

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

POSAKONAZOLÜN FARKLI ÜRETİM TEKNİKLERİ İLE
SÜSPANSİYON FORMÜLASYONLARININ
GELİŞTİRİLMESİ VE İN VİTRO PERFORMANSLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ

MAKBULE ÖZDEN

DANIŞMAN
PROF. DR. SEVGİ GÜNGÖR

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2022

İTHAF

10 yıldır süren tüm lisansüstü çabama, emeğime yani kendime ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Doktora ile başlayıp yüksek lisans ile devam eden lisansüstü eğitimim süresince her konuda anlayışı, sabrı, bilgisi ve tecrübesi ile bana destek olan, tezimin yürütülmesinde, yönetilmesinde ve çalışmalarımnda bana yol gösteren, öğrencisi olduğum için kendimi çok şanslı bulduğum değerli danışman hocam Sn. Prof. Dr. Sevgi Güngör'e

Tezimin yürütülmesinde verdikleri destekler için Eczacılık Fakültesi Dekanı ve Eczacılık Teknolojisi Bölümü Başkanı Sayın Prof. Dr. Erdal Cevher'e,

Tezimin yürütülmesinde verdikleri destekler için Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Yıldız Özsoy Erginer'e,

Çalışmalarım ve lisansüstü eğitimimin şekillenmesi için uğraşlarım sırasında ilgi ve yardımları için Doç. Dr. Sedef Erdal'a;

Tez çalışmam sırasında yürüttüğüm firma projesi kapsamında bana destek veren, cihaz, malzeme ve laboratuvar olanaklarından faydalandığım Nobel İlaç San. ve Tic. A.Ş.'ye ve tüm Ar-Ge merkezi personeline,

Nobel İlaç'ta beraber çalıştığım ve tezimin analitik çalışmalarında ne zaman ihtiyaç duysam yardıma koşan ve bana her türlü desteği veren Çağlanur Özdemir'e, Seda Tanrıku'na, tezimle ilgili her türlü soruma cevap, sorunuma çözüm aramış olan Özge Kılınç'a,

İçimdeki çalışkan ve azimli kız çocuğunun mimarı olan, beni her zaman seven ve destekleyen canlarım anneme, babama ve tezim için tüm yoğunluğu arasında bana destek veren canım abime,

Tüm lisansüstü çalışmalarım sırasındaki yorgun, mutlu, mutsuz, hevesli ve ümitsiz hallerimi kucaklayan, bana hep yardımcı olan, motive eden, cesaretlendiren sevgili eşim Selim'e,

Tez yazmak için kendisinden çaldığım zamanlardan dolayı affına sığındığım, varlığıyla önceliklerimi ve hayatımı tamamen ve çok güzel şekilde değiştiren canım oğlum Erdem'e

Sonsuz teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xvii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xx
ÖZET	xxii
ABSTRACT.....	xxiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İnvaziv Mantar Enfeksiyonları Hakkında Genel Bilgiler	3
2.2. Posakonazol Hakkında Genel Bilgiler	4
2.2.1. Posakonazol'un Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri	4
2.2.2. Posakonazol'un Farmakolojik Özellikleri	5
2.2.3. Posakonazol'un Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri.....	5
2.2.4. Posakonazolün Diğer Antifungal İlaçlara Göre Üstünlükleri	7
2.2.5. Posakonazol ile İlgili Patent Bilgileri	8
2.3. Süspansiyonlar Hakkında Genel Bilgiler	9
2.3.1. Süspansiyonların Avantajları ve Dezavantajları	10
2.3.2. Süspansiyon Formülasyonlarının Hazırlanması.....	11
2.3.3. Süspansiyon Formülasyonuna Giren Maddeler	11
2.3.3.1. Etken madde ve Dispersiyon Ortamı	11
2.3.3.2. Islatma Ajanları	12
2.3.3.3. Süspansiyon Ajanları	12
2.3.3.4. Tatlandırıcılar	12
2.3.3.5. Koku Vericiler.....	13
2.3.3.6. Renk Vericiler	13
2.3.3.7. Tampon Maddeleri	13

2.3.3.8. Antimikrobiyal Koruyucular	14
2.4. Süspansiyonlarda Kullanılan Öğütme ve Homojenizasyon Teknikleri	14
2.4.1. Öğütme	15
2.4.1.1. Rotor-stator Öğütücüler	15
2.4.1.2. Ortam (Boncuk) Öğütücüler	16
2.4.2. Yüksek Basıncılı Homojenizasyon	18
2.4.2.1. Piston-Gap Homogenizers (Piston Aralıklı Homojenizatörler)	18
2.4.2.2. Microfluidizer (Mikroakışkanlaştırıcı)	19
2.5. Süspansiyonların Stabilitesi	19
2.5.1. Sedimentasyon ve Partikül Büyüklüğünün Önemi	19
2.5.2. Kristal Büyümesi	20
2.6. Posakonazol İçeren Noxafil Oral Süspansiyona Ait Bilgiler	22
2.7. Tez Çalışmasında Formülasyon Geliştirilmesinde Kullanılan Yardımcı Maddeler	22
2.7.1. Polisorbat 80	22
2.7.2. Simetikon emülsiyon (%30)	23
2.7.3. Sodyum benzoat	23
2.7.4. Trisodyum sitrat dihidrat	23
2.7.5. Sitrik asit monohidrat	24
2.7.6. Gliserin	24
2.7.7. Ksantan zankı	24
2.7.8. Sıvı Glukoz	25
2.7.9. Titanyum Dioksit	25
2.7.10. Kiraz Aroması	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. GEREÇLER	26
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	26
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	27
3.1.2.1. Kullanılan Cihazlar	27
3.1.2.2. Kullanılan Malzemeler	27
3.1.2.3. Kullanılan Bilgisayar Programları	28
3.2. YÖNTEM	28
3.2.1. Posakonazol'un X- Işını Kırınımı Analizi	28

3.2.2. Posakonazol'un Ultraviyole (UV) Spektrumu	29
3.2.3. Posakonazol'un Diferansiyel Tarama Kalorimetresi Analizi	29
3.2.4. Posakonazol'un Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Analizi	29
3.2.5. Posakonazol ve Sodyum Benzoatın Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesi.....	29
3.2.5.1. Miktar Tayini Analizlerinde Standart ve Test Çözeltilerinin Hazırlanması	30
3.2.5.2. Sistem Uygunluk Çözeltilerinin Hazırlanması	31
3.2.6. Posakonazol ve Sodyum Benzoat HPLC Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu	32
3.2.6.1. Doğrusallık.....	32
3.2.6.2. Seçicilik.....	33
3.2.6.3. Doğruluk	34
3.2.6.4. Kesinlik	35
3.2.6.5. Çözelti Stabilitesi	35
3.2.7. Posakonazol HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yönteminin Geliştirilmesi.....	35
3.2.7.1. İlgili Bileşikler Tayini Analizlerinde Standart ve Test Çözeltilerinin Hazırlanması	36
3.2.7.2. Sistem Uygunluk Çözeltilerinin Hazırlanması (Formül Safsızlığı).....	37
3.2.8. Posakonazol HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yönteminin Validasyonu	38
3.2.8.1. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti (LOD & LOQ).....	38
3.2.8.2. Doğrusallık.....	38
3.2.8.3. Seçicilik.....	39
3.2.8.4. Doğruluk	40
3.2.8.5. Kesinlik	40
3.2.8.6. Çözelti stabilitesi.....	41
3.2.9. Posakonazol Çözünme Hızı Analiz Yönteminin Geliştirilmesi.....	41
3.2.9.1. Çözünme Hızı Analizlerinde Standart ve Test Çözeltilerinin Hazırlanması	41
3.2.9.2. Sistem Uygunluk Çözeltilerinin Hazırlanması	42
3.2.10. Posakonazol HPLC Çözünme Hızı Analiz Yönteminin Validasyonu	43
3.2.10.1. Doğrusallık.....	43
3.2.10.2. Seçicilik.....	43
3.2.10.3. Doğruluk	44
3.2.10.4. Kesinlik	45

3.2.10.5. Çözelti stabilitesi.....	45
3.2.11. Posakonazolün Farklı Ortamlardaki Çözünürlük Çalışması.....	46
3.2.12. Çözünme Hızı Testleri İçin Ayırt Edici Yöntem Geliştirilmesi	46
3.2.12.1. Çözünme Hızı Test Koşullarının Belirlenmesi	46
3.2.12.2. Çözünme Ortamının Belirlenmesi.....	47
3.2.13. Posakonazol Süspansiyon Formülasyonlarının Spesifikasyonlarının Belirlenmesi	48
3.2.13.1. Viskozite Analizi.....	48
3.2.13.2. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Analizleri	48
3.2.13.3. pH ve Yoğunluk Analizi	49
3.2.13.4. Etken madde Miktar Tayini Analizi.....	49
3.2.13.5. Çözünme Hızı Testleri	49
3.2.14. Posakonazol Süspansiyon Formülasyonunun Optimizasyon Çalışmaları	50
3.2.15. Yüksek Devirli Homojenizasyon (Ultraturax) Yöntemi ile Posakonazol Süspansiyon Formülasyonlarının Geliştirilmesi	50
3.2.15.1. Süspansiyon Ajanının Miktarı ve Dispersiyon Hazırlama Yönteminin Belirlenmesi	50
3.2.15.2. Islatma Ajanının Miktarının Belirlenmesi	51
3.2.15.3. Yüksek Devirli Homojenizatör (Ultraturax) Karıştırma Hızı Parametresinin belirlenmesi	52
3.2.15.4. Süspansiyonların Reolojik Özelliklerinin Optimizasyonu Çalışmaları	54
3.2.16. Boncukla Öğütme (Media Milling) Yöntemi (DynoMill) ile Posakonazol Süspansiyon Formülasyonlarının Geliştirilmesi	55
3.2.17. Seçilen Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	56
3.2.18. Stabilite çalışmaları.....	57
4. BULGULAR.....	58
4.1. Posakonazol' ün X- Işını Kırınımı Analizine Ait Bulgular	58
4.2. Posakonazol'ün UV Spektrumuna Ait Bulgular	59
4.3. Posakonazol'ün Diferansiyel Tarama Kalorimetresi Analizine Ait Bulgular	59
4.4. Posakonazol'ün Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Analizine Ait Bulgular	60
4.5. Posakonazol ve Sodyum Benzoat HPLC Miktar Tayini Yöntemi Validasyonuna Ait Bulgular	61
4.5.1. Doğrusallık Çalışmasına Ait Bulgular	61

4.5.2. Seçicilik Çalışmalarına Ait Bulgular	63
4.5.3. Doğruluk Çalışmalarına Ait Bulgular	64
4.5.4. Kesinlik çalışmalarına ait Bulgular	66
4.5.5. Çözelti stabilitesi çalışmasına ait bulgular	67
4.6. Posakonazol HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntemi Validasyonuna Ait Bulgular	68
4.6.1. Teşhis ve Miktar Tayini Limiti (LOD & LOQ) çalışmalarına ait bulgular	68
4.6.2. Doğrusallık Çalışmasına Ait Bulgular	69
4.6.3. Seçicilik Çalışmalarına Ait Bulgular	70
4.6.4. Doğruluk Çalışmalarına Ait Bulgular	71
4.6.5. Kesinlik Çalışmalarına Ait Bulgular	71
4.6.6. Çözelti stabilitesi çalışmasına ait bulgular	72
4.7. Posakonazol'un Çözünme Hızı Analiz Yönteminin Validasyonuna Ait Bulgular	73
4.7.1. Doğrusallık Çalışmasına Ait Bulgular	73
4.7.2. Seçicilik Çalışmalarına Ait Bulgular	74
4.7.3. Doğruluk Çalışmalarına Ait Bulgular	75
4.7.4. Kesinlik Çalışmalarına Ait Bulgular	76
4.7.5. Çözelti stabilitesi çalışmasına ait bulgular	77
4.8. Posakonazolün Farklı Ortamlardaki Çözünürlük Çalışmasına Ait Bulgular	78
4.9. Çözünme Hızı Testleri İçin Ayırt Edici Yöntem Geliştirilmesi Çalışmalarına Ait Bulgular	78
4.10. Posakonazol Süspansiyon Formülasyonlarının Spesifikasyonlarının Belirlenmesi Çalışmasına Ait Bulgular	80
4.11. Posakonazol Süspansiyon Formülasyonunun Optimizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	80
4.12. Yüksek Devirli Homojenizasyon (Ultraturax) Yöntemi ile Posakonazol Süspansiyon Formülasyonlarının Geliştirilmesi Çalışmasına Ait Bulgular	83
4.12.1. Süspansiyon Ajanının Miktarının ve Dispersiyon Hazırlama Yönteminin Belirlenmesi Çalışmalarına Ait Bulgular	83
4.12.2. Islatma Ajanının Miktarının Belirlenmesi Çalışmalarına Ait Bulgular	85
4.12.3. Yüksek Devirli Homojenizatör (Ultraturax) Karıştırma Hızı Parametresinin Belirlenmesi Çalışmasına Ait Bulgular	87
4.12.4. Süspansiyonların Reolojik Özelliklerinin Optimizasyonu Çalışmalarına Ait Bulgular	88

4.13. Yaş Öğütme Yöntemi (DynoMill) ile Posakonazol Süspansiyon Formülasyonlarının Geliştirilmesi Çalışmasına Ait Bulgular.....	93
4.14. Seçilen Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular.....	103
4.15. Stabilitate Çalışmalarına Ait Bulgular.....	107
5. TARTIŞMA.....	109
KAYNAKLAR.....	121
FORMLAR.....	126
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	127
ÖZGEÇMİŞ.....	128



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: X-Işını Difraktometresi Çalışma Koşulları	28
Tablo 3-2: HPLC Yöntemi Kromatografik Koşulları.....	30
Tablo 3-3: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık Çalışması İçin Hazırlanan Çözelti Konsantrasyonları (Sodyum Benzoat ve Posakonazol).....	33
Tablo 3-4: HPLC Yöntemi Kromatografik Koşulları.....	36
Tablo 3-5: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yönteminde Zamana Göre Değişen Mobil Faz Oranları	36
Tablo 3-6: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık Çalışması İçin Hazırlanan Çözeltilerin Konsantrasyonları	39
Tablo 3-7: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Doğruluk Çalışması İçin Hazırlanan Çözeltilerin Konsantrasyonları.....	40
Tablo 3-8: HPLC Yöntemi Kromatografik Koşulları.....	41
Tablo 3-9: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Doğrusallık Çalışması İçin Hazırlanan Çözelti Konsantrasyonları.....	43
Tablo 3-10: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Doğruluk Çalışması İçin Hazırlanan Çözelti Konsantrasyonları.....	45
Tablo 3-11: Referans ürün ile yapılan çözünme hızı analizlerinde kullanılan farklı test koşulları	47
Tablo 3-12: Ayırt çözünme ortamının belirlenmesi için çalışma yapılan ortamlar.....	48
Tablo 3-13: Süspansiyon ajanının miktarının ve dispersiyon hazırlama yönteminin belirlenmesi çalışmaları için hazırlanan formülasyonların bileşimleri.....	51
Tablo 3-14: Islatma ajanının miktarının belirlenmesi çalışmaları için hazırlanan formülasyonların bileşimleri.....	52
Tablo 3-15: Yüksek Devirli Homojenizatör (Ultraturrax) karıştırma hızı parametresinin belirlenmesi çalışmaları için hazırlanan formülasyonların bileşimleri.....	53
Tablo 3-16: Süspansiyonların reolojik özelliklerini değiştirmeye yönelik çalışmalar için hazırlanan formülasyonların bileşimleri	54
Tablo 3-17: Boncukla Öğütme yöntemi (DynoMill) ile Posakonazol süspansiyon formülasyonlarının geliştirilmesi çalışmaları için hazırlanan formülasyonların bileşimleri	56

Tablo 4-1: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık Çalışması Sodyum Benzoata ait sonuçlar	62
Tablo 4-2: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık Çalışması Posakonazole ait sonuçlar	62
Tablo 4-3: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Seçicilik çalışmasına ait sonuçlar	64
Tablo 4-4: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Doğruluk Çalışması Sodyum Benzoata ait sonuçlar	65
Tablo 4-5: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Doğruluk Çalışması Posakonazole ait sonuçlar	65
Tablo 4-6: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Kesinlik Çalışması Sodyum Benzoata ait sonuçlar	66
Tablo 4-7: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Kesinlik Çalışması Posakonazole ait sonuçlar	67
Tablo 4-8: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Güvenilirlik çalışması Sodyum benzoat çözelti stabilitesine ait sonuçlar	67
Tablo 4-9: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Güvenilirlik çalışması Posakonazol çözelti stabilitesine ait sonuçlar	68
Tablo 4-10: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Teşhis ve Miktar Tayini Limiti çalışması sinyal/gürültü oranı sonuçları	68
Tablo 4-11: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Teşhis ve Miktar Tayini Limiti çalışması test edilen standart sonuçları	68
Tablo 4-12: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar	69
Tablo 4-13: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Seçicilik çalışmasına ait sonuçlar	70
Tablo 4-14: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Doğruluk çalışmasına ait sonuçlar	71
Tablo 4-15: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Kesinlik çalışmasına ait sonuçlar	72
Tablo 4-16: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Güvenilirlik çalışması standart çözelti stabilitesine ait sonuçlar	72

Tablo 4-17: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Güvenilirlik çalışması test çözelti stabilitesine ait sonuçlar.....	73
Tablo 4-18: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar.....	74
Tablo 4- 19: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Seçicilik çalışmasına ait sonuçlar.....	75
Tablo 4-20: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Doğruluk çalışmasına ait sonuçlar.....	76
Tablo 4-21: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Kesinlik çalışmasına ait sonuçlar.....	77
Tablo 4-22: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Güvenilirlik çalışmasına ait sonuçlar	77
Tablo 4-23: Posakonazol hammadde çözünürlük çalışması ve sink koşul hesaplamalarına ait sonuçlar.....	78
Tablo 4-24: Çözünme Hızı Test Koşullarının belirlenmesi çalışmasına ait sonuçlar.....	78
Tablo 4- 25: Çözünme Ortamının Belirlenmesi çalışmasına ait sonuçlar-1	79
Tablo 4- 26: Çözünme Ortamının Belirlenmesi çalışmasına ait sonuçlar-2.....	79
Tablo 4-27: Bitmiş Üründe Yapılacak Test ve Analizler ile Bitmiş Ürün Spesifikasyonları.....	80
Tablo 4-28: Posakonazol süspansiyon birim formülü ve formülasyona giren yardımcı maddelerin işlevleri.....	81
Tablo 4-29: Süspansiyon ajanının miktarının ve disperisyon hazırlama yönteminin belirlenmesi çalışmalarına ait analiz sonuçları	83
Tablo 4-30: F-04 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	83
Tablo 4-31: F-04 serisinin %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	84
Tablo 4-32: Islatma ajanının miktarının belirlenmesi çalışmalarına ait analiz sonuçları	85
Tablo 4-33: F-05 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	86
Tablo 4-34: F-05 serisinin %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	87

Tablo 4-35: Yüksek Devirli Homojenizatör (Ultraturrax) karıştırma hızı parametresinin belirlenmesi çalışmasına ait analiz sonuçları.....	88
Tablo 4-36: Süspansiyonların reolojik özelliklerinin optimizasyonu çalışmalarına ait analiz sonuçları	88
Tablo 4-37: F-04 ve F-09 serilerine ait akış özellikleri	89
Tablo 4- 38: F-10 ve F-11 serilerine ait akış özellikleri	89
Tablo 4-39: Tork-Dönüş Hızı grafiklerinden elde edilen eğri altında kalan alanlar	91
Tablo 4-40: F-10 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	91
Tablo 4-41: F-11 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	92
Tablo 4-42: Yaş Öğütme Yöntemi (DynoMill) ile Posakonazol süspansiyon formülasyonlarının geliştirilmesi çalışmasına ait analiz sonuçları.....	93
Tablo 4-43: F-13 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	94
Tablo 4-44: F-13 serisinin %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	95
Tablo 4-45: F-14 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	95
Tablo 4-46: F-14 serisinin %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	96
Tablo 4-47: F-15 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	97
Tablo 4-48: F-15 serisinin %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	98
Tablo 4-49: F-16 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	99
Tablo 4-50: F-16 serisinin %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	100
Tablo 4-51: F-17 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	101
Tablo 4- 52: F-17 serisinin %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	102

Tablo 4-53: F-04 serisinin %0,3 SLS içeren pH 4,5 asetat tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	103
Tablo 4-54: F-04 serisinin %0,3 SLS içeren pH 6,8 sitrat tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	104
Tablo 4- 55: F-16 serisinin %0,3 SLS içeren pH 4,5 asetat tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	105
Tablo 4- 56: F-16 serisinin %0,3 SLS içeren pH 6,8 sitrat tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar	106
Tablo 4-57: F-04 ve F-16 serilerinin uzun dönem stabilite çalışması sonuçları.....	107
Tablo 4-58: F-04 ve F-16 serilerinin ara dönem stabilite çalışması sonuçları.....	108
Tablo 4-59: F-04 ve F-16 serilerinin hızlandırılmış stabilite çalışması sonuçları	108

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Posakonazol molekül yapısı.....	4
Şekil 2-2: a)Basit konik geometri (kolloidal değirmen), b)Dişli rotor-stator.....	16
Şekil 2-3: Boncukla öğütücü şematik görünümü.....	17
Şekil 3- 1: USP çözünme kabı ve Pik şekilli çözünme kabı görünüşleri.....	47
Şekil 4-1: Posakonazol etken maddeye ait difraktogram.....	58
Şekil 4-2:Posakonazol için elde edilen difraktogram ile EP 1021439 B1 patentte verilen posakonazol difraktogramı karşılaştırma görüntüsü.....	58
Şekil 4-3:Çözücüye (metanol) ait UV spektrumu.....	59
Şekil 4-4:Posakonazol çözeltisine (metanol içerisinde) ait UV spektrumu.....	59
Şekil 4-5: Posakonazole ait DSC termogramı	60
Şekil 4-6: Posakonazol partikül büyüklüğü ve dağılımı sonuçları ile grafiği.....	61
Şekil 4-7: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık Çalışması Sodyum Benzoata ait grafik	63
Şekil 4-8: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık Çalışması Posakonazole ait grafik	63
Şekil 4-9: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık çalışmasına ait grafik.....	69
Şekil 4-10: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Doğrusallık çalışmasına ait grafik.....	74
Şekil 4-11: Posakonazol süspansiyon üretim akış şeması	82
Şekil 4-12: F-04 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili	84
Şekil 4-13: F-04 serisi ve referans ürünün %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili.....	85
Şekil 4-14: F-05 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili	86
Şekil 4-15: F-05 serisi ve referans ürünün %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili.....	87
Şekil 4-16: F-04 serisine ait kayma hızına karşı kayma gerilimi grafiği ve torca karşı dönüş hızı grafiği	90

Şekil 4-17: F-09 serisine ait kayma hızına karşı kayma gerilimi grafiği ve torca karşı dönüş hızı grafiği	90
Şekil 4-18: F-10 serisine ait kayma hızına karşı kayma gerilimi grafiği ve torca karşı dönüş hızı grafiği	90
Şekil 4-19: F-11 serisine ait kayma hızına karşı kayma gerilimi grafiği ve torca karşı dönüş hızı grafiği	91
Şekil 4-20: F-10 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili	92
Şekil 4-21: F-11 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili	93
Şekil 4-22: F-13 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili	94
Şekil 4-23: F-13 serisi ve referans ürünün %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili.....	95
Şekil 4-24: F-14 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili	96
Şekil 4-25: F-14 serisi ve referans ürünün %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili.....	97
Şekil 4-26: F-15 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili	98
Şekil 4-27: F-15 serisi ve referans ürünün %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili.....	99
Şekil 4-28: F-16 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili	100
Şekil 4-29: F-16 serisi ve referans ürünün %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili.....	101
Şekil 4-30: F-17 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili	102
Şekil 4-31: F-17 serisi ve referans ürünün %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili.....	103
Şekil 4-32: F-04 serisi ve referans ürünün %0,3 SLS içeren pH 4,5 asetat tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili.....	104

- Şekil 4-33: F-04 serisi ve referans ürünün %0,3 SLS içeren pH 6,8 sitrat tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili..... 105
- Şekil 4-34: F-16 serisi ve referans ürünün %0,3 SLS içeren pH 4,5 asetat tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili..... 106
- Şekil 4-35: F-16 serisi ve referans ürünün %0,3 SLS içeren pH 6,8 sitrat tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili..... 107



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

BCS: Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi

Cmaks: Maksimum Plazma Konsantrasyonu

CMC: Kritik Misel Konsantrasyonu

CYP450: Sitokrom P450

DE: Dekstroz Eşdeğeri

DSC: Diferansiyel Tarama Kalorimetresi

EMA: Avrupa İlaç Ajansı

FDA: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi

f₂: Benzerlik Faktörü

HIV: Human Immunodeficiency Virus/İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü

HPLC: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

ICH: Uluslararası Uyum Harmonizasyonu

LOD: Teşhis Limiti

LOQ: Miktar Tayini Limiti

MAS: Magnezyum Aluminyum Silikat

mg: Miligram

mL: Mililitre

PET: Polyester

pH: Hidrojen Potansiyeli

pK_a: Asit Ayrışma Sabiti

PPI: Proton Pompa İnhibitörleri

PTFE: Politetrafloroetilen

r: Korelasyon Katsayısı

r²: Determinasyon Katsayısı

RC: Rejenere Selüloz

rpm: Dakikadaki Dönüş Sayısı

RSD: Rölatif Standart Sapma

SD: Standart Sapma

SLS: Sodium Lauril Sülfat

USP: ABD Farmakopesi

UV: Ultraviyole Spektrumu

tmaks: Maksimum Plazma Konsantrasyonuna Ulaşmak İçin Geçen Süre

μm : Mikrometre



ÖZET

ÖZDEN, M. (2022). Posakonazolün Farklı Üretim Teknikleri İle Süspansiyon Formülasyonlarının Geliştirilmesi Ve *In Vitro* Performanslarının Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Posakonazol sistemik mantar enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan, diğer antifungal ilaçlara göre sahip olduğu üstünlükleri nedeniyle tedavide tercih edilen BCS Sınıf II bir moleküldür. Posakonazolün çözünürlüğünün oral biyoyararlanımı açısından hız sınırlayıcı olması nedeniyle süspansiyon formülasyonlarının optimizasyonunda zorluklar yaşanmaktadır. Bu çalışmada, posakonazolün süspansiyon formülasyonunun üretimindeki kritik proseslerinden olan öğütme basamağı için iki farklı teknik ile bu proseslerdeki işlem parametrelerinin etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Posakonazol süspansiyon formülasyonlarının referans ürün ile benzer *in vitro* çözünme hızına sahip olması hedeflenmiş ve partikül büyüklüğü dağılımı ile viskozitesi kritik kalite özellikleri olarak belirlenmiştir. Bu iki kritik özelliği etkileyen formülasyon bileşenleri, yüzey etken madde ve süspansiyon ajanıdır. Çalışmada öncelikle yüzey etken madde ve süspansiyon ajanı miktarı belirlenmiş ardından öğütme işleminin etkisi değerlendirilmiştir. Öğütme işlemi için yüksek devirli homojenizatör (Ultraturrax cihazı) ve boncukla öğütücü (DynoMill cihazı) kullanılmıştır. Hazırlanan formülasyonların çözünme hızı analizleri pazardaki referans ürün (Noxafil Oral Süspansiyon) ile karşılaştırılmış ve ürünlerin performansı f2 benzerlik faktörü ile değerlendirilmiştir.

Bu tez çalışmasında, aynı bileşenleri aynı miktarda içeren ve aynı üretim basamakları ile üretilen süspansiyonlarda, öğütme prensibi farklı olan cihazlar kullanıldığında *in vitro* performansları farklı olan formülasyonlar elde edilmiştir. Öğütme işleminin süspansiyonların homojenize edilmesi amacıyla yanı sıra süspansiyonların kritik kalite özellikleri üzerinde de önemli etkileri olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Posakonazol, Düşük Çözünürlük, Süspansiyon, Yüksek Devirli Homojenizatör, Boncukla Öğütücü.

Bu çalışma Nobel İlaç San. Ve Tic. A.Ş. Ar-Ge Merkezi tarafından desteklenmiştir.

ABSTRACT

ÖZDEN, M. (2022). Developing Suspension Formulations with Different Production Techniques of Posaconazole and Evaluation of In Vitro Performances. Istanbul University, Institute of Health Sciences, Department of Pharmaceutical Technology. Master's Thesis. Istanbul.

Posaconazole is a BCS Class II molecule used for treating systemic fungal infections, preferred in the treatment due to its superiority over other antifungals. The solubility of posaconazole is the rate-limiting step in oral bioavailability and poses challenges in optimizing suspension formulations. In this study, we aimed to compare two different techniques for the milling, which is one of the critical processes in the production of the suspension formulation of posaconazole, to evaluate the effect of the process parameters.

Posaconazole suspension formulations were aimed to have a similar in vitro dissolution rate to the reference product, and particle size distribution and viscosity were determined as critical quality properties. The formulation components that affect these two critical properties are surfactant and suspending agent. First, the amount of these to be used was determined, then the effect of the milling process was evaluated. A high-shear homogenizer (Ultraturrax device) and media (bead) mill (Dyno Mill devices) were used for the milling process. The dissolution rate analyzes of the prepared formulations were compared with the reference product (Noxafil Oral Suspension) and the performance of the products was evaluated with the f_2 similarity factor.

In this study, we found that despite using formulations with the same components in the same amount and with the same production steps for suspensions, different in vitro performances were obtained when devices with different milling principles were used. We also found that the milling process has significant effects on the critical quality properties and homogenization of the suspensions.

Key Words: Posaconazole, Low solubility, Suspension, High shear homogenizer, Media (Bead) Mill

The present work was supported by the Nobel İlaç San. Ve Tic. A.Ş. R&D Center.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnvaziv mantar ve mantar benzeri enfeksiyonlar, bağışıklığı baskılanmış bireylerde önemli morbidite ve mortaliteye sebep olan enfeksiyonlardır (Sanguinetti ve ark. 2019). Kırk yılı aşkın bir süre mantar enfeksiyonlarının tedavisinde Amfoterisin B kullanılmış ardından yeni nesil azol antifungal ilaçlar terapötik kullanıma girmiştir. Posakonazol üç azot atomlu triazol sınıfına dahil ikinci nesil bir ilaç olan yeni nesil moleküllerdendir (Sienkiewicz ve ark. 2016). Diğer antifungal ilaçlara göre sahip olduğu üstünlükleri nedeniyle sistemik mantar enfeksiyonlarının tedavisinde posakonazol tedavide yaygın olarak kullanılmaktadır (Katragkou ve ark. 2012).

Posakonazol düşük çözünürlük ve yüksek permeabiliteye sahiptir. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) İlaç Değerlendirme ve Araştırma Merkezi'nin Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemine (BCS) göre Sınıf II bir ilaçtır (Moore ve ark. 2015). Ayrıca posakonazol ile yürütülen klinik ve farmakokinetik çalışmalarda bireyler arası yüksek değişkenlik gösteren bir ilaç olduğu ortaya konmaktadır (Girmania 2009).

Farmasötik süspansiyonlar çözünmeyen katı parçacıklardan oluşan iç fazın bir süspansiyon ajanı içeren dış fazda dağıldığı kaba dispersiyonlardır (Gönül 2000). Suda çözünmeyen ilaç moleküllerinin oral yolla uygulanmak üzere süspansiyon formülasyonları geliştirilerek çözünme hızları arttırılabilmektedir (Kumar ve Yagnesh 2016). Süspansiyon formülasyonu geliştirirken sıklıkla yaşanan zorluklar; homojen dağılım elde etmek, çözünmeyen katı partiküllerin uygun büyüklükte olmasını sağlamak ve kekleşme gibi sorunları olmayan stabil bir formülasyon geliştirmektir. Bu zorlukların üstesinden gelmek için süspansiyonların üretim proseslerinde etken maddenin öğütülmesinde uygulanan yöntem ve ekipmanın öğütme prensibi büyük önem taşımaktadır (Billany 2002). Süspansiyonların üretiminde uygulanan öğütme işlemi ile formülasyonun homojenizasyonun sağlanması, ürün viskozitesinin etkilenmesi ve katı maddelerin partikül büyüklüğünün değiştirilmesi mümkündür. Süspansiyon formülasyonlarının partikül büyüklüğünün değiştirilmesi ile çözünmeyen veya etken maddenin çözünürlüğü değiştirilebilmekte ve etken maddenin çözünmediği dispersiyon ortamındaki davranışı dolayısıyla süspansiyonların stabilitesi etkilenebilmektedir.

Viskozitedeki değişim de aynı şekilde süspansiyon dozaj formunun stabilitesini etkileyen kritik bir parametredir (Billany 2002).

Süspansiyonların öğütülmesi için kullanılan farklı yaş öğütme teknikleri bulunmaktadır. Farmasötik alanda yaygın olarak kullanılan iki tip yaş öğütücü; yüksek devirli öğütücü çeşitlerinden biri olan rotor-stator öğütücü ve boncukla öğütücüdür (Morales ve ark. 2012). Rotor-stator öğütücüler, ortak bir merkeze sabitlenmiş stator ile dönen bir şafttan (rotor) oluşur. Dişli rotor-stator değirmenleri, rotor ve stator arasında küçük bir boşluk ile hem rotor hem de stator üzerinde bir veya daha fazla birbirine geçen diş sırasına sahiptir. Dişler arasındaki bölgede oluşan yüksek kesme hızı ve dişlerin ön kenarındaki partiküllerin çarpışması ile partikül boyutu küçülmektedir (Seibert ve ark. 2019). Boncukla öğütücülerde ise, süspansiyon halindeki ilaç partiküllerinin öğütme ortamı olarak adlandırılan boncuklarla oluşturduğu çarpma ve mekanik aşınma ile partikül boyutu küçülmektedir (Loh ve ark. 2015). Her iki teknik için de farklı proses parametreleri ile çalışılarak farklı sonuçlar elde etmek mümkün olmaktadır.

Bu tez çalışmasında; diğer azol grubu antifungal ilaçlara göre üstünlükleri olmasına karşın BCS sınıf II bir molekül olarak çözünürlüğü çok düşük olan, dolayısıyla oral biyoyararlanımı açısından süspansiyon formülasyonunun geliştirilmesinde kritik unsurlar içeren posakonazol etken maddesinin iki farklı yaş öğütme tekniği ile süspansiyon formülasyonlarının geliştirilmesi, formülasyon bileşenlerinin, öğütme tekniklerinin ve uygulanan işlem parametrelerinin süspansiyonların kalite özellikleri üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda; posakonazolün süspansiyon formunun üretimi için en verimli yaş öğütme tekniği ve uygulanan işlem parametrelerinin tespit edilmesi, formülasyonların performansının değerlendirilmesinde daha ayırt edici koşullarının sağlandığı *in vitro* çözünme hızı yönteminin geliştirilmesi, optimize edilen formülasyonların fiziksel özelliklerinin (pH, yoğunluk, viskozite, partikül büyüklüğü dağılımı), reolojik davranışlarının, çözünme hızı performanslarının karakterize edilmesi ve stabilitelelerini incelenmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnvaziv Mantar Enfeksiyonları Hakkında Genel Bilgiler

Bilinen 100.000'den fazla mantar türünden sadece yaklaşık 300'ü insanlarda hastalığa neden olmaktadır. Ortam sıcaklığında en iyi şekilde büyüyen türlerin çoğuna karşı vücut sıcaklığımız, koruyucu bir termal bariyer sağlayabilmektedir. En yaygın patojenler Candida, Aspergillus, Cryptococcus ve Pneumocystis türleri olup, mantar hastalığı nedeniyle bildirilen ölümlerin %90'ından fazlasına bu türler neden olmaktadır (Schmiedel ve Zimmerli 2016).

İnvaziv mantar ve mantar benzeri enfeksiyonlar, bağışıklığı baskılanmış bireylerde önemli morbidite ve mortaliteye sebep olan enfeksiyonlardır. Nötropeni, HIV (Human Immunodeficiency Virus/İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü), kronik immünosupresyon, kalıcı protezler, yanıklar, diyabetes mellitus ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı gibi bağışık sisteminin baskılandığı vakaların artması nedeniyle bu enfeksiyonların insidansı da artmaktadır (Sanguinetti ve ark. 2019).

Mantar enfeksiyonları klinikte özellikle hematoloji ve onkoloji ünitelerinde görülen en ciddi sorunlardan biridir. Hastanede yatan hastalarda gelişen tüm enfeksiyonların %9 ila %10'unu oluştururlar. İnvaziv mantar enfeksiyonlarından sorumlu başlıca patojenler Candida ve Aspergillus türleridir (Sienkiewicz ve ark. 2016).

Candida, gelişmiş dünyada sistemik mantar enfeksiyonlarının en yaygın nedenidir. Bu maya türü insanlarda normal olarak, ağız boşluğunda, gastrointestinal sistemde, kadın genital sisteminde veya deride bulunabilmektedir. Bir yaşın üzerindeki sağlıklı insanların tahminen %24-70'i Candida tarafından kolonize edilmiş durumdadır. İnvaziv kandidiyazis hastanın kendi florasından kaynaklanmaktadır. Cilt veya mukozal bariyerin iyatrojenik kırılmalarını takiben kan dolaşımına veya derin dokuya verilmektedir (Schmiedel ve Zimmerli 2016).

Aspergilloz, invaziv mantar enfeksiyonlarının %85'inden fazlasını oluşturan, insanlarda görülen en yaygın küf enfeksiyonudur. Aspergillus türü toprakta, çürüyen bitki örtüsünde, yiyeceklerde, havada ve su kaynağında bulunmaktadır. Her yerde bulunan sporları inhalasyon yoluyla solunum yollarına ulaşır. Bağışıklığı baskılanmış

kişilerde bu durum, öncelikle invaziv pulmoner aspergilloz ile sonuçlanır. Bu hastalığın son dönem komplikasyonları yaygın olarak beyin ve böbreklerde ortaya çıkmaktadır (Schmiedel ve Zimmerli 2016).

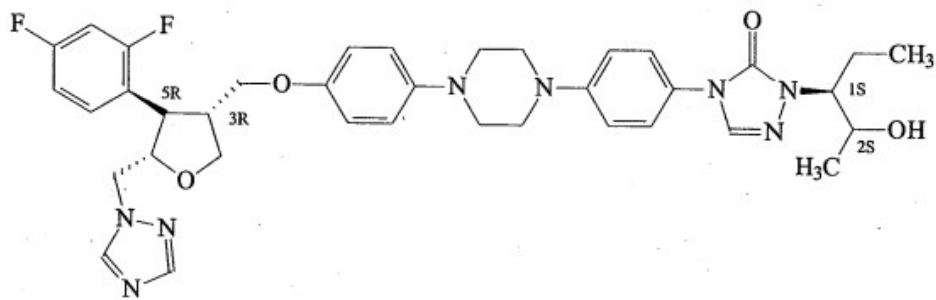
40 yılı aşkın bir süre mantar enfeksiyonlarının tedavisinde amfoterisin B kullanılmıştır. Nefrotoksisite başta olmak üzere çok fazla yan etkisi olması nedeniyle bilim adamları başka ilaçlar aramaya mecbur kalmıştır. 1980'lerde yeni nesil azol antifungal ilaçlar terapötik kullanıma girmiştir. Bu yeni grup, azol halkasındaki azot atomlarının miktarına bağlı olarak iki gruba ayrılmıştır. Bunlar; İki azot atomlu olanlar yani imidazoller (ketokonazol, mikonazol, klotrimazol, tiokonazol, ekonazol, izokonazol) ve üç azot atomlu olanlar yani triazoller şeklinde adlandırılmaktadır. Triazol grubu ise birinci kuşak (flukonazol ve itrakonazol) ve ikinci kuşak (vorikonazol ve posakonazol) olarak sınıflandırılmıştır (Sienkiewicz ve ark. 2016).

2.2. Posakonazol Hakkında Genel Bilgiler

2.2.1. Posakonazol'un Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri

IUPAC İsmi: 4-[4-[4-[4-[[[(3R,5R)-5-(2,4-diflorofenil)tetrahidro-5-H(1-1,2,4-triazol-1-ilettil)-3-furanil]metoksi]fenil]-1-piperazinil]fenil]-2-[(1S,2S)-1-etil-2-hidroksipropil]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-on

Kapalı formülü : C₃₇H₄₂F₂N₈O₄



Şekil 2-1: Posakonazol molekül yapısı

Molekül ağırlığı: 700.78 g/mol (Noxafil Drug Approval Package : Chemistry Review 2006, Eylül)

Erime Noktası : 164-165 °C ("Noxafil Product Information")

LogP : 4,6 (Cristofoletti ve ark. 2017)

pKa : 3,6 ve 4,6 (Leung ve ark. 2015)

Fizikokimyasal Özellikleri: Posakonazol beyaz kristal tozudur. Lipofilik yapıdadır, permeabilitesi yüksektir. Suda ve heksanda çözünmez, etanolde az çözünür, metanol, asetonitril ve asetonunda kısmen çözünür. Posakonazol dört adet kiral merkez içerir. Sadece (R,R,S,S) enantiyomeri olarak sentezlenmektedir ("Noxafil : EPAR - Scientific Discussion" 2005, Mart). Sahip olduğu bu özellikler sebebiyle posakonazol BCS sınıf II bir moleküldür.

2.2.2. Posakonazol'ün Farmakolojik Özellikleri

Posakonazol geniş spektrumlu, triazol grubu bir antifungal ajandır. Diğer antifungal tedavilere dirençli veya tolerans göstermeyen invaziv mantar enfeksiyonunun (aspergilloz, fusarioz ve zigomikoz dahil) tedavisinde ve profilaksisinde, azol-dirençli orofarengeal ve/veya özofageal kandidiyazisin tedavisinde ve ateşli nötropeni tedavisinde endikedir (Keating 2005).

