



**ETKEN MADDESİ PİRASETAM OLAN İLACIN
AMPUL İÇİNDEKİ STABİLİTESİ VE STABİLİTE
KİNETİĞİ**

Yüksek Lisans Tezi

İlknur AKÇAKAYA

Eskişehir 2019

**ETKEN MADDESİ PİRASETAM OLAN İLACIN AMPUL İÇİNDEKİ
STABİLİTESİ VE STABİLİTE KİNETİĞİ**

İlknur AKÇAKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Berrin BOZAN**

**Eskişehir
Eskişehir Teknik Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Temmuz 2019**

ÖZET

ETKEN MADDESİ PİRASETAM OLAN İLACIN AMPUL İÇİNDEKİ STABİLİTESİ VE STABİLİTE KİNETİĞİ

İlknur AKÇAKAYA

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Temmuz, 2019

Danışman: Prof. Dr. Berrin BOZAN

Kimyasal adı 2- (2-oksopirolidin-1-il) asetamid ve molekül formülü $C_6H_{10}N_2O_2$ olan Pirasetam, öğrenme, hafıza ve dikkat gibi süreçlerini geliştiren nootropik ilaç grubundadır. Pirasetam, öğrenme, hafıza, dikkat, bilinçlilik gibi olaylarla ilgili fonksiyonları fiziksel ve mental performansı arttırıcı etkilere sahiptir. Bu nöral etkilerin dışında parkinson, disleksi ve epilepsi tedavilerinde de önem taşımaktadır. Hastalığın erken evrelerinde, nokturnal miyoklonus (uykuda periyodik hareket bozukluğu) sendromuna bağlı oluşan parkinson hastalıklarının tedavisinde başarılı bir tedavi edici özelliği bulunmaktadır.

Bu çalışmada, etken maddenin ve ilacın stabilitesi ve stabilite kinetiği incelenmiştir. Stabilite çalışmaları, $50^{\circ}C$, $60^{\circ}C$, $70^{\circ}C$ ve $80^{\circ}C$ sıcaklıklarda gerçekleştirilmiştir. İlacın farklı sıcaklıklarda uzun dönem, ara koşul ve hızlandırılmış stabilite takibi yapılmıştır. Işıktan korunarak saklanması öngörülen etken maddenin UV ve gün ışığı koşullarında ışık stabilite testi uygulanarak stres koşullarına maruz bırakılması sonucu konsantrasyonlarında ki azalmalar incelenmiştir. İlaç, izotonik sodyum klorür (% 0,9), dekstroz (% 5, % 10 ve % 20), çözeltilerinde kullanımın stabilitesi çalışılmış, çözeltiler ile geçimsizlik tespit edilmemiştir.

Stabilite ve stabilite kinetiği çalışması sonucunda, Pirasetam ve ilacın birinci derece reaksiyon hız modeline uyumlu olduğu belirlenmiş ve kimyasal olarak raf ömrü hesaplanmıştır. Elde edilen değerlerden yararlanılarak etken madde için dört farklı sıcaklık bozundurması sonucunda raf ömrü yaklaşık olarak 41 ay ve ışıktan korunarak saklanması uygun olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: İlaç, Stabilite, Pirasetam, Stabilite kinetiği, Raf ömrü

ABSTRACT

THE STABILITY AND STABILITY KINETICS DRUG OF PIRACETAM ACTIVE SUBSTANCE IN THE AMPOULE

İlknur AKÇAKAYA

Department of Chemical Engineering

Eskisehir Technical University, Institute of Graduate Programs, July, 2019

Supervisor: Prof. Dr. Berrin BOZAN

Chemical name 2- (2-oxopyrrolidin-1-yl) acetamide and the molecular formula $C_6H_{10}N_2O_2$ Piracetam, learning is a process as nootropic drugs that improve memory and attention. Piracetam has functions that increase the physical and mental performance of functions related to learning, memory, attention, and consciousness. Apart from these neural effects, it is also important in the treatment of parkinson's, dyslexia and epilepsy. In the early stages of the disease, nocturnal myoclonus (sleep periodic movement disorder) is a successful therapeutic feature in the treatment of Parkinson's disease due to syndrome.

In this study the stability and stability kinetics of the active substance and the drug were investigated. Stability studies were conducted at the temperatures of 50°C, 60°C, 70°C and 80°C. Long term, intermediate conditions and accelerated stability of the pharmaceutical product at different temperatures were followed. The active substance intended to be stored protected from light in the UV and daylight conditions light stability test results in reductions in the applied concentration is subjected to stress conditions were investigated. Drug, isotonic sodium chloride (0.9%), dextrose (5%, 10 % and 20 %), the stability of the solution has been studied to use, has not been determined incompatibility with solutions.

As a result of the stability and stability kinetics study, Piracetam and drug were found to be compatible with the first degree reaction rate model and chemically shelf life was calculated. Using the obtained values, the shelf life of the active substance was determined to be 41 months and protected from light as a result of four different temperature decomposition.

Keywords: Drug, Stability, Piracetam, Stability kinetics, Shelf life.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca çok değerli bilgilerini ve deneyimlerini benimle paylaşan, çalışmamın her aşamasında bana yol gösteren, desteği ile öğrenim hayatıma ışık tutan Sayın Prof. Dr. Berrin BOZAN'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Her daim hoşgörü, sevgi ve saygıyla yanımda olan, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen annem Sebiha AKÇAKAYA, babam Ali AKÇAKAYA, kız kardeşlerim Göknur ve Ezgi AKÇAKAYA'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca beni sürekli motive eden ve fikirleriyle destekleyen tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Laboratuvar olanaklarından yararlandığım ve eğitimime destek olan TURK İlaç ve Serum Sanayi A.Ş.'ye teşekkür ederim.

İlknur AKÇAKAYA

Temmuz 2019

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. İLAÇ STABİLİTESİ VE STABİLİTE KİNETİĞİ.....	2
2.1. Stabilite Türleri.....	2
2.2. Stabilite Testleri	3
2.2.1. Uzun süreli stabilite testleri	3
2.2.2. Ara koşul stabilite testleri	3
2.2.3. Hızlandırılmış stabilite testleri	3
2.3. Bozunma Mekanizmaları.....	4
2.3.2. Hidroliz reaksiyonları.....	5
2.3.3. Fotostabilite testleri	6
2.4. Ambalaj Malzemelerin İlaç Stabilitesi Üzerindeki Etkileri.....	7
2.5. Kullanım Stabilitesi	8
2.6. Reaksiyon Kinetiği.....	8
2.6.1. Basit reaksiyonlar	8
2.6.1.1. Sıfır-derece reaksiyonlar	8
2.6.1.2. Birinci-derece reaksiyonlar	10
2.6.1.3. İkinci-derece reaksiyonlar	11
2.6.2. Reaksiyon derecesinin belirlenmesi	14

	<u>Sayfa</u>
2.7. Reaksiyon Derecesini ve İlaç Stabilitesini Etkileyen Faktörler	15
2.7.1. Sıcaklık etkisi.....	16
2.7.2. pH etkisi	17
2.7.3. Çözücü ve etken maddenin çözünürlüğünün etkisi.....	17
2.7.4. Yardımcı maddelerin etkisi.....	17
2.7.5. Işık etkisi.....	17
3. PİRASETAM	19
3.1. Fizikokimyasal Özellikler.....	19
3.1.2. Farmakolojik özellikler	19
3.1.2.1. <i>Farmakodinamik özellikler</i>	19
3.1.2.2. <i>Etki mekanizması ve farmakodinamik etkileri</i>	19
3.1.3. Pirasetam'ın elde edilişi.....	20
3.2. Konu ile İlgili Yapılmış Çalışmalar	22
4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	23
4.1. Gereçler.....	23
4.1.1. Kimyasal maddeler	23
4.1.2. Cihazlar ve diğer gereçler	23
4.1.3. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi	23
4.1.4. UV-Vis spektroskopisi	23
4.1.5. Çözeltilerinin hazırlanması.....	23
4.1.5.1. <i>Çözücü hazırlanması</i>	23
4.1.5.2. <i>Hareketli faz hazırlanması</i>	24
4.1.5.3. <i>Standart çözeltilerinin hazırlanması</i>	24
4.1.5.4. <i>Örnek çözeltilerinin hazırlanması</i>	24
4.2. Stabilitate Testleri	24
4.2.1. Sıcaklık etkisi.....	24
4.2.2. Işık etkisi.....	24
4.2.3. Farklı çözeltiler ile kullanımın stabilitesine etkisi	25
4.2.4. İlacın ampul içindeki stabilitesi ve stabilite kinetiği.....	25

5. DENEYSEL BULGULAR	26
5.1. UV-Vis Spektroskopisi İle Spektrumlar	26
5.2. Sıcaklığın Pirasetam Stabilitesi Üzerindeki Etkisi	27
5.3. Işığın Pirasetam Stabilitesi Üzerindeki Etkisi	35
5.4. Pirasetam'ın Farklı Çözeltiler Kullanımının Stabilitesine Etkisi	45
5.5. İlacın Ampul İçindeki Stabilitesi ve Stabilite Kinetiği	47
6. SONUÇ VE TARTIŞMA	52
KAYNAKÇA	54
ÖZGEÇMİŞ	



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1 Oda sıcaklığında saklanması önerilen etken madde ve ürünler için stabilite test koşulları	4
Çizelge 2.2 Buzdolabında saklanması öngörülen etken madde ve ürünler için stabilite test koşulları	4
Çizelge 2.3 Derin dondurucuda saklanması önerilen etken maddeler için test koşulu	4
Çizelge 2.4 Reaksiyon derecelerine göre yarı ömür denklemleri.....	15
Çizelge 2.5 Reaksiyon derecelerine göre kimyasal raf ömrü eşitlikleri	15
Çizelge 2.6 UV, Görünür ve IR ışık türlerine ait dalga boyları.....	18
Çizelge 5.1 Pirasetam'ın farklı sıcaklıklarda zamanla konsantrasyonundaki azalma.....	28
Çizelge 5.2 Farklı sıcaklıklarda 0., 1. ve 2. derece reaksiyon hız fonksiyonlarının incelenmesi	29
Çizelge 5.3 Birinci derece bozunma kinetiği kullanılarak farklı sıcaklıklarda hesaplanan eğim ve kesim değerleri	31
Çizelge 5.4 Farklı sıcaklıklarda hesaplanan 1/T ve lnk değerleri.....	32
Çizelge 5.5 25°C'de UV ve gün ışığının zamana bağlı olarak konsantrasyonlara etkisi (mol/L)	36
Çizelge 5.6 25°C'de UV ve gün ışığının zamana bağlı olarak konsantrasyonlarına etkisinin ln değerleri	38
Çizelge 5.7 Renksiz ve amber renkli ampul kullanımının konsantrasyonlarına etkisi (mol/L)	41
Çizelge 5.8 Renksiz ve amber renkli ampul kullanımının zamana karşı konsantrasyonlara etkisinin ln değerleri	43
Çizelge 5.9 Farklı çözeltiler içerisindeki kullanım stabilitesi konsantrasyonları	45
Çizelge 5.10 Kullanılan çözeltilerin pH değerleri	47
Çizelge 5.11 Farklı çözeltiler ile Pirasetam kullanımında pH' ların zamanla değişimi..	47
Çizelge 5.12 Pirasetam'ın farklı sıcaklıklarda uzun süreli stabiliteleri.....	48

Çizelge 5.13 Ampul içindeki Pirasetam'ın uzun süreli stabilitesi kullanılarak farklı sıcaklıklarda hesaplanan $1/T$ ve $\ln k$ değerleri 49



ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 Sıfır-derece reaksiyon grafiği.....	9
Şekil 2.2 Birinci-derece reaksiyon grafiği.....	11
Şekil 2.3 İkinci-derece reaksiyon grafiği.....	14
Şekil 2.4 Arrhenius grafiği	17
Şekil 3.1 Pirasetam'ın molekül formülü	19
Şekil 3.2 Pirolidon sodyum tuzu ve metil pirolidonasetat elde edilişi	20
Şekil 3.3 Ham Pirasetam elde edilişi	21
Şekil 3.4 Farmakopiya Pirasetam elde edilişi.....	21
Şekil 5.1 Çözücü (ultra saf su : asetonitril (90:10)) UV-Vis spektrumu	26
Şekil 5.2 Katı etken maddenin UV-Vis spektrumu	26
Şekil 5.3 Çözücü ve katı etken maddenin UV-Vis spektrumu	27
Şekil 5.4 Farklı sıcaklıklarda Pirasetam'ın 0. Derece bozunma kinetiği (Zaman-C)	30
Şekil 5.5 Farklı sıcaklıklarda Pirasetam'ın 1. Derece bozunma kinetiği (Zaman-lnC) ..	30
Şekil 5.6 Farklı sıcaklıklarda Pirasetam'ın 2. Derece bozunma kinetiği (Zaman-1/C) ..	31
Şekil 5.7 Pirasetam' a sıcaklık etkisinin lnk'ya karşı 1/T grafiği	32
Şekil 5.8 Pirasetam' ın 80°C sıcaklık etkisindeki başlangıç YBSK kromatogramı.....	34
Şekil 5.9 Pirasetam'ın 80°C sıcaklık etkisindeki 48.Saat YBSK kromatogramı	35
Şekil 5.10 UV ve gün ışığının zamana bağlı olarak Pirasetam konsantrasyonuna etkisinin grafiği	37
Şekil 5.11 Pirasetam'ın 25°C'de gün ışığında birinci derece bozunma kinetiği (Zaman-lnC)	39
Şekil 5.12 Pirasetam'ın 25°C'de UV ışığında birinci derece bozunma kinetiği (Zaman-lnC)	39
Şekil 5.13 Pirasetam'ın gün ışığında 600.saat YBSK kromatogramı	40
Şekil 5.14 İlacın renksiz ve amber renkli ampul kullanımının Pirasetam konsantrasyonlarına etkisinin Zaman - C grafiği	42

Sayfa

Şekil 5.15 İlacın 25°C de renksiz ampulde Zaman - lnC grafiği.....	44
Şekil 5.16 İlacın 25°C de amber renkli ampulde Zaman - lnC grafiği.....	44
Şekil 5.17 Farklı çözeltiler ile Pirasetam'ın kullanım stabilitesi	46
Şekil 5.18 Ampul içindeki Pirasetam'ın uzun süreli stabilitesi Zaman - C grafiği	48
Şekil 5.19 Ampul içindeki Pirasetam'ın 1. derece bozunma kinetiği (Zaman - lnC).....	49
Şekil 5.20 Etken Maddesi Pirasetam olan Ampul içindeki çözeltinin lnk'ya karşı 1/T grafiği.....	50
Şekil 5.21 Pirasetam'ın Ampul içindeki çözeltinin 25°C YBSK kromatogramı	51
Şekil 5.22 Pirasetam'ın Ampul içindeki çözeltinin 30°C YBSK kromatogramı	51

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Molekülle birbirine çarpma hızı (frekans faktörü)
ACN	: Asetonitril
BN	: Bağlı Nem
Cal	: Kalori
C_{A0}	: Başlangıçtaki A bileşeninin konsantrasyonu
C_{At}	: t zamandaki A bileşeninin konsantrasyonu
C_{B0}	: Başlangıçtaki B bileşeninin konsantrasyonu
C_{Bt}	: t zamandaki B bileşeninin konsantrasyonu
$^{\circ}\text{C}$: Santigrat derece
dk	: dakika
EP	: European Pharmacopoeia (Avrupa Farmakopesi)
E_a	: Aktivasyon enerjisi (cal/mol)
FTIR	: Fourier Transform Infrared Spektrofotometre
GMP	: İyi üretim uygulamaları
ICH	: Uluslararası Harmonizasyon Komisyonu
IR	: İnfrared ışını
K	: Kelvin
k	: Reaksiyon hız sabiti
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
MKT	: Ortalama kinetik sıcaklık
ml	: Mililitre
nm	: nanometre
R	: Gaz sabiti
R^2	: Determinasyon (belirleme) katsayısı
R_A	: Reaksiyon hızı
RC-Filtre	: Rejenere Selüloz Filtre
T	: Sıcaklık
T	: Zaman
$t_{1/2}$: Yarı ömür

$t_{%10}$: Kimyasal olarak raf ömrü
USP-NF	:United States Pharmacopeia –National Formulary (ABD Farmakopesi-Ulusal Formüller)
UV-Vis	: Ultraviyole-Görünür Spektroskopi
YBSK	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
WL	: Dalga boyu
μm	: Mikrometre
μl	: Mikrolitre



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tedavi edici terapötik ajanların sindirim sistemi dışında vücuda verilmesi parenteral tedavidir. Parenteral tedavi ile vitaminler, insülin, proteinler, tedavi edici ya da tanı konulmasına yardımcı olarak kullanılan ilaçlar uygulanmaktadır. Ampul veya flakonlar parenteral tedavi yerine üretilen, ilaç etken maddesi ya da ilaç-çözücü karışımının konulduğu ilaç amaçlı cam, plastik, polimer veya kopolimer malzemelerden üretilen birincil ambalaj kaplarıdır.

Sindirim sisteminde kolay emilim sağlanmayan ilaçların yerine etkisinin başlaması daha çabuk olan parenteral ilaçlar tercih edilmektedir. Parenteral yolla uygulanan ilaçların birçok avantajı bulunmaktadır. Bu avantajları daha hızlı etki etmesi istendiğinde, bilinci açık olmayan hastalarda, biyoyararlanımın tam olarak sağlanabilmesi vb. sıralanmaktadır. Parenteral yolla uygulanan ilaçların enfeksiyon riski, ağrı, dokuda meydana gelen hasar ve alerjik reaksiyon gibi dezavantajları da bulunmaktadır.

Steril ürünlerin üretiminde, mikrobiyolojik bulaşma risklerini en aza indirebilmeyi amaçlayan temiz oda şartları uygulanması gerekmektedir. Bunların yanı sıra üretim prosesinde etken maddenin veya yardımcı maddelerin doğru formülasyon ve saklama koşullarına uygun ortamda hazırlanması gerekmektedir. Etken maddenin çözünürlüğünün önemi, pH etkisi, ortam sıcaklığının etkisi, oksijen miktarı ve ışıktan korunarak hazırlanması ilacın istenilen özelliklerini raf ömrü süresince koruma yeteneğinin stabil kalması açısından büyük önem taşımaktadır.

Etken maddenin üretiminin de tedavi edici özelliğinin bozunmadan kullanılması için üretim basamakları ve saklama koşulları önemlidir. Kötü koşullara maruz bırakılarak raf ömrünün belirlenmesinde, ürünün kullanımının belirlenmesinde ve saklama koşulu hakkında bilgi vermektedir. Bu amaçla ilaç stabilitesi adı verilen kavramdan yararlanılmaktadır.

İlaç stabilitesi, ürünün uygun saklama koşulları ve ambalajında raf ömrü süresince kararlılığını koruma yeteneğidir. Yapılan çalışmalarda ürünün bozunma koşullarının belirlenmesi için hızlandırılmış stabilite testlerinden yararlanılmaktadır. Hızlandırılmış stabilite testlerinde etken madde ya da ilaç, farklı sıcaklıklar ve nem koşullarına, oksijene, ışığa ve farklı pH değerlerine sahip olan çözeltiler ile kullanılarak, bozunma süreci ile ilgili birçok veri elde edilmesine yardımcı olmaktadır. Bu bağlamda etken

maddeye uygulanan bu testlerin üretilen ürünün güvenilirliğinin, kalitesinin ve tedavi edici etkisinin artırılmasında ya da belirlenmesinde yardımcı olacağı düşünülmektedir.

Bu çalışmada; etken madde olarak nöronal ve vasküler etkili gamaaminobütirik asidin (GABA) siklik türevi olan Pirasetam (2-okso-1-pirolidin-asetamid) seçilmiştir. Pirasetam, öğrenme, hafıza, dikkat, bilinçlilik gibi olaylarla ilgili fonksiyonları fiziksel ve mental performansı artırıcı etkilere sahiptir.

Günümüzde, dikkat eksikliği, stres, kaygı ve depresyon tedavisinde yaygın olarak kullanılan Pirasetam, hipoksi (oksijen yetmezliği), toksik etkilerinin ve elektrokonvülsif tedavi (elektroşok tedavi) gibi çeşitli serebral (beyin felci) olaylardan sonra, bilişsel yetenekleri korur ve düzeltir. Bu nöral etkiler yanı sıra parkinson, disleksi ve epilepsi tedavilerinde de önem taşımaktadır. Hastalığın erken evrelerinde, uykuda periyodik hareket bozukluğundan dolayı nokturnal miyoklonus sendromuna bağlı oluşan parkinson hastalıklarının tedavisinde başarılı bir tedavi edici özelliği bulunmaktadır.

