

T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

CANGRELOR TETRASODYUM ETKENİ İÇEREN  
FARMASÖTİK İLAÇ ÜRÜNÜNDE KULLANILAN PRİMER  
AMBALAJ MALZEMESİNDEN SIZAN MADDELERİN  
KEŞFEDİLMESİ VE İLAÇ İMPÜRİTESİ ÜZERİNDEKİ  
ETKİSİ

**Meryem ÖZTÜRK**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı  
Analitik Kimya Programı

Danışman  
Prof. Dr. Sevgi KOCAOBA

Şubat, 2023

**T.C.**  
**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**CANGRELOR TETRASODYUM ETKENİ İÇEREN FARMASÖTİK**  
**İLAÇ ÜRÜNÜNDE KULLANILAN PRİMER AMBALAJ**  
**MALZEMESİNDEN SIZAN MADDELERİN KEŞFEDİLMESİ VE**  
**İLAÇ İMPÜRİTESİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

Meryem ÖZTÜRK tarafından hazırlanan tez çalışması 15/02/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sevgi KOCAOBA  
Yıldız Teknik Üniversitesi  
Danışman

Prof. Dr. Sevgi KOCAOBA, Danışman  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. İkbal KOYUNCU, Üye  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU, Üye  
Marmara Üniversitesi

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Danışmanım Prof. Dr. Sevgi KOCAOBA sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Cangrelor Tetrasodyum Etkeni İçeren Farmasötik İlaç Ürününde Kullanılan Primer Ambalaj Malzemesinden Sızan Maddelerin Keşfedilmesi Ve İlaç İmpüritesi Üzerindeki Etkisi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Meryem ÖZTÜRK



*Aileme*

## TEŞEKKÜR

---

Yüksek lisans eğitimim süresince desteği hep yanımda hissettiğim, değerli yorumlarıyla, sahip olduğu tecrübe ve bilgileri ile beni en doğru şekilde yönlendiren değerli hocam Prof. Dr. Sevgi KOCAOBA 'ya,

Ders ve tez sürecinde tüm imkanları sunan, çalışmalarımı destekleyen WORLD MEDICINE İLAÇ SAN. VE TİC. A.Ş' ye ve değerli çalışma arkadaşlarım; Dr. Müge GÜLELİ ve Enes DANDAN 'a,

Desteğini her zaman yanımda hissettiğim, beni motive eden, deneysel çalışmalarım boyunca bana yol gösteren Gökay GÜN ve Cüneyt TOPRAK' a,

Her zaman yanımda olan canım annem, babam ve kardeşlerime,

Teşekkür ederim.

Meryem ÖZTÜRK

# İÇİNDEKİLER

<b>SİMGE LİSTESİ</b>	<b>VI</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>VIII</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>IX</b>
<b>ÖZET</b>	<b>X</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>XI</b>
<b>1 GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı .....	2
1.3 Hipotez.....	2
<b>2 GENEL BİLGİLER</b>	<b>4</b>
2.1 Parenteral İlaçlar.....	4
2.2 Liyofilize İlaç Formu.....	8
2.2.1 Liyofilizasyon Adımları .....	10
2.3 Cangrelor (Kangrelor) Tetrasodyum .....	11
2.3.1 Cangrelor (Kangrelor) Tetrasodyum Özellikleri .....	12
2.4 Kap Kapak Sistemi .....	13
2.5 Ekstrakte Edilebilir ve Sızabilir Maddeler .....	14
2.6 Literatürde Ekstrakte Edilebilir Maddeler ve Sızabilir Maddeler ile İlgili Yapılan Çalışmalar .....	18
<b>3 MATERYAL VE METOT</b>	<b>22</b>
3.1 Kimyasallar.....	22
3.2 Cihazlar.....	22
3.3 Prosedür .....	22
3.3.1 Liyofilize Ürün Çalışmaları.....	22
3.3.2 Ekstrakte Edilebilir ve Sızabilir Maddelerin Ekstraksiyonu .....	26
<b>4 SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>39</b>
<b>KAYNAKÇA</b>	<b>41</b>
<b>TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR</b>	<b>45</b>

## SİMGE LİSTESİ

---

g	Gram
L	Litre
$\mu\text{g}$	Mikrogram
$\mu\text{m}$	Mikrometre
mg	Miligram
mL	Mililitre
ppb	Milyarda Bir Kısım ( $\mu\text{g/L}$ )
ppm	Milyonda Bir Kısım ( $\text{mg/L}$ )
M	Molar
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece

## KISALTMA LİSTESİ

---

CAS	Kimyasal Özet Hizmeti
COC	Siklik Olefin Kopolimer
DEHP	Dietilheksil Fitalat
EDQM	Avrupa İlaç Kalite Müdürlüğü
EEM	Ekstrakte Edilebilir Maddeler
E&L	Ekstrakte Edilebilir ve Sızabilir Maddeler
EMA	Avrupa İlç Ajansı
ETFE	Etilen Tetrafloroetilen
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
ICH	Uluslararası Harmonizasyon Konferansı
ICP-MS	İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
LC-OTOF-	Sıvı Kromatografisi-Kuadrupol Uçuş Zamanlı-Tandem
LDPE	Düşük Yoğunluklu Polietilen
MS/MS	Kütle Spektrometresi
SM	Sızabilir Maddeler (Leachables)
UPLC-ESI- MS/MS	Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi Elektrosprey İyonizasyon- Tandem Kütle Spektrometresi
USP-NF	Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi-Ulusal Formüler (United States Pharmacopeia-National Formulary)
PVC	Polivinil Klorür
PC	Polikarbonat
pH	Hidrojen Kuvveti (Power Hydrogen)
NIST	Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü (The National Institute of Standards and Technology)
PCDL	Kişisel Bileşik Veritabanı ve Kitaplığı

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	Enjeksiyonun Uygulama Yolları .....	7
Şekil 2.2	Faz Diyagramı .....	8
Şekil 2.3	Liyofilizatör Bölümlerinin Şematik Çizimi ve Kurutma Süreci .....	9
Şekil 2.4	Flakon Dolumundan Kapama Aşamasına Kadar Gerçekleşen Süreç.....	10
Şekil 2.5	Kalp Hastalığı Olan Bir Kişinin Atardamarlarında Plak Biriktiğinde Kan Akışının Bloke Olması .....	12
Şekil 2.6	Molekül Yapısı .....	12
Şekil 2.7	Steril Farmasötik Ürünlerin Paketleme Sistemleri .....	13
Şekil 2.8	Sızabilir Maddelerin Ekstrakte Edilebilir Maddelerin Alt Kümesi Olduğunun Gösterimi .....	14
Şekil 3.1	Freeze-Drying Mikroskop .....	24
Şekil 3.2	Liyofilizasyon Sonrası Elde Edilen Bitmiş Ürün .....	26
Şekil 3.3	Butil Kauçuk Tıpa Termal Bozunma Headspace GC-MS Kromatogramı (Kırmızı), Boş Kromatogram (Siyah) Ve NIST Tarama Sonuçları.....	28
Şekil 3.4	Florotec Kaplama Kapak Termal Bozundurma Headspace GC-MS Kromatogramı (Yeşil), Blank Kromatogramı (Siyah) Ve NIST Tarama Sonuçları.....	29
Şekil 3.5	Florotec Tıpanın IPA-Su İle Ekstraksiyonu (Yeşil) Ve IPA-Su Blank (Siyah) Çakıştırılmış Kromatogram .....	33
Şekil 3.6	Bütil Tıpanın IPA-Su İle Ekstraksiyonu (Kırmızı) Ve IPA-Su Blank (Siyah) Çakıştırılmış Kromatogram .....	33
Şekil 3.7	Florotec Tıpanın pH=9.5 İle Ekstraksiyonu (yeşil) e pH=9.5 Blank (Siyah) Çakıştırılmış Kromatogram .....	33
Şekil 3.8	Bütil Tıpanın Ph=9.5 İle Ekstraksiyonu (Kırmızı) Ve Ph=9.5 Blank (Siyah) Çakıştırılmış Kromatogram .....	34
Şekil 3.9	Numune A (Yeşil) Ve Blank Çözelti (Siyah).....	35
Şekil 3.10	Numune B (Bembe) Ve Blank Çözelti (Siyah) .....	35
Şekil 3.11	Numune C (Kırmızı) Ve Blank Çözelti (Siyah) .....	35
Şekil 3.12	Numune D(Mor) Ve Blank Çözelti (Siyah) .....	36
Şekil 3.13	Numune B (Mavi) Ve Blank Çözelti (Siyah) .....	38
Şekil 3.14	Numune D (Kırmızı) Ve Blank Çözelti (Siyah).....	38

## TABLO LİSTESİ

---

<b>Tablo 2.1</b>	Enjeksiyon Yolu ile Verilen İlaçların Tercih Edilmesinin Nedenleri .....	5
<b>Tablo 2.2</b>	Enjeksiyonun Yapıldığı Bölgeler .....	6
<b>Tablo 2.3</b>	Parenteral İlaçların Sahip Olması Gereken Yedi Temel Özellik.....	7
<b>Tablo 2.4</b>	Yaygın İlaç Ürünleri Sınıfları için Paketleme Endişelerine Örnekler.....	15
<b>Tablo 2.5</b>	Ekstrakte Edilebilir Bileşikleri Keşfetmeye, Tanımlamaya Ve Miktarını Belirlemeye Yönelik Analitik Yöntemler.....	17
<b>Tablo 2.6</b>	Belirli Paketleme Bileşenlerine Göre Olası Ekstraksiyon Ortamları .....	18
<b>Tablo 3.1</b>	Cangrelor Tetrasodyum'un Ardışık Ekleme Yöntemi ile Farklı pH Değerlerindeki Çözünürlüğü .....	23
<b>Tablo 3.2</b>	İlaç Formülasyonunda Kullanılan Hammaddeler.....	23
<b>Tablo 3.3</b>	Freeze-Drying Mikroskop Cihazında Uygulanan Reçete.....	25
<b>Tablo 3.4</b>	Çökme (Collaps) Sıcaklığının Tayinine Ait Görseller .....	25
<b>Tablo 3.5</b>	Butil Kauçuk Tıpa Termal Bozunma Headspace GC-MS Kromatogramı (Kırmızı), Boş Kromatogram (Siyah) Ve NIST Tarama Sonuçları.....	28
<b>Tablo.3.6</b>	Florotec Kaplama Kapak Termal Bozundurma Headspace GC-MS Kromatogramı (Yeşil), Blank Kromatogramı (Siyah) Ve NIST Tarama Sonuçları.....	29
<b>Tablo 3.7</b>	Ekstrakte Edilebilir Maddelerin Molekül Yapıları.....	30
<b>Tablo 3.8</b>	Gradient Programı .....	37

## **Cangrelor Tetrasodyum Etkeni İçeren Farmasötik İlaç Ürününde Kullanılan Primer Ambalaj Malzemesinden Sızan Maddelerin Keşfedilmesi ve İlaç İmpüritesi Üzerindeki Etkisi**

Meryem ÖZTÜRK

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Sevgi KOCAOBA

Parenteral ilaçlar, genellikle sindirim sistemi dışında uygulanan, ampul veya flakon gibi steril tek doz veya çoklu doz formunda bir şırınga ile doğrudan veya dolaylı olarak kan dolaşımına verilen ilaçlardır. İlaçlar ve tıbbi cihazlar hastaya zarar verebilecek safsızlıklar içermemelidir. Parenteral ürünlerin kritik özelliklerini etkileyen kirlilik, birçok biçimde ve birçok kaynaktan oluşabilir. İlacın temas ettiği tüm yüzeylerden gelebilecek kirlleticilerin uygun şekilde kontrol edilmesi, ilaç geliştirme için kritik öneme sahiptir. Son yıllarda çok dikkat çeken bir kirleticisi sınıfı, sızabilir ve ekstrakte edilebilir maddelerdir. Sızabilir maddeler; taşıma, depolama, kullanım koşulları veya hızlandırılmış stabilite çalışmaları sırasında ambalaj malzemesinden bitmiş ilaca sızabilen yabancı kimyasalları ifade eder. İlaça ait birincil ambalaj sistemi bileşenlerinin laboratuvar testlerinde ortaya çıkartılan potansiyel sızıntılara "ekstrakte edilebilir sızıntılar" denir. Ekstrakte edilebilir ve sızabilir maddeler çoğunlukla plastik ve elastomerik flakon kapatma sistemi bileşenleri üzerindeki kimyasal kirleticisi maddeler veya metal ve cam yüzeyler üzerindeki organik kalıntılardır. Çalışmanın amacı 25°C ve 50°C koşulları altında, liyofilize toz olarak hazırlanan cangrelor tetrasodyum içeren

bitmiş ürünün bütül kauçuk ve etilen tetrafloroetilen (ETFE) kopolimer filmi kaplı bütül kauçuk tıplar ile temaslı olarak 30 gün bekletildikten sonra tekrar enjeksiyonluk su ile çözüldürülerek alınan numunelerde LC/Q-TOF ve GC-MS cihazları kullanılarak yapılan sızıntı testlerinin karşılaştırılmasıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Ekstrakte edilebilir ve sızabilir maddeler, cangrelor tetrasodyum, liyofilize toz, LC/Q-TOF, GC-MS



# **Discovery of Extractables and Leachables From Primary Packaging Material Used in Pharmaceutical Drug Product Containing Cangrelor Tetrasodium and Its Effect on Drug Impurity**

Meryem ÖZTÜRK

Department of Chemistry

MSc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Sevgi KOCAOBA

Parenteral drugs are drugs that are administered directly or indirectly into the bloodstream with a syringe, usually in sterile single-dose or multiple-dose form, such as ampoules or vials, administered outside the digestive tract. Medicines and medical devices must not contain impurities that can harm the patient. Contamination affecting critical properties of parenteral products can occur in many forms and from many sources. Proper control of contaminants from all surfaces that the drug comes into contact with is critical to drug development. A class of pollutants that has received much attention in recent years are leachable and extractables. Leachable substances; refers to foreign chemicals that may leach from the packaging material into the finished drug during transport, storage, use conditions or elastomeric vial closure system components or organic residues on metal and glass surfaces. The aim of the study was to keep the butyl rubber and ethylene tetrafluoroethylene film (ETFE) of the finished product containing cangrelor tetrasodium prepared as lyophilized powder under 25°C and 50°C conditions for 30 days in contact

with copolymer-coated butyl rubber stoppers, and in the samples taken by dissolving it again with water for injection is a comparison of leak tests using LC/Q-TOF and GC-MS.

**Keywords:** Extractables and leachables, cangrelor tetrasodium, lyophilized powder, LC/Q-TOF, GC-MS



## 1.1 Literatür Özeti

Tarihsel olarak, parenteral olarak uygulanan ilaç ürünlerinin çoğu sulu bir sıvı olarak saklanmıştır ve bu nedenle ürün ile paket arasındaki etkileşimin tipik olarak solvent aracılığı ile olduğu düşünülür. Bu nedenle, bu etkileşim üzerine yayınlanan çoğu çalışma bu varsayımına dayalı olarak gerçekleştirilmiştir [1-2]. Halihazırda pazarlanan biyofarmasötiklerin yaklaşık %50' si, en yaygın formülasyon stratejisini temsil edecek şekilde liyofilize edilmiştir. Dondurarak kurutma olarak da bilinen liyofilizasyon, kararsız ilaçların, özellikle terapötik proteinlerin uzun vadeli stabilitesini iyileştirmek için önemli ve köklü bir süreçtir [3-4]. Bu işlemin amacı, bir solüsyonda kimyasal veya biyolojik olarak kararsız olan ilaçların stabilitesini ve dolayısıyla raf ömrünü arttırmaktır [5-6]. Liyofilize ilaç, birincil paketleme sisteminde sulu bir ortamda yeniden çözündürülür ve uygulamalarda genellikle bir karıştırma adımı olarak kullanılır. Bu aşamada elde edilen solüsyonun tıpa ile temas süresi yaklaşık 5 dakika ile 30 dakika arasında değişmektedir. Aslında birçok ticari ürün, ilacın yeniden çözündürüldükten sonra uygun saklama koşullarında 24 saate kadar stabil kaldığını bildirmektedir.

