az 0,999 olmalıdır. Kalıntılar rastgele dağıtılmalıdır.	<p>Kalıntılar rastgele dağılmış, doğrusal modelin uygunluğunu kanıtlamıştır</p> <p>Lornoksikam Korelasyon katsayısı = 0,99945 y-kesimi = -1,2036 eğim = 3,53595</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">Lornoksikam</th> </tr> <tr> <th>İstatiksel Parametre</th> <th>Değer</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Doğrusal regresyon eğimi</td> <td>3,5359</td> </tr> <tr> <td>Doğrusal regresyön y kesimi</td> <td>-1,2036</td> </tr> <tr> <td>Korelasyon katsayısı</td> <td>0,9995</td> </tr> </tbody> </table>	Lornoksikam		İstatiksel Parametre	Değer	Doğrusal regresyon eğimi	3,5359	Doğrusal regresyön y kesimi	-1,2036	Korelasyon katsayısı	0,9995																				
Lornoksikam																																
İstatiksel Parametre	Değer																															
Doğrusal regresyon eğimi	3,5359																															
Doğrusal regresyön y kesimi	-1,2036																															
Korelasyon katsayısı	0,9995																															

Tablo 4-4: Lornoksikam tanıma ve miktar tayini analitik metot validasyon bulguları.

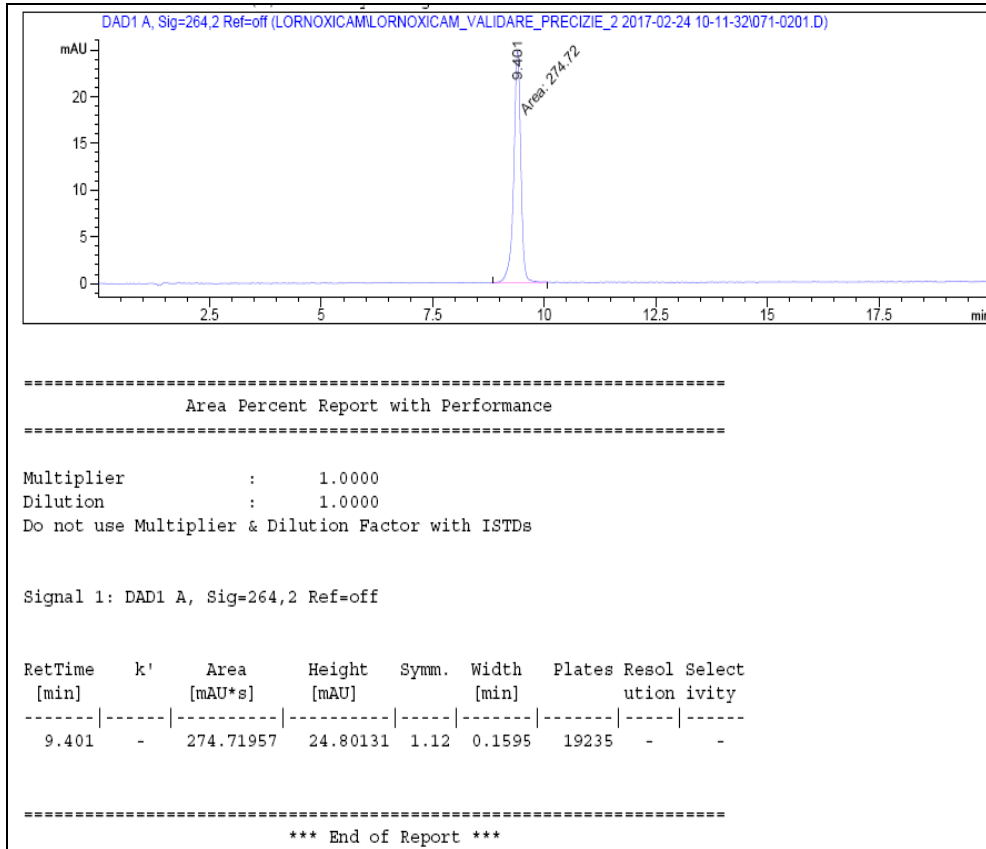
Validasyon Parametreleri	Kabul Kriterleri	Sonuç
		Artık kareler toplamı 17,4023
		 
Doğruluk	Lornoksikamın geri kazanım yüzdesi %98-%102 aralığında olmalıdır.	Lornoksikam = % 98,63
Kesinlik	Her çalışma bölümünde % lornoksikam miktar tayini için hesaplanan rölatif standart sapma	-Bölüm 1: Lornoksikam: RSD = %0,62

Tablo 4-4: Lornoksikam tanıma ve miktar tayini analitik metot validasyon bulguları.

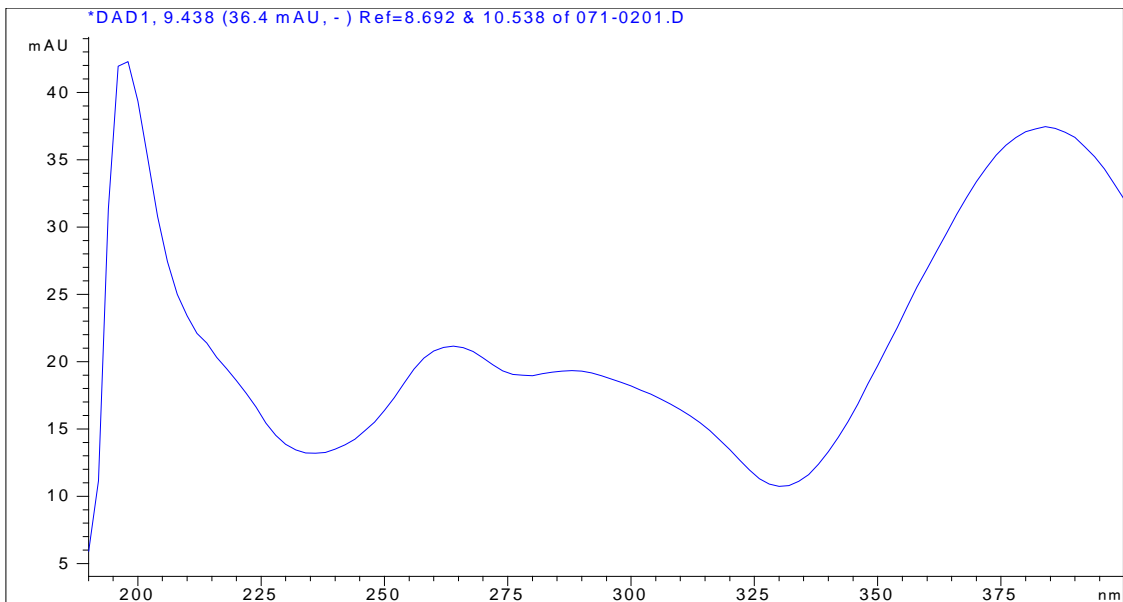
Validasyon Parametreleri	Kabul Kriterleri	Sonuç																																						
	(RSD) %2'den küçük olmalıdır.	-Bölüm 2: Lornoksikam: RSD =%0,58																																						
	Her iki bölümde, tüm çözeltiler için belirlenen lornoksikam miktar tayini için hesaplanan % RSD, %2'den küçük olmalıdır.	- Kümülatif Sonuç: Lornoksikam: RSD = %0,66																																						
Sağlamlık	Lornoksikam pik simetresi 0,8-1,5 aralığında olmalıdır Teorik plaka sayısı 10000'den büyük olmalıdır.	Lornoksikam pik simetresi 0,8-1,5 aralığındadır. Teorik plaka sayısı 10000'den büyüktür. <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Test koşulu/Referans çözelti</th> <th colspan="2">Lornoksikam</th> </tr> <tr> <th>Simetri</th> <th>Teorik plaka sayısı</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Normal koşullar</td> <td>1,13</td> <td>20071</td> </tr> <tr> <td>Akış hızı: 0.9 mL/dk</td> <td>1,14</td> <td>20227</td> </tr> <tr> <td>Akış hızı 1.1 mL/dk</td> <td>1,10</td> <td>18863</td> </tr> <tr> <td>Enjeksiyon hacmi (1uL)</td> <td>1,13</td> <td>19355</td> </tr> <tr> <td>Enjeksiyon hacmi (3uL)</td> <td>1,11</td> <td>19467</td> </tr> <tr> <td>Kolon sıcaklığı (39 °C)</td> <td>1,12</td> <td>19242</td> </tr> <tr> <td>Kolon sıcaklığı (41 °C)</td> <td>1,13</td> <td>19353</td> </tr> <tr> <td>Çözücü A pH=3,0</td> <td>0,90</td> <td>19983</td> </tr> <tr> <td>Çözücü A pH=3.2</td> <td>0,95</td> <td>20346</td> </tr> <tr> <td>Çözücü A: Çözücü B=62:38 (h/h)</td> <td>0,97</td> <td>20210</td> </tr> <tr> <td>Çözücü A:Çözücü B=64:36 (h/h)</td> <td>0,98</td> <td>20503</td> </tr> </tbody> </table>	Test koşulu/Referans çözelti	Lornoksikam		Simetri	Teorik plaka sayısı	Normal koşullar	1,13	20071	Akış hızı: 0.9 mL/dk	1,14	20227	Akış hızı 1.1 mL/dk	1,10	18863	Enjeksiyon hacmi (1uL)	1,13	19355	Enjeksiyon hacmi (3uL)	1,11	19467	Kolon sıcaklığı (39 °C)	1,12	19242	Kolon sıcaklığı (41 °C)	1,13	19353	Çözücü A pH=3,0	0,90	19983	Çözücü A pH=3.2	0,95	20346	Çözücü A: Çözücü B=62:38 (h/h)	0,97	20210	Çözücü A:Çözücü B=64:36 (h/h)	0,98	20503
Test koşulu/Referans çözelti	Lornoksikam																																							
	Simetri	Teorik plaka sayısı																																						
Normal koşullar	1,13	20071																																						
Akış hızı: 0.9 mL/dk	1,14	20227																																						
Akış hızı 1.1 mL/dk	1,10	18863																																						
Enjeksiyon hacmi (1uL)	1,13	19355																																						
Enjeksiyon hacmi (3uL)	1,11	19467																																						
Kolon sıcaklığı (39 °C)	1,12	19242																																						
Kolon sıcaklığı (41 °C)	1,13	19353																																						
Çözücü A pH=3,0	0,90	19983																																						
Çözücü A pH=3.2	0,95	20346																																						
Çözücü A: Çözücü B=62:38 (h/h)	0,97	20210																																						
Çözücü A:Çözücü B=64:36 (h/h)	0,98	20503																																						

Tablo 4-4: Lornoksikam tanıma ve miktar tayini analitik metot validasyon bulguları.

Validasyon Parametreleri	Kabul Kriterleri	Sonuç
Çözelti Stabilesi	Referans çözelti ve test çözeltisi için lornoksikam bağıl miktar tayini 24 saat sonra, % 98-%102 aralığında ise çözeltilerin stabil olduğu varsayılmaktadır. (t_0 'da elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında).	Referans çözelti ve test çözeltisi oda sıcaklığında ışıktan korunarak 24 saat süresince stabildir.



Şekil 4-2: Referans çözelti kromotogramı (Lornoksikam: RT~9.4).



Şekil 4-3: Lornoksikam pik tepe noktası.