Bu çalışmada; Pirasetam'ın hızlandırılmış stabilite koşullarına maruz bırakılarak kararlılığının, ambalaj malzemesinin, saklama sıcaklığının ve raf ömrünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. İLAÇ STABİLİTESİ VE STABİLİTE KİNETİĞİ

İlaç stabilitesi, etken maddenin veya ilacın raf ömrü süresince belirlenen özellikler içinde kalma yeteneğidir. Stabilite testleri, etken maddenin veya bitmiş ürünün ambalajı içinde ve saklama koşullarında nem, sıcaklık ve ışık gibi çeşitli faktörlerin etkisinde zamanla değişiminin nasıl olduğunun belirlenmesi ve saflığının belirlenmesi amacıyla yapılmaktadır [1,2].

İlaç stabilitesinde, ilacın önerilen kap/kapak içinde, uygun koşullarda saklandığında belirli sayıda seri üzerinde stabilite çalışmaları ile tespit edilen spesifikasyonlarına uygun olmasının beklendiği zaman süreci raf ömrü olarak tanımlanmaktadır. Bu süreç içerisinde etken madde veya ürünün belirlenen özellikler dahilinde kalması, son kullanma tarihinin belirlenmesinde önemlidir [1,2].

2.1. Stabilite Türleri

İlaçların veya etken maddenin raf ömrü boyunca kararlılığını sağlaması gerekmektedir. Etken madde veya ilacın stabilitesi için beş stabilite türünden bahsedebiliriz.

Kimyasal stabilite: Etken maddenin veya ilacın raf ömrü süresince kimyasal bütünlüğünün belirlenmiş spesifikasyonlar dahilinde kalmasıdır [3,4].

Fiziksel stabilite: Etken madde veya ilacın görünüş, renk, koku, homojenite, pH, berraklık gibi özelliklerinin belirlenen raf ömrü boyunca spesifikasyonlar dahilinde kalmasıdır [6].

Mikrobiyolojik stabilite: Etken madde veya steril ürünler için sterilitesinin raf ömrü boyunca belirlenen spesifikasyonlar dahilinde stabil kalmasıdır [7].

Toksikolojik stabilite: Etken maddenin veya yardımcı maddelerin yeteri kadar kararlı olmamasından dolayı bozunma sonucunda toksisitesinde artış gözlenebilir. Etken veya yardımcı maddelerin raf ömrü boyunca spesifikasyonlarını koruması toksisite kararlılığıdır [7].

Terapötik stabilite: Etken madde veya ilacın kimyasal ve fiziksel değişimleri terapötik etkinliğini değiştirmektedir. Örneğin, tablet veya kapsül gibi katı ilaç formlarında etken maddenin çözünme hızının, zamana bağlı olarak azalması, doğru orantılı olarak emiliminin de daha geç olmasını sağlamaktadır. Bu durumda tedavi süresinde değişim olmaması terapötik kararlılığıdır [6,8].

2.2. Stabilite Testleri

2.2.1. Uzun süreli stabilite testleri

Ruhsat alınabilmesi için yapılması gereken yasal zorunluluğu olan testlerdir. Bu testler, öngörülen saklama koşulu sıcaklığı ve nem koşullarında, belirlenmiş olan raf ömrü süresince yapılmaktadır [1,2,9]

2.2.2. Ara koşul stabilite testleri

Hızlandırılmış stabilite koşulunda bir değişim olduğunda, ara koşul stabilitesinde başlangıç sonucunu da kapsayan 12 aylık stabilite çalışmaları yapılmaktadır. Uzun süreli stabilite çalışmalarında gözlemlenebilecek değişimlerin belirlenmesi için eş zamanlı olarak tamamlanmalıdır [1,2,9].

2.2.3. Hızlandırılmış stabilite testleri

Uzun süreli stabilite testlerine ek olarak yapılması gereken yüksek sıcaklık ve nem gibi test koşulları uygulanarak kimyasal bozunmasını ve fiziksel olarak değişimin hızını arttırarak sonuçların ve kimyasal ve fiziksel bozunmasından yararlanılarak raf ömrünün belirlenmesinde belirlenmesine yönelik testlerdir [1,2,9].

Etken maddenin stabilitesinin belirlenmesi, ambalaj malzemesinin belirlenmesinde, degradasyon ürünlerinin belirlenmesinde analitik yöntem validasyonuna katkı sağlamak amacıyla yapılmaktadır. Stres testleri Uluslararası Harmonizasyon Komisyonunun göre sıcaklığın (hızlandırılmış testler için 10°C' lik

artışlarla (50°C, 60°C, 70°C, 80°C), nemin % 75 BN ya da üzeri, oksidasyon ve fotoliz etkilerinin etken madde üzerinde etkileri incelenmesi için gereklidir. [12-15].

Farklı sıcaklıklarda saklanması öngörülen etken maddeler veya ilaçlar için saklama sıcaklıklarına göre test koşulları ve süreleri Çizelge 2.1, Çizelge 2.2 ve Çizelge 2.3'te verilmiştir [9].

Çizelge 2.1 Oda sıcaklığında saklanması önerilen etken madde ve ürünler için stabilite test koşulları

Çalışma	Saklama koşulları (°C / % BN)	Başvuru için en az süre
Uzun süreli	25 °C ± 2°C / % 60 ± % 5	12 ay
Orta	30 °C ± 2°C / % 65 ± % 5	12 ay
Hızlandırılmış	40 °C ± 2°C / % 75 ± % 5	6 ay

Çizelge 2.2 Buzdolabında saklanması öngörülen etken madde ve ürünler için stabilite test koşulları

Çalışma	Saklama koşulları (°C / %BN)	Başvuru için en az süre
Uzun süreli	5 °C ± 3°C	12 ay
Hızlandırılmış	25 °C ± 2°C / % 60 ± % 5	6 ay

Çizelge 2.3 Derin dondurucuda saklanması önerilen etken maddeler için test koşulu

Çalışma	Saklama koşulları (°C / % BN)	Başvuru için en az süre
Uzun süreli	-20 °C ± 5°C	12 ay

2.3. Bozunma Mekanizmaları

İlaçlarda karşılaşılan bozunma mekanizmalarından bazıları oksidasyon, hidroliz ve fotoliz reaksiyonları olarak sıralanabilir [16,17].

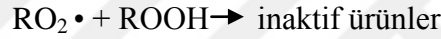
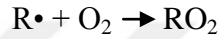
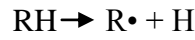
2.3.1. Oksidasyon reaksiyonları

İlaçlarda sıkça karşılaşılan bir bozunma mekanizmasıdır [18]. Serbest radikal bir ya da birden fazla ortaklanmamış elektron taşıyan atom ya da moleküllerdir. Oksidasyon reaksiyonları serbest radikal reaksiyonlardır.

Oksidasyon reaksiyonlarında en önemli faktör havadaki oksijendir; fakat oksijenin yanı sıra ışık ve ağır metaller de oksidasyon reaksiyonunda etken olabilmektedir. Oksidasyon reaksiyonları zincirleme bir şekilde gerçekleşmektedir [19].

Başlangıç, ilerleme ve bitiş olarak üç aşamada gerçekleşmektedir. Başlangıç aşamasında ısı ve ışığın uyarıcı etkisi ile kovalent bağlar kırılmaktadır. Bu sayede serbest radikaller açığa çıkmaktadır. Aktif hale geçen serbest radikaller oksijen ile etkileşerek oksitlenmektedir. Bu şekilde peroksitler meydana gelmektedir. Madde ile peroksitler tepkimeye girerek hidroperoksit oluşmaktadır. Daha sonra ise oluşan hidroperoksitler parçalanmaktadır. Etken madde bitene kadar hidroperoksit oluşumu ve serbest radikal oluşumu devam etmektedir. Zincirleme reaksiyon sonucu olarak, etken madde tükenmektedir ve meydana gelen ürünler aktif değildir [20].

Reaksiyon aşamaları şu şekilde gerçekleşmektedir:



Oksidasyonun engellenmesi için, hazırlanan çözelti içerisinde azot gazı geçirilmeli ve ortamda bulunan oksijen miktarı uzaklaştırılmalı, antioksidan maddeler ilave edilerek sıcaklık, ışık gibi etkenlerden de korunması gerekmektedir.

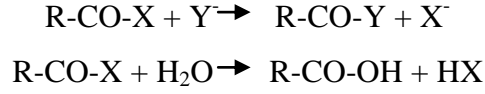
Uyarıcı etki olmadan ısı, ışık gibi kendiliğinden gerçekleşen oksidasyon reaksiyonlarına ise oto-oksidasyon reaksiyonları olarak tanımlanmaktadır. Reaksiyon aşamaları aynı şekilde gerçekleşmektedir. Renk değişimi gibi değişikliklerde oksidasyon reaksiyonunun gerçekleştiğini göstermektedir [21].

2.3.2. Hidroliz reaksiyonları

Sudaki H^+ ve OH^- iyonlarının etkisiyle yürüyen asit-baz tepkimeleridir. Ester bağlarının parçalanması en fazla meydana gelen hidroliz reaksiyonlarına örnek olarak verilebilir. Uzun süre kararlılıklarını sağlamaları için en uygun biçimde formüle edilmeleri gerekmektedir. İlaçlarda genellikle karboksilik asit hidrolizi, asit halojenürlerin hidrolizi, kondensasyon tepkimeleri ve hidrasyon tepkimeleri olmak üzere dört çeşit hidroliz tepkimesi vardır.

Karbonil bileşiklerde bulunan C-X bağları, hidroliz reaksiyonları ile yarılmaları sonucunda yerini C-Y bağlarına bırakmaktadır. Hidroliz reaksiyonlarını engellemek için suyun ortamdaki uzaklaştırılması en iyi yöntemdir. Katı ilaç şekillerinde ortam nemi

hidroliz reaksiyonlarını meydana getirebileceğinden nemin ortamdan uzaklaştırılması ya da azaltılması gerekmektedir [21].



2.3.3. Fotostabilite testleri

Farmasötik bir ürünün veya etken maddenin ışığa karşı hassasiyetinin belirlenmesi amacıyla fotostabilite testleri yapılır. Fotostabilite testleri uygulanırken ortam sıcaklığı sabit olmalıdır. Etken madde veya ilaçların fotostabilite testlerinin gerçekleştirilmesi amacıyla Uluslararası Harmonizasyon Komisyonu (ICH-International Commission of Harmonization) tarafından ICH-Q1B kılavuzu yayınlanmıştır [9, 22]. Fotostabilite testlerinin uygulanmasında iki ışık kaynağı seçeneği bulunmaktadır:

1. Işık kaynağı:

- Görünür ve UV ışığı donanımlı yapay gün ışığı veren floresan lambaları
- Ksenon lambası
- Metal halojenür lambası

Bu lambaların verdiği ışık D65/ID65 yayılan ışık standardına uygun olmalıdır. D65, uluslararası standartlarında kabul edilen çevre gün ışığı ve ID165, kapalı ortamdaki gün ışığı standardına eşdeğer ışığıdır.

2. Işık kaynağı:

- Beyaz ışık kaynağı olan floresan lamba türleri kullanılabilir. Floresan lambaların verdiği ışık D65, uluslararası standartlarında kabul edilen çevre gün ışığı olarak tanımlanan ışığa benzer olması gerekmektedir.
 - 320-400 nm arasında spektruma sahip olan ve 350-370 nm arasında ısı ile maksimum enerji emisyonuna sahip yakın olan floresan lambaları kullanılabilir
- Fotostabilite testleri uygulanırken, örnek ışığa maruz bırakıldığında tüm ışığa 1,2 milyon lux.saatten ve yakın UV enerjisi 200 watt.saatt/m²'den az olmaması gerekmektedir [23].

Etken maddeye uygulanan fotostabilite testleri hızlandırılmış bozunma testleri ve onay testleri olmak üzere ikiye ayrılır:

Hızlandırılmış bozunma testleri, etken maddenin ışığa maruz kalması sonucu oluşan bozunmasını belirlemek amacıyla uygulanmaktadır. Bu testler etken maddeye

veya ilaçlara uygulanabilir. Örnekler kimyasal açıdan inert ve şeffaf kaplara konulur. Hızlandırılmış fotostabilite testleri için ticari test kabinleri mevcuttur.

Onay testleri ise etken maddenin ambalaj malzemesinin, saklanma koşulunun ve etiketlenmesinin belirlenmesi amacıyla yapılmaktadır [24].

- Seçenek 1:

Solüsyondan 10 ml alınır ve 20 ml' lik renksiz bir ampule koyulur, mikroorganizmaların girişini engelleyecek ve ürün sterilliğini etkilemeyecek şekilde kapatılır ve hazırlanan bu ampul örnek olarak kullanılır. Ayrı olarak, çözeltiden 10 ml 20 ml renksiz ampule koyulur, mikroorganizmaların girişini engelleyecek ve ürün sterilliğini etkilemeyecek şekilde kapatılır ve ışıktan tamamen korumak için alüminyum folyoya sarılır. Hazırlanan bu ampul kontrol olarak kullanılır. Örneği ve kontrolü ışık kaynağına uygun bir süre boyunca maruz bırakılır. Maruz kaldıktan sonra, 1 santimetre (cm) yol uzunluğu kullanarak numunenin (A_T) ve kontrolün (A_o) Emilimini 400 nm' de belirlenir. Absorbanstaki değişimi hesaplanır, $\Delta A = A_T - A_o$. Maruz kalma süresi, absorbanstaki en az 0,9' luk bir değişimi sağlamak için yeterli olmalıdır [18].

- Seçenek 2:

1 cm kuvars hücreyi doldurulur ve bu hücre örnek olarak değerlendirilir. Farklı 1 cm kuvars hücre doldurulur, tamamen ışıktan korumak için alüminyum folyoya sarılır ve bu hücre kontrol hücresi olarak kullanılır. Numuneyi ve kontrolü ışık kaynağına bırakıldığında tüm ışığa 1,2 milyon lux.saatten ve yakın UV enerjisi 200 watt.saatt/m² maruz bırakılır. Maruz kaldıktan sonra, numunenin (A_T) ve kontrolün (A_o) Emilimini 400 nm' de belirlenir. Absorbanstaki değişimi hesaplanır, $\Delta A = A_T - A_o$. Absorbanstaki değişiklik, 0,5'ten büyük veya ona eşit olmalıdır [18].

2.4. Ambalaj Malzemelerin İlaç Stabilitesi Üzerindeki Etkileri

Ambalaj malzemelerinin belirlenmesinde ilaç stabilitesi üzerindeki ışık, nem ve sıcaklık etkilerinin belirlenmesi etken madde veya ilacın raf ömrü için önem taşımaktadır. Bu etkilerin, değerlendirilerek ambalaj malzemesi seçimi yapılması gerekmektedir [17,24].

- Cam: Plastik, metal ve kauçuk ambalaj malzemeleri arasında ısı, sıcaklık ve nem koşullarına en dayanıklı ve inert bir malzemedir. Kimyasal bileşiminde değişiklik yapılarak geçirgenliği ayarlanabilir [24].

Camın soda içeriği azaltılarak veya sodyum oksit diğer oksitlerle yer değiştirilerek bu istenmeyen özellikler azaltılabilir.

- Plastik: Polietilen, polipropilen, polistiren ve polivinil klorür en çok kullanılan polimer ambalaj malzemeleridir. Plastik ambalajın en büyük sakıncası, içeri ve dışarı geçiş olmasıdır [24].
- Metal: Jel, merhem ve kremlerde metal tüpler kullanılmaktadır. Metal malzeme türlerinden kalay, plastik kaplı kalay, alüminyum kullanılır. Kalay tüpler, klorür ve asit koşullarda korozyona uğrar. Vinil selülozun lak kaplama ile korozyon engellenebilir. Yağ ve alkol içeren emülsiyon çözeltiler alüminyum ile reaksiyona girer [24].
- Kauçuk: Kauçuk içinde etken madde ile ekstre olabilen maddeler etkileşip toksisiteyi etkilemektedir. Etken madde veya koruyucu madde ile etkileşme sonucunda fiziksel ve kimyasal dayanıksızlıklar meydana gelmektedir [24].

2.5. Kullanım Stabilitesi

Kullanım stabilitesi; bir farmasötik preparatın ambalajı açıldıktan sonra ya da ilacın kullanım şekline (örneğin serum içinde kullanımı) göre de kalite, etki ve güvenilirliğinin kontrolü için yapılır. Ürünün tekrarlanan açıp-kapamalarında ya da başka bir serum ile eş zamanlı kullanımı sırasında ürünün fiziksel ve kimyasal bileşimini koruması gerekir. Kullanım süresince mikrobiyal kontaminasyon ve fizikokimyasal ya da kimyasal bozunmaları karşılaşılabilecek problemlerdir. Kullanım stabilite çalışmaları bu problemlerin tespiti için yapılmaktadır. Çalışma sonunda ürünün kullanım sırasında ne kadar saat stabil kaldığı tespit edilir [9].

2.6. Reaksiyon Kinetiği

Reaksiyon kinetiği, ilaç kararlılığının izlenmesinde, tablet ve kapsül ilaç şekillerinin çözünme testinde profillerin belirlenmesi ve etken maddenin kana geçiş süresi ve vücuttan atılma süresinin incelenmesi ve belirlenmesinde büyük önem taşımaktadır [3, 25-27].

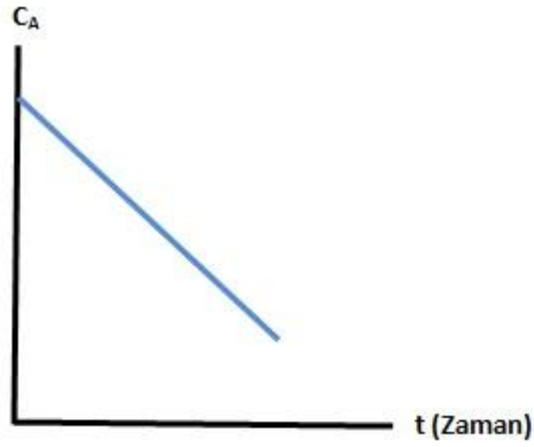
Reaksiyon derecesi, bir reaksiyonun derecesi girenlerin üslerinin toplamına eşittir [5]. Yarı Ömür ($t_{1/2}$) ise reaksiyona giren bileşenlerden birinin başlangıçtaki konsantrasyonunun yarıya inmesi için geçen süre yarı ömür olarak tanımlanmaktadır [3, 25-27].

2.6.1. Basit reaksiyonlar

2.6.1.1. Sıfır-derece reaksiyonlar

Sıfır derece reaksiyonlarda, reaksiyon hızı, reaksiyona giren maddelerin konsantrasyonuna bağlı değildir [25, 27].

Zaman-Konsantrasyon grafiği çizildiğinde, çizilen grafiğin eğimi $-k_0$ ve kesişimi C_{A_0} olan bir doğru elde edilir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Sıfır-derece reaksiyon grafiği

Sıfır derece reaksiyonlarda hızla, hız sabiti birbirine eşittir.

Reaksiyon hız sabitinin birimi:

$$k_0 = \frac{C_{A_0} - C_{A_t}}{t} \equiv \frac{\text{değişim}}{\text{zaman}} \quad (2.1)$$

Birinci yarı ömür ($t_{1/2}$):

$$k_0 = \frac{C_{A_0} - C_{A_t}}{t} \quad (2.2)$$

$$t_{1/2} = \frac{C_{A_0} - 0,5C_{A_0}}{k_0} = \frac{C_{A_0}}{2k_0} \quad (2.3)$$

Sıfır derece reaksiyonlarda, yarı ömür sabit değildir.

İkinci yarı ömür ($t'_{1/2}$):

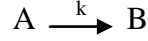
$$t'_{1/2} = \frac{0,5C_{A_0} - 0,25C_{A_0}}{k_0} = \frac{C_{A_0}}{4k_0} \quad (2.4)$$

Kimyasal olarak raf ömrü($t_{\%10}$):

$$t_{\%10} = \frac{(C_{A_0} - 0,9C_{A_0})}{k_0} = \frac{0,1 C_{A_0}}{k_0} = \frac{C_{A_0}}{10k_0} \quad (2.5)$$

2.6.1.2. Birinci-derece reaksiyonlar

Birinci derece reaksiyonlarda reaksiyon hızı, reaksiyona giren maddelerden birinin konsantrasyonunun birinci kuvveti ile orantılı olarak değişir [3, 25-27].