Posakonazol mantar hücresinde ergosterol biyosentezini inhibe ederek etkisini oluşturur. Bu inhibisyonu sitokrom P450 (CYP450) enzim ailesinin bir üyesi olan ve neredeyse tüm mantar türlerinde bulunan lanosterol 14 α -demetilaz enziminin hedef bölgesindeki kofaktöre bağlanarak yapar. Böylece fungal hücre membranının bütünlüğünü sağlayan ergosterolün C14 ve/veya C4 pozisyonlarından demetilasyonunu önler. Bunun sonucu olarak yapısı değişen ergosterol, plazma zar fonksiyonunu bozar ve mantar hücresinin ölümüne neden olur. İnsan hücre membranında ergosterol bulunmadığından antifungal tedavi için mükemmel bir hedef haline gelmektedir (Leung ve ark. 2015; Zoller ve ark. 2010)

2.2.3. Posakonazol'ün Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri

Posakonazol tek kompartmanlı model ve birinci dereceden eliminasyon ile tanımlanan liner farmakokinetik modele uyar. Biyoyararlanım, ilaç dört bölünmüş dozda uygulandığında daha yüksektir (Sienkiewicz ve ark. 2016). Mantar enfeksiyonlarının önlenmesi için onaylanmış posakonazol dozu 8 saatte bir 200 mg'dır. Yerleşik enfeksiyonların tedavisi için ise, bir hafta boyunca 6 saatte bir 200 mg, ardından her 12 saatte bir 400 mg uygulanır.

Posakonazol süspansiyonların uygulanması ile ilgili yapılan çalışmalarda bireyler arası yüksek değişkenlik gözlemlenmiştir. Posakonazol metabolizmasının sadece CYP3A4 enzim sistemi ile ilişkili olduğu düşünüldüğünde, bu durumun değişken metabolizmadan daha çok, oral ilacın düzensiz emilimiyle ilgili olduğu düşünülmektedir (Girmenia 2009). Dolton ve ark yaptığı bir çalışmada posakonazol süspansiyon alan hastalarda posakonazol maruziyetini etkileyen bir dizi ilaç etkileşiminin ve klinik faktörün olduğu gösterilmiştir (Dolton ve ark. 2014). Ezzet ve ark. yaptığı bir çalışmada ise posakonazolün günlük alınan toplam dozu aynı olmasına rağmen daha sık dozlama rejimleri ile yürütülen tedavi sonucunda daha yüksek sistemik maruziyet ile doza bağımlı ve doyurulabilir bir absorpsiyon izlenmiştir (Ezzet ve ark. 2005). Ullmann ve ark. yaptığı başka bir çalışmada özellikle günlük 800 mg'lık dozun üzerinde süspansiyon alan hastalarda oldukça değişken, düzensiz ve doz sınırlı absorpsiyon gözlemlenmiştir (Ullmann ve ark. 2006).

Oral uygulamadan sonra, ilacın emilimi doz rejimi ve gıdalar ile birlikte alınma bağlıdır. Özellikle yağlı gıdalar ve gıda takviyeleri ile kullanıldığında oral biyoyararlanımı artmaktadır. Buna ek olarak mide pH değerinin normalden düşük olması da posakonazolün oral biyoyararlanımını arttırmaktadır (Howard ve ark. 2012). Dolayısıyla PPI (proton pompa inhibitörleri) ve metoklopramid ile birlikte uygulanması ve aynı zamanda mukozit gibi iltihaplanma halleri, oral posakonazol formülasyonlarının biyoyararlanımı azaltmaktadır (Sienkiewicz ve ark. 2016).

Maksimum plazma konsantrasyonuna (tmax) ulaşma süresi, oral yoldan tek doz uygulanmasının ardından 5-8 saat olarak rapor edilmiştir ve farklı denekler ve araştırmalarda farklılık göstermiştir. Medyan tmax değerinin farklı çalışmalarda yaklaşık 3-6 saat olduğu ve kararlı durum konsantrasyonlarına günde iki kez dozlama ile 10 gün içerisinde ulaşıldığı bildirilmiştir (Y. Li ve ark. 2010).

Antienfektif ajanların “serbest ilaç hipotezi”ne göre ilacın antimikrobiyal aktivisinden sorumlu olan kısmı bağlanmamış haldeki kısmı yani serbest kısmıdır. Posakonazol albümin başta olmak üzere plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanmaktadır. Proteinlere bağlanma konsantrasyondan bağımsız olarak gerçekleşmektedir (Y. Li ve ark. 2010). Posakonazol absorbe olduktan sonra, öncelikle plazmada dolaşır, daha sonra geniş ölçüde dokulara dağılır ardından yavaşça elimine edilir. Büyük dağılım hacmine ve uzun bir terminal yarılanma ömrüne sahiptir. Bu

nedenle dokuda kalış süresi de uzun olmaktadır (Clark ve ark. 2015). Farowski ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, posakonazolün hücre içinde konsantrasyonu olduğu, mononükleer hücrelerdeki ve polimorfonükleer lökositlerdeki ilaç düzeylerinin plazmadan sırasıyla 22.5 ve 7.7 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Farowski ve ark. 2010).

Posakonazol akciğer, böbrek, kalp ve karaciğer dokusunda birikir ancak beyinde birikmez. Beyin ve plazma konsantrasyonları yaklaşık olarak eşittir, bu da beyin enfeksiyonlarında daha yüksek plazma konsantrasyonlarının gerekli olabileceğini düşündürmektedir (Dekkers ve ark. 2016).

Posakonazol karaciğerde metabolize olur, sınırlı metabolizması ağırlıklı olarak uridin difosfat - glukuronoziltransferaz enzim yoluyla vasıtasıyla faz 2 biyotransformasyonlarla sağlanır (Y. Li ve ark. 2010). Metabolizması diğer azol antifungallerine göre CYP450 yoluyla daha az etkilenir. Eliminasyonu öncelikle dışkı yoluyla değişmeden (çoğunlukla ana bileşik olarak) gerçekleşir. İdrarla elimine edilen etken madde miktarı en düşük seviyededir (Clark ve ark. 2015).

Posakonazol genel olarak iyi tolere edilir, ancak güvenlik verilerinin çoğu oral süspansiyon ile birlikte verilmektedir. Ciddi yan etkiler nadirdir. Yan etkilerin çoğu hafif, kendi kendini sınırlayan ve spesifik olmayan etkilere sahiptir. En sık bildirilen yan etki bulantı (% 7-41), kusma (% 2-6) ve karın ağrısı (% 1-5) dahil olmak üzere gastrointestinal rahatsızlıklardır. Diğer yaygın olarak bildirilen etkiler arasında karaciğer enzimlerinin yükselmesi (% 1-11), baş ağrısı (% 1-17) ve kızarıklık (% 1-41) bulunur (Clark ve ark. 2015).

2.2.4. Posakonazolün Diğer Antifungal İlaçlara Göre Üstünlükleri

Posakonazol, geniş bir Candida türü yelpazesine karşı güçlü in vitro fungostatik ve fungusit etkiye sahiptir. Candida türlerinin klinik olarak önemli izolatlarının izlenmesi ile ilgili coğrafi olarak farklı ve geniş alanlarda yürütülen çalışmalar, posakonazolün itrakonazol ve flukonazolden daha etkin olduğu, vorikonazole ise etkinliğinin aynı olduğunu göstermektedir. Posakonazolün flukonazole dirençli izolatlar da dahil olmak üzere çok büyük bir Cryptococcus neoformans topluluğuna karşı da aktivitesi oldukça yüksektir. Yapılan bir başka çalışmada ise posakonazolün ipliksi mantarlara karşı en etkili triazol grubu bileşik olduğu ispatlanmıştır. Posakonazolün

ardından sırasıyla vorikonazol, ravukonazol ve itrakonazol gelmektedir (Katragkou ve ark. 2012).

Aspergillus türüne karşı etkinliği bakımından posakonazol, vorikonazol'e benzer olmasına rağmen, vorikonazole dirençli veya toleransı olmayan hastalarda kurtarma tedavisi için kullanımı önerilmektedir. Posakonazol oral süspansiyonun, konvansiyonel antifungal tedaviye dirençli veya toleransı olmayan invaziv aspergillozu olan hastalardaki etkinliği ve güvenilirliği araştırılmış ve daha önce bir başka triazol ile tedavi edilen hastalar için kurtarma tedavisi olarak hem etkin hem de güvenilir bulunmuştur (Dekkers ve ark. 2016). Bununla birlikte, çeşitli Aspergillus türlerinin, posakonazole olan duyarlılıkları farklılık göstermektedir. Posakonazol, Zygomycetes türüne karşı da vorikonazol ve flukonazolden daha aktif gibi görünmektedir ancak bu türe karşı en etkili antifungal ajan amfoterisin B'dir. Posakonazol ayrıca Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis ve Coccidioides immitis gibi endemik mantar türlerine ve Akremonium türlerine karşı da in vitro aktivite göstermiştir (Katragkou ve ark. 2012).

İnvaziv mantar enfeksiyonları ölüm oranı yüksek ve tedavisi zor olan hastalıklardır. O nedenle bu enfeksiyonların önlenmesi, özellikle immün yetmezliği olan hastaların hayatta kalma ihtimallerini arttırmaktadır. Son yirmi yılda flukonazol ile antifungal profilaksi, yoğun remisyon indüksiyon kemoterapisi veya hematopoietik kök hücre transplantasyonu yapılan hastalar için standart bir uygulama olmuştur. Ancak flukonazolün invaziv küf enfeksiyonlarına karşı aktivitesi olmadığından flukonazol ile bu enfeksiyonların önlenme olasılığı sınırlıdır. Bunun aksine posakonazol, Aspergillus, Zygomycetes ve Fusarium türleri gibi ipliksi mantarları da içeren geniş bir aktivite yelpazesine sahiptir (Katragkou ve ark. 2012).

2.2.5. Posakonazol ile İlgili Patent Bilgileri

Schering Corporation firmasına ait EP0736030B1 (WO9517407A1; US5661151A) numaralı posakonazol kök patenti Türkiye'de geçersizdir, Avrupa'da koruma süresi 20.12.2019'da sona erecektir (Saksena ve ark. 1994). Ürün Avrupa ve Amerika'da Noxafil® markası ile 2009 yılında Merck & Co. ile Schering-Plough'ın birleşmesi sonucu doğan Merck Sharp & Dohme Ltd. adına ruhsatlıdır. Avrupa'da ilk olarak 25.10.2005 tarihinde, Amerika'da ise 15.09.2006 tarihinde ruhsatlandırılmıştır. Veri imtiyazı Avrupa'da 25.10.2015'de; Türkiye'de 25.10.2011 yılında sona ermiştir.

Kök patentte polimorfik form bilgisi yer almamaktadır (Saksena ve ark. 1994). Posakonazol etken maddesi üç polimorfik form halinde bulunmaktadır ve Form I tercih edilen polimorftur ("Noxafil : EPAR - Scientific Discussion" 2005, Mart). Orjinatör firma Schering Corporation'a ait ve Türkiye'de geçersiz olan EP1021439 B1 numaralı polimorf patentinde de posakonazolün, Form I, Form II ve Form III olmak üzere üç polimorfik formu açıklanmıştır. Patentte Form I "d spacing" değerleri ile tanımlanmaktadır. Bu polimorfik formlar arasında en stabil polimorf "Form I" olduğundan istemlerde korunan da bu formdur (Andrews ve ark. 1998). Tüm bu verilerden, orijinal polimorfun EP1021439 B1 numaralı patentte açıklanan Form I olduğu sonucuna ulaşılabilir.

Form I polimorfunun kullanımını herhangi bir patentle korunmadığından geliştirilecek posakonazol süspansiyon formülasyonunda Form I polimorfu kullanılmasına karar verilmiştir.

Posakonazol kök patenti EP0736030 B1'de formülasyonlara yer verilmemekte ve istemlerde herhangi bir formülasyon yer almamaktadır (Saksena ve ark. 1994).

Orijinatör firma Schering Corporation'a ait 2002 tarihli geçersiz patent başvurusu WO02080678 A1, (EP1372394 A0) orijinal süspansiyon formülasyonunun açıklandığı yerdir. İlk isteminde, en az bir kıvamlaştırıcı ajan (bağımlı istemlerde Ksanthan gum ve likit şeker), bir iyonik olmayan yüzey aktif maddesi (bağımlı istemlerde sorbitan esterleri) ve likit taşıyıcı (bağımlı istemlerde su, glukoz ve gliserin) içeren posakonazol likit süspansiyonu korunmak istenmiştir. Bu başvurunun/başvuruların Amerika'da "Orange Book" patent eşleniği olan US8263600 B2 geçerli bir patenttir ve ilk istemi, 1800 nm partikül boyutuna sahip mikronize Posakonazol ve belli diğer yardımcı maddeleri içeren 40 mg/mL'lik bir süspansiyon şeklinde daha dar kapsamlı bir korumaya sahiptir.

2.3. Süspansiyonlar Hakkında Genel Bilgiler

Farmasötik süspansiyonlar, ilaç partiküllerin çözünmediği veya minimum çözünürlüğe sahip olduğu sıvı bir ortam (süspansiyon ortamı olarak da adlandırılır) içerisinde tekdüze şekilde dağıtılmasıyla oluşan sıvı dispersiyon sistemleridir (Brunaugh ve ark. 2019a). Farmasötik süspansiyonlarda katı partikülün boyutu genellikle 0.1-10µm aralığında değişir. Süspansiyonlar partikül büyüklüğüne göre üç sınıfa ayrılır. Partikül büyüklüğü 1.0 nm ile 0.5 µm arasında değişenler kolloidal

dispersiyon, 0,5-10 µm arasında olanlar ince dispersiyon ve 10-50 µm arasında olanlar ise kaba dispersiyon olarak adlandırılır (Awad ve ark. 2021).

2.3.1. Süspansiyonların Avantajları ve Dezavantajları

Süspansiyon tipi ilaç şekli hazırlamanın avantajları aşağıdaki gibi sıralanabilir (Desu ve ark. 2014);

- Suda çözünmeyen ilaç bileşiklerinin formüle edilmesine olanak verir,
- İlaç salım hızları arttırılır,
- Hidrolitik (çözelti formünde kimyasal olarak dayanıksız) bileşiklerin bozunma hızını yavaşlatılır,
- Yutma güçlüğü çeken hastalar için, süspansiyonlar lezzetli formülasyonlar olarak formüle edilebilir.

Tüm bu üstünlüklere rağmen süspansiyonların sahip olduğu bazı dezavantajlar da vardır. Bunlar da aşağıdaki gibi sıralanabilir: (Kathpalia ve Phadke 2014)

- Ürünün homojen şekilde karıştırılmamasına bağlı olarak dozlamada değişkenlik olma olasılığı vardır.
- Sedimentasyon, kek oluşumu ve yeniden disperse olmada zorluk yaşanması gibi fiziksel stabilite sorunları görülebilir.
- İlacın saptanmamış polimorfizm özelliği olması durumunda çözünürlüğü değişebilir ve kristal büyümesi görülebilir.
- Hasta tarafından kabul edilebilir görüntü, tat ve kokuda formülasyon geliştirmek zor olabilir.

Süspansiyon formülasyonu geliştirilirken yaşanan zorluklardan en önemlisi süspansiyonların fiziksel açıdan dayanıksız olmalarıdır. İyi formüle edilmiş bir süspansiyonda aşağıdaki özellikler bulunmalıdır: (Öner 2004)

- Dağılan fazın çökme hızı yavaş olmalıdır.
- Çöken partiküller sert bir kek oluşturmamalıdır.
- Çalkalanan süspansiyon en az çaba ile yeniden dağılabilmelidir.
- Raf ömrü boyunca fiziksel ve kimyasal yönden dayanıklı olmalıdır.

- Partikül büyüklüğü ve dağılımı, kristal yapısı ve sıvı ortamda ilacın tekdüze dağılımı değişmemelidir.
- Preparatın viskozluğu yeniden dağılabilmesine, şişeden kolay akmasına, enjektör iğnesinden geçmesine, deriye kolay sürülmesine ve deride kalabilmesine uygun olmalıdır.
- Tadı, kokusu ve görünüşü hoş olmalıdır.

2.3.2. Süspansiyon Formülasyonlarının Hazırlanması

Fiziksel ve kimyasal açıdan dayanıklı bir süspansiyon formülasyonu pek çok bileşenden oluşur. Bunlar; etken madde, dispersiyon ortamı, ıslatma ajanları, süspansiyon ajanları, tatlandırıcılar, aroma vericiler, renk vericiler, tampon ajanları ve koruyuculardır. Süspansiyon formülasyonlarının hazırlanma aşamaları aşağıdaki gibi özetlenebilir: (Acartürk 2007)

- Etken madde partiküllerinin ıslatıcı ajan içeren dispersiyon ortamında dağıtılması
- Kontrollü flokülasyonun sağlanması için flokülasyon ajanlarının ilavesi
- Floküle partiküllerin süspand olabilmesi için süspansiyon ajanlarının ilavesi
- Dağılmayı kolaylaştırmak ve süspansiyon ajanlarının hidrasyonunu sağlamak için yeterince su ilavesi
- Formülasyonda yer alan diğer yardımcı maddelerin suda çözülerek süspansiyona ilavesi
- Uygun bir yöntemle süspansiyonların homojenize olması için karıştırılması ve öğütülmesi
- Süspansiyonun havasının alınması

2.3.3. Süspansiyon Formülasyonuna Giren Maddeler

2.3.3.1. Etken madde ve Dispersiyon Ortamı

Etken madde ideal olarak, sürekli fazda çözünmeyen bir madde olmalıdır. Bu özellikteki madde su varlığında fiziksel ve kimyasal olarak da stabil ise süspansiyon formülasyonu geliştirmek kolay hale gelmektedir (Moreton 2010).

Kaba süspansiyonlarda genel olarak partikül büyüklüğü 1-50 µm arasındadır. Partikül büyüklüğünü küçültmek amacıyla öğütme, püskürterek kurutma, sıvı-enerji değirmenleri ve kontrollü kristalizasyon gibi yöntemler kullanılabilir. Etken maddenin partikül büyüklüğünün yanısıra, polimorfik özellikleri de formülasyon geliştirilmesi açısından önem taşır (Acartürk 2007).

Dispersiyon ortamı, etken maddenin çözünmediği sulu veya yağlı sıvı fazdır.

2.3.3.2. Islatma Ajanları

Yüzey aktif maddeler olarak da adlandırılan sürfaktanlar, hem hidrofobik hem de hidrofilik bileşen içeren moleküllerdir. İlaçların çözünürlüğünü artırmak ve ilacın sıvı dispersiyon ortamı içinde ıslanmasını kolaylaştırmak için süspansiyon formülasyonlarında kullanılırlar. Yüzey aktif maddeler, bir sistemin yüzeyine veya arayüzüne emilerek yüzey/arayüz serbest enerjisini değiştirerek yüzey/arayüz gerilimini azaltırlar (Brunaugh ve ark. 2019b).

2.3.3.3. Süspansiyon Ajanları

Süspansiyon ajanları başka bir ifadeyle viskozite arttırıcı maddeler süspansiyon formülasyonlarında lezzeti iyileştirme, dökme kolaylığı sağlama ve dağılmış parçacıkların çökme hızını kontrol etme gibi özellikleri bulunmaktadır. Viskozite arttırıcı maddeler genellikle hidrofilik polimerlerdir (Kalász ve Antal 2006). Hidrofilik polimerler içerisinde hidrokolloidler büyük bir yere sahiptir. Hidrokolloid polimerlerin tamamı suyun viskozitesini arttırmaktadırlar. Viskozitede görülen bu artış, sedimentasyon hızını etkileyerek dağılan fazın çökmesini engeller ve böylece süspansiyonların fiziksel stabilitesine katkıda bulunur (Gönül 2000).

2.3.3.4. Tatlandırıcılar

Oral uygulanan sıvı dozaj formlarındaki ilaç molekülleri hastanın tat alma tomurcuklarıyla anında ve doğrudan temas eder. Sıvı ilaca tatlandırıcı maddeler eklenerek, ilaçların hoş olmayan tadı başarıyla maskelenebilir. Uygun bir tatlandırıcı ajanın seçimi birkaç faktöre bağlı olmakla birlikte esas olarak ilacın tadına bağlıdır (Allen 2008).

2.3.3.5. Koku Vericiler

Oral yolla alınan ilaçların lezzetini iyileştirmek için koku vericiler de kullanılır. Acı tat kadar büyük bir sorun olmasa da süspansiyonun kokusu/aroması da hasta için sorunlara neden olabilir ve uyuncu etkileyebilir (Moreton 2010).

Bireylerin tat ve aroma tercihleri farklılık gösterse de, kakao aromalı araçlar, acı ilaçların tadını maskelemede kakao aromaları etkili kabul edilirken meyve veya narenciye aromaları, ekşi veya asit tadı veren ilaçlarla çalışılırken sıklıkla kullanılmaktadır. Tarçın, portakal, ahududu ve diğer tatlar da tuzlu ilaçlar içeren müstahzarları daha lezzetli hale getirmek için başarıyla kullanılmıştır (Allen 2008).

2.3.3.6. Renk Vericiler

Görünümün iyileştirilmesi için süspansiyonlara gıda ve ilaç boyaları eklenebilmektedir. Bu maddeler kullanılırken, formülasyonunda yer alan diğer bileşikler ile geçimli olup olmadıklarının kontrol edilmesi gerekmektedir (Gönül 2000).

Farmasötik renklendiricilerin kesin nicel miktarının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Belirlenen miktar formülasyon her hazırlandığında tekrarlanabilir olmalıdır, aksi takdirde müstahzarın görünümü seriden seriye farklılık gösterebilmektedir. Bunu sağlamak oldukça zordur çünkü genellikle sıvı preparatlara eklenen renklendirici miktarı, renklendiriciye ve istenen renk derinliğine bağlı olarak %0.0005 ile %0.001 arasında değişmektedir (Allen 2008).

2.3.3.7. Tampon Maddeleri

Sıvı dozaj şekillerinin pH'sını kontrol etmek ve fizikokimyasal performansını optimize etmek amacıyla tampon maddeleri kullanılmaktadır. Mevcut çok sayıda ilacın çözünürlüğü pH'a bağlıdır ve bu nedenle etken maddenin formülasyondaki çözünürlüğü, pH'daki küçük değişikliklerden etkilenebilmektedir. Ayrıca etken maddenin kimyasal stabilitesinin pH'a bağlı olduğu ürünler de bulunmaktadır. Bu gibi durumlarda formülasyonun pH'sı büyük önem taşımaktadır (Jones 2008b). Tampon sistemleri, iyonik güçteki hafif değişiklikleri tolere edebilir ve pH'ı gerekli aralıkta tutabilirler (Moreton 2010). Formülasyonların pH ayarı yapılırken seçilen tampon madde, fizyolojik olarak tolere edilebilir olmalı, optimum etki göstermeli ve etken maddenin stabilitesini etkilememelidir (Kalász ve Antal 2006).

2.3.3.8. Antimikrobiyal Koruyucular

Sürekli faz olarak su içeren farmasötik süspansiyonlar, mikrobiyal bozulmaya karşı hassastır. Mikrobiyal büyümenin kaynağı süspansiyon içindeki hammadeler (deniz yosunlarından ekstrakte edilen aljinatlar vb.), süreçle ilgili bulaşmalar (hava kaynaklı kontaminasyon, operatörler vb.) veya hasta tarafından kullanım sırasında oluşabilecek bulaşmalar olabilir. Hammadde ve prosesle ilgili kontaminasyonu kabul edilebilir en düşük seviyede tutmak için her türlü çaba gösterilse de, mikroorganizmaları tamamen ortadan kaldırmak neredeyse imkansızdır. Bu nedenlerle farmasötik süspansiyon formülasyonları koruyucu içerir. Koruyucunun hem bakterilere hem de maya ve küflere karşı etkili olması gerekir ve genellikle koruyucu kombinasyonları tercih edilir (Moreton 2010). İki veya daha fazla koruyucunun kombine halde kullanılmasının sağladığı avantajlardan bazıları; geniş spektrumlu aktivite, daha az toksisite, daha az direnç gelişimi ve daha düşük konsantrasyonda koruyucu kullanımı olarak sıralanabilir (Kumar ve Yagnesh 2016)

Oral süspansiyonlar steril değildir; bununla birlikte, bu tip dozaj formlarında bulunabilecek mikroorganizmaların sayısı ve tipi için belirli kısıtlamalar bulunur. Yüksek derecede patojenik mikroorganizmalar (örn. *Escherichia coli*) süspansiyon formülasyonunda bulunmamalıdır. Oral süspansiyonlar çok dozlu formülasyonlar olduğundan daha az patojenik bakteri ve mantarlar olması sağlanmalıdır (Jones 2008a).

2.4. Süspansiyonlarda Kullanılan Öğütme ve Homojenizasyon Teknikleri

Etken maddenin düşük çözünürlüğe sahip olması formülasyon geliştirirken karşılaşılan en önemli sorundur. Bir etken maddenin çözünürlüğü arttırmak için kullanılan yöntemler aşağıdaki şekilde sıralanabilir (Bhura ve Shahiwala 2019);

- Alternatif bir polimorf kullanma
- İlacın amorf formda formüle edilmesi
- Öğütme ile ilacın partikül boyutunun azaltılması (bu azaltma partikülün mikron boyut aralığına (örneğin 10 µm'den küçük) düşürülmesi şeklinde ise genellikle mikronizasyon olarak adlandırılır)
- İlacın katı bir dispersiyon içinde formüle edilmesi

Etken maddenin çözünürlüğü genellikle ilaç partikül boyutuyla ilişkilidir; partikül küçüldükçe yüzey alanının hacme oranı artarak suda zayıf çözünürlüğe sahip

ilaçların çözünme hızlarının artırılması sağlanır (Bhura ve Shahiwala 2019). Daha büyük yüzey alanı, çözücü ile daha fazla etkileşime olanak tanır ve böylece çözünmede artış meydana gelir (Savjani ve ark. 2012).

Mikronizasyon uzun yıllardır yaygın olarak kullanılan bir yöntem olup, genellikle büyük partiküllerin ortalama partikül büyüklüğünün yaklaşık olarak 2-5 µm aralığına, partikül büyüklüğü dağılımının ise 0,1-20 µm aralığına küçültülmesi işlemi olarak ifade edilir. İlaçların partikül büyüklüğünün azaltılması için kullanılan farklı teknikler iki ana gruba ayrılabilir: (Morales ve ark. 2012)

- Öğütme
- Yüksek basınçlı homojenizasyon.

2.4.1. Öğütme

Öğütme prosesi öğütülecek maddenin bulunduğu ortama bağlı olarak kuru öğütme ve yaş öğütme şeklinde ikiye ayrılır. Her iki durumda da partikül büyüklüğündeki küçülme, partiküllerin birbirleriyle ve ekipman yüzeyiyle çarpışması sonucu oluşur. Çarpışma olayı; sıkıştırma, darbe, aşınma, kesme ve parçalama olaylarını içerir. Buna ek olarak yaş öğütmede kullanılan sıvının parçalama kuvveti ve çukur oluşturma etkisi de partikül büyüklüğünün azalmasına neden olur (Clement ve Purutyan 2002; Sharma ve ark. 2009).

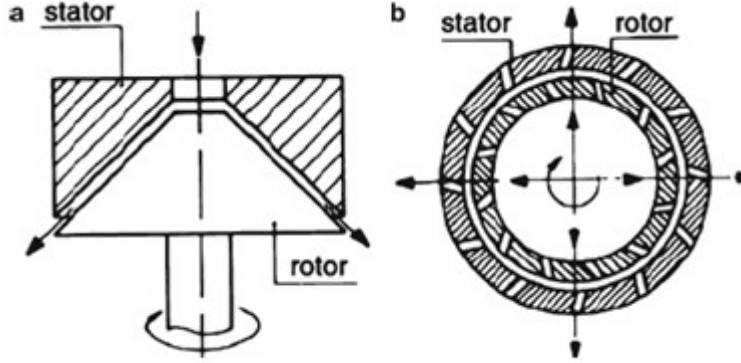
Öğütme teknikleri kuru öğütme ve yaş öğütme olarak iki ana gruba ayrılır. Süspansiyon formülasyonlarında kullanılan öğütme teknikleri yaş öğütme sınıfında değerlendirilir (Morales ve ark. 2012).

Yaş öğütme sıvı ortamda süspande edilmiş katı partiküllerin partikül büyüklüğünü küçültme işlemidir. Farmasötik alanda yaygın olarak kullanılan iki tip yaş öğütücü vardır. Bunlar rotor-stator öğütücüler ve ortam (boncuk) öğütücülerdir.

2.4.1.1. Rotor-stator Öğütücüler

Rotor-stator değirmenleri, ortak bir merkeze sabitlenmiş stator ile dönen bir saftan (rotor) oluşur. Dişli rotor-stator değirmenleri, rotor ve stator arasında küçük bir boşluk ile hem rotor hem de stator üzerinde bir veya daha fazla birbirine geçen diş sırasına sahiptir (Atiemo-Obeng ve Calabrese 2003). Rotor-stator değirmenin şematik görünümü Şekil 2-2'de verilmiştir. Rotor ve stator arasındaki diferansiyel hız, rotor ve

stator arasındaki boşlukta son derece yüksek kesme ve türbülans enerjisi verir. Böylece hem dişler arasındaki bölgede oluşan yüksek kesme hızı hem de dişlerin ön kenarındaki partiküllerin çarpışması ile partikül boyutu küçülür. Elde edilecek partikülün boyutu; rotor-stator çiftlerinin arasındaki boşluğun (gap açıklığı) büyüklüğünden ve rotorun farklı dönme hızlarında çalıştırılmasından etkilenmektedir (Seibert ve ark. 2019).



Şekil 2-2: a)Basit konik geometri (kolloidal değirmen), b)Dişli rotor-stator

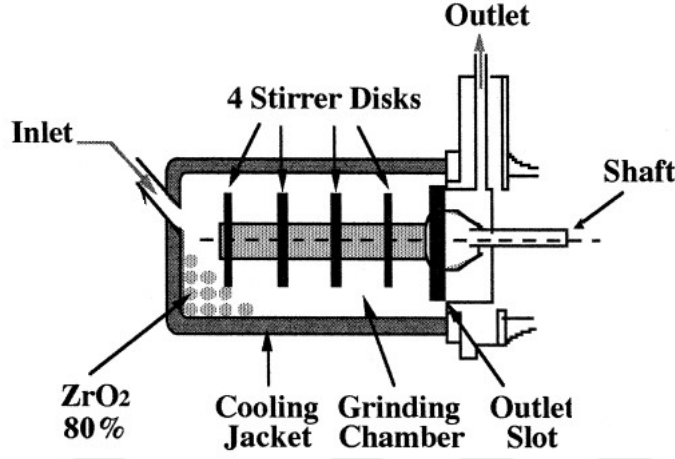
Rotor-stator öğütücüler emülsifikasyon ve homojenizasyon için yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Genel olarak, bir rotor-stator öğütücü kullanılarak elde edilen ortalama partikül büyüklüğü, 1-2 μm civarı olabilmektedir. Partiküllerin d_{95} değeri normalde 40-50 μm 'den büyük değildir (Morales ve ark. 2012).

Yaş öğütücü olarak yüksek parçalayıcı rotor-stator karıştırıcıların kullanılması, kuru öğütme tekniklerinin dezavantajlarından olan yüksek maliyetten ve öğütme kaynaklı oluşabilecek düzensizliklerden kaçınmak için bir alternatif bir yol sunmaktadır (Harter ve ark. 2013).

2.4.1.2. Ortam (Boncuk) Öğütücüler

Bu tip öğütücülerde, süspansiyon halindeki ilaç parçacıklarının öğütme ortamı olarak adlandırılan boncuklarla oluşturduğu çarpma ve mekanik aşınma ile öğütme gerçekleşir. Boncukların hareketi, genellikle kap içinde 20.000 rpm ve üzeri yüksek hızlarda dönen bir karıştırma veya çalkalama cihazı tarafından başlatılır. Ortam öğütme işlemi, etken madden süspansiyonunun öğütme haznesinden pompalandığı sürekli bir işlemdir. Şekil 2-3'te görüldüğü gibi öğütme odasından çıkmadan önce süspansiyon,

asılı, öğütülmüş parçacıkları öğütme ortamından ayırmaya yarayan bir elekten geçer. (Loh ve ark. 2015).



Şekil 2-3: Boncukla öğütücü şematik görünümü

Kapalı sistem karıştırılan medya öğütücüler, dikey veya yatay olarak düzenlenebilir ve normalde soğutma amacıyla termal bir ceket ile donatılmıştır. Bu şekilde sıcaklık kontrol altında tutulabilmektedir. Boncuklar çeşitli malzemelerden yapılabilir, bunlar genellikle cam küreler, seramik, metal veya plastiktir. Öğütücünün etkinliği; ortam hızı, yüklenen ortam miktarı, karışımın konsantrasyonu ve öğütme süresi gibi birçok değişken ile ilgilidir (Patravale ve ark. 2004).

Bir rotor-stator yaş öğütücüsüyle karşılaştırıldığında, ortam öğütücü ile aynı malzeme için çok daha küçük ortalama partikül büyüklüğü elde edilebilir. Ortalama partikül büyüklüğü 1-2 μm aralığından nanoboyuta kadar değişebilir. Ortam (boncuk) öğütücüler, daha uzun öğütme süreleri gerekmesine rağmen nano boyutta partikül büyüklüğü elde etme kapasitesi nedeniyle yaygın olarak kullanılır (Bruno ve ark. 1996; Kipp 2004).

Yaş öğütme çalışmalarında genellikle işleminin başlangıcında stabilizör eklenir ve ardından öğütme işlemi gerçekleştirilir. Stabilizör ekleme yöntemi, öğütme başlangıcında, öğütme sırasında ve öğütme sonunda şeklinde periyodik olarak ilerlemektedir (Bhakay ve ark. 2011).

Ortam öğütme işleminin önemli bir dezavantajı, kaptaki yoğun karıştırma kuvvetlerinden dolayı boncukların aşınmasıdır. Aşınma sonucu oluşan öğütme ortamının kalıntıları, ürün kontaminasyonuna neden olabilir, bu da yeni oluşan partikül

yüzeylerinin kimyasal olarak kararsızlaşmasına yol açar ve muhtemelen partikül büyüklüğü ve dağılımı gibi kritik ürün özelliklerini etkiler. Öğütme ortamının yanı sıra öğütülmüş ürünle temas halinde olan diğer önemli ekipman bileşenlerinin (örn. öğütme odasının iç duvarları ve karıştırma cihazı) yapımında da aşınmaya dayanıklı malzemelerin kullanılması ile kontaminasyon sorunları azaltılabilir (Loh ve ark. 2015).

2.4.2. Yüksek Basınçlı Homojenizasyon

Yüksek basınçlı homojenizasyon, suda çözünürlüğü zayıf olan bileşikler ile nanosüspansiyon formülasyonu geliştirmek için yaygın olarak kullanılan tekniklerden biridir (Bhura ve Shahiwala 2019). Bu yöntemde, homojenizatörün sahip olduğu küçük açıklıktan yüksek basınç altında ürünler geçirilerek partikül boyutu küçültülmektedir. Homojenizatördeki partikül küçülmesi; yüksek parçalama hızı, türbülans, darbe ve kaviteasyonun kombinasyonu ile sağlanmaktadır. İki tip yüksek basınçlı homojenizatör vardır: (Morales ve ark. 2012).

- Piston-Gap Homogenizers (Piston Aralıklı Homojenizatörler)
- Microfluidizer (Mikroakışkanlaştırıcı)

Geleneksel partikül büyüklüğü küçültme yöntemlerinde amorfizasyon, polimorf transformasyonu ve yüksek mekanik enerji nedeniyle oluşabilecek metal kontaminasyonu gibi sorunların yüksek basınçlı homojenizasyon tekniğinde görülmemesi önemli bir avantaj haline gelmektedir. Ayrıca yüksek basınçlı homojenizasyon, hem sulu hem de susuz sıvı ortamlarda kullanılabilir (Khadka ve ark. 2014).

2.4.2.1. Piston-Gap Homogenizers (Piston Aralıklı Homojenizatörler)

Piston aralıklı homojenizatörler, dağıtıcı olarak saf su ile çalışırlar ve partikül küçültmek için kaviteasyon prensibi kullanırlar. Burada süspansiyon çok yüksek hızlarda çok ince bir aralıktan geçer. Süspansiyon bu aralığa girmeden önce, aralığın genişliğine kıyasla daha büyük çaplı bir silindirde bulunur. Çaptaki bu muazzam azalma, sıvının statik basıncında da çok büyük bir düşüşe neden olur. Elde edilen statik basınç, suyun buhar basıncının altındadır. Bu basınç, kaynamaya ve aralıktan geçişin ardından patlayan ve homojenleştiricinin haznesinde normal basınca dönen gaz kabarcıklarının oluşmasına yol açar (Muller ve ark. 1999). Partikül büyüklüğündeki azalmayı etkileyen

faktörler; homojenizasyon basıncı, homojenizasyon döngüsü sayısı ve kullanılan stabilizörün özellikleridir (Keck ve Muller 2006).

2.4.2.2. Microfluidizer (Mikroakışkanlaştırıcı)

Mikroakışkanlaştırıcı cihazlarda jet akımlarının çarpışması yoluyla partikül büyüklüğü azaltılır. Homojenizasyon öncesinde sıvı, çarpışma meydana gelen bir etkileşim odasına pompalanır. Etkileşim odası, sıvı hattını ikiye bölen mikro kanallardan oluşur. Bu iki akım daha sonra kesme kuvveti, çarpma kuvveti ve kaviteasyon kuvveti üretmek için yüksek hızda yeniden birleştirilir. Bu kuvvetlerin bir araya gelmesi partikül kırılması ve büyüklüğünün azalması ile sonuçlanır (Cook ve Lagace 1985)

Bu teknolojinin bir dezavantajı, elde edilen ürünün oldukça fazla miktarının partikül büyüklüğü dağılımının geniş olmasıdır. Bunun önüne geçmek için cihazdan ürün geçisi sayısının artırılması gerekmektedir. Sonuç olarak çok uzun proses süreleri oluşabilmektedir (Morales ve ark. 2012).

2.5. Süspansiyonların Stabilitesi

2.5.1. Sedimentasyon ve Partikül Büyüklüğünün Önemi

Süspansiyon içindeki partiküllerin hareketi süspansiyonların stabilitesi için oldukça önemlidir. Bu hareketlerin en önemlilerinden biri de sedimentasyondur. Sedimentasyon, farmasötik süspansiyonların büyük çoğunluğu için geçerli olan, yaklaşık 0,5 µm veya daha büyük yarıçapa sahip partiküller için görülen, yerçekimi altında partiküllerin aşağı doğru hareketidir. Sedimentasyon hızı arttıkça süspansiyondaki partiküllerin çökelti oluşumu artmaktadır. Sedimentasyon, Stokes yasası ile Eşitlik 2-1'deki gibi ifade edilir, (Awad ve ark. 2021).

Partikül boyutunun küçültülmesinin ve viskozitenin artırılmasının sedimentasyon hızını azaltacağı denklemden açıkça görülmektedir. Parçacık boyutu mekanik olarak veya kristalizasyon teknikleri değiştirilerek azaltılabilir. Bununla birlikte, ince partiküller, yeniden dağıtılması zor olabilen kompakt bir kek oluşturma eğiliminde olduğundan partikül büyüklüğü kontrollü şekilde küçültülmelidir (Bruschi 2015).

$$\frac{ds}{dt} = \frac{2\alpha^2 g(\rho - \rho_o)}{9\eta} = \frac{d^2 g(\rho - \rho_o)}{18\eta} \quad (2-1)$$

ds/dt: Sedimentasyon hızı

α ve d: Partikül çapı ve yarıçapı

g: Yerçekimi sabiti

ρ : Partikülün yoğunluğu

ρ_o : Dispersiyon ortamının yoğunluğu

η : Viskozite

Sedimentasyon üzerindeki etkilerinin yanı sıra, partikül büyüklüğünün başka bir önemi daha vardır. Konsantre süspansiyonlarda güçlü bir partikül-partikül etkileşimi görülmektedir. Bu etkileşim dispersiyonların viskozitelerinin artmasına veya tiksotropik dispersiyonlar oluşmasına yol açabilmektedir. Küçük partiküllerin spesifik yüzey alanı, büyük partiküllerden daha fazla olduğundan sistemin viskozitesini arttırmada daha büyük bir etkiye sahiptirler (Nutan ve Reddy 2010).

Partikül boyutu ilacın biyoyararlanımını da önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Süspansiyonlar genellikle çözünürlüğü zayıf olan ilaçların uygulanması için kullanılmaktadır. Bu ilaçların emilimini etkileyen öncelikli basamak ise çözünme hızıdır. Çözünme hızının kritik olduğu bu gibi durumlarda, daha küçük partiküllerin kullanılması, daha yüksek spesifik yüzey alanları nedeniyle daha iyi bir ilaç absorpsiyon hızı ve derecesi sağlayabilmektedir (Nutan ve Reddy 2010).

2.5.2. Kristal Büyümesi

Partikül büyüklüğü dağılımı geniş olan sistemlerde küçük partiküllerin yüzeyindeki serbest enerji büyük partiküllerden daha fazladır. Bu tür sistemlerde çeşitli sebeplere bağlı olarak küçük partiküller büyük olanlardan daha fazla çözünür ve daha sonra büyük partiküller halinde kristallenir ve ortamdaki partiküller büyümüş olur (Luckham 1989).

Dispers sistemlerde partikül büyüklüğünün artması 3 temel mekanizmaya bağlı olarak gerçekleşebilir: (Gönül 2000)

- Sıcaklık değişimi
- Polimorfik transformasyon
- Oswald ripening (Oswald olgunlaşması)

İlacın çözünürlüğünün sıcaklığa bağlı olduğu durumlarda, depolama sırasında oluşabilecek sıcaklık değişimlerinin ilacın partikül büyüklüğünü, dağılımını ve polimerik formunu değiştirebilmektedir. Örneğin, sıcaklık yükseltirse, ilaç kristalleri çözülebilir ve aşırı doymuş bir çözelti oluşturabilir, bu da soğuma sırasında kristal büyümesine neden olabilir. Ayrıca sıcaklıktaki bir artışın difüzyon sabitini artıracığı ve partikül hareketini artıracığı da dikkate alınmalıdır (Awad ve ark. 2021).