Kısacası, ekstrakte edilebilir maddeler, laboratuvar koşulları altında kap kapağından ve/veya cihaz bileşenlerinden türetilen kimyasal varlıklardır. Hastalar, ilaç ürününün normal kullanımı yoluyla sızıntılara maruz kalabilir [7]. 1970'lerin çevresel hareketinden bu yana, analitik kimya ve analitik teknikler hem organik hem de inorganik kimyasal maddeleri tespit etme, tanımlama ve ölçme yetenekleri bakımından giderek daha gelişmiş ve hassas hale gelmiştir [8].

Analiz yöntemlerindeki bu gelişmeler, son yıllarda farmasötik ürünlerde E&L kontrolüne yapılan vurguyu arttırmıştır. 1999'da FDA, kap kapatma sistemleri için ve ardından 2002'de burun spreyleri, inhalasyon solüsyonları / süspansiyonları ve spreyle kurutulmuş ürünler için bir kılavuz yayınlamıştır [9-10]. Daha sonra 2005'te EMA, plastik ambalaj malzemeleri hakkında bir kılavuz yayınlamıştır [11]. 2014'te Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi (USP), E&L safsızlıklarının uygun kontrolünü doğrulamak için

değerlendirmelerin tasarımı ve yürütülmesine ilişkin iki bölüm (<1663> ve <1664>) yayınlamıştır [12-13].

## **1.2 Tezin Amacı**

Sızabilir ve ekstrakte edilebilir maddeler tüm ilaç formları için endişe kaynağıdır. FDA tarafından dozaj formları ve ilacın uygulama yolu göz önünde bulundurularak oluşturulan risk değerlendirme tablosunda parenteral liyofilize toz formları orta riskli olarak tanımlanmaktadır. Artan sayıda veri incelendiğinde SM'ler vücutta birikerek toksik etki oluşturmaya, kanser riskini arttırmaya, bağışıklık sistemini zayıflatmaya ve/veya hormonal bozulma gibi riskler oluşturabileceğini gösterilmektedir. Teknoloji ve endüstrinin gelişmesi ile birlikte parenteral ilaçlardaki çözelti oluşturma sistemlerinin çeşitleri artmaktadır. Bu çözeltiler ağırlıklı olarak su içerisinde çözünürlüğü düşük organik moleküllerin benzer-benzerde çözünür ilkesi ile organik çözücüler kullanılarak oluşturulurlar. Daha hızlı etkiye ve biyoyararlılığa sahip olan enjeksiyonluk ürünler ilk tercih edilen farmasötik formudur. Çözelti sisteminin uzun raf ömrü boyunca stabil kalmasını sağlamak için liyofilizasyon işlemi ile kurutularak toz formuna dönüştürecek çalışmalar yapılmakta ve ürünlerin bu yönde geliştirilmesi tercih edilmektedir. Liyofilize ürünlerde saklamak için kullanılan kap-kapak sistemleri Tıp-I cam flakon ve elastomerik bütül kauçuk tıpadan oluşmaktadır. Ekstrakte edilebilir maddeler ve sızabilir maddeler açısından en büyük risk kaynağı kullanılan tıpa materyalleri olmaktadır. Tezin amacı geliştirilecek olan Cangrelor tetrasodyum etkin maddesi içeren liyofilize toz formundaki ilaç ürününün birincil ambalaj malzemesini belirlenmesi için ticari olarak piyasada bulunan iki farklı (bütül kauçuk ve etilen tetrafloro etilen filmi (ETFE) copolimer kaplı bütül kauçuk tıpa) özellikteki tıpa EEM ve SM bakımından karşılaştırmalarını yapmak, kullanılacak ambalaj malzemesine karar vermek ve sızabilir maddeler bakımından ilacın güvenli olduğunu göstermektir.

## **1.3 Hipotez**

Çalışmada eser miktarda ekstrakte edilebilir ve sızabilir maddelerin tespiti için uçucu ve yarı uçucu bileşenlerin tespiti için USP ve FDA yönetmelikleri doğrultusunda uygun analitik yöntemler belirlenmiştir. Bu yöntemler arasında EEM içi standart hale gelmiş GC-MS kullanılmıştır. Tamamlayıcı test olarak LC/Q-TOF kullanılmıştır. Çalışmadaki en önemli basamak EEM'lerin karakterizasyonunun gerçekleştirilmesidir. Sızabilir maddeler ve ilacın güvenlik açısından tüm kararları ve testleri bu sonuçlara

dayanmaktadır. Sisteme verilecek çözeltiler ve ürünün hazırlanması stres ve mümkün olan en zorlama koşullar belirlenerek yapılmıştır. Yöntemlerin gerçek numunelere uygulanabilirliğini sağlamak amacıyla Cangrelor tetrasodyum içeren ilaç ürünü geliştirilmiştir. Kullanılan birincil ambalaj malzemeleri ticari olarak tedarik edilecek malzemelerden seçilmiştir. Hazırlanan ürünler geçimlilik çalışmasına uygun olarak 25°C ve 50°C stres koşullarında bekletilerek çalışmalar gerçekleştirilmiştir.



## 2.1 Parenteral İlaçlar

Parenteral müstahzarlar, tedavinin uygulanacağı canlıya enjeksiyon, infüzyon veya implantasyon yoluyla uygulanmaya yönelik steril müstahzarlardır. Parenteral olarak verilen ilaç, enjeksiyon iğnesinin ucundaki boşluktan vücudun farklı bölgelerine ve farklı derinliklere enjekte edilir. Gastrointestinal sistemden kaçınmanın ve cilt ve mukoza zarlarını atlamamanın tek yolu ilacı doğrudan vücuda enjekte etmektir. Bu uygulama şeklinin seçilmesinin birkaç nedeni bulunmaktadır. Bu nedenlerden en önemlisi ilaç etkin maddesinden en yüksek oranda faydalanmaktır. Sindirim sistemi üzerinden kan dolaşımına ilaç etken madde salınımını yüksek verimde gerçekleştirmek; midede bulunan asit ortamı ve bağırsakta bulunan bazik ortam nedeni ile zordur. Enjeksiyon yolu ile verilen ilaçların tercih edilmesinin nedenleri Tablo 2.1 de özetlenmiştir. Parenteral solüsyonlar; enjekte edilebilir ilaç etkin maddeleri ile çözücü olarak enjeksiyonluk su veya bitkisel yağlar kullanılarak hazırlanır. Bu çözeltiler; tam çözünmenin gerçekleştiği çözelti şeklinde, süspansiyon şeklinde veya emülsiyon şeklinedirler. Yeni parenteral formülasyonlar, yerinde bir parenteral ilaç dağıtım sistemi oluşturan nanopartiküller, niozomlar, lipozomlar, polimerik miseller gibi koloidal ilaçların parenteral uygulama yolunu içerir [14-15].

**Tablo 2. 1** Enjeksiyon yolu ile verilen ilaçların tercih edilmesinin nedenleri

<b>Madde</b>	<b>Enjeksiyon Yolu İle Verilen İlaçların Tercih Edilmesinin Nedenleri</b>
1.	Hızlı etki istendiğinde kullanılır
2.	Hasta ilacı oral (ağız yolu) olarak alamadığında (bilinci yerinde olmayan hastalarda)kullanılır
3.	İlaç etkin maddesinin gastrointestinal sıvılar tarafından bozunma durumu olduğunda kullanılır
4.	İstenen etkinin yalnızca belli bir bölgede olması istendiği durumlarda kullanılır
5.	Biyolojik faydalanmanın en yüksek seviyede istendiği durumlarda kullanılır

Çözeltiler sıvı içerisinde dağılmış katı içeren çözeltilere göre daha hızlı çalışır. İlacın emilimi sadece ilaç çözüldüğünde başlar. Sulu taşıyıcılar daha hızlı emilim sağlarken, süspansiyonlar veya yağ taşıyıcılar rezervuar görevi görerek uzun vadeli etkiler sağlar.

Avrupa Farmakopesi (EP), parenteral ilaçları aşağıdaki şekilde sınıflandırır [16]:

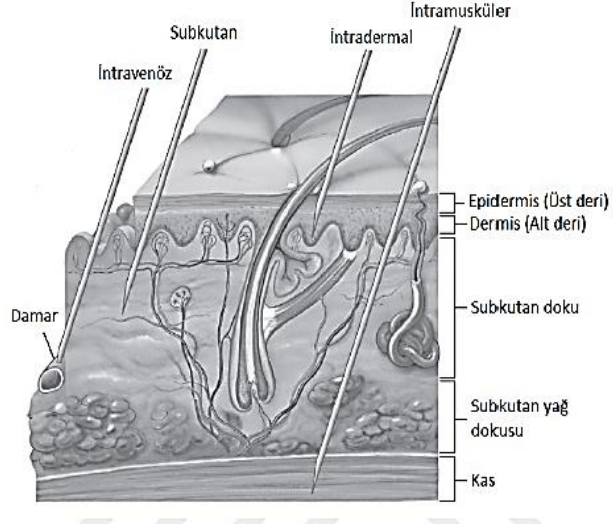
- Enjeksiyonlar: steril solüsyonlar, emülsiyonlar ve süspansiyonlar. Aktif bileşen veya ekşiyanların su veya susuz bir sıvı içinde çözülmesi, emülsifiye edilmesi veya süspanse edilmesiyle hazırlanırlar.
- İnfüzyonlar: Sürekli faz olarak su içeren steril sulu çözeltiler veya emülsiyonlardır.
- Enjeksiyon veya infüzyon için konsantreler: Seyreltmeden sonra enjeksiyon veya infüzyon yoluyla uygulanan steril solüsyonlardır
- Enjeksiyon veya infüzyon için tozlar: Bunlar, son ambalajda açıklandığı gibi steril bir sıvı içinde sulandırıldıktan sonra uygulanan steril katı maddelerdir.

- Enjektelerde edilebilir jeller: bunlar, enjeksiyon bölgesinde aktif içeriğin modifiye edilmiş bir salınımını sağlayan uygun viskoziteye sahip steril jellerdir.
- İmplantlar: Parenteral implantasyon için uygun boyut ve şekilde olan ve aktif maddeyi uzun süre salan katı preparasyonlar [17].

Parenteral ilaçlar canlı vücuduna farklı bölgelerden enjekte edilebilir. Enjeksiyonun yapıldığı bölgeler Tablo 2.2 ve enjeksiyonun uygulama yolları Şekil 2.1’de özetlenmiştir.

**Tablo 2.2** Enjeksiyonun yapıldığı bölgeler

<b>Enjeksiyonun Yapıldığı Bölgeler</b>	<b>Enjeksiyon Yolu</b>
Bu enjeksiyon, ilacı/çözeltiyi dermisin hemen altındaki gevşek bağ dokusuna yerleştirir.	Deri Altı (SC)
Bu enjeksiyon, ilacı epidermisin hemen altındaki dermise yerleştirir.	Deri İçi (ID)
Bu enjeksiyon, ilacı bir kasın gövdesine yerleştirir.	Kas içi (IM)
Bu enjeksiyon, ilacı/çözeltiyi mevcut bir IV hattı veya kısa IV cihazı (salin kilidi) yoluyla bir damara verir. İntravenöz ilaçlar, intravenöz bolus, aralıklı bir ilaç olarak veya büyük sürekli infüzyon olarak verilebilir.	İntravenöz (IV)
İlacın daha hızlı sorunun yaşandığı bölgede tedaviyi sağlamak için göz içine yapılan enjeksiyon yapılmaktadır.	İntravitreal



**Şekil 2.1** Enjeksiyonun uygulama yolları

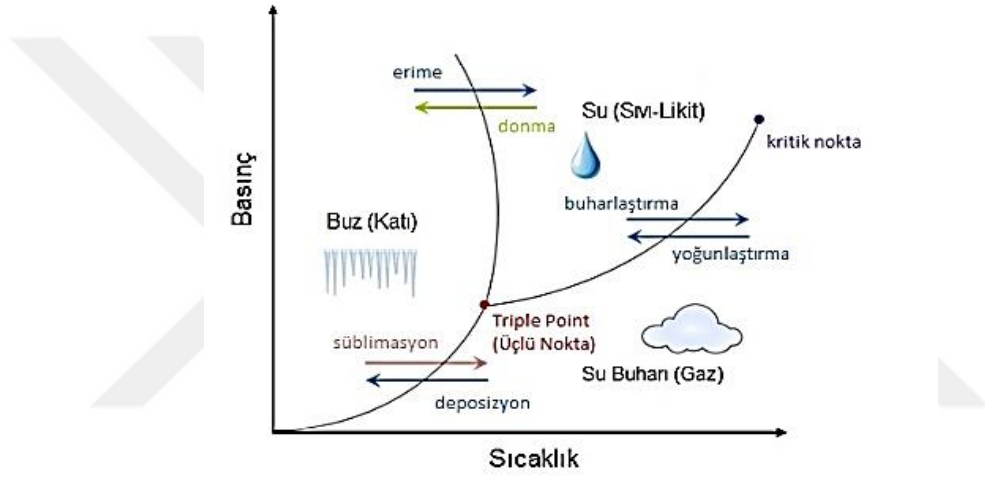
Tedavi amacı ile uygulanan parenteral ilaçların sahip olması gereken yedi temel özellik Tablo 2.3 verilmiştir [17].

**Tablo 2. 3** Parenteral ilaçların sahip olması gereken yedi temel özellik

1.	Güvenlik (olumsuz toksikolojik kaygılardan arınmışlık)
2.	Sterilite (mikrobiyolojik kontaminasyondan arınmışlık)
3.	Pirojenik olmayan (pirojenik — endotoksin — kontaminasyondan arınmış)
4.	Parçacıksız (görünür parçacık kontaminasyonundan arınmış)
5.	Stabilite (kimyasal, fiziksel, mikrobiyolojik)
6.	Uyumluluk (formülasyon, paket, diğer seyrelticiler)
7.	Tonosite (biyolojik sıvılarla izotonik)

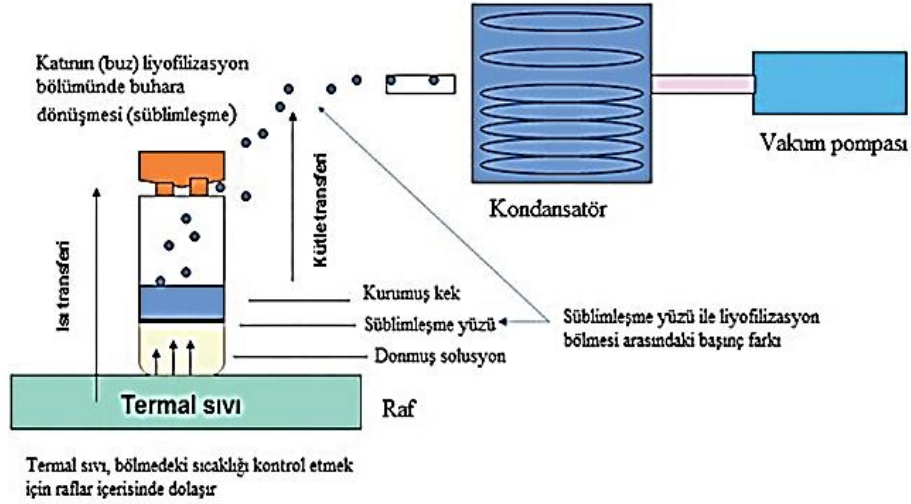
## 2.2 Liyofilize İlaç Formu

Organik maddeden suyun uzaklaştırılması sürecini tanımlayan liyofilizasyon, artık dünya çapında hem sağlık hem de gıda endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. "Liyofilizasyon" terimi, "kuru hali seven" bir ürün üretme sürecini tanımlar. Ancak bu terime dondurma işlemi dahil değildir. Bu nedenle, Liyofilizasyon ve dondurarak kurutma birbirinin yerine kullanılsada, dondurarak kurutma daha açıklayıcı bir terimdir. Prensip olarak süblimasyon faz değişimi kullanılır. Süblimleşme, katı bir maddenin (buz) sıvı fazdan (su) geçmeden doğrudan buhara dönüşmesidir. Süblimasyon, aşağıdaki Şekil 2.2’de su fazı diyagramında gösterildiği gibi düşük basınç gerektirir.