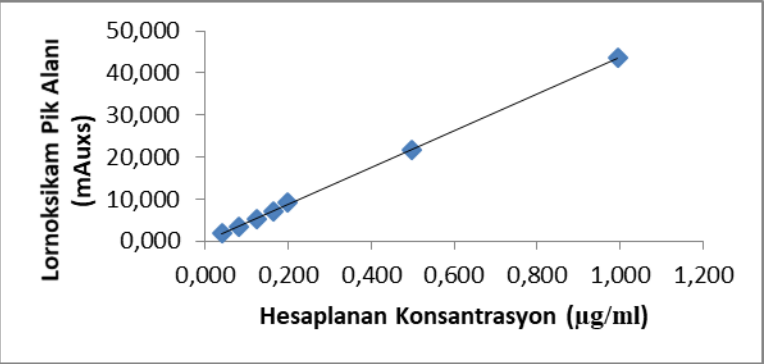
4.3.2. İlgili Bileşikler Analitik Metot Validasyon Bulguları

Lornoksikam 8 mg enjeksiyonluk liyofilize toz ürününe ait ilgili bileşikler analitik metot validasyon çalışmaları validasyon parametreleri metotta verilen kriterlere göre gerçekleştirilmiş sonuçlar Tablo 4-5'te sunulmuştur.

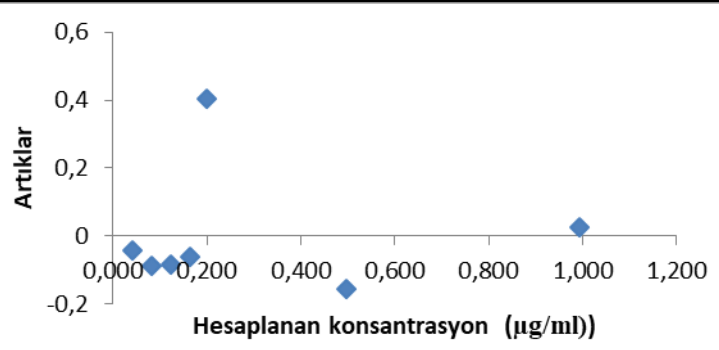
Tablo 4-5: Lornoksikam ilgili bileşikler analitik metot validasyon sonuçları.

Validasyon Parametreleri	Kabul Kriterleri	Sonuç																																
Spesifiklik	Plasebo ve çözücüye bağlı pikler,deg hem stresli hem de stresli olmayan çözeltiler için, lornoksikam pikiyle aynı alıkonma zamanında görünmemelidir. Lornoksikamın stresli ve stresli olmayan koşullar altında pik saflık faktörü en az 990 olmalıdır.	<p>Plasebo ve çözücüye bağlı pikler, hem stresli hem de stresli olmayan çözeltiler için, lornoksikam ve bozunma ürünü pikiyle aynı alıkonma zamanında görünmemiştir. Lornoksikamın stresli ve stresli olmayan koşullar altında pik saflık faktörü en az 990'dır.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Numune Adı</th> <th>Pik Saflık Faktörü</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Lornoksikam - t₀</td> <td>998,700</td> </tr> <tr> <td>Lornoksikam - VIS 72s</td> <td>999,278</td> </tr> <tr> <td>Lornoksikam - UV 72s</td> <td>999,558</td> </tr> <tr> <td>Lornoksikam - Termal (70°C) 72s</td> <td>999,366</td> </tr> <tr> <td>Lornoksikam - HCl 72s</td> <td>999,554</td> </tr> <tr> <td>Lornoksikam - NaOH 72s</td> <td>999,564</td> </tr> <tr> <td>Lornoksikam H₂O₂ 72s</td> <td>999,752</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Numune Adı</th> <th>Pik Saflık Faktörü</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Sentetik ürün - t₀</td> <td>999,259</td> </tr> <tr> <td>Sentetik ürün - VIS 72 s</td> <td>999,638</td> </tr> <tr> <td>Sentetik ürün - UV 72 s</td> <td>999,503</td> </tr> <tr> <td>Sentetik ürün - Termal (70°C) 72 s</td> <td>999,756</td> </tr> <tr> <td>Sentetik ürün - HCl 72 s</td> <td>999,638</td> </tr> <tr> <td>Sentetik ürün - NaOH 72 s</td> <td>999,646</td> </tr> <tr> <td>Sentetik ürün - H₂O₂ 72 s</td> <td>999,671</td> </tr> </tbody> </table>	Numune Adı	Pik Saflık Faktörü	Lornoksikam - t ₀	998,700	Lornoksikam - VIS 72s	999,278	Lornoksikam - UV 72s	999,558	Lornoksikam - Termal (70°C) 72s	999,366	Lornoksikam - HCl 72s	999,554	Lornoksikam - NaOH 72s	999,564	Lornoksikam H ₂ O ₂ 72s	999,752	Numune Adı	Pik Saflık Faktörü	Sentetik ürün - t ₀	999,259	Sentetik ürün - VIS 72 s	999,638	Sentetik ürün - UV 72 s	999,503	Sentetik ürün - Termal (70°C) 72 s	999,756	Sentetik ürün - HCl 72 s	999,638	Sentetik ürün - NaOH 72 s	999,646	Sentetik ürün - H ₂ O ₂ 72 s	999,671
Numune Adı	Pik Saflık Faktörü																																	
Lornoksikam - t ₀	998,700																																	
Lornoksikam - VIS 72s	999,278																																	
Lornoksikam - UV 72s	999,558																																	
Lornoksikam - Termal (70°C) 72s	999,366																																	
Lornoksikam - HCl 72s	999,554																																	
Lornoksikam - NaOH 72s	999,564																																	
Lornoksikam H ₂ O ₂ 72s	999,752																																	
Numune Adı	Pik Saflık Faktörü																																	
Sentetik ürün - t ₀	999,259																																	
Sentetik ürün - VIS 72 s	999,638																																	
Sentetik ürün - UV 72 s	999,503																																	
Sentetik ürün - Termal (70°C) 72 s	999,756																																	
Sentetik ürün - HCl 72 s	999,638																																	
Sentetik ürün - NaOH 72 s	999,646																																	
Sentetik ürün - H ₂ O ₂ 72 s	999,671																																	

Tablo 4-5: Lornoksikam ilgili bileşikler analitik metot validasyon sonuçları.

Validasyon Parametreleri	Kabul Kriterleri	Sonuç												
Doğrusallık	Korelasyon katsayısı en az 0,999 olmalıdır. Kalıntılar rastgele dağılmış olmalı, belirgin bir model görülmemelidir.	<p>Kalıntılar rastgele dağılmış, doğrusal modelin uygunluğunu kanıtlamıştır Korelasyon katsayısı = 0,9998 y-kesimi= 0,0173</p> <p>eğim = 43,7232</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">Lornoksikam</th> </tr> <tr> <th>İstatistiksel Parametre</th> <th>Değer</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Doğrusal regresyon eğimi</td> <td>43,723</td> </tr> <tr> <td>Doğrusal regresyon y kesimi</td> <td>0,0173</td> </tr> <tr> <td>Korelasyon katsayısı</td> <td>0,9998</td> </tr> <tr> <td>Artık kareler toplamı</td> <td>0,2073</td> </tr> </tbody> </table> 	Lornoksikam		İstatistiksel Parametre	Değer	Doğrusal regresyon eğimi	43,723	Doğrusal regresyon y kesimi	0,0173	Korelasyon katsayısı	0,9998	Artık kareler toplamı	0,2073
Lornoksikam														
İstatistiksel Parametre	Değer													
Doğrusal regresyon eğimi	43,723													
Doğrusal regresyon y kesimi	0,0173													
Korelasyon katsayısı	0,9998													
Artık kareler toplamı	0,2073													

Tablo 4-5: Lornoksikam ilgili bileşikler analitik metot validasyon sonuçları.

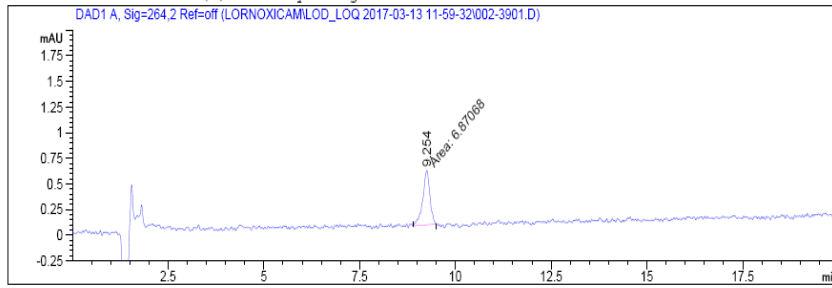
Validasyon Parametreleri	Kabul Kriterleri	Sonuç																
																		
LOD ve LOQ	<p>Önerilen LOQ değeri, uygulanabilir aralığının en düşük sınırına eşit veya daha küçük olmalıdır (% 0,050). Önerilen LOD değerinde, lornoksikama bağlı pikler görünür olmalıdır. Metot, önerilen LOQ değerinde kesinliğini sağlamalıdır. Lornoksikam geri kazanımı için hesaplanan %RSD, tüm çözeltiler için 10'dan küçük olmalıdır.</p>	<p>Metot önerilen LOQ değerinde kesinliği sağlamış, % RSD değeri 10'dan küçüktür. Önerilen LOD değerinde (%0,025) lornoksikama bağlı pikler görünür. Metot lornoksikamın belirlenmesi için uygun bir LOD ve LOQ değerine sahiptir.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Çözelti LOD</th> <th>Önerilen LOD Konsantrasyonu (µg/ml)</th> <th>Alan (mAUxs)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>LOD – 0,025% - 1</td> <td rowspan="6">0,02</td> <td>0,86</td> </tr> <tr> <td>LOD – 0,025% - 2</td> <td>0,75</td> </tr> <tr> <td>LOD – 0,025% - 3</td> <td>0,69</td> </tr> <tr> <td>LOD – 0,025% - 4</td> <td>0,97</td> </tr> <tr> <td>LOD – 0,025% - 5</td> <td>0,89</td> </tr> <tr> <td>LOD – 0,025% - 6</td> <td>0,73</td> </tr> </tbody> </table>	Çözelti LOD	Önerilen LOD Konsantrasyonu (µg/ml)	Alan (mAUxs)	LOD – 0,025% - 1	0,02	0,86	LOD – 0,025% - 2	0,75	LOD – 0,025% - 3	0,69	LOD – 0,025% - 4	0,97	LOD – 0,025% - 5	0,89	LOD – 0,025% - 6	0,73
Çözelti LOD	Önerilen LOD Konsantrasyonu (µg/ml)	Alan (mAUxs)																
LOD – 0,025% - 1	0,02	0,86																
LOD – 0,025% - 2		0,75																
LOD – 0,025% - 3		0,69																
LOD – 0,025% - 4		0,97																
LOD – 0,025% - 5		0,89																
LOD – 0,025% - 6		0,73																

Tablo 4-5: Lornoksikam ilgili bileşikler analitik metot validasyon sonuçları.

Validasyon Parametreleri	Kabul Kriterleri	Sonuç							
		Çözeltili LOQ	Önerilen LOQ Konsantrasyonu (µg/ml)	Pik Yüksekliği (mAU)	Gürültü (mAU)	S/N Oranı	Belirlenen Alan (mAUxs)	Ortalama Belirlenen Alan (mAUxs)	RSD (%)
		LOQ – 0,050% -1	0,04	0,15	0,03	10,00	1,58	1,63	6,13
		LOQ – 0,050% -2		0,14		9,33	1,74		
		LOQ – 0,050% -3		0,13		8,67	1,70		
		LOQ – 0,050% -4		0,13		8,67	1,71		
		LOQ – 0,050% -5		0,13		8,67	1,59		
		LOQ – 0,050% -6		0,14		9,33	1,48		
		LOQ Teorik Değer: LOQ (%) = %0,050 LOQ Deneysel Değer: LOQ (%) = %0,0505							
Doğruluk	Ortalama geri kazanım %90-%110 aralığı içinde olmalıdır.	Lornoksikam: = %103,78							
Kesinlik	28 çözeltinin tümü için lornoksikamın geri kazanımı için hesaplanan rölatif standart sapma % (RSD) her gün için 10'dan küçük olmalıdır. Her iki günde tüm çözeltiler için lornoksikam gerikazanım için hesaplanan % RSD, 10'dan	-Bölüm 1: RSD = %2,27 -Bölüm 2: RSD = %2,17 - Kümülatif Sonuç RSD = %2,26							
Sağlamlık	Lornoksikam pik simetresi 0,8-1,5 aralığında olmalıdır Teorik plaka sayısı 10000'den büyük olmalıdır.	Lornoksikam pik simetresi 0,8-1,5 aralığındadır. Teorik plaka sayısı 10000'den büyüktür.							