Reaksiyon hızı,

$$R_A = \frac{dC_A}{dt} = -k[C_A] \quad (2.6)$$

Reaksiyon hız değişiminin birimi:

$$k = \frac{\ln C_{A_0} - \ln C_{A_t}}{t} \equiv \frac{1}{\text{Zaman}} \quad (2.7)$$

Yarı ömür ($t_{1/2}$):

$$t_{1/2} = \frac{\ln \left[\frac{C_{A_0}}{C_{A_1}} \right]}{k} = \frac{\ln \left(\frac{C_{A_0}}{0,5 C_{A_0}} \right)}{k} = \frac{\ln 2}{k} \quad (2.8)$$

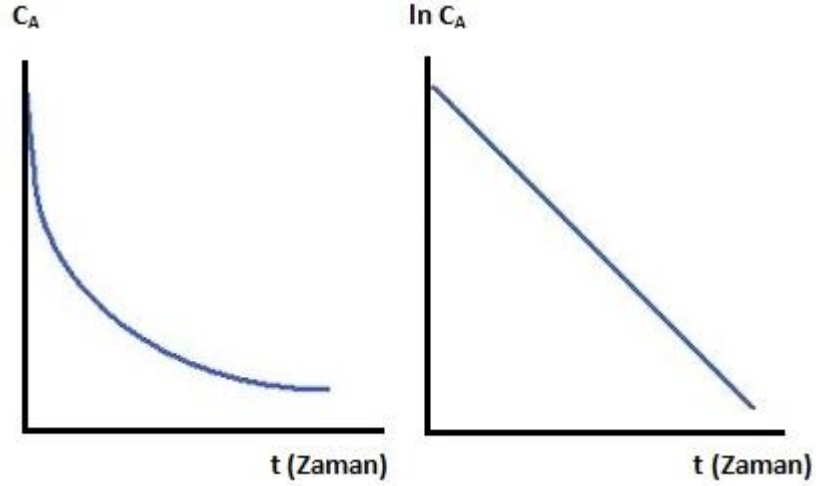
$$t_{1/2} = \frac{0,69315}{k} \quad (2.9)$$

Kimyasal olarak raf ömrü ($t_{\%10}$):

$$t_{\%10} = \frac{\ln \left(\frac{C_{A_0}}{0,9 C_{A_0}} \right)}{k} = \frac{\ln(1,1111)}{k} \quad (2.10)$$

$$t_{\%10} = \frac{0,10536}{k} \quad (2.11)$$

Birinci derece reaksiyonlarda yarı ömür başlangıç konsantrasyonundan bağımsızdır.



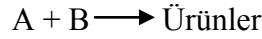
Şekil 2.2 Birinci-derece reaksiyon grafiği

2.6.1.3. İkinci-derece reaksiyonlar

İkinci derece reaksiyonlarda reaksiyon hızı, reaksiyona giren iki bileşiğin konsantrasyonunun birinci kuvveti veya farklı bileşiğin konsantrasyonunun ikinci kuvveti ile doğru orantılı değişmektedir [25-27].



$$R_A = -\frac{1}{2} \frac{dC_A}{dt} = -k[C_A]^2 \quad (2.12)$$



$$R_A = -\frac{dC_A}{dt} = -\frac{dC_B}{dt} = -k[C_A]^1[C_B]^1 \quad (2.13)$$

Bileşenlerin başlangıç konsantrasyonlarının eşit veya farklı olmasına göre değişmektedir. [25, 27].

I. Reaksiyona giren bileşenlerin başlangıçtaki konsantrasyonları ($C_{A_0} = C_{B_0}$) eşit ise:

Reaksiyona giren iki bileşenin başlangıçtaki konsantrasyonları birbirine eşit ise, hız eşitliği aşağıdaki gibidir:

$$R_A = \frac{dC_A}{dt} = -k[C_A]^2 = \left(\frac{1}{C_A} - \frac{1}{C_{A_0}} \right) = -kt \quad (2.14)$$

Konsantrasyonun tersi zamana karşı grafiğe geçirilirse bir doğru elde edilir. Elde edilen bu doğrunun eğimi reaksiyon hız değişmezini, kesişimi ise başlangıç konsantrasyonunun tersini verir [25-27].

Reaksiyon hız değişmezi,

$$k = \frac{C_{A_0} - C_{A_t}}{t C_{A_0} C_{A_t}} = \text{konsantrasyon}^{-1} \text{zaman}^{-1} \quad (2.15)$$

Birinci yarı ömür ($t_{1/2}$):

$$k = \frac{C_{A_0} - C_{A_t}}{t C_{A_0} C_{A_t}} \quad (2.16)$$

$$t_{1/2} = \frac{C_{A_0} - 0,5C_{A_0}}{k C_{A_0} 0,5 C_{A_0}} = \frac{1}{C_{A_0} k} \quad (2.17)$$

İkinci yarı ömür ($t'_{1/2}$):

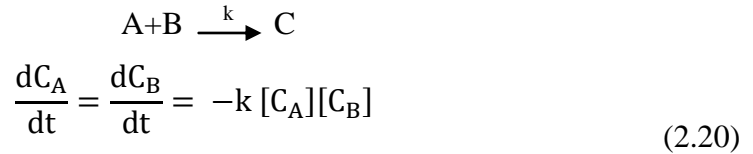
$$t_{1/2} = \frac{0,5C_{A_0} - 0,25C_{A_0}}{k 0,5C_{A_0} 0,25 C_{A_0}} = \frac{2}{C_{A_0} k} \quad (2.18)$$

ve kimyasal olarak raf ömrü,

$$t_{\%10} = \frac{C_{A_0} - 0,9C_{A_0}}{k C_{A_0} 0,9 C_{A_0}} = \frac{1}{9C_{A_0} k} \quad (2.19)$$

II. Reaksiyona giren bileşenlerin başlangıçtaki konsantrasyonları ($C_{A_0} \neq C_{B_0}$) farklı ise:

Reaksiyona giren iki bileşenin başlangıçtaki konsantrasyonları birbirinden farklı ise, hız eşitliği aşağıdaki gibidir: [18]



Elde edilen eşitliğin başlangıç $t=0$ anında, $A= C_{A_0}$, $B= C_{B_0}$ ve herhangi bir t zamanında ($t=t$, $A= C_{A_t}$, $B= C_{B_t}$) arasında integral hesabı yapıldığında,

$$\ln \left[\frac{C_{B_t}}{C_{A_t}} \right] = \ln \left[\frac{C_{B_0}}{C_{A_0}} \right] + (C_{B_0} - C_{A_0})kt \quad (2.21)$$

$\ln C_{B_t} / C_{A_t}$ - zaman grafiği çizildiğinde, eğimi $(C_{B_0} - C_{A_0})k$, kesişimi $\ln C_{B_0} / C_{A_0}$ olan bir doğru elde edilir. Reaksiyona giren her iki bileşenin konsantrasyonları arasında

$$C_{B_t} = C_{B_0} - C_{A_0} + C_{A_t} \quad (2.22)$$

Elde edilen eşitlik düzenlendiği zaman reaksiyon hız değişmezi aşağıdaki gibidir:

$$\frac{1}{(C_{B_0} - C_{A_0})} \ln \left[\frac{C_{A_0} C_{B_t}}{C_{A_t} C_{B_0}} \right] = \text{konsantrasyon}^{-1} \text{zamar} \quad (2.23)$$

A'nın derişimi yarıya indiğinde ($C_A = 0,5 C_{A_0}$), ikinci maddenin derişimi:

$$C_{B_t} = C_{B_0} - C_{A_0} + 0,5 C_{A_0} = C_{B_0} - 0,5 C_{A_0}$$

C_{B_t} terimi aşağıdaki eşitlikte yerine konulduğu zaman birinci yarı ömür:

$$t = \frac{1}{k(C_{B_0} - C_{A_0})} \ln \left[\frac{C_{A_0} C_{B_t}}{C_{A_t} C_{B_0}} \right] \quad (2.24)$$

$$t_{1/2} = \frac{1}{k(C_{B_0} - C_{A_0})} \ln \left[\frac{C_{A_0} C_{B_0} - 0,5 C_{A_0}}{0,5 C_{A_0} C_{B_0}} \right] \quad (2.25)$$

$$t_{1/2} = \frac{1}{k(C_{B_0} - C_{A_0})} \ln \left[\frac{2 C_{B_0} - C_{A_0}}{C_{B_0}} \right] \quad (2.26)$$

İkinci yarı ömür ($t'_{1/2}$):

$$C_{B_t} = C_{B_0} - 0,5 C_{A_0} + 0,25 C_{A_0} = C_{B_0} - 0,25 C_{A_0}$$

$$t'_{1/2} = \frac{1}{k(C_{B_0} - C_{A_0})} \ln \left[\frac{0,5 C_{A_0} (C_{B_0} - 0,25 C_{A_0})}{0,25 C_{A_0} C_{B_0}} \right]$$

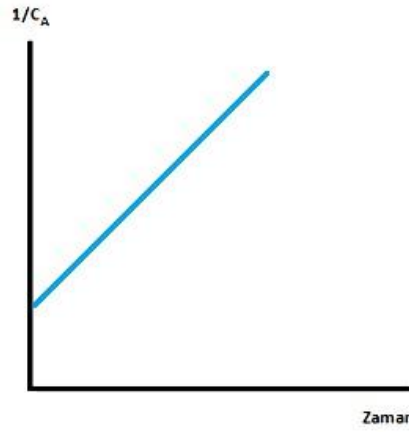
$$t'_{1/2} = \frac{1}{k(C_{B_0} - C_{A_0})} \ln \left[\frac{4 C_{B_0} - C_{A_0}}{2 C_{B_0}} \right] \quad (2.27)$$

ve kimyasal olarak raf ömrü:

$$C_{B_t} = C_{B_0} - C_{A_0} + 0,9 C_{A_0} = C_{B_0} - 0,1 C_{A_0}$$

$$t_{1/2} = \frac{1}{k(C_{B_0} - C_{A_0})} \ln \left[\frac{C_{A_0} (C_{B_0} - 0,1 C_{A_0})}{0,9 C_{A_0} C_{B_0}} \right]$$

$$t_{\%10} = \frac{1}{k(C_{B_0} - C_{A_0})} \ln \left[\frac{10 C_{B_0} - C_{A_0}}{9 C_{B_0}} \right] \quad (2.28)$$



Şekil 2.3 İkinci-derece reaksiyon grafiği

2.6.2. Reaksiyon derecesinin belirlenmesi

Reaksiyon derecesi yapılan analizlerden elde edilen verilerden yararlanılarak bulunur. Reaksiyon derecesinin belirlenmesinde 4 ayrı yöntem vardır. Bunlar [3,4,25]:

1- Diferansiyel yöntem: Bileşen kontrasyonunun zamanla değişimi grafiğe geçirilir. Grafikteki eğriye çizilen teğetin eğimi $-d[C_A]/dt$ şeklinde zamanla konsantrasyonun değişme hızını verir. Diferansiyel hız yasası eşitliği kullanılarak farklı zamanlardaki değişme hızları belirlenir. Reaksiyonun hız değişmezi ve derecesi bulunur [23].

2- Formülde yerine koyma yöntemi: Kinetik çalışmalar sonucunda bulunan veriler sırayla sıfır, birinci ve ikinci derece eşitliklerde yerine konularak reaksiyon hız değişmezleri hesaplanır. Elde edilen denklem ile reaksiyon hız değişmezi değerleri kabul edilebilir hata sınırları içerisinde ve sabit bir değer elde edilirse, reaksiyon derecesi o dereceye aittir [25].

3- Grafik Yöntemi: Konsantrasyonun zamana karşı verileri ve dereceler için kinetik denklemler elde edilir [25,26].

a) Konsantrasyonla (C), zaman (t) arasındaki ilişki doğrusal ise, reaksiyon sıfır derece

b) Konsantrasyonun logaritmasıyla (lnC), zaman (t) arasındaki ilişki doğrusal ise, reaksiyon birinci derece

c) Konsantrasyonun tersiyle (1/C), zaman (t) arasındaki ilişki ($C_{A_0} = C_{B_0}$ olduğu durumda) doğrusal ise, reaksiyon ikinci derece demektir.

4- Yarılanma süresi yöntemi: Başlangıçtaki bileşen konsantrasyonları eşit olmak şartıyla [25,26],

- Yarılanma süresi başlangıç konsantrasyonu ile orantılı ise sıfır derece
- Yarılanma süresi başlangıç konsantrasyonundan bağımsız ise birinci derece

- Yarılanma süresi başlangıç konsantrasyonunun tersi ile orantılı ise ikinci derecedendir.

Çizelge 2.4 Reaksiyon derecelerine göre yarı ömür denklemleri

Reaksiyon derecesi	Yarı ömür denklemi
Sıfır derece	$t_{1/2} = \frac{C_{A_0}}{2k}$
Birinci derece	$t_{1/2} = \frac{0,693}{k}$
İkinci derece	$C_{A_0} = C_{B_0}$ $t_{1/2} = \frac{1}{C_{A_0} k}$
	$C_{A_0} \neq C_{B_0}$ $t_{1/2} = \frac{1}{k(C_{B_0} - C_{A_0})} \ln \left[\frac{2 C_{B_0} - C_{A_0}}{C_{B_0}} \right]$

Çizelge 2.5 Reaksiyon derecelerine göre kimyasal raf ömrü eşitlikleri

Reaksiyon derecesi	Kimyasal olarak raf ömrü
Sıfır derece	$t_{\%10} = \frac{C_{A_0}}{10k_0}$
Birinci derece	$t_{\%10} = \frac{0,10536}{k}$
İkinci derece	$C_{A_0} = C_{B_0}$ $t_{\%10} = \frac{1}{9C_{A_0} k}$
	$C_{A_0} \neq C_{B_0}$ $t_{\%10} = \frac{1}{k(C_{B_0} - C_{A_0})} \ln \left[\frac{10 C_{B_0} - C_{A_0}}{9 C_{B_0}} \right]$

2.7. Reaksiyon Derecesini ve İlaç Stabilitesini Etkileyen Faktörler

Etken madde veya ilaçların kararlılıklarını raf ömrü boyunca sürdürmesi için fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik, çevresel faktörlerin etkisinin ve bozunma ürünlerinin belirlenmesi için önemlidir. Etken madde veya ürünün uygun depolama ve taşınmasında bozunmasını engellemek ya da en aza indirmek için gerekli önlemler alınması

gerekmektedir. Bu önlemlerin belirlenmesi için ilaç üzerinde stres testleri uygulanmaktadır [25].

2.7.1. Sıcaklık etkisi

Reaksiyon hızını ve bozunmayı en çok etkileyen faktörlerden birisidir. Uygun saklama koşulları sağlanmadığında/sağlanamadığında etken madde miktarında azalmalar, hidroliz oranında artış gözlenmiştir.

Sıcaklık arttıkça çarpışma sayısı ve reaksiyon hızı arasında doğru orantılı bir ilişki olduğundan reaksiyon hızı da artar.

Sıcaklığın, reaksiyon hızındaki Arrhenius tarafından ilk defa açıklanmıştır. Arrhenius analizlerden ve elde edilen verilerden yararlanarak, reaksiyon hız değişimini aşağıdaki denklem ile belirlemiştir [25]:

$$k = Ae^{-E_a/RT} \quad (2.29)$$

veya,

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (2.30)$$

Bu eşitlikte,

k = reaksiyon hız değişmezi

A = moleküllerin birbirine çarpma hızı (frekans faktörü)

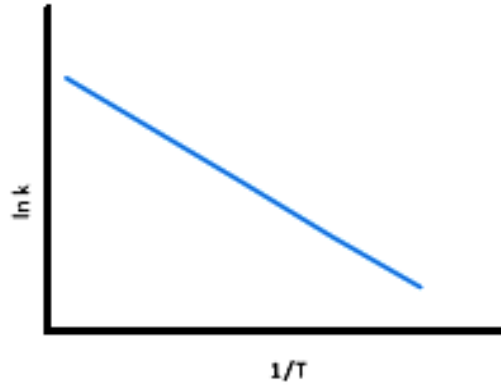
E_a = aktivasyon enerjisi (cal/mol)

R = gaz sabiti (1.987 cal/Kelvin/mol)

T = mutlak sıcaklık (K) (T°C+273,15)

Bir reaksiyonun gerçekleşebilmesi için bileşenlerin sahip oldukları en düşük enerjiye aktivasyon enerjisi denir. Aktivasyon enerjisi reaksiyona giren bileşenleri daha etkin hale getirmek için iç enerjisini yükseltmektedir [4].

lnk, 1/T' ye karşı grafiği çizildiğinde grafiğin eğimi -E_a/R ve kesişimi lnA olan doğru elde edilir (Şekil 2.4). Elde edilen doğrunun eğiminden aktivasyon enerjisi hesaplanabilir. Yüksek sıcaklıkta yapılan deneylerin (hızlandırılmış testler) verileri, Arrhenius eşitliğiyle düşük sıcaklık için reaksiyon hız değişmezi ve kimyasal olarak raf ömrü hesaplamaktadır.



Şekil 2.4 Arrhenius grafiği

Farklı iki sıcaklıkta yapılan analiz verilerinden aşağıdaki eşitlik kullanılarak aktivasyon enerjisinin hesaplanabilir:

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \frac{E_a}{R} \left(\frac{T_2 - T_1}{T_2 T_1} \right) \quad (2.31)$$

2.7.2. pH etkisi

Sıvı şekilde ilaçların hidroliz oranını etkileyebilecek en önemli faktördür. Bazı ilaçlar güçlü asitler ve bazlara maruz bırakıldığında hızlı bir şekilde hidrolize uğrarlar ve bu yüzden kararlılığının raf ömrü boyunca en yüksek stabil kaldığı pH' ı belirlemek önemlidir.

2.7.3. Çözücü ve etken maddenin çözünürlüğünün etkisi

İlaçların çözücü etkisinin bilinmesi bozunma hızları açısından önemlidir. Çoğu ilacın yapılabilmesi için etken maddenin çözünmesi gerekmektedir. Bu nedenle suyla karışan veya su kullanılmaktadır. Etken maddeyi çözenler; etanol propilen glikol, gliserin gibi molekül ağırlığı düşük olan alkollerdir.

İlacın stabilitesini, çözücünün değişikliği kararlılığını artırabilir. Örneğin, aspirinin stabilitesinde çözücü olarak polietilenglikol kullanıldığında kararlılığında artış gözlemlenmektedir [4]. Etken maddenin sulu bir çözeltide bozunması için, ilk olarak etken olan maddenin çözünerek suya geçmesi gerekmektedir [10].

2.7.4. Yardımcı maddelerin etkisi

Yardımcı maddeler reaksiyon hızını etkilemektedirler [4]. Yüzey etken maddeler buldukları ortamda koruyucu maddeyle reaksiyon oluşturarak koruyucu etkiyi kaldırır.

2.7.5. Işık etkisi

İlaç bileşenlerinde oda ışığı veya güneş ışığı bozunmaya neden olabilir. Sıcaklık gibi ışıkta tepkimeyi doğrudan tetikleyen faktörlerdendir. Bileşen tarafından emilmesi

ile bozunma reaksiyonu ışık enerjisi ile gerçekleşir. Işık enerjisinin bileşen tarafından absorblanmasıyla elektronlar az enerji düzeyinden etkili enerji düzeyine çıkarlar ve kimyasal reaksiyon başlatırlar. Bozunma, Isı enerjisine dönüşüm ve Işığın farklı bir dalga boyunda yayılması (fosforesans, floresans) gibi reaksiyonlara sebep olmaktadır.

Işığa maruz kalma sonucunda, numunelerin fiziksel özelliklerinde (örneğin, çözeltinin görünümü, berraklığı veya ilaç etken maddesinin rengi) herhangi bir değişiklik olup olmadığını ve fotokimyasal bozunma işlemlerinden kaynaklanabilecek ürünler için uygun şekilde doğrulanmış bir yöntemle analiz edilerek bozunma incelenmelidir [18].

Işık ile meydana gelen fotoliz reaksiyonlarında enerjisi yüksek aynı zamanda dalga boyu küçük olan ışınlar tesirlidir. Bundan dolayı enerji ile dalga boyu arasında zıt bir bağlantı vardır. Çizelge 2.6'da Görünür, UV ve IR ışınlarının dalga boyları ile enerjileri gösterilmiştir.

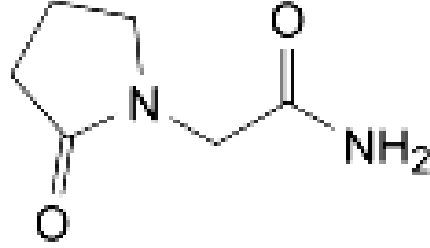
Çizelge 2.6 UV, Görünür ve IR ışık türlerine ait dalga boyları

Işık Türü	Dalga boyu (nm)	Enerji(Kcal/mol)
UV	50-400	286-72
UV-A	320-400	-
UV-B	290-320	-
UV-C	200-290	-
Görünür	400-750	72-36
IR	750-10000	36-1

3. PİRASETAM

3.1. Fizikokimyasal Özellikler

Pirasetam, kimyasal adı 2-(2-okso-1-pirolidin-1-yl)asetamide ve molekül formülü $C_6H_{10}N_2O_2$ olan bir ilaç etken maddesidir (Şekil 3.1). Bileşiğin molekül ağırlığı 142,2 g/mol'dür [28].



Şekil 3.1 Pirasetam'ın molekül formülü

Beyaz ya da beyaza yakın toz formunda bulunan Pirasetam'ın suda serbest, %96'lık Etanol' de çözünürlüğü yüksektir.

3.1.2. Farmakolojik özellikler

3.1.2.1. Farmakodinamik özellikler

Etken madde Pirasetam, gamaaminobütirik asidin (GABA) siklik türevidir olan bir pirolidon (2-okso-1-pirolidin-asetamid)'dir.