Şekil 2.2 Faz diyagramı

Ürünleri dondurarak kurutmak için kullanılan ekipmanlara dondurarak kurutucular veya liyofilizatörler denir [18]. Liyofilizatör bölümlerinin şematik çizimi ve kurutma süreci Şekil 2.3’de gösterilmiştir [19].



**Şekil 2.3** Liyofilizatör bölümlerinin şematik çizimi ve kurutma süreci

Liyofilizatör özet olarak 3 ana bölümden oluşmaktadır; raf bölümü, buz kondansatör ve vakum pompası. Ürünler flakon veya ampullere doldurulmuş olarak raf üzerine eşit olarak yerleştirilir. Bir raf içerisinde ısı transferini sağlayan ve düşük sıcaklıklarda akışkan halini koruyan sıvı dolaşmaktadır. Buz kondansatör, soğutma teknolojisi sayesinde yaklaşık 80 °C dereceye kadar soğuma gerçekleştirerek düşük basınç oluşturur ve süblimleşen su buharının raf bölümünden kondansatör bölümüne akışını sağlar. Vakum pompası, birinci ve ikinci kurutma aşamasında ürün üzerindeki basıncın atmosfer basıncının altına düşürmek için kullanılır.

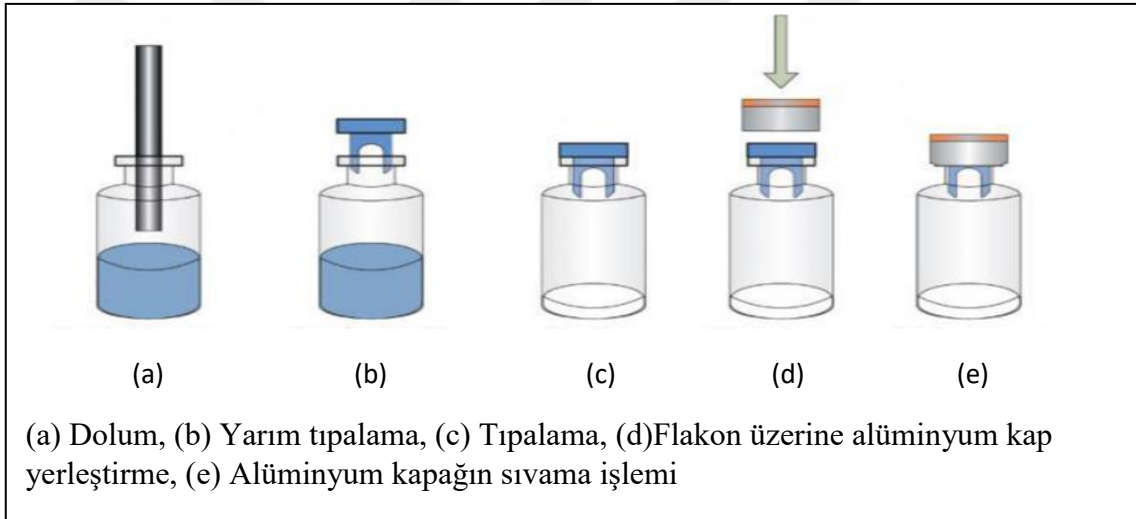
Pek çok parenteral ilaç, özellikle biyofarmasötikler, çözelti içinde, kullanıma hazır sıvı dozaj formlarda hastaya sunulmayacak kadar kararsızdır. Bu tür ilaçlar çözeltiler halinde doldurulabilir veya dondurma ve düşük basınçlı ortamda kurutma işlemi ile, çözücüyü ve çözülmüş bileşenlerde kalan kristal nemi uzaklaştırdığı ve bunun sonucunda yeterince uzun vadede stabiliteye sahip kuru bir toz elde edilen bir flakona yerleştirilebilir. Rekombinant DNA teknolojisinin ortaya çıkmasıyla, dondurma işlemi parenteral endüstrisinde daha fazla ilgi görür hale gelmiştir. Proteinler, peptitler ve diğer aktif biyolojik bileşiklerin genellikle klinik ve ticari kullanım için liyofilize edilmesi gereklidir.

Halihazırda pazarlanan biyofarmasötiklerin yaklaşık % 50'si, en yaygın formülasyon stratejisini temsil eden liyofilize edilmiştir [20]. Dondurularak kurutmak katı halde, kimyasal veya fiziksel bozunma reaksiyonları inhibe eder veya yeterince yavaşlatır, bu

da uzun vadeli bir kararlılığın iyileştirilmesiyle sonuçlanır [21]. Daha iyi stabilite avantajının yanı sıra, liyofilize formülasyonlar ayrıca nakliye ve depolama sırasında kolay kullanım sağlar [22].

### 2.2.1 Liyofilizasyon Adımları

Steril panteral ilaç üretim prosesine uygun olacak şekilde; üretim ekipmanlarına ve hammadde miktarına göre belirlenen proses validasyon boyutunda veya ticari boyutta çözelti hazırlanır. Sırası ile hazırlanan karışım uygun birincil ambalaj malzemesine (flakon, ampul, v.s.) doldurulur, atmosferik basınçta dondurma yapılır, vakum altında birincil kurutma (süblimasyon) yapılır, vakum altında ikincil kurutma yapılır, kısmi vakum altında tıpalama yapılır ve kurutulmuş ürün liyofilizatörden çıkarılır. Flakon dolumundan kapama aşamasına kadar gerçekleşen süreç Şekil 2.4'te gösterilmiştir.



**Şekil 2.4** Flakon dolumundan kapama aşamasına kadar gerçekleşen süreç

#### a) Dondurma Basamağı

Liyofilizatöre yüklenen ürünün su kısmının ve çözülmüş veya disperse halindeki hammaddelerin dondurulma işleminin gerçekleştiği aşamadır. Çözelti, süspansiyon veya emülsiyon halindeki solüsyon ötektik noktanın veya camsı geçiş sıcaklığının altındaki sıcaklıkta sıvı formdan katı forma geçer. Bu noktada ürün tamamen dondurulmuş olmalıdır. Dondurma basamağı ürünün liyofilize toz yapısının (literatürde liyofilize ürünler için kek terimi kullanılmaktadır) kalitesini etkileyen önemli bir basamaktır.

### **b) Birincil Kurutma Basamağı**

Bu adımda, donma aşamasında oluşan buz kristallerinin süblimleşmesini başlatmak için cihazın haznesindeki basınç düşürülür ve ısı uygulanır [7,23]. Cihazın ürünlerin yüklendiği raf haznesindeki basıncı bir vakum pompası ile düşürülür. Bu basamakta kritik nokta kurumanın gerçekleşeceği sıcaklığın tespitidir. Sıcaklık, çökme sıcaklığının (“collapse temperature”) birkaç derece altında olmalıdır. Bu sıcaklığın doğru belirlenmemesi, ürünün kek yapısında erimeler meydana gelmesine neden olabilir. Bu durum ürün kalitesini etkileyerek, bitmiş ürünün kalite kabul kriterlerinin dışında kalarak ürünün imhasına kadar giden bir sürece neden olabilir. Kurumanın en fazla sağlandığı basamak birincil kurutma basamağıdır.

### **c) İkincil Kurutma Basamağı**

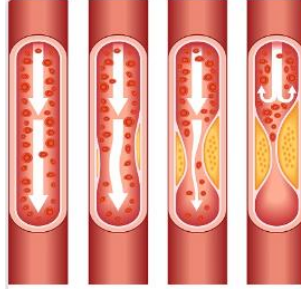
Buz kristali yapısındaki su moleküllerinden arınmış olarak elde edilen toz formundaki üründe bulunan bağlı nemin uzaklaştırıldığı basamaktır. Bu aşamada sıcaklık genellikle 0°C derecenin üzerindedir. Ürün vakum uygulanarak kurutmaya devam edilir. Belirlenecek sıcaklığın elde edilen liyofilize tozun (kek) stabilitesini etkileyecek ve bozulmasına neden olacak seviyelerin üzerine çıkarılmaması gereklidir.

## **2.3 Cangrelor (Kangrelor) Tetrasodyum**

Kardiyovasküler ve koroner rahatsızlıklar dünya genelinde halk sağlığını olumsuz yönde etkileyen ölümcül hastalıklardandır. Amerika Birleşik Devletleri'nde her 40 saniyede bir kişi ve her yıl yaklaşık 805.000 kişi kalp krizi geçiriyor [24]. Klinik göstergeler, tiyenopiridin olmayan purinerjik reseptör antagonistlerinin aspirin veya klopidogrel direnci olan hastalarda alternatif bir tedavi yaklaşımı olabileceğini göstermektedir [25].

Cangrelor (AR-C69931MX), parenteral, geri dönüşümlü bir ADP reseptör antagonistidir. Oldukça selektif olan bu ilaç kısa süreli uygulanmaktadır [25]. Cangrelor, tikagrelor benzeri P2Y<sub>12</sub> reseptörünü geri dönüşümlü olarak inhibe eden ve metabolik aktivasyon gerektirmeyen parenteral bir ilaçtır. 3 ila 4 dakikalık kısa bir yarı ömre sahiptir [26]. Trombositler, kanda bulunan ve kümeleşerek kanın pıhtılaşmasına yardımcı olan çok küçük hücrelerdir. Pıhtılar bazen, kalpteki atardamar gibi hasar görmüş bir kan damarının içinde oluşabilir. Pıhtı, kan akışını engelleyebileceğinden (trombotik olay) ve kalp krizine yol açabileceğinden (miyokard enfarktüsü) oldukça tehlikelidir [27]. Kalp hastalığı olan

bir kişinin atardamarlarında plak biriktiğinde kan akışının bloke olması Şekil 2.5'te gösterilmiştir



**Şekil 2.5** Kalp hastalığı olan bir kişinin atardamarlarında plak biriktiğinde kan akışının bloke olması

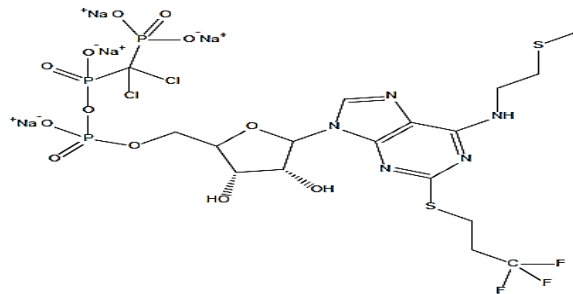
Cangrelor trombositlerin kümeleşmesini azaltır ve kan pıhtısı oluşumunu önler. Cangrelor'da ayrıca hızlı bir geri dönüşüm vardır ve 60 dakika sonra normal seviyelerde trombosit agregasyonu geri döner [26]. Bu özellik ameliyat gerektiren durumlarda operasyon esnasında kanama riskini azaltır. Hastaya cerrahi olarak daha hızlı müdahale edilebilir.

### 2.3.1 Cangrelor (Kangrelor) Tetrasodyum Özellikleri

Molekül Adı: Cangrelor Tetrasodyum

IUPAC ismi: Cangrelor Tetrasodyum; [dichloro(phosphonato)methyl]-[[[(2R,3S,4R,5R)-3,4-dihydroxy-5-[6-(2-methylsulfanylethylamino)-2-(3,3,3-trifluoropropylsulfanyl)purin-9-yl]oxolan-2-yl]methoxy-oxidophosphoryl]oxyphosphate

Molekül Yapısı:



**Şekil 2.6** Molekül yapısı

Moleküler Formül: C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>Cl<sub>2</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>Na<sub>4</sub>O<sub>12</sub>P<sub>3</sub>S<sub>2</sub>

Moleküler Ağırlık: 864,27 g/mol

CAS Numarası: 16370-636-3

Diğer Bilgiler: Beyaz veya beyazımsı toz.

Çözünürlük: Cangrelor Tetrasodyum suda çok çözünür, etanol ve asetonunda pratik olarak çözünmez ve metanolde çözünmez [28].

## 2.4 Kap Kapak Sistemi

Steril ürünlerin depolandığı paketler; birincil ve ikincil paketleme bileşenlerinden oluşur. İkincil ambalaj, steril çözelti ile doğrudan temas etmez ve ürünün tanımlanmasına ve nakliyesine yardımcı olur. Birincil ambalaj, steril ürünü ile direkt temas halinde olup ürünün sterilitesini korumakta ve aynı zamanda fiziksel ve kimyasal olarak dış etkenlerin ürünü etkilemesini engelleyen bir ortam oluşturmaktadır. Ampuller, şişeler, şırıngalar, flakonlar, enjeksiyon kartuşları, kauçuk ve plastik kapaklar birincil ambalaj malzemesi olarak kabul edilebilir. Birincil ambalaj malzemesi steril olmalı ve GMP gerekliliklerine göre tahrip olmamış partikül içeren öğeler içermemelidir. Steril ürün paketleme sistemleri, formülasyonla yakın temas halinde olan cam, kauçuk ve plastik malzemelerden oluşur. Şekil 2.6’da paketleme sistemleri örnekleri gösterilmiştir.



**Şekil 2.7** Steril farmasötik ürünlerin paketleme sistemleri

Bu malzemeler, formülasyonun stabilitesini önemli ölçüde etkileyebilir [29]. Birincil ambalaj seçiminde kimyasal etkileşimlerin olmasının istenmemesinin yanında mikrobiyolojik olarak ta ürünü koruması beklenmektedir. Paketleme sistemi seçimlerinde göz önünde bulundurulması gereken en önemli konulardan biridir. Birincil ambalajın

ürünü mikrobiyal anlamda koruduğu, ürün stabilitesi boyunca belirlenen aralıklarla yapılan Bioburden (Biyolojik Yük Testi) testinin sonuçları sunulmaktadır.

Uzun vadeli kimyasal geçimlilik, nihai olarak, genellikle ilaç ürünü stabilite testinin bir parçası olarak gerçekleştirilen ekstrakte edilebilir/sızabilir maddelerin tespiti çalışmalarını içerir [30].

## 2.5 Ekstrakte Edilebilir ve Sızabilir Maddeler

Ekstrakte edilebilir maddeler, genellikle kuvvetli solventlerin veya yüksek sıcaklıkların varlığını gerektiren bir ambalaj malzemesinden ekstrakte edilebilen bileşiklerdir. [31]. Ekstrakte edilebilir maddeler depolama şartlarında sızabilir madde oluşturma potansiyeline sahiptir. Sızabilir maddeler, normal koşullar altında malzeme ile ürün formülasyonu arasındaki etkileşim nedeniyle ambalaj malzemesinden ilaç ürünü formülasyonuna sızan bileşiklerdir. Sızabilir maddeler (SM), ekstrakte edilebilir maddelerin (EEM) bir alt kümesidir. Bu bileşiklerin kaynakları arasında plastik bileşenler, elastomerler, kaplamalar, hızlandırıcılar, antioksidanlar, mürekkepler ve sertleştirici maddeler bulunur [31]. Doğru tasarlanmış bir çalışmada Şekil 2.8 de gösterildiği sızabilir maddelerin ekstrakte edilebilir maddelerin alt kümesi olacak şekilde kapsmalıdır.



**Şekil 2.8** Sızabilir maddelerin ekstrakte edilebilir maddelerin alt kümesi olduğunun gösterimi

Kap-kapağından veya herhangi bir ürün temas yüzeyinden ürüne geçebilen bileşikler, her zaman ürün geliştirme araştırmacıları ve paketleme mühendislerinin endişe kaynağı olmuştur. İyi Üretim Uygulamaları (GMP) düzenlemeleri, "ilaç paketleme ve kapaklarının, ilacın güvenliğini, kimliğini, gücünü, kalitesini veya saflığını resmi veya yerleşik gerekliliklerin ötesinde değiştiren reaktifler, katkı maddeleri veya emiciler içermemesini" gerektirir [32].