Tablo 4-5: Lornoksikam ilgili bileşikler analitik metot validasyon sonuçları.

Validasyon Parametreleri	Kabul Kriterleri	Sonuç				
		Test koşulları/Referans çözelti	Lornoksikam			
			Simetri	Teorik Plaka Sayısı		
		Normal Koşullar	1,11	19133		
		Akış hızı: 0.9 mL/dk	1,02	17839		
		Akış hızı: 1.1 mL/dk	0,93	13172		
		Enjeksiyon hacmi (24 µl)	0,99	17213		
		Enjeksiyon hacmi (26 µl)	1,12	15569		
		Kolon Sıcaklığı (39° C)	1,20	16701		
		Kolon Sıcaklığı (41° C)	1,03	19146		
		Çözücü A pH=3,0	0,97	17736		
		Çözücü A pH=3,2	1,01	19968		
		Çözücü A: Çözücü B=62:38 (h/h)	1,17	19632		
Çözücü A:Çözücü B=64:36 (h/h)	0,98	18576				
Çözelti Stabilitesi	Referans çözelti ve test çözeltisi için lornoksikam bağlı miktar tayini 24 saat sonra, % 90-%110 aralığında ise çözeltilerin stabil olduğu varsayılmaktadır. (t ₀ 'da elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında). Referans çözeltideki lornoksikam pik simetrisi 0,8-1,5 aralığında olmalıdır. Teorik plaka sayısı en az 10000 olmalıdır.	Referans çözelti ve test çözeltisi oda sıcaklığında ışıktan korunarak 24 saat süresince stabildir. Referans çözeltideli lornoksikam pik simetresi 0,8-1,5 aralığındadır. Teorik plaka sayısı 10000'den büyüktür.				
		Name	Pik Alanı (mAUxs)	RSD (%)	Lornoksikam Pik Simetri	Teorik Plaka Sayısı
		Ref - t₀	7,049	1,09	0,95	19733
			6,909		1,02	18505
			6,928		1,00	20022
		Ref - 24s	6,860	1,68	1,20	18939
			6,904		1,08	20668
7,080	1,14		21803			



=====
 Area Percent Report with Performance
 =====

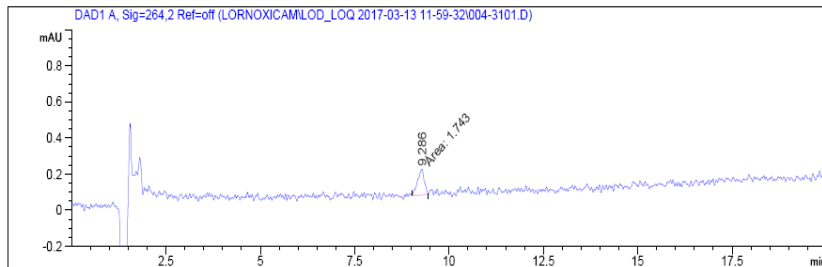
Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000
 Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: DAD1 A, Sig=264,2 Ref=off

RetTime [min]	k'	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Symm.	Width [min]	Plates	Resol	Select ution ivity
9.254	-	6.87068	5.32040e-1	1.29	0.1844	13942	-	-

=====
 *** End of Report ***

Şekil 4-4: Referans çözelti kromotogramı (Lornoksikam: RT~9.2).



=====
 Area Percent Report with Performance
 =====

Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000
 Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: DAD1 A, Sig=264,2 Ref=off

RetTime [min]	k'	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Symm.	Width [min]	Plates	Resol	Select ution ivity
9.286	-	1.74300	1.42256e-1	1.87	0.1911	13063	-	-

=====
 *** End of Report ***

Şekil 4-5: Sinyal/gürültü çözeltisi raporu kromotogramı (Lornoksikam: RT ~ 9,2).

4.4. Liyofilizasyon Sonrası Bitmiş Üründe Yapılan Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Testlere Ait Bulgular

Liyofilizasyon prosesi sonrası ürün kalitesine kritik etkisi olan fiziksel ve kimyasal analizler; kek görünüşü, sulandırılmış çözeltilerin rengi ve berraklığı, toz kekin su içeriği, tanıma ve miktar tayini, impürite, dozaj tekdüzeliği, sulandırılmış çözelti gözle görülmeyen partikül sayısı, sulandırma süresi testleri ile ürün kalitesine etki eden mikrobiyolojik kontroller; sterilite ve bakteriyel endotoksin analizleri yapılmıştır. Ayrıca ürün kalitesine kritik etkisi olmayan fakat bitmiş ürün spesifikasyonunda yer alan sulandırılmış çözeltilerin pH kontrolü de yapılmıştır.

Liyofilizasyon prosesi sonrası elde edilen ürünlerin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri madde 3.2.12’de belirtilen yöntemler doğrultusunda yapılmıştır.

D1 çalışmasında elde edilen liyofilize toz ürünün görünüş kontrolünde, üründe kekleşme görülmesi nedeniyle ürün spesifikasyonunda belirtilen diğer analizler uygulanmamıştır. D1 - D6 çalışmalarında elde edilen liyofilize toz bitmiş ürününe uygulanan testlere ait bulgular Tablo 4-6’da belirtilmiştir.

Tablo 4-6: Bitmiş ürüne uygulanan testlerden elde edilen bulgular.

Spesifikasyon		D1	D2	D3	D4	D5	D6
Görünüş	Silindir şeklinde sarı toz kek	Uygun değil	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Sulandırılmış Çözeltinin Görünüşü	Görünür partikül ve çökelti içermeyen sarı sıvı	Uygun değil	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Su İçeriği	En fazla % 3	1,80	3,10	2,64	1,6	1,5	1,5
Sulandırılmış Çözeltinin pH'ı	8,0 - 9,5	-	8,6	8,7	9,0	9,1	9,1
Sulandırma Süresi (2 ml WFI ile)	En fazla 60 saniye	-	12	14	8	10	9
Dozaj Tekdüzeligi	< 15	-	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15
Sulandırılmış Çözelti Partikül Sayısı/flakon	≥ 10 µm en fazla 6000 ≥ 25 µm en fazla 600	-	295,60 14,27	270,67 5,33	108,93 2,09	141,68 19,33	243,33 5,87
Tanıma	$t_{R,Test} \in (t_{R,Ref} \pm 0,5)$ dakika	-	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
	Test ve referans çözeltisi lornoksikam piki spektrumları benzer olmalıdır.	-	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Miktar Tayini	7,60-8,40 mg/flakon	-	8,37	8,45	7,92	8,0	7,97
İlgili Bileşikler	Tanımlanamayan herhangi bir impurite: En fazla % 0,2	-	0,11	0,13	İ.L.	İ.L.	İ.L.
	Toplam impurite: En fazla % 2,0	-	0,26	0,29	0,00	0,05	0,00
Sterilite	Steril	-	Steril	Steril	Steril	Steril	Steril
Bakteriyel Endotoksin	En fazla 300 EU/flakon	-	<300	<300	<300	<300	<300

4.5. Yapay Zeka Programları Kullanılarak Elde Edilen Bulgular

Formülasyon çalışmaları ile elde edilen deneysel veriler FormRules, liyofilizasyon prosesi ile elde edilen deneysel veriler INForm ve FormRules yapay zeka programlarında değerlendirilmiştir.

4.5.1. Formülasyon Verilerinin Nöro Bulanık Mantık Kullanılarak Değerlendirilmesi

Deneysel verilerin yapay zeka programları ile yapılan değerlendirmeleri sırasında veri girişi Tablo 4-7’de verildiği gibi yapılmıştır. Sayısal olmayan veriler programa 1 ve 0 değerleri olarak girilmiştir.

Tablo 4-7: FormRules programında kullanılan formülasyon veri tablosu.

Girdiler								Çıktılar			
Formülasyon	Lornoksikam (g)	Trometamol (g)	Disodyum EDTA (g)	Mannitol (g)	Enjeksiyonluk Su (ml)	Karıştırma Sıcaklığı (°C)	Çözünme Ortamı	Çözünürlük	Görünüş ve Renk	pH	Ozmolalite (mOsm/kg)
F1	0,020	0,600	0,011	5,010	100	60	1	1	1	8,7	444
F2	0,400	0,600	0,120	3,530	100	60	1	1	1	8,7	296
F3	0,266	0,400	0,013	-	100	23	0	0	0	-	-
F4	0,404	1,103	0,018	5,000	100	23	0	1	1	8,9	385
F5	0,400	0,600	0,011	5,000	100	60	1	1	1	8,6	351

Çözünme Ortamı: 1=Plasebo Çözeltisi 0= Trometamol Çözeltisi

Çözünürlük: 1=Çözünür 0=Çözünmez

Görünüş ve Renk: 1=Uygun 0=Uygun değil

Verileri değerlendirirken nöro-fuzzy modelin eğitiminden önce eğitim parametreleri seçilmiştir. Aynı veri seti için tüm model tipleri tek tek denenmiştir. En yüksek R² değerlerini veren LOOCV (Leave One Out Cross Validation) eğitim modeli olarak seçilmiştir. Belirlenen parametrelere göre yapılan eğitim sonuçları Tablo 4-8’de verilmiştir. Çözünürlük, görünüş ve berraklık özellikleri sayısal veriler olmadığı için

modelleme başarısız olmuştur. R^2 değerleri %70 üzerinde olan pH ve ozmolalite özellikleri değerlendirilerek parametre ilişkileri incelenmiştir.

Tablo 4-8: Bulanık mantık model eğitim sonuçları.

Uyum Tipi	Özellik	R^2 (%)
LOOCV (Leave One Out Cross Validation)	<i>Çözünürlük</i>	-
	<i>Görünüş ve Renk</i>	-
	<i>pH</i>	89,471
	<i>Ozmolalite</i>	94,983

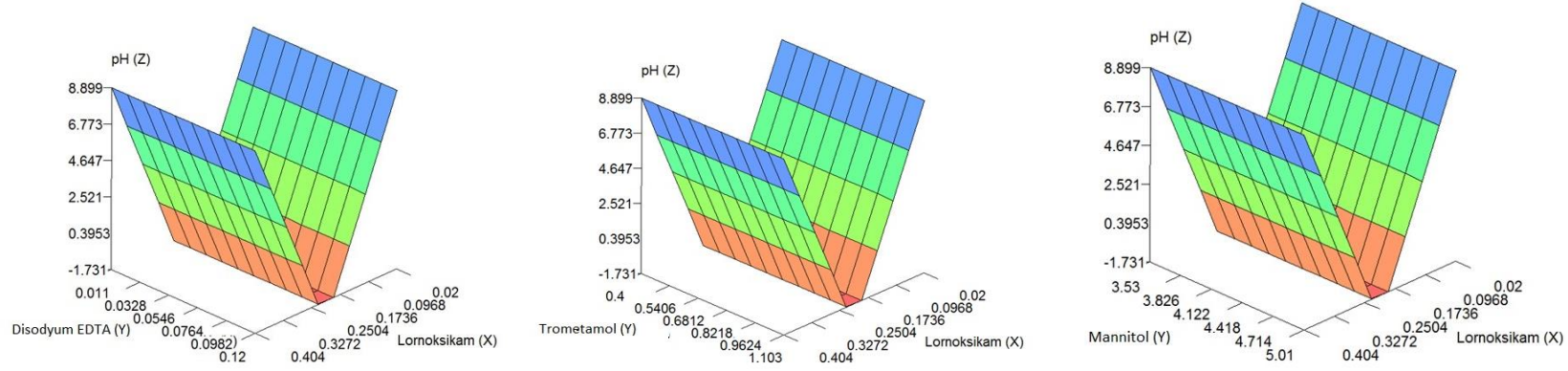
Bulanık mantık modeli ile belirlenen formülasyon değişkenlerinin ürün kalite özellikleri arasındaki ilişkiyi açıklayan kurallar Tablo 4-9’da verilmektedir.