3.1.2.2. Etki mekanizması ve farmakodinamik etkileri

Mevcut veriler, Pirasetam'ın temel etki mekanizmasının ne hücre ne de organa özgü olmadığını, nöronal ve vasküler etkileri olduğunu göstermektedir.

- *Nöronal Etkiler*

Hayvan ve insanda öğrenme, hafıza, dikkat, bilinçlilik gibi kognitif olaylarla ilgili fonksiyonları sakinleştirici veya fiziksel ve mental performansı artırıcı etkilere neden olmaksızın hem yetersiz durumlarında hem de normal deneklerde artırır. Pirasetam, hayvanlarda ve insanlarda, hipoksi (oksijen yetmezliği), toksik etkilerinin ve elektrokonvülsif tedavi (elektroşok tedavi) gibi çeşitli serebral (beyin felci) olaylardan sonra, bilişsel yetenekleri korur ve düzeltir.

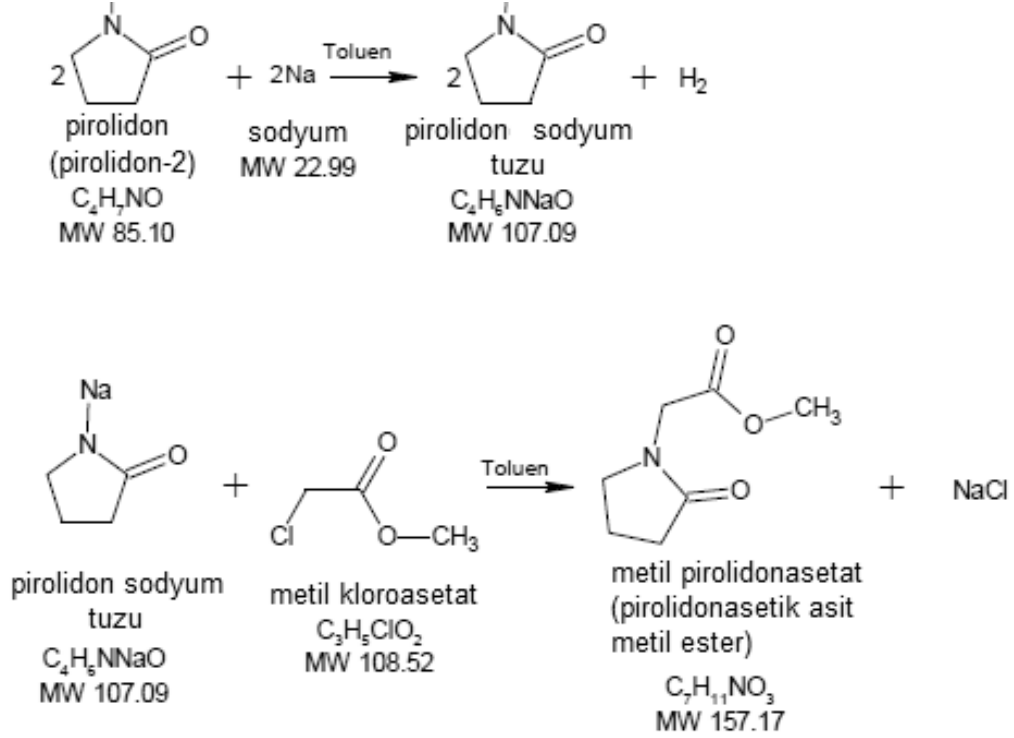
- *Vasküler Etkiler*

Pirasetam, trombositler, eritrositler ve damar duvarları üzerinde hemoreolojik etkilerini eritrosit deformabilitesini artırarak, trombosit agregasyonunu, damar duvarlarına eritrosit adhezyonunu ve kapiller vazospazmını azaltarak gösterir.

3.1.3. Pirasetam'ın elde edilişi

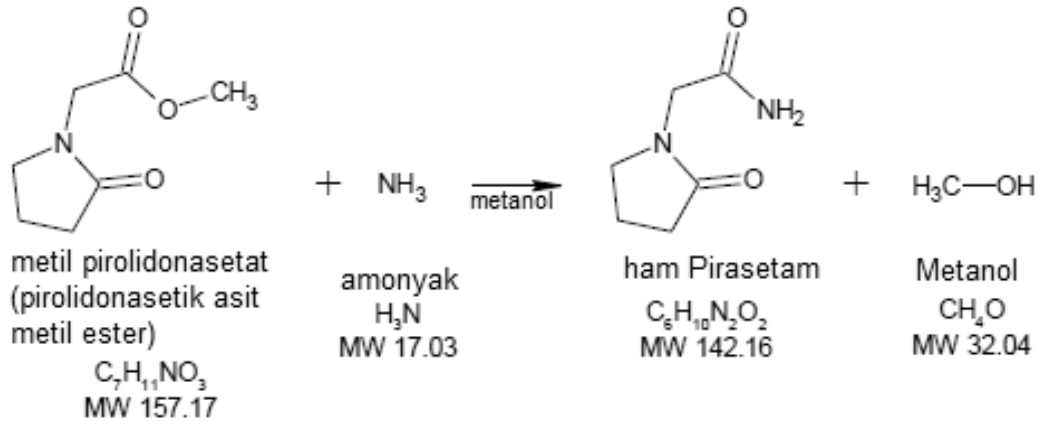
- Üretim basamakları özeti

Tuz oluşumu reaksiyonu, 2-pirolidon ve sodyum metoksitein karıştırılmasından sonra devam eder, daha sonra metil kloroasetat damlatılır ve esterleştirilir, ardından yüksek vakum damıtma işleminden sonra N-metil asetat pirolidon (esterifikasyon maddesi) elde edilir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Pirolidon sodyum tuzu ve metil pirolidonasetat elde edilişi

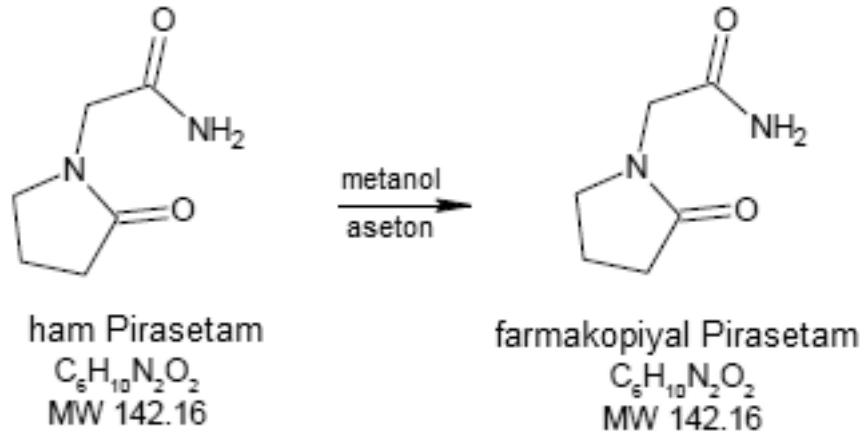
Toluen' e sodyum metali eklenir, karışım ısıtılır ve yüksek sıcaklıkta muhafaza edilir. Pirolidon-toluen çözeltisi eritilmiş sodyumun süspansiyonuna bırakılır, reaksiyon karışımı kaynama sıcaklığına kadar ısıtılır ve bu sıcaklıkta belirli bir süre boyunca muhafaza edilir ve daha sonra soğutulur. Metil kloroasetat soğutulmuş süspansiyona bırakılır. Toluen ve daha sonra metil pirolidonoasetat reaksiyon karışımından damıtılır. Elde edilen metil pirolidonoasetat, bir sonraki Pirasetam sentez aşamasına yönlendirilir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Ham Pirasetam elde edilişi

Sıvı amonyak, metil piperidonasetat çözeltisine metanol içerisinde eklenir. Karışım ısıtılır ve gerekli parametrelerde tutulur ve sonra soğutulur. Daha sonra reaksiyon karışımı, soğutulmuş metanol içinde absorbe edilen amonyak fazlalığını damıtmak için yavaşça ısıtılır. Amonyak damıtılmasını bitirdikten sonra, reaksiyon karışımı soğutulur ve süzülür. Elde edilen ham Pirasetam soğutulmuş metanol ile yıkanır. Amonyakla doyurulmuş metanol, bir sonraki sentez lotuna geri döndürülür.

Ana ve yıkama sıvıları metanol rejenerasyonuna yönlendirilir ve ham ürün kristalleşmeye yönlendirilir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Farmakopiyal Pirasetam elde edilişi

Ham pirasetam, metanol içerisinde çözündürülür. Sıcak çözelti filtre edilir ve bir sonraki soğutulur. Kristalize edilmiş Pirasetam santrifüjlenir ve soğutulmuş aseton ile yıkanır. Santrifüjlenmiş ve yıkanmış ürün vakum altında kurutulur, elenir veya öğütülür ve paketlenir. İsteğe bağlı olarak ürün homojenizasyona yönlendirilir.

3.2. Konu ile İlgili Yapılmış Çalışmalar

Siddiqui ve ark., (2017 s. 576-582) Pirasetam ve bozunma ürünleri için yeni bir UPLC ile miktar tayini yöntemi geliştirilmiştir ve doğrulamışlardır. Pirasetam, 80°C'de asit (5M HCl), nötr (su) ve alkalın (0.5 M NaOH) hidrolitik koşullarına ve ayrıca oda sıcaklığında oksidatif ayrışmaya (H₂O₂) tabi tutulmuş, 2 gün boyunca güneş ışığına (60.000-70.000 lux) maruz bırakarak fotolitik çalışmalar yapmışlardır. İlaç, termal bozulmayı sağlamak için sıcak hava fırınında 60 gün boyunca 50°C' ye tabi tutulmuş, 0,15 ml/dk akış hızında izokritik elüsyonda (ACN: su, 25:75) çalışarak Acquity UPLC BEH C₁₈ kolonunda (2,1 x 150 mm, 1,7 µm) kromatografik ayırıştırma yapılmıştır. 0.9 ml /dk akış hızında izokritik akışta (ACN: 10 mM amonyum asetat, pH 5,0, 20:80) çalışarak phenomenex C₁₈ kullanılmıştır. Pirasetam'ın sadece bazda bozulduğu ve tüm stres koşullarında kararlı davranış gösterdiği bulunmuştur [29].

Manutosh ve ark., (2016 s. 292-297) tablet formunda Pirasetam ve Sitikolin' in stabilitesini belirlemek için yüksek basınçlı bir sıvı kromatografi (YBSK) yöntemi geliştirilmiş ve doğrulamıştır. Ayırma, Inertsil C₁₈ (4,6 x 250 mm, 5 µm) kolonu, gradyen elüsyonda fosfat tamponu ve asetonitril içeren hareketli faz kullanarak 205 nm dalga boyunda PDA detektörü ile yapılmıştır. Yöntem, sırasıyla 0,29-623 µg/ml ve 0,48-1030 µg/ml aralığında korelasyon katsayıları ile ilgili Sitikolin ve Pirasetam maddeleri için iyi doğrusallık göstermiştir. Metot doğruluğu üç seviyede değerlendirilmiştir; geri kazanım Sitikolin için %100 - 102 arasında değişirken, Pirasetam için % 94,3 - 109,1 arasındadır. Sitikolin için tespit ve kantitatif sınırı 0,07 - 0,25 µg/ml ve Pirasetam 0,12 - 0,41 µg/ml ve çözeltinin oda sıcaklığında 27 saat içinde stabil olduğu bulunmuştur. Asit ile bozundurma çalışmasında, 0,1 N HCl ilave edilerek 100°C'de 3 saat bekletilmiş, bozunma Sitikolin için % 3,6 ve Pirasetam için % 5,1 olarak bulunmuştur. Baz ile bozundurma çalışmasında, 0,1 NaOH ilave edilerek 100°C'de 3 saat bekletilmiş, bozunma Sitikolin için % 2,4 ve Pirasetam için % 16,7 olarak bulunmuştur. Peroksit ile bozundurma çalışmasında, % 3'lük H₂O₂ ilave edilerek 100°C'de 3 saat bekletilmiş, bozunma Sitikolin için % 4,1 ve Pirasetam için % 5,0 olarak bulunmuştur [30].

4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

4.1. Gereçler

4.1.1. Kimyasal maddeler

Asetonitril : Sigma Aldrich, Almanya

Orto-fosforik asit : Merck, Almanya

Dipotasyum hidrojen fosfat : Merck, Almanya

4.1.2. Cihazlar ve diğer gereçler

Hassas terazi : Mettler Toledo, XPE205, İsviçre

pH metre : Mettler Toledo, Seven Compact pH/ion meter S220,
İsviçre

Ultra saf su cihazı : Millipore Ultrapure Water System, Fransa

Ultrasonik banyo : Bandelin Electronic, RK510 H, Almanya

Manyetik karıştırıcı

YBSK : Thermo UltiMate 3000 (pompa, degazör, otosampler ve
termostatlı kolon bölümlerinden oluşan) YBSK

Yoğunluk ölçer : Anton Paar DMA™ 4100 M, Avusturya

4.1.3. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

Ayırımalar Phenomenex, Kinetex EVO C₁₈ (4,6 x 250 mm, 5µm) kolonu üzerinde gerçekleştirilmiştir. 1,0 ml/dk akış hızında izokritik elüsyonda çalışılmıştır. Enjeksiyon hacmi 20 µl olup, kolon sıcaklığı 25°C'ye ayarlanmıştır. Bölüm 4.1.5.2'de açıklanan mobil faz ve UV dedektör kullanılarak, 205 nm' de tayin edilmiştir.

4.1.4. UV-Vis spektroskopisi

UV-Vis Spektrumları, Thermo Scientific Evolution 300 UV-Vis Spektrofotometre ile yapılan miktar tayininde kullanılan ultra saf su : Asetonitril (90:10) çözücü spektrumu ile etken madde spektrumu arasında girişim olmadığının belirlenmesinde kullanılmıştır.

4.1.5. Çözeltilerinin hazırlanması

4.1.5.1. Çözücü hazırlanması

Standart ve numune çözeltilerinin seyreltilmesinde çözücü olarak, ultra saf su ve Asetonitril 90:10 (h/h) oranında karıştırılarak kullanılmıştır.

4.1.5.2. Hareketli faz hazırlanması

Hareketli faz olarak, 5,74 mM dipotasyum hidrojen fosfat içeren çözelti seyreltik orto-fosforik asit çözeltisi ile pH' ı 6,00 olarak ayarlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti ile Asetonitril (90:10, h/h) oranında karıştırılmıştır. Hazırlanan hareketli faz ultrasonik su banyosunda degaze edilmiştir.

4.1.5.3. Standart çözeltilerinin hazırlanması

Pirasetam stok standart çözeltisi, çözücü ile çözünmesi sağlanarak 0,50 mg/ml konsantrasyonunda hazırlanmıştır. Hazırlanan stok standart çözeltilerden çözücü ile 1/5 oranında seyreltme yapılarak 0,10 mg/ml konsantrasyonda standart çözelti hazırlanmıştır. 0,2µm RC şırınga filtresi ile süzülerek sisteme enjekte edilmiştir.

4.1.5.4. Örnek çözeltilerinin hazırlanması

Pirasetam etken maddesi, çözücü ile 2,0 mg/ml konsantrasyonunda örnek stok çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu örnek stok çözeltilerden çözücü ile 1/20 oranında seyreltmeler yapılarak 0,10 mg/ml konsantrasyonda örnek çözeltisi hazırlanmıştır. 0,2µm RC şırınga filtresi ile süzülerek sisteme enjekte edilmiştir.

4.2. Stabilite Testleri

4.2.1. Sıcaklık etkisi

Katı Pirasetam, ışık geçirmeyen amber renkli cam şişe içinde bölüm 4.1.5.1'de hazırlanan çözücü ile çözülerek, 490 saat boyunca 50°C, 60°C, 70°C, 80°C sıcaklıklara maruz bırakılmıştır. Belirli aralıklarda alınan Pirasetam örnekleri su:Asetonitril (90:10) çözeltisinde çözülmüş ve YBSK ile analizleri yapılmış ve Pirasetam konsantrasyonundaki azalmadan raf ömürleri hesaplanmıştır. .

4.2.2. Işık etkisi

Katı etken madde, kalınlığı yaklaşık 3 mm olan bir cam kaba yayılarak ışık stabilite kabineye yerleştirilmiş ve 600 saat boyunca 25°C da UV ışığı ve gün ışığının hammadde üzerindeki etkisi gözlenmiştir.

Etken maddesi Pirasetam olan ilacın kullanılacağı ampülü belirlemek amacıyla, Pirasetam'ın 25°C de amber renkli ve renksiz ampuller içinde 10 gün boyunca ışık stabiliteleri incelenmiştir.

4.2.3. Farklı çözeltiler ile kullanımın stabilitesine etkisi

Pirasetam 1g/5ml IV enjeksiyonluk çözelti içeren ampul içindeki ilacın, izotonik sodyum klorür çözeltisi (% 0,9) ve dekstroz sudaki çözeltilerine (% 5, % 10 ve % 20) enjekte edilerek kullanılmasında oluşabilecek geçimsizlikleri incelemek ve stabiliteye etkisinin belirlenmesi amacıyla analizleri yapılmıştır. 5 ml' lik ampul çözeltisi 1000 ml' lik çözeltilere enjekte edilmiştir. Hazırlanan bu çözeltiden 0,10 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde aynı çözeltiler ile 1/10 oranında seyreltmeler yapılarak 0,2 µm RC şırınga filtresinden süzülerek ve YBSK analizleri yapılmıştır.

4.2.4. İlacın ampul içindeki stabilitesi ve stabilite kinetiği

Stabilite çalışmaları ICH Q1A(R2)-Q1F ve Avrupa Farmakopesi' ne (EP 9,0) uygun olarak yürütülmüştür.

İlacın yasal olarak yapılması gereken raf ömrünün belirlenmesi amacıyla uzun dönem, ara dönem ve hızlandırılmış stabilite çalışmaları üç farklı sıcaklık ve nem koşullarında (25°C ± 2°C / % 60 ± 5 BN, 30°C ± 2°C / % 65 ± 5 BN ve 40°C ± 2°C / % 75 ± 5 BN) yapılmıştır.

0,10 mg/ml konsantrasyonunda hazırlanan standart Pirasetam çözeltisi kullanılarak, örneklerdeki Pirasetam miktarları mol/L olarak aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Pirasetam} = \frac{A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Standart}}} \times \frac{W_s/20 \times 2/10}{W_n / 100 \times 1/20} \times \frac{P}{100} \times 100$$

$$\text{g/L Pirasetam} = \frac{\% \text{ Pirasetam} \times W_n}{100}$$

$$\text{mol/L Pirasetam} = (\text{g/L Pirasetam})/142,2$$

A_{Numune} : Numune çözeltisindeki Pirasetam piki alanı

A_{Standart} : Standart çözeltisindeki Pirasetam piki alanı

W_s : Standart çözelti için gereken Pirasetam WS tartımı, mg

W_n : 1 ml numune içerisinde bulunan Pirasetam miktarı, 200 mg

P : Pirasetam standardının % etken gücü

W_{Pirasetam} : Pirasetam'ın molekül ağırlığı, 142,2 g/mol

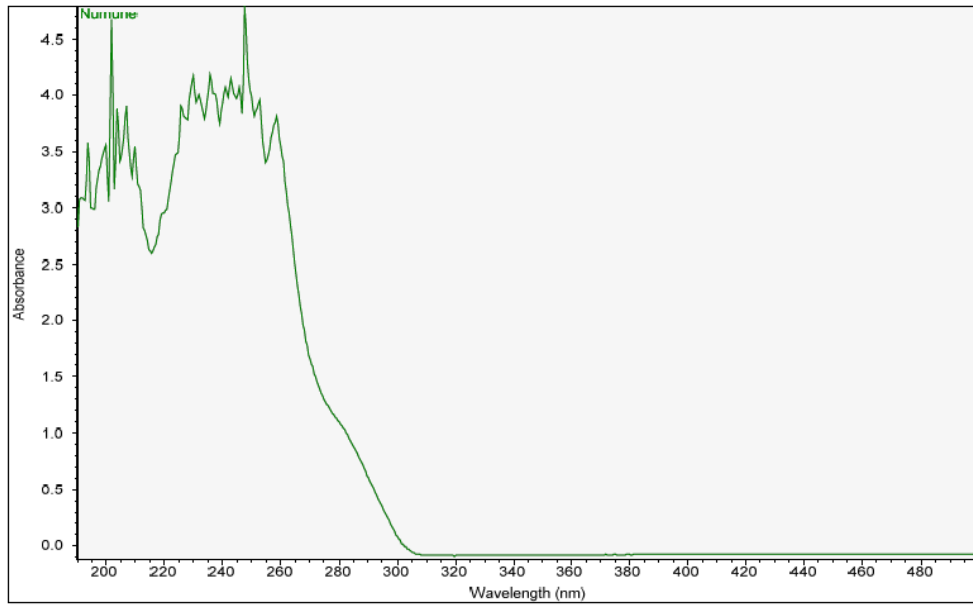
5. DENEYSEL BULGULAR

5.1. UV-Vis Spektroskopisi İle Spektrumlar

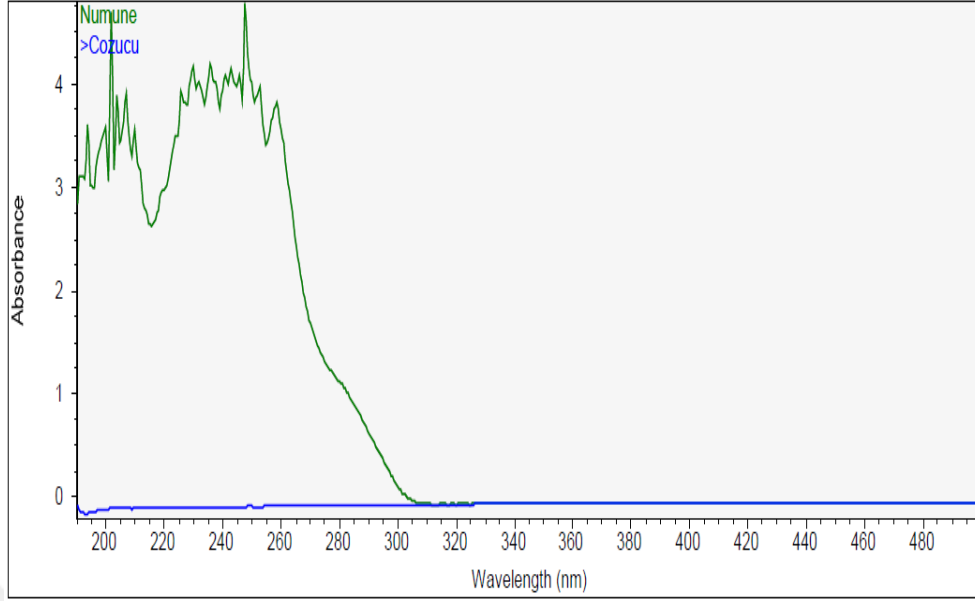
UV-Vis Spektrumları, Thermo Scientific Evolution 300 UV-Vis Spektrofotometre kullanılarak , başlık 4.1.5.1'de hazırlanan çözücü spektrumu ile etken madde spektrumları Şekil 5.1 ve 5.2'de verilerek, aralarında girişim olmadığı Şekil 5.3'te gösterilmiştir.