EEM kontrolü, farmasötik ve biyoteknoloji/biyolojik ürünlerin üreticileri ve düzenleyicileri için önemlidir, çünkü belirli bir konsantrasyonun üzerindeki sızabilen safsızlıklar hasta güvenliği ve/veya ilaç uyumluluğu sorunlarına neden olabilir. 1980'lerde, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), hastaların sızabilir madde duyarlılığını ve sızabilir madde ilgili diğer potansiyel güvenlik endişelerini fark ettikten sonra farmasötik ürünlerdeki sızabilir maddeleri resmi ve kapsamlı bir şekilde ele almaya başlamıştır [32-33].

Orijinal ürün ve jenerik ürün ruhsat başvurularında istenilen bilgilerin kapsamı etkin maddenin canlı vücuduna alım yoluna göre değişiklik göstermektedir. Parenteral ilaçlar ve solunum yolu ile alınan ilaçların paketleme sistemi ile ilgili istenecek bilgiler katı ve oral yol ile alınan ilaçların paketleme sistemi hakkında istenecek bilgiler ile aynı detaya sahip olması beklenmeyecektir. Tablo 2.4'te paket bileşenleri ve dozaj formları arasındaki etkileşim olasılığı ile farklı ilaç sınıfları için uygulama yolu endişeleri arasındaki ilişkiyi göstermektedir [8].

**Tablo 2.4** Yaygın ilaç ürünleri sınıfları için paketleme endişelerine örnekler

Uygulama Yoluyla İlişkili Endişe Derecesi	Ambalaj Bileşeni-Dozaj Formu Etkileşim Olasılığı		
	Yüksek	Orta	Düşük
En Yüksek	İnhalasyon Aerosoller ve Çözeltiler; Enjeksiyonlar ve Enjekte Edilebilir Süspansiyonlar	Steril Tozlar ve Enjeksiyonluk Tozlar; İnhalasyon Tozları	

**Tablo 2.4** Yaygın ilaç ürünleri sınıfları için paketlenme endişelerine örnekler(devamı)

Yüksek	Oftalmik Solüsyonlar ve Süspansiyonlar; Transdermal Merhemler ve Yamalar; Nazal Aerosoller ve Spreyler		
Düşük	Topikal Çözümler ve Süspansiyonlar; Topikal ve Dilsel Aerosoller; Oral Solüsyonlar ve Süspansiyonlar	Topikal Tozlar; Oral Tozlar	Oral Tabletler ve Oral (Sert ve Yumuşak Jelatin) Kapsüller;

Parenteral ilaç sınıfında olan liyofilize tozlar katı toz formunda ve flakon tıpası ile liyofilize kek arasında mesafe olması nedeni ile temas olasılığı düşüktür. Bu nedenle endişe verme durumu orta derecedir.

Butiller ve halobutiller, parenteral farmasötik kapaklar için en yaygın olarak kullanılan elastomerlerdir ve çeşitli gazların elastomerik matris boyunca düşük difüzyonu nedeniyle uzun süreli parenteral saklama için mükemmeldir [30]. Bu polimerler, uzun raf çeperi ile boşluk bırakmadan sıkışabilir olduğu için uygundur. Bu sayede ilacın üzerinde, flakon içerisinde bulunan inert gazların (Azot vb.) alanını muhafaza edebilirler ve ilacı oksitleyebilen ve etkisiz hale getirebilen atmosferik oksijenin girişini önleyebilirler. Bütiller/halobütiller, iyi oksijen koruması sağlamanın yanı sıra su buharı geçişine karşı da iyi bir bariyer sağlar. Son yıllarda biyobenzer/biyoteknolojik ilaçların geliştirilmesi ile beraber etilen tetrafloroetilen (ETFE) copolimer kaplı bütül kauçuk tıpların kullanımı yaygınlaşmıştır. ETFE bariyer filmlili bir tıpa kullanmak, aktif bileşenler, koruyucular ve tampon sistemlerinin elastomerden EEM'leri çıkarması sonucunda proteinin açılmasına neden olabilecek agregasyonu ve ilaç bozunma riskini azaltabilir. Bu durum yüksek etkili/düşük konsantrasyonlu biyoteknolojik ilaç ürünlerinin tam gücünü ve raf ömrünü

korumak için önemli bir fayda sağlar [34].

Uçucu, yarı uçucu, uçucu olmayan ve elementel E&L maddelerini tanımlamak ve ölçmek için kullanılan başlıca analitik teknikler, Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS), Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (LC-MS) ve İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresidir (ICP-MS) [35]. Ekstrakte edilebilir bileşikleri keşfetmeye, tanımlamaya ve miktarını belirlemeye yönelik analitik yöntemler Tablo 2.5'da gösterilmektedir [36].

**Tablo 2. 5** Ekstrakte edilebilir bileşikleri keşfetmeye, tanımlamaya ve miktarını belirlemeye yönelik analitik yöntemler

<b>Analitik Yöntem</b>	<b>Analitler</b>	<b>Ölçüm Hassasiyeti</b>
GS/FID	Uçucu organik moleküller (kaynama noktası <300 °C)	ppm
GC/MS	Uçucu organik moleküller (kaynama noktası <300 °C)	ppb-ppm
LC-MS	Organik/inorganik moleküller (polar, hetero içeren atomları O, N, vb.)	ppm-ppb
HPLC	UV absorbansına sahip moleküller	ppm
ICP-MS	Element safsızlıkları (W, Al, Si, vb.)	ppb
SEC-ELSD	Silikon yağı (kantitasyon/viskozite)	ppm
LC-ELSD	Uçucu olmayan ekstrakte edilebilir maddelerin toplam miktarını tahmin etmek için dedektör	ppm
NMR	Organik molekül	>>ppm

Birçok farmasötik ürün, polar ve apolar bileşenler içerir. Birim formülde kullanılanlar arasında stabilizatörler, çözüdürücü maddeler, şelatlayıcı maddeler, tamponlar, lipid içeren ürünler, proteinler, peptidler ve kandan türetilen ürünler içeren biyoteknoloji ürünleri "sulu" ilaç ürünleri olarak yer alırlar. Bu tür ürünler, "ekstrakte etme güçlerini" belirleyen karakteristik bir polariteye sahiptir. Bu nedenle, uygun simule edici solvent, ilaç ürünü ile eşleşen bir polariteye sahip olmalıdır. Karışabilen çözücülerin (alkol/su gibi) ikili karışımları, bu tür ilaç ürünlerini taklit etmek için kullanılmıştır. İyi bir ekstraksiyon çalışması, polimer matrisini yumuşatabilen, şişirebilen veya çözebilen ve nicel seviyelerde katkı maddeleri ve diğer kimyasal varlıkları serbest bırakabilen nispeten

güçlü organik solvent sistemleri ile elde edilir. Tablo 2.6'de belirli paketleme bileşenlerine göre olası ekstraksiyon ortamları gösterilmiştir [11].

**Tablo 2. 6** Belirli paketleme bileşenlerine göre olası ekstraksiyon ortamları

<b>Ambalaj Bileşeni</b>	<b>Ekstraksiyon Ortamı</b>
Doz solunum cihazı contası (MDI formülasyonu 1,1,1,2-tetrafloroetan ve etanol içerir)	Sulu olmayan çözücüler (örn. Diklorometan İzopropanol Heksan)
Kuru toz inhaler ağızlık	Su (tamponlanmamış) İzopropanol
Küçük hacimli parenteral flakon kauçuk tıpa (pH 6,5'te tamponlanmış sulu formülasyon)	Su (pH 5,2) Su (pH 9,5) İzopropanol: su (50:50)
Büyük hacimli parenteral plastik torba (pH 7.2'de tamponlanmış sulu formülasyon)	Su (pH 5,2) Su (pH 9,5) İzopropanol: su (50:50)

## **2.6 Literatürde Ekstrakte Edilebilir Maddeler ve Sızabilir Maddeler ile İlgili Yapılan Çalışmalar**

M. Gotardo ve M. Monteiro (2005) yaptıkları çalışmada; dietilheksil fitalatın (DEHP) yaygın kullnıma sahip olan büyük hacimli parenteral infüzyonluk çözeltilerin taşınması ve saklanması birincil ambalaj olarak kullanılan polivinil klorür (PVC) polimerinden oluşan serum torbasından, % 0,9 sodyum klorür içeren çözeltiye ve 2,5 mg/ml ve 0,5 mg/ml konsantrasyonda siklosporin içeren % 0,9 sodyum klorür içeren çözeltiye DEHP'nin sızabilir madde olarak bulunup bulunmadığı araştırmışlardır. PVC torbalar 1 gr olarak kesilmiştir ve 20 mL aseton kullanılarak 12 dk ultrasonik banyoda ekstrakte edilmiştir. Çözücü buharlaştırılmış ve kalan tortular 50 ml heksan ile çözeltiye alınarak GC-FID'de analiz edilmiştir. Analiz sonucu oluşan pik DEHP olarak tanımlanmıştır. 5 mL % 0,9 NaCl çözeltisi ve siklosporin içeren % 0,9 NaCl çözeltisi hekzan ile ekstrakte edilmiştir. GC-FID'de analiz edilmiştir. 0,20-0,25 gr PVC torba parçaları kesilmiştir ve üzerine 20 mL % 0,9 sodyum klorür içeren çözelti ve % 0,9 sodyum klorür çözeltilerinde 2,5 mg/ml ve 0,5 mg/ml konsantrasyonda hazırlanan siklosporin çözeltileri eklenmiştir. Bu çözeltilerden 6 saate kadar yarım saatte bir, 12 saate kadar olan sürede saatte bir numune alınmıştır. Aynı koşullar altında bekletilen su kör numune olarak kullanılmıştır. Analizler GC ve FID, 60 m uzunluk x 0,25 mm çap., 0,25 m film kalınlığında bir DB-5

(J&W Scientific, Folsom, ABD) kapiler kolonu kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 100°C ve 10°C/dk sıcaklık artışı ile 280°C son sıcaklığa programlanmıştır. Sonuçlar, DEHP'nin suya ve serum fizyolojik çözeltilisine sızmadığı bulunmuştur. Ayrıca, PVC torba ile seyreltilmiş siklosporin çözeltilisinden 3 saatlik temas sonrasında ölçülebilir miktarda DEHP geçmediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, sızan DEHP miktarı 4 saat sonra ölçülebilir bir düzeye ulaşmıştır, 6 saate artmış ve stabil olmuştur ve 9-10 saat sonra tekrar artarak 12 saatlik süre sonunda, her iki siklosporin konsantrasyonu için en yüksek DEHP seviyelerini gösterilmiştir. Sızan DEHP miktarı, çantada bulunanın DEHP miktarının % 0,02-0,08'i olduğu bulunmuştur [37].

D. Jenke ve arkadaşları (2013) elastomerik ve polimerik taşıma sistemlerinden ekstrakte edilebilir maddeleri karakterize etmek ve uygunluğunu belirlemek için çalışma yapmışlardır. Çalışmada kullanılacak birincil paket sistemleri oftalmik ve parenteral ilaçlarda kullanılan malzemelerden seçilmiştir. Kullanılan 5 malzeme; düşük yoğunluklu polietilen (LDPE), polivinil klorür (PVC), bromlu izobütülen-izopren kauçuk, polikarbonat (PC) ve bir siklik olefin kopolimeri (COC) olarak belirlenmiştir. Bu malzemelere ek olarak sterilizasyon işlemi uygulanmamıştır. Ekstraksiyon işleminde kullanılmak üzere çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltiler hem oftalmik ürünlerde hem de enjeksiyonluk çözeltilerde kullanılan pH değerlerinin en uç örneklerini temsil etmektedir. Bu çözeltilere ek olarak kullanılacak çözücüler, organik maddeleri çözebilecek organik çözücülerden seçilmiştir. Düşük pH değerindeki ürünleri temsil etmek için su çözeltilisi, 0,01 M KCl ve 0,003 M HCl kullanılarak pH değeri 2.5'e ayarlanmıştır. Yüksek pH değerine sahip farmasötik ürünleri temsil etmek için pH değeri 9,5 olan fosfat tamponu kullanılmıştır. Diğer sulu bir çözelti olarak su/izopropil (1:1) karışımı kullanılmıştır. Organik çözücü olarak hekzan ve izopropil alkol seçilmiştir. Her bir birincil ambalaj malzemesi 5 gr olarak tartılmış ve her bir çözelti ile sokslet ekstraksiyonu (2-3 saat), sifon içeren sokslet ekstraksiyonu (16-24 saat), sonikasyon ile ekstraksiyon (0°-2 saat), kapalı taşıyıcı içerisinde (121°C otoklav-1 saat), kapalı tüp içerisinde (55°C-3 gün) ve 1 gr numune ile headspace (80°C-2 saat) olarak ekstraksiyon çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen analiz örnekleri GC/FID, GC/S ve LC/UV/MS analitik yöntemlerle analiz edilmiştir. Sonikasyon yöntemi ve kapatılmış kaptaki ekstraksiyon işlemi yapılan numuneler ICP/MS cihazı ile de analiz edilmiştir. Su ile hazırlanan test numunelerinde kullanılan sistem: Folsom GC DB-5HT kolon; 30 mx 0,25 mm, 0,1 µm, Agilent 6890 MS-dedektör, GC fırın sıcaklığı: 40°C/1dk, GC rampa sıcaklığı: 10°C/dk final Sıcaklığı:

280°C, final bekletme sıcaklığı:310oC/3dk, gaz akışı: 1,0 ml/dk, FID sıcaklık: 350°C'dir. Seyreltme yapılmamıştır. Oganik solvent ile hazırlanan test numunelerinde kullanılan sistem: Folsom GC DB-5HT kolon; 30 mx 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent 6890 MS-dedektör, GC fırın sıcaklığı: 50°C/1dk, GC rampa sıcaklığı: 12°C/dk, final Sıcaklığı: 315°C, final bekletme sıcaklığı: 310oC/16dk, gaz akışı: 1,2 ml/dk, 1:5 seyreltme yapılmıştır. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde kullanılan solvent ve kullanılan birincil ambalaj malzemesine göre potansiyel sızabilecek ekstrakte edilebilir maddeler tanımlanmıştır. Ürün geliştirme süreçlerinde seçilecek birincil ambalaj malzemesine karar vermeyi kolaylaştırıcı bilgiler elde edilmiştir [38].

Steven A. Zdravkovic (2017) Sıvı formda kararız oldukları için liyofilize formda üretilerek uzun raf ömrüne sahip parenteral ilaç ürünlerinin hazırlanmasında kullanılan farmasötik ambalaj malzemesinden gelecek ekstrakte edilebilir ve sızabilir maddelerin kalitatif ve kantitatif karakterize edilmesindeki belirsizlik alanında çalışma yapmıştır. Farklı polariteye sahip izopropanol/su çözeltileri (v/v) izopropanol oranları %10, %25, %40, %55 ve %70 bileşen varlığında bütül kauçuk tıpa ile katı faz ekstraksiyonu sonucu elde edilen çözeltideki EEM ve antibiyotik içeren liyofilize toz formundaki ilaçtan çözeltiye geçen EEM tayinleri yapılmıştır. Kullanılan flakon ve tıplar liyofilize formdaki ilaçta kullanılan kaynaktan temin edilmiştir. Tıpalardan ve tekrar sulandırılmış farmasötik üründen potansiyel ekstrakte edilebilir maddelerin belirlenmesi için hedeflenen oligomerlerin kalitatif ve kantitatif analizlerine uygun bir yöntem olan tek iyon izleme gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (SIM-GC/MS) valide etmiştir. Katı test numuneleri 0,5 gr tartılarak 5 ml daha önce farklı oranlarda hazırlanan izopropil/su çözeltileri, potasyum klorür çözeltisi ve aktif karbon içeren çözeltiler ile karıştırılmıştır. Saf su ile tekrar sulandırılan ilaç ürünü tıpa ile temas etmesi için ters olarak ve diğer numuneler 16 hafta 40°C de bekletilmiştir. Belirli zaman periyotları ile test numuneleri alınarak analiz edilmiştir. Hazırlanan test numunelerinde kullanılan Sistem: Agilent 7890A GC, 5975C MS-dedektör, kolon: HP-5MS 30 m x 0,25 mm, 0,25 µm, GC fırın sıcaklığı: 40°C/1dk, GC rampa sıcaklığı: 10°C/dk, final sıcaklığı:280°C, final bekletme sıcaklığı:320C/1dk, gaz akışı: 1.0 ml/dk. Yapılan çalışmalar sonucunda katı ve sıvı ekstraksiyonlarında kullanılan çözeltilerin polaritesinin önemli olduğu bilgisi elde edilmiştir. Liyofilize ilaç ürünüde kullanılan birincil paketleme ürününden, farklı polaritedeki çözeltiler kullanılarak kalitatif ve kantitatif elde edile EEM görülürken, saf su ile çözüldürülerek 16 hafta 40°C'de bekletilen ürünlerde, ürüne sızan SM maddeler

tespit edilmemiştir. Matematiksel bir ilişki kullanılarak liyofilize ilaç ürününün ekstraksiyon gücünün 50/50 izopropil /su solüsyonuna eşdeğer olduğu belirlenmiştir [39].