Tablo 4-9: Nöro-bulanık mantık modeline göre belirlenen kurallar.

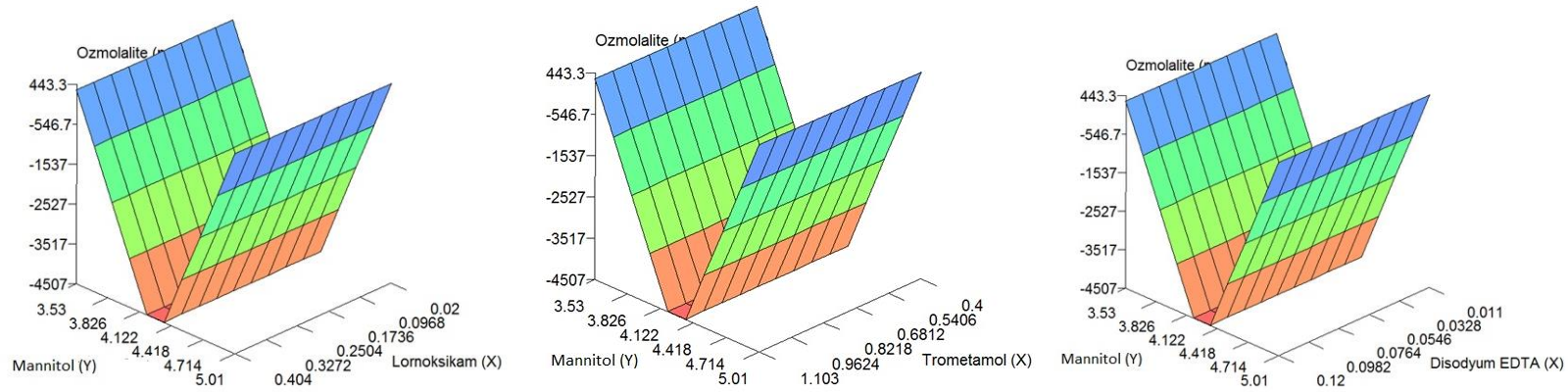
pH Özelliği İçin Kurallar		
Alt model: 1		
Eğer Lornoksikam miktarı DÜŞÜK ise	pH DÜŞÜK tür	(0,67)*
Eğer Lornoksikam miktarı ORTA ise	pH DÜŞÜK tür	(1,00)
Eğer Lornoksikam miktarı YÜKSEK ise	pH YÜKSEK tür	(1,00)
Ozmolalite İçin Kurallar		
Alt model: 1		
Eğer Mannitol miktarı DÜŞÜK ise	Ozmolalite DÜŞÜK tür	(1,00)
Eğer Mannitol miktarı ORTA ise	Ozmolalite DÜŞÜK tür	(1,00)
Eğer Mannitol miktarı YÜKSEK ise	Ozmolalite YÜKSEK tür	(1,00)

*Parantez içindeki değerler güvenilirlik düzeyleridir.

Bulanık mantık değerlendirmesi ile girdi parametrelerinin çıktı değişkenleri ile ilişkileri program tarafından verilen üç boyutlu grafiklerle (Şekil 4-6, Şekil 4-7) incelenmiştir.



Şekil 4-6: Girdi parametreleri pH ilişkisi.



Şekil 4-7: Girdi parametreleri ozmolalite ilişkisi.

4.5.2. Liyofilizasyon Proses Verilerinin Yapay Sinir Ağı (ANN) İle Değerlendirilmesi

Liyofilizasyon prosesi deneysel verilerin yapay zeka programları ile yapılan değerlendirmeleri sırasında girdi değerlerinin veri girişi Tablo 4-10'da, çıktı değerlerinin veri girişi Tablo 4-11'deki gibi yapılmıştır.

InForm ANN yapay sinir ağı metodu ile yapılan model eğitim sonuçları Tablo 4-12'de belirtilmiştir.

Program tarafından modelleme yapıldıktan sonra en uygun parametreleri saptamak için optimizasyon yapılmıştır. Değerlendirme sonucu programın önerdiği optimum liyofilizasyon proses parametreleri ve tahmini çıktı değerleri Tablo 4-13'te verilmiştir.

Yapay sinir ağı değerlendirmesi ile kritik proses parametrelerinin ürünün kritik kalite özelliklerine etkisi program tarafından verilen üç boyutlu grafiklerle (Şekil 4-8, Şekil 4-12) incelenmiştir.

Tablo 4-10: InForm değerlendirme parametreleri girdi değerleri.

Girdiler											
Deneme	Ürün Miktarı	Ön Şartlandırma	Birincil Kurutma Sıcaklığı (°C)	Birincil Kurutma Hazne Basıncı (µbar)	İkincil Kurutma Sıcaklığı (°C)	İkincil Kurutma Oranı (°C/dakika)	Dondurma Oranı (°C/dakika)	Dondurma süresi (dakika)	Ön şartlandırma süresi (dakika)	Birincil Kurutma Süresi (dakika)	İkincil Kurutma Süresi (dakika)
D1	300	1	-27	150	25	0,3	0,5	550	180	4560	1980
D2	660	0	-27	150	30	0,5	0,5	490	-	5460	1920
D3	660	0	-28	110	30	0,5	0,3	730	-	5460	1920
D4	750	0	-30	110	30	0,5	0,3	730	-	5460	1920
D5	300	1	-26	150	20	0,1	0,5	660	180	3360	960
D6	300	1	-26	150	20	0,1	0,5	660	180	3360	960

Ön Şartlandırma: 1=Uygulandı 0= Uygulanmadı

Tablo 4-11: InForm değerlendirme parametreleri çıktı değerleri.

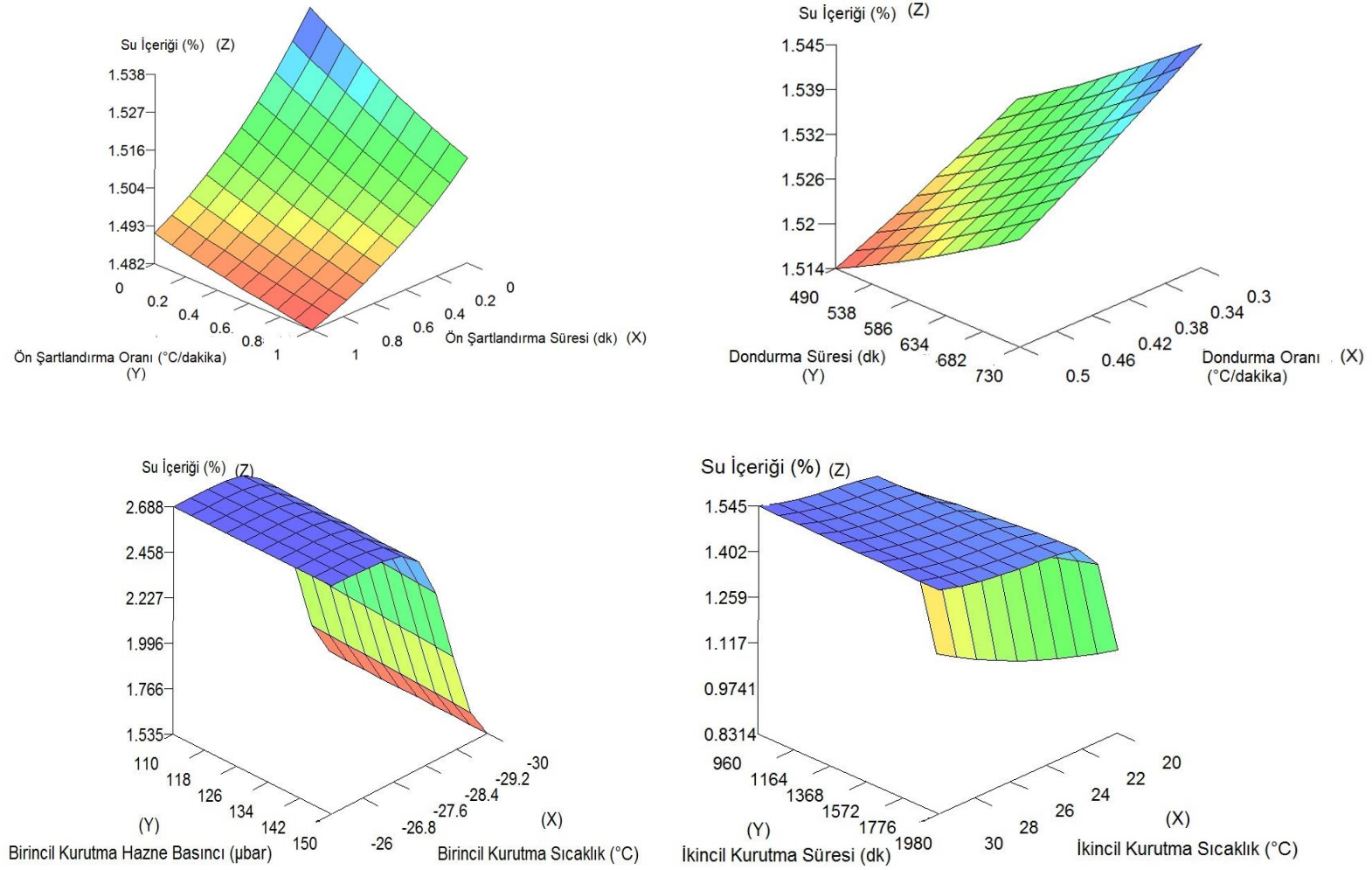
Çıktılar								
Deneme	Su İçeriği (%)	Sulandırılmış Çözeltinin pH'ı	Sulandırma Süresi (saniye)	Sulandırılmış Çözelti Partikül Sayısı/flakon $\geq 10 \mu\text{m}$	Sulandırılmış Çözelti Partikül Sayısı/flakon $\geq 25 \mu\text{m}$	Miktar Tayini (mg/flakon)	Tanımlanamayan Herhangi Bir İmpurite	Toplam İmpurite
D1	1,8	-	-	-	-	-	-	-
D2	3,1	8,6	12	295,6	14,27	8,37	0,11	0,26
D3	2,64	8,7	14	270,67	5,33	8,45	0,13	0,29
D4	1,6	9	8	108,93	2,09	7,92	0	0
D5	1,5	9,1	10	141,68	19,33	8	0	0,05
D6	1,5	9,1	9	243,33	5,87	7,97	0	0

Tablo 4-12: Yapay sinir ağı model eğitim sonuçları.