Şekil 5.1 Çözücü (ultra saf su : asetonitril (90:10)) UV-Vis spektrumu



Şekil 5.2 Katı etken maddenin UV-Vis spektrumu



Şekil 5.3 Çözücü ve katı etken maddenin UV-Vis spektrumu

5.2. Sıcaklığın Pirasetam Stabilitesi Üzerindeki Etkisi

Katı Pirasetam'ın, 50°C, 60°C, 70°C ve 80°C sıcaklıklarında 490 saatlik stabilite testleri yapılmıştır. Yapılan analizlerde 50°C, 60°C, 70°C ve 80°C maruz bırakılması sonucunda sırasıyla yaklaşık % 7 (490.saat), % 10 (240.saat), % 13 (108.saat) , % 15 (48.saat) kimyasal bozunma gerçekleşerek, miktar kaybında azalma gerçekleşmiştir. Farklı sıcaklıklarda zamanla konsantrasyon değişimleri Çizelge 5.1'de verilmiştir. Reaksiyon derecesinin belirlenmesinde grafik yöntemi kullanılmıştır.

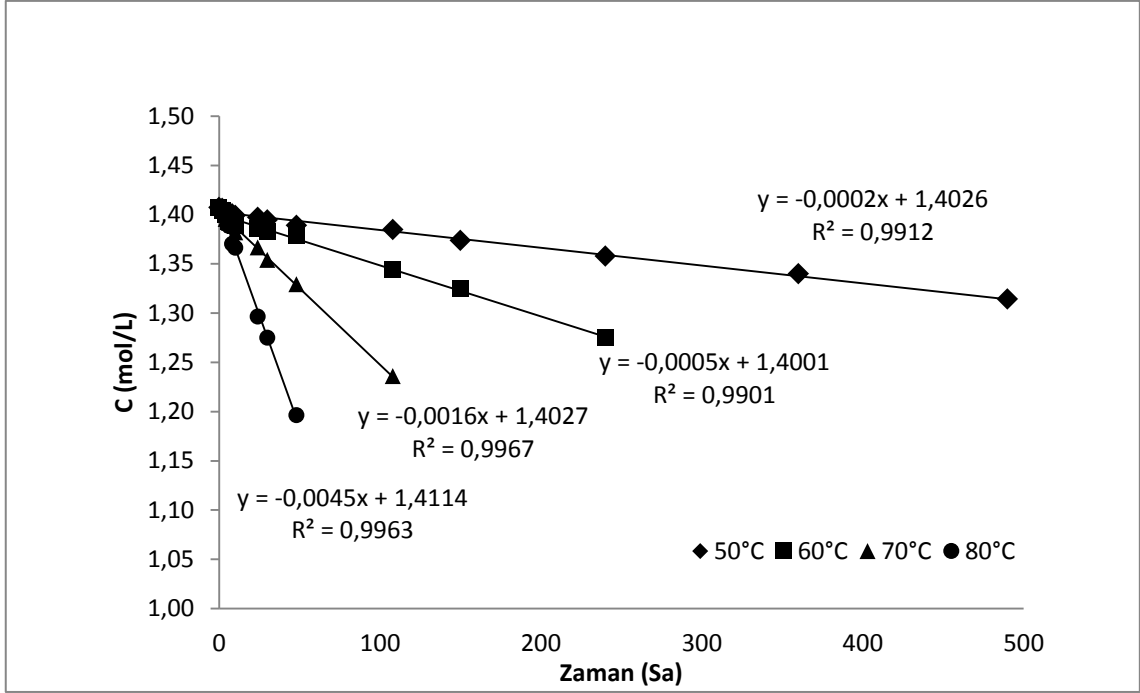
Çizelge 5.1 Pirasetam'ın farklı sıcaklıklarda zamanla konsantrasyonundaki azalma

Zaman (Sa)	C (mol/L)			
	50°C	60°C	70°C	80°C
0	1,407	1,407	1,407	1,407
2	1,406	1,404	1,404	1,404
4	1,403	1,400	1,395	1,400
6	1,402	1,392	1,392	1,388
8	1,401	1,392	1,390	1,370
10	1,399	1,389	1,382	1,366
24	1,397	1,386	1,367	1,296
30	1,395	1,382	1,354	1,275
48	1,389	1,378	1,329	1,196
108	1,385	1,344	1,236	
150	1,374	1,325		
240	1,358	1,275		
360	1,340			
490	1,314			

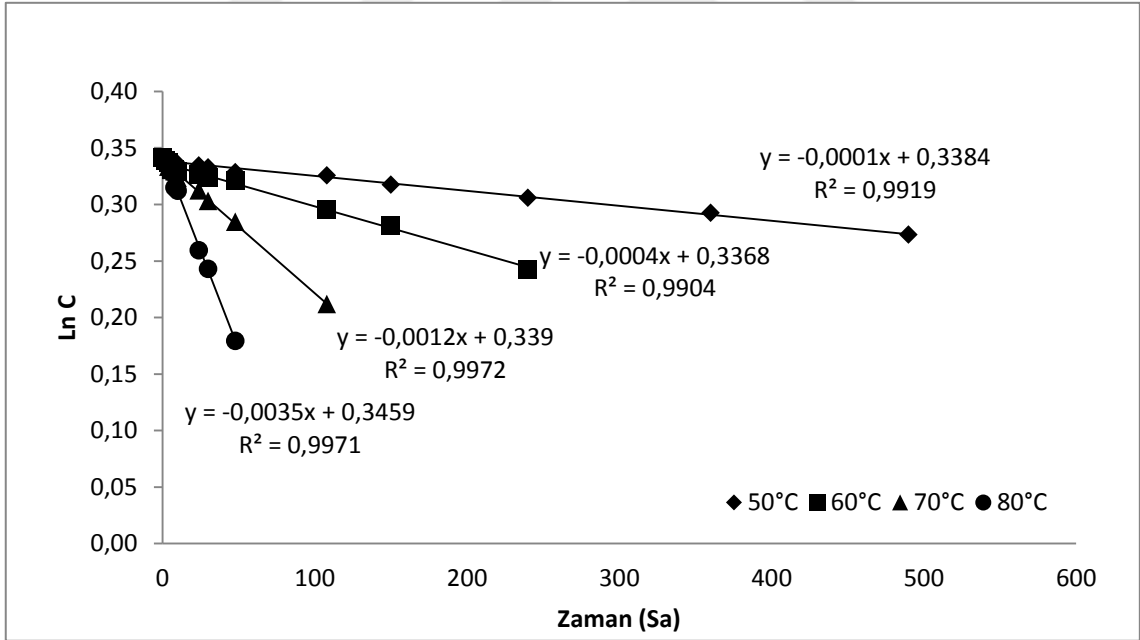
Pirasetam'ın sıcaklıkla bozunma verileri 0., 1. ve 2. derece bozunma kinetiği modellerine uygulanmış elde edilen eğrilere doğrusal regresyon analizi yapılarak eğrilerin eğim ve kesim değerleri ile regresyon katsayıları (R^2) hesaplanmıştır. Elde edilen R^2 değerleri karşılaştırılarak reaksiyonun derecesi belirlenmiştir. R^2 değeri büyük olan eğriye ilişkin eğim değerleri kullanılarak aşağıda reaksiyon hız sabitleri (k) hesaplanmıştır. 0., 1. ve 2. derece bozunma kinetiği grafikleri Şekil 5.4, 5.5 ve 5.6'da gösterilmiştir. Grafiklerden elde edilen regresyon katsayıları ve reaksiyon hız sabitleri (k) Çizelge 5.2'de verilmiştir. Regresyon katsayısı değerleri tüm modeller için benzer bulunmuştur. Veriler bütün modellere uygun bulunmuştur ($p < 0,05$). En büyük regresyon katsayıları göz önüne alınarak verilerin değerlendirilmesinde 1. derece hız reaksiyonu kabul edilmiştir.

Çizelge 5.2 Farklı sıcaklıklarda 0., 1. ve 2. derece reaksiyon hız fonksiyonlarının incelenmesi

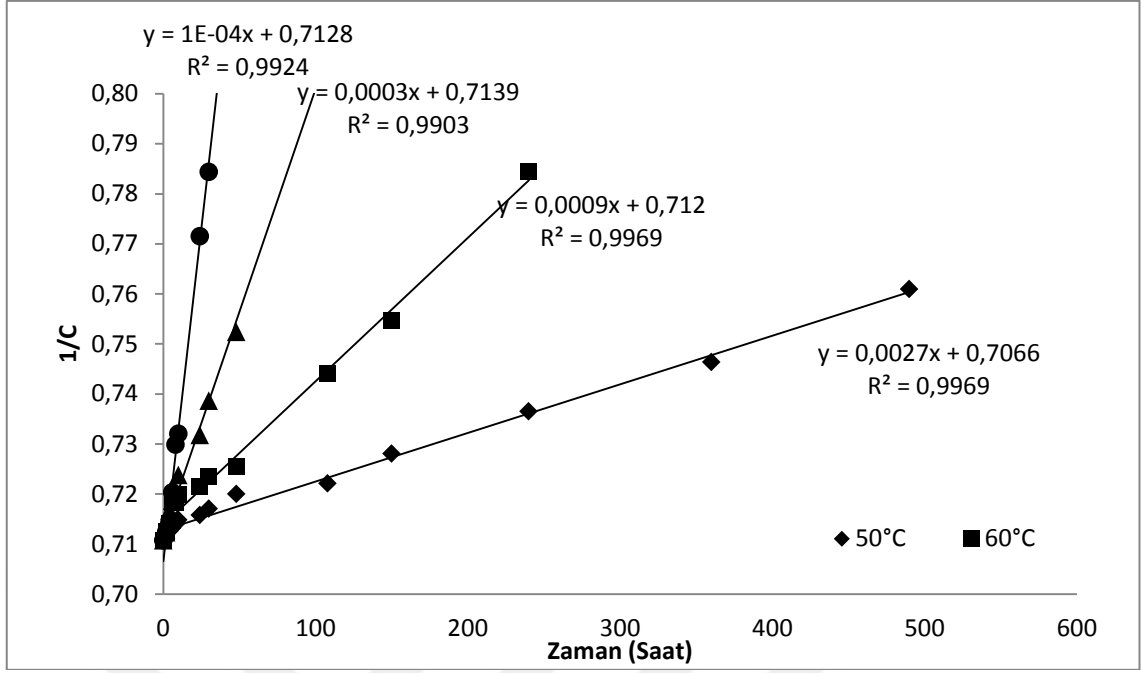
		50°C	60°C	70°C	80°C
0	r	0,9912	0,9901	0,9955	0,9963
	-k	0,0002	0,0005	0,0016	0,0045
1	r	0,9919	0,9904	0,9972	0,9971
	-k	0,0001	0,0004	0,0012	0,0035
2	r	0,9924	0,9903	0,9969	0,9969
	k	0,0001	0,0003	0,0009	0,0027



Şekil 5.4 Farklı sıcaklıklarda Pirasetam'ın 0. Derece bozunma kinetiği (Zaman-C)



Şekil 5.5 Farklı sıcaklıklarda Pirasetam'ın 1. Derece bozunma kinetiği (Zaman- $\ln C$)



Şekil 5.6 Farklı sıcaklıklarda Pirasetam'ın 2. Derece bozunma kinetiği (Zaman-1/C)

Birinci derece reaksiyon verilerine göre dört ayrı sıcaklık Şekil 5.5 kullanılarak hesaplanan eğim ve y eksenini kesim değerleri Çizelge 5.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.3 Birinci derece bozunma kinetiği kullanılarak farklı sıcaklıklarda hesaplanan eğim ve kesim değerleri

Sıcaklık (°C)	Eğim (k) (saat ⁻¹)	Kesim (lnA ₀)
50	0,0001	0,7128
60	0,0004	0,7139
70	0,0012	0,7120
80	0,0035	0,7066

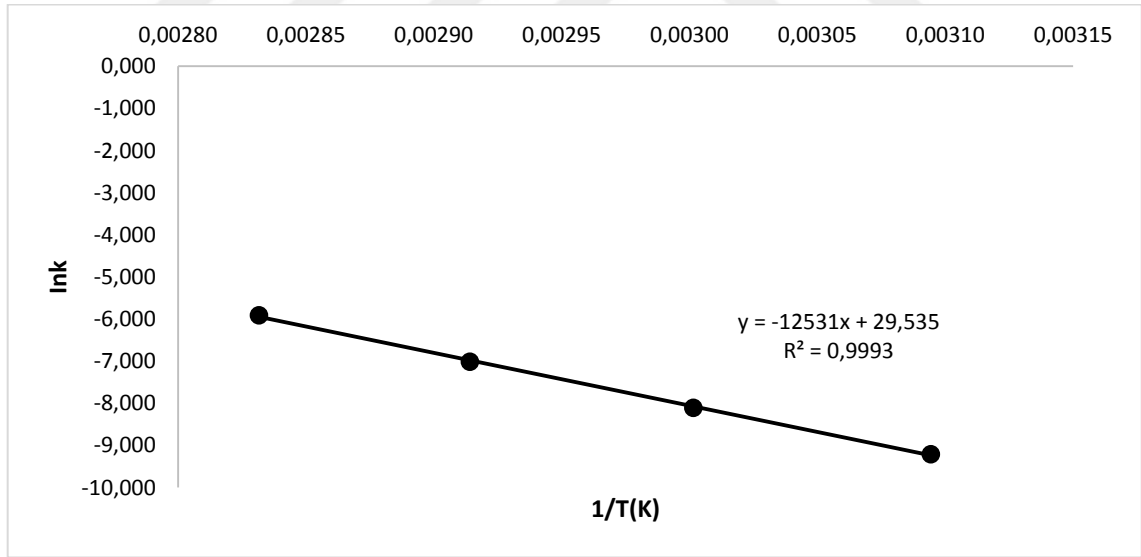
Birinci derece bozunma kinetiği kullanılarak Pirasetam'ın bozunması için aktivasyon enerjisi hesabı için Arrhenius eşitliği kullanılarak lnk'ya karşı 1/T (K)

grafığe geçirilmiştir (Şekil 5.7). Arrhenius grafiğinin çizilmesi için kullanılan parametreler aşağıdaki Çizelge 5.4'de gösterilmiştir:

Çizelge 5.4 Farklı sıcaklıklarda hesaplanan 1/T ve lnk değerleri

T(°C)	T(K)	1/T	k(sa ⁻¹)	Lnk
50	323,15	0,00309	0,0001	-9,210
60	333,15	0,00300	0,0004	-7,824
70	343,15	0,00291	0,0012	-6,725
80	353,15	0,00283	0,0035	-5,655

T(°C): Sıcaklık (Santigrat), T(K): Sıcaklık (Kelvin), k: Eğim, lnk: Eğimin ln değerleri



Şekil 5.7 Pirasetam' a sıcaklık etkisinin lnk'ya karşı 1/T grafiğii

Çizilen doğrunun denklemi,

$$\ln k = 29,535 - \frac{12535}{T}$$

Aktivasyon enerjisi (E_a),

$$E_a = 12531 \times R = 12531 \times 1,987$$

$$E_a = 24899 \text{ cal/mol}$$

25°C' de ki reaksiyon hız katsayısı,

$$\ln k_{25} = 29,535 - \frac{24899}{1,987 \times 298,15}$$

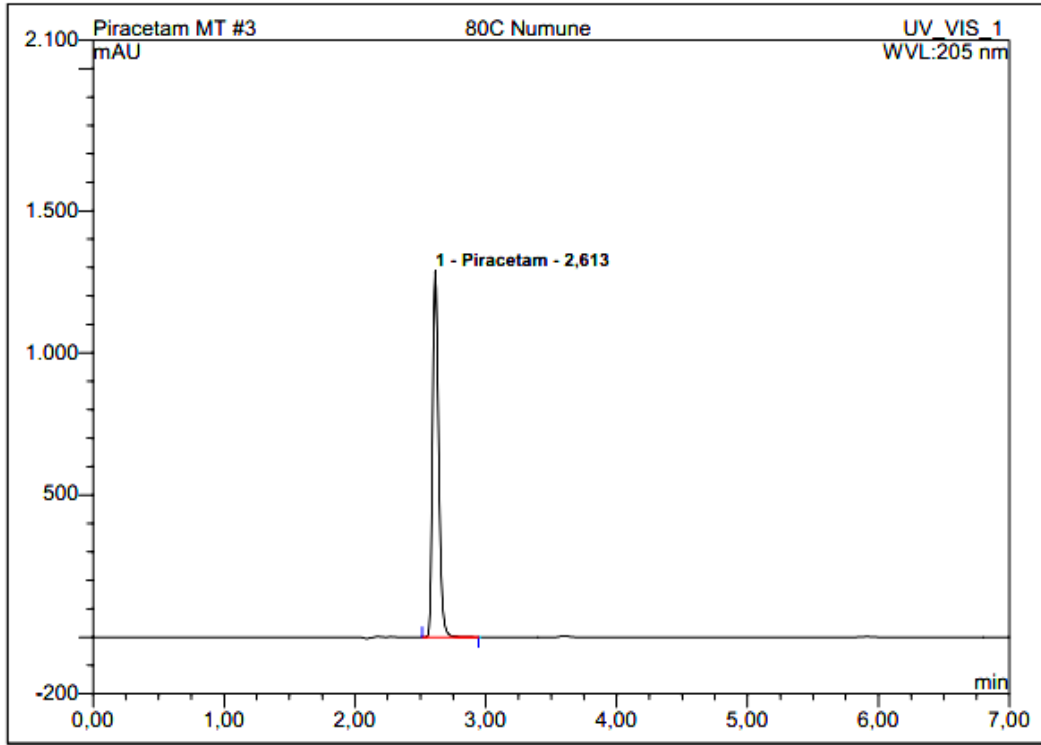
$$\ln k_{25} = -12,515$$

$$k = e^{-12,524} = 3,6699 \times 10^{-6} \text{ sa}^{-1}$$

Birinci derece reaksiyonların kararlılığını koruyabileceği öngörülen süre t_{%10} formülünden yararlanılarak aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

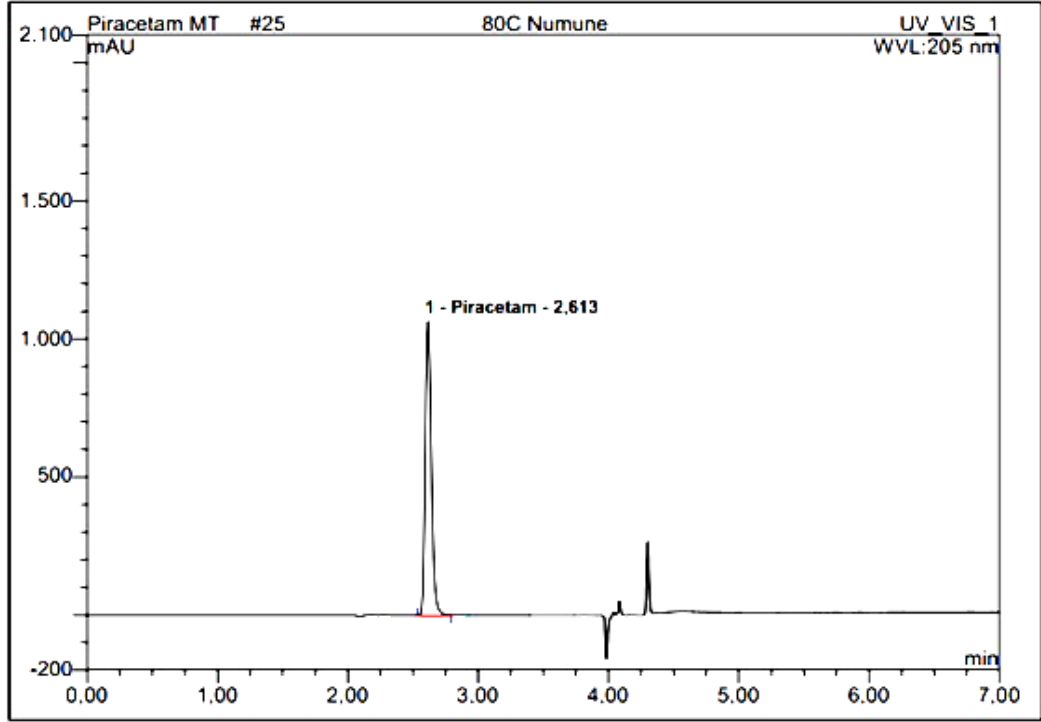
$$t_{\%10} = \frac{0,105}{3,6699 \times 10^{-6}} = 28611 \text{ saat} = 1192 \text{ gün} = 41 \text{ ay } 3 \text{ gün}$$

Pirasetam'ın sıcaklık etkisinin stabilitesine etkisinin belirlenmesinde yapılan miktar tayini analizi YBSK cihazı ile tayin edilmiştir. Sıcaklığa maruz bırakılmadan önce elde edilen YBSK kromatogramı Şekil 5.8'de verilmiştir. Kromatogramdan elde edilen verilere göre pik herhangi bir bozunmaya uğramadığı görülmüştür.