S.A. Zdravkovic (2020), depolama sırasında ilaca safsızlık ekleme potansiyeli olan kauçuk tıpların ve liyofilizasyon sürecinin SM eğilimini nasıl etkilediği araştırılmıştır. Bu çalışmada 12 adet liyofilize formda ürün ve 12 adet çözelti formda ürün üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Satışı en çok yapılan ve kolay ulaşılabilen ürünler seçilmiştir. İlaç ürünü ile tıpa arasındaki dengenin sağlanması için farklı zaman noktalarından numune alınmıştır. Ürünler 40°C sıcaklıkta bekletilmiştir. İlk numuneler 46. gün, ikinci numuneler ilerleyen 28. günde alınmıştır. İlk 48 gün liyofilize ürünler düz bekletilirken son 28 günde ters çevrilmiştir. Likit ürünler her zaman ters bekletilmiştir. EEM tayini için her bir tıpa malzemesi etil asetat kullanılarak geri ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilmiştir. Analizler için GC-MS kullanılmıştır. Tıpa ekstraktları doğrudan kullanılırken tekrar sulandırılan liyofilize ilaç ürünleri ve sıvı ilaç ürünlerinde kullanılan tıplar için katı faz ekstraksiyonu yapılarak analiz edilmiştir. Katı faz ekstraksiyonu için saf su, % 40 izopropil alkol çözeltisi, düşük ve yüksek pH değerine sahip çözeltiler kullanılmıştır. Çalışmanın hedefi aynı kaplarda saklanan liyofilize ürünler ile sıvı formdaki ürünlerin EEM ve SM açısından potansiyellerinin karşılaştırılması olmuştur. Tespit edilen sızabilir maddeler niceliksel değerlere ulaşmamıştır. Niteliksel olarak SM'ler ilaç ürününün içerdiği maddelere bağlı olmaksızın bütül kauçuk tıpa matriksine bağlı olduğu gözlemlenmiştir. Sıvı formdaki ve toz formdaki ürünlerin içerisindeki SM'lerin kantitatif tayinin yapılabileceği seviyeden az olduğu için kalitatif olarak değerlendirilmiş ve liyofilize formundaki ilaç ürününün oligomerik maddeler açısından ilgisinin daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bunun nedenin çözelti formdaki preparatın içerdiği suyun tıpadaki hidrofobik uzun zincirli karbon yapılarına karşı itici bir güç oluşturması ve su içermeyen liyofilize toz ürünün hidrofobik yapılaraya karşı bariyer oluşturmaması çıkarımında bulunulmuştur. Bu veriler USP <1664> tarafından verilen paketlenme şekilleri ve dozaj formları arasındaki etkileşim olasılığı ile farklı ilaç sınıfları için uygulama yolu endişeleri arasındaki ilişkiyi gösteren tablonun tekrar tartışmaya açılması önerisinde bulunulmuştur [40].

### 3.1 Kimyasallar

Deneysel çalışmalarda kullanılan tüm hammaddeler Avrupa Farmakopesi hammadde monograflarına uygun derecede kullanılmaktadır. Etkin madde Cangrelor tetrasodyum (OLON S.P.A, İtalya), yardımcı madde mannitol (Roquette, Fransa), sorbitol (Roquette, Fransa) ve pH ayarlayıcı olarak sodyum hidroksit (Merck, Almanya), çözücü ve solvent olarak enjeksiyonluk su (şirket içinde hazırlanmıştır), izopropanol, amonyum format, formik asit ve pH 9,5 tampon çözeltisi Merck'ten temin edilmiştir.

### 3.2 Cihazlar

Cangrelor tetrasodyum içeren liyofilize kek formundaki ilaç ürünü geliştirme çalışmalarında liyofilizatör (Tofflon/ LYO-0.5 L) ve Freeze-drying microscopy (LINKAM 14102-0106 ) kullanılmıştır. Analitik çalışmalarda GC/MS (Agilent 7697A GC - 5977B MS-dedektör-kolon: HP-5MS 30 m x 0,25 mm, 0,25 µm) ve LC/Q-TOF (Agilent 6546 ), kolon X Terra MS - C18, 150 mm x 3.0 mm, 3.5 µm kullanılmıştır.

### 3.3 Prosedür

#### 3.3.1 Liyofilize Ürün Çalışmaları

Cangrelor Tetrasodyum'un çözünürlüğü, ardışık ekleme yöntemi ile farklı pH değerlerinde suda belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki Tablo 3.1'te rapor edilmiştir. Cangrelor tetrasodyum, araştırılan herhangi bir pH değerinde suda serbestçe çözünür.

**Tablo 3.1** Cangrelor tetrasodyum'un ardışık ekleme yöntemi ile farklı pH değerlerindeki çözünürlüğü

<b>Çözücü</b>	<b>Çözünürlük</b>
Su	Serbest Çözünür
Su (pH 1)	Serbest Çözünür
Su (pH 4)	Serbest Çözünür
Su (pH 7)	Serbest Çözünür
Su (pH 8)	Serbest Çözünür
Su (pH 10)	Serbest Çözünür

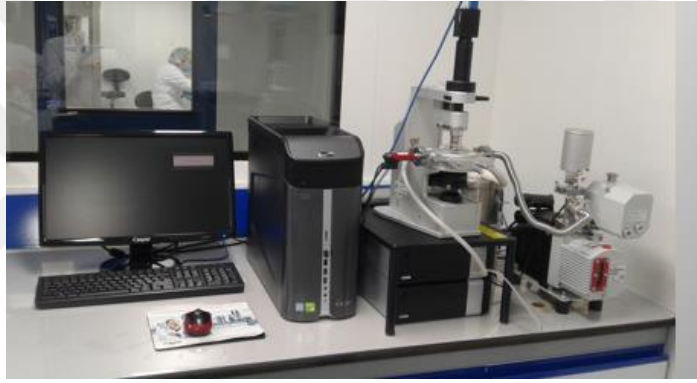
Cangrelor tetrasodium etkin maddesi içeren liyofilize toz, orijinal ürün olan KENGREAL (Cangrelor) for Injection//Chiesi-USA ile eşdeğer olacak şekilde tasarlanmıştır. Kullanılan yardımcı maddeler Avrupa Farmakopesi monografında yer almaktadır. Etkin maddeler ile ilgili herhangi bir geçimsizlik bildirilmemiştir. Literatür araştırmaları, internet araştırmaları, ürün kullanma talimatı bilgileri neticesinde, etkin madde ve yardımcı madde oranları (Etkin madde: mannitol: sorbitol (1:3:1)) belirlenerek, müstahzarımızın hazırlanma süreci başlatılmıştır. İlaç çözeltisi inert gaz altında etkin ve yardımcı hammaddelerin enjeksiyonluk suda çözeltisi oluşturulduktan sonra pH kontrolü ve pH ayarlama işlemlerini hacim tamamlama takip ederek bitmiş ürün prosesi gerçekleştirilmiştir.

**Tablo 3.2** İlaç formülasyonunda kullanılan hammaddeler

<b>Cangrelor Tetrasodium Etkin Madde İçeren Liyofilize Toz</b>	<b>KENGREAL (Cangrelor) Enjeksiyon için Liyofilize Toz</b>
Cangrelor tetrasodyum (1)	
Mannitol (1:3)	Mannitol
Sorbitol (1:1)	Sorbitol
Sodyum Hidroksit	Sodyum Hidroksit

Birincil ambalaj malzemesinin belirlenmesi için kullanılacak bütül kauçuk ve ETFE kaplı bütül kauçuk tıpa ile yapılacak EEM ve SM analizlerinin yapılacağı numuneler bitmiş ürün ile aynı koşullarda üretiminin yapılması gerekmektedir. Bu doğrultuda öncelikli

olarak bitmiş ürüne uygulanacak kurutma basamakları belirlenmiştir. EEM ve SM analizlerinin yapılacağı numuneler liyofilizatöre (Tofflon/ LYO-0,5 L) yüklenerek liyofilizasyon yapılacaktır. Bu işlem için öncelikle liyofilizasyon işleminde uygulanacak sıcaklık değerleri belirlenmiştir. Uygun kek yapısının oluşabilmesi için KENGREAL referans ürüne ait bilgilerden faydalanılarak formülasyon tasarımı yapılmış seriye ait numuneler (Cangrelor 50 mg İnfüzyonluk/ Enjeksiyonluk Çözelti için Konsantre Liyofilize Toz (Üretim parti numarası: CAN-LYO1) LINKAM 14102-0106 Freeze-drying microscopy ile ön liyofilizasyon denemesi yapılmıştır ve uygun reçete belirlenmiştir. Kullanılan Freeze-drying mikroskop cihazına ait görsel Şekil 3.1 de sunulmuştur.



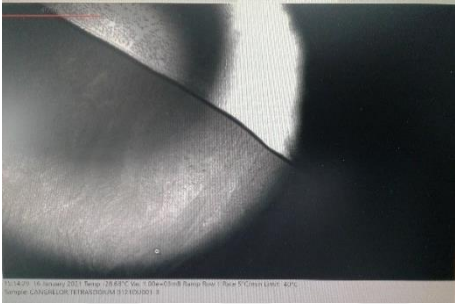


**Şekil 3.1** Freeze-drying mikroskop

Çökme (collapse) sıcaklığının belirlenmesi için Tablo 3.3'deki sıcaklık değerleri ile ön Liyofilizasyon cihazında komut oluşturulmuştur. Çözelti damlacığı mikroskopta gözlenmiştir. Değişen sıcaklık ve vakum değerlerine karşı göstermiş olduğu faz değişimleri bu kritik sıcaklığı belirlememize ve liyofilizasyon reçetesinin oluşmasına yardımcı olmuştur. Mikroskop ile yapılan gözlemler video ile kayıt altına alınmıştır. Görseller Tablo 3.4 te verilmiştir.


**Tablo 3.3** Freeze-drying mikroskop cihazında uygulanan reçete

İşlem	Sıcaklık °C	Rampa Süresi/dk	Bekleme/dk	Vakum/ mbar
Başlangıç	25	-	-	-
Dondurma	-50	5	5	-
1. Kurutma	0	2	3	0,01 mbar
2. Kurutma	30	2	3	0,01 mbar

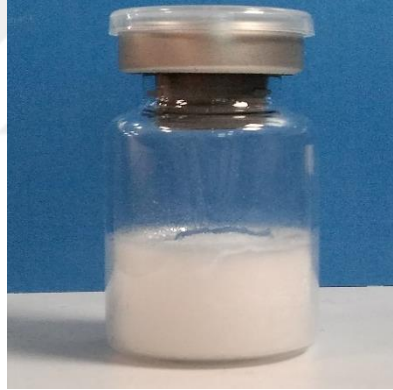
**Tablo 3.4** Çökme (collapse) sıcaklığının tayinine ait görseller

Freeze-Drying Microscopy Görselleri	Açıklama
	Çözeltinin donduğu görsel (-50°C)
	1. Kurumanın başladığı görsel (-29°C)
	1. Kurutmanın çökme sıcaklığına yaklaştığı görsel (-20°C)

**Tablo 3.4** Çökme (collapse) sıcaklığının tayinine ait görseller (devamı)

	Çökme noktasından sonraki görsel (-19°C)
---	---

Freeze-drying mikroskop kullanılarak Cangrelor Tetrasodyum içeren çözeltinin çökme noktası  $\sim -19^{\circ}\text{C}$  derece olarak gözlemlenmiştir.  $-19^{\circ}\text{C}$  derecede ve onun altında 1. Kurutmanın yapılması bozuk kek yapısı elde edilmesi ile sonuçlanacaktır. Bu bilgilerden faydalanılarak geçimlilik numunelerine uygulanacak reçetede; ürün dondurma sıcaklığı  $-50^{\circ}\text{C}$ , 1. Kurutma aşaması  $-20^{\circ}\text{C}$  derecede ve 2. Kurutma aşaması  $30^{\circ}\text{C}$  derece olarak belirlenmiştir. Elde edilen ürün Şekil 3.2 de gösterilmiştir.



**Şekil 3.2** Liyofilizasyon sonrası elde edilen bitmiş ürün

### 3.3.2 Ekstrakte Edilebilir ve Sızabilir Maddelerin Ekstraksiyonu

Bitmiş ürün ve primer ambalaj malzemeleri için gerçekleştirilen çalışmalar 3 kısımdan oluşmaktadır:

- Primer ambalaj malzemelerinden termal bozundurma ile elde edilen maddelerin tespiti,
- Primer ambalaj malzemelerinden solvent ekstraksiyonu ile elde edilen maddelerin tespiti,

- c. İki farklı sıcaklıkta ters konumda bekletilen kapak ile temaslı numunelerden elde edilen maddelerin tespiti,
- d. Solvent ekstraksiyonlarına ait LC/Q-TOF analizleri.

Çözücüler, birincil ambalaj sistemi ile ilaç formülasyonu arasındaki potansiyel etkileşimlerle ilgili ekstrakte edilebilir maddeleri kapsayacak bir dizi polarite sağlayan USP <1664> ve USP <1663> yönergelerine uygun olarak seçilmiştir. Seçilen çözücüler, sulu ilaç formülasyonu ile (en kötü durum simülasyonu) karşılaştırıldığında daha yüksek çözücü gücüne sahiptir. Birincil ambalajın bu katı koşullarla işlenmesi, her çözücü ile 4 saat boyunca Soxhlet ekstraksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. İlk olarak birincil ambalaj malzemeleri herhangi bir çözücü ile işlem görmeden Headspace GC-MS ile yüksek sıcaklığa maruz bırakılarak uçucu ve yarı uçucu bileşenleri incelenmiştir. IPA (% 50) ve pH 9,5 tampon kullanılarak belirtilen zamanlarda Soxhlet ekstraksiyonu yapılmış ve uçucu ve yarı uçucu bileşenler GC-MS ile, uçucu olmayan bileşenler ise LC/Q-TOF ile incelenmiştir. Her çalışma için uygun olan kör çözücülerle aynı koşullarda çalışılmıştır.