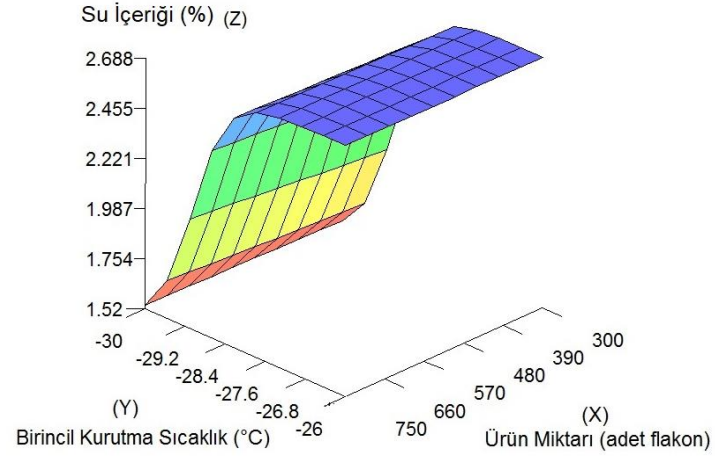
Özellik	R² (%)
Su İçeriği (%)	99,87
Sulandırılmış Çözeltinin pH'ı	99,83
Sulandırma Süresi (saniye)	99,72
Sulandırılmış Çözelti Partikül Sayısı/flakon $\geq 10 \mu\text{m}$	99,30
Sulandırılmış Çözelti Partikül Sayısı/flakon $\geq 25 \mu\text{m}$	99,06
Miktar Tayini (mg/flakon)	99,78
Tanımlanamayan Herhangi Bir İmpurite	99,99
Toplam İmpurite	99,71

Tablo 4-13: ANN modeli tarafından belirlenen optimum proses değişkenleri ile kritik kalite özelliklerinin tahmini değerleri.

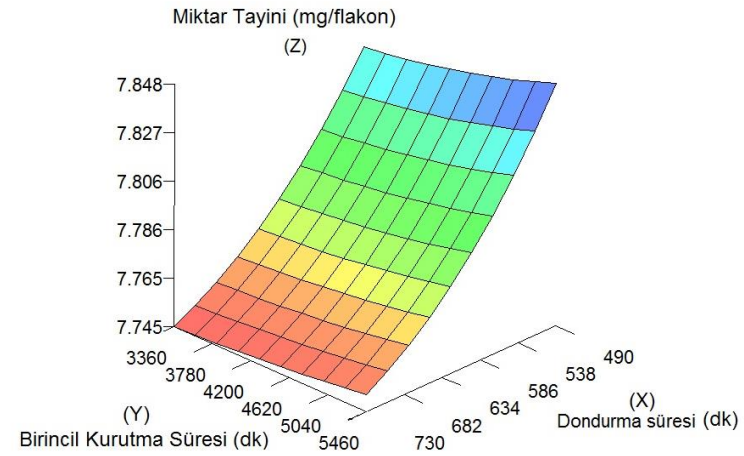
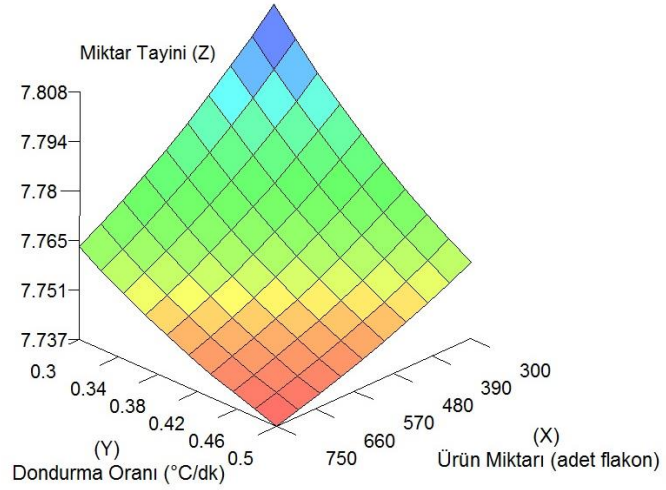
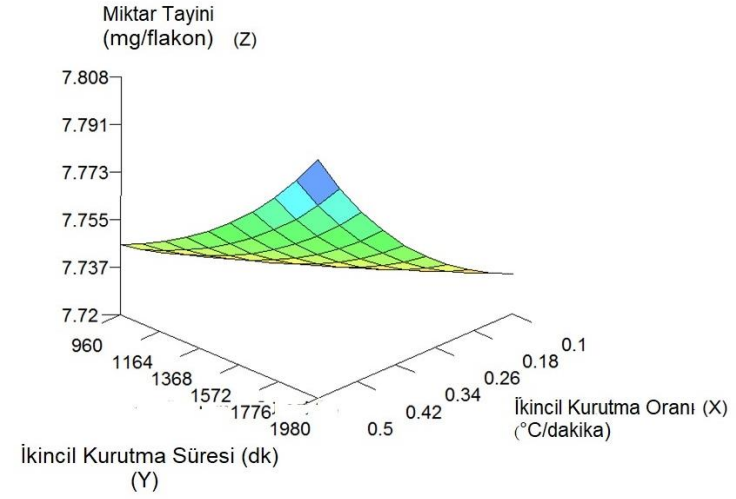
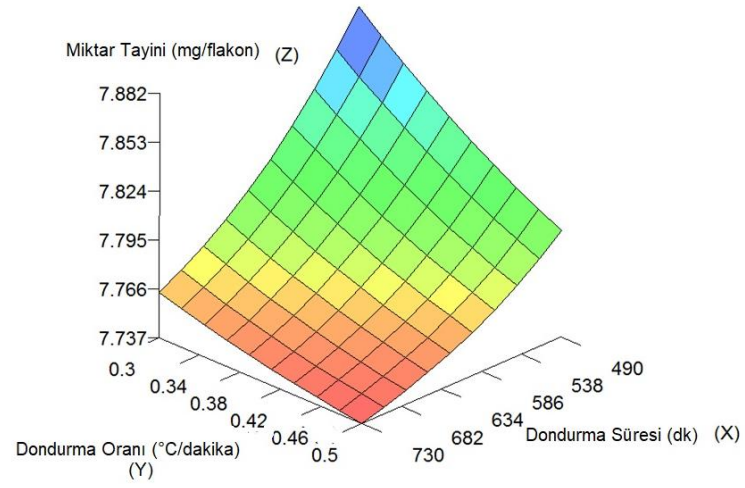
Optimum Proses Değişkenleri										
Ürün Miktarı (adet)	Ön Şartlandırma	Birincil Kurutma Sıcaklığı (°C)	Birincil Kurutma Hazne Basıncı (µbar)	İkincil Kurutma Sıcaklığı (°C)	İkincil Kurutma Oranı (°C/dakika)	Dondurma Oranı (°C/dakika)	Dondurma süresi (dk)	Ön şartlandırma süresi (dk)	Birincil Kurutma Süresi (dk)	İkincil Kurutma Süresi (dk)
750	0 (Yok)	-30	139	30	0,4	0,4	730	0	5342	1369
Tahmini Çıktı Değerleri										
Su İçeriği (%)	Sulandırılmış Çözeltinin pH'ı	Sulandırma Süresi (sn)	Sulandırılmış Çözelti Partikül Sayısı/flakon $\geq 10 \mu\text{m}$	Sulandırılmış Çözelti Partikül Sayısı/flakon $\geq 25 \mu\text{m}$	Miktar Tayini (mg/flakon)	Tanımlanamayan Herhangi Bir İmpurite	Toplam İmpurite			
1,53	9	7	109,21	0,45	7,7510	0	0.0004			



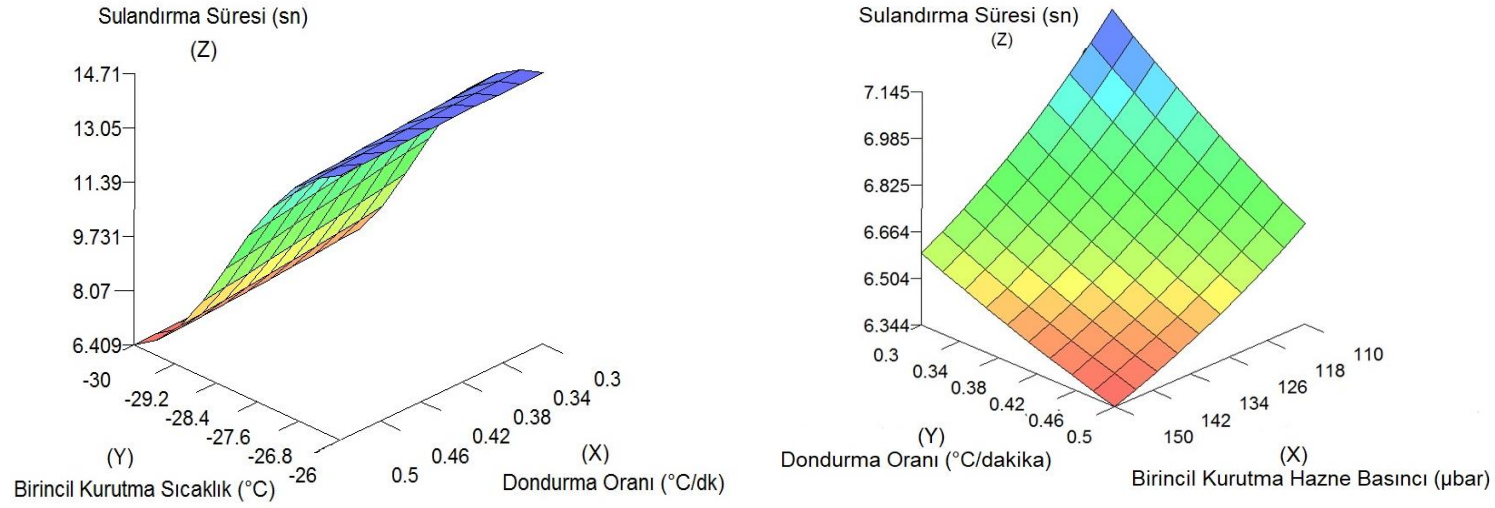
Şekil 4-8: Lyofilizasyon kritik proses parametrelerinin su içeriğine etkisi.



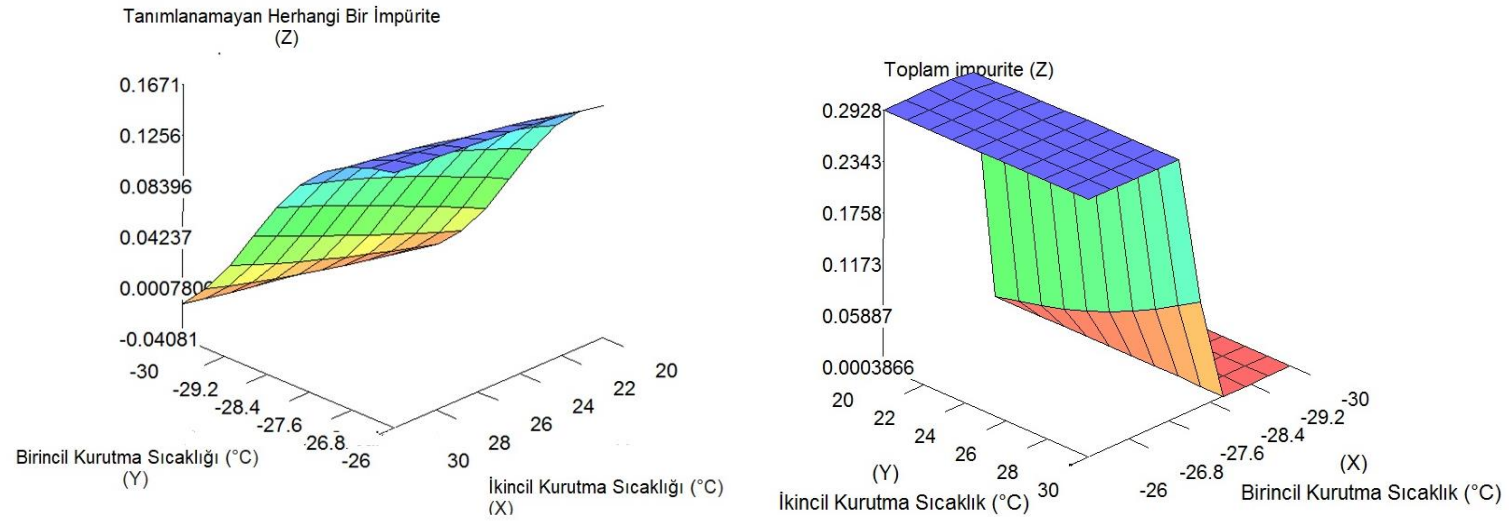
Şekil 4-9: Liyofilizasyon kritik proses parametrelerinin su içeriğine etkisi.