Polimorfizm gösteren bir etken madde ile süspansiyon formülasyonu geliştirilirken, stabil olmayan polimorfun ortamda olması halinde kristal büyümesi gözlenebilir. Çünkü stabil olmayan polimorfun çözünürlüğü, stabil olana göre daha yüksektir. Polimorfların çözünürlükleri arasındaki bu farklılık, süspansiyonlarda kristal büyümesine yol açar (Dash 2014). Zietsman ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada amorf metronidazolün sulu süspansiyon içerisinde monohidrat formuna dönüştüğü ve böylece kristal büyümesi meydana geldiği tespit edilmiştir. Ardından süspansiyon ajanları olarak mikrokristalin selüloz ve karboksimetil selülozun bir kombinasyonu kullanılarak bu dönüşümün engellendiği gösterilmiştir (Zietsman ve ark. 2007).

Partikül büyüklüğünün küçültülmesi işlemi sırasında çözünme hızları düşük veya yüksek olan farklı yüzeyler oluşabilir. Kristal büyümesinin sebeplerinden biri Ostwald Olgunlaşması, farklı büyüklükteki partiküllerin çözünürlük farkına bağlı olarak büyümesi şeklinde ifade edilir. Ostwald Olgunlaşması aşağıdaki eşitlikle gösterilir: (Acartürk 2007)

$$\ln \frac{s}{s_0} = \frac{k}{r} \quad (2-2)$$

S : Küçük partiküllerin ilk çözünürlüğü (miktar/hacim)

S₀: Büyük partiküllerin dengedeki çözünürlüğü (miktar/hacim)

r : Partikül yarıçapı (cm)

k : Yüzey gerilimi, sıcaklık, molar hacim ve termodinamik terimleri içine alan bir değişmez

Öğütme işlemi uygulanmış süspansiyonun Ostwald olgunlaşmasına karşı dayanıklılığı, seçilen stabilizörün verimliliğine bağlıdır. Kararlı süspansiyon için anahtar parametre, stabilizatör tipinin ve konsantrasyonunun doğru seçilmesidir. Yüzey aktif maddeler veya polimerik kolloidler süspansiyonlarda stabilizör olarak kullanılabilir (Peltonen 2018). Yüzey aktif maddeler partikül yüzeyinde adsorbe olarak kristal büyümesini önleyebilmektedirler (Nutan ve Reddy 2010). Ancak yüzey aktif madde konsantrasyonu kritik misel konsantrasyonunun (CMC) üzerinde kullanılırsa, süspansiyondaki ilaç çözünürlüğünün önemli ölçüde artabileceği ve bunun da depolama sırasında Ostwald olgunlaşmasını hızlandırabileceği belirtilmektedir (M. Li ve ark. 2016).

Luhtala tarafından yapılan bir çalışmada, karbamazepin süspansiyonlarında sodyum lauril sülfat ve polisorbata 80 kullanımının, karbamazepinin çözünürlüğü ve kristal büyümesi üzerine olan etkisi değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sodyum lauril sülfat, sürfaktanların çözünürlük artırıcı etkisine bağlı olarak karbamazepin kristallerinin büyümesini hızlandırmıştır. Polisorbata 80, aksine, büyüme hızını yavaşlatmış ve büyümeyi belirli bir seviyede durdurmuştur. Polisorbata 80, özellikle daha yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında, büyüme modelini değiştirmiş ve karbamazepin kristallerinin büyüklüğü belirgin şekilde artış göstermiştir (Luhtala 1992).

2.6. Posakonazol İçeren Noxafil Oral Süspansiyona Ait Bilgiler

Posakonazol süspansiyon referans ürünü Noxafil 40 mg/mL oral süspansiyon içeriğinde bulunan maddeler; polisorbata 80, simetikon, sodyum benzoat, sodyum sitrat dihidrat, sitrik asit monohidrat, gliserol, ksanthan gum, sıvı glukoz, titanyum dioksit, benzil alkol ve propilen glikol içeren kiraz aroması, saf sudur ("Noxafil : EPAR - Scientific Discussion" 2005, Mart).

2.7. Tez Çalışmasında Formülasyon Geliştirilmesinde Kullanılan Yardımcı Maddeler

2.7.1. Polisorbata 80

Tween 80 olarak da bilinen polisorbata 80, bir polioksietilen sorbitan yağ asidi esteridir. Kimyasal adı polioksietilen 20 sorbitan monooleat, kimyasal formülü $C_{64}H_{124}O_{26}$ ve molekül ağırlığı 1310'dur (Schwartzberg ve Navari 2018). Sarı renkli, yağlı, karakteristik kokulu, acımsı tada sahip sıvıdır. Polisorbata 80 suda ve etanolde

çözünür, mineral ve bitkisel yağlarda çözünmez. Hidrofilik non-iyonik yüzey etken madde olarak farmasötik formülasyonlarda emülsifiye edici, çözücü veya ıslatıcı ajan, disperse veya süspansiyon edici ajan olarak kullanılır. Formülasyonlara %1-15 oranında emülsifiye edici olarak; %1-10 arasında çözücü olarak; %0,1-3 arasında ıslatıcı ajan olarak kullanılabilir (Sheskey ve ark. 2017).

2.7.2. Simetikon emülsiyon (%30)

Simetikon, silikonun köpük giderici özelliğini geliştirmek için ince bölünmüş silikon dioksit içeren sıvı dimetikonların bir karışımıdır. Gaz kabarcıklarının yüzey gerilimini azaltarak etkisini oluşturur. Yüzey geriliminin azalması sonucunda kabarcıkların patlamasını kolaylaştırır, büyük baloncukların da daha küçük baloncuklara bölünmesi sağlanır (Mojsiewicz-Pieńkowska 2015). Simetikon, yarı saydam, gri renkli, viskoz bir sıvıdır. Moleküler ağırlığı 14.000–21.000'dir. Etanol (%95) ve su içinde pratik olarak çözünmez. Sıvı faz benzen, kloroform ve eterde çözünür, fakat silikon dioksit bu çözücüler içinde bir kalıntı olarak kalır. Simetikon farmasötik üretim süreçlerinde köpük önleyici ajan olarak kullanılır (Sheskey ve ark. 2017).

2.7.3. Sodyum benzoat

Sodyum benzoat kokusuz veya hafif benzoin kokulu, beyaz renkli, granüler ya da kristalize yapıda, hafif higroskopik bir tozdur. pH 2-5 arasındaki çözeltilerde etkilidir, alkali pH'da hemen hemen etki göstermemektedir (Sheskey ve ark. 2017). Sodyum benzoat kozmetik ürünler, gıdalar ve farmasötik preparatlarda antimikrobik koruyucu olarak kullanılır. Oral preparatlarda %0,02-0,5, parenteral preparatlarda %0,5 ve kozmetik ürünlerde %0,1-0,5 oranında kullanımı tercih edilir. Sodyum benzoat, çözünürlüğünün fazla olması nedeniyle bazı durumlarda benzoik asit yerine de kullanılabilir ancak bazı uygulamalarda ürüne hoş olmayan bir tat verebilmektedir (Shaikh 2016)

Gram pozitif bakterilere, küflere ve mayalara karşı orta düzeyde aktiviteye sahiptir, ancak gram negatif bakterilere karşı daha az etkilidir (Ali ve ark. 2010).

2.7.4. Trisodyum sitrat dihidrat

Sodyum sitrat dihidrat olarak da bilinen trisodyum sitrat dihidrat, sitrik asitin tribazik bir tuzu olup, sitrik asitin yüksek saflıkta sodyum hidroksitle tamamen nötralizasyonunu takiben yapılan kristalizasyon işlemi sonucu elde edilmektedir. Beyaz

granüler kristal veya beyaz kristalimsi yapıda toz halde bulunan trisodyum sitrat dihidrat, kokusuz olup, tuzlu tada sahiptir. Trisodyum sitrat, suda kolaylıkla çözülmekte ve etanolde (%96) pratik olarak çözünmemektedir. Kimyasal formülü $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ olup, molekül ağırlığı 294,10'dur (Sheskey ve ark. 2017). Sodyum sitrat, sv1 dozaj şekillerinin pH ayarı için %0.3-2.0 konsantrasyonlarında kullanılır (Kalász ve Antal 2006).

2.7.5. Sitrik asit monohidrat

Sitrik asit, tatlandırıcı, tamponlayıcı, pH düzenleyici ve şelatlama ajanı dahil olmak üzere birçok farklı amaca yönelik kullanılmaktadır. Üç karboksilik grubu ve bir hidroksil grubuna sahip olması, birçok farklı uygulama için gereken işlevsellik ve çok yönlülüğü sağlar. Sitrik asit ticari olarak sitrik asit monohidrat olarak piyasada bulunmaktadır (Lambros ve ark. 2022).

Sitrik asit renksiz veya beyaz renkli, ortorombik yapılı kristaller halinde bulunur. Kokusuz, güçlü asidik tada sahiptir. Sitrik asit monohidrat %7,5-9,0 arasında, sitrik asit anhidrat ise %1'den az su içermektedir. Etanol ve suda çözünür, eterde nadiren çözünür. Sitrik asit, farmasötik formülasyonlarda antioksidan, tamponlayıcı ajan ve pH düzenleyici ve tat arttırıcı olarak kullanılır (Sheskey ve ark. 2017).

2.7.6. Gliserin

Gliserin renksiz, şeffaf, viskoz ve higroskopik bir sıvıdır. Şekerden yaklaşık 0,6 kat daha tatlıdır. Oral çözeltilerde çözücü, tatlandırıcı ajan, viskozite arttırıcı olarak kullanılabilir. Formülasyonlara %1-50 gibi yüksek oranlarda ilave edilebilen, suda ve alkolde çözünen inert bir yardımcı maddedir (Sheskey ve ark. 2017).

2.7.7. Ksantan zımkı

Ksantan zımkı glukoz ya da sakarozun *Xanthomonas campestris* bakterileriyle fermentasyonundan elde edilen bir polisakkarittir. Kimyasal formülü $(C_{35}H_{49}O_{29})_n$ olup, molekül ağırlığı yaklaşık 10.000'dir. Ksantan zımkı beyazımsı, kremi beyaz renkli, akıcı, ince tozdu. Ilık ve soğuk suda çözünür, eter ve etanolde pratik olarak çözünmez (Sheskey ve ark. 2017). Ksantan çözeltileri, düşük polimer konsantrasyonlarında bile oldukça viskozdu. Birçok endüstriyel uygulamada özellikle süspansiyonları ve emülsiyonu stabilize etmek için sıklıkla kullanılmaktadır. Geniş bir pH ve sıcaklık aralığında stabil olması, uygun viskoziteyi sağlaması, ayrıca nontoksik ve pek çok etken

madde ile geçimli olması nedeni tercih edilmektedir. Farmasötik preparatlarda viskozite arttırıcı, stabilizör ve süspansiyon ajanı olarak kullanılır (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

2.7.8. Sıvı Glukoz

Sıvı glukoz, başta dekstroz, dekstrin, fruktoz ve maltoz olmak üzere diğer oligosakkaridler ve polisakkaridler gibi çeşitli bileşiklerin sulu bir çözeltisidir. Gıda endüstrisinde yaygın olmakla birlikte ilaç üretiminde de kullanılmaktadır. Glikoz şurubu üretmek için en yaygın hammadde mısır nişastasıdır (Simpson ve ark. 2022). Sıvı glikoz nişastanın hidrolizi ile elde edilir ve en az %70 kuru madde içerir. Su ile karışabilen berrak, renksiz, viskoz, tatlı bir sıvıdır. Sıvı glukoz, dekstroz eşdeğeri (DE) olarak ifade edilen hidroliz derecesine göre dört kategoride sınıflandırılır: Tip I: 20-38 DE, Tip II: 38-58 DE, Tip III: 58-73 DE, Tip IV: >73 DE. Oral solüsyonlarda, şuruplarda ve süspansiyonlarda %20-60 oranında çözücü, kıvam arttırıcı ve tat verici olarak kullanılır (Sheskey ve ark. 2017).

2.7.9. Titanyum Dioksit

TiO₂ amorf, tatsız, kokusuz, higroskopik olmayan tozudur. Ortalama partikül büyüklüğü 1 µm'den küçüktür fakat genellikle 100 µm'lik agregatlar şeklinde bulunmaktadır. Süspansiyonlarda beyaz pigment ve opaklaştırıcı olarak kullanılmaktadır (Sheskey ve ark. 2017).

2.7.10. Kiraz Aroması

Formülasyonlarda ilacın oral yol ile alımının kolaylaştırılması için tat ve koku düzenleyici olarak kullanılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Posakonazol (Neuland)

Polisorbat 80 (Croda)

Simetikon (Basildon)

Sodyum Benzoat (Emerald)

Sodyum sitrat dihidrat (Jungbunzlauer)

Sitrik asit monohidrat (Jungbunzlauer)

Gliserin (Wilmar)

Ksantan zamkı (Chemopharma)

Sıvı glikoz - Mylose 641 pharma (Tereos)

Titanyum dioksit (Roha)

Kiraz aroması (Aromsa)

Sodyum dihidrojen fosfat (Sigma Aldrich)

Trietilamin HCl (Sigma Aldrich)

Sodyum Lauril Sülfat (J.T.Baker)

Fosforik asit (Isolab)

Asetonitril (Isolab)

Metanol (J.T. Baker)

Hidroklorik Asit (Isolab)

Formik asit (Merck)

Sodyum Klorür (Riedel de Haen)

Potasyum Klorür (Lachema)

Disodyum hidrojen fosfat (Merck)

Potasyum dihidrojen fosfat (Merck)

3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

3.1.2.1. Kullanılan Cihazlar

X-Işını Difraktometresi (Rigaku Miniflex Benchtop)

UV/VIS Spektrofotometre (Shimadzu Corporation UV-1800 240V model)

Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (TA Instruments)

Partikül Büyüklüğü Ölçüm Cihazı (Malvern Mastersizer 2000)

Partikül Büyüklüğü Ölçüm Cihazı (Sympatec Helos)

Viskozimetre (Brookfield DV 2 PRO)

Yoğunluk ölçüm cihazı (Anton paar DMA 38)

Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (Waters)

Ultra Saf Su Cihazı (Sartorius 611)

Ultrasonik banyo (Branson 8510)

Dissolüsyon Test Cihazı (Distek)

Manyetik karıştırıcı (Heidolph MR 3001)

Mekanik karıştırıcı (IKA)

Yüksek Devirli Homojenizatör (Ultraturrax-IKA)

Yaş öğütücü (DynoMill-WAB)

Terazi (Mettler Toledo)

pH metre (Wtw Inolab)

3.1.2.2. Kullanılan Malzemeler

HPLC Kolonu (Inertsil ODS-3V, 250x4.6mm, 5µm)

HPLC Kolonu (Inertsil-ODS-3V; 150 x 4.6mm, 5µm)

HPLC Kolonu (Zorbax-SB-C18; 150 x 4.6mm, 5µm)

Pik şekilli dissolüsyon testi çözünme kabı (PEAK™ Vessel-Vankel Ind.)

Enjektör ucu filtre (Sartorius)

HPLC vial ve kapakları (Waters)

UV spektrofotometre küveti (Starna-Scientific LTD)

3.1.2.3. Kullanılan Bilgisayar Programları

Microsoft Office Word 2010

Microsoft Office Excel 2010

Endnote 20

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Posakonazol'ün X- Işını Kırınımı Analizi

Posakonazol etken maddesi porselen havanda öğütüldü ve bu örnekten yaklaşık 1 g kadar alınarak örnek kabına geri yükleme tekniği kullanılarak yüklendi. Tablo 3-1'de belirtilen enstrümantal çalışma koşullarında X-Işını Difraktometresi (XRD - Rigaku Miniflex Benchtop Powder X-Ray Diffraction) kullanılarak referans/çalışma standart ve test örneğinin X-Işını Toz difraksiyon deseni kaydedildi.

Tablo 3-1: X-Işını Difraktometresi Çalışma Koşulları

Başlangıç açısı	2.00
Bitiş açısı	40.00
Örnekleme genişliği	0.01
Tarama hızı	2.00
kV	30
mA	15
Süre (dakika)	20

*kV: Kilovolt, mA: Miliamper

Posakonazol etken maddesine ait elde edilen difraktogram, etken maddeye ait EP 1021439 B1 numaralı patente belirtilen Form-I posakonazole ait difraktogram ile Microsoft Office Word programında karşılaştırıldı ve hammaddenin referans ürün ile aynı polimorf olup olmadığı değerlendirildi.

3.2.2. Posakonazol'ün Ultraviyole (UV) Spektrumu

Posakonazol analitik yönteminin belirlenmesi için posakonazolün en iyi absorbands verdiği UV dalga boyu araştırıldı. Posakonazolün metanoldeki çözeltisi (0,01 mg/ml) hazırlandı. UV spektrofotometresi (Shimadzu Corporation UV-1800 240V Model) kullanılarak hazırlanan posakonazol çözeltisinden ve çözücüden (metanol) alınan numuneler ile 200-400 nm arasındaki dalga boylarında tarama yapıldı ve spektrumları alındı. Elde edilen spektrumlar karşılaştırıldı ve çözücüden kaynaklı bir absorbands olup olmadığı kontrol edildi.

3.2.3. Posakonazol'ün Diferansiyel Tarama Kalorimetresi Analizi

Posakonazol etken maddesi (3-5 mg) Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) cihazının (TA Instruments DSC Refrigerated Cooling System) "pan" adı verilen küçük kaplarının içine yerleştirildi. Başlangıç sıcaklığı 30°C olarak ayarlandı, sıcaklık dakikada 10°C arttırılarak 300°C 'ye kadar yükseltildi ve termogram elde edildi.

3.2.4. Posakonazol'ün Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Analizi

150 mg posakonazol bir behere tartıldı, üzerine yaklaşık 78 mg (2 damla) Tween 80 ve 20 ml su eklenerek 2 dakika karıştırıldı ve sonikasyon işlemi (5 dakika) uygulandı. Hazırlanan bu örnek yavaşça örnek tankına aktarıldı. Malvern Mastersizer 2000 cihazı ile ortalama 3 döngü ve 10 saniye süre ile posakonazol etken maddesinin partikül büyüklüğü ve dağılımı ölçümü yapıldı.

3.2.5. Posakonazol ve Sodyum Benzoatın Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesi

Posakonazol ve sodyum benzoat miktar tayini için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi Neuland firmasından temin edilen posakonazole ait ilaç ana dosyasındaki miktar tayini yöntemi referans alınarak geliştirildi.

Miktar tayini analizlerinde posakonazol ve sodyum benzoat miktarlarının tayin edilmesi için kullanılan HPLC yönteminin detayları Tablo 3-2'de verilmiştir.

Tablo 3-2: HPLC Yöntemi Kromatografik Koşulları

Kolon	Inertsil ODS-3V, 250x4.6mm, 5µm
Dalga Boyu	228 nm
Enjeksiyon Hacmi:	20 µL
Akış Hızı	1.0 mL/dakika
Kolon Sıcaklığı	25 °C
Numune sıcaklığı	25 °C
Akış süresi:	20 dakika

Tampon çözelti hazırlanması: 9.8 g sodyum dihidrojen fosfat 7.5 g Trietilamin HCl, 1.875 g sodyum lauril sülfat ve 2.5 ml %85'lik fosforik asit 1000 mL distile suda çözündürüldü. Hazırlanan çözelti süzüldü ve ultrasonik banyo (Branson 8510) kullanılarak degaze edildi.

Hareketli fazın hazırlanması: Tampon çözeltisi ile asetonitril 50:50 oranında karıştırılarak hazırlandı.

3.2.5.1. Miktar Tayini Analizlerinde Standart ve Test Çözeltilerinin Hazırlanması

Numunelerde posakonazol ve sodyum benzoatın miktar tayini analizinde standart ve test çözeltileri aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı ve (3-1) nolu formül yardımı ile posakonazol (3-2) nolu formül ile sodyum benzoat miktarları hesaplandı.

Standart Çözeltinin Hazırlanması: Yaklaşık olarak 20 mg Posakonazol standardı 50 mL'lik bir balon jojeye tartıldı. Üzerine 37.5 mL asetonitril ilave edildi, ultrasonik banyoda 10 dakika bekletildi (*Stok çözeltisi*). Yaklaşık olarak 25 mg sodyum benzoat standardı 50 mL'lik balon jojeye tartıldı ve hacmine distile su ile tamamlandı. Bu çözeltden stok çözeltisine 2.0 mL alındı, hacmine distile su ile tamamlandı ve 0.45µm PTFE (Politetrafloroetilen) filtreden (Sartorius) süzüldü. ($C_{\text{sodyum Benzoat}} = 0.02\text{mg/ml}$, $C_{\text{Posakonazol}} = 0.4\text{ mg/ml}$)

Test Çözeltisinin Hazırlanması: 200 mL'lik balon jojeye 2.0 mL Posakonazol 40 mg/mL Oral Süspansiyon tartıldı. Üzerine 50 mL distile su ilave edilerek karıştırıldı

ve hacmine asetonitril ile tamamlandı. 0.45 µm PTFE filtreden süzüldü. ($C_{\text{Sodyum Benzoat}} = 0.02 \text{ mg/ml}$, $C_{\text{Posakonazol}} = 0.4 \text{ mg/ml}$)

Posakonazol için formül:

$$\text{mg Posakonazol /mL} = \frac{A_t}{A_s} \times \frac{W_s \times P \times (100 - S_f)}{50 \times 100} \times \frac{d \times 200}{W_t} \quad (3-1)$$

W_s = Standart çözeltideki Posakonazol'un mg olarak tartımı.

P = Standardın potensi

S_i = Standardın su içeriği

W_1 = Numune tartımı (g)

A_1 = Numune çözeltisinden elde edilen Sodyum benzoat pik alanı.

A_s = Standart çözeltiden elde edilen Sodyum benzoat pik alanı.

d = g/mL olarak süspansiyon yoğunluğu.

Sodyum benzoat için formül:

$$\text{mg Sodyum benzoat /mL} = \frac{A_t}{A_s} \times \frac{W_s \times 2 \times P \times (100 - S_f)}{50 \times 50 \times 100} \times \frac{d \times 200}{W_t} \quad (3-2)$$

W_s = Standart çözeltideki Sodyum Benzoat'ın mg olarak tartımı.

P = Standardın potensi

S_i = Standardın su içeriği

W_1 = Numune tartımı (g)

A_1 = Numune çözeltisinden elde edilen Sodyum benzoat pik alanı.

A_s = Standart çözeltiden elde edilen Sodyum benzoat pik alanı.

d = g/mL olarak süspansiyon yoğunluğu.

3.2.5.2. Sistem Uygunluk Çözeltisinin Hazırlanması

Standart çözelti ardışık olarak 6 kez enjekte edildi. Alanların ve alıkonma zamanlarının bağıl standart sapmaları hesaplandı. 20 µl hacminde standart çözelti, test çözeltisi ve sistem uygunluk çözeltisi HPLC enjeksiyonları yapıldı. Aşağıda belirtilen sistem uygunluk parametreleri kontrol edildi.

Sistem Uygunluk Parametreleri:

- Posakonazol ve sodyum benzoat'ın alan ve alıkonma zamanlarının bağıl standart sapma değerleri maximum 0.85 olmalıdır.
- Posakonazol ve sodyum benzoat'ın simetri faktörü 0.8-1.5 arasında olmalıdır.
- Posakonazol ve sodyum benzoat'ın teorik plaka sayısı minimum 2000 olmalıdır.

3.2.6. Posakonazol ve Sodyum Benzoat HPLC Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

Posakonazol ve sodyum benzoat miktar tayinini yönteminin validasyonu için ICH Q2 kılavuzu doğrultusunda doğrusalılık, seçicilik, doğruluk, kesinlik ve güvenilirlik çalışmaları yapıldı ("ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Step 5: Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures:Text and Methodology" 1995).

3.2.6.1. Doğrusallık

Doğrusallık çalışması bir konsantrasyon aralığındaki numune çözeltilerinde analit cevabının konsantrasyonla doğru orantılı olduğunun gösterilmesidir ("ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Step 5: Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures:Text and Methodology" 1995). Bu amaçla %10, %30, %50, %80, %100, %120 ve %150 konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerin konsantrasyonları Tablo 3-3'te verildi. Her bir çözelti cihaza 3 kere enjekte edildi. Eğim ve korelasyon katsayısı değerleri elde edildi. Değerlendirme "Korelasyon katsayısı (r) minimum 0.995 ve (r²) minimum 0.99 olmalıdır" kriterine göre gerçekleştirildi.

Tablo 3-3: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık Çalışması İçin Hazırlanan Çözelti Konsantrasyonları (Sodyum Benzoat ve Posakonazol)

Çözelti Seviyesi	Sodyum Benzoat Standart konsantrasyonu (mg/mL)	Posakonazol Standart konsantrasyonu (mg/mL)
%10	0.002008	0.039868
%30	0.006024	0.119603
%50	0.010040	0.199338
%80	0.016064	0.318941
%100	0.020080	0.398676
%120	0.024096	0.478412
%150	0.030120	0.598015

3.2.6.2. Seçicilik

Seçicilik var olması beklenen diğer bileşenlerin varlığında analiz edilen bileşenin açık bir şekilde belirlenmesi yeteneğidir ("ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Step 5: Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology" 1995). Seçiciliği değerlendirmek için sırasıyla hareketli faz, seyreltme çözeltisi ve plasebo çözeltisi enjekte edildi. Ardından plasebo ile standart çözelti karışımı, sadece standart çözeltisi, test çözeltisi ve son olarak sistem uygunluğu çözeltisi enjekte edildi. Enjekte edilen tüm çözeltilerin alıkonma zamanı kaydedildi. Değerlendirme "Sodyum Benzoat ve Posakonazol'un alıkonma zamanında başka bir pike rastlanmamalı" kriterine göre gerçekleştirildi.

Hareketli faz, standart çözeltisi ve test çözeltisi Bölüm 3.2.5.1.'de anlatıldığı şekilde hazırlandı. Diğer çözeltiler aşağıdaki yöntemlere göre hazırlandı.

Seyreltme Çözeltisi: Distile su ile asetonitril 25:75 oranında karıştırılarak hazırlandı.

Plasebo Çözeltisi: Sodyum benzoat ve posakonazol içermeyecek şekilde hazırlanan plasebo süspansiyondan enjektörle 2.0 mL çekilerek tartıldı ve 200 mL' lik balon jofeye aktarıldı. Üzerine 50 mL distile su ilave edildi ve hacmine asetonitril ile tamamlandı, 0.45 µm PTFE filtreden süzüldü ve viyallendi.

Plasebo + standart çözeltisi: Sodyum benzoat ve posakonazol içermeyecek şekilde hazırlanan plasebo süspansiyondan enjektörle 2.0 mL çekilerek tartıldı ve 200 mL' lik balon jöjeye aktarıldı. Üzerine 4 mg sodyum benzoat ve 80 mg posakonazol tartıldı. Üzerine 50 mL distile su ilave edilerek karıştırıldı ardından hacmine asetonitril ile tamamlandı. 0.45 µm PTFE filtreden süzüldü ve viyallendi. ($C_{\text{sodyum Benzoat}}=0.02\text{mg/ml}$, $C_{\text{Posakonazol}}=0.4\text{ mg/ml}$)

Sistem uygunluk çözeltisinin hazırlanışı: Bölüm 3.2.5.1'de verilen standart çözeltisi ile aynı şekilde hazırlandı. ($C_{\text{sodyum Benzoat}}=0.02\text{mg/ml}$, $C_{\text{Posakonazol}}=0.4\text{ mg/ml}$)

3.2.6.3. Doğruluk

Plasebo ile beraber %80, %100, % 120 konsantrasyonlarında 9 adet çözelti hazırlandı. Miktar tayini testindeki gibi çalışıldı. Bu çalışma ile Sodyum Benzoat ve Posakonazol'ün geri kazanımları ölçüldü. Numuneler aşağıda verilen yöntemlerle hazırlandı. Elde edilen sonuçlar “Sodyum benzoat için geri kazanım %95-105 aralığında olmalı” ve “Posakonazol için geri kazanım %95-105 aralığında olmalı” kriterine göre değerlendirildi.

% 80 konsantrasyonunda Test Çözeltisi hazırlanışı: Sodyum benzoat ve posakonazol içermeyecek şekilde hazırlanan plasebo süspansiyondan enjektörle 2.0 mL çekilerek tartıldı ve 200 mL' lik balon jöjeye aktarıldı. Üzerine 3.2 mg sodyum benzoat ve 64 mg posakonazol tartıldı. Üzerine 50 mL distile su ilave edildi ve karıştırıldı ardından hacmine asetonitril ile tamamlandı. Bu çözelti 0.45 µm PTFE filtreden süzüldü ve viyallendi. ($C_{\text{sodyum Benzoat}}=0.016\text{ mg/mL}$; $C_{\text{Posakonazol}}=0.32\text{ mg/mL}$)

% 100 konsantrasyonunda Test çözeltisi hazırlanışı: Sodyum benzoat ve posakonazol içermeyecek şekilde hazırlanan plasebo süspansiyondan enjektörle 2.0 mL çekilerek tartıldı ve 200 mL' lik balon jöjeye aktarıldı. Üzerine 4 mg sodyum benzoat ve 80 mg posakonazol tartıldı. Üzerine 50 mL distile su ilave edildi ve karıştırıldı hacmine asetonitril ile tamamlandı. Bu çözelti 0.45 µm PTFE filtreden süzüldü ve viyallendi. ($C_{\text{sodyum Benzoat}}=0.020\text{ mg/mL}$; $C_{\text{Posakonazol}}=0.40\text{ mg/mL}$)

% 120 konsantrasyonunda Test çözeltisi hazırlanışı: Sodyum benzoat ve posakonazol içermeyecek şekilde hazırlanan plasebo süspansiyondan enjektörle 2.0 mL çekilerek tartıldı ve 200 mL' lik balon jöjeye aktarıldı. Üzerine 4.8 mg sodyum benzoat ve 96 mg posakonazol tartıldı. Üzerine 50 mL distile su ilave edildi ve karıştırıldı

hacmine asetonitril ile tamamlandı. Bu çözelti 0.45 µm PTFE filtreden süzüldü ve viyallendi ($C_{\text{sodyum Benzoat}}=0.024 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{Posakonazol}}=0.48 \text{ mg/mL}$).

3.2.6.4. Kesinlik

Analitik yöntemin kesinliği, cihaz kesinliğinin değerlendirilmesi ile gerçekleştirildi. Cihaz kesinliği için; sodyum benzoat test ve standart çözeltisi ile posakonazol test ve standart çözeltisinin 6 ardışık enjeksiyonu ile yapıldı. Alıkonma zamanları kaydedildi ve pik alanları ölçüldü. Ölçümlerin standart sapma, bağıl standart sapma ve %95 güven aralığı sınırları hesaplandı. Değerlendirme “Sodyum Benzoat ve Posakonazol için Bağıl standart sapma %0.85'den fazla olmamalı” kriterine göre gerçekleştirildi.

3.2.6.5. Çözelti Stabilitesi

Standart ve test çözeltilerinde oda ve buzdolabı koşullarındaki stabilite süresi belirlendi. Bölüm 3.2.5.1’de anlatıldığı şekilde hazırlanan standart ve test çözeltilerinden belirli zaman aralıklarında (6, 24, 48 saat) örnekler alındı. Örneklerdeki posakonazol ve sodyum benzoat miktar tayini Eşitlik 3-1 ve Eşitlik 3-2 kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar başlangıç değeri ile kıyaslandı ve % değişim hesaplandı. Değerlendirme “Posakonazol ve Sodyum Benzoat için % değişim değerleri başlangıç değerinin %2'sinden fazla olmamalı” kriterine göre gerçekleştirildi.

3.2.7. Posakonazol HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yönteminin Geliştirilmesi

Posakonazol ilgili bileşikler tayini için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi Neuland firmasından temin edilen posakonazole ait ilaç ana dosyasındaki miktar tayini yöntemi referans alınarak geliştirildi.

Posakonazole ait ilgili bileşiklerin tayin edilmesi için kullanılan gradiyent analiz yöntemi kromatografik koşulları Tablo 3-4’te, zamana göre değişen mobil faz oranları Tablo 3-5’te verildi.

Tablo 3-4: HPLC Yöntemi Kromatografik Koşulları

Kolon	Inertsil ODS-3V, 250x4.6mm, 5µm
Dalga Boyu	260 nm
Enjeksiyon Hacmi:	10 µL
Akış Hızı	1.0 mL/dakika
Kolon Sıcaklığı	25 °C
Numune sıcaklığı	25 °C
Akış süresi:	45 dakika
Hareketli Faz A	Distile Su
Hareketli Faz B	Metanol

Tablo 3-5: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yönteminde Zamana Göre Değişen Mobil Faz Oranları

Zaman (dakika)	Hareketli Faz-A (%)	Hareketli Faz-B (%)
0	45	55
15	30	70
20	30	70
30	10	90
35	10	90
37	45	55
45	45	55

3.2.7.1. İlgili Bileşikler Tayini Analizlerinde Standart ve Test Çözeltilerinin Hazırlanması

Posakonazol ilgili bileşikler tayini analizinde standart ve test çözeltileri aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı ve % safsızlık değerleri (3-3) nolu formül yardımı ile hesaplandı. Limit; bilinmeyen her bir safsızlık için en fazla % 0.2, toplam safsızlık için ise en fazla %0.5 olarak belirlendi.

Standart Çözeltisinin Hazırlanması: Yaklaşık olarak 40 mg posakonazol standardı 200 mL'lik balon jöjeye tartıldı. Bir miktar seyreltme çözeltisi (Distile su:Metanol, 25:75 h/h) ilave edildi ve hacmine seyreltme çözeltisi ile tamamlandı. Bu stok çözelti seyreltme çözeltisi kullanılarak 0.002 mg/mL posakonazol konsantrasyonu

elde edilecek şekilde seyreltildi. Ardından 0,45 µm RC (Rejenere selüloz) filtreden (Sartorius) filtreden süzüldü ve viyallendi.

Test Çözeltisinin Hazırlanması: 100 mL' lik balon jojeye 2.5 mL Posakonazol 40 mg/mL Oral Süspansiyon tartıldı. Üzerine 25 mL su ilave edilip karıştırıldı ardından bir miktar metanol ilave edilip 15 dk ultrasonik banyoda bekletildi ve hacmine metanol ile tamamlandı. Bu çözelti 0.45 µm RC filtreden süzüldü ve viyallendi (Cposakonazol =1,0 mg/mL).

Safsızlıkların hesaplanması için formül;

$$\% \text{ Safsızlık} = \frac{A_t}{A_s} \times \frac{W_s \times 2 \times 2 \times P \times (100 - S_i)}{200 \times 20 \times 20 \times 100} \times \frac{100 \times d \times 1}{W_t \times 40} \quad (3-3)$$

- At: Test çözeltisinden elde edilen bilinmeyen Safsızlık alanı
 As: Standart çözeltisinden elde edilen Posakonazol alanı
 Ws: Standart tartımı (mg)
 P: Standardın potensi
 Si: Standardın su içeriği
 D: Numune yoğunluğu (g/mL)
 Wt: Numunenin ağırlığı (g)
 40: 1 mL süspansiyon içerisindeki Posakonazol içeriği (mg)

3.2.7.2. Sistem Uygunluk Çözeltisinin Hazırlanması (Formül Safsızlığı)

20 mg posakonazol 20 mL'lik balon jojeye tartıldı. Üzerine 2 mL formik asit ilave edilerek karıştırıldı ve hacmine seyreltme çözeltisi ile tamamlandı. Bu çözelti 0.45 µm RC filtreden süzüldü ve viyallendi.

Sistem uygunluk parametreleri:

- Standart çözeltisi enjeksiyonları arası alıkonma zamanı ve alanların Bağlı Standart sapma değeri %5.0' ten küçük olmalıdır.
- Sistem Uygunluk çözeltisinde Safsızlık Formyl ile Posakonazol piklerinin arasındaki ayrışma değeri minimum 1.5 olmalıdır

- Standart çözeltisindeki posakonazol pikinin simetri faktörü 0.8-1.5 arasında olmalıdır.
- Standart çözeltisindeki posakonazol pikinin teorik plaka sayısı 2000'den büyük olmalıdır.

3.2.8. Posakonazol HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yönteminin Validasyonu

Posakonazol ilgili bileşikler tayini yönteminin validasyonu için ICH Q2 kılavuzu doğrultusunda teşhis ve miktar tayini limiti, doğrusalılık, seçicilik, doğruluk, kesinlik ve güvenilirlik çalışmaları yapıldı.

3.2.8.1. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti (LOD & LOQ)

Bir analitik prosedürün teşhis limiti, bir numunedeki tespit edilebilen ancak kesin bir değer olarak nicelendirilmesi gerekmeyen en düşük analit miktarıdır. Miktar tayini limiti, bir numunedeki uygun kesinlik ve doğrulukla kantitatif olarak belirlenebilen en düşük analit miktarıdır ve özellikle safsızlıkların ve/veya bozunma ürünlerinin belirlenmesi için kullanılır ("ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Step 5: Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures:Text and Methodology" 1995).

İncelenen maddenin bilinen düşük konsantrasyonda bir çözeltisinin sinyali ile kör numunenin sinyalinin mukayese edilmesi sonucunda incelenen maddenin teşhis edilebilecek en düşük konsantrasyonu hesaplandı. İlgili cihaz yazılımı kullanılarak sinyal/gürültü oranı hesaplatıldı. Elde edilen sonuçlar dedeksiyon limiti için 3:1 sinyal/gürültü oranı, kantitasyon limiti için 10:1 sinyal/gürültü oranı kabul edilebilir oran olacak şekilde değerlendirildi. Kantitasyon limiti dedeksiyon limitinin üç katı olarak hesaplandı.

3.2.8.2. Doğrusallık

%LOQ- %120 konsantrasyon aralığında standart çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerin konsantrasyonları Tablo 3-6'da verildi. Her bir çözelti cihaza 3 kere enjekte edildi. Eğim ve korelasyon katsayısı değerleri elde edildi. Değerlendirme "Korelasyon katsayısı (r) minimum 0.995 ve (r²) minimum 0.99 olmalıdır" kriterine göre gerçekleştirildi.

Tablo 3-6: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık Çalışması İçin Hazırlanan Çözeltilerin Konsantrasyonları

Çözelti Seviyesi (%)	Posakonazol Konsantrasyonu (mg/mL)
4.2 (%LOQ)	0.000084
10	0.000200
30	0.000599
50	0.000999
80	0.001598
100	0.001997
120	0.002397

3.2.8.3. Seçicilik

Seçicilik çalışması için sırasıyla seyreltme çözeltisi, hareketli faz, plasebo çözeltisi ve test çözeltisi enjekte edildi. Ardından plasebo + limit konsantrasyonda hammadde çözeltisi, limit konsantrasyonda hammadde çözeltisi, test konsantrasyonunda hammadde çözeltisi ve sistem uygunluk çözeltisi enjekte edildi. Enjekte edilen tüm çözeltilerin alıkonma zamanı kaydedildi. Değerlendirme “Posakonazol ve ilgili safsızlıkların alıkonma zamanında başka pik görülmemeli” kriterine göre gerçekleştirildi.

Seyreltme çözeltisi, hareketli faz ve test çözeltisi Bölüm 3.2.7.1’de, sistem uygunluk çözeltisi Bölüm 3.2.7.2’de anlatıldığı şekilde hazırlandı.

Hammadde çözeltisi hazırlanışı (limit konsantrasyonda): Seyreltme çözeltisi kullanılarak 0,002 mg/ml konsantrasyonda posakonazol çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan çözelti 0.45 µm RC filtreden süzüldü ve viyallendi.

Hammadde çözeltisi hazırlanışı (test konsantrasyonunda): Seyreltme çözeltisi kullanılarak 1.0 mg/ml konsantrasyonda posakonazol çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan çözelti 0.45 µm RC filtreden süzüldü ve viyallendi.

Plasebo çözeltisinin hazırlanışı: 100 mL’lik balon jøjeye 100 mg Posakonazol’e eşdeğer plasebo tartıldı. Üzerine 25 mL su ilave edilip karıştırıldı ardından bir miktar

metanol ilave edilip 15 dk ultrasonik banyoda bekletildi ve hacmine metanol ile tamamlandı. Bu çözelti 0,45 µm RC filtreden süzüldü ve viyallendi.

Plasebo + hammadde çözeltisi hazırlanışı (limit konsantrasyonunda): Seyreltme çözeltisi kullanılarak 0,02 mg/ml posakonazol çözeltisi hazırlandı (*stok-1*). 100 mL'lik balon jojeye 100 mg Posakonazol'e eşdeğer plasebo tartıldı. Üzerine 25 mL su ilave edilerek karıştırıldı ardından 10.0 mL *stok-1* çözeltisinden ilave edildi ve hacmine metanol ile tamamlandı. Bu çözelti 0.45µm RC filtreden süzüldü ve viyallendi. ($C_{\text{Posakonazol}}=0.002 \text{ mg/mL}$)

3.2.8.4. Doğruluk

% LOQ, %80, %100 ve %120 konsantrasyonunda Posakonazol içeren numuneler (her konsnatrasyon için üç adet numune hazırlanarak) çalışıldı ve posakonazolün geri kazanımı ölçüldü. Değerlendirme “Posakonazol geri kazanımı %80 – 120 aralığında olmalı” kriterine göre gerçekleştirildi. Hazırlanan çözeltilerin konsantrasyonları Tablo 3-7’de verildi.

Tablo 3-7: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Doğruluk Çalışması İçin Hazırlanan Çözeltilerin Konsantrasyonları

Test	Teorik Posakonazol (%)	Test	Teorik Posakonazol (%)
LOQ%	0,00839	100%	0,19968
80%	0,15975	120%	0,23962

3.2.8.5. Kesinlik

Analitik yöntemin kesinliği, cihaz kesinliğinin değerlendirilmesi ile gerçekleştirildi. Cihaz kesinliği için; limit konsantrasyonda Posakonazol içeren standart çözeltinin en az 6 ardışık enjeksiyonu yapıldı. Alıkonma zamanları kaydedildi ve pik alanları ölçüldü. Ölçümlerin standart sapma, bağıl standart sapma ve %95 güven aralığı sınırları hesaplandı. Değerlendirme“Bağıl standart sapma %5'ten fazla olmamalı” kriterine göre gerçekleştirildi.