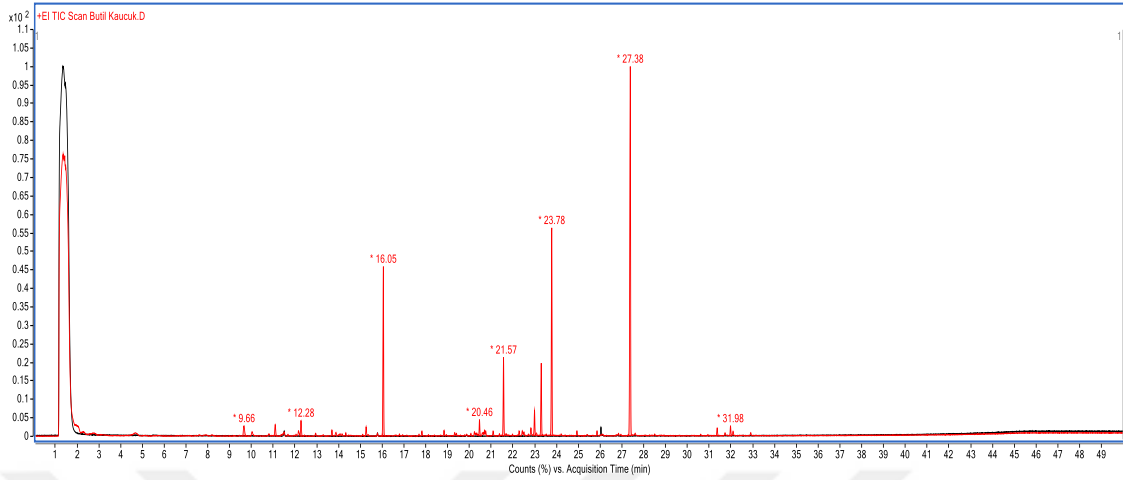
#### **a) Primer Ambalaj Malzemelerinden Termal Bozundurma İle Elde Edilen Maddelerin Tespiti**

İlk olarak birincil ambalaj malzemeleri (bütül kauçuk ve ETFE kaplı bütül kauçuk tıpa) herhangi bir çözücü ile işlem görmeden Headspace GC-MS ile 80°C sıcaklığa maruz bırakılarak uçucu ve yarı uçucu bileşenler incelenmiştir. MS spektrumlarının MS kitaplıkları eşleştirilmesi ile tanımlamaları yapılmıştır.

<b>GC Fırın sıcaklığı:</b>	5 dk. 40°C/1dk
<b>GC Rampa Sıcaklığı:</b>	10°C/dk
<b>Final Sıcaklığı:</b>	320°C
<b>Final Bekletme Sıcaklığı:</b>	32 <sup>0</sup> C/1dk
<b>Gaz Akışı:</b>	1,5 ml/dk (12000 psi)
<b>Split:</b>	5:1
<b>MS parametreleri:</b>	Full Scan, m/z: 15 - m/z: 400

Bileşiklerin tanımlanması, NIST veri tabanından alınan kütle spektrumları ile karşılaştırılarak sağlanmıştır. Birincil ambalaj malzemelerine ait ilgili kromatogramlar Şekil 3.3-Şekil 3.4 ve NIST kütüphanesi eşleştirme sonuçları Tablo 3.5 ve Tablo 3.6 'de

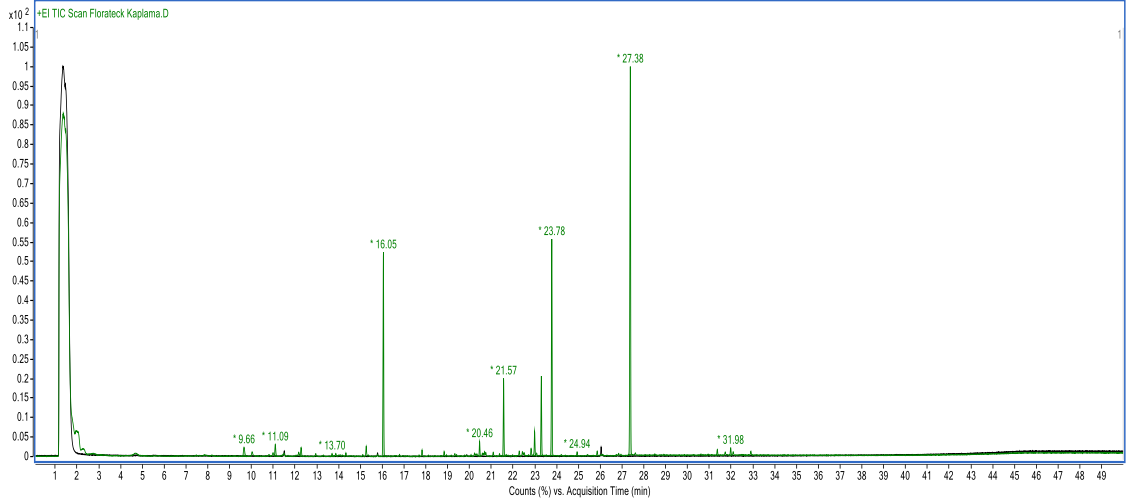
verilmiştir. Tablo 3.7’da NIST veri tabanından alınan elde edilen molekül yapıları gösterilmiştir.



**Şekil 3.3** Butil kauçuk tıpa termal bozunma headspace gc-ms kromatogramı (kırmızı), boş kromatogram (siyah) ve NIST tarama sonuçları

**Tablo 3.5** Butil kauçuk tıpa termal bozunma headspace gc-ms kromatogramı (kırmızı), boş kromatogram (siyah) ve NIST tarama sonuçları

Zaman	Bileşik İsmi	Molekül Formül	CAS Numara
9.66	2-bromo-oktan	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> Br	557-35-7
11.09	2-oktanon	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	111-13-7
12.28	2-Norbornanton, 1,3,3-trimetil	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> S	875-06-9
13.69	Benzen, 1-metil-3-(1-metilenil)	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub>	1124-20-5
16.05	1H-Naftalen-2-on,3,4,5,6,7,8-hekzahidro-4a,8a-dimetil	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O	---
20.46	Siklododekanon, 2-metilen	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O	3045-76-9
21.57	4-t-Bütül-2-(1-metil-2-nitroetil) sikloheksanon	C <sub>13</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>	---
22.99	1-Bromo-3-(2-bromoetil) heptan	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> Br <sub>2</sub>	---
23.3	Hamile-4-en-1,20-dion, 12-hidroksi 16,17-dimetil	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	---
23.78	Bütillenmiş Hidroksitoluen	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	128-37-0
27.38	Dekan, 5,6-bis(2,2-dimetilpropiliden), (E, Z)	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub>	55712-56-6
31.37	2-Dodesen-1-ii l (-) süksinik anhidrit	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>	19780-11-1

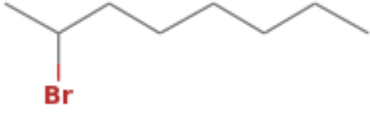
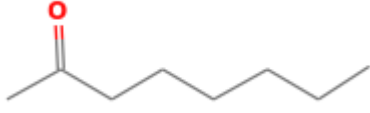
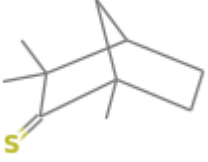
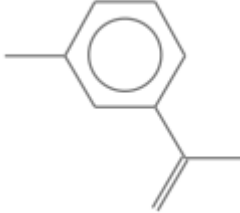
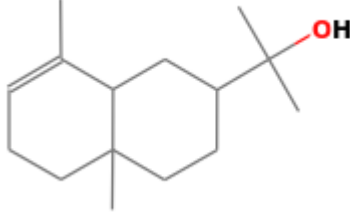
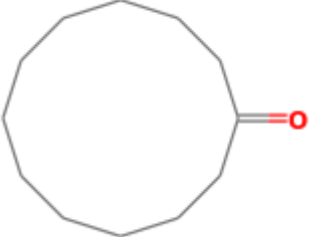


**Şekil 3.4** Florotec kaplama kapak termal bozundurma Headspace GC-MS kromatogramı (yeşil), blank kromatogramı (siyah) ve NIST tarama sonuçları

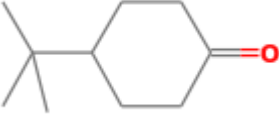
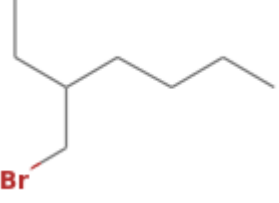
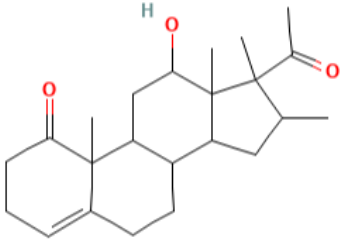
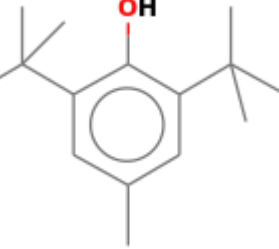
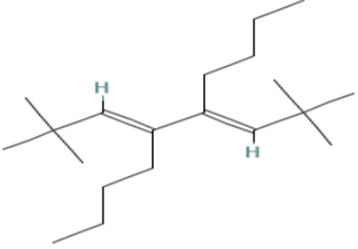
**Tablo 3.6** Florotec kaplama kapak termal bozundurma Headspace GC-MS kromatogramı (yeşil), blank kromatogramı (siyah) ve NIST tarama sonuçları

Zaman	Bileşik İsmi	Molekül Formül	CAS Numara
9.66	2-bromo-oktan	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> Br	557-35-7
11.09	2-oktanon	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	111-13-7
12.28	2-Norbornanton, 1,3,3-trimetil	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> S	875-06-9
13.69	Benzen, 1-metil-3-(1-metiletlenil)	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub>	1124-20-5
16.05	1H-Naftalen-2-on,3,4,5,6,7,8-hekzahidro-4a, 8a-dimetil	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O	---
20.46	Siklododekanon, 2-metilen-	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O	3045-76-9
21.57	4-t-Bütil-2-(1-metil-2-nitroetil) sikloheksanon	C <sub>13</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>	---
22.99	1-Bromo-3-(2-bromoetil) heptan	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> Br <sub>2</sub>	---
23.3	Hamile-4-en-1,20-dion, 12-hidroksi-16,17-dimetil	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	---
23.78	Bütillenmiş Hidroksitoluen	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	128-37-0
27.38	Dekan, 5,6-bis(2,2-dimetilpropiliden), (E, Z)	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub>	55712-56-6
31.37	2-Dodesen-1-i l (-) süksinik anhidrit	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>	19780-11-1
31.98	1-Bromo-4-bromometildekan	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> Br <sub>2</sub>	61639-11-0

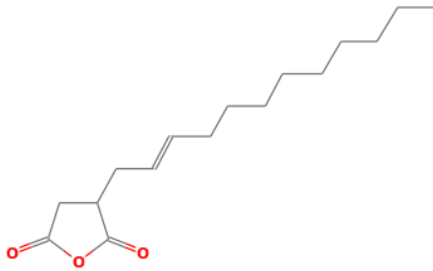
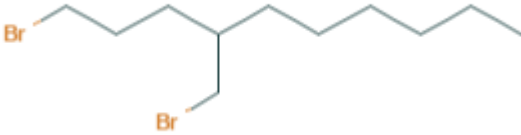
**Tablo 3.7** Ekstrakte edilebilir maddelerin molekül yapıları

Bileşik İsmi	Molekül Yapısı
Oktan, 2-bromo-	
2-oktanon	
2-Norbornanton, 1,3,3-trimetil-	
Benzen, 1-metil-3-(1-metiletenil)-	
1H-Naftalen-2-on,3,4,5,6,7,8- heksahidro-4a,8a-dimetil-	
Siklododekanon, 2-metilen-	

**Tablo 3.7** Ekstrakte edilebilir maddelerin molekül yapıları (devamı)

<p>4-t-Bütil-2-(1-metil-2-nitroetil) sikloheksanon</p>	
<p>1-Bromo-3-(2-bromoetil) heptan</p>	
<p>Pregn-4-en-1,20-dion, 12-hidroksi-16,17-dimetil-</p>	
<p>Bütillenmiş Hidroksitoluen</p>	
<p>Dekan, 5,6-bis(2,2-dimetilpropiliden)-, (E, Z)-</p>	

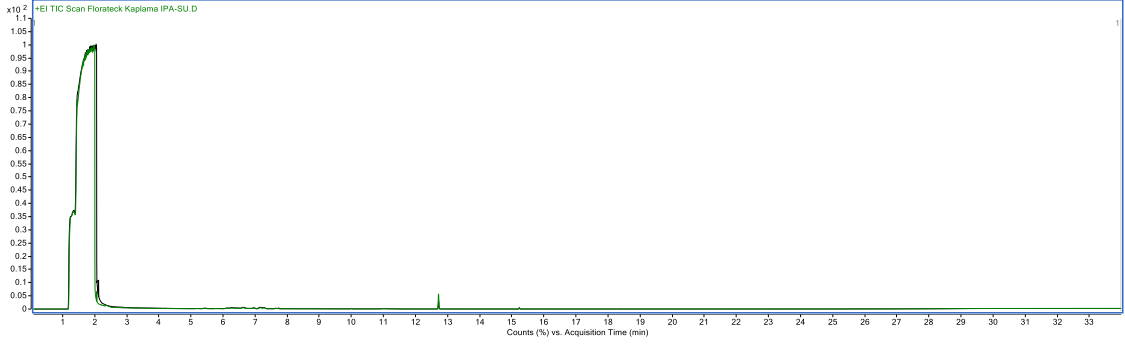
**Tablo 3.7** Ekstrakte edilebilir maddelerin molekül yapıları (devamı)

2-Dodesen-1-i 1 (-) süksinik anhidrit	
1-Bromo-4- bromometildekan	

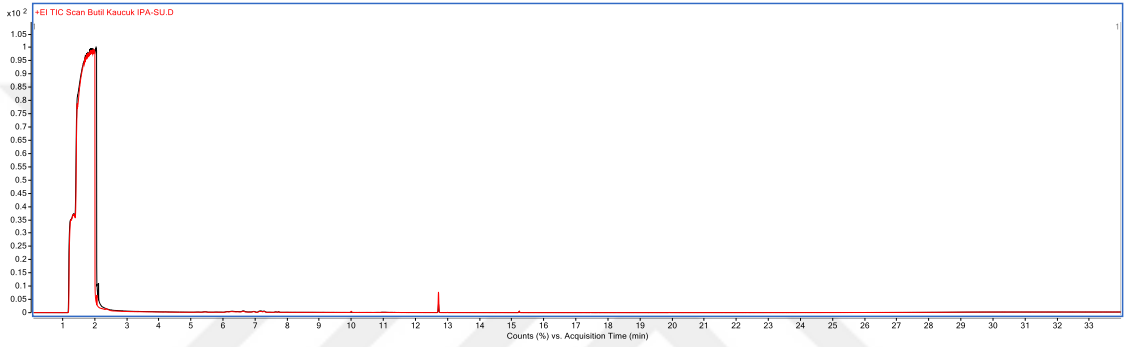
#### b) Birincil Ambalaj Malzemesinden Solvent Ekstraksiyonu ile Elde Edilen Maddelerin Tespiti

Bir birincil ambalaj malzemelerinde kullanılan tıplar ufak parçalara ayrılarak 250 ml'lik balon içerisine alınmıştır. Literatür taramalarından elde edilen bilgiler ve geliştirilen liyofilize ürünün fiziko kimyasal özellikleri değerlendirilerek belirlenen 200 mL izopropil alkol: su çözeltisi ilave edilmiştir. 4 saat geri soğutucu altında 100°C derecede soxhlet ekstraksiyonu yapılmıştır. Süre sonunda solvent soğutulmaya bırakılmıştır. Soğuyan solventten 1 ml headspace vialine alınarak aşağıdaki koşullar altında doğrudan GC-MS ile analiz edilmiştir. Ekstraksiyon çalışması sonrası GC 'ye enjekte edilen numunelere ait kromatogramlar Şekil 3.5' ten Şekil 3.8'e kadar verilmiştir.