Şekil 4-10: Liyofilizasyon kritik proses parametrelerinin miktar tayinine etkisi.



Şekil 4-11: Liyofilizasyon kritik proses parametrelerinin sulandırma süresine etkisi



Şekil 4-12: Liyofilizasyon kritik proses parametrelerinin impüriteye etkisi.

5. TARTIŞMA

Lornoksikam klasik oksikamlar grubuna dahil, analjezik ve antipiretik etkileri olan non-steroid antienflamatuvar bir ajandır ve hafif ve orta şiddetli ağrıların tedavisinde kullanılmaktadır (1,49). Parenteral uygulama sonrası lornoksikam orta ila şiddetli ağrıların tedavisi için opioid analjeziklere göre daha iyi tolere edilmektedir ve artrit ile ağrılı ve iltihaplı hastalıkların tedavisinde diğer steroid olmayan antienflamatuvar ilaçlara alternatif olarak sunulmaktadır (49).

Lornoksikamın film kaplı tablet, hızlı salımlı film kaplı tablet, uzatılmış salımlı film kaplı tablet, efervesan tablet, ağızda dağılan tablet, oral liyofilize süspansiyon, liyofilize enjeksiyonluk toz dozaj formları bulunmaktadır. H. Yassin ve arkadaşlarının yaptığı lornoksikam içeren çift katmanlı uzatılmış salımlı tablet tasarımı ve *in vitro* değerlendirmesi çalışmasında, çift katmanlı tablet siklodekstrin (hızlı salımlı katman) ve ksantan gum (uzatılmış salımlı katman) kombinasyonu olarak tasarlanmıştır. Hızlı salımlı tablet formülasyonunda lornoksikam ve siklodekstrinin karışımı iki farklı yöntem; dondurarak kurutma yöntemi ve tablet hamuru yöntemiyle hazırlanmış ve hazırlanan toz formülasyon direkt baskı yöntemiyle basılmıştır. Dondurarak kurutma yöntemiyle hazırlanan tabletlerin çözünme verimliliğinin tablet hamuru yöntemiyle hazırlanan tabletlere göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir (67).

Bu çalışmanın amacı Lornoksikam içeren, dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemi ile üretilecek, uygun kalite özelliklerine sahip bir enjeksiyonluk liyofilize toz formülasyonunun "Tasarım ile Kalite (QbD)" yaklaşımı çerçevesinde yapay zeka programlarının yardımı ile geliştirilmesidir.

QbD ile ilaçların farmasötik kalitesi, formülasyon ve proses değişkenlerinin anlaşılması ve kontrolüyle sağlanır. QbD'nin sağlanması için ise "Tasarım Alanı" oluşturulur. Tasarım Alanı'nın oluşturulması için ilk olarak deney tasarımı (Design of Experiment - DoE) yapılmalıdır. Deney tasarımı oluşturmak için, hedef ürün kalite profili (Quality Target Product Profile - QTPP), kritik kalite özellikleri (Critical Quality Attributes - CQAs) ve kritik proses parametrelerinin (Critical Proses Parameters - CPPs) belirlenmesi gerekir.

Çalışmada; hedef ürün kalite profili, kritik kalite özellikleri, kritik kalite özelliklerini etkileyen formülasyon değişkenleri ve kritik proses parametrelerinin belirlenmesi için ICH Q8 ve ICH Q9 (14,53) doğrultusunda risk bazlı çalışma gerçekleştirilerek “Etki ve Tepki Analizi”, risk değerlendirme yöntemi olarak kullanılmıştır (Tablo 3-1 – Tablo 3-8). Gerçekleştirilen risk değerlendirmesine göre kek görünüşü, toz kekin su içeriği, sulandırılmış çözeltinin rengi ve berraklığı, sulandırma süresi, tanıma ve miktar tayini, impürite, dozaj tekdüzeliği, sulandırılmış çözelti gözle görülemeyen partikül sayısı, sterilite ve bakteriyel endotoksin kritik kalite özellikleri olarak belirlenmiştir. Kritik proses parametresi olarak; dondurma sıcaklığı ve oranı, ön şartlandırma sıcaklığı ve süresi, birincil kurutma sıcaklığı, oranı, süresi ve birincil kurutma hazne basıncı, ikincil kurutma sıcaklığı, oranı ve süresi belirlenmiştir. Kritik kalite özelliklerini etkileyen formülasyon bileşenleri ise yardımcı madde konsantrasyonu, bileşenlerin eklenme sırası, çözelti hazırlama sıcaklığı, çözünürlük ve pH olarak belirlenmiştir.

Çalışma, lornoksikam 8 mg/flakon enjeksiyonluk liyofilize toz dozaj formunun geliştirilmesi için yapılmıştır. Çalışmada; dolgu maddesi olarak Mannitol, çözünürlük artırıcı olarak Disodyum EDTA, tamponlayıcı ajan olarak Trometamol yardımcı maddeleri kullanılmıştır. Enjeksiyonluk su, hem bulk çözelti hazırlanmasında çözünme ortamı olarak hem de liyofilize toz ürün sulandırma ortamı (2 mL) olarak kullanılmıştır.

Ön formülasyon çalışmaları, referans ürün Xefo 8 mg enjeksiyonluk liyofilize toz (Nycomed /Avusturya GmbH) formülasyonunun deformülasyonu ve analizi sonucunda elde edilen bulgulara dayanarak gerçekleştirilmiştir. Ön formülasyon çalışmalarında etkin madde çözünürlüğünü gözlemek için çözelti hazırlama sıcaklıkları, yardımcı madde konsantrasyonu, yardımcı madde ekleme sırası gibi faktörler değiştirilerek beş farklı (F1 - F5) formülasyon denemesi yapılmıştır. Lornoksikam etkin maddesinin oda sıcaklığında hazırlanan plasebo çözeltilerinde çözünmediği, etkin maddenin 60°C’de hazırlanan plasebo çözeltisinde çözüldürülebildiği gözlenmiştir. Formülasyonda dolgu maddesi olarak kullanılan mannitol’ün konsantrasyonun düşürülmesinin (F1 %4,742 - F2 %3,373) oda sıcaklığında lornoksikam çözünürlüğüne ve ozmolaliteye etkisi değerlendirilmiştir. Mannitolün F2 formülasyonunda oda sıcaklığında çözünürlüğe etkisinin olmadığı,

ancak ozmolaliteyi düşürdüğü gözlemlenmiştir. Yine, formülasyonda tamponlayıcı ajan olarak kullanılan trometamolün konsantrasyonun artırılmasının (F3 %0,397- F4 %1,035) oda sıcaklığında çözünürlüğe etkisi değerlendirilmiştir. F3 formülasyonunda herhangi bir çözünme görülmemiş, F4'te ise artan trometamol konsantrasyonu ile birlikte lornoksikamın çözünürlüğünün arttığı gözlemlenmiştir. Yardımcı madde ekleme sırası faktörünün etkisini değerlendirmek için yapılan çalışmada ise, lornoksikam, F1, F2 ve F5 formülasyonlarında mannitol, trometamol ve disodyum EDTA ile oda sıcaklığında hazırlanan plasebo çözeltisine eklenmiş, F3 ve F4 formülasyonlarında ise etkin madde oda sıcaklığında hazırlanan trometamol çözeltisine eklenerek daha sonra diğer yardımcı maddeler ilave edilmiştir. F1, F2, F3 ve F5'te oda sıcaklığında etkin madde çözünmemiş, F4'te ise trometamol çözelti konsantrasyonuna bağlı olarak çözünme gözlemlenmiştir.

Ön formülasyon çalışmalarında elde edilen sonuçlar doğrultusunda deneysel bilgi alanı oluşturulmuştur. Deneysel bilgi bağımsız girdi değişkenleri (girdi bileşenlerinin miktarı, karıştırma sıcaklığı, çözünme ortamı) ile çıktı özellikleri (çözünürlük, pH, görünüş ve renk, ozmolalite) arasındaki ilişkileri anlamak için öncelikle FormRules (Nöro- bulanık mantık) programında değerlendirilmiştir. Ön formülasyon verilerinin FormRules programı ile değerlendirilmesinde; en yüksek R^2 değerini veren LOOCV (Leave One Out Cross Validation) modeli eğitim için seçilmiştir. Model eğitim sonucuna göre pH için R^2 değeri % 89,471, ozmolalite için R^2 değeri % 94,983 olarak hesaplanmıştır. Çözünürlük, görünüş ve renk özelliklerinin sayısal veriler olmaması nedeniyle modelleme başarısız olmuştur. Eğitilen model, ürünün özellikleri için bir dizi kural oluşturmuştur. Modelin oluşturduğu anlamlı bulunan kurallara göre, lornoksikam miktarının orta olması durumunda pH değeri düşük olur, lornoksikam miktarının yüksek olması durumunda ise pH değeri yüksek olur. Mannitol miktarının düşük ve orta olması durumunda ozmolalite düşük olur, yüksek olması durumunda ise ozmolaliteyi yüksek olur. Bulanık mantık değerlendirmesi ile girdi parametrelerinin çıktı değişkenleri ile ilişkileri üç boyutlu grafiklerle incelenmiştir. Grafikler incelendiğinde, formülasyon bileşenlerinden tamponlayıcı ajan trometamol, çözünürlük artırıcı disodyum EDTA ve dolgu maddesi mannitol miktarındaki artışın pH'yı düşürdüğü, bu bileşenlerin miktarındaki azalmanın ise pH değerini arttırdığı görülmüştür. Ayrıca trometamol, disodyum EDTA ve lornoksikam miktarındaki artışın ozmolaliteyi düşürdüğü, bu bileşenlerin miktarındaki azalmanın ise ozmolalite değerini

yükselttiği görülmüştür. Formülasyon değişkenlerinden karıştırma sıcaklığı, çözünme ortamı ile çıktı değişkenleri çözünürlük, görünüş ve renk özelliklerinde modellemenin başarısız olması tüm formülasyon değişkenlerinin incelenmesine engel olmuş, sağlıklı bir değerlendirme yapılamamıştır.

DeneySEL olarak ve nöro bulanık mantık ile elde edilen veriler değerlendirildiğinde, sonuç olarak F4 formülasyonunda fazla miktarda yardımcı madde kullanımının potens ve liyofilizasyon prosesinde kristalizasyonu etkilemesi, orjinal ürün formülasyonundan uzaklaşılması nedeniyle uygun olmayacağı görülmüştür. Lornoksikamın 60°C'ye ısıtılarak çözülmesi ve etkin madde bozunma kontrolü ile F5 formülasyonun ileri proses aşamalarında kullanılacak formülasyon olması uygun görülmüştür.