3.2.8.6. Çözelti stabilitesi

Standart çözeltilerin oda sıcaklığındaki stabilitesi belirlendi. Bölüm 3.2.7.1’de anlatıldığı şekilde %100'lük test çözeltisi ile hazırlanan standart çözeltilerinden belirli zaman aralıklarında (6, 24, 48 saat) örnekler alındı ve analiz edildi. Sonuçlar başlangıç değeri ile kıyaslandı ve % değişim hesaplandı. Değerlendirme “Değişim değerleri başlangıç değerinin %10.0'undan fazla olmamalı” kriterine göre gerçekleştirildi.

3.2.9. Posakonazol Çözünme Hızı Analiz Yönteminin Geliştirilmesi

Posakonazol süspansiyon formülasyonlarının çözünme hızı testine ait örneklerdeki posakonazol miktar tayini analizlerinde kullanılan yöntemin detayları Tablo 3-8’de verildi.

Tablo 3-8: HPLC Yöntemi Kromatografik Koşulları

Kolon	Zorbax-SB-C18; 150 x 4.6mm, 5µm
Dalga Boyu	260 nm
Enjeksiyon Hacmi:	20 µL
Akış Hızı	1.5 mL/dakika
Kolon Sıcaklığı	40 °C
Numune sıcaklığı	25 °C
Akış süresi:	6 dakika

Hareketli fazın hazırlanması: Distile su ile metanol 25:75 oranında karıştırılarak hazırlandı.

0.1N Hidroklorik asit çözeltisi (çözünme ortamı) hazırlanması: İçerisinde bir miktar distile su bulunan balona 8,3 mL %35-37'lik Hidroklorik asit alındı, 1000mL'e distile su ile seyreltildi.

3.2.9.1. Çözünme Hızı Analizlerinde Standart ve Test Çözeltilerinin Hazırlanması

Numunelerde posakonazol çözünme hızı analizi için standart ve test çözeltileri aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı ve (3-4) nolu formül yardımı ile % çözünen posakonazol miktarları hesaplandı.

Standart Çözelti hazırlanması: Yaklaşık olarak 22,2 mg Posakonazol standardı 100 mL'lik balon jojeye tartıldı. Üzerine 50 mL metanol ilave edilerek karıştırıldı ve hacmine çözünme ortamı ile tamamlandı. Bu çözeltinin 5,0 mL'si 25 mL'lik balon jojeye alındı ve hacmine çözünme ortamı ile tamamlandı. Bu çözelti 0.45 µm PET (Polyester) filtreden (Sartorius) süzüldü ve viyallendi ($C_{\text{Posakonazol}}$: 0,044 mg/ml).

Test Çözelti hazırlanması: 6 kabın her birine 900 mL çözünme ortamı dolduruldu. $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5$ 'de sabit ısıda tutuldu ve hız 50 rpm'e ayarlandı. Kesin olarak tartılmış 10 mL Posakonazol 40 mg/ml Oral Süspansiyon numunesi pedallar dururken, yavaşça sağa sola hareket ettirilerek her bir çözünme kabına aktarıldı. Pedallar çalıştırıldı, 30 dakika sonra ortamdan 10 mL numune alındı. Bu çözelti bekletilmeden 0.45 µm PET filtreden süzüldü. Süzütüden 20 mL'lik balon jojeye 2.0 mL alındı, hacmine çözünme ortamı ile tamamlandı ve viyallendi ($C_{\text{posakonazol}}$: 0,044 mg/ml).

$$\% \text{ Çözünme} = \frac{A_t}{A_s} \times \frac{W_s \times P \times 5 \times (100 - S_i)}{100 \times 100 \times 25} \times \frac{d \times 900 \times 20 \times 1}{W_t \times 40 \times 2} \times 100 \quad (3-4)$$

- A_t : Test çözeltisinden elde edilen Posakonazol alanı
 A_s : Standart çözeltisinden elde edilen Posakonazol alanı
 W_s : Standart tartımı (mg)
 P : Standardın potensi
 S_i : Standardın su içeriği
 W_t : Numunenin ağırlığı (g)
 d : Numune yoğunluğu (g/ml)
 40 : 1 mL süspansiyon içerisindeki posakonazol içeriği (mg)

3.2.9.2. Sistem Uygunluk Çözeltisinin Hazırlanması

Sistem uygunluğu standart çözeltinin 6 kez ard arda enjeksiyonu ile gerçekleştirildi. Aşağıda belirtilen sistem uygunluk parametreleri kontrol edildi.

Sistem Uygunluk Parametreleri:

- Enjeksiyonlar arası alıkonma zamanı ve alanların Bağlı Standart sapma değeri % 0,85' den küçük olmalıdır.

- Simetri faktörü 0,8-1,5 arasında olmalıdır.
- Teorik plaka sayısı 2000'den büyük olmalıdır.

3.2.10. Posakonazol HPLC Çözünme Hızı Analiz Yönteminin Validasyonu

Posakonazol çözünme hızı analiz yönteminin validasyonu için ICH Q2 kılavuzu doğrultusunda doğruluk, seçicilik, kesinlik, doğruluk ve güvenilirlik çalışmaları yapıldı.

3.2.10.1. Doğrusallık

Doğrusallık çalışması için Tablo 3-9'da belirtilen konsantrasyon aralığında standart çözeltiler hazırlandı. Her bir çözelti cihaza 3'er kere enjekte edildi. Eğim ve korelasyon katsayısı elde edildi. Değerlendirme "Korelasyon katsayısı (r) minimum 0.995 ve (r^2) minimum 0.99 olmalı" kriterine göre gerçekleştirildi.

Tablo 3-9: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Doğrusallık Çalışması İçin Hazırlanan Çözelti Konsantrasyonları

Çözelti Seviyesi	Posakonazol Konsantrasyonu (mg/mL)	Çözelti Seviyesi	Posakonazol Konsantrasyonu (mg/mL)
%10	0.00447	%80	0.03573
%30	0.01340	%100	0.04466
%50	0.02233	%120	0.05359

3.2.10.2. Seçicilik

Seçicilik çalışması için öncelikle hareketli faz, çözünme ortamı, plasebo çözeltisi ve test çözeltisi enjekte edildi. Ardından standart + plasebo çözeltisi, standart çözeltisi ve sistem uygunluk çözeltisi enjekte edildi. Hareketli faz, çözünme ortamı, standart çözeltisi ve test çözeltisi Bölüm 3.2.9.1'de anlatıldığı şekilde ve çözünme testi koşullarında hazırlandı. Diğer çözeltiler aşağıdaki yöntemlere göre hazırlandı. Enjekte edilen tüm çözeltilerin alıkonma zamanı ölçülerek kaydedildi. Değerlendirme "Sodyum Benzoat ve Posakonazol'un alıkonma zamanında başka bir pike rastlanmamalı" kriterlerine göre gerçekleştirildi.

Plasebo çözeltisinin hazırlanışı: 1000 mL'lik balon jøjeye 10 mL Posakonazol 40 mg/mL Oral süspansiyona eşdeğer plasebo tartıldı. Üzerine 900 mL çözünme ortamı ilave edilerek karıştırıldı. Bu çözelti 0.45 µm PET (Polyester) filtreden süzöldü ve 1/10 oranında seyreltilerek viyallendi.

Standart + Plasebo çözeltisinin hazırlanışı: 1000 mL'lik balon jøjeye 10 mL Posakonazol 40 mg/mL Oral süspansiyona eşdeğer plasebo ve 400 mg posakonazol tartıldı. Üzerine 900 mL çözünme ortamı ilave edilerek karıştırıldı. Bu çözelti 0.45 µm PET filtreden süzöldü ve 1/10 oranında seyreltilerek viyallendi ($C_{\text{posakonazol}} = 0.044$ mg/mL).

Sistem uygunluk çözeltisinin hazırlanışı: Yaklaşık olarak 22,2 mg Posakonazol standardı 100 mL'lik balon jøjeye tartıldı. Üzerine 50 mL metanol ilave edilerek karıştırıldı. Hacmine çözünme ortamı ile tamamlandı 1/5 oranında seyreltildi. Bu çözelti 0.45 µm PET filtreden süzöldü ve viyallendi ($C_{\text{Posakonazol}} = 0.044$ mg/mL).

3.2.10.3. Doğruluk

Yapılan çözünme hızı profili çalışmalarında Posakonazol 40 mg/mL Oral Süspansiyon'un 5. dakikadaki çözünürlüğü yaklaşık olarak % 39 bulundu. Bu nedenle geri kazanım alt seviyesi % 20 olarak alındı. Plasebo ile beraber tartılarak %20, %80, %100 ve %120 konsantrasyonlarda 12 adet posakonazol çözeltisi hazırlandı ve sisteme enjekte edildi. Hazırlanan çözeltilerin konsantrasyonları Tablo 3-10'da verildi. Bu çalışma ile posakonazolün geri kazanım değerleri hesaplandı. Değerlendirme "Posakonazol geri kazanımı %97-103 aralığında olmalı" kriterine göre gerçekleştirildi.

Numuneler aşağıda verilen şekilde hazırlandı.

% 20'lik geri kazanım numunesinin hazırlanışı: 1000 mL'lik balon jøjeye 10 mL plasebo süspansiyon ve 80 mg posakonazol tartıldı. Üzerine 900 mL çözünme ortamı ilave edilerek karıştırıldı. Bu çözelti 0,45 µm PET filtreden süzöldü ve 1/10 oranında seyreltilerek viyallendi ($C_{\text{Posakonazol}} = 0.0088$ mg/mL).

% 80'lik geri kazanım numunesinin hazırlanışı: 1000 mL'lik balon jøjeye 10 mL plasebo süspansiyon ve 320 mg posakonazol tartıldı. Üzerine 900 mL çözünme ortamı ilave edilerek karıştırıldı. Bu çözelti 0,45 µm PET filtreden süzöldü ve 1/10 oranında seyreltilerek viyallendi ($C_{\text{Posakonazol}} = 0.036$ mg/mL).

% 100'lük geri kazanım numunesinin hazırlanışı: 1000 mL'lik balon jöjeye 10 mL plasebo süspansiyon ve 400 mg posakonazol tartıldı. Üzerine 900 mL çözünme ortamı ilave edilerek karıştırıldı. Bu çözelti 0,45 µm PET filtreden süzüldü ve 1/10 oranında seyreltilerek viyallendi ($C_{\text{Posakonazol}} = 0.044 \text{ mg/mL}$).

% 120'lik geri kazanım numunesinin hazırlanışı: 1000 mL'lik balon jöjeye 10 mL plasebo süspansiyon ve 480 mg posakonazol tartıldı. Üzerine 900 mL çözünme ortamı ilave edilerek karıştırıldı. Bu çözelti 0.45 µm PET filtreden süzüldü ve 1/10 oranında seyreltilerek viyallendi ($C_{\text{Posakonazol}} = 0.053 \text{ mg/mL}$).

Tablo 3-10: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Doğruluk Çalışması İçin Hazırlanan Çözelti Konsantrasyonları

Posakonazol	Hazırlanan konsantrasyon (mg/mL)	Posakonazol	Hazırlanan konsantrasyon (mg/mL)
	0.008871		0.044311
%20	0.008910	% 100	0.044306
	0.008840		0.044187
%80	0.035425	%120	0.053057
	0.035451		0.053060
	0.035389		0.053027

3.2.10.4. Kesinlik

Analitik yöntemin kesinliği, cihaz kesinliğinin değerlendirilmesi ile gerçekleştirildi. Cihaz kesinliği için; test ve standart çözeltisinin 6 ardışık enjeksiyonu yapıldı. Alıkonma zamanları kaydedildi ve pik alanları ölçüldü. Ölçümlerin standart sapma, bağıl standart sapma ve %95 güven aralığı sınırları hesaplandı. Değerlendirme “Bağıl standart sapma %0.85'ten fazla olmamalı” kriterine göre gerçekleştirildi.

3.2.10.5. Çözelti stabilitesi

Standart ve test çözeltilerinde oda koşullarındaki stabilite süresi belirlendi. Bölüm 3.2.9.1'de anlatıldığı şekilde hazırlanan standart ve test çözeltilerinden belirli zaman aralıklarında (başlangıç, 6, 24, 48 saat) örnekler alındı. Örneklerdeki posakonazol miktarı Eşitlik 3-4 kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar başlangıç değeri ile

kıyaslandı ve % değişim hesaplandı. Değerlendirme ‘‘Posakonazol ve Sodyum Benzoat için % değişim değerleri başlangıç değerinin %2'sinden fazla olmamalı’’ kriterine göre gerçekleştirildi.

3.2.11. Posakonazolün Farklı Ortamlardaki znrlk alışması

Posakonazol etken maddesi ile n formülasyon çalışmalarına başlanmadan önce, gastrointestinal sistem fizyolojik pH'larını taklit eden (0,1 N HCl, pH 4,5 asetat, pH 6,8 sitrofosfat) tampon çözeltileri ile ve posakonazol süspansiyon dozaj formu için FDA tarafınan nerilen ("FDA Dissolution Methods Database") znme ortamında (%0.3 sodyum lauril sülfat içeren saf su) ve ayrıca %0.4 sodyum lauril sülfat (SLS) içeren saf suda posakonazolün çözünürlüğü incelendi.

Bu amaçla, hazırlanan ortamlardan 25 ml alınarak üzerine yavaş yavaş hammadde eklendi ve ultrasonik banyoda tutularak tamamen çözünmesi sağlandı. Doygun zelti elde edilene dek işleme devam edildi. Elde edilen doygun çözelti karıştırılarak bekletildi ve numune alındı. Alınan numune szld, analiz etmeye uygun konsantrasyona seyreltildi ve valide edilmiş metot ile miktar tayini yapıldı. Elde edilen değerlere göre bu ortamlarda posakonazol için sink koşulun sağlanıp sağlanmadığı hesaplandı.

3.2.12. Çözünme Hızı Testleri için Ayırt Edici Yöntem Geliştirilmesi

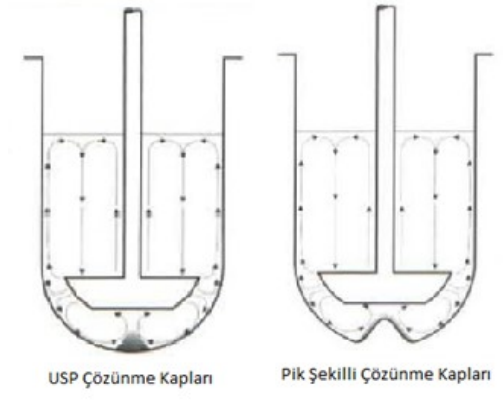
Posakonazolün süspansiyon formülasyonlarından çözünme hızının değerlendirilmesi amacıyla ayırt edici bir yöntem geliştirilmesi için çözünme hızı test koşulları ve çözünme ortamının içeriğinin belirlenmesi adına aşağıda belirtilen çalışmalar yapıldı.

3.2.12.1. Çözünme Hızı Test Koşullarının Belirlenmesi

Çözünme hızı test koşullarının belirlenmesi için referans rn Noxafil Oral Süspansiyon ile çalışıldı. Süspansiyon formülasyonları için uygun olan USP II (Palet) yöntemi ve sıcaklığı $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'de tutulan 900 mL çözünme ortamı kullanıldı. Numune alma zamanları 5, 10, 15, 20, 30, 45 ve 60. dakikalar olarak belirlendi. Her zaman noktası için çözünme ortamından 5 mL numune alındı, alınan numunler 0,45 μm PET filtreden szld.

Posakonazol süspansiyon formülasyonunda sıvı glikoz gibi yüksek dansiteli ekspiyanlar kullanılacağı için çözünme hızı sonuçları arasında oluşabilecek varyasyonu

değerlendirmek adına farklı palet dönüş hızları (25 rpm ve 50 rpm) ve farklı çözünme kapları (USP çözünme kabı ve Pik şeklinde çözünme kabı) ile çalışıldı. Kullanılan USP çözünme kabı ve pik şekilli çözünme kabının görüntüsü Şekil 3-1’de verildi. Çalışmalar 0,1 N HCl tampon çözeltisinde ve %0,4 SLS içeren saf suda gerçekleştirildi. Yapılan çalışmalara ait bilgiler Tablo 3-11’de verildi.



Şekil 3- 1: USP çözünme kabı ve Pik şekilli çözünme kabı görüntüleri

Tablo 3-11: Referans ürün ile yapılan çözünme hızı analizlerinde kullanılan farklı test koşulları

Denenen Ortam	Kullanılan Çözünme Kabı	Karıştırıcı hızı
%0,4 SLS içeren Saf Su	USP çözünme kabı	25 rpm
%0,4 SLS içeren Saf Su	USP çözünme kabı	50rpm
%0,4 SLS içeren Saf Su	Pik şeklinde çözünme kabı	50rpm
0,1 N HCl tamponu	Pik şeklinde çözünme kabı	25rpm
0,1 N HCl tamponu	Pik şeklinde çözünme kabı	50rpm

3.2.12.2. Çözünme Ortamının Belirlenmesi

Çözünme hızı test koşullarının belirlenmesinin ardından Tablo 3-12’de verilen ortamlarda referans ürün ile çözünme hızı analizi yapılarak ayırt edici çözünme ortamları belirlendi. Ortamlar seçilirken Bölüm 3.2.11’de gerçekleştirilen çözünürlük çalışması verileri ile posakonazol ve posakonazol gibi zayıf bazik yapıları moleküller için

çözünme ortamı önerileri içeren literatürlerden de yararlandı (J. B. Dressman 2000; J. B. Dressman ve Reppas 2000). Tüm analizlerin sonuçları değerlendirilerek ayırt edici çözünme ortamları belirlendi.

Tablo 3-12: Ayırt çözünme ortamının belirlenmesi için çalışma yapılan ortamlar

Referan Ürün ile Çözünme Hızı Analizi Yapılan Ortamların Listesi

%0.1 SLS içeren pH 4,5 asetat	0.1 N HCl
%0.2 SLS içeren pH 4,5 asetat	0.01 N HCl
%0.3 SLS içeren pH 4,5 asetat	0.05 N HCl
%0.1 SLS içeren pH 6,8 sitrofosfat	0.01 N HCl + %0,2 NaCl + %0.01 Triton X 100
%0.2 SLS içeren pH 6,8 sitrofosfat	0.05 N HCl + %0,2 NaCl + %0,01 Triton X 100
%0.3 SLS içeren pH 6,8 sitrofosfat	FaSSGF
%0.4 SLS içeren saf su	FeSSif

*FaSSGF:Fasted State Simulated Gastric Fluid, FeSSIF: Fed State Simulated İntestinal Fluid

3.2.13. Posakonazol Süspansiyon Formülasyonlarının Spesifikasyonlarının Belirlenmesi

Geliştirilecek formülasyonların referans ürün ile aynı performansı sağladığının gösterilebilmesi için öncelikle bitmiş ürüne yapılacak analizler belirlendi. ICH Q6A kılavuzu ve Avrupa Farmakopesi de dikkate alınarak belirlenen analiz yöntemleri aşağıda verildi ("ICH Topic Q 6 A Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances " 2000; "Pharmaceutical technical procedures" 2008).

3.2.13.1. Viskozite Analizi

Ölçüm yapılacak süspansiyondan cam beher içine 500 ml alınarak Brookfield DV 2 PRO tipi viskozimetrenin su banyosuna yerleştirildi. Ürün sıcaklığı 25°C'ye geldiğinde RV 2 spindle kullanılarak, 10 rpm hızda viskozite ölçümü gerçekleştirildi.

3.2.13.2. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Analizleri

Sympatec Helos Partikül Boyutu ölçümü cihazının haznesine uygun miktarda su koyuldu. Cihaz içinde ölçüm parametreleri ayarlandı. Cihaz çalıştırılarak hazne içindeki karıştırıcının çalışması sağlandı. Karışmakta olan suya ölçüm yapılacak olan süspansiyondan uygun konsantrasyon elde edilene kadar damla damla ilave edilerek

disperse olması sağlandı. Uygun konsantrasyon sağlandıktan sonra ölçüm cihaz tarafından otomatik olarak gerçekleştirildi.

3.2.13.3. pH ve Yoğunluk Analizi

Ölçüm yapılacak süspansiyon uygun bir behere alındı ve kalibre edilmiş pH metre (Wtw Inolab) ile direkt ölçüm yapıldı.

Ölçüm yapılacak süspansiyon enjektör yardımıyla Anton paar DMA 38 Density meter cihazına enjekte edildi. Enjeksiyon esnasında cam hücre içinde hava kabarcığı olmamasına dikkat edildi. Numune hücreye doldurulduktan sonra bir müddet sistemin dengeye gelmesi beklendi, ardından sabitlenen yoğunluk değeri dijital ekranda g/cm³ cinsinden okundu.

3.2.13.4. Etken madde Miktar Tayini Analizi

Posakonazol süspansiyonların miktar tayini HPLC (Waters) cihazı kullanılarak Bölüm 3.2.5.1’de anlatılan valide edilmiş HPLC yöntemi ile gerçekleştirildi.

3.2.13.5. Çözünme Hızı Testleri

Posakonazol süspansiyonların çözünme hızı analizleri HPLC (Waters) cihazı kullanılarak Bölüm 3.2.9.1’de anlatılan valide edilmiş yöntemle gerçekleştirildi ve çözünme hızı profilleri çizildi. Moore ve Flanner tarafından çözünme profillerinin karşılaştırılması amacı ile hazırlanan benzerlik faktörü (f₂) kullanılarak referans ürün ile analiz edilen serilerin çözünme profilleri karşılaştırıldı. f₂ benzerlik faktörü hesaplaması için kullanılan formül Eşitlik 3-5’te verildi (Eryol ve Öner 2005). Elde edilen sonuçlar FDA Guidance for Industry Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms kılavuzu doğrultusunda değerlendirildi ("Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms" 1997). Bu kılavuza göre f₂ değeri 50-100 arasında olan serilerin in vitro çözünme hızı performansı referans ürüne benzer olarak değerlendirildi.

$$f_2 = 50 \log_{10} \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n w_i (R_i - T_i)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\} \quad (3-5)$$

Yukarıda yöntemleri verilen test ve analizler önce referans ürüne uygulandı. Referans ürünün sonuçları değerlendirilerek geliştirilecek formülasyon için bitmiş ürün

spesifikasyonları belirlendi. Ardından kritik spesifikasyonlar ve kritik spesifikasyonlara doğrudan etki eden kritik formülasyon bileşenleri ile kritik prosesler belirlendi.

3.2.14. Posakonazol Süspansiyon Formülasyonunun Optimizasyon Çalışmaları

Posakonazol süspansiyon formülasyonunun optimizasyonu çalışmalarında pazarda posakonazol içeren referans ürün “Noxafil 40 mg/ml Oral Süspansiyon”un (Merck Sharp & Dohme) kalitatif bileşimi dikkate alındı ve söz konusu ürene ait patent (WO 02/080678 A1) de incelenerek birim formül belirlendi. Genel süspansiyon üretim basamakları da göz önüne alınarak üretim akış şeması belirlendi.

Süspansiyon formülasyonlarının kritik üretim proseslerinden biri olan posakonazolün homojenizasyonu işlemi için yüksek devirli homojenizasyon (Ultraturrax cihazı) ve boncukla öğütme/media milling (Dyno-Mill cihazı) prensibine dayalı iki farklı yöntem kullanıldı. Formülasyon optimizasyonunda iki farklı cihaz ile ilgili yöntem parametrelerinin bitmiş ürün spesifikasyonlarına olan etkisi değerlendirildi.

3.2.15. Yüksek Devirli Homojenizasyon (Ultraturrax) Yöntemi ile Posakonazol Süspansiyon Formülasyonlarının Geliştirilmesi

3.2.15.1. Süspansiyon Ajanının Miktarı ve Dispersiyon Hazırlama Yönteminin Belirlenmesi

Posakonazol süspansiyon formülasyonlarında süspansiyon ajanı olarak kullanılan ksantan zatkının farklı miktarları (1.50 mg/mL, 2.50 mg/mL, 3.00 mg/mL) ve süspansiyon ajanının şişirilmesi ve ürüne eklenmesi için uygulanan iki farklı işlem denendi.

Süspansiyon ajanının şişirilmesi için kullanılan birinci yöntemde; süspansiyon ajanı uygun üretim basamağında toz halde ürün içerisine eklendi ve mekanik karıştırıcı ile yüksek devirde 1 saat karıştırılarak şişirildi. İkinci yöntemde ise; ayrı bir kaptaki sadece su içerisinde süspansiyon ajanı 30 dakika bekletilerek şişirildi, şişme sonrasında homojen bir görüntü elde edilene kadar mekanik karıştırıcı ile yüksek devirde 30 dakika karıştırıldı ve ürüne eklendi. Süspansiyon ajanının miktarını belirlemek ve iki farklı şişirme yönteminin etkisini değerlendirmek için hazırlanan formülasyonların bileşimi Tablo 3-13'te verildi.

Tablo 3-13: Süspansiyon ajanının miktarının ve dispersiyon hazırlama yönteminin belirlenmesi çalışmaları için hazırlanan formülasyonların bileşimleri

Seri Numarası	F-01	F-02	F-03	F-04
Şişirme Yöntemi		Birinci yöntem		İkinci Yöntem
Posakonazol (mg/mL)	40,00	40,00	40,00	40,00
Polisorbat 80 (mg/mL)	10,00	10,00	10,00	10,00
Simetikon (mg/mL)	3,00	3,00	3,00	3,00
Sodyum Benzoat (mg/mL)	2,00	2,00	2,00	2,00
Sodyum sitrat dihidrat (mg/mL)	0,60	0,60	0,60	0,60
Sitrik asit monohidrat (mg/mL)	1,50	1,50	1,50	1,50
Gliserol (mg/mL)	100,00	100,00	100,00	100,00
Ksantan zamkı (mg/mL)	3,00	2,50	1,50	2,50
Sıvı glikoz (mg/mL)	350,00	350,00	350,00	350,00
Titanyum dioksit (mg/mL)	4,00	4,00	4,00	4,00
Kiraz Aroması (mg/mL)	5,00	5,00	5,00	5,00

Üretilen tüm formülasyonlar üzerinde viskozite analizi, partikül büyüklüğü ve dağılımı analizi, pH ve yoğunluk analizi ile etken madde miktar tayini analizleri Bölüm 3.2.13'te verilen yöntemlerle gerçekleştirildi. Süspansiyon ajanı şişirme yönteminin, ürün bekledikçe görülen viskozite artışı üzerindeki etkisini değerlendirmek için, hazırlanan formülasyonlara üretim tarihinden 3 ay sonra tekrar viskozite analizi yapıldı. Elde edilen sonuçlar belirlenen spesifikasyonlara göre değerlendirildi. Tüm spesifikasyonlara uyan serilere 0,1 N HCl tamponu ve %0,4 SLS içeren saf su ortamında çözünme hızı analizi yapıldı, çözünme hızı profilleri çizildi ve f2 benzerlik faktörü hesaplandı. Ksantan zamkı miktarı ile şişirilmesi ve ürüne eklenmesi için uygun yöntem belirlendi.

3.2.15.2. Islatma Ajanının Miktarının Belirlenmesi

Kritik formülasyon bileşenlerinden olan ıslatma ajanının miktarını belirlemek için Bölüm 3.2.15.1'de en uygun sonuçları veren formül (F-04)'deki Polisorbat 80 konsantrasyonuna (10 mg/mL) ek olarak farklı konsantrasyonlarda Polisorbat 80 (5 mg/mL, 20 mg/mL) içeren süspansiyon formülasyonları hazırlandı. Hazırlanan formülasyonların bileşimi Tablo 3-14'te verildi.

Tablo 3-14: İslatma ajanının miktarının belirlenmesi çalışmaları için hazırlanan formülasyonların bileşimleri

Seri Numarası	F-05	F-06
Posakonazol (mg/mL)	40,00	40,00
Polisorbat 80 (mg/mL)	5,00	20,00
Simetikon (mg/mL)	3,00	3,00
Sodyum Benzoat (mg/mL)	2,00	2,00
Sodyum sitrat dihidrat (mg/mL)	0,60	0,60
Sitrik asit monohidrat (mg/mL)	1,50	1,50
Gliserol (mg/mL)	100,00	100,00
Ksantan zamkı (mg/mL)	2,50	2,50
Sıvı glikoz (mg/mL)	350,00	350,00
Titanyum dioksit (mg/mL)	4,00	4,00
Kiraz Aroması (mg/mL)	5,00	5,00

Üretilen tüm formülasyonlar üzerinde viskozite analizi, partikül büyüklüğü ve dağılımı analizi, pH ve yoğunluk analizi ile etken madde miktar tayini analizleri Bölüm 3.2.13'te verilen yöntemlerle gerçekleştirildi. İslatma ajanı miktarının, ürün bekledikçe görülen viskozite artışı üzerindeki etkisini değerlendirmek için, hazırlanan formülasyonlara üretim tarihinden 3 ay sonra tekrar viskozite analizi yapıldı. Elde edilen sonuçlar belirlenen spesifikasyonlara göre değerlendirildi. Tüm spesifikasyonlara uyan serilere 0,1 N HCl tamponu ve %0,4 SLS içeren saf su ortamında çözünme hızı analizi yapıldı, çözünme hızı profilleri çizildi ve f2 benzerlik faktörü hesaplandı. Bölüm 3.2.15.1'de en uygun sonuçları veren formül ile karşılaştırılarak optimum Polisorbat 80 konsantrasyonu belirlendi.

3.2.15.3. Yüksek Devirli Homojenizatör (Ultraturrax) Karıştırma Hızı Parametresinin belirlenmesi

Kritik formülasyon bileşenlerinin miktarının ve kritik proseslerden biri olan süspansiyon ajanının şişirilme ve ürüne eklenme yönteminin belirlenmesinin ardından yüksek devirli homojenizatör (Ultraturrax) ile farklı karıştırma hızlarında çalışılarak formülasyonlar hazırlandı. Bölüm 3.2.15.2'de en uygun sonuçları veren formülün (F-04) hazırlanmasında kullanılan Ultraturrax hızına (10.000 rpm) ek olarak farklı hızlarda

(7.500 rpm, 15.000 rpm) çalışılarak üretilen formülasyonların bileşimi Tablo 3-15'te verildi.

Üretilen tüm formülasyonlar üzerinde viskozite analizi, partikül büyüklüğü ve dağılımı analizi, pH ve yoğunluk analizi ile etken madde miktar tayini analizleri Bölüm 3.2.13'te verilen yöntemlerle gerçekleştirildi. Ultraturax hızının, ürün bekledikçe görülen viskozite artışı üzerindeki etkisini değerlendirmek için, hazırlanan formülasyonlara üretim tarihinden 3 ay sonra tekrar viskozite analizi yapıldı. Elde edilen sonuçlar belirlenen spesifikasyonlara göre değerlendirildi. Tüm spesifikasyonlara uyan serilere 0,1 N HCl tamponu ve %0,4 SLS içeren saf su ortamında çözünme hızı analizi yapıldı, çözünme hızı profilleri çizildi ve f2 benzerlik faktörü hesaplandı. Bölüm 3.2.15.2'de en uygun sonuçları veren formül ile karşılaştırılarak Ultraturax hızı belirlendi.

Tablo 3-15: Yüksek Devirli Homojenizatör (Ultraturax) karıştırma hızı parametresinin belirlenmesi çalışmaları için hazırlanan formülasyonların bileşimleri

Seri Numarası	F-07	F-08
Ultraturax Hızı (rpm)	15.000	7.500
Posakonazol (mg/mL)	40,00	40,00
Polisorbat 80 (mg/mL)	10,00	10,00
Simetikon (mg/mL)	3,00	3,00
Sodyum Benzoat (mg/mL)	2,00	2,00
Sodyum sitrat dihidrat (mg/mL)	0,60	0,60
Sitrik asit monohidrat (mg/mL)	1,50	1,50
Gliserol (mg/mL)	100,00	100,00
Ksantan zamkı (mg/mL)	2,50	2,50
Sıvı glikoz (mg/mL)	350,00	350,00
Titanyum dioksit (mg/mL)	4,00	4,00
Kiraz Aroması (mg/mL)	5,00	5,00

3.2.15.4. Süspansiyonların Reolojik Özelliklerinin Optimizasyonu Çalışmaları

Formülasyon çalışmaları referans ürün içeriğinde olan ve psödoplastik akış özelliği gösteren ksantan zamkı ile yapıldı. Bu çalışmalara ek olarak, tiksotropik akış özelliği gösteren posakonazol süspansiyonların geliştirilmesi için de çalışmalar yapıldı.

Bölüm 3.2.15.3'te en uygun sonuçları veren formül (F-04) üzerinde değişiklikler yapılarak çalışılmasına karar verildi. Bu serideki ksantan zamki miktarı azaltıldı ve yerine tiksotropik akış özelliği gösteren Veegum (magnezyum alüminyum silikat) polimerinden eklendi. Ksantan zamkı ve Veegum oranı sırasıyla 1:1, 1:2 ve 1:3 olarak seçildi (Moghimipour ve ark. 2013). Üretimler Yüksek Devirli Homojenizatör (Ultraturrax) kullanılarak gerçekleştirildi ve süspansiyonun akış özelliğinin değiştirilmesinin bitmiş ürünün performansına olan etkisi değerlendirildi. Bu amaçla üretilen formüller Tablo 3-16'da verildi.

Tablo 3-16: Süspansiyonların reolojik özelliklerini değiştirmeye yönelik çalışmalar için hazırlanan formülasyonların bileşimleri

Seri Numarası	F-9	F-10	F-11
Ultraturrax Hızı (RPM)	10.000	10.000	10.000
Posakonazol (mg/mL)	40,00	40,00	40,00
Polisorbat 80 (mg/mL)	10,00	10,00	10,00
Simetikon (mg/mL)	3,00	3,00	3,00
Sodyum Benzoat (mg/mL)	2,00	2,00	2,00
Sodyum sitrat dihidrat (mg/mL)	0,60	0,60	0,60
Sitrik asit monohidrat (mg/mL)	1,50	1,50	1,50
Gliserol (mg/mL)	100,00	100,00	100,00
Ksantan zamkı (mg/mL)	2,25	2,25	2,25
Veegum (mg/mL)	4,50	6,75	2,25
Sıvı glikoz (mg/mL)	350,00	350,00	350,00
Titanyum dioksit (mg/mL)	4,00	4,00	4,00
Kiraz Aroması (mg/mL)	5,00	5,00	5,00

Üretilen tüm formülasyonlar üzerinde viskozite analizi, partikül büyüklüğü ve dağılımı analizi, pH ve yoğunluk analizi ile etken madde miktar tayini analizleri Bölüm 3.2.13'te verilen yöntemlerle gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar belirlenen spesifikasyonlara göre değerlendirildi. Tüm spesifikasyonlara uyan serilere 0,1 N HCl tamponunda çözünme hızı analizi yapıldı, çözünme hızı profilleri çizildi ve f2 benzerlik faktörü hesaplandı.

Üretilen seriler ile Bölüm 3.2.15.3'te en uygun sonuçları veren formülün akış özelliklerinin kıyaslanabilmesi için çalışmalar yapıldı. Bu amaçla numunelerin viskoziteleri, oda sıcaklığında 0,5, 1, 2, 2.5, 4, 5, 10, 20, 50 ve 100 rpm dönüş hızında 1 dakika karıştırıldıktan sonra belirlendi. Sonuçlar, reogramlar olarak çizildi (Kayma hızı-Kayma gerilimi ve Tork-Rpm grafikleri) ve süspansiyonların akış özellikleri belirlendi. Genel olarak reogramlardaki (Tork-Rpm grafikleri) yükselen ve alçalan eğriler arasındaki alan (histerizis alanı) ne kadar büyükse, tiksotropik özelliğin o kadar güçlü olduğu kabul edildiğinden, elde edilen reogramlardaki histerizis alanı yamuk kuralı kullanılarak hesaplandı ve böylece tiksotropinin varlığı belirlendi (Moghimi-pour ve ark. 2013).

3.2.16. Boncukla Öğütme (Media Milling) Yöntemi (DynoMill) ile Posakonazol Süspansiyon Formülasyonlarının Geliştirilmesi

Bu bölümde farklı homojenizasyon tekniği kullanımının süspansiyon formülasyonu üzerine etkisi değerlendirildi. Yüksek devirli homojenizasyon yöntemi ile üretilen ve Bölüm 3.2.15.3'te en uygun sonuçları veren formülün bileşimi referans alınarak boncukla öğütme yöntemi (DynoMill) ile üretimler yapıldı. Bu yöntem ile hazırlanan formülasyonlarda süspansiyon ajanı olan ksantan zıncı farklı oranlarda (2.00 mg/mL, 2.25 mg/mL, 2.50 mg/mL) kullanılarak çalışmalar yapıldı. Ayrıca yaş öğütme proses parametrelerinden öğütme hızı ve devir sayısının etkisi değerlendirildi. Hazırlanan posakonazol süspansiyon formülasyon bileşenleri ile işlem parametreleri Tablo 3-17'de verildi.

Üretilen tüm formülasyonlar üzerinde viskozite analizi, partikül büyüklüğü ve dağılımı analizi, pH ve yoğunluk analizi ile etken madde miktar tayini analizleri Bölüm 3.2.13'te verilen yöntemlerle gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar belirlenen spesifikasyonlara göre değerlendirildi. Tüm spesifikasyonlara uyan serilere 0,1 N HCl tamponu ve %0,4 SLS içeren saf su ortamında çözünme hızı analizi yapıldı, çözünme

hızı profilleri çizildi ve f2 benzerlik faktörü hesaplandı. En uygun sonuçları veren formülün bileşimi ve DynoMill cihazı parametresi belirlendi.

Tablo 3-17: Boncukla Öğütme yöntemi (DynoMill) ile Posakonazol süspansiyon formülasyonlarının geliştirilmesi çalışmaları için hazırlanan formülasyonların bileşimleri

Seri Numarası	F-12	F-13	F-14	F-15	F-16	F-17
DynoMill Hızı (rpm)	3.000	2.500	2.500	2.500	2.500	2.500
Dyno-Mill Devir Sayısı	5	5	2	5	2	2
Posakonazol (mg/mL)	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
Polisorbat 80 (mg/mL)	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Simetikon (mg/mL)	3,00	6,00	6,00	3,00	3,00	6,00
Sodyum Benzoat (mg/mL)	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Sodyum sitrat dihidrat (mg/mL)	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Sitrik asit monohidrat (mg/mL)	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Gliserol (mg/mL)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Ksantan zamkı (mg/mL)	2,50	2,50	2,50	2,25	2,25	2,00
Sıvı glikoz (mg/mL)	350,00	350,00	350,00	350,00	350,00	350,00
Titanyum dioksit (mg/mL)	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Kiraz Aroması (mg/mL)	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00

3.2.17. Seçilen Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Bölüm 3.2.17’de anlatıldığı şekilde değerlendirilerek referans ürüne benzer bulunan formülasyonların (F-04, F-16) 0,1 N HCl tamponuna ek olarak gastrointestinal sistemi taklit eden diğer iki pH daki (pH 4,5 asetat ve pH 6,8 sitrofosfat) tampon çözeltilerde çözünme hızı analizleri yapıldı. Referans ürün ile karşılaştırmalı olarak %0,3 SLS içeren pH 4,5 asetat tamponu ve %0,3 SLS içeren pH 6,8 sitrofosfat

tamponunda yapılan çözünme hızı analizlerinden elde edilen sonuçlar ile posakonazolün çözünme hızı profilleri çizildi ve f2 benzerlik faktörü hesaplandı. Benzerlik faktörü hesaplamaları için Bölüm 3.2.17’de verilen eşitlik kullanıldı.

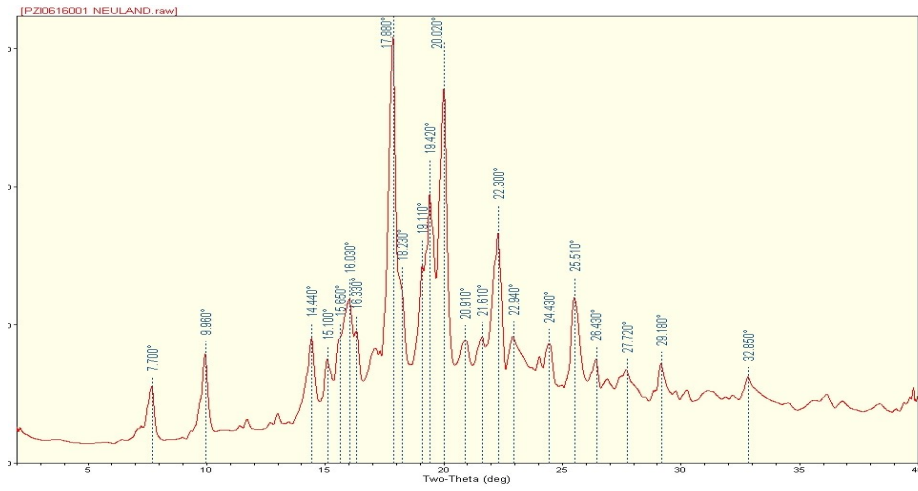
3.2.18. Stabilite çalışmaları

Gerçekleştirilen tüm analizlerin ve hesaplamalarının sonucunda Bölüm 3.2.18’de referans ürünle benzerlik gösteren ve iki farklı homojenizasyon tekniği ile üretilmiş olan F-04 ve F-16 serileri ile stabilite çalışmaları yapıldı. Stabilite çalışmaları uzun dönem ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $\%60 \pm 5$ Bağıl Nem), ara dönem ($30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $\%65 \pm 5$ Bağıl Nem) ve hızlandırılmış ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $\%75 \pm 5$ Bağıl Nem) koşullarda 6 ay süre ile gerçekleştirildi ("ICH Topic Q 1 A (R2) Stability Testing of new Drug Substances and Products" 2003).