Şekil 5.8 Pirasetam'ın 80°C sıcaklık etkisindeki başlangıç YBSK kromatogramı

Pirasetam'ın sıcaklık etkisinin stabilitesine etkisinin belirlenmesinde yapılan miktar tayini analizi 80°C sıcaklığa 48 saat maruz bırakılması sonucunda pik yüksekliğinde ve alanında düşüş gözlenmiştir. Elde edilen YBSK kromatogramı Şekil 5.9'da verilmiştir. Kromatogramda farklı pikler de görülmüştür.



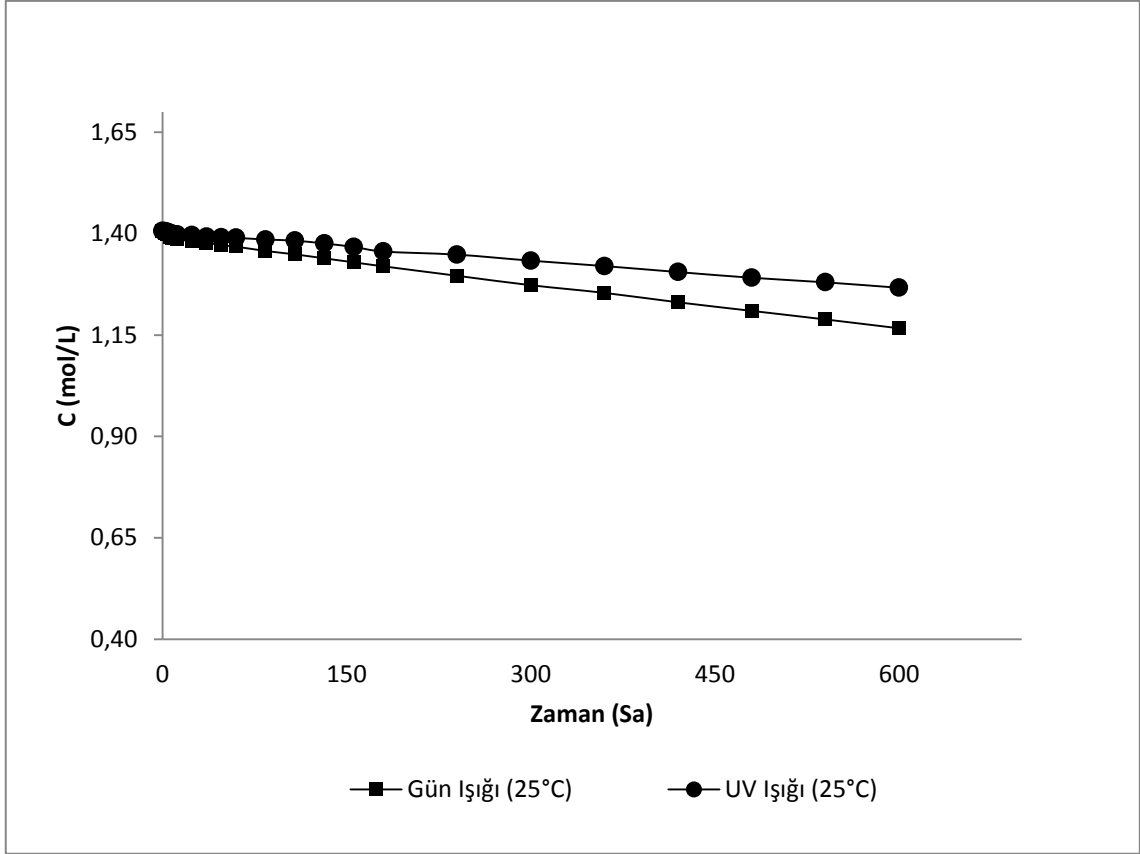
Şekil 5.9 Pirasetam'ın 80°C sıcaklık etkisindeki 48.Saat YBSK kromatogramı

5.3. Işığın Pirasetam Stabilitesi Üzerindeki Etkisi

Işığın Pirasetam'ın stabilitesi üzerindeki etkilerinin belirlenmesinde bölüm 4.2.2'de belirtilen deneysel çalışma uygulanmıştır. Işık etkisine göre konsantrasyonları (mol/L) Çizelge 5.5'te verilmiştir. Uygulanan ışığa göre zamanla etken madde konsantrasyonunda azalmalar gözlenmiştir. UV ve gün ışığı etkisi ile konsantrasyonlardaki azalmaları gösteren grafikler Şekil 5.10'da verilmiştir. Konsantrasyonların ln değerleri alındığında elde edilen veriler Çizelge 5.6'da ve çizilen grafikler Şekil 5.11 ve 5.12'de verilmiştir.

Çizelge 5.5 25°C'de UV ve gün ışığının zamana bağlı olarak konsantrasyonlara etkisi (mol/L)

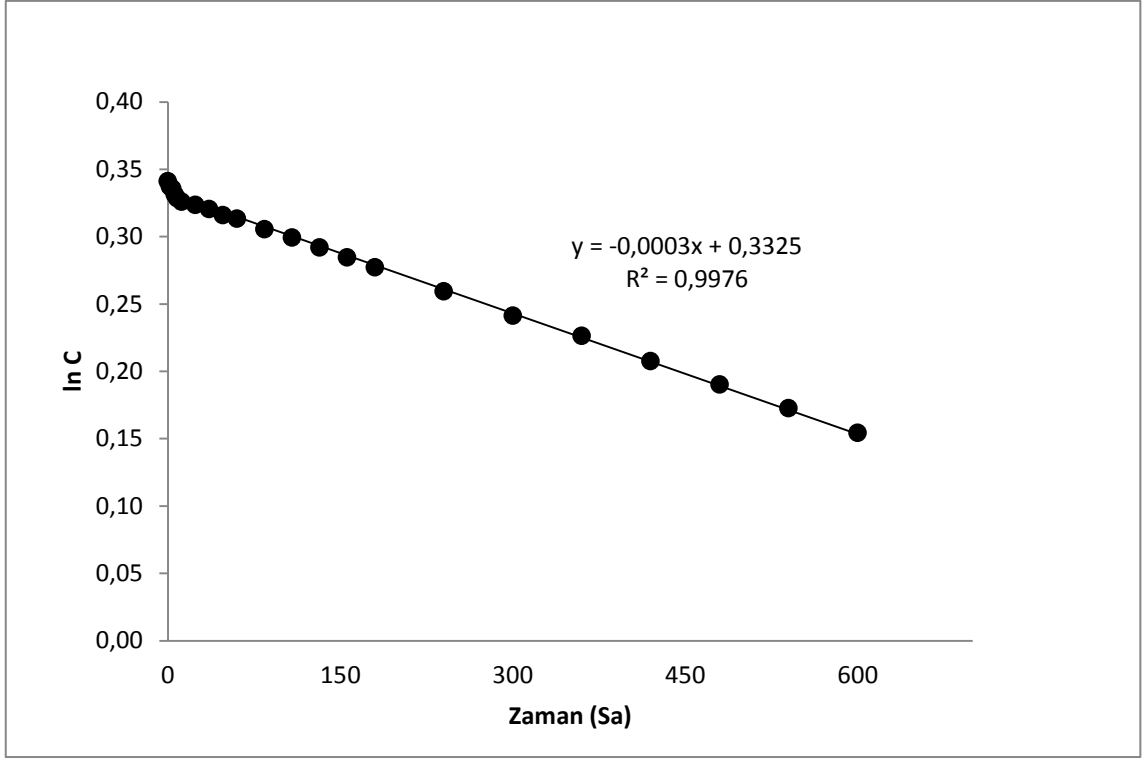
Zaman (Saat)	C (mol/L)	
	UV Işığı (25°C)	Gün Işığı (25°C)
0	1,406	1,406
2	1,406	1,401
4	1,404	1,399
6	1,402	1,392
8	1,399	1,389
12	1,398	1,385
24	1,397	1,382
36	1,392	1,378
48	1,391	1,371
60	1,390	1,368
84	1,385	1,357
108	1,383	1,349
132	1,376	1,339
156	1,367	1,329
180	1,356	1,319
240	1,348	1,296
300	1,333	1,273
360	1,320	1,254
420	1,305	1,231
480	1,291	1,210
540	1,280	1,188
600	1,267	1,167



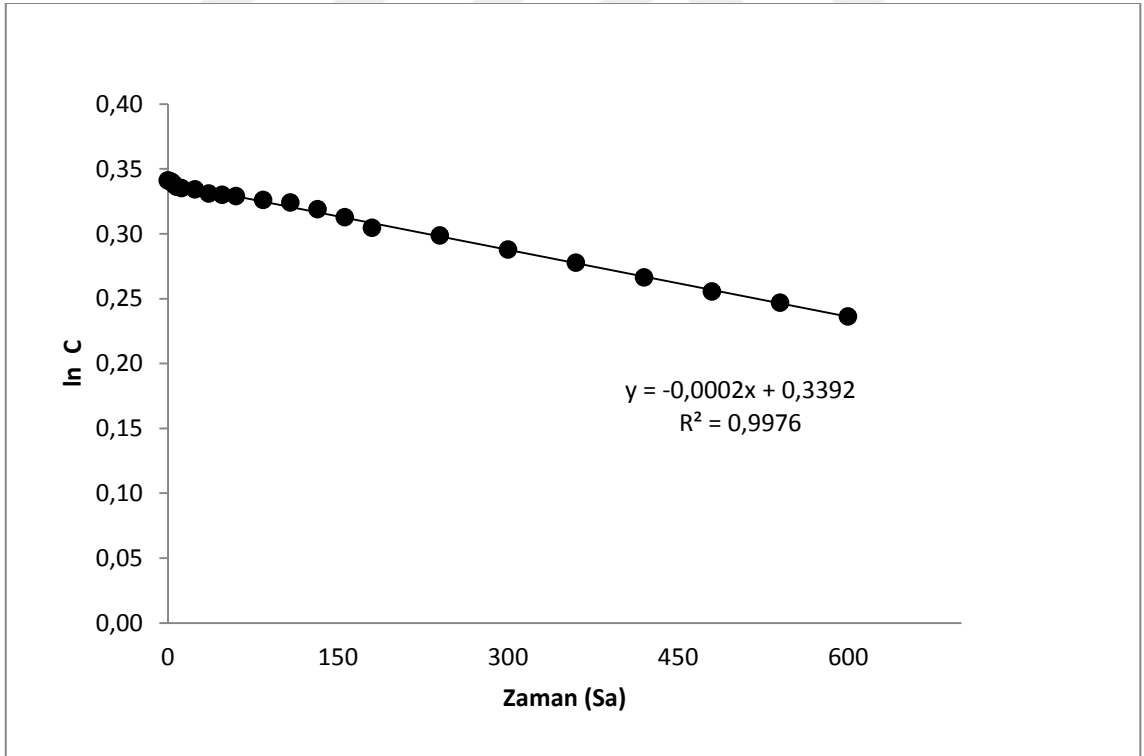
Şekil 5.10 UV ve gün ışığının zamana bağlı olarak Pirasetam konsantrasyonuna etkisinin grafiğı

Çizelge 5.6 25°C'de UV ve gün ışığının zamana bağlı olarak konsantrasyonlarına etkisinin ln değerleri

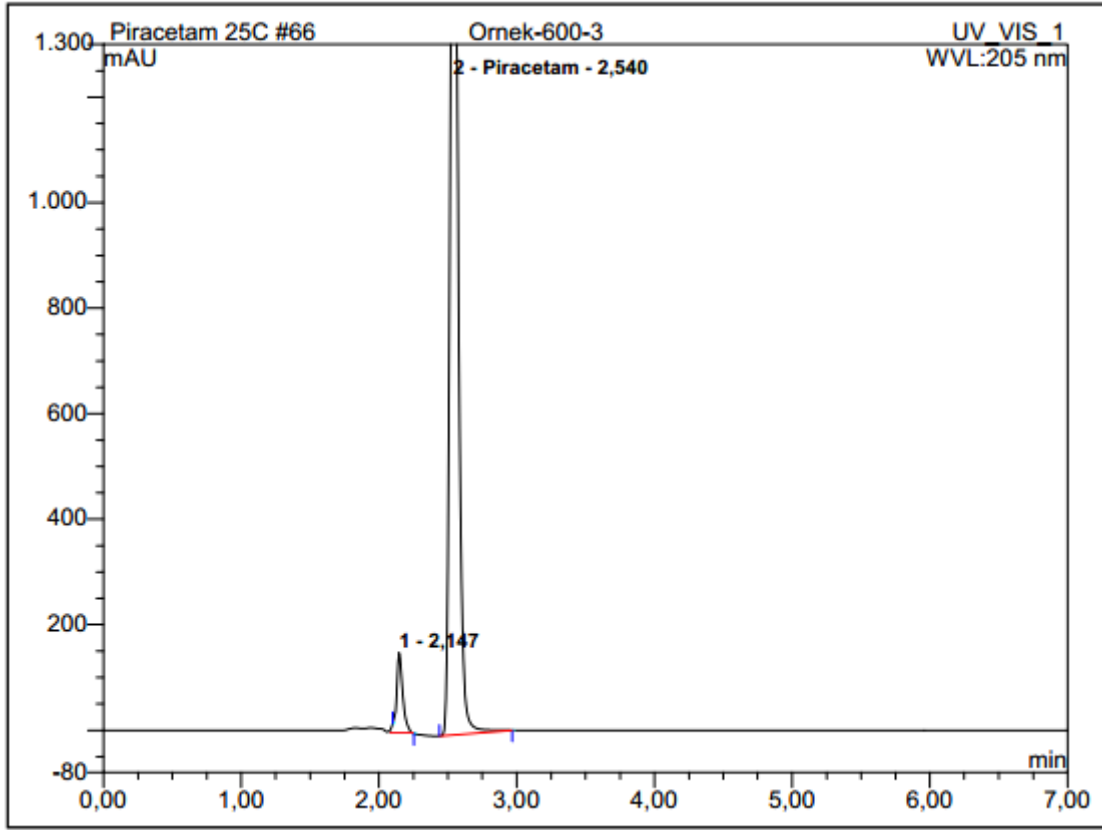
Zaman (Saat)	ln C	
	UV Işığı (25°C)	Gün Işığı (25°C)
0	0,341	0,341
2	0,341	0,337
4	0,340	0,336
6	0,338	0,331
8	0,336	0,329
12	0,335	0,326
24	0,334	0,323
36	0,331	0,320
48	0,330	0,316
60	0,329	0,313
84	0,326	0,305
108	0,324	0,299
132	0,319	0,292
156	0,313	0,285
180	0,304	0,277
240	0,299	0,259
300	0,288	0,241
360	0,278	0,226
420	0,266	0,208
480	0,256	0,190
540	0,247	0,173
600	5,194	5,111



Şekil 5.11 Pirasetam'ın 25°C'de gün ışığında birinci derece bozunma kinetiği (Zaman-lnC)



Şekil 5.12 Pirasetam'ın 25°C'de UV ışığında birinci derece bozunma kinetiği (Zaman-lnC)



Şekil 5.13 Pirasetam'ın gün ışığında 600.saat YBSK kromatogramı

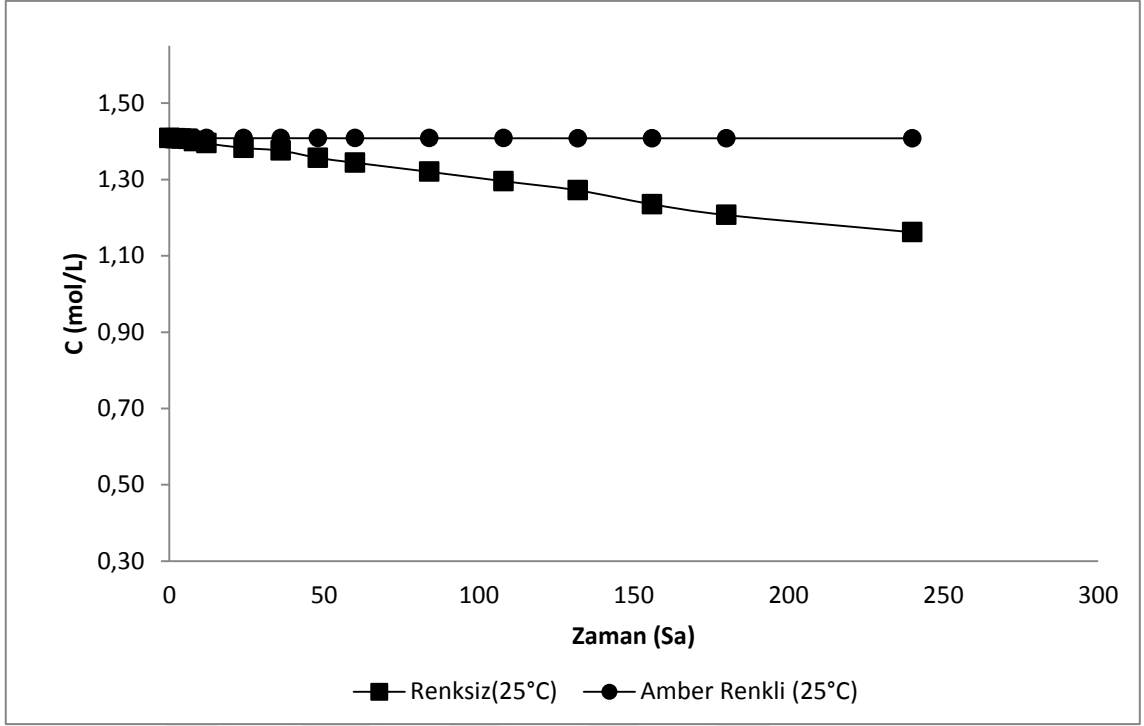
Pirasetam 600 saat boyunca fotostabilite kabiniinde UV ışığı ve gün ışığına maruz bırakılmıştır. Yapılan süre sonunda UV ışığında yaklaşık olarak % 10, gün ışığında ise yaklaşık % 20 miktar kaybı olduğu tespit edilmiştir. Bozunmaya örnek olarak elde edilen YBSK kromatogramı Şekil 5.13'de gösterilmiştir. Şekildeki gibi bozunmaya bağlı olarak etken pikinden farklı olarak bir pik daha gözlenmiştir. Çalışmalar doğrultusunda, etken madde ışıktan korunarak saklanması öngörülmektedir.