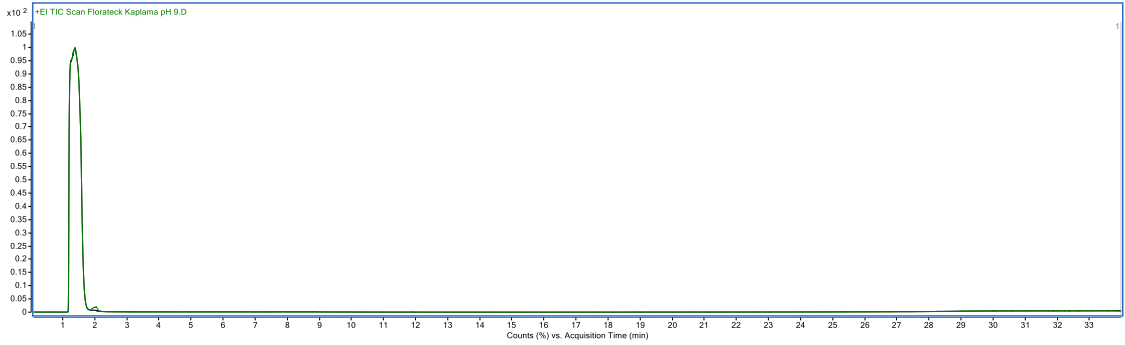
<b>GC Fırın Sıcaklığı:</b>	5 dk. 40°C/1dk
<b>GC Rampa Sıcaklığı:</b>	10°C/dk
<b>Final Sıcaklığı:</b>	320°C
<b>Final Bekletme Sıcaklığı:</b>	32°C/1dk
<b>Gaz Akışı:</b>	1,5 ml/dk (12000 psi)
<b>Split:</b>	5:1
<b>MS Parametreleri:</b>	Full Scan, m/z: 15 - m/z: 400



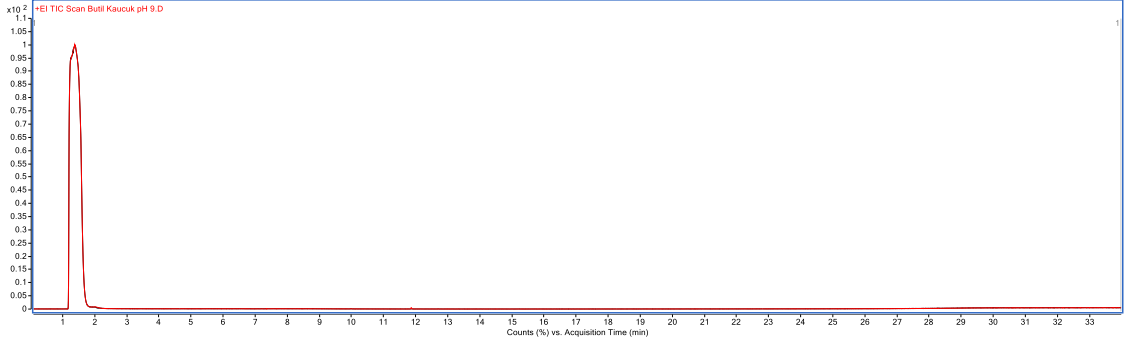
**Şekil 3.5** Florotec tıpanın IPA-su ile ekstraksiyonu (yeşil) ve IPA-su blank (siyah) karşılaştırılmış kromatogram



**Şekil 3.6** Bütil tıpanın IPA-su ile ekstraksiyonu (kırmızı) ve IPA-su blank (siyah) karşılaştırılmış kromatogram



**Şekil 3.7** Florotec tıpanın ph=9.5 ile ekstraksiyonu (yeşil) ve ph=9.5 blank (siyah) karşılaştırılmış kromatogram

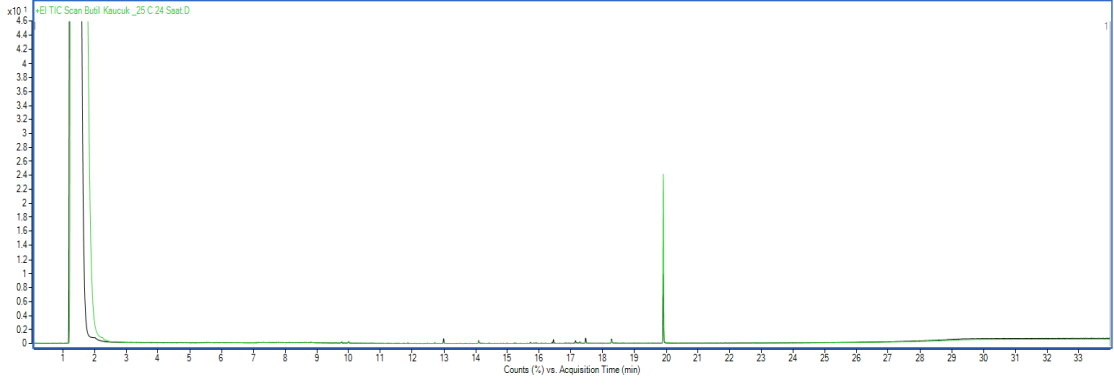


**Şekil 3.8** Bütil tıpanın ph=9.5 ile ekstraksiyonu (kırmızı) ve ph=9.5 blank (siyah) karşılaştırılmış kromatogram

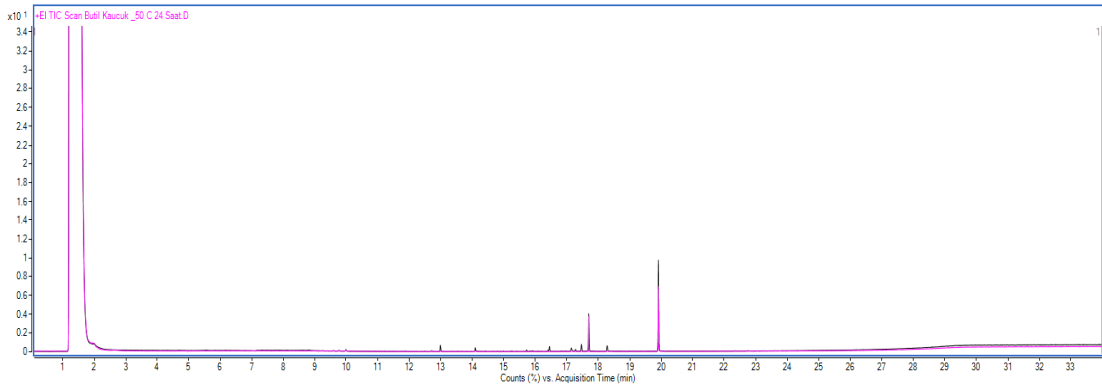
### c) Birincil Ambalaj Malzemesinden Solvent Ekstraksiyonu ile Elde Edilen Maddelerin Tespiti

Cangrelor tetrasodyum içeren liyofilize toz ilaç ürünleri iki gruba ayrılmıştır. Bütil kauçuk ve ETFE kopolimer kaplı bütil kauçuk tıpa ile kapatılmış ilaç ürünü içeren flakonlar, yaklaşık 30 gün süreyle 25°C ve 50°C'de inkübe edilmiştir. Bu süre boyunca, liyofilize edilmiş formülasyonlar ters çevrilmiş bir pozisyonda tutulmuştur. Hızlandırılmış stabilite şartlarında bekleyen numuneler sızabilir maddelerin tayini için hazırlanmıştır. İlk 30 günlük bekleme süresinin tamamlanmasından sonra liyofilize ilaç ürünü su kullanılarak tekrar çözündürülmüş ve ekstrakte edilebilir maddelerin tayininde kullanılan analiz yöntemi uygulanarak GC-MS sonuçları karşılaştırılmıştır. Eş zamanlı olarak blank çözelti olarak taze hazırlanmış ve birincil ambalaj tıpası ile temas ettirilmemiş cangrelor tetrasodyum içeren liyofilize toz ürünü kullanılmıştır.

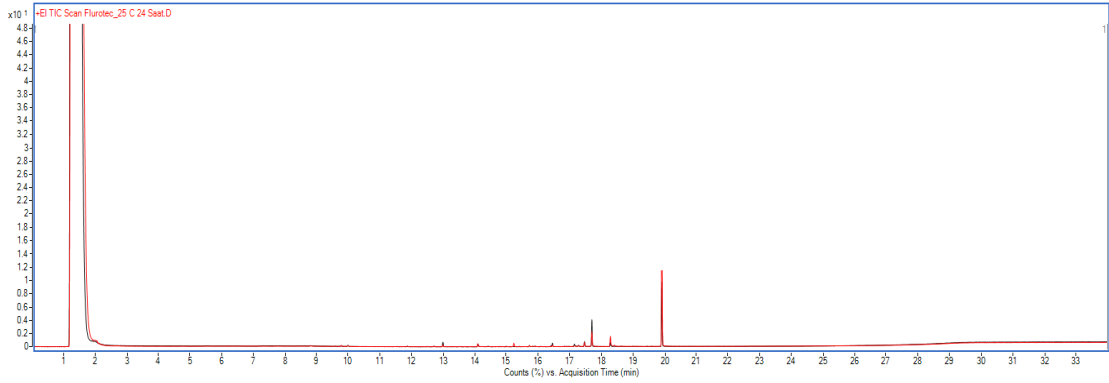
- ❖ 25°C'de 30 gün bekletilen bütil kauçuk tıpa ile temas ettirilen ürün sulandırılarak 24 saat oda koşullarında ters çevrilmiştir. (Numune A)
- ❖ 50°C'de 30 gün bekletilen bütil kauçuk tıpa ile temas ettirilen ürün sulandırılarak 24 saat oda koşullarında ters çevrilmiştir. (Numune B)
- ❖ 25°C'de 30 gün bekletilen ETFE kaplı stoper temas ürünü oda koşullarında 24 saat sulandırılarak ters çevrilmiştir. (Numune C)
- ❖ 50°C'de 30 gün bekletilen ETFE kaplı stoper temas ürünü oda koşullarında 24 saat sulandırılarak ters çevrilmiştir. (Numune D)
- ❖ Birincil ambalaj ile temashlı çözeltilerin GC-MS 'e enjekte edilen numunelere ait kromatogramlar Şekil 3.9 ve Şekil 3.12 arasında gösterilmiştir.



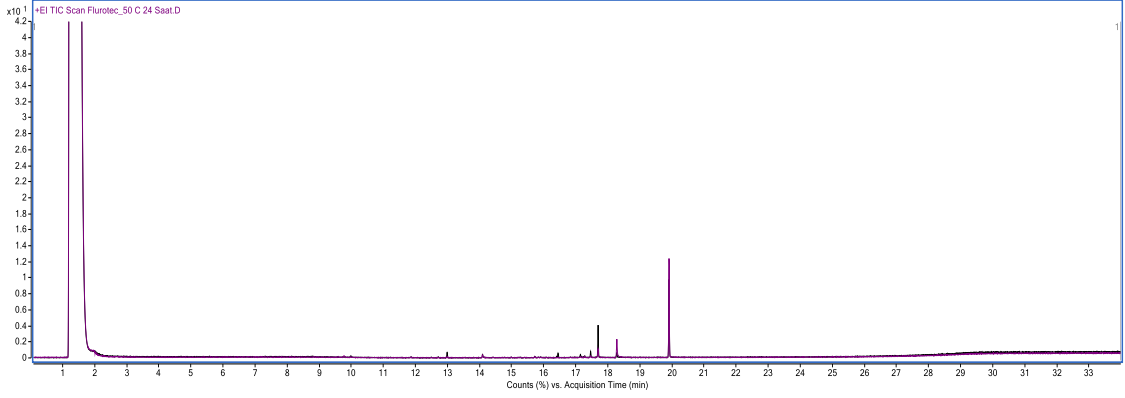
Şekil 3.9 Numune A (yeşil) ve blank çözelti (siyah)



Şekil 3.10 Numune B (pembe) ve blank çözelti (siyah)



Şekil 3.11 Numune C (kırmızı) ve blank çözelti (siyah)



**Şekil 3.12** Numune D (mor) ve blank çözelti (siyah)

#### **d) Solvent Ekstraksiyonuna Ait LC/Q-TOF Analizleri**

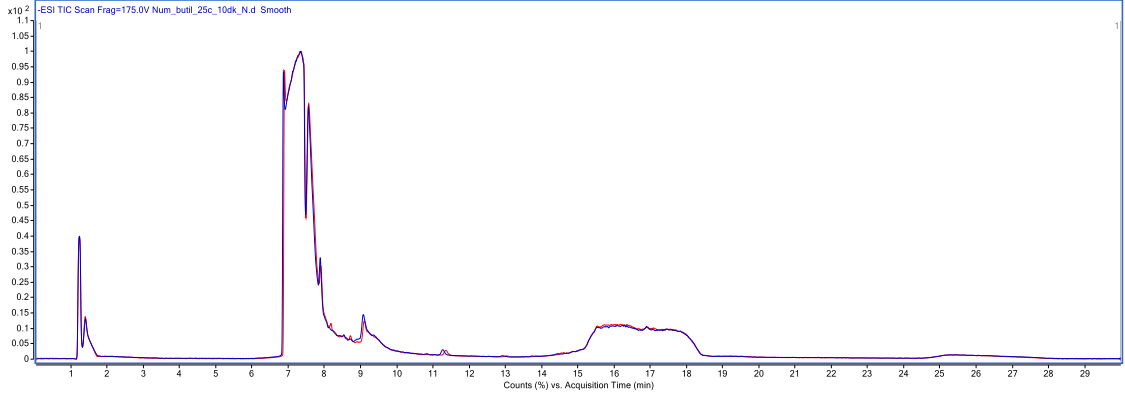
Cihaz parametrelerinde de belirtildiği üzere, daha önce belirtilen her solvent ekstraksiyonu hem pozitif hem de negatif MS tarama ile kontrol edilmiştir. Elde edilen tarama sonuçları LC/QTOF için MS Kitaplıkları ve Kişisel Bileşik Veritabanları (PCDL) ile kontrol edilmiştir. Farklı kütüphane kaynakları olmakla birlikte mevcut veri tabanında 1000'den fazla ekstrakte edilebilir ve sızabilir moleküle ait kütle spektrumları bulunmaktadır. GC-MS analizleri sonucunda elde edilen sızabilir maddelerin bitmiş ürün içerisinde bulunmadığı görülmüştür. Fakat daha hassas ölçüme sahip LC/Q-TOF analizleri ile bu sonuçların doğrulanması yapılmıştır. Yapılan ekstraksiyonlarla ilgili blank spektrumları ile karşılaştırıldığında cangrelor tetrasodyum enjeksiyonluk çözelti/infüzyon için konsantre liyofilize toz ürünümüzün birincil ambalaj malzemelerinden LC/Q-TOF ile tespit edilen ekstrakte edilebilir hiçbir madde tespit edilmemiştir. Çalışmanın amacı iki farklı özellikteki bütül kauçuk tıpanın karşılaştırması olduğu için bu çalışma Numune B ve Numune D'ye ait çözeltiler kullanılmıştır. Elde edilen kromatogramlar Şekil 3.13 ve Şekil 3.14'te gösterilmiştir.

**Cihaz Parametreleri:**

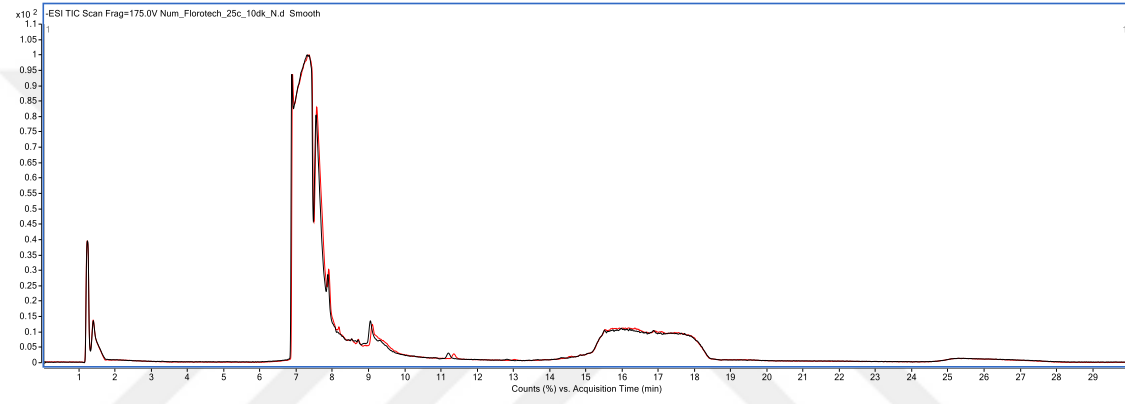
<b>İyon Kaynağı</b>	: Dual AJS ESI
<b>MS/MS Min Range (m/z)</b>	: 50
<b>MS/MS Max Range (m/z)</b>	: 1000
<b>MS/MS Scan Rate (spectra/sec)</b>	: 4.00
<b>İyon Modu</b>	: Pozitif ve Negatif
<b>Gaz Sıcaklığı</b>	: 280°C
<b>Gaz Akışı</b>	: 1,5 mL/dk.
<b>Nebulizer Basıncı</b>	: 35 psig
<b>Sheath Gaz Sıcaklığı</b>	: 200°C
<b>Mobil Faz-A (Pozitif Mod)</b>	: 10mM Amonyum Format - % 0,2 Formik Asit
<b>Mobil Faz-A (Negatif Mod)</b>	: 10mM Amonyum Asetat - % 0,2 Formik Asit
<b>Mobil Faz-B</b>	: Asetonitril
<b>Akış</b>	: 0,5 ml/dk.