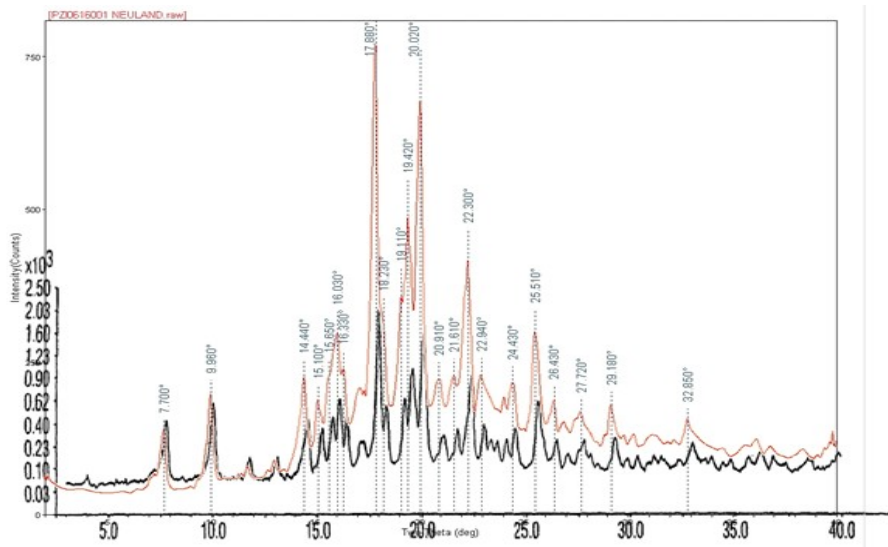
4. BULGULAR

4.1. Posakonazol' ün X- Işını Kırınımı Analizine Ait Bulgular

Bölüm 3.2.1.'de anlatıldığı şekilde yapılan çalışmada posakonazole ait difraktogram Şekil 4-1'de, EP 1021439 B1 numaralı patentte verilen Form-I posakonazole ait difraktogram ile Şekil 4-1 arasında yapılan karşılaştırma görüntüsü Şekil 4-2'de verildi.



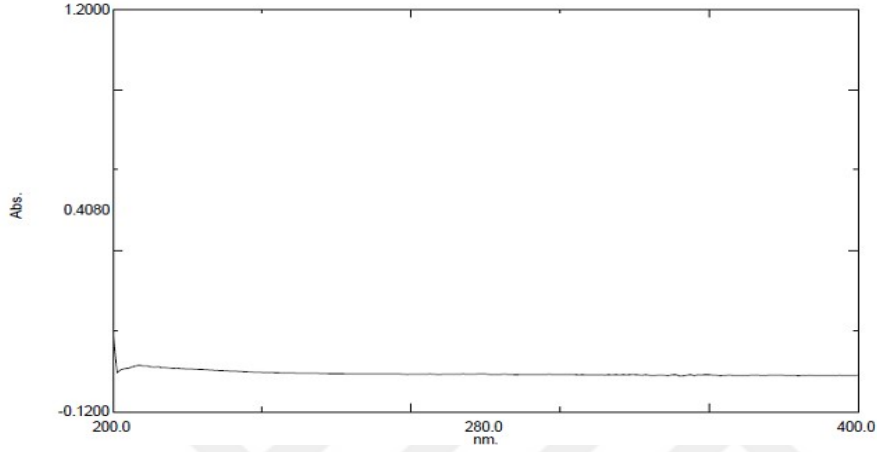
Şekil 4-1: Posakonazol etken maddeye ait difraktogram



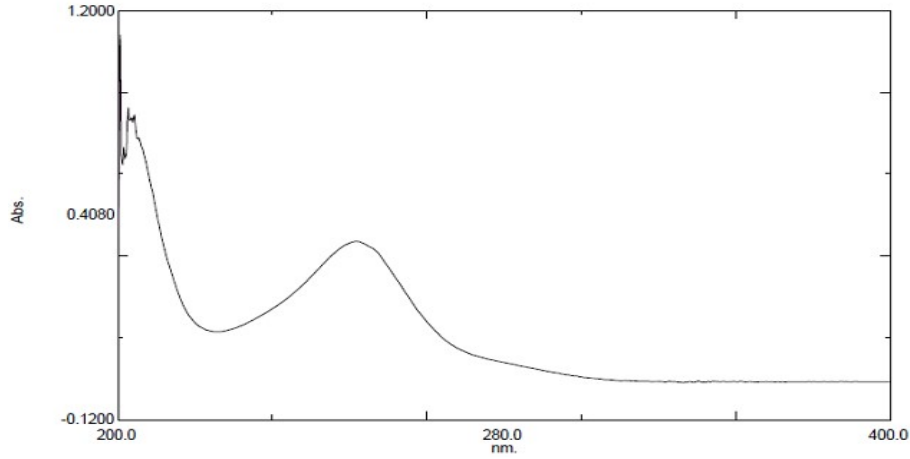
Şekil 4-2: Posakonazol için elde edilen difraktogram ile EP 1021439 B1 patentte verilen posakonazol difraktogramı karşılaştırma görüntüsü

4.2. Posakonazol'un UV Spektrumuna Ait Bulgular

Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı şekilde yapılan çalışmada çözücü (metanol) ve metanol içerisinde posakonazol çözeltisinin UV spektrumları sırasıyla Şekil 4-3'te ve Şekil 4-4'te verildi.



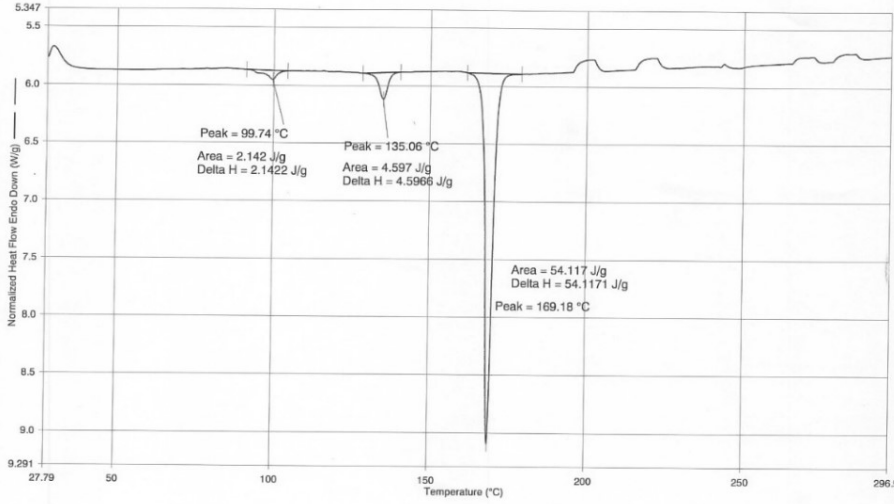
Şekil 4-3:Çözücüye (metanol) ait UV spektrumu



Şekil 4-4:Posakonazol çözeltisine (metanol içerisinde) ait UV spektrumu

4.3. Posakonazol'un Diferansiyel Tarama Kalorimetresi Analizine Ait Bulgular

Bölüm 3.2.3'te anlatıldığı şekilde yapılan çalışmada posakonazolün DSC termogramı Şekil 4-5'te verildi.



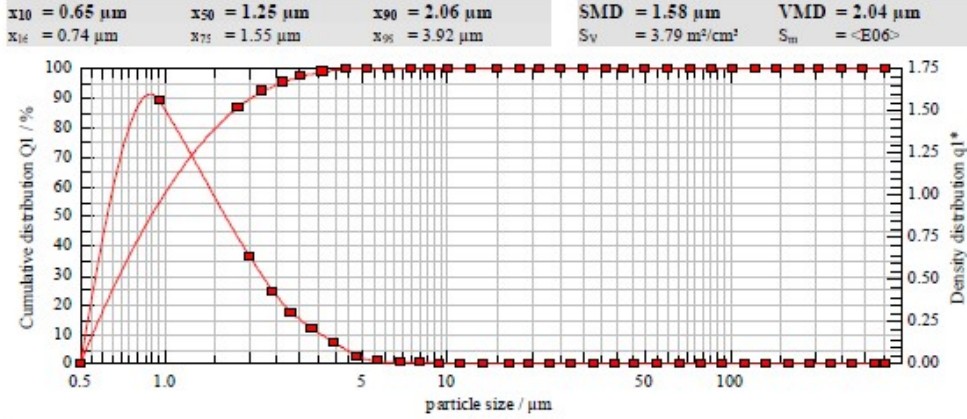
Şekil 4-5: Posakonazole ait DSC termogramı

4.4. Posakonazol'un Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Analizine Ait Bulgular

Bölüm 3.2.4'te anlatıldığı şekilde yapılan çalışmada posakonazolün partikül büyüklüğü değerleri ve partikül büyüklüğü dağılımı Şekil 4-6'da verildi.

HELOS (H2389) & SUCELL, R4: 0.5/1.8...350 μ m
 POSACONAZOLE

2017-11-20, 11:49:41.758



cumulative distribution

$x_0/\mu\text{m}$	$Q_1/\%$	$x_0/\mu\text{m}$	$Q_1/\%$	$x_0/\mu\text{m}$	$Q_1/\%$	$x_0/\mu\text{m}$	$Q_1/\%$
1.80	86.49	7.40	100.00	30.00	100.00	122.00	100.00
2.20	91.98	8.60	100.00	36.00	100.00	146.00	100.00
2.60	95.09	10.00	100.00	42.00	100.00	174.00	100.00
3.00	96.96	12.00	100.00	50.00	100.00	206.00	100.00
3.60	98.58	15.00	100.00	60.00	100.00	246.00	100.00
4.40	99.61	18.00	100.00	72.00	100.00	294.00	100.00
5.20	99.92	21.00	100.00	86.00	100.00	350.00	100.00
6.20	99.99	25.00	100.00	102.00	100.00		

density distribution (log.)

$x_m/\mu\text{m}$	q_{1g}	$x_m/\mu\text{m}$	q_{1g}	$x_m/\mu\text{m}$	q_{1g}	$x_m/\mu\text{m}$	q_{1g}
0.95	1.55	6.77	0.00	27.39	0.00	111.55	0.00
1.99	0.63	7.98	0.00	32.86	0.00	133.46	0.00
2.39	0.43	9.27	0.00	38.88	0.00	159.39	0.00
2.79	0.30	10.95	0.00	45.83	0.00	189.33	0.00
3.29	0.21	13.42	0.00	54.77	0.00	225.11	0.00
3.98	0.12	16.43	0.00	65.73	0.00	265.93	0.00
4.78	0.04	19.44	0.00	78.69	0.00	320.78	0.00
5.68	0.01	22.91	0.00	93.66	0.00		

Şekil 4-6: Posakonazol partikül büyüklüğü ve dağılımı sonuçları ile grafiği

4.5. Posakonazol ve Sodyum Benzoat HPLC Miktar Tayini Yöntemi Validasyonuna Ait Bulgular

4.5.1. Doğrusallık Çalışmasına Ait Bulgular

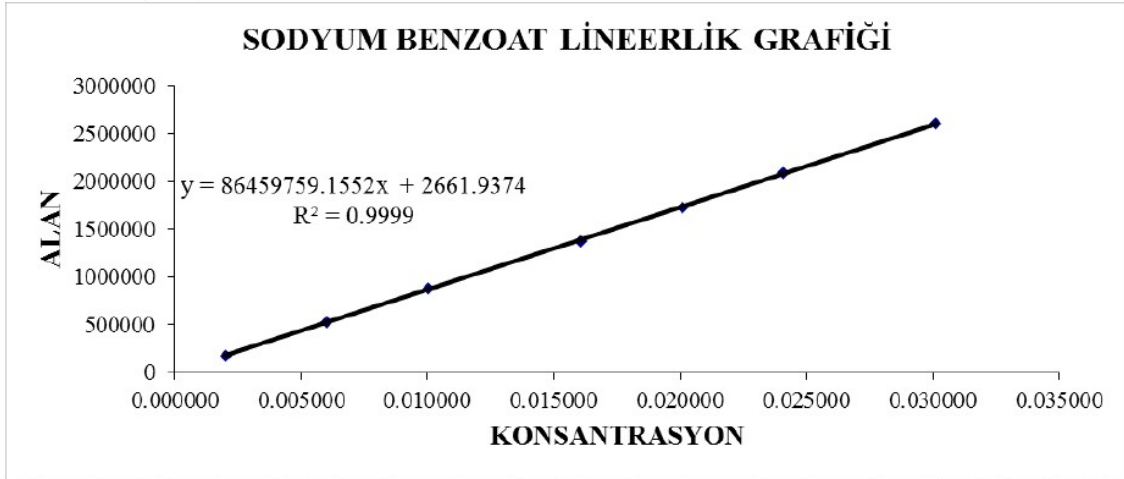
%10, %30, %50, %80, %100, %120 ve %150 konsantrasyonlarda hazırlanan sodyum benzoat standart çözeltileri için elde edilen sonuçlar Tablo 4-1'de, posakonazol çözeltileri için elde edilen sonuçlar Tablo 4-2'de verildi. Elde edilen alanlara ait doğrusallık grafikleri sırasıyla Şekil 4-7'de ve Şekil 4-8'de verildi.

Tablo 4-1: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık Çalışması Sodyum Benzoata ait sonuçlar

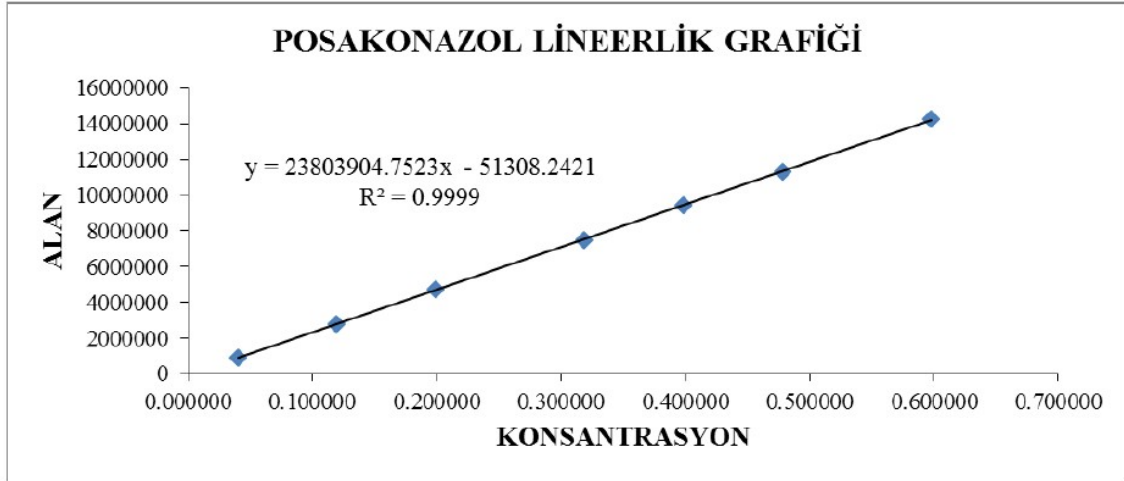
Çözelti Seviyesi	Standart konsantrasyonu (mg/mL)	3 enjeksiyonun alan ortalaması
%10	0.002008	178378
%30	0.006024	526545
%50	0.010040	877548
%80	0.016064	1378423
%100	0.020080	1726883
%120	0.024096	2091665
%150	0.030120	2614198
Eğim : 86459759,1552		
R : 0,999		
R2: 0,999		
y = mx + n: 86459759,1552x + 2661,9374		

Tablo 4-2: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık Çalışması Posakonazole ait sonuçlar

Çözelti Seviyesi	Standart konsantrasyonu (mg/mL)	3 enjeksiyonun alan ortalaması
%10	0.039868	937476
%30	0.119603	2796353
%50	0.199338	4700530
%80	0.318941	7481866
%100	0.398676	9408372
%120	0.478412	11313818
%150	0.598015	14248717
Eğim : 23803904.7523		
R : 0,999		
R2: 0,999		
y = mx + n: 23803904.7523x - 51308.2421		



Şekil 4-7: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık Çalışması Sodyum Benzoata ait grafik



Şekil 4-8: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık Çalışması Posakonazole ait grafik

4.5.2. Seçicilik Çalışmalarına Ait Bulgular

Miktar tayini yönteminin seçiciliğini belirlemek için enjekte edilen hareketli faz, seyreltme çözeltisi, plasebo çözeltisi, plasebo + standart çözeltisi, standart çözeltisi, test çözeltisi ve sistem uygunluğu çözeltisi sonrası elde edilen pikler ve alıkonma zamanlarına ait bilgiler Tablo 4-3'te verildi. Sodyum Benzoat ve Posakonazol'un alıkonma zamanında başka bir pike rastlanmadı.

Tablo 4-3: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Seçicilik çalışmasına ait sonuçlar

Bileşenler		Altkonma zamanı
Hareketli faz		-
Seyreltme Çözeltilisi		-
Plasebo çözeltisi		-
Plasebo + Standart Çözeltilisi	Sodyum Benzoat	4.679
	Posakonazol	12.965
Standart	Sodyum Benzoat	4.682
	Posakonazol	12.963
Test çözeltisi	Sodyum Benzoat	4.676
	Posakonazol	12.950
Sistem Uygunluk	Sodyum Benzoat	4.682
	Posakonazol	12.959

4.5.3. Doğruluk Çalışmalarına Ait Bulgular

Doğruluk çalışmaları için %80, %100, % 120 konsantrasyonlarında hazırlanan çözeltilere ait sonuçlar sodyum benzoat için Tablo 4-4'te, posakonazol için Tablo 4-5'te verildi.

Tablo 4-4: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Doğruluk Çalışması Sodyum Benzoata ait sonuçlar

Sodyum Benzoat	Hazırlanan konsantrasyon (mg/mL)	Hesaplanan konsantrasyon (mg/mL)	%Geri Kazanım
80%	0.015700	0.016013	101.99
	0.016400	0.016225	98.93
	0.016000	0.015833	98.96
100%	0.019900	0.019468	97.83
	0.019800	0.019594	98.96
	0.019900	0.019466	97.82
120%	0.023400	0.023331	99.71
	0.024400	0.024283	99.52
	0.024800	0.024350	98.19
Ortalama Geri Kazanım: 99.10			
Geri Kazanım %95 Güven Aralığı Sınırları: 98.12-100.08			

Tablo 4-5: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Doğruluk Çalışması Posakonazole ait sonuçlar

Posakonazol	Hazırlanan konsantrasyon (mg/mL)	Hesaplanan konsantrasyon (mg/mL)	%Geri Kazanım
80%	0.318981	0.322179	101.00
	0.318186	0.321915	101.17
	0.317888	0.319563	100.53
100%	0.398279	0.399627	100.34
	0.397385	0.395886	99.62
	0.398875	0.397646	99.69
120%	0.477776	0.472218	98.84
	0.476881	0.479909	100.63
	0.478272	0.482221	100.83
Ortalama Geri Kazanım : 100.29			
Geri Kazanım %95 Güven Aralığı Sınırları: 99.71-100.88			

4.5.4. Kesinlik çalışmalarına ait Bulgular

Cihaz kesinliği çalışmalarından elde edilen sonuçlar sodyum benzoat için Tablo 4-6'da, posakonazol için Tablo 4-7'de verildi.

Tablo 4-6: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Kesinlik Çalışması Sodyum Benzoata ait sonuçlar

Enjeksiyon Sayısı	Sodyum benzoat standart çözeltisi		Sodyum benzoat test çözeltisi	
	Altkonma Zamanı	Alan	Altkonma Zamanı	Alan
1	4.714	1733021	4.715	1770833
2	4.713	1737606	4.713	1767100
3	4.716	1736732	4.714	1764278
4	4.713	1741451	4.713	1766349
5	4.714	1738893	4.715	1755837
6	4.714	1742201	4.714	1764553
Ortalama	4.714	1738317	4.714	1764825
Standart sapma	0.001	3355.728	0.001	4995.030
Bağıl standart sapma	0.023	0.193	0.019	0.283
%95 Güven Aralığı Sınırları	4.713 - 4.715	1734796-1741839	4.713-4.715	1759583-1770067

Tablo 4-7: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Kesinlik Çalışması Posakonazole ait sonuçlar

Enjeksiyon Sayısı	Posakonazol standart çözeltisi		Posakonazol test çözeltisi	
	Alıkonma Zamanı	Alan	Alıkonma Zamanı	Alan
1	13.058	9381488	13.068	9685329
2	13.059	9386426	13.061	9654293
3	13.066	9392843	13.069	9635130
4	13.055	9413718	13.063	9644706
5	13.069	9399930	13.073	9588675
6	13.055	9422966	13.074	9629900
Ortalama	13.060	9399562	13.068	9639672
Standart sapma	0.006	16078.830	0.005	31750.566
Bağıl standart sapma	0.045	0.171	0.040	0.329
%95 Güven Aralığı Sınırları	13.054-13.066	9382688-9416436	13.063-13.073	9606352-9672993

4.5.5. Çözelti stabilitesi çalışmasına ait bulgular

Standart ve numune çözeltilerine ait stabilite bulguları sodyum benzoat için Tablo 4-8’de, posakonazol için Tablo 4-9’da verildi.

Tablo 4-8: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Güvenilirlik çalışması Sodyum benzoat çözelti stabilitesine ait sonuçlar

Ortalama	Başlangıç	6. saat	24.saat	48. saat	%Değişim
Standart alanı (5°C)	1799726	1800290	1799327	1802683	0.164
Numune alanı (5°C)	1762346	1766732	1772663	1773352	0.624
Standart alanı (25°C)	1799726	1802015	1804577	1819290	1.087
Numune alanı (25°C)	1762346	1767404	1765233	1773544	0.635

Tablo 4-9: HPLC Miktar Tayini Yöntem Validasyonu Güvenilirlik çalışması Posakonazol çözelti stabilitesine ait sonuçlar

Ortalama	Başlangıç	6.saat	24 saat	48.saat	%Değişim
Standart alanı (5°C)	9625370	9628957	9614836	9649047	0.246
Numune alanı (5°C)	9639374	9665283	9699045	9688372	0.508
Standart alanı (25°C)	9625370	9626144	9661160	9737598	1.166
Numune alanı (25°C)	9639374	9658251	9653590	9686138	0.485

4.6. Posakonazol HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntemi Validasyonuna Ait Bulgular

4.6.1. Teşhis ve Miktar Tayini Limiti (LOD & LOQ) çalışmalarına ait bulgular

Elde edilen sinyal/gürültü sonuçları Tablo 4-10'da, test edilen standartın sonuçları Tablo 4-11'de verildi. Teşhis ve miktar tayini limiti yeterli derecede düşük bulundu.

Tablo 4-10: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Teşhis ve Miktar Tayini Limiti çalışması sinyal/gürültü oranı sonuçları

Konsantrasyon (mg/mL)	Sinyal/Gürültü Oranı	LOD (mg/mL)	%LOD	%LOQ
0.002	215.38	0.000028	0.0028	0.0084

$LOQ = LOD \times 3 = 0.000084 \text{ (mg / mL)}$

Tablo 4-11: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Teşhis ve Miktar Tayini Limiti çalışması test edilen standart sonuçları

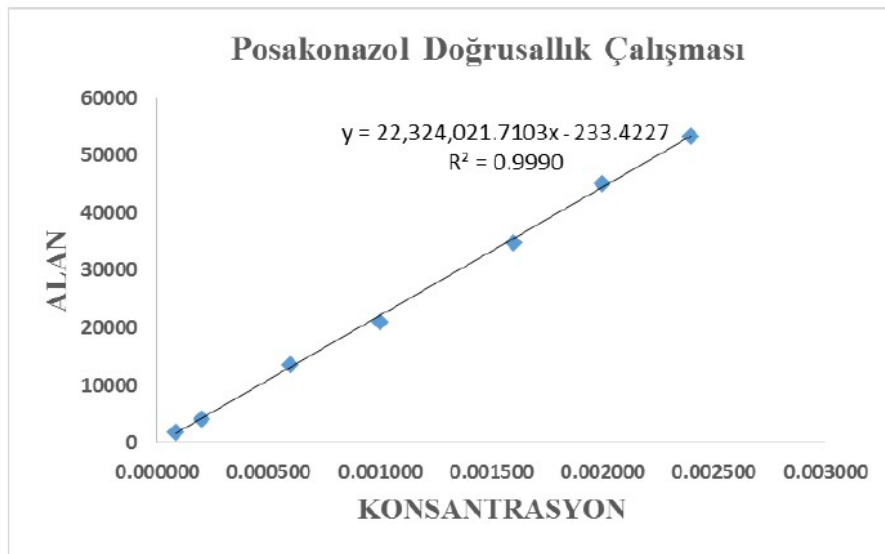
Posakonazol	Konsantrasyon (mg/mL)	Alan
LOD	0.000028	672

4.6.2. Doğrusallık Çalışmasına Ait Bulgular

%LOQ- %120 konsantrasyon aralığında hazırlanan standart çözeltiler için elde edilen sonuçlar Tablo 4-12’de verildi. Elde edilen alanlara ait doğrusallık grafiği Şekil 4-9’da verildi.

Tablo 4-12: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar

Çözelti Seviyesi	Standart konsantrasyonu (mg/mL)	3 enjeksiyonun alan ortalaması
4.2(%LOQ)	0.000084	1934
10	0.000200	4198
30	0.000599	13661
50	0.000999	21109
80	0.001598	34775
100	0.001997	45132
120	0.002397	53329
Eğim : 22324021.7103		
R : 0.9995		
R2: 0.9990		
y = mx + n: 22324021.7103x-233.4227		



Şekil 4-9: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Doğrusallık çalışmasına ait grafik

4.6.3. Seçicilik Çalışmalarına Ait Bulgular

İlgili bileşikler yönteminin seçiciliğini belirlemek için enjekte edilen seyreltme çözeltisi, hareketli faz, plasebo çözeltisi, plasebo + limit konsantrasyonda hammadde çözeltisi, limit konsantrasyonda hammadde çözeltisi, test konsantrasyonunda hammadde çözeltisi ve sistem uygunluğu çözeltisi için elde edilen pikler ve alıkonma zamanlarına ait bilgiler Tablo 4-13'te verildi. Posakonazol ve ilgili safsızlıkların alıkonma zamanında başka bir pike rastlanmadı.

Tablo 4-13: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Seçicilik çalışmasına ait sonuçlar

Bileşenler		Alıkonma zamanı	Bileşenler		Alıkonma zamanı
Seyreltme çözeltisi	Seyretme çözeltisi 1	17.845	Plasebo +Hammadde (limit konsantrasyonda)	Posakonazol	25.376
	Seyretme çözeltisi 2	32.992		Hammadde (limit konsantrasyonund a)	Posakonazol
Hareketli faz		-	Hammadde (test konsantrasyonund a)	Posakonazol	25.290
Plasebo	Plasebo_ 1	4.825		Bilinmeyen_ 2	27.283
	Plasebo_ 2	7.158		Bilinmeyen_ 3	29.489
Test	Bilinmeyen-1	1.189		Bilinmeyen_ 4	30.887
	Posakonazol	25.295		Bilinmeyen_ S	31.156
	Bilinmeyen_ 2	27.285		Bilinmeyen_ 6	32.021
	Bilinmeyen_ 3	29.447	Sistem uygunluk_ 1	Posakonazol	25.251
	Bilinmeyen_ 4	30.881	Formyl-Safsızlığı	26.418	
	Bilinmeyen_ 5	31.186	Sistem uygunluk_ 2	Posakonazol	25.332
Bilinmeyen_ 6	32.062				

4.6.4. Doğruluk Çalışmalarına Ait Bulgular

Doğruluk çalışmaları için % LOQ, %80, %100 ve %120 konsantrasyonlarında hazırlanan çözeltilere ait sonuçlar Tablo 4-14'te verildi.

Tablo 4-14: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Doğruluk çalışmasına ait sonuçlar

Test	Teorik Posakonazol (%)	Hesaplanan Posakonazol (%)	Geri Kazanım (%)
LOQ	0,00839	0,00838	99.88
	0,00839	0,00822	97.97
	0,00839	0,00810	96.54
80%	0,15975	0,15616	97.75
	0,15975	0,15710	98.34
	0,15975	0,15579	97.52
100%	0,19968	0,19620	98.26
	0,19968	0,19655	98.43
	0,19968	0,19793	99.12
120%	0,23962	0,23247	97.02
	0,23962	0,23451	97.87
	0,23962	0,23023	96.08
Ortalama Geri Kazanım :			97.90
Geri Kazanım Yüzdesinin %95 Güven Aralığı Sınırları :			97.23-98.57

4.6.5. Kesinlik Çalışmalarına Ait Bulgular

Cihaz kesinliği çalışmalarından elde edilen sonuçlar Tablo 4-15'te verildi.

Tablo 4-15: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Kesinlik çalışmasına ait sonuçlar

Enjeksiyon Sayısı	Alınma Zamanı	Alan
1	25.629	44919
2	25.634	45344
3	25.607	44819
4	25.620	44979
5	25.615	45394
6	25.618	45580
Ortalama	25.621	45173
Standart sapma	0.010	307
Bağıl std. sapma	0.038	0.680
95% Güven Aralığı Sınırları :	25.610-25.631	44850-45495

4.6.6. Çözelti stabilitesi çalışmasına ait bulgular

Posakonazol standart çözeltilerine ait stabilite bulguları Tablo 4-16'da, test çözeltilerine ait stabilite bulguları Tablo 4-17'de verildi. Elde edilen sonuçlar Bölüm 3.2.8.5'te verilen kriterlere göre değerlendirildi, standart çözeltisinin oda ve buzdolabı koşullarında 48 saat boyunca stabil olduğu, test çözeltisinin oda ve buzdolabı koşullarında stabil olmadığı bulundu.

Tablo 4-16: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Güvenilirlik çalışması standart çözelti stabilitesine ait sonuçlar

	Başlangıç	6.saat	24. saat	48.saat	%Değişim
Standart Çözelti (5°C)	45978	45937	45099	44427	-3.37
Standart çözelti (25°C)	45978	46293	45211	43986	-4.33

Tablo 4-17: HPLC İlgili Bileşikler Tayini Yöntem Validasyonu Güvenilirlik çalışması test çözelti stabilitesine ait sonuçlar

	Başlangıç	6. saat	24. saat	48.saat	%Değişim
En yüksek Bilinmeyen (5°C)	14085	16261	25036	41347	193.55
Toplam Safsızlık (5°C)	42728	46141	55439	72265	69.13
En yüksek Bilinmeyen (25°C)	14085	16768	26899	43715	210.37
Toplam Safsızlık (25°C)	42728	45957	57462	74156	73.55

4.7. Posakonazol'un Çözünme Hızı Analiz Yönteminin Validasyonuna Ait Bulgular

4.7.1. Doğrusallık Çalışmasına Ait Bulgular

%10, %30, %50, %80, %100, %120 ve %150 konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltiler için elde edilen sonuçlar Tablo 4-18'de verildi. Elde edilen alanlara ait doğrusallık grafiği Şekil 4-10'da verildi. Elde edilen sonuçlar Bölüm 3.2.10.1'de verilen kriterlere uygun bulundu.

Tablo 4-18: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar

Çözelti Seviyesi	Posakonazol Konsantrasyonu (mg/mL)	3 enjeksiyonun alan ortalaması
10	0.00447	148243
30	0.01340	420824
50	0.02233	696729
80	0.03573	1115722
100	0.04466	1401081
120	0.05359	1685179
Eğim : 31306147.6570		
R : 0.999		
R2: 0.9999		
y = mx + n: 31306147.6570x + 2564.9249		



Şekil 4-10: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Doğrusallık çalışmasına ait grafik

4.7.2. Seçicilik Çalışmalarına Ait Bulgular

Çözünme hızı yönteminin seçiciliğini belirlemek için enjekte edilen hareketli faz, çözünme ortamı, plasebo çözeltisi, test çözeltisi, plasebo + standart çözeltisi,

standart çözeltisi, ve sistem uygunluk çözeltisi için elde edilen pikler ve alıkonma zamanlarına ait bilgiler Tablo 4-19'da verildi. Posakonazol'un alıkonma zamanında başka bir pike rastlanmadı.

Tablo 4- 19: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Seçicilik çalışmasına ait sonuçlar

Bileşenler	Alıkonma zamanı
Hareketli faz	-
Çözünme ortamı	-
Plasebo	-
Test çözeltisi	3.508
Standart + Plasebo	3.510
Standart	3.507
Sistem Uygunluk	3.491

4.7.3. Doğruluk Çalışmalarına Ait Bulgular

Doğruluk çalışmaları için % 20, % 80, %100 ve% 120 konsantrasyonlarında hazırlanan çözeltilere ait sonuçlar Tablo 4-20'de verildi. Posakonazol için geri kazanım değeri %99.37 olarak bulundu. Bu sonuçlar Bölüm 3.2.10.3'te verilen kriterlere uygun bulundu.

Tablo 4-20: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Doğruluk çalışmasına ait sonuçlar

Posakonazol	Hazırlanan konsantrasyon (mg/mL)	Bulunan konsantrasyon (mg/mL)	Geri Kazanım %
%20	0.008871	0.00891	100.44
	0.008910	0.00888	99.66
	0.008840	0.00878	99.32
%80	0.035425	0.03524	99.48
	0.035451	0.03550	100.14
	0.035389	0.03548	100.26
% 100	0.044311	0.04404	99.39
	0.044306	0.04410	99.54
	0.044187	0.04356	98.58
%120	0.053057	0.05229	98.56
	0.053060	0.05233	98.62
	0.053027	0.05218	98.40
Ortalama% Geri Kazanım:			99.37
Geri Kazanım %'ın 95% Güven Aralığı Sınırları:			98.92-99.81

4.7.4. Kesinlik Çalışmalarına Ait Bulgular

Cihaz kesinliği çalışmalarından elde edilen sonuçlar Tablo 4-21'de verildi. Elde edilen sonuçlar Bölüm 3.2.10.4'te verilen kriterlere uygun bulundu.

Tablo 4-21: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Kesinlik çalışmasına ait sonuçlar

Enjeksiyon Sayısı	Standart Çözelti		Test Çözeltisi	
	Alıkonma Zamanı	Alan	Alıkonma Zamanı	Alan
1	3.491	1406303	3.493	1409735
2	3.488	1403217	3.483	1409380
3	3.493	1407680	3.485	1408311
4	3.490	1405208	3.487	1410765
5	3.491	1401439	3.487	1409339
6	3.493	1404282	3.486	1412141
Ortalama	3.491	1404688	3.487	1409945
Standart sapma	0.002	2223	0.003	1334
Bağlı standart sapma	0.054	0.158	0.097	0.095
%95 Güven Aralığı Sınırları	3.489-3.493	1402355-1407021	3.483-3.490	1408545-1411345

4.7.5. Çözelti stabilitesi çalışmasına ait bulgular

Standart ve test çözeltilerine ait stabilite bulguları Tablo 4-22’de verildi. Elde edilen sonuçlar Bölüm 3.2.10.5’te verilen kriterlere göre değerlendirildi, standart ve test çözeltileri oda ve buzdolabı koşullarında 48 saat boyunca stabil bulundu.

Tablo 4-22: HPLC Çözünme Hızı Analiz Yöntemi Validasyonu Güvenilirlik çalışmasına ait sonuçlar

	Başlangıç	6. saat	24.saat	48.saat	% Değişim
Standart alanı (5°C)	1394691	1394300	1387061	1400385	0.408
Test alanı (5°C)	1409142	1405977	1404271	1416698	0.536
Standart alanı (25°C)	1394691	1392386	1386978	1405544	0.778
Test alanı (25°C)	1409142	1410235	1399975	1410636	0.106

4.8. Posakonazolün Farklı Ortamlardaki Çözünürlük Çalışmasına Ait Bulgular

Yöntem 3.2.11’de anlatıldığı şekilde yapılan posakonazol hammadde çözünürlük çalışması ve sink koşul hesaplanmasına ait veriler Tablo 4-23’te verildi.

Tablo 4-23: Posakonazol hammadde çözünürlük çalışması ve sink koşul hesaplamalarına ait sonuçlar

Ortamlar	Çözünürlük Değerleri (mg/ml)	10 ml Posakonazol süspansiyonun çözünmesi için gerekli hacim (ml)	Sink Koşul sağlanması için gerekli hacim (ml)
0,1N HCl	0,96	419	1256
pH: 4,5 asetat	0,00	-	-
pH: 6,8 sitrofosfat	0,00	-	-
%0,3 Sodyum Lauril Sülfat içeren Saf su	0,35	1140	3419
%0,4 Sodyum Lauril Sülfat içeren Saf su	0,66	606	1818

4.9. Çözünme Hızı Testleri İçin Ayırt Edici Yöntem Geliştirilmesi Çalışmalarına Ait Bulgular

Bölüm 3.2.12’de yapılan çalışmaların sonuçları Tablo 4-24’te verildi.

Tablo 4-24: Çözünme Hızı Test Koşullarının belirlenmesi çalışmasına ait sonuçlar

Ortam	%0,4 SLS İçeren Saf Su						0,1 N HCl			
	Koşul	USP Çöz. Kabı 25rpm		USP Çöz. Kabı 50rpm		Pik Şekilli Çöz. Kabı 50rpm		Pik Şekilli Çöz. Kabı 25rpm		Pik Şekilli Çöz. Kabı 50rpm
Zaman (dk)	% Çözünen Posakonazol	Bağ. Std. Sapma	% Çözünen Posakonazol	Bağ. Std. Sapma	% Çözünen Posakonazol	Bağ. Std. Sapma	% Çözünen Posakonazol	Bağ. Std. Sapma	% Çözünen Posakonazol	Bağ. Std. Sapma
5	22,31	23,62	25,57	21,70	33,68	17,90	27,83	29,45	48,62	10,80
10	32,03	22,37	48,16	20,73	54,10	9,67	45,02	26,27	83,93	7,52
15	41,21	19,35	59,59	19,24	72,16	6,28	57,38	17,50	97,08	1,82
20	50,64	16,24	72,31	10,94	84,64	3,91	72,33	14,05	98,93	0,99
30	69,63	9,38	79,80	8,62	89,99	2,23	91,44	4,82	98,78	1,08
45	79,11	4,22	87,97	4,58	92,12	2,73	96,99	1,38	97,75	1,03
60	82,36	2,42	92,64	2,84	91,50	1,99	96,84	1,72	97,05	0,97

Yapılan çalışmalar sonucunda posakonazol süspansiyonların çözünme hızı analizi koşulları; palet (USP II) yöntemi, 50 rpm karıştırma hızı, pik şekilli çözünme kapları içinde $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'de sıcaklıkta tutulan 900 ml çözünme ortamı ve 5, 10, 15, 20, 30, 45 ve 60. dakikalar numune alma zamanları olarak belirlendi.

Belirlenen çözünme hızı testi koşulları kullanılarak referans ürün ile Bölüm 3.2.12'de verilen ortamlarda yapılan çözünme hızı analizlerinin sonuçları Tablo 4-25 ve Tablo 4-26'da verildi.

Tablo 4- 25: Çözünme Ortamının Belirlenmesi çalışmasına ait sonuçlar-1

Ortam	% 0,4 SLS içeren saf su	% 0,1 SLS içeren pH 4,5 Asetat	% 0,2 SLS içeren pH 4,5 Asetat	% 0,3 SLS içeren pH 4,5 Asetat	% 0,1 SLS içeren pH 6,8 sitrofosfat	% 0,2 SLS içeren pH 6,8 sitrofosfat	% 0,3 SLS içeren pH 6,8 sitrofosfat
Zaman (dk)	% Çözünen Posakonazol	% Çözünen Posakonazol	% Çözünen Posakonazol	% Çözünen Posakonazol	% Çözünen Posakonazol	% Çözünen Posakonazol	% Çözünen Posakonazol
5	33,68	13,24	39,29	37,89	21,78	35,76	36,33
10	54,10	14,69	63,92	61,27	24,58	54,02	54,73
15	72,16	14,90	73,22	78,72	23,57	58,42	73,74
20	84,64	15,36	76,04	93,29	23,58	60,80	84,22
30	89,99	15,46	74,98	97,10	23,05	60,34	89,86
45	92,12	16,68	76,36	97,27	23,10	61,11	92,95
60	91,50	16,28	76,21	96,31	23,22	60,44	92,74

Tablo 4- 26: Çözünme Ortamının Belirlenmesi çalışmasına ait sonuçlar-2

Ortam	0.1 N HCl	0.01 N HCl	0.01 N HCl + NaCl + %0.01 Triton X 100	0.05 N HCl	0.05 N HCl + %0,2 NaCl + %0,01 Triton X 100	FeSSIF	FeSSIF
Zaman (dk)	% Çözünen Posakonazol	% Çözünen Posakonazol	% Çözünen Posakonazol	% Çözünen Posakonazol	% Çözünen Posakonazol	% Çözünen Posakonazol	% Çözünen Posakonazol
5	48,23	6,81	6,87	37,82	32,62	1,66	19,23
10	80,17	7,70	7,59	53,50	55,91	2,74	22,84
15	93,44	8,66	8,50	61,48	63,46	3,39	23,44
20	95,52	9,08	9,09	66,84	68,57	4,50	23,52
30	95,58	9,40	10,64	61,69	68,40	7,44	23,65
45	95,07	11,84	10,50	63,20	67,60	4,44	30,65
60	94,23	8,17	9,83	65,14	67,12	7,70	27,80

4.10. Posakonazol Süspansiyon Formülasyonlarının Spesifikasyonlarının Belirlenmesi Çalışmasına Ait Bulgular

Geliştirilecek formülasyonların referans ürün ile aynı performansı sağladığının gösterilebilmesi için yapılan test ve analizler, referans ürünün analiz sonuçları ve buna göre belirlenen bitmiş ürün spesifikasyonları Tablo 4-27’de verildi.