İlaç renksiz ampul ve amber renkli ampulde 25°C'de 10 gün boyunca takibi yapılarak miktar tayini çalışılmıştır. Elde edilen veriler Çizelge 5.7'de verilmiştir ve bu değerlere göre çizilen grafik şekil 5.14'te verilmiştir.

Işık etkisinin belirlenmesinde etken maddesi Pirasetam olan ilacın ambalaj etkisinde ampul renginin de önemli olacağı düşünülerek renksiz ve amber renkli ampullerde 240 saat saklanarak konsantrasyon değişimleri izlenmiştir. Yapılan analiz sonucunda elde edilen değerler Çizelge 5.8'de gösterilmiştir. Renksiz ampul içerisindeki Pirasetam konsantrasyonlarında azalma görülürken, amber renkli ampullerde ürün konsantrasyonunda değişim gözlenmemiştir. Değerlere göre çizilen grafikler 5.15 ve 5.16'da gösterilmiştir.

Çizelge 5.7 Renksiz ve amber renkli ampul kullanımının konsantrasyonlarına etkisi (mol/L)

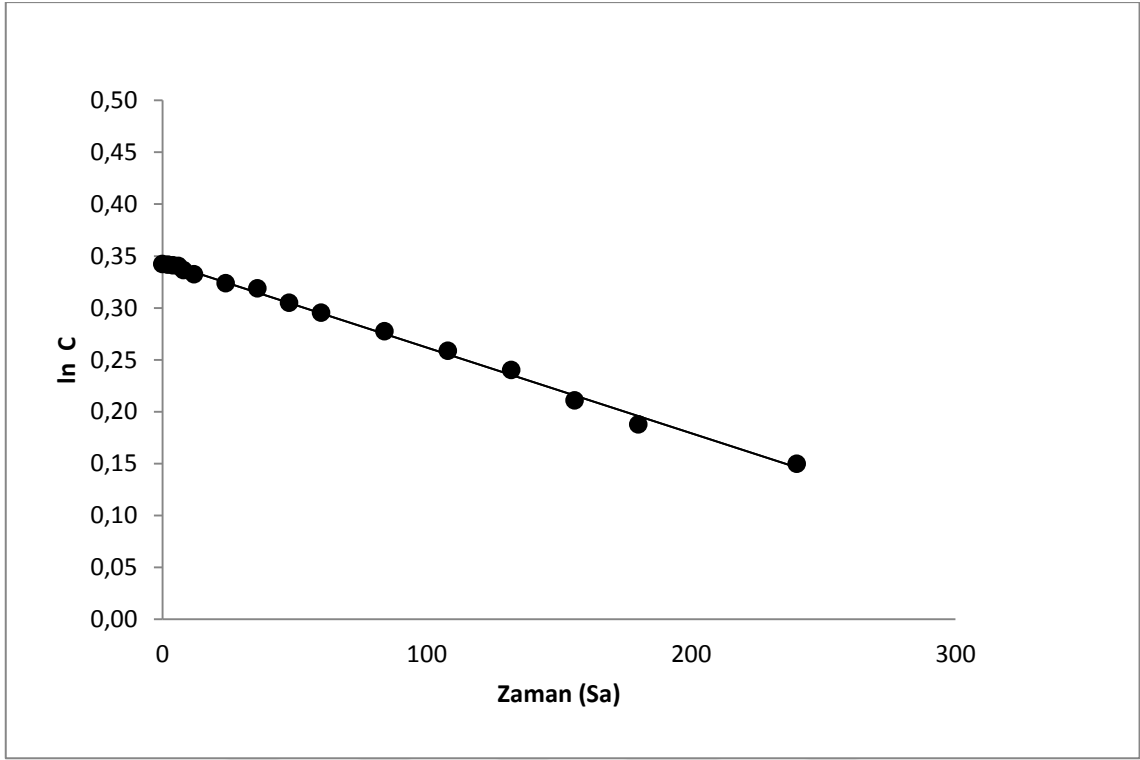
Zaman (Saat)	C (mol/L)	
	Renksiz (25°C)	Amber Renkli (25°C)
0	1,408	1,408
2	1,407	1,408
4	1,406	1,408
6	1,405	1,408
8	1,400	1,408
12	1,395	1,408
24	1,383	1,408
36	1,376	1,408
48	1,357	1,408
60	1,344	1,408
84	1,320	1,408
108	1,295	1,408
132	1,271	1,408
156	1,235	1,408
180	1,207	1,408
240	1,162	1,408



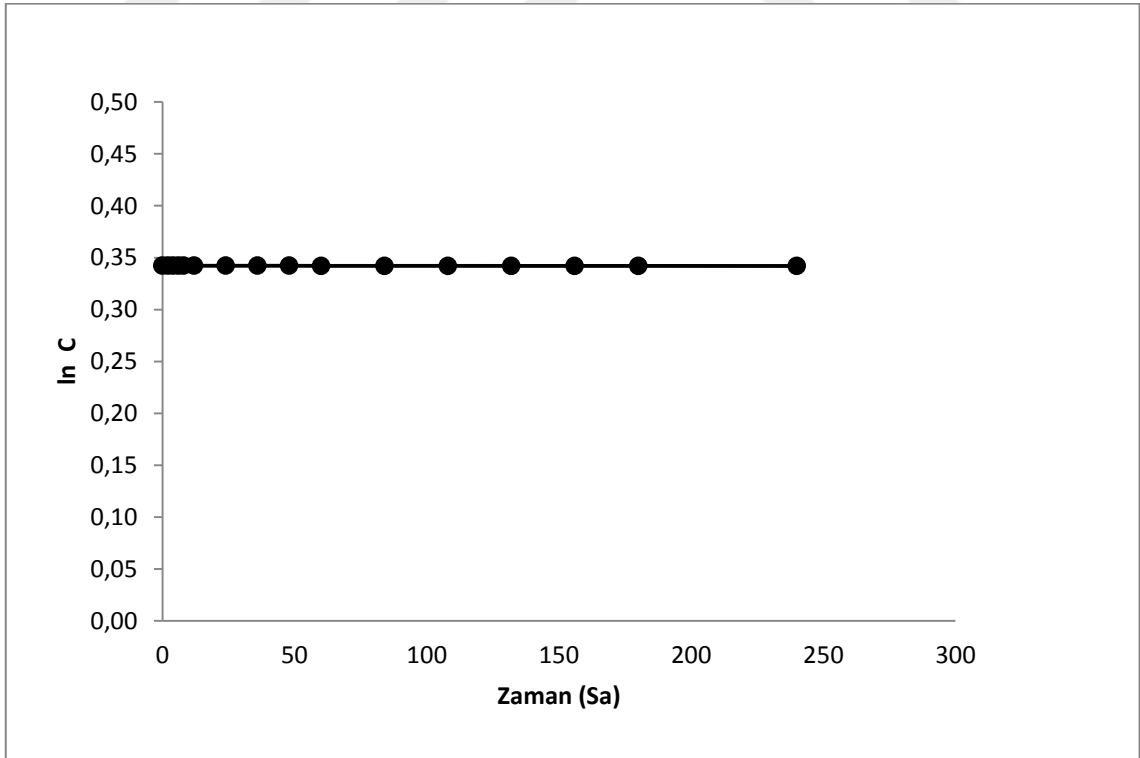
Şekil 5.14 İlacın renksiz ve amber renkli ampul kullanımının Pirasetam konsantrasyonlarına etkisinin Zaman - C grafiği

Çizelge 5.8 Renksiz ve amber renkli ampul kullanımının zamana karşı konsantrasyonlara etkisinin \ln değerleri

Zaman (Saat)	$\ln C$	
	Renksiz (25°C)	Amber Renkli (25°C)
0	0,342	0,342
2	0,342	0,342
4	0,341	0,342
6	0,340	0,342
8	0,337	0,342
12	0,333	0,342
24	0,324	0,342
36	0,319	0,342
48	0,305	0,342
60	0,296	0,342
84	0,278	0,342
108	0,259	0,342
132	0,240	0,342
156	0,211	0,342
180	0,188	0,342
240	0,150	0,342



Şekil 5.15 İlacın 25°C de renksiz ampulde Zaman - $\ln C$ grafiği



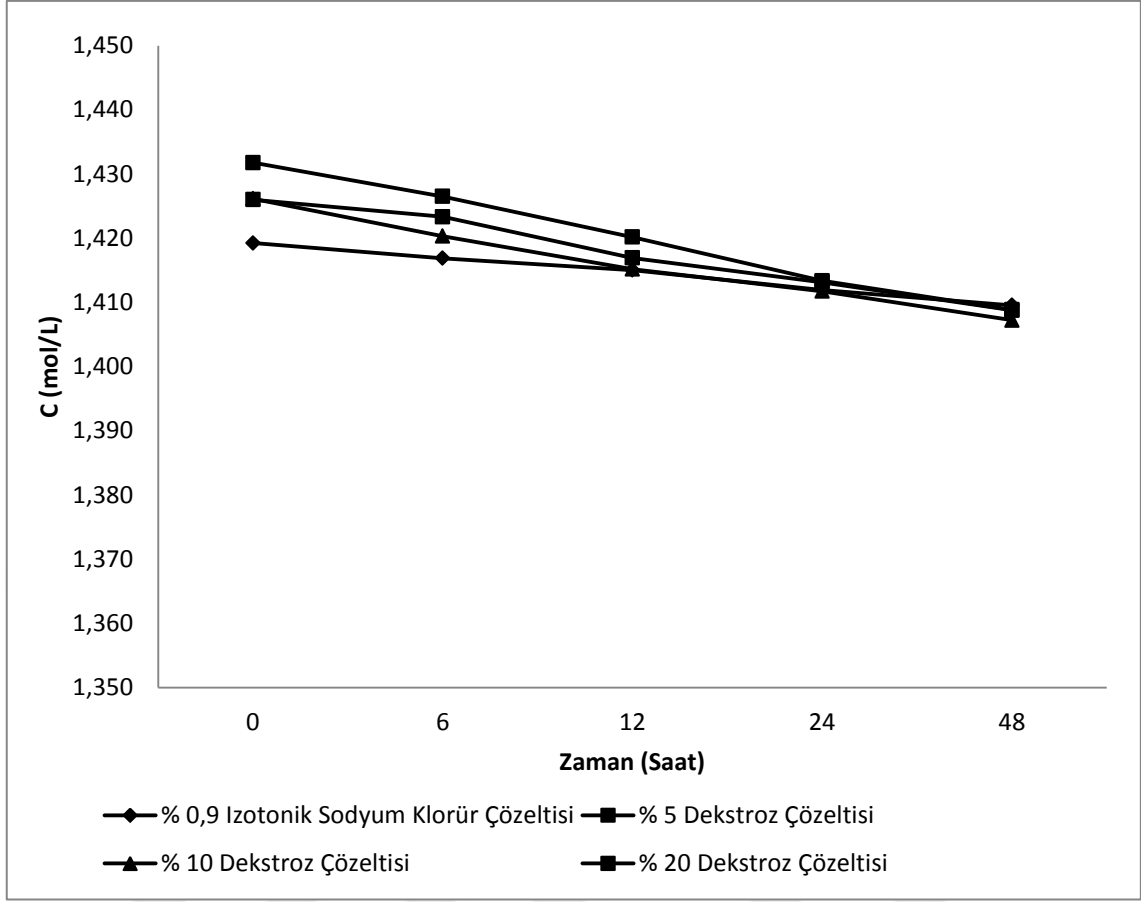
Şekil 5.16 İlacın 25°C de amber renkli ampulde Zaman - $\ln C$ grafiği

5.4. Pirasetam'ın Farklı Çözeltiler Kullanımının Stabilitesine Etkisi

Etken maddesi Pirasetam olan 1g/5ml IV Enjeksiyonluk Çözelti İçeren Ampul ürünü kontrollü oda sıcaklığında % 0,9 izotonik sodyum klorür çözeltisi, % 5 dekstroz sudaki çözeltisi, % 10 dekstroz sudaki çözeltisi ve % 20 dekstroz sudaki çözeltisi içerisine enjekte edilmiştir. Başlangıçta, 6.saatte, 12.saatte, 24.saatte ve 48.saatte Görünüş, pH, Pirasetam miktar tayini yapılmıştır. Yapılan bu testler neticesinde, etkeni Pirasetam olan 1g/5ml IV Enjeksiyonluk Çözelti İçeren Ampul ürünü 25°C sıcaklığında % 0,9 izotonik sodyum klorür çözeltisi, % 5 dekstroz sudaki çözeltisi, % 10 dekstroz sudaki çözeltisi ve % 20 dekstroz sudaki çözeltisi ile 48 saatlik kullanım stabilitesinin uygun olduğu tespit edilmiştir. Miktar tayini sonucu 48.saat sonunda mol/L olarak raf ömrü spesifikasyonları içindedir. Farklı çözeltiler içerisindeki kullanım stabilitesi konsantrasyonları (mol/L) Çizelge 5.9' da verilmiştir. Konsantrasyon değişimlerine bağlı olarak farklı çözeltiler içerisinde kullanım stabilitesine ait grafikler Şekil 5.17'de verilmiştir.

Çizelge 5.9 Farklı çözeltiler içerisindeki kullanım stabilitesi konsantrasyonları

Miktar Tayini	Başlangıç (mol/L)	6 Saat (mol/L)	12,Saat (mol/L)	24,Saat (mol/L)	48,Saat (mol/L)
%0,9 İzotonik Sodyum Klorür Çözeltisi	1,419	1,417	1,415	1,412	1,410
% 5 Dekstroz Sudaki Çözeltisi	1,432	1,427	1,420	1,413	1,409
% 10 Dekstroz Sudaki Çözeltisi	1,426	1,420	1,415	1,412	1,407
% 20 Dekstroz Sudaki Çözeltisi	1,426	1,423	1,417	1,413	1,409



Şekil 5.17 Farklı çözeltiler ile Pirasetam'ın kullanım stabilitesi

Kullanılan çözeltilerin pH aralıkları Çizelge 5.10'da ve bu çözeltilere Pirasetam çözeltiler içerisine ilave edilerek 48 saatlik değişim kontrolü yapılmıştır. Pirasetam, % 0,9 izotonik sodyum klorür çözeltisi, % 5 dekstroz sudaki çözeltisi, % 10 dekstroz sudaki çözeltisi ve % 20 dekstroz sudaki çözeltisinde pH sonuçları ve görsel olarak incelendiğinde görünüşünde çökelme ve renk değişimi gözlenmemiştir. pH değişimleri uyumlu olduğu Çizelge 5.11' de verilmiştir.

Çizelge 5.10 Kullanılan çözeltilerin pH değerleri

	pH
%0,9 İzotonik Sodyum Klorür Çözeltisi	5,95
% 5 Dekstroz Sudaki Çözeltisi	4,85
% 10 Dekstroz Sudaki Çözeltisi	5,10
% 20 Dekstroz Sudaki Çözeltisi	4,10
Etken Maddesi Pirasetam olan Ampul	5,22

Çizelge 5.11 Farklı çözeltiler ile Pirasetam kullanımında pH' ların zamanla değişimi

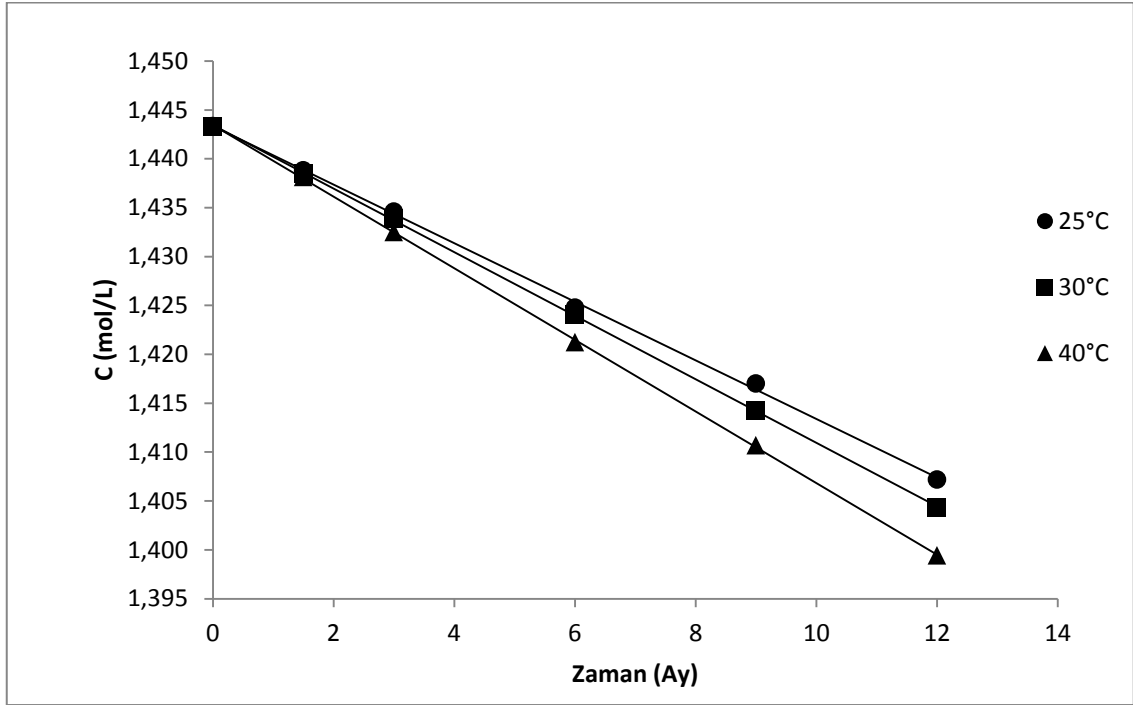
	Başlangıç	6.Saat	12.Saat	24.Saat	48.Saat
%0,9 İzotonik Sodyum Klorür Çözeltisi	5,90	5,88	5,89	5,83	5,85
% 5 Dekstroz Sudaki Çözeltisi	4,91	4,93	4,95	4,92	4,87
% 10 Dekstroz Sudaki Çözeltisi	5,22	5,18	5,15	5,16	5,19
% 20 Dekstroz Sudaki Çözeltisi	4,16	4,20	4,21	4,13	4,15

5.5. İlacın Ampul İçindeki Stabilitesi ve Stabilitate Kinetiği

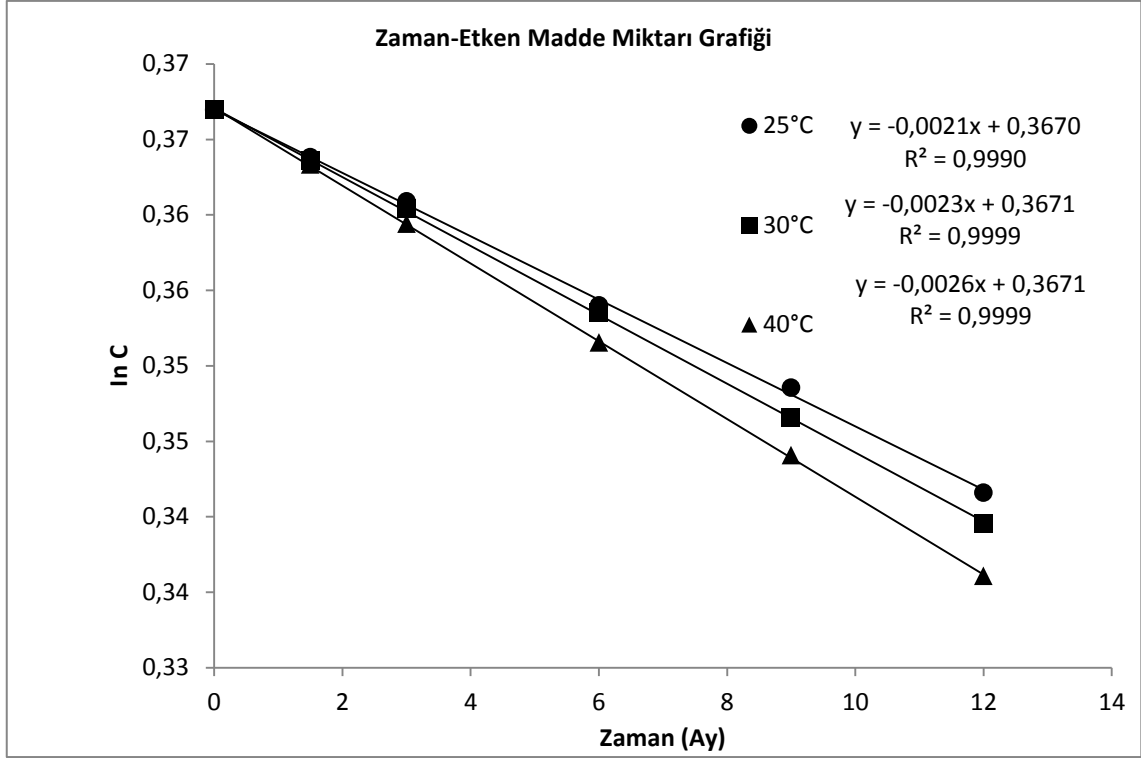
Pirasetam' ın ilaç formülasyonunda ampul içerisinde saklandığında 25°C, 30°C ve 40°C sıcaklıklarında 12 aylık süreçte takibi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda konsantrasyonlarda düşmeler gözlenmiştir. Konsantrasyon verileri Çizelge 5.12' de verilmiştir. Elde edilen konsantrasyon verilerine göre Zaman-C, Zaman-LnC grafikleri Şekil 5.18 ve 5.19' da verilmiştir. Şekil 5.19' da Zaman-LnC grafiğinin eğim, kesişim değerleri ve Arrhenius eşitliği için gerekli değerler hesaplanarak Çizelge 5.13 'te verilmiştir.