Lornoksikam içeren liyofilize toz ürünün tanıma ve miktar tayini ile ilgili bileşikler analizlerinde kullanılan analitik metotlar için validasyon çalışması ICH Q2 (R1) (17) doğrultusunda yapılmıştır. Tanıma ve miktar tayini analitik metot çalışmasında; spesifiklik, doğruluk ve doğrusallık, kesinlik, sağlamlık ve çözelti stabilitesi parametreleri değerlendirilmiştir. Spesifiklik çalışması sonucunda yardımcı maddeler, bozunma ürünleri ve potansiyel safsızlıklara bağlı pikler, lornoksikam piki ile aynı alıkonma süresinde görünmemiştir ve lornoksikam için pik saflık faktörü stresli ve stresli olmayan koşullar koşullarda en az 990 olarak bulunmuştur. Doğrusallık çalışmasında korelasyon katsayısı 0,99945 olarak bulunmuş, kalıntılar rastgele dağılmış, doğrusal modelin uygunluğunu kanıtlamıştır. Doğruluk çalışmasında geri kazanım süresi %98,63 olarak bulunmuştur. Kullanılan yöntemin kesinlik çalışmalarında elde edilen kümülatif %RSD değeri ise %0,66 olarak bulunmuştur (Tablo 4-4). Sağlamlık çalışmasında lornoksikam pik simetresi 0,8-1,5 aralığında ve teorik plaka sayısı 10000'den büyük olarak hesaplanmıştır. Hem referans hem de test çözeltisine uygulanan çözelti stabilitesi testi sonucunda her iki çözeltinin de oda sıcaklığında ışıktan korunarak 24 saat süresince stabil kaldığı görülmüştür. İlgili bileşikler metot çalışmasında spesifiklik, doğrusallık, LOD ve LOQ, doğruluk, kesinlik, sağlamlık ve çözelti stabilitesi parametreleri değerlendirilmiştir. Spesifiklik çalışması sonucunda, plasebo ve çözücüye bağlı pikler, hem stresli hem de stresli olmayan çözeltiler için, lornoksikam ve bozunma ürünü pikiyle aynı alıkonma zamanında görünmemiştir ve lornoksikamın stresli ve stresli olmayan koşullar altında pik saflık

faktörü en az 990'dır. Doğrusallık çalışmasında korelasyon katsayısı 0,9998 olarak bulunmuş, kalıntılar rastgele dağılmış, doğrusal modelin uygunluğunu kanıtlamıştır. Metot, önerilen LOQ değerinde kesinliği sağlamış, %RSD değeri %6,13 olarak bulunmuştur (Tablo 4-5). Önerilen LOD değerinde (%0,025) lornoksikama bağlı pikler görünürdür. Metot, lornoksikamın belirlenmesi için uygun bir LOD ve LOQ değerine sahiptir. Yapılan tüm validasyon çalışmaları sonucunda kullanılan analitik metodun uygun olduğu tespit edilmiştir.

Liyofilizasyon prosesinin optimizasyon çalışmasında, kritik kalite özelliklerini etkileyen kritik proses parametreleri değerlendirilmiştir. Lornoksikam bulk çözeltisi, formülasyon çalışmalarında öngörülen F5 formülasyonu kullanılarak üretilmiştir. Çalışmada, beş farklı (D1-D5) liyofilizasyon prosesi tasarlanmıştır. Tasarlanan her proses ile bir seri deneme üretimi yapılmış, D6 prosesi ise D5 proses tasarımı sabit tutularak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada, amorf özellik gösteren lornoksikam çözeltisinin DSC analizi ile bulk çözelti dondurma sıcaklığı -20°C , camsı geçiş sıcaklığı (T_g) ise -26°C olarak belirlenmiştir. Kritik proses parametrelerinden dondurma aşamasında raf sıcaklığı süper soğutmayı sağlamak için -45°C , birincil kurutma oranı ise $0,3^{\circ}\text{C}/\text{dakika}$ olarak belirlenmiş ve tüm liyofilizasyon proses geliştirme çalışmalarında sabit faktör olarak tutulmuştur. D1, D5 ve D6 liyofilizasyon proseslerinde çökme sıcaklığının (T_c) üstünde belirlenen bir sıcaklıkta (-20°C) ön şartlandırma yapılarak, ön şartlandırma aşamasının kritik kalite özellikleri üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Birincil kurutma sıcaklıkları tüm çalışmalarda çökme sıcaklığının altında (D1: -27°C , D2: -27°C , D3: -28°C , D4: -30°C , D5: -26°C , D6: -26°C), ikincil kurutma sıcaklıkları ise oda sıcaklığı koşulu ($25\pm 5^{\circ}\text{C}$) veya üstünde (D1: 25°C , D2: 30°C , D3: 30°C , D4: 30°C , D5: 20°C , D6: 20°C) belirlenmiştir (Tablo 3-15). Liyofilizasyon prosesi sonrası kritik proses parametrelerinin ürün kalitesine etkisi değerlendirilmiştir. Liyofilize toz ürünün kek görünüşü incelendiğinde; D1 prosesinde dondurarak kurutma sonrası kekleşme ve yine D2 ve D3 çalışması sonrası liyofilize toz görünüşü uygun olmasına rağmen 24 saat bekletme sonrası yapılan kontrollerde kekleşme gözlenmiştir. D4, D5 ve D6 proseslerinde kekleşme görülmemiş, silindir şeklinde sarı toz kek elde edilmiştir. Sulandırılmış çözeltinin görünüşü, D1 prosesi dışındaki diğer proseslerde (D2-D6) uygun bulunmuştur. Elde edilen toz kekin su içeriği ise, D2 (% 3,10) prosesi hariç diğer

proseslerde %3'ün altında tespit edilmiştir. Flakonların etkin madde içeriği incelendiğinde D3 (8,45 mg/flakon) prosesi dışındaki tüm proseslerde sonuçların 7,60-8,40 mg/flakon aralığında olduğu, lornoksikam tanıma testinin tüm sonuçlarda uygun olduğu görülmüştür. Sulandırılmış çözeltinin pH'sı (8,0 - 9,5), 2 mL enjeksiyonluk su ile sulandırma süresi (en fazla 60 saniye), dozaj tekdüzeliği (<15), sulandırılmış çözelti partikül sayısı (≥ 10 μm en fazla 6000 partikül/flakon, ≥ 25 μm en fazla 600 partikül/flakon) ve ilgili bileşikler (tanımlanamayan herhangi bir impürite en fazla %0,2; toplam impürite en fazla %2,0) analizlerinde D2-D6 proseslerinde uygun sonuçlar elde edilmiştir. Ürün mikrobiyal kalitesi de farmakope limitini sağlamış, ürünün aseptik olarak üretildiği kanıtlanmıştır. Ürün kritik kalite özelliklerini karşılayan D4, D5, D6 kritik proses parametreleri sonucu elde edilen ürünlerin stabilite çalışmalarında, zamanla D5 ve D6 proses ürünlerinin kek görünümünde küçülme tespit edilmiş, ilacın raf ömrü boyunca güvenilirlik ve etkililiği sağlayamacağı görülmüştür. D4 prosesi ile elde edilen ürünün kek görünümünün ise uygun olduğu, hedef ürün kalite profilini sağladığı görülmüştür.

Kritik proses parametreleri INForm ANN yapay sinir ağı metodu ile incelenmiştir. Modelleme için ilk önce veri seti programa yüklenmiştir. Girdi verileri olarak ürün miktarı, ön şartlandırma, ön şartlandırma süresi, dondurma oranı, dondurma süresi, birincil kurutma süresi, birincil kurutma sıcaklığı, birincil kurutma hazne basıncı, ikincil kurutma sıcaklığı, ikincil kurutma oranı, ikincil kurutma sıcaklığı verileri alınmıştır. Değerlendirmeye çıktı verileri olarak, su içeriği, sulandırılmış çözeltinin pH'sı, sulandırma süresi, sulandırılmış çözelti partikül sayısı (≥ 10 μm ve ≥ 25 μm), miktar tayini ve ilgili bileşikler (tanımlanamayan herhangi bir impürite, toplam impürite) verileri alınmıştır, sayısal olmayan çıktı özellikleri modellemeye alınmamıştır. Model eğitim sonuçlarına göre R^2 değerleri %99,06-% 99,99 arasında hesaplanmış ve model eğitimi başarılı bulunmuştur. Modelleme sonuçlarına göre program en uygun proses parametrelerini bulmak için optimizasyon gerçekleştirmiştir. Optimizasyon sonucu en iyi bulunan proses parametreleri; 750 adet flakon batch boyutunda, ön şartlandırma yapılmaması, dondurma aşamasında 0,4°C/dakika dondurma oranı ve 730 dakika dondurma süresi, birincil kurutma aşamasında -30°C sıcaklık, 139 μbar hazne basıncı (vakum) değeri, 5342 dakika birincil kurutma süresi, ikincil kurutma aşamasında 30°C raf sıcaklığı, 0,4°C/dakika ısıtma oranı ile 1369 dakika ikincil kurutma süresi olarak bulunmuştur. Program tarafından proses optimizasyonu ile

belirlenen tahmini çıktı değerlerinin çalışmada belirlenen bitmiş ürün spesifikasyonlarını sağladığı görülmüştür.

INForm ANN ile belirlenen optimum proses parametreleri, deneysel sonuçlar ile karşılaştırıldığında, ürün kalite özelliklerini karşılayan D4 proses parametreleri ile (Tablo 3-15) uyumlu olduğu görülmüştür. En önemli kritik kalite özelliklerinden olan liyofilize toz kekin görünüşünün deneysel olarak bulunan ve optimizasyonla belirlenen kritik proses parametreleri olduğu kanıtlanmıştır. Liyofilizasyon prosesinin en büyük dezavantajı, proses süresinin uzunluğu ve işletme maliyetidir. Proses optimizasyon çalışmasıyla, D4 prosesi ile karşılaştırıldığında, proses birincil kurutma süresinde %2,16, ikincil kurutma süresinde ise %28,69 oranında proses süresi açısından verimlilik sağlanacağı görülmüştür. M. J. Pikal'in yaptığı bir çalışmada işlem süresince ürün sıcaklığındaki 1°C artışın birincil kurutma süresinde %13 oranında azalma sağladığı belirtilmiştir (50).

Casian T. ve arkadaşlarının QbD ile pediatrik oral liyofilize ürün geliştirme çalışmasında, tasarım alanında seçilen optimum formülasyon hızlı dağılma zamanı, yüksek mekanik dirençle iyi bir çözünme hızı sunduğu, risk değerlendirme (FMEA) ve deney tasarımının (DoE) biraraya getirilmesi, geliştirme sürecinde ilgili parametreler hakkında daha iyi bilgiler sağlayarak, ürünün bilim temelli hedef ürün kalite profiline göre geliştirilmesine olanak sağladığı belirtilmiştir (51).

Sonuç olarak, liyofilizasyona dayanan geniş yelpazedeki farmasötik ve biyofarmasötik uygulamalar, liyofilizasyon prosesinin önemini vurgulamaktadır. Tasarımla Kalite (QbD) yaklaşımı, ürün ve liyofilizasyon prosesinin anlaşılmasını sağlamaktadır. Formülasyon geliştirme ve proses optimizasyonu, sağlam, tutarlı, zaman ve maliyet verimi yüksek liyofilizasyon prosesi geliştirilerek, ürün kalitesi artırılmakta ve güvence altına alınmaktadır.