Tablo 4-27: Bitmiş Üründe Yapılacak Test ve Analizler ile Bitmiş Ürün Spesifikasyonları

Analizler	Noxafil Oral Süspansiyon N06304	Bitmiş Ürün Spesifikasyonları
pH (25°C ± 2°C)	4,41	4.00 – 5.00 (25°C ± 2°C)
Yoğunluk	1,141	1.00-1.30 g/ml
Viskozite	254	220-290 cps
Partikül büyüklüğü ve dağılımı (d90)	4,59	d90 < 7 µm (mikron) olmalıdır
Posakonazol miktarı (mg)	40,5	40 mg ± %5 = 38.0 mg – 42.0 mg / ml cEP(2.2.29)
In Vitro Çözünme Hızı (0,1 N HCl, 15 dakika)	%97,08	15 dakikada min %80 olmalıdır
In Vitro Çözünme Hızı (%0,4 SLS içeren Saf Su, 30 dakika)	%89,99	30 dakikada min %85 olmalıdır
f2 değeri	-	f2 değeri 50’den büyük olmalıdır.
İlgili Bileşikler		
Bilinmeyen her bir safsızlık	%0,06	Bilinmeyen her bir safsızlık Maks. %0,2
Toplam Safsızlık	%0,34	Toplam Safsızlık Maks %0,5 cEP(2.2.29)

4.11. Posakonazol Süspansiyon Formülasyonunun Optimizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

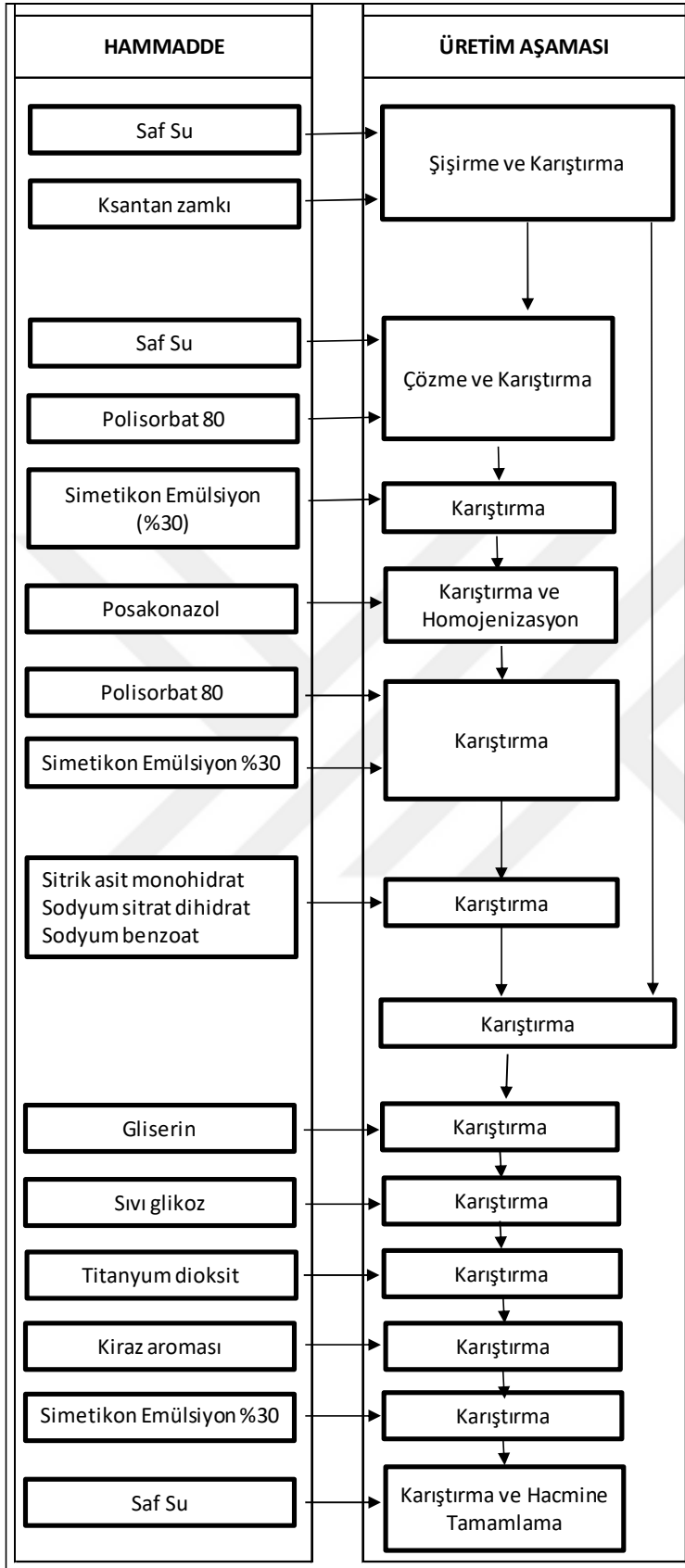
Bölüm 3.2.14’te anlatıldığı şekilde belirlenen birim formül ve kullanılan yardımcı maddelerin işlevleri Tablo 4-28’de, üretim yöntemi ve üretim akış şeması ise Şekil 4-11’de verildi.

Tablo 4-28: Posakonazol süspansiyon birim formülü ve formülasyona giren yardımcı maddelerin işlevleri

Formülasyona Giren Maddeler	mg/ml	Formülasyona Giren Maddelerin İşlevleri
Posakonazol	40,00	Etken madde
Polisorbat 80	10,00	Yüzey Aktif Madde
Simetikon emülsiyon %30	3,00	Köpük Önleyici
Sodyum Benzoat	2,00	Mikrobiyal Koruyucu
Sodyum sitrat dihidrat	0,60	pH düzenleyici
Sitrik asit monohidrat	1,50	pH düzenleyici
Gliserol	100,00	Kıvam verici
Ksantan gum	3,00	Viskozite arttırıcı (Süspansiyon ajanı)
Sıvı glikoz	350,00	Kıvam verici ve Tatlandırıcı
Titanyum dioksit	4,00	Renk verici ve Opaklaştırıcı
Kiraz Aroması	5,00	Tat ve Koku Düzenleyici
Saf su	y.m	Dispersiyon Ortamı
TOPLAM	1 ml	

Üretim Yöntemi Basamakları aşağıdaki gibi belirendi;

- Süspansiyon ajanı bir miktar suda şişirilir, homojen olana dek karıştırılır.
- Ayrı bir kapta su içerisinde bir miktar sürfaktan, bir miktar köpük kırıcı ve posakonazol karışımı hazırlanır.
- Hazırlanan karışım uygun yaş öğütme tekniği ile homojenize edilir.
- Homojenizasyon sonrası kalan sürfaktan ve bir miktar köpük kırıcı eklenir.
- Koruyucular ve tamponlayıcı maddeler eklenir.
- Homojen hala gelen süspansiyon ajanı-su karışımı eklenir.
- Tatlandırıcı, opaklaştırıcı, aroma ve kalan köpük kırıcı eklenir.
- Ürün hacmine tamamlanır.



Şekil 4-11: Posakonazol süspansiyon üretim akış şeması

4.12. Yüksek Devirli Homojenizasyon (Ultraturrax) Yöntemi ile Posakonazol Süspansiyon Formülasyonlarının Geliştirilmesi Çalışmasına Ait Bulgular

4.12.1. Süspansiyon Ajanının Miktarının ve Dispersiyon Hazırlama Yönteminin Belirlenmesi Çalışmalarına Ait Bulgular

Süspansiyon ajanının miktarı ile şişirilme ve ürüne eklenme yönteminin belirlenmesi için hazırlanan formülasyonlar üzerinde Bölüm 3.2.15.1’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen analizlere ait veriler Tablo 4-29’da verildi.

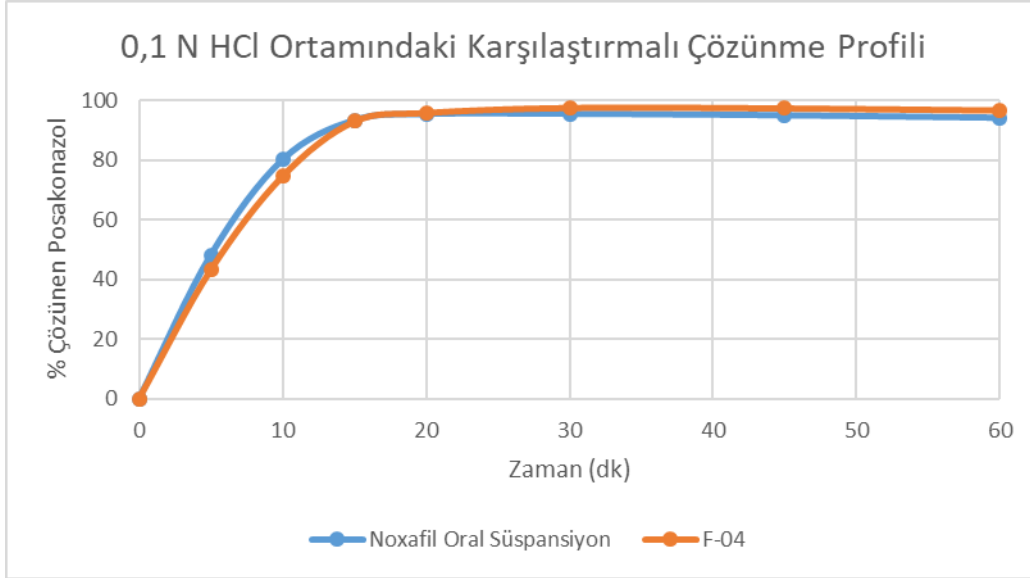
Tablo 4-29: Süspansiyon ajanının miktarının ve dispersiyon hazırlama yönteminin belirlenmesi çalışmalarına ait analiz sonuçları

ANALİZLER	F-01	F-02	F-03	F-04
pH (25°C ± 2°C)	4,43	4,43	4,41	4,34
Yoğunluk	1,138	1,136	1,142	1,14
Viskozite (başlangıç)	322	240	136	240
Viskozite (3.ay)	-	246	-	254
Partikül büyüklüğü ve dağılımı (d90)	5,63	5,79	5,48	4,74
Posakonazol miktarı	99,1	99,12	99,7	103,2

F-04 formülasyonunun in vitro 0,1 N HCl tamponunda çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-30’da, referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-12’de verildi.

Tablo 4-30: F-04 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	43,26	74,68	93,09	95,99	97,65	97,52	96,82
SD (±)	5,35	2,31	1,96	2,60	1,49	1,71	1,39
%RSD	12,36	3,10	2,11	2,71	1,53	1,76	1,44
f2	67,84						

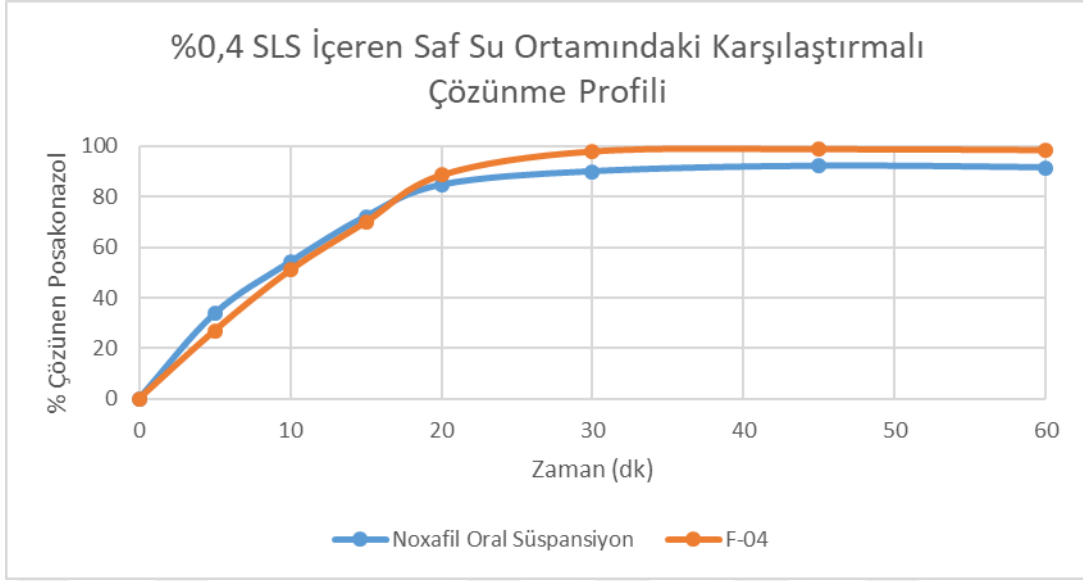


Şekil 4-12: F-04 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-04 formülasyonunun in vitro %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-31’de ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-13’te verildi.

Tablo 4-31: F-04 serisinin %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	26,99	50,96	69,98	88,55	97,97	98,86	98,50
SD (±)	3,19	6,11	5,88	4,10	5,01	5,14	4,97
%RSD	11,82	11,98	8,40	4,63	5,12	5,20	5,05
f2	67,66						



Şekil 4-13: F-04 serisi ve referans ürünün %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

4.12.2. Islatma Ajanının Miktarının Belirlenmesi Çalışmalarına Ait Bulgular

Islatma ajanının miktarını belirlemek için hazırlanan formülasyonlar üzerinde Bölüm 3.2.15.1’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen analizlere ait veriler Tablo 4-32’de verildi.

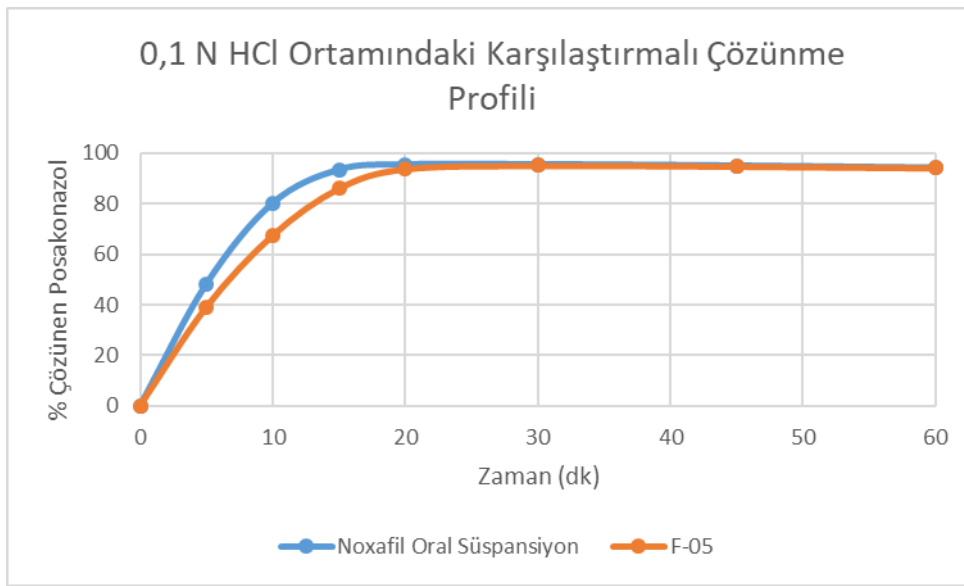
Tablo 4-32: Islatma ajanının miktarının belirlenmesi çalışmalarına ait analiz sonuçları

ANALİZLER	F-05	F-06
pH (25°C ± 2°C)	4,31	4,42
Yoğunluk	1,137	1,139
Viskozite (başlangıç)	236	224
Viskozite (3.ay)	248	268
Partikül büyüklüğü ve dağılımı (d90)	5,47	4,88
Posakonazol miktarı	99,2	99

F-05 formülasyonunun in vitro 0,1 N HCl tamponunda çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-33’te ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-14’te verildi.

Tablo 4-33: F-05 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-05							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	39,15	67,55	86,13	93,83	95,16	94,88	94,24
SD (±)	5,71	5,86	3,24	1,26	0,43	0,61	0,54
%RSD	14,59	8,68	3,76	1,34	0,45	0,64	0,57
f2	50,07						

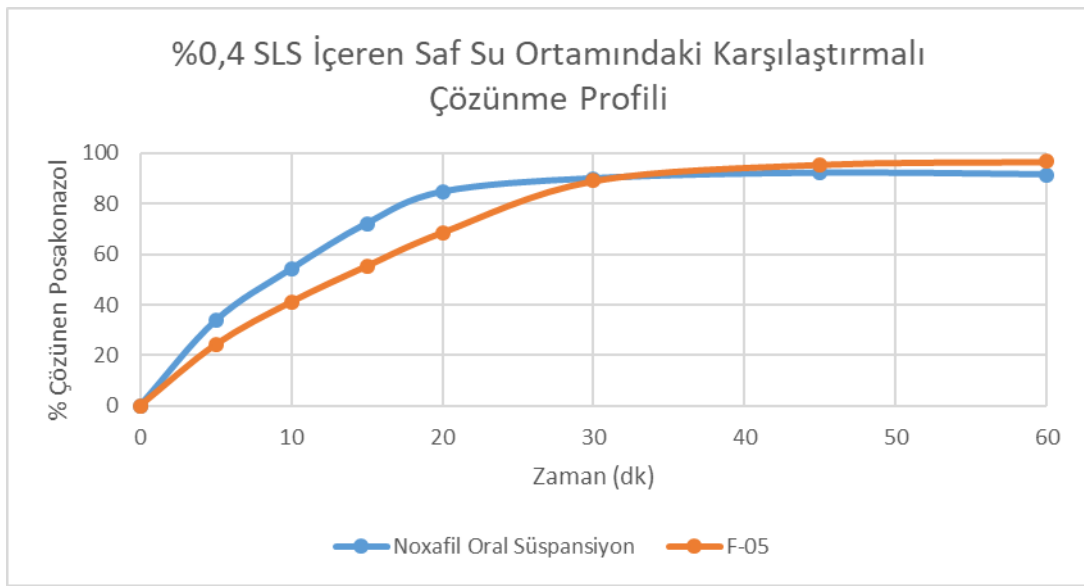


Şekil 4-14: F-05 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-05 formülasyonunun in vitro %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-34'te ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-15'te verildi.

Tablo 4-34: F-05 serisinin %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-05							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	24,27	41,22	55,41	68,67	89,15	95,60	96,76
SD (\pm)	2,87	2,13	2,09	1,62	1,77	0,56	0,91
%RSD	11,83	5,17	3,78	2,37	1,98	0,59	0,94
f2	44,95						



Şekil 4-15: F-05 serisi ve referans ürünün %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

4.12.3. Yüksek Devirli Homojenizatör (Ultraturrax) Karıştırma Hızı Parametresinin Belirlenmesi Çalışmasına Ait Bulgular

Yüksek devirli homojenizatör (Ultraturrax) ile farklı karıştırma hızlarında çalışılarak hazırlanan formülasyonlar üzerinde Bölüm 3.2.15.1’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen analizlere ait veriler Tablo 4-35’te verildi.

Tablo 4-35: Yüksek Devirli Homojenizatör (Ultraturrax) karıştırma hızı parametresinin belirlenmesi çalışmasına ait analiz sonuçları

ANALİZLER	F-07	F-08
pH (25°C ± 2°C)	4,386	4,387
Yoğunluk	1,14	1,141
Viskozite (başlangıç)	244	242
Viskozite (3.ay)	252	256
Partikül büyüklüğü ve dağılımı (d90)	4,79	4,84
Posakonazol miktarı	100,5	101,2

4.12.4. Süspansiyonların Reolojik Özelliklerinin Optimizasyonu Çalışmalarına Ait Bulgular

Tiksotropik akış özelliği gösteren posakonazol süspansiyonların geliştirilmesi için hazırlanan formülasyonlar üzerinde Bölüm 3.2.15.1’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen analizlere ait veriler Tablo 4-36’da verildi.

Tablo 4-36: Süspansiyonların reolojik özelliklerinin optimizasyonu çalışmalarına ait analiz sonuçları

ANALİZLER	F-9	F-10	F-11
pH (25°C ± 2°C)	4,547	4,498	4,49
Yoğunluk	1,128	1,125	1,139
Viskozite (başlangıç)	286	300	236
Partikül büyüklüğü ve dağılımı (d90)	4,79	5,03	4,91
Posakonazol miktarı	98,81	99,16	99,74

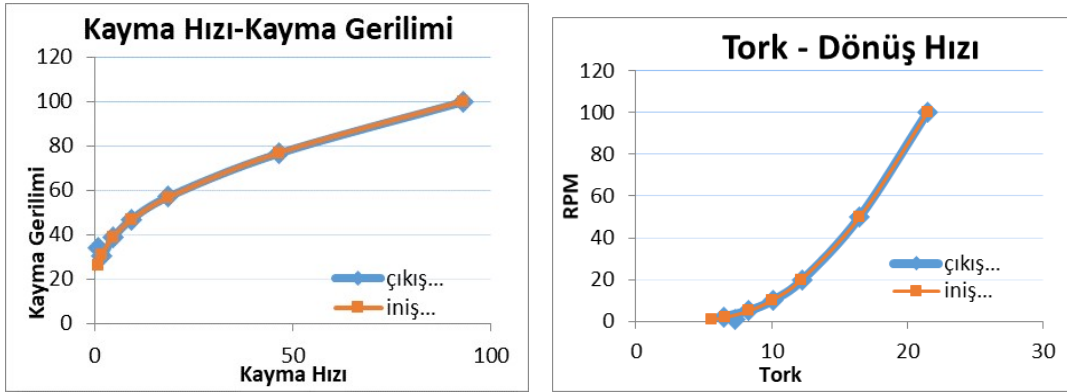
Hazırlanan formülasyonların reolojik özelliklerini gösteren veriler Tablo 4-37 ve Tablo 4-38’de, Kayma hızı-Kayma gerilimi ve Tork-Rpm grafikleri ise Şekil 4-16 ila 4-19’da verildi. Tork-Dönüş Hızı grafiklerinden elde edilen eğri altında kalan alanlar Tablo 4-39’da verildi.

Tablo 4-37: F-04 ve F-09 serilerine ait akış özellikleri

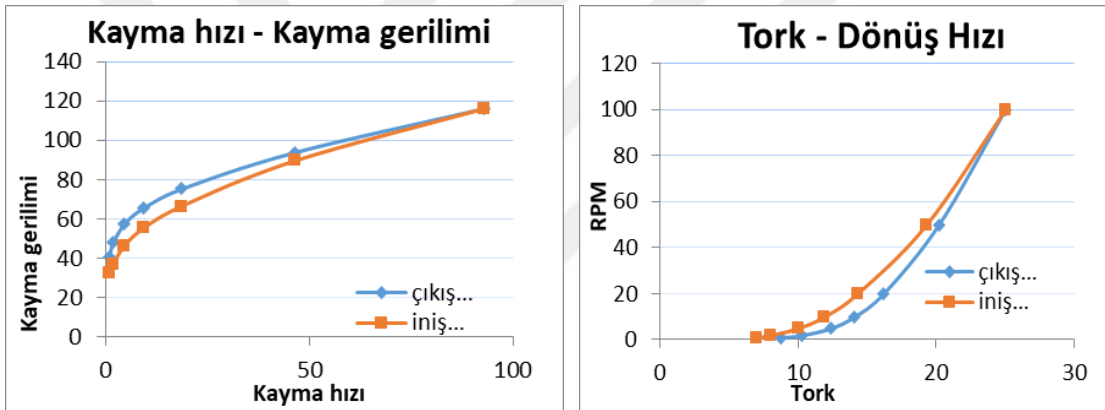
F-04					F-9				
Shear Stress (D/cm ²)	Shear Rate (1/sn)	RPM	Torque	Viscosity	Shear Stress (D/cm ²)	Shear Rate (1/sn)	RPM	Torque	Viscosity
33,95	0,93	1	7,3	3650	44,18	0,93	1	9,5	4750
30,23	1,86	2	6,5	1625	46,97	1,86	2	10,1	2525
38,6	4,65	5	8,3	830	57,66	4,65	5	12,4	1240
46,97	9,3	10	10,1	505	66,03	9,3	10	14,2	710
57,2	18,6	20	12,3	307,5	76,26	18,6	20	16,4	410
76,73	46,5	50	16,5	165	96,25	46,5	50	20,7	207
99,98	93	100	21,5	107,5	119,04	93	100	25,6	128
76,73	46,5	50	16,5	165	92,53	46,5	50	19,9	199
56,73	18,6	20	12,2	305	70,22	18,6	20	15,1	377,5
46,5	9,3	10	10	500	58,59	9,3	10	12,6	630
38,6	4,65	5	8,3	830	49,29	4,65	5	10,6	1060
30,69	1,86	2	6,6	1650	39,99	1,86	2	8,6	2150
26,04	0,93	1	5,6	2800	34,41	0,93	1	7,4	3700

Tablo 4- 38: F-10 ve F-11 serilerine ait akış özellikleri

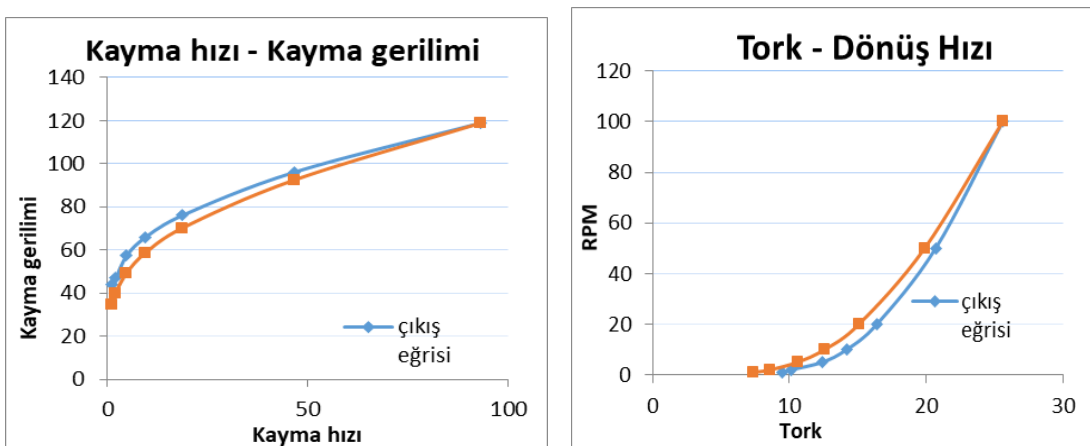
F-10					F-11				
Shear Stress (D/cm ²)	Shear Rate (1/sn)	RPM	Torque	Viscosity	Shear Stress (D/cm ²)	Shear Rate (1/sn)	RPM	Torque	Viscosity
40,92	0,93	1	8,8	4400	21,39	0,93	1	4,6	2300
47,9	1,86	2	10,3	2575	24,64	1,86	2	5,3	1325
57,66	4,65	5	12,4	1240	33,02	4,65	5	7,1	710
65,56	9,3	10	14,1	705	40,92	9,3	10	8,8	440
75,33	18,6	20	16,2	405	50,69	18,6	20	10,9	272
93,93	46,5	50	20,2	202	68,82	46,5	50	14,8	148
116,25	93	100	25	125	90,21	93	100	19,4	97
89,7	46,5	50	19,3	193	68,36	46,5	50	14,7	147
66,5	18,6	20	14,3	357	50,22	18,6	20	10,8	270
55,34	9,3	10	11,9	595	40,92	9,3	10	8,8	440
46,5	4,65	5	10	1000	33,95	4,65	5	7,3	730
37,2	1,86	2	8	2000	26,97	1,86	2	5,8	1450
32,55	0,93	1	7	3500	22,32	0,93	1	4,8	2400



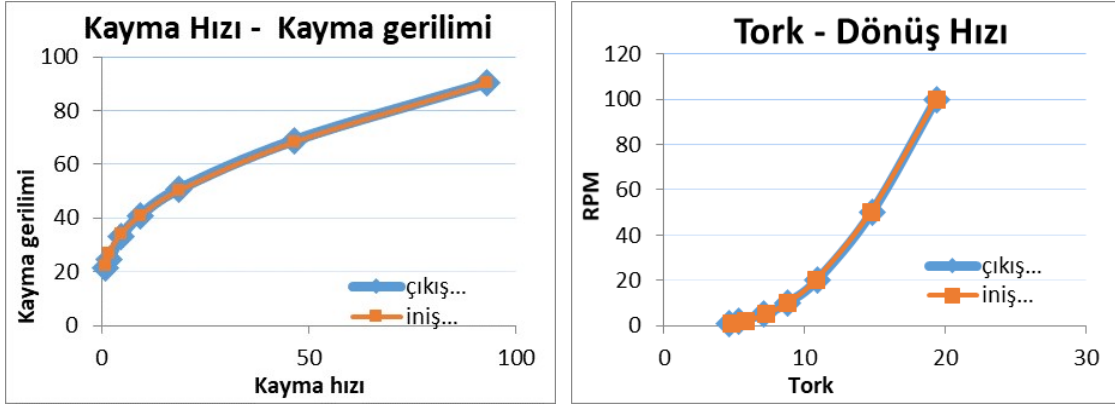
Şekil 4-16: F-04 serisine ait kayma hızına karşı kayma gerilimi grafiği ve torka karşı dönüş hızı grafiği



Şekil 4-17: F-09 serisine ait kayma hızına karşı kayma gerilimi grafiği ve torka karşı dönüş hızı grafiği



Şekil 4-18: F-10 serisine ait kayma hızına karşı kayma gerilimi grafiği ve torka karşı dönüş hızı grafiği



Şekil 4-19: F-11 serisine ait kayma hızına karşı kayma gerilimi grafiği ve torka karşı dönüş hızı grafiği

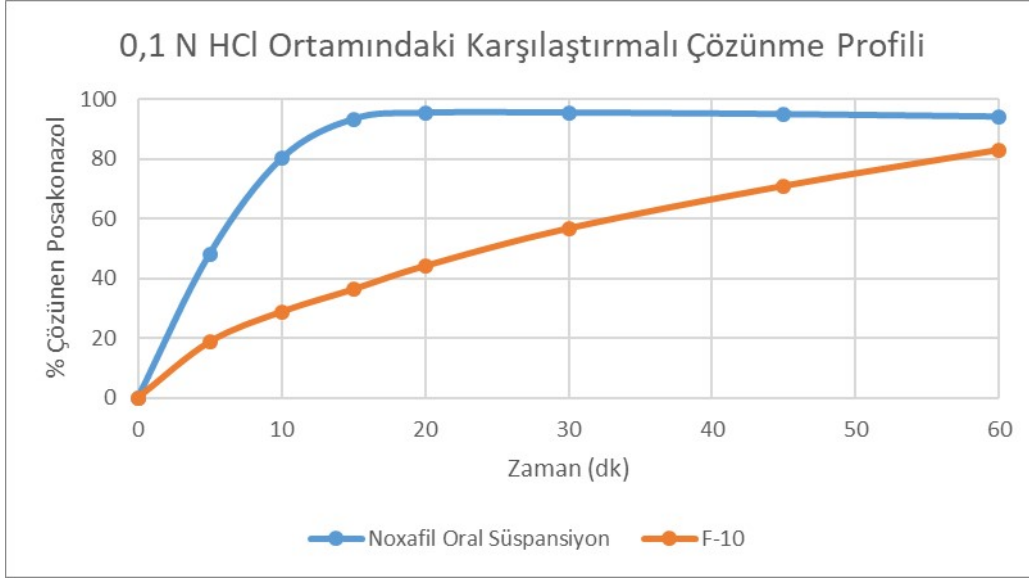
Tablo 4-39: Tork-Dönüş Hızı grafiklerinden elde edilen eğri altında kalan alanlar

Seri Numarası	F-04	F-09	F-10	F-11
Eğri Altında Kalan Alan	5,1	83,35	107,4	3,9

F-10 formülasyonunun in vitro 0,1 N HCl tamponunda çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-40'ta ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-20'de verildi. 0,1 N HCl tamponunda elde edilen sonuçlar çok düşük olduğundan %0.4 SLS içeren Saf su ortamında çözünme hızı analizi gerçekleştirilmedi.

Tablo 4-40: F-10 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-10							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	18,70	28,74	36,27	44,07	56,66	70,90	82,94
SD (±)	0,17	1,42	0,91	1,69	0,99	1,99	1,56
%RSD	0,90	4,94	2,51	3,83	1,74	2,80	1,88
f2	16,13						

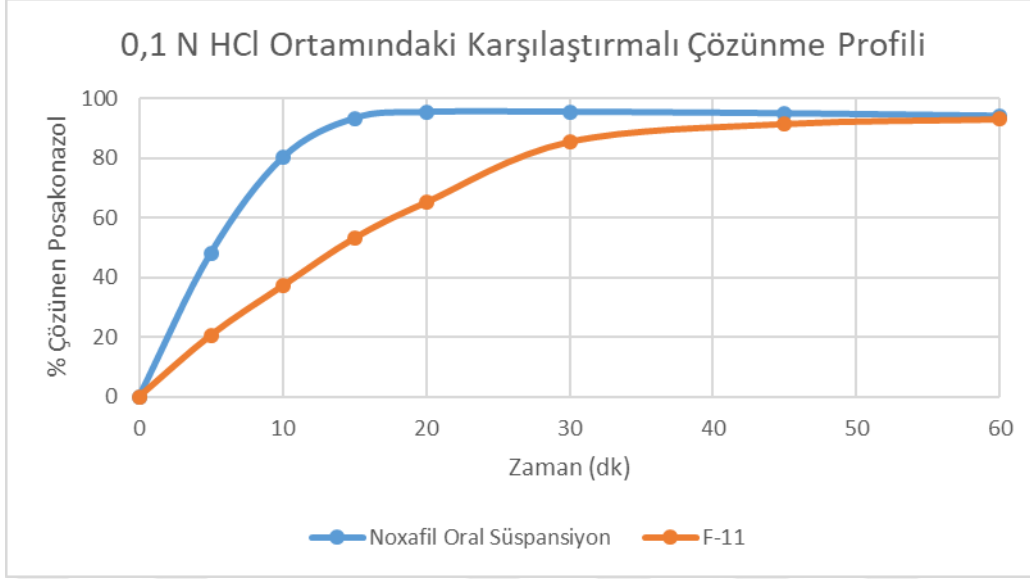


Şekil 4-20: F-10 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-11 formülasyonunun in vitro 0,1 N HCl ortamında çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-41’de ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-21’de verildi. 0,1 N HCl ortamında elde edilen sonuçlar çok düşük olduğundan %0.4 SLS içeren Saf su ortamında çözünme hızı analizi gerçekleştirilmedi.

Tablo 4-41: F-11 serisinin 0,1 N HCl ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-11							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	20,65	37,21	53,22	65,25	85,60	91,59	93,15
SD (±)	1,76	1,19	0,21	0,91	1,32	1,60	0,55
%RSD	8,54	3,20	0,40	1,40	1,54	1,75	0,59
f2	21,28						



Şekil 4-21: F-11 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

4.13. Yaş Öğütme Yöntemi (DynoMill) ile Posakonazol Süspansiyon Formülasyonlarının Geliştirilmesi Çalışmasına Ait Bulgular

Yaş Öğütme Yöntemi (DynoMill) ile farklı parametrelerle ve farklı yardımcı madde oranları ile çalışılarak hazırlanan formülasyonlar üzerinde Bölüm 3.2.15.1’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen analizlere ait veriler Tablo 4-42’de verildi.

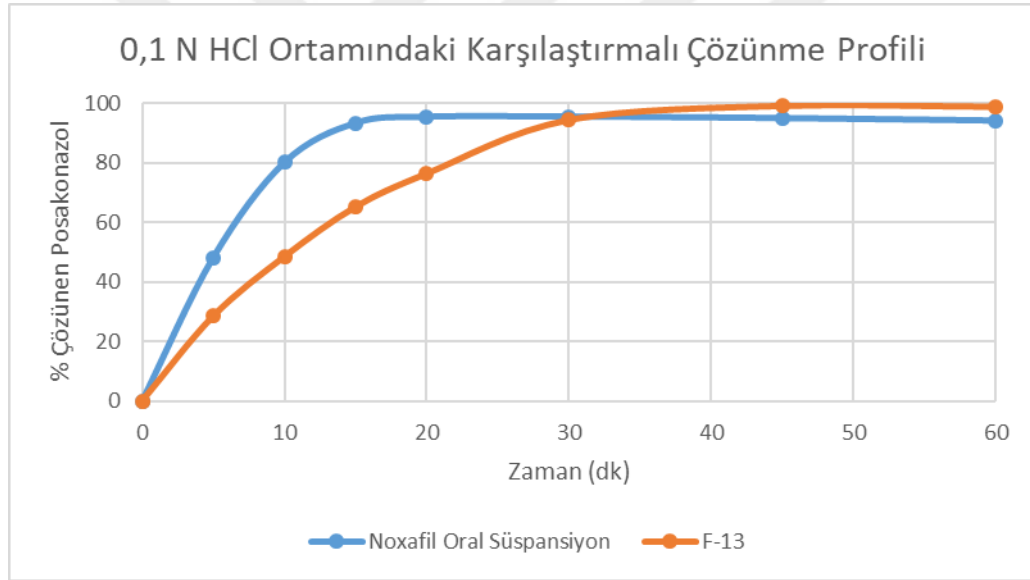
Tablo 4-42: Yaş Öğütme Yöntemi (DynoMill) ile Posakonazol süspansiyon formülasyonlarının geliştirilmesi çalışmasına ait analiz sonuçları

ANALİZLER	F-12	F-13	F-14	F-15	F-16	F-17
pH (25°C ± 2°C)	4,416	4,32	4,39	4,42	4,36	4,38
Yoğunluk	1,106	1,143	1,139	1,14	1,135	1,137
Viskozite (başlangıç)	330	284	275	262	246	202
Partikül büyüklüğü ve dağılımı (d90)	5,03	5,25	4,84	5,53	6,1	4,73
Posakonazol miktarı	100,32	103,4	102,2	100,4	97,8	102,5

F-13 formülasyonunun in vitro 0,1 N HCl tamponunda çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-43'de ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-22'de verildi.

Tablo 4-43: F-13 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-13							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	28,58	48,59	65,30	76,49	94,55	99,26	98,94
SD (±)	2,72	2,98	3,12	3,52	2,80	1,36	1,32
%RSD	9,51	6,14	4,78	4,61	2,96	1,37	1,33
f2	28,47						

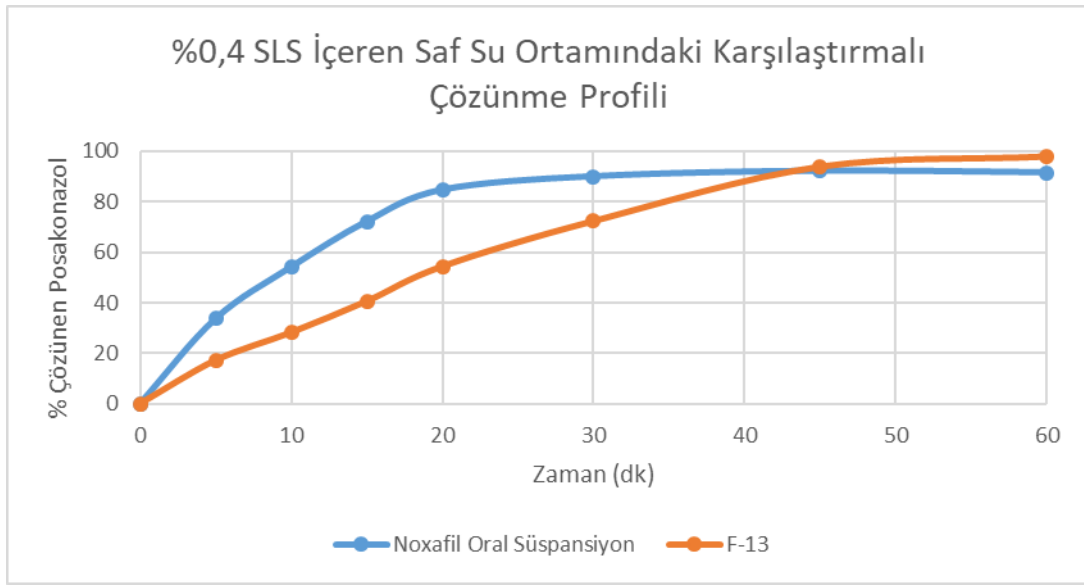


Şekil 4-22: F-13 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-13 formülasyonunun in vitro %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-44'te ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-23'te verildi.

Tablo 4-44: F-13 serisinin %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-13							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	17,22	28,28	40,69	54,48	72,45	94,02	98,04
SD (\pm)	2,13	3,08	2,89	4,47	4,56	2,47	1,58
%RSD	12,36	10,90	7,09	8,20	6,29	2,63	1,61
f2	30,02						

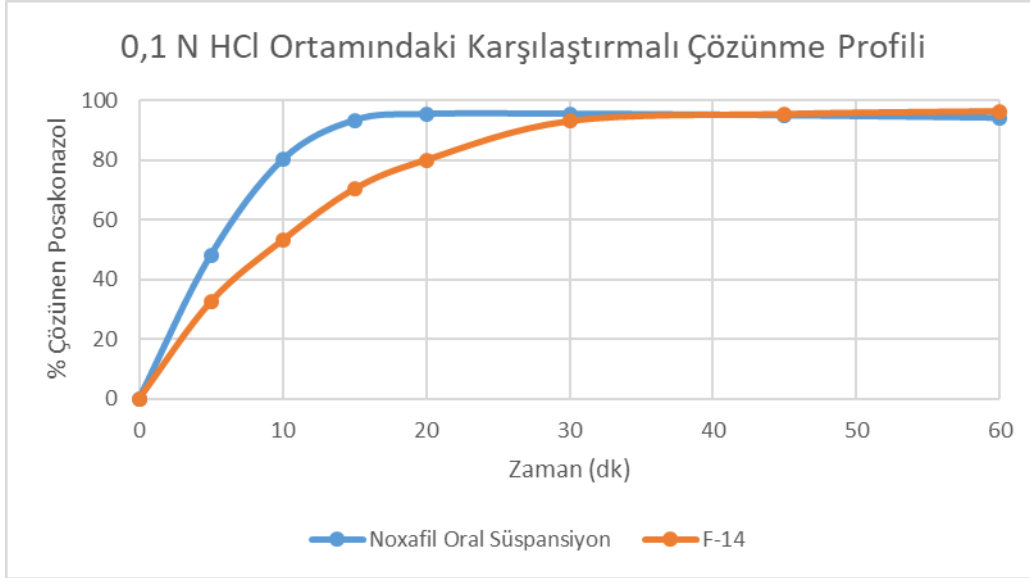


Şekil 4-23: F-13 serisi ve referans ürünün %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-14 formülasyonunun in vitro 0,1 N HCl tamponunda çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-45'te ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-24'te verildi.