Çizelge 5.12 Pirasetam'ın farklı sıcaklıklarda uzun süreli stabiliteleri

Sıcaklık (°C)	C (mol/L)					
	Başlangıç	1,5 Ay	3.Ay	6. Ay	9. Ay	12. Ay
25°C	1,443	1,439	1,435	1,425	1,417	1,407
30°C	1,443	1,438	1,434	1,424	1,414	1,404
40°C	1,443	1,438	1,432	1,421	1,411	1,399



Şekil 5.18 Ampul içindeki Pirasetam'ın uzun süreli stabilitesi Zaman - C grafiği

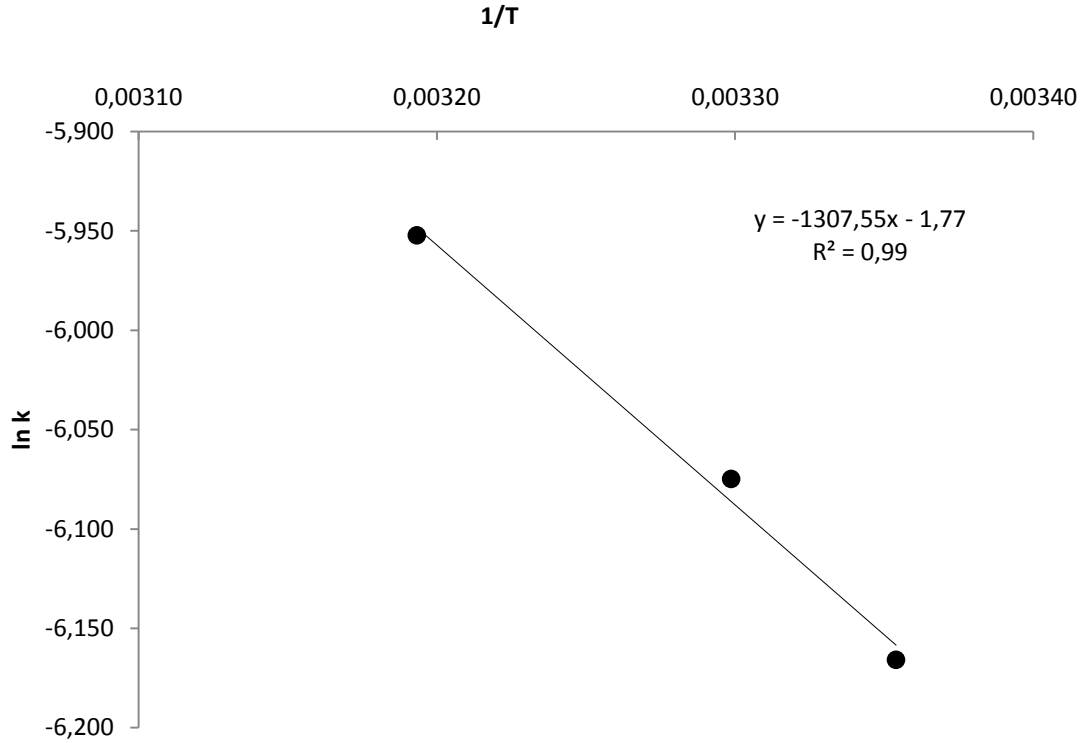


Şekil 5.19 Ampul içindeki Pirasetam'ın 1. derece bozunma kinetiği (Zaman - ln C)

Çizelge 5.13 Ampul içindeki Pirasetam'ın uzun süreli stabilitesi kullanılarak farklı sıcaklıklarda hesaplanan $1/T$ ve $\ln k$ değerleri

	T(K)	Eğim (k)	Kesişim(A_0)	$1/T$	$\ln k$
25°C	298,15	0,0021	0,3670	0,00335	-6,166
30°C	303,15	0,0023	0,3671	0,00330	-6,075
40°C	313,15	0,0026	0,3671	0,00319	-5,952

Birinci derece reaksiyon olarak kabul edilen Pirasetam'ın 25°C, 30°C ve 40°C sıcaklıklarında yapılan analizlerden elde edilen Çizelge 5.13'te ki değerler kullanılarak, 1/T'ye karşı lnk grafiği Şekil 5.20'de verilmiştir.



Şekil 5.20 Etken Maddesi Pirasetam olan Ampul içindeki çözeltinin lnk'ya karşı 1/T grafiği

Çizilen doğru eğiminden aktivasyon enerjileri hesaplanmıştır. Doğru denkleminde yararlanılarak % 10 bozunması aşağıdaki gibi hesaplanmıştır;

$$\ln k = -1,77 - \frac{1307,55}{T}$$

$$E_a = 1307,55 \times R = 1307,55 \times 1,987$$

$$E_a = 2598,10 \text{ cal/mol}$$

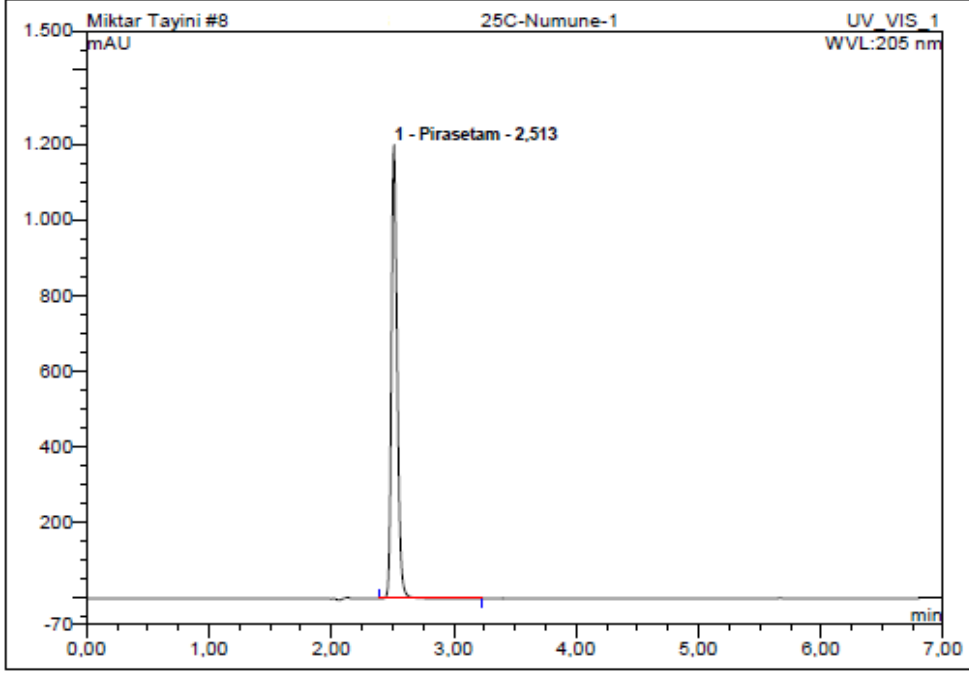
$$\ln k_{25} = -1,77 - \frac{2598,10}{1,987 \times 298,15}$$

$$\ln k_{25} = -6,156$$

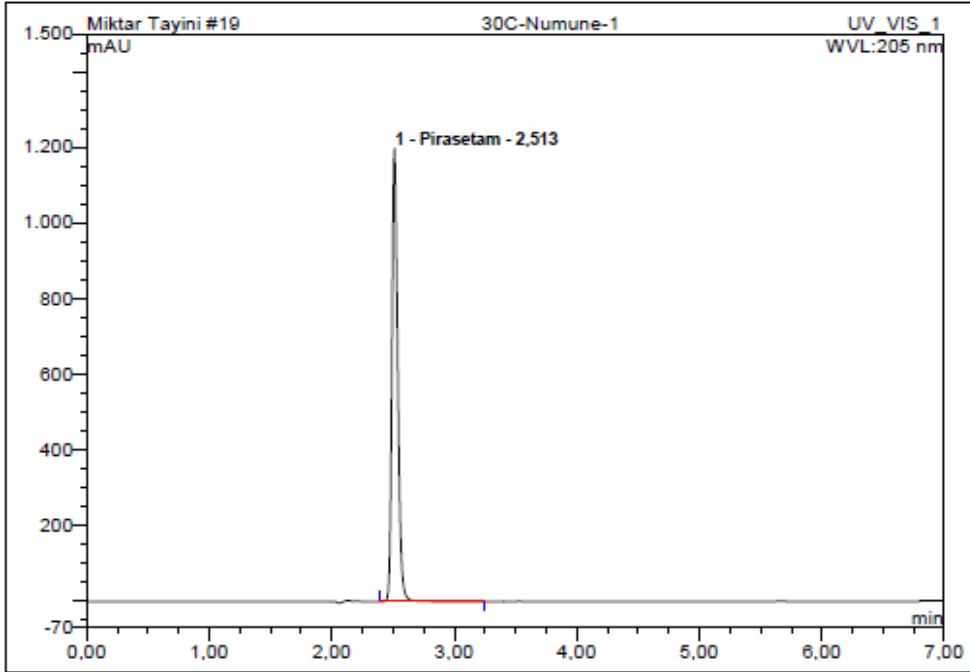
$$k = e^{-6,156} = 0,00212 \text{ ay}^{-1}$$

$$t_{\%10} = \frac{0,105}{0,00212} = 50 \text{ ay } 19 \text{ gün}$$

YBSK ile analizleri yapılan 25°C ve 30°C sıcaklıklardaki başlangıç kromatogramları Şekil 5.21 ve 5.22'de verilmiştir.



Şekil 5.21 Pirasetam'ın Ampul içindeki çözeltinin 25°C YBSK kromatogramı



Şekil 5.22 Pirasetam'ın Ampul içindeki çözeltinin 30°C YBSK kromatogramı

6. SONUÇ VE TARTIŞMA

Pirasetam' a ve ilaca uygulanan sıcaklık, ışık gibi stres testlerinden yararlanılarak stabilite ve stabilite kinetiği incelenmiştir. Kullanılan çözelti ile etken madde arasında çalışılan dalga boyunda girişim olmadığı UV-Vis Spektrofotometre ile kanıtlanmıştır.

Yapılan sıcaklık testinde, 80°C' de 48 saat sonunda % 15,00, 70°C' de 108 saat sonunda % 12,15, 60°C' de 240 saat sonunda % 9,38 ve 50°C' de 490 saat sonunda % 6,61 Pirasetam konsantrasyonunda azalma görülmüştür. Fotostabilite testinde, 600 saat sonunda UV ışığında % 9,89 ve gün ışığında % 17,00 Pirasetam konsantrasyonunda azalma görülmüştür. Ambalaj malzemesinin belirlenmesi amacıyla 240 saat boyunca yapılan ampul etkisinde renksiz ampulde % 17,47 Pirasetam konsantrasyonunda azalma gözlemlenirken, amber renkli ampulde konsantrasyonda değişim gözlenmemiştir.

Üç farklı sıcaklık ve nemde stabilite takibi yapılan ilacın 12 ay sonunda 25°C' de % 2,49, 30°C' de % 2,70 ve 40°C' de % 3,05 Pirasetam konsantrasyonunda azalma tespit edilmiştir. Bu verilerden yararlanılarak raf ömrü hammadde için 41 ay 3 gün ürün için 50 ay 19 gün olarak belirlenmiştir.

İlacın farklı çözeltiler ile analizleri 48 saat incelendiğinde, % 0,9 izotonik sodyum klorür çözeltisinde % 0,63, % 5 dekstroz sudaki çözeltisinde % 1,61, % 10 dekstroz sudaki çözeltisinde % 1,33 ve % 20 dekstroz sudaki çözeltisinde % 1,19 konsantrasyonda azalma gözlenmiş, incelenen ürünler ile herhangi bir geçimsizliliği tespit edilmemiştir.

Stabiliteye ışık ve sıcaklığın etkilerinin, bozunma mekanizmaları karşılaştırıldığında, ışık etkisinde, çözücü ile seyreltilen Pirasetam çözeltisi renksiz iken bozunma sonunda mor renge yakın bir renk değişimi gözlemlenirken, sıcaklık etkisinde renkte değişim gözlenmemiştir. Bu tespitten yola çıkılarak, ışık ve sıcaklığa maruz bırakılması sonucunda bozunma mekanizmalarının farklı olduğu belirlenmiş, Şekil 5.9 ve 5.13'te sıcaklık ve ışık bozunmalarına örnek YBSK kromatogramları verilmiştir.

Pirasetam ile ilgili literatür çalışmaları ile karşılaştırıldığında çalışılan metot ile bozunmanın tespit edilebileceği kanıtlanmıştır. Siddiqui ve ark., (2017 s. 576-582) sadece bazda bozunduğunu belirtmişlerdir [29] . Manutosh ve ark. (2016 s. 292-297) çalışmalarında baz ile bozunmanın % 16,7 olduğunu tespit etmişlerdir [30]. Çalışmaların karşılaştırılması sonucunda asit ve baz ile bozundurmanın yanı sıra, Pirasetam ve ilaca sıcaklık, ışık ve farklı çözeltiler ile kullanımının da stabilite üzerinde etkisi bulunduğu kanıtlanmıştır.

Yapılan analiz ve çalışmalar sonucunda etken madde, ışıktan korunarak ve ilaç amber renkli ampul içerisinde 25°C altındaki sıcaklıklarda saklanması öngörülmektedir. Uygun ve belirlenmiş koşullarda saklandığında ürünün istenilen raf ömrü boyunca kararlılığını koruyacağı analizler ile kanıtlanmıştır.



KAYNAKÇA

- [1] Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü. (1996). *İlaç Ruhsat Başvuruları için Stabilite Çalışmaları Rehberi*. Ankara.
- [2] Yoshioka, S., and Stella, V.J. (2000). *Stability of Drugs and Dosage Forms*. New York: Kluwer Academic Publisher, 151-186.
- [3] Martin, A. (2010). Physical chemical and biopharmaceutical principles in the pharmaceutical sciences. Sinko, J.P. and Singh, Y. (Editörler), *Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences* (Sixth Edition) içinde (s. 318-361) Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- [4] Lu, X. (2006). Simultaneous Confidence Bounds with Applications to Drug Stability Studies. *Proquest Information and Learning Company*, 65-96.
- [5] Fung, H. (1990). Chemical Kinetics and Drug Stability. G.S. Banker and C.T. Rhodes. (Editörler), *Modern Pharmaceutics* (Second Edition) içinde (s. 209-237). New York: Marcel Dekker Inc.
- [6] Değim, Z. (1994). *Nonizotermal Stabilite Test ile Bazı İlaçların Dayanıklılıklarının İncelenmesi*. Yayınlanmamış Doktora Tezi Ankara: Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [7] Bozkır, A. (1989). *Türkiye'de Üretilen Katı Formdaki İlaç Şekillerinin Memleketimiz Coğrafi ve İklim Özelliklerine Bağlı Olarak Stabilitelerinin Araştırılması*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [8] Atasoy, F. (1998). *Veteriner İlaçlarında Son Kullanma Tarihi Geçen Bazı Kemoterapötiklerin Etkin Madde Düzeylerinin Araştırılması*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Bursa: Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü.
- [9] T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu. (2017). *Etkin Maddelerin ve Bitmiş Ürünlerin Stabilite Testlerine İlişkin Kılavuz*.
- [10] United States Pharmacopeia 20. (2003). Eleventh Edition. The United States Pharmacopeial Con. Inc., Rockville: Twinbrook Parkway.
- [11] Haynes, J.D. (1971). Worldwide Virtual Temperature for Product Stability Testing. *J.Pharm.Sci.*, 60(6), 927-929.

- [12] International Commission for Harmonisation (ICH). (2003). *Stability Testing of New Drug Substances and Products ICH Harmonised Tripartite Guideline ICH QIA (R2)*.
- [13] Ojha, T., Bakhji, M., Chakraborti. A.K., and Singh, S. (2003). The ICH Guidance in Practice: Stress decomposition studies on three piperazinyl quinazoline adrenergic receptor blocking agents and comparison of their degradation behaviour. *J.Pharm.Biomed.Anal.*, 31(4), 775-783.
- [14] Acartürk, F. (1989). Ranitidin hidroklorürün enjektabl şeklinin stabilitesi üzerine bir çalışma. *FABAD Farm.Bil.Der.*, 14, 69-78.
- [15] Gil-Alegre, M.E., Bernabeu, J.A., Camacho, M.A., Torres-Suarez A.I. (2001). Statistical evaluation for stability studies under stress storage conditions. *II Farmaco*, 56, 877-883.
- [16] Racz, I. (1989). *Drug Formulation*. New York: John Wiley & Sons, Inc., 28-175.
- [17] Richards, J.H. and Aulton, M.E. (1988). Kinetics and stability testing. M.E. Aulton (Ed.), *Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design* içinde (s. 117-128). Edinburgh: Churchill Livingstone.
- [18] Wells, J.I. (1988). *Pharmaceutical Preformulation: The Physicochemical Properties of Drug Substances*. Ellis Horwood Limited, 152-191.
- [19] Lachman, L., DeLuca, P. and Akers, M.J. (1986). Kinetic principles and stability testing. L. Lachmani H.A. Lieberman and J.L. Kanig (Editörler), *The Theory and Practice of industrial Pharmacy*. (Third Edition) içinde (s. 760-803). Philadelphia: Lea & Febiger.
- [20] Pogocki, D. and Schöneich, C. (2000). Chemical stability of nucleic acid-derived drugs, *J. Pharm. Sci.*, 89, 443.
- [21] Guillory, J.K. and Poust, R.I. (2002). Chemical kinetics and drug stability. G.S. Banker and C.T. Rhodes (Editörler), *Modern Pharmaceutics*. (Fourth Edition) içinde 139-166. New York: Marcel Dekker Inc.
- [22] International Conference on Harmonisation (ICH) (1998). *Stability testing: Photostability testing of new drug substances and products. ICH Harmonised Tripartite Guideline ICH QIB*.
- [23] Li, Y.N.B., Moore, D.E. and Tattam, B.N. (1999). Photodegradation of amiloride in aqueous solution. *Int.J.Pharm.* 183, 109-116.

- [24] Ansel, H.C., Allen, L.V. and Popovich, N.G. (1999). *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*. (Seventh Edition). Baltimore: Lippincot Williams & Wilkins, 75-87.
- [25] Sarıkaya, Y. (2003). *Fizikokimya*. Ankara: Gazi Kitapevi, 681-722.
- [26] Irwin, W.J. (1990). *Kinetics of Drug Decomposition, Basic Computer Solution*. Amsterdam, New York: Elsevier, 1-58.
- [27] Şumnu, M. (2009). *Stabilite ve Reaksiyon Kinetiği*. Ankara: Hacettepe Yayınları, 7-30.
- [28] European Pharmacopeia. (2016). Nineth Edition.
- [29] Kapendra, S., Mohammad, S., Anees, A.S., Shikha, S. (2017). Establishment of inherent stability on piracetam by UPLC/HPLC and development of a validated stability-indicating method. *Arabian Journal of Chemistry*. (10)1, 576-582.
- [30] Manutosh, A., Jam, A. and Navneet, G. (2016). Stability Indicating Reversed Phase-High Performance Liquid Chromatography Method Development And Validation For Simultaneous Determination Of Related Substances Of Citicoline and Piracetam in Pharmaceutical Dosage Form. *Article in Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 9(2), 292-297.

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : İlknur AKÇAKAYA
Yabancı Dil : İngilizce
Doğum Yeri ve Yılı : Ankara/1993
Medeni Durum : Bekar
E-Posta : ilknurakcakaya@eskisehir.edu.tr

Mesleki Geçmişi:

- 07.2017-Halen, Kalite Kontrol Analisti, TURK İlaç ve Serum A.Ş, Ankara
- 12.2016-03.2017, Kalite Kontrol Analisti, Argis İlaç A.Ş, Ankara

Eğitim:

- 09.2011-06.2016, Lisans, Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü
- 09.2007-06.2011 Çankaya 50.Yıl Lisesi, Genel Lise, Ankara

Yayınları ve Bilimsel Faaliyetleri:

2. Ulusal Kimya Mühendisliği Öğrenci Kongresi (UKMÖK2) Bildiri- Sözlü sunum " Atık sulardaki ağır metallerin mikroorganizmalarla giderilmesi"
Lisans Bitirme Tezi- Poster sunum " Polikarboksilat (PC) ve Sülfonat-Karboksilat (SC) Bazlı Polimerlerin Çimento Yüzeyine Adsorpsiyon Davranışının İncelenmesi "