**Tablo 3.8** Gradient Programı

<b>Zaman (dk)</b>	<b>Mobil Faz-A (%)</b>	<b>Mobil Faz-B (%)</b>
05:00	20	80
10:00	20	80
20:00	0	100
25:00	0	100
25:10	100	0
30:00	100	0



Şekil 3.13 Numune B (mavi) ve blank çözelti (siyah)



Şekil 3.14 Numune D (kırmızı) ve blank çözelti (siyah)

# 4

## SONUÇ VE ÖNERİLER

---

Cangrelor Tetrasodyum 50 mg Enjeksiyonluk Çözelti/ İnfüzyon için Konsantre Liyofilize Toz ürünümüzün takdiminde kullanılan ambalaj bileşenlerinde bulunabilecek ekstrakte edilebilirler maddeler kapsamında uçucu, yarı uçucu ve uçucu olmayan analitlerin ürün içerisine sızabilirliğinin tespiti amaçlı yapılan analitik çalışmaların sonuçları Uluslararası İnsan Kullanımına Yönelik İlaçlar için Teknik Gereksinimlerin Uyumlaştırılması Konseyi (ICH), U.S. Food and Drug Administration Guidance (FDA) ve European Medicines Agency Evaluation of Medicines for Human Use Guideline (EMA) kılavuzları göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir.

ICH (Uluslararası İnsan Kullanımına Yönelik İlaçlar için Teknik Gereksinimlerin Uyumlaştırılması Konseyi), Q3A Yeni İlaç Maddelerinde Safsızlıklar, Q3B Yeni İlaç Ürünlerinde Safsızlıklar, Q3C Safsızlıklar: Kalıntı çözücüler için Kılavuz, Q3D Elementel safsızlıklar ve M7 mutajenik safsızlıklar konularını kapsayan birçok kılavuz geliştirmiştir. 10 Temmuz 2020'de yönetim komitesi tarafından onaylanan ICH Q3E: Ekstrakte Edilebilir ve Sızabilirler (E&L) Kılavuzu uyarınca ekstrakte edilebilirler ve sızabilirlerin değerlendirilmesine ve kontrolüne ilişkin uluslararası olarak uyumlaştırılmış bir kılavuz bulunmamaktadır. Bu nedenle E&L için tanımlama, nitelendirme, raporlama eşikleri, güvenlik değerlendirmesi gibi konular açık uçlu konulardır. Bu mevcut boşluk, düzenleyici beklentileri karşılamak için E&L ile ilgili netlik eksikliği nedeniyle endüstri ve düzenleyiciler için belirsizlik yaratmaktadır. Mevcut olan bazı ambalajlama kılavuzları [ör. EC, Avrupa, FDA, Amerika Birleşik Devletleri] ve Ürün

Kalitesi Araştırma Enstitüsü (PQRI) gibi bazı gruplar belirli dozaj formları için öneriler üretmiştir.

ICH M7(R1) potansiyel karsinogenik riski sınırlamak için farmasötiginde DNA reaktif (mutajenik) zorunluklarının değerlendirilmesi ve kontrolü kapsamındaki kılavuzu, ilaç ürünü ambalajı ile ilişkili sızıntı yapan maddelere uygulanmasını amaçlamadığını, ancak bu kılavuzda potansiyel kanserojen riski sınırlamak için belirtilen güvenlik riski değerlendirme ilkelerinin gerektiğinde kullanılabileceğini yazmıştır. Bu açıklamaya göre ürünümüz, ürünümüze sızan ve ekstrakte edilebilir analitlerin ürünümüze sızması nedeniyle ürün güvenliği ve insan sağlığını tehdit etme riski kapsamında olası kanserojen riski sınırlandırmak için belirtilen güvenlik riski değerlendirme ilkelerine göre incelenmiştir. Bu kapsamda, ambalaj bileşeni plastik kısımlarına ait sertifikalara göre belirlenen ve ürüne sızan analit miktarının belirlenmesi için yapılan analiz sonuçları ICH M7 (R1) kılavuzuna göre değerlendirilmiştir.

Uluslararası İnsan Kullanımına Yönelik İlaçlar için Teknik Gereksinimlerin Uyumlaştırılması Konseyi (ICH), U.S. Food and Drug Administration Guidance (FDA) ve European Medicines Agency Evaluation of Medicines for Human Use Guideline (EMA) kılavuzları ekstrakte edilebilirler ve sızabilirlerin ilaç içerisine sızdığına bulunabilme sınırları tüm bu kılavuzlarda belirtilmiş olan sınırlara göre yapılan değerlendirmeler göz önünde bulundurulduğunda ürün güvenliğine olumsuz etki oluşturacak herhangi bir durum olmadığı yapılan bu detaylı çalışmalar ile kanıtlanmıştır. Cangrelor tetrasodyum içeren liyofilize toz ürünümüz referans ürün ile aynı fiziko-kimyasal özelliklere sahip olacak şekilde geliştirilmiştir. Ürünün yaşam döngüsü boyunca kalite değerlerinin korunması için birincil paketleme sisteminin en önemli etkenlerden biri olarak değerlendirilmiştir. Birincil paketleme sisteminin ve kullanılacak tıpanın ürün üzerindeki etkisinin incelenmesi için öncelik ile potansiyel risk oluşturan uçucu, yarı uçucu maddeler tespit edilmiştir. Bu değerlendirmeler bir birinin alternatifi olabilecek olan tıpa malzemeleri kullanılarak karşılaştırmalı olarak yürütülmüştür. Daha sonra ilaç ürününe bu tespit edilen maddelerin sızıp sızmadığı kontrol edilmiştir. Bu kontrollerin gerçek sonuçları yansıtması için ürünün, kendi saklama koşullarında ve stres koşullarında bekletilmiştir. Liyofilize toz formunda geliştirilen farmasötik ilaç ürünün hastaya uygulama şekline uygun olarak ürün tekrar sulandırılmış Birincil ambalaj malzemesi ile teması sağlanarak GS-MS sisteminde ve LC/QTOF-MS sisteminde ekstrakte edilebilir maddelerin sızıp sızmadığı araştırılmıştır. Eldedilen veriler incelendiğinde sızabilir

madde tespit dilmemiştir. Bu sonuçlar, bitmiş ürün olarak ilaç otoritelerinden alınacak ruhsat sonrası hastaların kullanımına sunulacak ürün güvenli olduğunu göstermiştir.

## KAYNAKÇA

---

- [1] D. Jenke, A. Odudu and P. Mitchell, “The effect of solvent polarity on the accumulation of leachables from pharmaceutical product containers,” *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 27, no.1, pp. 133–142, 2010.
- [2] D. Jenke, “Additive model for the evaluation of interactions between aqueous solutes and multi-component container materials,” *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, cilt 45, no. 5, pp. 223-238, 1991.
- [3] X. Tang and M. Pikal, “Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals: practical advice,” *Pharmaceutical Research*, vol. 21, no.1, pp. 191–200, 2004.
- [4] T. Jennings, *The Freezing Process*, in: *Lyophilization, Introduction and Basic Principles*, Interpharm Press, Englewood, USA, 1999.
- [5] N. Rathore and R.S. Rajan “Current perspectives on stability of protein drug products during formulation, fill and finish operations,” *Biotechnology Progress*, vol. 24, no. 3, pp. 504-514, 2008.
- [6] M Bouma, B Nuijen, G Sava, A Perbellini, A Flaibani, M.J van Steenberg, H Talsma, J.J Kettenes-van den Bosch, A Bult, and J.H Beijnen “Pharmaceutical development of a Parenteral lyophilized formulation of the antimetastatic ruthenium complex NAMI-A,” *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 248, no.1-2, pp. 247-259, 2002.
- [7] B. Deepak and Z. Iqbal, “Lyophilization-process and optimization for pharmaceuticals,” *International Journal of Drug Regulatory Affairs*, vol. 3, no. 1, pp. 30-40, 2015.
- [8] S.Hertz, “Organic analysis: A new frontier in analytical chemistry,” *Proceedings of the 9th Materials Research Symposium*, Washington, 1979.
- [9] Food and Drug Administration Guidance to Industry, “Container closure systems for packaging human drugs and biologics,” *ABD*, 1999 and 2002.

- [10] Food and Drug Administration Guidance to Industry, “Nasal spray and inhalation solution, suspension, and spray dried drug products,” ABD, 2002.
- [11] EMA, “Guidance to industry, plastic immediate packaging materials,” Amsterdam, 2005.
- [12] Food and Drug Administration 1663, “Assessment of extractable associated with pharmaceutical packaging and delivery systems,” ABD, 2015.
- [13] Food and Drug Administration 1664, “Assessment of extractable associated with pharmaceutical packaging and delivery systems,” ABD, 2015.
- [14] H. Bari, “Prolonged release parenteral drug delivery system – an overview,” International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, vol. 3, no.1, pp. 1-11, 2010.
- [15] R.Sheikh, T.R. Rajsingh, M.J. Garland, A.D. Woolfson and R.F. Donnelly, “Mucoadhesive drug delivery system,” Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences, vol. 3, no.1, pp. 89-100, 2011.
- [16] Parenteral Preparations, European Pharmacopoeia 8.0, pp. 796-797, 2020
- [17] Liyofilizasyon, <https://www.arifmalyer.com.tr/liyofilizasyon-freeze-drying-nedir/> 16.01.2023.
- [18] M.J. Akers, “Sterile drug products: formulation, packaging, manufacturing, and quality,” Informa Healthcare, UK, 2010.
- [19] G.P. Kumar, N. Prashanth and B.C. Kumari, “Fundamentals and applications of lyophilization,” Journal of Advanced Pharmaceutical Research, vol. 2, no.4, pp. 157-169, 2011.
- [20] H.R. Constantino, “Excipients of use in lyophilized pharmaceutical peptide, protein, and other bioproducts,” AAPS Press, USA, 2004.
- [21] J.F. Carpenter, M.J. Pikal, B.S. Chang and T.W. Randolph, “Rational design of stable lyophilized protein formulations: some practical advice,” Pharmaceutical Research, vol. 14, no.1, pp. 969-975, 1997.
- [22] X. Tang and M. Pikal, “Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals: practical advice,” Pharmaceutical Research, vol. 21, no.1 pp. 191-200, 2004.
- [23] T.W. Patapoff and D.E. Overcashier, “The importance of freezing on lyophilization cycle development,” Biopharm, vol.15, no.3, pp. 16-21, 2002.
- [24] W. Tsao, A.W. Aday, Z.I. Almarzooq, A.Z. Beaton, M.S. Bittencourt and A.K. Boehme, “Heart disease and stroke statistics-2022 update: A report,” American Heart Association. Circulation, vol. 145, no.8, pp. 153-639, 2022.

- [25] Y. Güray, Ü. Güray and Ş. Korkmaz, “Klopidogrel Direnci,” *Anadolu Kardiyol. Dergisi*, vol. 9, no.1, pp. 231-238, 2009.
- [26] V. Guvvala, V. Chidambaram Subramanian and J.S. Anireddy “A study on structural characterization of degradation products of cangrelor using LC/QTOF/MS/MS and NMR,” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 170, no.1, pp. 327-334, 2019.
- [27] KENGREXAL 50 mg enjeksiyonluk/ infüzyonluk çözelti hazırlamada kullanılacak konsantre için toz kullanma talimatı, <https://www.titck.gov.tr/kubkt>, 01.11.2022.
- [28] Pubchem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cangrelor>, 18.08.2019.
- [29] G.A. Sacha, K. Abram, W. Saffell-Clemmer and M.J. Akers, “Practical fundamentals of glass, rubber, and plastic sterile packaging systems,” *Pharmaceutical Development and Technology*, vol. 15, no.1, pp. 6–34, 2010.
- [30] W. Curry, S. Conway, C. Goodfield, K. Miller, R.L. Mueller and E. Polini, “Reducing the risk of contamination of sterile parenteral products via ready-to-use closure components,” *An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, vol. 11, no.1, pp. 1572-1579, 2010.
- [31] S.J. Kauffman, “Identification and risk-assessment of extractables and leachables,” *Pharmaceutical Technology*, vol.30, no.1, pp. 16–22, 2006.
- [32] D.J. Ball, D.L. Norwood, C.L.M. Stults and L.M. Nagao, “Leachables and extractables handbook: safety evaluation, qualification, and best practices applied to inhalation drug products,” New York, 2012.
- [33] G. Poochikian, “Leachables and extractables: evolution of regulatory aspects and perspectives on PQRI recommendations” *IPAC–RS 2011 Conference: Bringing Value to the Patient in a Changing World, USA*, 2011.
- [34] FluroTec Tipalar, <https://adelphi-hp.com/product-range/flurotec-stoppers>, 22.01.2023.
- [35] S. Gagandeep, L. Dujuan, L. Chongming and D. Hower, “Analytical challenges and recent advances in the identification and quantitation of extractables and leachables in pharmaceutical and medical products,” *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 141, no.1, pp.1-20, 2021.
- [36] K. Li, G. Rogers, Y. Nashed-Samuel, H. Lee, A. Mire-Sluis, and B. Cherney “Creating a holistic extractables and leachables (e&l) program for biotechnology products,” *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, vol. 69, no.5, pp. 590-619, 2015
- [37] M.A.Gotardo and M.Monteiro, “Migration of diethylhexyl phthalate from PVC bags into intravenous cyclosporine solutions,” *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, vol. 378, no.1, pp. 709-713, 2005.

- [38] D. James, J. Castner, T. Egert, T. Feinberg, A. Hendricker and C. Houston  
“Extractables characterization for five materials of construction representative of  
packaging systems used for parenteral and ophthalmic drug products,” PDA Journal  
of Pharmaceutical Science and Technology, vol. 67, no.1, pp.448-511, 2013.
- [39] S.A. Zdravkovic “Comparison of a lyophilized drug product to other solid and  
liquid media for the extraction of elastomeric oligomers from a butyl rubber  
stopper,” PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, vol. 71, no.6,  
pp. 488-501, 2017
- [40] S.A. Zdravkovic, “Comparison of the levels of rubber stopper-related organic  
leachables in commercially available vial liquid and lyophilized drug products,”  
Pharmaceutical Research, vol. 37, no.1, pp. 76-86, 2020.



## TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

---

### Makaleler

- [1] M. Ozturk, G. Gun, C. Toprak, M. Guleli, E. Dandan, C. Calışkan, E. Babunc and S. Kocaoba “Comparison of extractable and leachable studies of different stoppers materials used in lyophilized drug product,” World Journal of Pharmaceutical Research, vol. 12, no.1, pp. 23-33, Dec. 2022

### Projeler

- [1] G. Gun, Kardiyovasküler Hastalıkların Tedavisinde Kullanılan Cangrelor Etkin Maddeli İlk Yerli Liyofilize Ürünün Türkiye’de Geliştirilmesi, Proje Numarası: 3191358, TÜBİTAK, 2020.