Tablo 4-45: F-14 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-14							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	32,52	53,15	70,33	80,06	93,11	95,49	96,42
SD (\pm)	4,23	3,80	4,04	3,06	1,58	0,41	1,00
%RSD	13,01	7,15	5,74	3,83	1,70	0,43	1,04
f2	32,43						

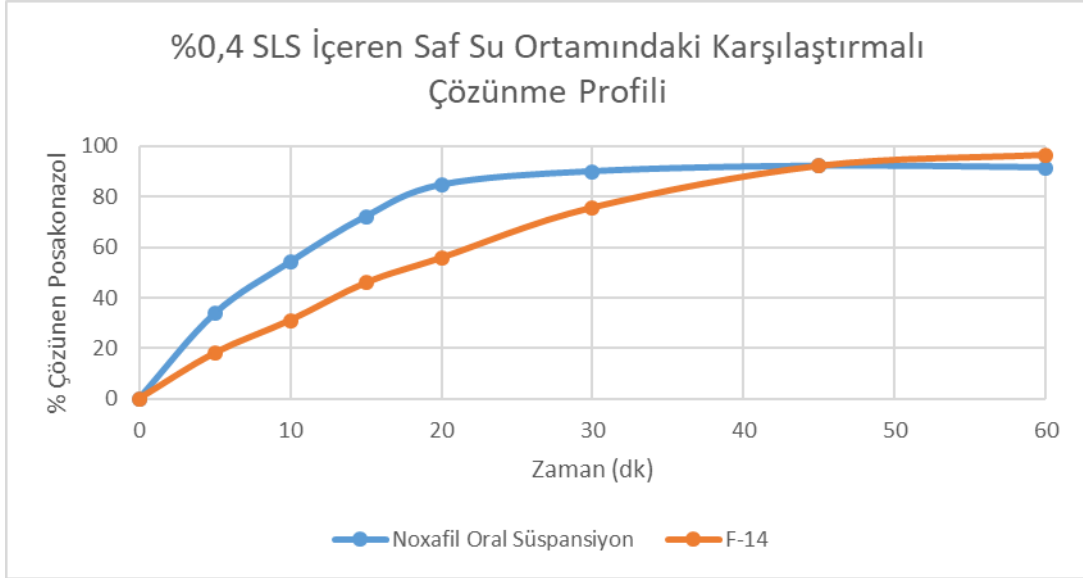


Şekil 4-24: F-14 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-14 formülasyonunun in vitro %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-46'da ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-25'te verildi.

Tablo 4-46: F-14 serisinin %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-14							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	18,11	31,06	45,89	55,78	75,66	92,17	96,49
SD (±)	1,97	2,56	2,52	1,54	1,48	1,46	1,15
%RSD	10,90	8,26	5,49	2,76	1,95	1,58	1,19
f2	32,50						

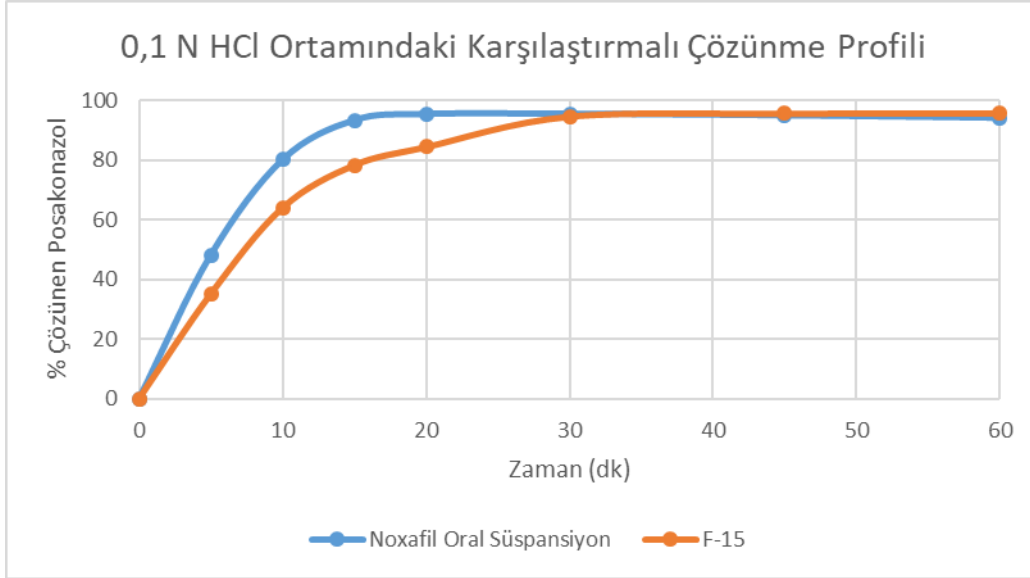


Şekil 4-25: F-14 serisi ve referans ürünün %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-15 formülasyonunun in vitro 0,1 N HCl tamponunda çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-47’de ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-26’da verildi.

Tablo 4-47: F-15 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-15							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	35,17	64,09	78,39	84,49	94,70	95,66	95,84
SD (±)	5,55	4,37	1,37	1,25	0,60	0,28	0,42
%RSD	15,78	6,82	1,74	1,47	0,63	0,29	0,44
f2	41,46						

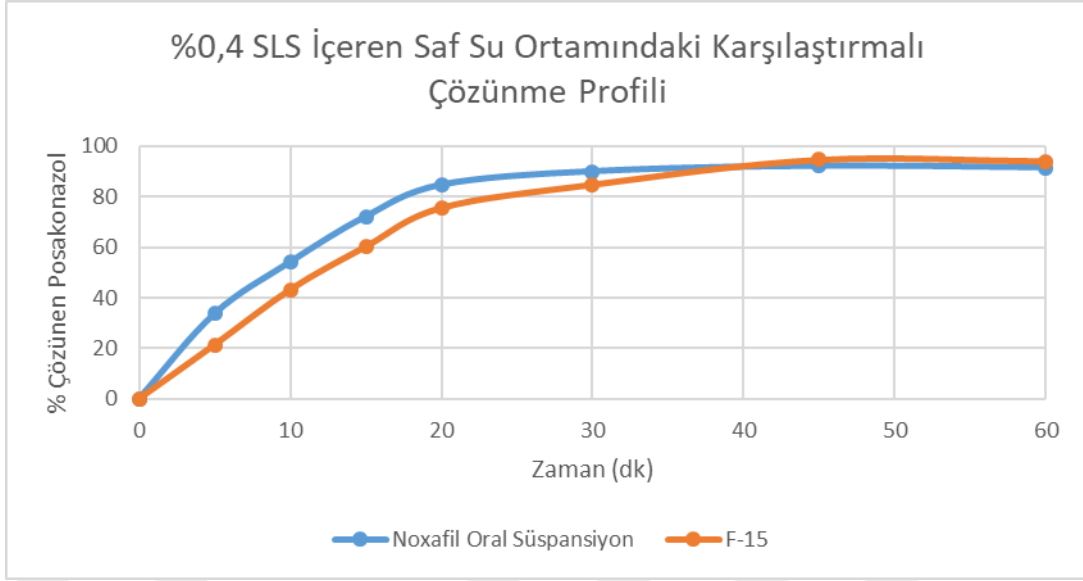


Şekil 4-26: F-15 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-15 formülasyonunun in vitro %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-48’de ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-27’de verildi.

Tablo 4-48: F-15 serisinin %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-15							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	21,38	43,22	60,27	75,61	84,78	94,62	94,01
SD (±)	3,44	3,56	5,05	4,04	2,62	1,37	1,63
%RSD	16,08	8,24	8,37	5,35	3,10	1,45	1,73
f2	49,47						

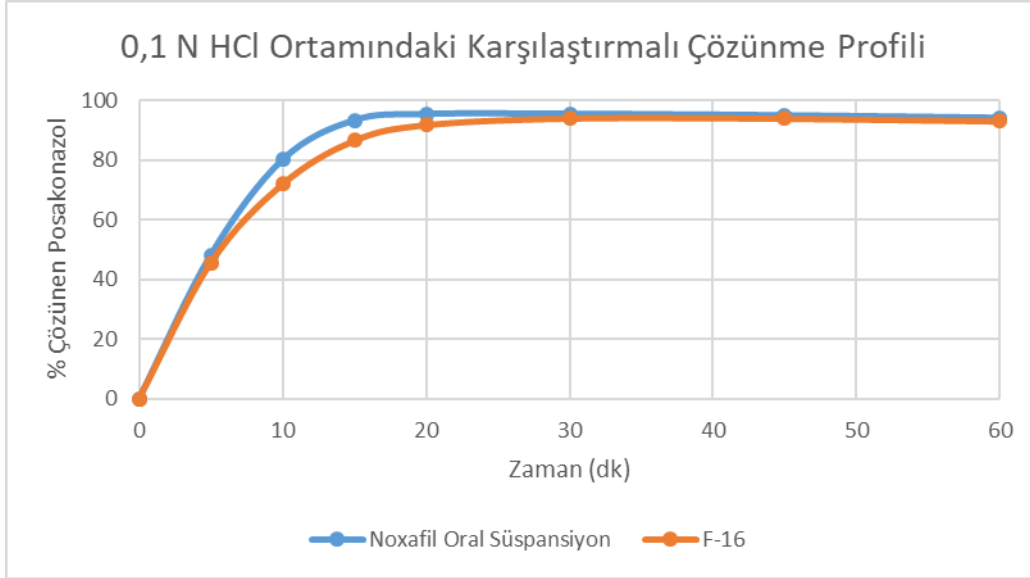


Şekil 4-27: F-15 serisi ve referans ürünün %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-16 formülasyonunun in vitro 0,1 N HCl tamponunda çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-49'da ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-28'de verildi.

Tablo 4-49: F-16 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-16							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	45,65	72,04	86,64	91,89	94,10	94,02	93,13
SD (±)	3,61	3,66	3,90	2,48	1,40	1,15	1,34
%RSD	7,91	5,08	4,50	2,70	1,49	1,22	1,44
f2	59,77						

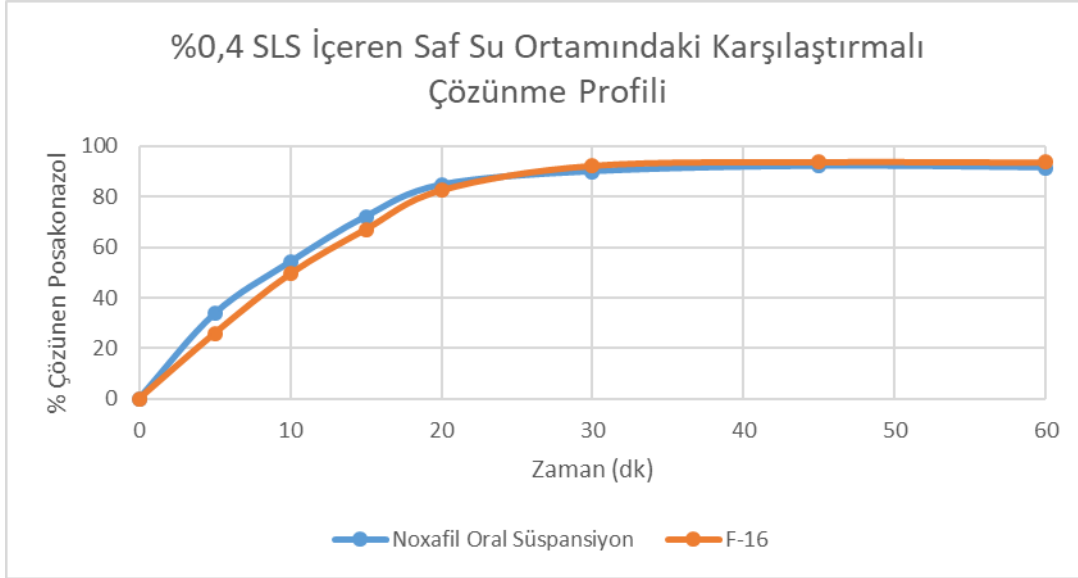


Şekil 4-28: F-16 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-16 formülasyonunun in vitro %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-50'de ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-29'da verildi.

Tablo 4-50: F-16 serisinin %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-16							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	25,95	49,52	67,19	82,65	92,34	93,81	93,60
SD (±)	2,31	4,13	5,73	4,78	2,02	2,24	2,18
%RSD	8,90	8,34	8,54	5,79	2,19	2,39	2,33
f2	65,50						

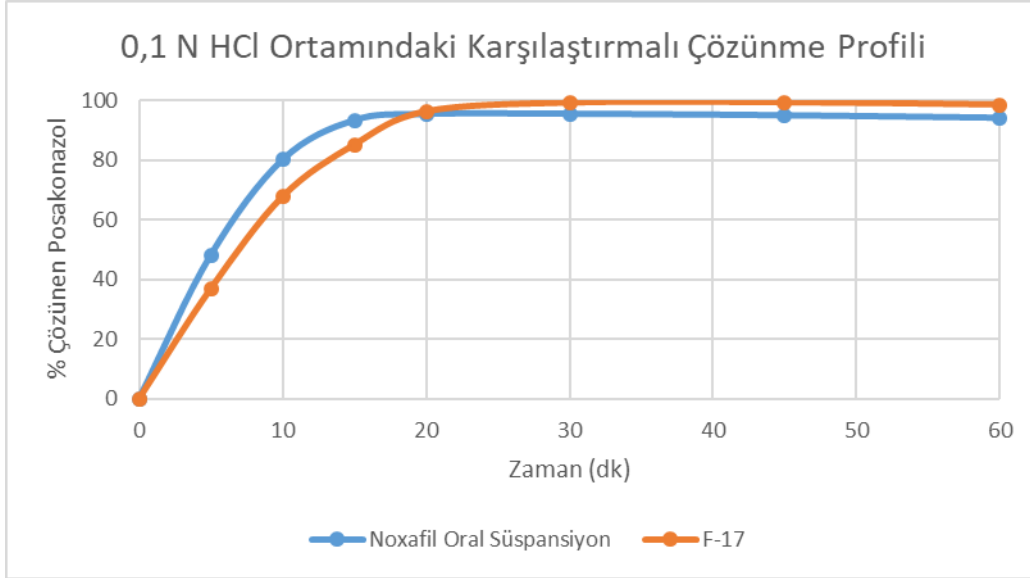


Şekil 4-29: F-16 serisi ve referans ürünün %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-17 formülasyonunun in vitro 0,1 N HCl tamponunda çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-51'de ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-30'da verildi.

Tablo 4-51: F-17 serisinin 0,1 N HCl tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-17							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	36,90	67,74	85,15	96,28	99,26	99,36	98,57
SD (±)	5,48	3,68	4,11	1,52	1,19	1,25	1,36
%RSD	14,85	5,44	4,82	1,58	1,20	1,26	1,38
f2	48,18						

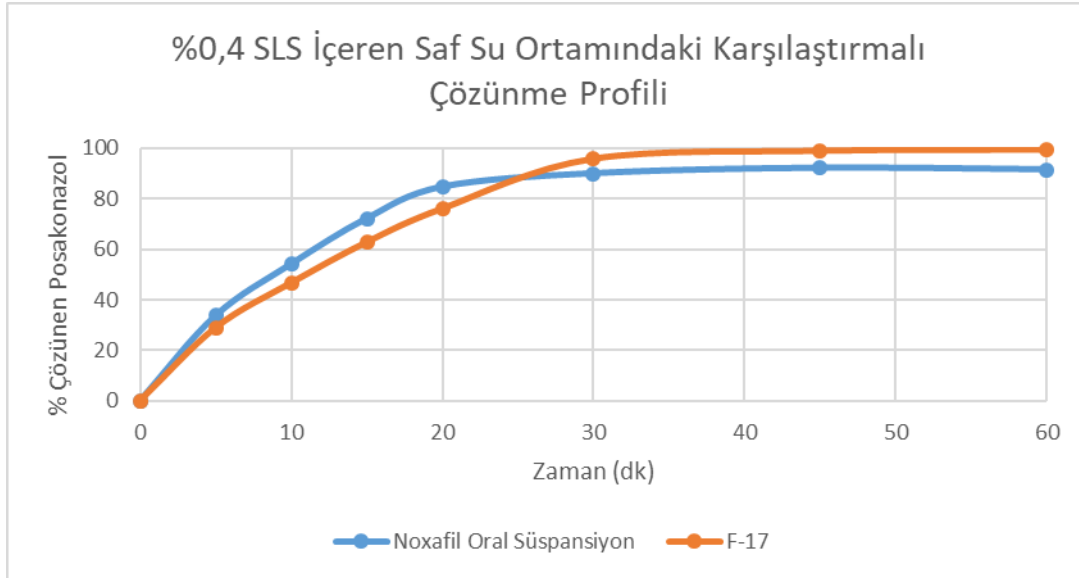


Şekil 4-30: F-17 serisi ve referans ürünün 0,1 N HCl ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-17 formülasyonunun in vitro %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında çözünme hızı verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-52’de ve referans ürünle karşılaştırmalı grafiği de Şekil 4-31’de verildi.

Tablo 4- 52: F-17 serisinin %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-17							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	28,96	46,72	62,81	76,10	95,80	98,95	99,40
SD (±)	3,80	2,89	2,36	1,81	1,52	0,88	0,81
%RSD	13,11	6,19	3,76	2,38	1,59	0,89	0,81
f2	56,45						



Şekil 4-31: F-17 serisi ve referans ürünün %0,4 SLS içeren Saf Su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

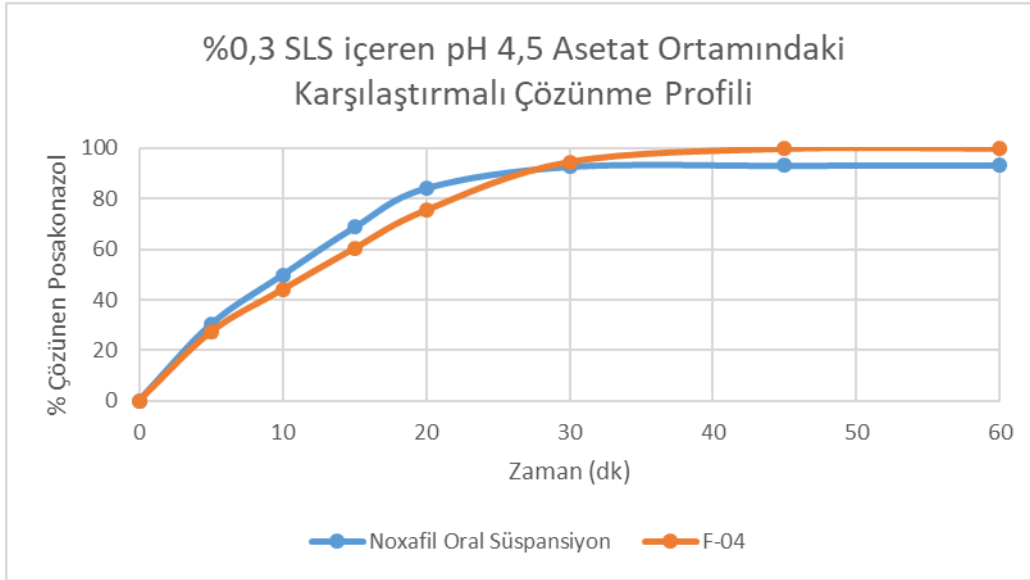
4.14. Seçilen Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

Optimizasyon çalışmaları sonuçlarına göre tüm spesifikasyonları sağlayan ve çözünme hızı analizleri sonucu referans ürüne benzer bulunan formülasyonlar F-04 ve F-16 formülasyonları oldu. Bu formülasyonların gastrointestinal sistemi taklit eden %0,3 SLS içeren pH 4,5 asetat tamponu ve %0,3 SLS içeren pH 6,8 sitrofosfat tamponunda yapılan in vitro çözünme hızı analizleri ve f2 benzerlik faktörü hesaplanmasına ait bulgular aşağıda verildi.

F-04 serisinin %0,3 SLS içeren pH 4,5 asetat tamponunda yapılan çözünme hızı analizine ait verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-53'te, referans ürün ile karşılaştırmalı grafiği Şekil 4-32'de verildi.

Tablo 4-53: F-04 serisinin %0,3 SLS içeren pH 4,5 asetat tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-04							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	27,20	44,01	60,32	75,41	94,53	99,75	99,83
SD (±)	2,80	4,15	4,04	4,30	3,20	0,89	0,80
%RSD	10,29	9,43	6,70	5,70	3,39	0,90	0,80
f2	59,9						

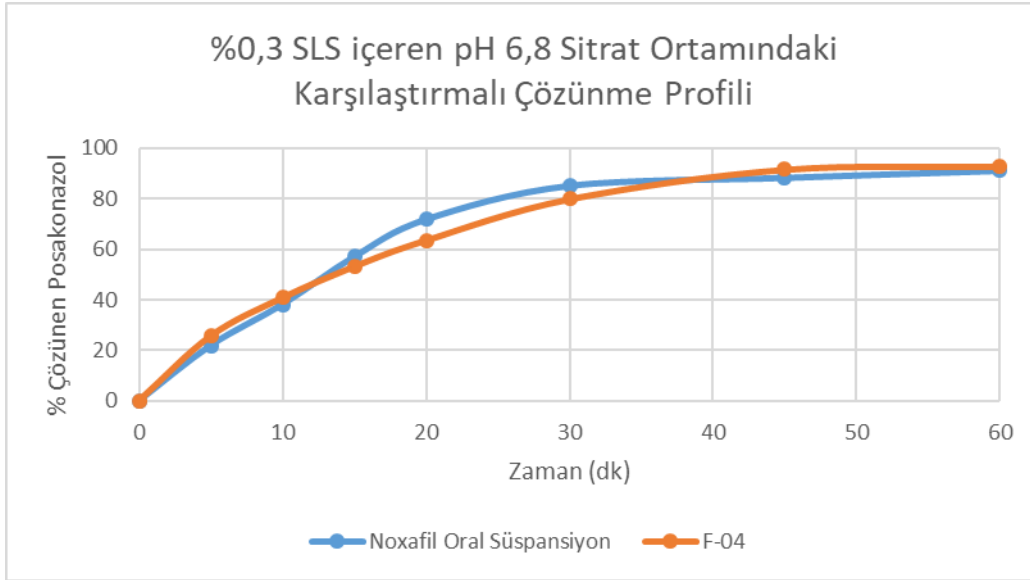


Şekil 4-32: F-04 serisi ve referans ürünün %0,3 SLS içeren pH 4,5 asetat ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-04 serisinin %0,3 SLS içeren pH 6,8 sitrat tamponunda yapılan çözünme hızı analizine ait verileri ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-54'te, referans ürün ile karşılaştırmalı grafiği Şekil 4-33'te verildi.

Tablo 4-54: F-04 serisinin %0,3 SLS içeren pH 6,8 sitrat tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-04							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	25,72	40,86	53,24	63,57	79,91	91,62	92,78
SD (±)	2,67	2,19	3,96	5,07	5,47	4,87	2,00
%RSD	10,39	5,37	7,43	7,98	6,85	5,32	2,15
f2	64,00						

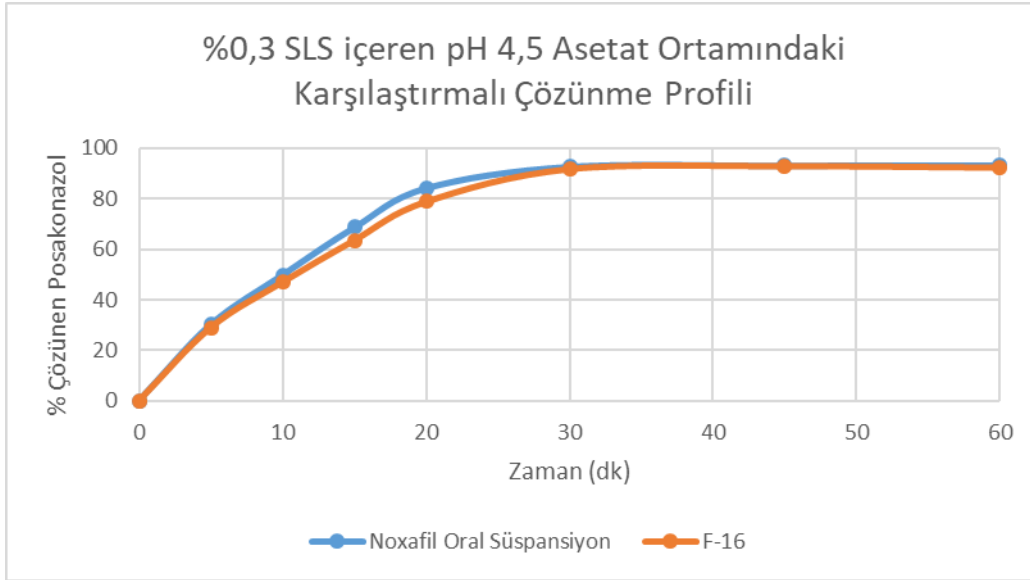


Şekil 4-33: F-04 serisi ve referans ürünün %0,3 SLS içeren pH 6,8 sitrat tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-16 serisinin %0,3 SLS içeren pH 4,5 asetat tamponunda yapılan çözünme hızı analizine ait veriler ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-55'te, referans ürün ile karşılaştırmalı grafiği Şekil 4-34'te verildi.

Tablo 4- 55: F-16 serisinin %0,3 SLS içeren pH 4,5 asetat tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-16							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	29,05	47,01	63,59	78,88	91,83	92,99	92,40
SD (±)	2,46	2,57	3,58	5,32	1,30	0,12	0,76
%RSD	8,48	5,46	5,63	6,75	1,42	0,13	0,82
f2	71,19						

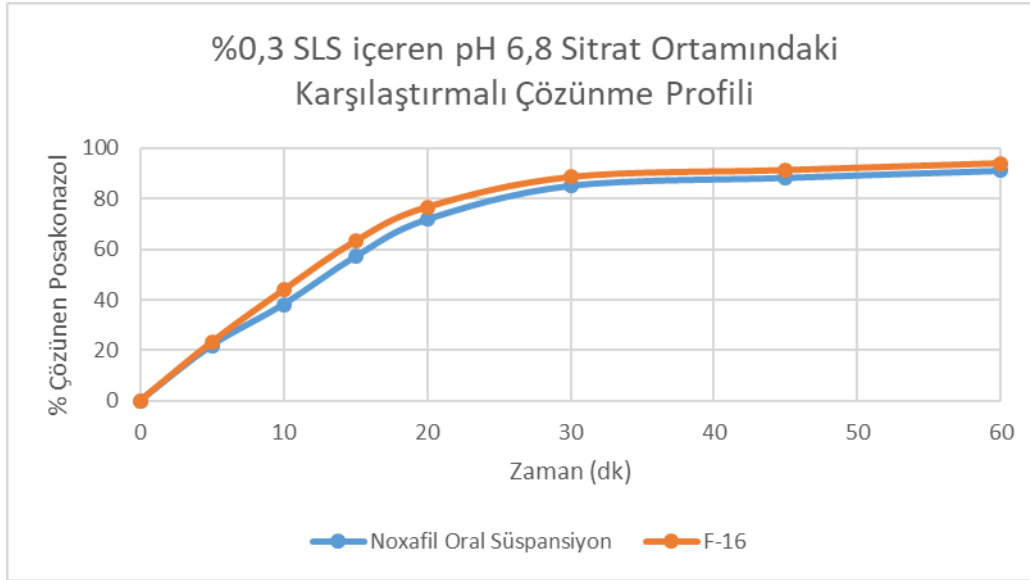


Şekil 4-34: F-16 serisi ve referans ürünün %0,3 SLS içeren pH 4,5 asetat ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

F-16 serisinin %0,3 SLS içeren pH 6,8 sitrat ortamında yapılan çözünme hızı analizine ait veriler ve f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonuçları Tablo 4-56'da, referans ürün ile karşılaştırmalı grafiği Şekil 4-35'te verildi.

Tablo 4- 56: F-16 serisinin %0,3 SLS içeren pH 6,8 sitrat tamponunda referans ürünle karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait sonuçlar

F-16							
Zaman (dk)	5.	10.	15.	20.	30.	45.	60.
Ort. (%)	23,28	43,92	63,22	76,72	88,61	91,37	94,07
SD (±)	1,75	3,02	3,80	2,95	0,81	0,69	0,89
%RSD	7,50	6,88	6,01	3,84	0,91	0,76	0,94
f2	66,23						



Şekil 4-35: F-16 serisi ve referans ürünün %0,3 SLS içeren pH 6,8 sitrat tamponunda gerçekleştirilen çözünme hızı analizine ait karşılaştırmalı çözünme profili

4.15. Stabilite Çalışmalarına Ait Bulgular

F-04 ve F-16 serilerinin uzun dönem koşullarındaki stabilite çalışması sonucu Tablo 4-57’de, ara dönem koşullarındaki stabilite çalışmaları sonucu Tablo 4-58’de ve hızlandırılmış koşullardaki stabilite çalışması sonuçları Tablo 4-59’da verildi.

Tablo 4-57: F-04 ve F-16 serilerinin uzun dönem stabilite çalışması sonuçları

Çalışma Koşulları: 25°C ± 2°C / %60 ± %5 Bağıl Nem		Başlangıç		3.AY		6.AY	
TESTLER	SPESİFİKASYON	F-04	F-16	F-04	F-16	F-04	F-16
pH (25°C ± 2°C)	4,00 – 5,00	4,34	4,36	4,45	4,46	4,43	4,45
Yoğunluk (g/mL)	1,00-1,30 g/ml	1,14	1,14	1,13	1,14	1,13	1,13
Viskozite (cps)	220-290 cps	240	246	254	260	258	256
Çözünme Hızı (15 dk)	Q=%80,0	%93,1	86,6%	%90,9	92,80%	%91,40	92,70%
Miktar Tayini (Posakonazol)	40 mg ± %10 = 36,0 mg – 44,0 mg/ml	41,3 (103,2)	39,1 (97,8)	40,4	40,1	40,2	40,2
Miktar Tayini (Sodyum benzoat)	2 mg ± %10 = 1,80 mg – 2,20 mg/ml	2,01	2,04	2,01	2,04	1,99	2,02
İlgili Bileşikler	Bilinmeyen her bir safsızlık Maks. % 0,2	0,047%	0,048%	0,045%	0,052%	0,049%	0,050%
	Toplam Safsızlık Maks. % 0,5	0,227%	0,247%	0,223%	0,255%	0,231%	0,251%

Tablo 4-58: F-04 ve F-16 serilerinin ara dönem stabilite çalışması sonuçları

Çalışma Koşulları: 30°C± 2°C / %65 ± %5 Bağıl Nem							
TESTLER	SPESİFİKASYON	Başlangıç		3.AY		6.AY	
		F-04	F-16	F-04	F-16	F-04	F-16
pH (25°C ± 2°C)	4,00 – 5,00	4,34	4,36	4,42	4,45	4,43	4,44
Yoğunluk (g/mL)	1,00-1,30 g/ml	1,14	1,135	1,13	1,14	1,12	1,13
Viskozite (cps)	220-290 cps	240	246	248	255	252	250
Çözünme Hızı (15 dk)	Q=%80,0	%93,1	86,6%	%90,6	92,50%	%91,2	92,30%
Miktar Tayini (Posakonazol)	40 mg ± %10 = 36,0 mg – 44,0 mg/ml	41,3 (103,2)	39,1 (97,8)	40,2	40,00	40,1	40,00
Miktar Tayini (Sodyum benzoat)	2 mg ± %10 = 1,80 mg – 2,20 mg/ml	2,01	2,04	2,00	2,03	1,99	2,02
İlgili Bileşikler	Bilinmeyen her bir safsızlık Maks. % 0,2	0,047%	0,048%	0,047%	0,052%	0,051%	0,0530%
	Toplam Safsızlık Maks. % 0,5	0,227%	0,247%	0,225%	0,256%	0,240%	0,258%

Tablo 4-59: F-04 ve F-16 serilerinin hızlandırılmış stabilite çalışması sonuçları

Çalışma Koşulları: 40°C± 2°C / %75 RH ± %5							
TESTLER	SPESİFİKASYON	Başlangıç		3.AY		6.AY	
		F-04	F-16	F-04	F-16	F-04	F-16
pH (25°C ± 2°C)	4,00 – 5,00	4,34	4,36	4,41	4,44	4,41	4,44
Yoğunluk (g/mL)	1,00-1,30 g/ml	1,14	1,135	1,12	1,13	1,13	1,13
Viskozite (cps)	220-290 cps	240	246	251	253	261	257
Çözünme Hızı (15 dk)	Q=%80,0	%93,1	86,6%	%91,1	92,50%	%90,7	92,20%
Miktar Tayini (Posakonazol)	40 mg ± %10 = 36,0 mg – 44,0 mg/ml	41,3 (103,2)	39,1 (97,8)	39,9	39,9	39,9	39,9
Miktar Tayini (Sodyum benzoat)	2 mg ± %10 = 1,80 mg – 2,20 mg/ml	2,01	2,04	1,99	2,01	1,99	1,99
İlgili Bileşikler	Bilinmeyen her bir safsızlık Maks. % 0,2	0,047%	0,048%	0,051%	0,054%	0,054%	0,055%
	Toplam Safsızlık Maks. % 0,5	0,227%	0,247%	0,239%	0,259%	0,246%	0,264%

5. TARTIŞMA

Son 20 yıldır farklı ekosistemlerde mantar enfeksiyonları büyük ölçüde artmıştır. Bu süre içinde mantar enfeksiyonlarının tedavisinde karşılaşılan en büyük sorun mantar türlerinin tedavilere direnç geliştirmesi olmuştur (von Lilienfeld-Toal ve ark. 2019). Bu nedenle yeni mantar tedavisi ilaç araştırmalarında antifungal ilaçların toksisitenin azaltılması, biyoyararlanımın artırılması, antifungal spektrumun iyileştirilmesi ve özellikle ilaca karşı gelişen dirençle mücadeleye odaklanılmıştır. Birinci nesil triazolollerin kullanımları, bazı toksisite kaynaklı sebepler ve direnç gelişimi nedeniyle kısıtlanmaktadır. Bu kısıtlamaların üstesinden gelmek için; patojenlere karşı daha etkili ve dirençli olan vorikonazol, posakonazol, ravukonazol, isavukonazol ve albakonazol gibi ikinci nesil triazololler piyasaya çıkmıştır (Girmania 2009).

Posakonazol geniş spektrumlu, triazol grubu bir antifungal ajandır. Diğer antifungal tedavilere dirençli veya tolerans göstermeyen invaziv mantar enfeksiyonunun (aspergilloz, fusarioz ve zigomikoz dahil) tedavisinde ve profilaksisinde, azol-dirençli orofarengeal ve/veya özofageal kandidiyazisin tedavisinde ve ateşli nötropeni tedavisinde endikedir (Keating 2005). Posakonazol mantar enzimi lanosterol 14-alfa-demetilazı inhibe ederek etki göstermektedir. Bu enzimin inhibisyonuyla mantar hücre duvarlarının oluşumu için hayati önem taşıyan ergosterol sentezi de inhibe edilmektedir. Böylece mantar hücresinde, hücre duvarı anormallikleri, hücre ölümü ya da körelmiş hücre büyümesi görülmektedir (Greer 2007). Posakonazolün en önemli üstünlükleri; geniş spektrumlu olması ve *Aspergillus* dahil flukonazole dirençli mantar türlerine karşı etkili olmasıdır (Peyton ve ark. 2015).

Posakonazol suda çözünürlüğü düşük ancak permeabilitesi yüksek olan BCS Sınıf II bir moleküldür (Hens ve ark. 2016). Çözünürlüğü zayıf olan ilaçların, biyoyararlanımlarının artırılması için ince partikül boyutuna sahip koloidal süspansiyon formları hazırlanabilmektedir. Farmasötik süspansiyonlar karakteristik bir partikül boyutu dağılımına sahiptir. Süspansiyonların partikül büyüklüğü dağılımını etkileyen faktörler; etken maddenin partikül boyutu ve dağılımı, etken maddenin çözünürlüğü ve kristal özellikleri ile sıcaklıktır (Desu ve ark. 2014).

İlaç kristallerinin boyutunun küçültülmesinin, suda az çözünen ilaçların çözünme hızını ve biyoyararlanımını iyileştirmek için uygun bir yaklaşım olduğu bilinmektedir (Afolabi ve ark. 2014). Süspansiyon formülasyonu geliştirilirken partikül büyüklüğünün küçültülmesi ve partiküllerin homojen dağılımının sağlanması için sıklıkla yaş öğütme yöntemleri kullanılmaktadır. Farmasötik alanda yaygın olarak kullanılan iki tip yaş öğütücü vardır. Bunlar; rotor-stator öğütücüler ve ortam (boncuk) öğütücülerdir (Morales ve ark. 2012).

Rotor-stator öğütücüler ile elde edilecek partikül büyüklüğünü etkileyen önemli parametreler rotor-stator çiftlerinin arasındaki boşluğun (gap açıklığı) büyüklüğü ve rotorun dönme hızıdır. Ortam öğütme prosesi için önemli parametreler ise öğütme süresi, öğütme ortamının özellikleri (boncuk boyutu ve miktarı), öğütme hızı ve çalışılan ürün miktarıdır (Peltonen 2018).

Tez çalışmasında düşük çözünürlüğe sahip posakonazol etken maddesi ile süspansiyon formülasyonları geliştirildi. Posakonazolün çözünürlüğünü arttırmak ve daha kararlı süspansiyonlar geliştirilebilmek için farklı öğütme yöntemlerinin etkisi değerlendirildi. Rotor-stator öğütücü cihaz olarak Ultraturrax cihazı kullanıldı ve farklı karıştırma hızları ile formülasyonlar hazırlandı. Boncukla öğütücü olarak DynoMill cihazı kullanıldı, farklı öğütme hızları ve farklı devir sayısı ile formülasyonlar hazırlandı. Her iki cihaz için de söz konusu parametrelerin süspansiyonlarda etken madde çözünme hızına ve kimyasal stabilitesine olan etkisi değerlendirildi.

Çalışmada öncelikle, Posakonazol ve Sodyum Benzoat'a ait HPLC miktar tayini yöntemi, HPLC ilgili bileşikler tayin yöntemi ve HPLC çözünme hızı analiz yöntemi geliştirildi ve yöntemlerin validasyon çalışmaları yapıldı. ICH Q2 kriterlerine uygun olarak doğruluk, seçicilik, doğruluk, kesinlik ve güvenilirlik parametreleri incelendi.

Posakonazol ve sodyum benzoat HPLC miktar tayini yöntemi validasyonu için ilk olarak gerçekleştirilen doğruluk çalışmasında %10-150 derişimleri arasında 7 noktalı bir kalibrasyon doğrusu oluşturuldu. Sodyum benzoat için doğruluk denklemi $y=86459759,1552x + 2661,9374$ ve R2 değeri 0,9999 olarak bulundu. (Tablo 4-1 ve Şekil 4-7). Posakonazol için doğruluk denklemi $y=23803904.7523x - 51308.2421$ ve R2 değeri 0,9999 olarak bulundu. (Tablo 4-2 ve Şekil 4-8).

Seçicilik çalışmasında hareketli faz, seyreltme çözeltisi, plasebo çözeltisi, plasebo ve standart çözeltisi, standart çözeltisi, test çözeltisi ve sistem uygunluğu

çözeltisi enjeksiyonları için kromatogramlar incelendi. Sodyum benzoat ve Posakonazol'un alıkonma zamanında başka bir pike rastlanmadı.

Doğruluk çalışması için düşük (%80), orta (%100) ve yüksek (%120) derişimlerde 9 adet çözelti hazırlandı. Her bir çözelti için ayrı ayrı hesaplanan geri kazanım değerleri Sodyum benzoat için de Posakonazol için de %95-%105 aralığında bulundu (Tablo 4-4 ve 4-5).

Cihaz kesinliğinin değerlendirilmesi için sodyum benzoat test ve standart çözeltileri ile posakonazol test ve standart çözeltilerinin 6'şar ardışık enjeksiyonu sonucunda elde edilen RSD değerleri %0,85'ten küçük bulundu (Tablo 4-6, Tablo 4-7).

Çözelti stabilitesinin değerlendirilmesi için; sodyum benzoat standart ve test çözeltileri ile Posakonazol standart ve test çözeltilerinden başlangıçta, 6 saat sonra, 24 saat sonra ve 48 saat sonra yapılan 3'er enjeksiyon sonucu elde edilen sonuçların başlangıç değeri ile kıyaslanarak %değişim değerleri hesaplandı. Değişim değeri başlangıç değerinin %2'sinden küçük olduğundan standart ve test çözeltileri oda ve buzdolabı koşullarında 48 saat boyunca stabil bulundu (Tablo 4-8, Tablo 4-9).

Yapılan bütün validasyon parametrelerine ait çalışmalar sonucunda Posakonazol için geliştirilen HPLC miktar tayini yönteminin ICH Q2'de belirtilen kriterlere göre geçerliliği gösterildi. Analizlerde yöntemin kullanılmasına karar verildi.

Posakonazol HPLC ilgili bileşikler tayin yöntemi için %LOD değeri 0,0028, %LOQ değeri ise 0,0084 olarak bulundu. HPLC ilgili bileşikler tayini yöntemi validasyonu doğrusallık çalışmasında %LOQ (%4,2)-120 derişimleri arasında 7 noktalı bir kalibrasyon doğrusu oluşturuldu. Doğrusallık denklemi $y=22324021.7103x-233.4227$ ve R2 değeri 0,9999 olarak bulundu. (Tablo 4-12 ve Şekil 4-9).

Seçicilik çalışmasında seyreltme çözeltisi, hareketli faz, plasebo çözeltisi, plasebo + limit konsantrasyonda hammadde çözeltisi, limit konsantrasyonda hammadde çözeltisi, test konsantrasyonunda hammadde çözeltisi ve sistem uygunluğu çözeltisi enjeksiyonları için kromatogramlar incelendi. Posakonazol ve ilgili safsızlıkların alıkonma zamanında başka pike rastlanmadı (Tablo 4-13).

Doğruluk çalışması için % LOQ, %80, %100 ve %120 konsantrasyonlarında 12 adet çözelti hazırlandı. Her bir çözelti için ayrı ayrı hesaplanan geri kazanım değerleri %80-%120 aralığında bulundu (Tablo 4-14).

Cihaz kesinliğinin değerlendirilmesi için limit konsantrasyonda Posakonazol içeren standart çözeltinin en az 6 ardışık enjeksiyonu 6'şar ardışık enjeksiyonu sonucunda elde edilen RSD değerleri %5'ten az bulundu (Tablo 4-15).