KAYNAKLAR

- 1.CN1927206A, Patent of Lornoxicam composition for injection and preparation process thereof.
2. Patil S. S., Gupta M.V. R., G., Gupta K.S., Doddayya H., Effect of pH, selected cyclodextrins and complexation methods on the solubility of lornoxicam, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Vol 6, Issue 8, 2014, s324-327.
3. Ürün Ana Dosyası (DMF), Zhejiang Zhenyuan Pharmaceutical Co.,Ltd.
4. Avrupa Farmakopesi (Ph. Eur.), 9th edition.
5. FDA, Guide To Inspections of Lyophilization of Parenterals 7/93.
6. Vega J. A., Ochoa P. S. , Holder P., Introduction to Parenteral Preparations.
7. Gürsoy A.Z., Farmasötik Teknoloji Temel Konular ve Dozaj Şekilleri, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayınları, No:2.
8. Bordas F, d'Arsonval M. C. R, Acad Sci Paris 1906; 142:1058 and 1079; 143:567.
9. Rey L. and May J.C., Freeze Drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products, Volume 206, Third Edition,2010.
10. Jadhav T. R. and Moon R.S. M, World Journal Of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Review on Lyophilization Technique, Volume 4, Issue 05, 2015.
11. Oetjen G.W. and Hasaley P., Freeze-Drying, Third Completely Revised and Enlarged Edition, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2018.
12. Toutenburg H. and Shalabh, Statical Analysis of Designed Experiments, Springer Science+Business Media, 2009, 3rd edition.
13. FDA CDER, Guidance for Industry and Review Staff Target Product Profile-A Strategic Development Process Tool, Draft, 2007.
14. ICH, Pharmaceutical Development Q8 (R2), August,2009.
15. International Society for Pharmaceutical Engineering (ISPE), Product Quality Lifecycle Implementation, Part-1 Product Realization Using Quality by Design (QbD): Concept and Principles, November 2011.
16. Pharmaceutical Composition Containing Lornoxicam and a Disodium Salt of EDTA, WO-1998009654A1, 12.03.1998.

17. ICH Q2 (R1) (Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology).2005.
18. Baheti A., Kumar L., Bansal A. K., Excipients Used in Lyophilization of Small Molecules, Journal of Excipients and Food Chemicals, January 2010.
19. Unger V.M., Electron Cryomicroscopy Methods, Department of Molecular Biophysics and Biochemistry, Yale University, Elsevier Science Ltd 2001.
20. Day J.G., Stacey G.N., Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols, Humana Press Inc., Second Edition, 2007, s20-24,s30-31.
21. Kharaghani A., Tsotsas E., Wolf C., Beutler T., Guttzeit M., Oetjen G., Freeze-Drying, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry,2017,s29-31.
22. A guide to Freeze Drying for the Laboratory, Labconco Corporation, An industry service publication, 8,2004.
23. Antonsmith T., Pikal M.J., Rambhatla S., Ramot R., Formulation and evaluation of tigeylene injection by lyophilization, Inter Pharm Press, USA, 1997, 242-249.
24. Nireesha G.R., Divya L., Sowmya C., Venkateshan N., Niranjana Babu M. and Lavakumar V., Lyophilization/Freeze Drying-An Review, International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences, October 2013.
25. Flink J. M. and Knudsen H., An introduction to Freeze Drying, Jouan Nordic A/S., Denmark for Center-Tryk ApS, Holbæk 2002.
26. Regulation (EU) no 517/2014 of the European Parliament and of the Council of 16 april 2014 on Fluorinated Greenhouse Gases and Repealing Regulation (EC) No 842/2006.
27. Cheng A., Ph. D. Application R&D Manager Biopharma & Biochemicals Praxair Inc. Presented at the SP Scientific Webinar, May 2013.
28. American Society of Mechanical Engineers ASME, An International Standard, Bioprocessing Equipments, 2014.
29. Baheti A., Kumar L., Bansal A.K. Bansal, Excipients used in lyophilization of small molecules, Article in Journal of Excipients and Food Chemicals, January 2010.
30. Scanning Electron Microscopy, Nano Science Instruments, www.nanoscience.com
31. Abbott F., Stanford University, SLAC National Accelerator Laboratory, <https://home.slac.stanford.edu/news/2018/04-30-slac-stanford-open-one-of-worlds-most-advanced-facilities-for-cryo-em/>

32. Antcliffe D., Gordon A.C., *Metabonomics and Intensive Care*, Critical Care Article, April 2016.
33. Kett V., McMahon D., Ward K, *Freeze-drying of Protein Pharmaceuticals*, The Application of Thermal Analysis, 25(6), 2004, p389-404.
34. Lechuga-Ballesteros D., Miller D. P., Duddu S.P., *Thermal Analysis of Lyophilized Pharmaceutical Peptide and Protein Formulations*, January 2004.
35. Prof. Dr. Beşergil B., Celal Bayar Üniversitesi, Raman Spektroskopisi
36. Emami F., Vatanara A., Park E., Hee Na D., *Drying Technologies for the Stability and Bioavailability of Biopharmaceuticals*, August 2018.
37. Walters R.H., Bhatnagar B., Tchessalov S., Izutsu K., Tsumoto K., Ohtake S., *Next-Generation Drying Technologies for Pharmaceutical Applications*, April 2017.
38. Zheng S., Hu X., Ibrahim A., Tang D., Tan Y. and Li J., *Supercritical Fluid Drying: Classification and Applications*, Recent Patents on Chemical Engineering, 3, 230-244, July 24, 2010.
39. Kevin R. Ward, Paul Matejtschuk, *Lyophilization of Pharmaceuticals and Biologicals*, New Technologies and Approaches, Springer Protocols, 2019.
40. Pikal M.J., *Freeze-drying of proteins. Part I: process design*. BioPharm (Duluth, MN, United States), 3(8):18–20, 2–4, 6–8, 1990.
41. Heller M.C., Carpenter J.F., Randolph T.W., *Protein Formulation And Lyophilization Cycle Design: Prevention Of Damage Due To Freeze-Concentration Induced Phase Separation*, Biotechnol Bioeng, 63(2):166–174, 1999.
42. Warne N.W., Mahler H.C., *Challenges in Protein Product Development*, AAPS Advances in the Pharmaceutical Sciences Series, Springer, 2008, s417-418.
43. Deepak B., Dr. Iqbal Z., *Lyophilization-Process And Optimization For Pharmaceuticals*, International Journal of Drug Regulatory Affairs; 2015, s30-40.
44. *Development and Manufacture of Protein Pharmaceuticals*, Nail S.L., Akers M. J., Springer Science+Business Media, 2002.
45. *Recommended Best Practices for Process Monitoring Instrumentation in Pharmaceutical Freeze Drying*, AAPS PharmSciTech, 2017, s1-15.
46. FDA, *Draft Guidance for Industry: Drug Product Chemistry, Manufacturing and Controls Information*, January 2003.
47. InForm Intelligent Formulation, Intelligensys Ltd. U.K., 2009.

48. Aksu B., Ramipril Tablet Üretim İşleminde Yenilikçi Farmasötik Üretim Uygulamaları. Doktora Tezi, T. C. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, İzmir, 2010.
49. Balfour J.A., Fitton A., Barradell L.B., Lornoxicam, A Review of its Pharmacology and Therapeutic Potential in the Management of Painful and Inflammatory Conditions, 51 (4): 639-657, 1996.
50. Tang X., Pikal M.J., Design of Freeze-Drying Processes for Pharmaceuticals: Practical Advice, Pharmaceutical Research, Vol. 21, No. 2, February 2004.
51. Casian T., Iurian S. Bogdan C., Rus L., Moldovan M., Tomuta I., QbD for pediatric oral lyophilisates development: risk assessment followed by screening and optimization, Drug Development and Industrial Pharmacy, 43:12, 1932-1944.
52. Guidance for Industry, PAT – A Framework for Innovative Pharmaceutical Development, Manufacturing, and Quality Assurance, September 2004.
53. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Quality Risk Management, Q9, November 2005.
54. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Pharmaceutical Quality System Q10, June 2008.
55. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Development and manufacture of drug substances (Chemical entities and biotechnological/biological entities) Q11, May 2012.
56. Roy S. Quality by design: A holistic concept of building quality in pharmaceuticals. Int J Pharm Biomed Res 2012; 3(2): 100-108.
57. Houson I., Process Understanding: For Scale-Up And Manufacture Of Active Ingredients, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2011, s 1-16.
58. Kourti T. and Davis B., the Business Benefits of Quality by Design (QbD), Pharmaceutical Engineering, the Official Magazine of ISPE, Vol.32, No.4. July/August 2012.
59. Yüce M., Çapan Y., Farmasötik Tasarımla Kalite: Tasarımla Kalite Yaklaşımı ve Unsurları, Ankara Ecz. Fak. Derg., Ankara, 39 (4) 369-390, 2010.

60. Zhang L., Mao S., Application of Quality by Design in the Current Drug Development, Shenyang Pharmaceutical University, 2016.
61. Garcia T., Cook G., Nosal R. PQLI Key Topics – Criticality, Design Space and Control Strategy. *J Pharm Innov* 2008; 3, s 60-68.
62. Jameel F., Hershenson S., Formulation and Process Development Strategies for Manufacturing Biopharmaceuticals, Wiley, May 2010, s 808-810.
63. Bilge U., Tıpta yapay zeka ve uzman sistemler [internette]. Erişim: 1.12.2014, Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi AD, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya: <http://www.turkmia.org/kongre2007/cd/pdf/113-118.pdf>.
64. Ibric S., Djurić Z., Parojčić J., Petrović J., Artificial Intelligence in Pharmaceutical Product Formulation: Neural Computing, Institute of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Belgrade, Serbia, 2009.
65. Bhalerao P., Lyophilization / Freeze Drying: A Review, Government College of Pharmacy, Aurangabad 431001 Maharashtra, India, 2017.
66. Assegehegn G., Fuente E., Franco J., Gallegos C., The Importance of Understanding the Freezing Step and Its Impact on Freeze-Drying Process Performance, November 2018.
67. Hamza Y., Aburahma M., Design and In Vitro Evaluation of Novel Sustained-Release Double-Layer Tablets of Lornoxicam: Utility of Cyclodextrin and Xanthan Gum Combination, *AAPS PharmSciTech*, Vol. 10, No. 4, December 2009
68. Khairnar S., Kini R., Harwalkar M., Salunkhe K., Chaudhari S.R., A Review on Freeze Drying Process of Pharmaceuticals, *International Journal of Research in Pharmacy and Science*, 4(1), 76 – 94, 2013.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

LORNOKSİKAM İÇEREN ENJEKSİYONLUK LİYOFİLİZE TOZ ÜRÜNÜNÜN, TASARIMLA KALİTE (QBD) ÇERÇEVESİNDE, RİSK DEĞERLENDİRMESİ İLE FORMÜLASYON TASARIMI

ORJİNALLİK RAPORU

%7	%5	%1	%3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	e-dergi.marmara.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
2	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	%1
3	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%1
4	biyologlar.com İnternet Kaynağı	<%1
5	documents.tips İnternet Kaynağı	<%1
6	hbogm.meb.gov.tr İnternet Kaynağı	<%1
7	artmer.beun.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	www.turkmia.org İnternet Kaynağı	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Habibe	Soyadı	KOÇAN
Doğ.Yeri	Denizli	Doğ.Tar.	05.10.1983
Email	habibe_kocan@yahoo.com	Uyruğu	T.C.

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji A.B.D., İlaç Mühendisliği Programı	2019 (öngörülen)
Lisans	Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği	2007
Lise	Denizli Lisesi	2001

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Kalite Güvence Şefi	Rompharm İlaç	03.2015-
2.	Validasyon Uzmanı	Laurus İlaç	09.2014-03.2015
3.	Kalite Güvence Elemanı	İbrahim Etem Ulagay-Menarini	03.2011-12.2013

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi	-	-
Almanca	Zayıf	Zayıf	Zayıf	-	-

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	-	-	-
(Diğer) Puanı	-	-	-

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS. Office Uygulamaları	Çok İyi
InForm	Orta
FormRules	Orta

Yayımları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri: -

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Fotoğrafçılık