Çözelti stabilitesinin değerlendirilmesi için; standart çözülden ve safsızlık sayısının takibi için %100'lük test çözeltisinden başlangıçta, 6 saat sonra, 24 saat sonra ve 48 saat sonra yapılan 3'er enjeksiyon sonucu elde edilen sonuçların başlangıç değeri ile kıyaslanarak %değişim değerleri hesaplandı. Değişim değeri başlangıç değerinin %10'undan küçük olduğundan standart çözeltisinin oda ve buzdolabı koşullarında 48 saat boyunca stabil olduğu, test çözeltisinin değişim değeri başlangıç değerinin %10'undan büyük olduğundan oda ve buzdolabı koşullarında stabil olmadığı bulundu (Tablo 4-16, Tablo 4-17).

Yapılan bütün validasyon parametrelerine ait çalışmalar sonucunda Posakonazol için geliştirilen HPLC ilgili bileşikler tayini yönteminin ICH Q2'de belirtilen kriterlere göre geçerliliği gösterildi. Analizlerde yöntemin kullanılmasına karar verildi.

Posakonazol HPLC çözünme hızı analiz yöntemi validasyonu doğrularlık çalışmasında %10-150 derişimleri arasında 7 noktalı bir kalibrasyon doğrusu oluşturuldu. Doğrusallık denklemi $y=31306147.6570x + 2564.9249$ ve r^2 değeri 0,9999 olarak bulundu. (Tablo 4-18 ve Şekil 4-10).

Seçicilik çalışmasında hareketli faz, çözünme ortamı, plasebo çözeltisi, test çözeltisi, plasebo + standart çözeltisi, standart çözeltisi, ve sistem uygunluğu çözeltisi enjeksiyonları için kromatogramlar incelendi. Posakonazol'ün alıkonma zamanında başka bir pike rastlanmadı (Tablo 4-19).

Doğruluk çalışması için %20, %80, %100 %120 konsantrasyonlarda 12 adet çözelti hazırlandı. Her bir çözelti için ayrı ayrı hesaplanan geri kazanım değerleri %97-%103 aralığında bulundu (Tablo 4-20).

Cihaz kesinliğinin değerlendirilmesi için test ve standart çözümlerin 6'şar ardışık enjeksiyonu sonucunda elde edilen RSD değerleri %0,85'ten az bulundu (Tablo 4-21).

Çözelti stabilitesinin değerlendirilmesi için; standart ve test çözümlerinden başlangıçta, 6 saat sonra, 24 saat sonra ve 48 saat sonra yapılan 3'er enjeksiyon sonucu elde edilen sonuçların başlangıç değeri ile kıyaslanarak % değişim değerleri hesaplandı.

Değişim değeri başlangıç değerinin %2'sinden küçük olduğundan standart ve test çözeltileri oda ve buzdolabı koşullarında 48 saat boyunca stabil bulundu (Tablo 4-22).

Yapılan bütün validasyon parametrelerine ait çalışmalar sonucunda Posakonazol için geliştirilen HPLC çözünme hızı analiz yönteminin ICH Q2'de belirtilen kriterlere göre geçerliliği gösterildi. Analizlerde yöntemin kullanılmasına karar verildi.

Formülasyon geliştirme çalışmalarına başlamadan önce posakonazol süspansiyon dozaj formu için FDA tarafınan önerilen çözünme ortamında ve gastrointestinal sistemin fizyolojik pH'larını taklit eden 3 farklı ortamda (0,1 N HCl, pH 4,5 asetat tampon ve pH 6,8 sitrofosfat tampon çözeltileri) çözünürlük çalışması yapıldı. Posakonazolün pH 4,5 asetat ve pH 6,8 sitrofosfat tampon çözeltilisinde çözünmediği, 0,1 N HCl, %0,3 sodyum lauril sülfat ve %0,4 sodyum lauril sülfat içeren pH 4,5 asetat ve pH 6,8 sitrofosfat tampon çözeltilisinde de sink koşulu sağlamadığı saptandı (Tablo 4-23).

Liu ve ark. tarafından nanosüspansiyonların çözünme hızı üzerine yapılan bir çalışmada, kullanılan numune miktarı etken maddenin ortamdaki çözünürlüğü civarında olduğunda, en yavaş çözünme hızının ve en ayırt edici çözünme eğrilerinin elde edilebileceği gösterilmiştir (Liu ve ark. 2013). Çözünme hızı çalışması sırasında posakonazol süspansiyonların tek seferde kullanılan en yüksek dozu olan 10 ml süspansiyon ile çalışıldı. 10 ml süspansiyonda bulunan 400 mg posakonazolün çözünmesi için gereken en düşük 0,1 N HCl tamponu miktarı 419 ml ve en düşük %0,4 SLS içeren Saf Su ortamı miktarı 606 ml olarak belirlendi. Bahsi geçen ortamlarda sink koşul sağlanmamasına rağmen 900 ml çözünme ortamı kullanılarak referans ürün ile çözünme hızı analizleri yapılmasına ve çözünme profillerinin incelenmesine karar verildi. Böylece en ayırt edici yöntem elde edilmeye çalışıldı.

Düşük çözünürlüğe sahip süspansiyon dozaj formlarının çözünme hızı testlerinde palet Yöntemi (USP II) ile standart USP çözünme kapları kullanıldığında ve bu koşullarda yaygın olarak kullanılan 50 rpm dönüş hızında çalışıldığında sonuçlar arasında varyasyon görülebilmektedir. Palet yöntemi ile çalışılırken karşılaşılan ve sonuçlar arasında değişkenliğe de sebep olan en önemli sorunlardan biri test edilen ürünün çözünme kabının dibinde koni oluşturmalarıdır (Baxter ve ark. 2006). Özellikle yüksek yoğunluğu olan yardımcı maddelere sahip formülasyonlar kabın dibinde koni oluşturma eğilimindedirler. Bu durum, ürün ile temas halinde olan çözücü yüzey alanını

azaltmakta ve sonuç olarak çözünme hızını etkilemektedir (Mirza ve ark. 2005). Bu etkiyi ortada kaldırmak için pik şeklinde çözünme kapları (PEAK™ Vessel) piyasa çıkarılmıştır. Bu kapların boyutları standart USP çözünme kapları ile aynı olacak şekilde tasarlanmıştır. En büyük farkları ise, kabın tabanında ters çevrilmiş koni şeklinde bir yapının bulunmasıdır (Beckett ve ark. 1996).

Pik şekilli çözünme kapları, standart USP çözünme kaplarına kıyasla etkin madde çözünme hızında artış olmasına ve sonuçlar arasındaki değişkenliğin azalmasına sebep olmaktadır. Çünkü kabın tabanında yer alan pik şeklindeki yapı, test edilen ürünün koni oluşturmasını engelleyerek hareket halinde olmasını böylece daha iyi karışmasını sağlamaktadır. Özellikle zayıf partikül dağılımı gösteren dozaj şekilleri için bu kaplar tercih edilmektedir (Collins ve Nair 1998). Koni oluşumunu azaltmak ve dipte kalan ürünün karışmasını sağlamak için uygulanacak başka bir yaklaşım da karıştırma hızını arttırmaktır. Ancak karıştırma hızının fazla artırılması çözünme testinin ayırt ediciliğini azaltabileceğinden fazla yüksek karıştırma hızı tercih edilmemektedir (Gray ve ark. 2009).

Posakonazol süspansiyon dozaj şekli için çözünme hızı testi koşulları belirlenirken, süspansiyon formülasyonları için uygun olan palet yöntemi ile 900 ml hacimdeki çözünme ortamında çalışıldı. Posakonazol süspansiyon formülasyonunda sıvı glikoz gibi yüksek dansiteli yardımcı maddeler kullanılacağı için çözünme hızı sonuçlarında oluşabilecek değişkenliği değerlendirmek adına farklı şekillere sahip çözünme kapları (USP beher şeklindeki çözünme kapları ve Pik şekilli kaplar) ve farklı karıştırma hızlarının (25 rpm ve 50 rpm) etkisi değerlendirildi. Beher şeklindeki çözünme kapları ile çalışıldığında; hem 25 rpm hızda hem de 50 rpm hızda posakonazol süspansiyonların dibe çökmesi ve karışamaması sebebiyle çözünme hızı sonuçları düşük bulundu. Benzerlik faktörü hesaplamalarında da önemli olan bağıl standart sapma (RSD) değerleri incelendi. 10. dakika veya daha önceki zaman noktalarında RSD değerinin %20'den fazla olması ve sonraki zaman noktalarında RSD değerinin %10'dan fazla olması durumunda, çözünme sonuçlarının oldukça değişken olarak tanımlandığı bilinmektedir (FDA 2017). Çalışmada elde edilen RSD değerleri ilk 20 dakika boyunca %20 civarlarında olduğundan sonuçlar arasında ciddi miktarda değişkenlik tespit edildi. Pik şekilli çözünme kapları ile 25 rpm hızda çalışıldığında ilk 20 dakikada RSD değerleri %20'nin altına düştü ancak yine de %10 üzerinde olduğundan değişkenlik

yüksek olarak değerlendirildi. Pik şekilli çözünme kapları ile 50 rpm hızda çalışıldığında ilk zaman noktası (5.dakika) dışında %10'un altında RSD değerleri elde edildi ve değişkenlik kabul edilebilir seviyeye indirildi (Tablo 4-24). Bu nedenle çözünme hızı analiz yönteminde pik şekilli çözünme kaplarıyla 50 rpm hızda çalışılmasına karar verildi.

Formülasyon geliştirme çalışmalarına başlamadan önce ayırt edici çözünme hızı yönteminin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Ayırt edici çözünme hızı yöntemi formülasyon bileşimindeki ve üretim yöntemindeki küçük değişikliklerin bile etkisinin görülebildiği yöntem olarak tanımlanmaktadır. Ayırt edici çözünme hızı yöntemi sayesinde formülasyon geliştirme çalışmaları sırasında değişkenler doğru kontrol edilebilmekte ve formülasyon doğru şekilde tamamlanabilmektedir. (Ashokraj ve ark. 2016). Bu amaçla 0,1 N HCl tamponu ve %0,4 SLS içeren saf su ortamlarına ek olarak posakonazol çözünme hızı analizleri için ayırt edici ortamı belirlemek amacıyla farklı çözünme ortamları ile çalışmalar yapıldı (Tablo 3-13). Bu çalışmalarda otuz dakikanın sonunda posakonazolün en az %85 oranında çözüldüğü (FDA 2017) ve her zaman noktası için çözünmedeki artışın kademeli olarak görülebildiği ortam olan %0,4 SLS içeren saf su ortamı ayırt edici ortam olarak belirlendi ve formülasyon geliştirme çalışmaları sırasında bu ortamın kullanılmasına karar verildi (Tablo 4-25 ve Tablo 4-26). Bu ortama ek olarak kademeli artış görülmemesine rağmen posakonazolün çözünürlüğünün en yüksek olduğu (kendi ortamı) 0,1 N HCl tamponunda da formülasyon geliştirme çalışmaları sırasında analiz yapılmasına karar verildi.

Posakonazol süspansiyon formülasyonlarının spesifikasyonlarını belirlemek için formülasyon geliştirme çalışmaları yapıldı. Bu amaçla referans ürüne pH, yoğunluk, viskozite, partikül büyüklüğü ve dağılımı, posakonazol miktar tayini analizi, in vitro çözünme hızı analizi ve ilgili bileşikler analizi yapıldı ("*ICH Topic Q6A Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances* " 2000). Elde edilen sonuçlara ve ICH Q6A kılavuzuna göre geliştirilecek posakonazol süspansiyon formülasyonlarının spesifikasyonları belirlendi (Tablo 4-27). Ardından kritik kalite özellikleri ve kritik işlem parametreleri belirlendi. Referans ürün olan Noxafil 40 mg/ml Oral Süspansiyon (Merck Sharp & Dohme) ile biyoeşdeğer olabilecek dolayısıyla f2 benzerlik faktörü mümkün olduğunca yüksek olan bir formülasyon geliştirmek önceliği ile kritik

spesifikasyon olarak *in vitro* çözünme hızı analizi değerlendirildi. Posakonazol süspansiyonların *in vitro* çözünme hızını etkileyen kritik paramatereleri olarak ise; formülasyonun viskozitesi ile partikül büyüklüğü ve dağılımı belirlendi. Bitmiş ürün viskozitesini etkileyen kritik formülasyon bileşeni süspansiyon ajanının miktarı iken kritik proses olarak ise süspansiyon ajanının uygun şekilde şişirilmesi/hidrate edilmesi değerlendirildi. Bitmiş ürün partikül büyüklüğü ve dağılımını etkileyen kritik formülasyon bileşeni ıslatma ajanının miktarı iken kritik proses ise öğütme/homojenizasyon prosesi olarak seçildi (Mesut ve ark. 2015). Kritik formülasyon bileşenleri (süspansiyon ajanı miktarı, ıslatma ajanı miktarı) ve kritik prosesler (süspansiyon ajanının şişirilme işlemi, öğütme/homojenizasyon işlemi) üzerinden formülasyon çalışmaları yürütüldü.

Referans ürün kalitatif bileşimi ve söz konusu ürüne ait formülasyon patentini (WO 02/080678 A1) dikkate alınarak birim formül içeriğine kara verildi (Tablo 4-28). Genel süspansiyon üretim basamakları da göz önüne alınarak üretim akış şeması belirlendi (Şekil 4-11) (Acartürk 2007; Gönül 2000). Kritik üretim prosesi olarak tanımlanan öğütme/homojenizasyon işlemi için yaş öğütme tekniği olarak; yüksek devirli homojenizasyon (homojenizatör, Ultraturrax cihazı) ve boncukla öğütme (öğütücü, Dyno-Mill cihazı) prensibine dayalı iki farklı yöntem kullanıldı.

Süspaniyon ajanı olarak kullanılmasına karar verilen ksantan zankının formülasyondaki işlevini en iyi şekilde yerine getirebilmesi için kullanmadan önce uygun şekilde hidrate edilmesi/şişirilmesi gerekmektedir. Uygun şekilde şişebilmesi için zank parçacıkları iyi disperse edilmiş olmalıdır aksi halde parçacıklar karıştırma sırasında kümelenmekte ve bu da kısmen şişmiş zank topraklarının oluşmasına neden olmaktadır. Şiddetli topaklanma olması halinde ksantan zankı tam hidrate olamadığından formülasyondaki işlevini yerine getirememekte, sürdürülebilir dispersiyon oluşumu engellenmektedir (Sworn 2009, Patel ve ark. 2020). Tüm bu nedenlerden dolayı posakonazol süspansiyon formülasyon geliştirme çalışmalarına süspansiyon ajanının miktarının ve şişirme yönteminin belirlenmesi için yüksek devirli homojenizatör (Ultraturrax cihazı) kullanılarak başlandı. Bu çalışmalarda viskozite hem bitmiş üründe hem de üretim tarihinden 3 ay sonra takip edildi. F-01, F-02 ve F-03 serilerinde farklı konsantrasyonlarda ksantan zankı (1.50 mg/mL, 2.50 mg/mL, 3.00 mg/mL) kullanıldı. Spesifikasyonlara uygun sonuç veren seri F-02 olarak belirlendi

(Tablo 4-29). Ardından F-02 serisi ile aynı konsantrasyonda (2.50 mg/mL) ksantan zankı içeren ancak farklı şişirme yöntemi kullanılan F-04 serisi üretildi. F-02 ve F-04 serilerine ait veriler hem spesifikasyonlarına uygun hem de viskozite sonuçları referans ürüne yakın bulundu. Her iki seride de bekledikçe viskozitede ciddi bir artış olmadı (Tablo 4-29). Ancak ksantan zankının şiştiği ve homojen olarak karıştığı net biçimde görüldüğünden ikinci şişirme yönteminin (F-04) üretim sırasında daha güvenilir bir yöntem olduğu tespit edildi. Bundan sonraki üretimler ikinci şişirme yöntemi ile yapıldı. F-04 serisinin 0,1 N HCl tamponu ve %0,4 SLS içeren Saf Su ortamlarında referans ürün ile karşılıklı çözünme hızı analizi yapıldı (Tablo 4-30 ve Tablo 4-31, Şekil 4-12 ve Şekil 4-13). Böylece optimum süspansiyon ajanı miktarı 2,50 mg/ml olarak, süspansiyonun ajanının şişirilmesi için kullanılacak optimum yöntem ise dışarıda şişirilip karıştırıldıktan sonra ürüne eklenen ikinci yöntem olarak tespit edildi.

Süspansiyon ajanının miktarının ve şişirme yönteminin belirlenmesinin ardından ıslatma ajanının miktarını belirlemek için F-04 serisindeki Polisorbit 80 konsantrasyonuna (10 mg/mL) ek olarak farklı konsantrasyonlarda Polisorbit 80 (5 mg/mL, 20 mg/mL) içeren F-05 ve F-06 serileri üretildi. F-05 serisine ait veriler belirlenen spesifikasyonlara uygun bulundu. F-06 serisinde ise bekledikçe viskozitede ciddi bir artış meydana geldi (Tablo 4-32). Bu artışın, yüzey aktif madde miktarı fazla kullanıldığı zaman ortaya çıkan Ostwald olgunlaşması etkisi sebebiyle görülen kristal büyümesi sonucu oluştuğu düşünüldü (Li ve ark. 2016). F-05 serisini F-04 serisi ile karşılaştırmak için 0,1 N HCl tamponu ve %0,4 SLS içeren Saf Su ortamlarında referans ürün ile karşılaştırmalı çözünme hızı testleri yapıldı. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde; F-04 serisinin çözünme hızı profili referans ürünle daha uyumlu olduğu ve f2 benzerlik faktörü değerinin daha yüksek olduğu hesaplandı (Tablo 4-33 ve Tablo 4-34, Şekil 4-14 ve Şekil 4-15). Böylece optimum ıslatma ajanı miktarı 10 mg/ml olarak tespit edildi.

Rotor-stator karıştırıcılar ile çalışırken dikkat edilmesi gereken proses değişkenleri arasında kullanılan yüzey etkin madde, stabilizör ve dispersiyon ajanı, rotor-stator dizaynı, çalışma sıcaklığı ve rotor dönüş hızı sayılabilmektedir (Atiemo-Obeng ve Calabrese 2004, Seibert ve ark. 2019). Süspansiyon ajanının ve ıslatma ajanının miktarının belirlenmesinin ardından Ultraturax parametrelerinin etkisi incelendi. Bu amaçla en uygun sonuçları veren F-04 serisinin üretiminde kullanılan

Ultraturax hızına (10.000 rpm) ek olarak farklı hızlarda (7.500 rpm, 15.000 rpm) çalışılarak F-07 ve F-08 serileri üretildi. F-07 ve F-08 serilerinin analiz sonuçları belirlenen spesifikasyonlara uygun bulundu (Tablo 4-35). Ultraturax hızını değiştirmenin ürün performansını etkilemediği görüldü. Üç farklı hızdan sıklıkla kullanılan ve cihazda zorlanma yaratmayan hız olduğundan 10.000 rpm (F-04) uygun hız olarak belirlendi.

Yüksek devirli homojenizasyon yöntemi kullanılarak tiksotropik akış özelliği gösteren posakonazolün süspansiyon formülasyonu geliştirilmesi çalışmaları da yapıldı. Bu amaçla F-04 serisinin bileşimi referans alındı ve magnezyum alüminyum silikat (MAS) polimeri formülasyona eklendi. MAS süspand edici ve stabilize edici ajan olarak yaygın olarak kullanılan bir polimerdir. MAS katmanları üzerindeki pozitif yüklü kenarlar, ksantan zıncığı, karbomer ve sodyum aljinat gibi anyonik polimerlerle etkileşime girerek viskozite sinerjisine ve polimerik dispersiyonların tiksotropik özelliklerinde bir artışa neden olabilmektedir (Pongjanyakul ve Puttipatkhachorn 2009). Yapılan çalışmalarda ksantan zıncığı:MAS oranı 1:1, 1:2 ve 1:3 olacak şekilde üretimler yapıldı (F-09, F-10, F-11). Üretilen serilerin analiz sonuçları belirlenen spesifikasyonlara uygun bulundu (Tablo 4-45). F-09, F-10 ve F-11 serilerinin akış özelliğini değerlendirebilmek ve F-04 serisi ile kıyaslamak için dört serinin de viskozite ölçümleri yapıldı ve kayma hızına karşı kayma gerilimi grafiği ve dönüş hızına karşı tork grafiği çizildi. Dönüş hızına karşı tork grafiğinde artış ve azalma gösteren eğriler arasındaki alan yamuk kuralı kullanılarak hesaplandığında tiksotropinin varlığı tespit edilebilmektedir (Moghimpour ve ark. 2013). Reogramlar incelendiğinde; F-04 serisinde eğriler çakıştı ve psödoplastik akış özelliği gözlemlendi (Tablo 4-37 ve Şekil 4-16). F-09 serisinde de eğriler çakıştı ve ürün psödoplastik akış özelliği göstermeye devam etti (Tablo 4-37, Şekil 4-17). F-10 ve F-11 serilerinde eğri altında kalan alanlar hesaplandı ve elde edilen sonuçlar tiksotropik akış özelliği elde edildiğini gösterdi (Tablo 4-38, Şekil 4-18 ve Şekil 4-19). F-10 ve F-11 serilerine 0,1 N HCl tamponunda referans ürün ile karşılıklı çözünme hızı analizi yapıldı. Sonuçlar çok düşük olduğundan (Tablo 4-40 ve Tablo 4-41, Şekil 4-20 ve Şekil 4-21) %0,4 SLS içeren saf su ortamında çözünme hızı analizi yapılmadı. Ksantan zıncığı miktarını azaltıp Veegum miktarını artırarak denemeler yapılmak istendi ancak Veegum miktarı arttıkça süspansiyon ajanını disperse etmek için ayrılan suda homojen dispersiyon oluşturulamadı. Böylece tiksotropik akış

özelliği elde edilse de spesifikasyonlara uygun bir formülasyon elde edilemediğinden çalışmalara devam edilmedi.

Ultraturrax cihazı ile yapılan çalışmalarda en iyi sonuçları veren F-04 serisinin formülü referans alınarak boncukla öğütme prensibi ile çalışan Dyno-Mill cihazı ile posakonazolün süspansiyon formülasyonları hazırlandı. Boncukla öğütücü ile çalışırken dikkat edilmesi gereken parametreler; öğütücü hızı, kullanılan boncuk büyüklüğü ve çalışılan maddenin miktarıdır (Seibert ve ark. 2019). F-12 ile F-17 arası üretilen serilerde hem Dyno-Mill hız parametresi, hem Dyno-Mil içindeyken ürünün devir sayısı parametresi hem de formülasyona giren madde miktarları değiştirilerek çalışmalar yapıldı. F-12 dışındaki tüm seriler spesifikasyonlara uygun sonuç verdiğinden (Tablo 4-42) tüm formülasyonlar için 0,1 N HCl tamponu ve %0,4 SLS içeren saf su ortamlarında referans ürün ile karşılıklı çözünme hızı analizi yapıldı. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde; F-16 serisinin çözünme hızı profili referans ürünle daha uyumlu olduğu ve f2 benzerlik faktörü değeri Dyno-Mill ile üretilen diğer serilere göre daha yüksek çıktığı saptandı (Tablo 4-49 ve Tablo 4-50, Şekil 4-28 ve Şekil 4-29).

F-04 ve F-16 serilerinin her ikisi de spesifikasyonlara uygun sonuçlar verdiği ve 0,1 N HCl tamponu ile %0,4 SLS içeren saf su ortamlarında yapılan çözünme hızı analizleri sonucunda referans ürünle benzer çözünme hızı profili gösterdiği saptandı. Bu nedenle bu formülasyonlara %0,3 SLS içeren pH 4,5 asetat ve %0,3 SLS içeren pH 6,8 sitrofosfat ortamlarında referans ürünle karşılıklı in vitro çözünme hızı analizleri yapıldı ve f2 benzerlik faktörü hesaplandı. Her iki serinin de yapılan çözünme hızı profilleri referans ürünle benzer olup, f2 benzerlik faktörü hesaplaması sonucu referans ürünle benzer bulundu (Tablo 4-53, 4-54, 4-55 ve 4-56, Şekil 4-32, 4-33, 4-34 ve 4-35).

F-04 ve F-16 serileri ile stabilite çalışmaları yapıldı. Uzun dönem, ara dönem ve hızlandırılmış koşullarda 6 ay süre ile gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda her iki serinin de stabilitesi uygun bulundu, limit dışı herhangi bir sonuca rastlanmadı (Tablo 4-57, 4-58 ve 4-59).

Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; posakonazolün süspansiyon formülasyonlarının homojenizasyonu için farklı yöntemler kullanılmasının ürünün viskozitesini, çözünme hızını ve dolayısıyla formülasyonda kullanılacak madde miktarlarını etkilediği görüldü. Benzer sonuçlar veren iki süspansiyon formülasyonu (F-04 ve F-16) farklı homojenizasyon teknikleri ile üretildiğinde farklı içerikte geliştirildi.

Kullanılan homojenizasyon tekniğinin ürün viskozitesine olan etkisi sebebiyle kullanılan süspansiyon ajanının miktarı değişkenlik gösterdi. Bu da kullanılan homojenizasyon tekniğinin ürün bileşiminin belirlenmesinde ve ürün kalitesinde önemli bir etkiye sahip olduğunu gösterdi.

Bu tez çalışmasında; BCS Sınıf II bir molekül olan Posakonazolün iki farklı yaş öğütme yöntemi ile süspansiyon formülasyonları geliştirilmiş, kritik formülasyon bileşenlerinin ve öğütme işlemi için yüksek devirli homojenizatör (Ultraturrax cihazı) ve boncukla öğütücü (DynoMill cihazı) için kritik işlem parametrelerinin ürünün kalitesine olan etkisi değerlendirilmiştir. Homojenizasyon tekniğinin ürünün *in vitro* performansını önemli ölçüde etkilediği ve formülasyonda kullanılan madde miktarlarının homojenizasyon yöntemine göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Homojenizasyon işlemi ve parametrelerinin doğru seçilmesinin, özellikle Posakonazol gibi düşük çözünürlüğe sahip moleküllerin çözünürlüğünün ve biyoyararlanımının artırılmasında önemli bir rol oynadığı ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

- Acartürk, F. (2007). Süspansiyonlar. In *Modern Farmasötik Teknoloji* (pp. 313-315).
- Afolabi, A., Akinlabi, O. ve Bilgili, E. (2014). Impact of process parameters on the breakage kinetics of poorly water-soluble drugs during wet stirred media milling: a microhydrodynamic view. *Eur J Pharm Sci*, 51, 75-86.
doi:10.1016/j.ejps.2013.09.002
- Ali, Y., Kimura, A., Coffey, M. J. ve Tyle, P. (2010). Pharmaceutical Development of Suspension Dosage Form. In *Pharmaceutical Suspensions*.
- Allen, L. V. (2008). Dosage Form Design and Development. *Clinical Therapeutics*, 30(11), 2102-2111.
- Andrews, D. R., Leong, W. ve Sudhakar, A. R. (1998). Crystalline Antifungal Polymorph. In (Vol. EP 1 021 439 B1). European Patent Specification.
- Atiemo-Obeng, V. A. ve Calabrese, R. V. (2003). Rotor–Stator Mixing Devices. In *Handbook of Industrial Mixing* (pp. 479-505).
- Awad, A., Madla, C. M., Gavins, F. K. H., Allahham, N., Trenfield, S. J. ve Basit, A. W. (2021). Liquid dosage forms. In *Remington* (pp. 359-379).
- Bhakay, A., Merwade, M., Bilgili, E. ve Dave, R. N. (2011). Novel aspects of wet milling for the production of microsuspensions and nanosuspensions of poorly water-soluble drugs. *Drug Dev Ind Pharm*, 37(8), 963-976.
doi:10.3109/03639045.2010.551775
- Bhura, R. ve Shahiwala, A. (2019). Poorly Water-Soluble Drugs and Formulation Strategy to Improve Oral Bioavailability. In A. Misra & A. Shahiwala (Eds.), *Novel Drug Delivery Technologies, Innovative Strategies for Drug Repositioning*.
- Billany, M. (2002). Suspensions and Emulsions. In M. E. Aulton (Ed.), *Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design*.
- Brunaugh, A. D., Smyth, H. D. C. ve Williams, R. O. (2019a). Disperse Systems: Suspensions. In A. D. Brunnaugh, H. D. C. Smyth, & R. O. Williams (Eds.), *Essential Pharmaceutics: AAPS Introductions in the Pharmaceutical Sciences*
- Brunaugh, A. D., Smyth, H. D. C. ve Williams, R. O. (2019b). Solution-Based Dosage Forms and Sterile Products. In A. D. Brunnaugh, H. D. C. Smyth, & R. O. Williams (Eds.), *Essential Pharmaceutics: AAPS Introductions in the Pharmaceutical Sciences*.
- Bruno, J. A., Doty, B. D., Gustow, E., Illig, K. J., Rajagopalan, N. ve Sarpotdar, P. (1996). U. S. Patent.
- Bruschi, M. L. (2015). Drug delivery systems. In M. L. Bruschi (Ed.), *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems* (pp. 87-194).
- Clark, N. M., Grim, S. A. ve Lynch, J. P., 3rd. (2015). Posaconazole: Use in the Prophylaxis and Treatment of Fungal Infections. *Semin Respir Crit Care Med*, 36(5), 767-785. doi:10.1055/s-0035-1562902
- Clement, S. ve Purutyan, H. (2002). Narrowing down equipment choices for particle-size reduction. *Chemical Engineering Progress*, 98(6), 50-54.
- Cook, E. J. ve Lagace, A. P. (1985). 4,533,254. U. S. Patent.
- Cristofolletti, R., Patel, N. ve Dressman, J. B. (2017). Assessment of Bioequivalence of Weak Base Formulations Under Various Dosing Conditions Using Physiologically Based Pharmacokinetic Simulations in Virtual Populations.

- Case Examples: Ketoconazole and Posaconazole. *J Pharm Sci*, 106(2), 560-569. doi:10.1016/j.xphs.2016.10.008
- Dash, A. K. (2014). Drug, Dosage Form, and Drug Delivery Systems. In A. K. Dash, S. Singh, & J. Tolman (Eds.), *PHARMACEUTICS Basic Principles and Application to Pharmacy Practice*: Elsevier Inc.
- Dekkers, B. G., Bakker, M., van der Elst, K. C., Sturkenboom, M. G., Veringa, A., Span, L. F. ve ark. (2016). Therapeutic Drug Monitoring of Posaconazole: an Update. *Curr Fungal Infect Rep*, 10, 51-61. doi:10.1007/s12281-016-0255-4
- Desu, H. R., Narang, A. S., Thoma, L. A. ve Mahato, R. I. (2014). Liquid Dosage Forms. In A. K. Dash, S. Singh, & J. Tolman (Eds.), *PHARMACEUTICS Basic Principles and Application to Pharmacy Practice* (pp. 181-224).
- Dolton, M. J., Bruggemann, R. J., Burger, D. M. ve McLachlan, A. J. (2014). Understanding variability in posaconazole exposure using an integrated population pharmacokinetic analysis. *Antimicrob Agents Chemother*, 58(11), 6879-6885. doi:10.1128/AAC.03777-14
- Ezzet, F., Wexler, D., Courtney, R., Krishna, G., Lim, J. ve Laughlin, M. (2005). Oral Bioavailability Of Posaconazole in Fasted Healthy Subjects. *Clin Pharmacokinet*, 44(211-220).
- Farowski, F., Cornely, O. A., Vehreschild, J. J., Hartmann, P., Bauer, T., Steinbach, A. ve ark. (2010). Intracellular concentrations of posaconazole in different compartments of peripheral blood. *Antimicrob Agents Chemother*, 54(7), 2928-2931. doi:10.1128/AAC.01407-09
- Garcia-Ochoa, F., Santos, V. E., Casas, J. A. ve Gomez, E. (2000). Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, 18, 549-579.
- Girmania, C. (2009). New generation azole antifungals in clinical investigation. *Expert Opin Investig Drugs*, 18(9), 1279-1295. doi:10.1517/13543780903176407
- Gönül, N. (2000). Süspansiyonlar. In *Çok Fazlı Sistemler II - Emülsiyon ve Süspansiyon Teknolojisi* (pp. 22-58).
- Greer, N. D. (2007). Posaconazole (Noxafil): a new triazole antifungal agent. *Baylor University Medical Center Proceedings*, 20(2), 188-196.
- Harter, A., Schenck, L., Lee, I. ve Cote, A. (2013). High-Shear Rotor–Stator Wet Milling for Drug Substances: Expanding Capability with Improved Scalability. *Organic Process Research & Development*, 17(10), 1335-1344. doi:10.1021/op4001143
- Hens, B., Brouwers, J., Corsetti, M. ve Augustijns, P. (2016). Supersaturation and Precipitation of Posaconazole Upon Entry in the Upper Small Intestine in Humans. *J Pharm Sci*, 105(9), 2677-2684. doi:10.1002/jps.24690
- Howard, S. J., Felton, T. W., Gomez-Lopez, A. ve Hope, W. W. (2012). Posaconazole: The Case for Therapeutic Drug Monitoring. *Ther Drug Monit*, 34, 72-76.
- Jones, D. (2008a). Pharmaceutical disperse systems 1: suspensions – general principles and the formulation of suspensions for oral administration. In D. Jones (Ed.), *Pharmaceutics: Dosage Form and Design*.
- Jones, D. (2008b). Pharmaceutical solutions for oral administration. In D. Jones (Ed.), *Pharmaceutics: Dosage Form and Design*.
- Kalász, H. ve Antal, I. (2006). Drug Excipients. *Current Medicinal Chemistry*, 13,, 2535-2563.
- Kathpalia, H. ve Phadke, C. (2014). Novel Oral Suspensions: A Review. *Current Drug Delivery*, 11(3), 338-358.

- Katragkou, A., Tsikopoulou, F., Roilides, E. ve Zaoutis, T. E. (2012). Posaconazole: when and how? The clinician's view. *Mycoses*, 55(2), 110-122. doi:10.1111/j.1439-0507.2011.02061.x
- Keating, G. M. (2005). Posaconazole. *Drugs*, 65(11), 1553-1567.
- Keck, C. M. ve Muller, R. H. (2006). Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation. *Eur J Pharm Biopharm*, 62(1), 3-16. doi:10.1016/j.ejpb.2005.05.009
- Khadka, P., Ro, J., Kim, H., Kim, I., Kim, J. T., Kim, H. ve ark. (2014). Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9(6), 304-316. doi:10.1016/j.ajps.2014.05.005
- Kipp, J. E. (2004). The role of solid nanoparticle technology in the parenteral delivery of poorly water-soluble drugs. *Int J Pharm*, 284(1-2), 109-122. doi:10.1016/j.ijpharm.2004.07.019
- Kumar, R. S. ve Yagnesh, T. N. S. (2016). Pharmaceutical Suspensions: Patient Compliance Oral Dosage Forms. *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 5(12), 1471-1537. doi:10.20959/wjpps201612-8159
- Lambros, M., Tran, T., Fei, Q. ve Nicolaou, M. (2022). Citric Acid: A Multifunctional Pharmaceutical Excipient. *Pharmaceutics*, 14(5). doi:10.3390/pharmaceutics14050972
- Leung, S., Poulakos, M. N. ve Machin, J. (2015). Posaconazole: An Update of Its Clinical Use. *Pharmacy (Basel)*, 3(4), 210-268. doi:10.3390/pharmacy3040210
- Li, M., Azad, M., Dave, R. ve Bilgili, E. (2016). Nanomilling of Drugs for Bioavailability Enhancement: A Holistic Formulation-Process Perspective. *Pharmaceutics*, 8(2). doi:10.3390/pharmaceutics8020017
- Li, Y., Theuretzbacher, U., Clancy, C. J., Nguyen, M. H. ve Derendorf, H. (2010). Pharmacokinetic / Pharmacodynamic Profile of Posaconazole. *Clin Pharmacokinet*, 49(6), 379-396.
- Loh, Z. H., Samanta, A. K. ve Sia Heng, P. W. (2015). Overview of milling techniques for improving the solubility of poorly water-soluble drugs. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(4), 255-274. doi:10.1016/j.ajps.2014.12.006
- Luckham, P. F. (1989). The Physical Stability Of Suspension Concentrates With Particular Reference to Pharmaceutical and Pesticide Formulations. *Pestic. Sci.*, 25, 25-34.
- Luhtala, S. (1992). Effect of Sodium Lauryl Sulfate and Polysorbate-80 on Crystal-Growth and Aqueous Solubility of Carbamazepine. *Acta Pharmaceutica Nordica*, 4(2), 85-90. Retrieved from <Go to ISI>://WOS:A1992JB31200005
- Mojsiewicz-Pieńkowska, K. (2015). Review of Current Pharmaceutical Applications of Polysiloxanes (Silicones). In *Handbook of Polymers for Pharmaceutical Technologies* (pp. 363-381).
- Moore, J. N., Healy, J. R. ve Kraft, W. K. (2015). Pharmacologic and clinical evaluation of posaconazole. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 8(3), 321-334. doi:10.1586/17512433.2015.1034689
- Morales, J. O., Watts, A. B. ve McConville, J. T. (2012). Mechanical Particle-Size Reduction Techniques. In R. O. Williams, A. B. Watts, & D. A. Miller (Eds.), *Formulating Poorly Water Soluble Drug* (pp. 132-170): Springer Science Business Media.

- Moreton, R. C. (2010). Commonly Used Excipients in Pharmaceutical Suspensions. In A. K. Kulshreshtha, O. N. Singh, & G. M. Wall (Eds.), *Pharmaceutical Suspensions* (pp. 67-102).
- Muller, R. H., Becker, R., Kruss, B. ve Peters, K. (1999). 5,858,410. U. S. Patent.
- Noxafil : EPAR - Scientific Discussion. (2005, Mart). Retrieved from http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Scientific_Discussion/human/000610/WC500037781.pdf. from European Medicines Agency
- http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Scientific_Discussion/human/000610/WC500037781.pdf
- Noxafil Drug Approval Package : Chemistry Review. (22-003). (2006, Eylül). FDA Center for Drug Evaluation and Research Retrieved from https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2006/022003s000_Noxafil_ChemR.pdf
- Noxafil Product Information. *Australian Public Assessment Report*. Retrieved from <https://www.ebs.tga.gov.au/ebs/picmi/picmirepository.nsf/pdf?OpenAgent&id=CP-2010-PI-06975-3&d=2017081216114622483>
- Nutan, M. T. H. ve Reddy, I. K. (2010). General Principles of Suspensions. In *Pharmaceutical Suspensions* (pp. 39-65).
- Öner, F. (2004). Süspansiyonlar. In A. Zırh Gürsoy (Ed.), *Farmasötik Teknoloji-Temel Konular ve Dozaj Şekilleri* (pp. 257-285).
- Patravale, V. B., Date, A. A. ve Kulkarni, R. M. (2004). Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. *J Pharm Pharmacol*, 56(7), 827-840. doi:10.1211/0022357023691
- Peltonen, L. (2018). Design Space and QbD Approach for Production of Drug Nanocrystals by Wet Media Milling Techniques. *Pharmaceutics*, 10(3). doi:10.3390/pharmaceutics10030104
- Peyton, L. R., Gallagher, S. ve Hashemzadeh, M. (2015). Triazole antifungals: a review. *Drugs Today (Barc)*, 51(12), 705-718. doi:10.1358/dot.2015.51.12.2421058
- Saksena, A. K., Girijavllabhan, V. M. ve Lovey, R. G. (1994). WO 95/17407. The Patent Cooperation Treaty.
- Sanguinetti, M., Posteraro, B., Beigelman-Aubry, C., Lamoth, F., Dunet, V., Slavin, M. ve ark. (2019). Diagnosis and treatment of invasive fungal infections: looking ahead. *J Antimicrob Chemother*, 74(Suppl 2), ii27-ii37. doi:10.1093/jac/dkz041
- Savjani, K. T., Gajjar, A. K. ve Savjani, J. K. (2012). Drug solubility: importance and enhancement techniques. *ISRN Pharm*, 2012, 195727. doi:10.5402/2012/195727
- Schmiedel, Y. ve Zimmerli, S. (2016). Common invasive fungal diseases: an overview of invasive candidiasis, aspergillosis, cryptococcosis, and Pneumocystis pneumonia. *Swiss Med Wkly*, 146, w14281. doi:10.4414/smw.2016.14281
- Schwartzberg, L. S. ve Navari, R. M. (2018). Safety of Polysorbate 80 in the Oncology Setting. *Adv Ther*, 35(6), 754-767. doi:10.1007/s12325-018-0707-z
- Seibert, K. D., Collins, P. C. ve Fisher, E. (2019). Milling Operations In The Pharmaceutical Industry. In *Chemical Engineering in the Pharmaceutical Industry* (pp. 365-378).
- Shaikh, S. M. (2016). A Review on: Preservatives used in Pharmaceuticals and impacts on Health. *PharmaTutor*, 4(5).
- Sharma, P., Denny, W. A. ve Garg, S. (2009). Effect of wet milling process on the solid state of indomethacin and simvastatin. *Int J Pharm*, 380(1-2), 40-48. doi:10.1016/j.ijpharm.2009.06.029

- Sheskey, P. J., Cook, W. G. ve Cable, C. G. (2017). *Handbook Of Pharmaceutical Excipients 8th Edition*. Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association.
- Sienkiewicz, B. M., Lapinski, L. ve Wiela-Hojenska, A. (2016). Comparison of clinical pharmacology of voriconazole and posaconazole. *Contemp Oncol (Pozn)*, 20(5), 365-373. doi:10.5114/wo.2016.64594
- Simpson, I. K., Owusu, F. W. A., Boakye-Gyasi, M. E., Entsie, P., Bayor, M. T. ve Ofori-Kwakye, K. (2022). Pharmaceutical Applications of Glucose Syrup from High Quality Cassava Flour in Oral Liquid Formulations. *Int J Food Sci*, 2022, 6869122. doi:10.1155/2022/6869122
- Ullmann, A. J., Cornely, O. A., Burchardt, A., Hachem, R., Kontoyiannis, D. P., Topelt, K. ve ark. (2006). Pharmacokinetics, safety, and efficacy of posaconazole in patients with persistent febrile neutropenia or refractory invasive fungal infection. *Antimicrob Agents Chemother*, 50(2), 658-666. doi:10.1128/AAC.50.2.658-666.2006
- von Lilienfeld-Toal, M., Wagener, J., Einsele, H., Cornely, O. A. ve Kurzai, O. (2019). Invasive Fungal Infection. *Dtsch Arztebl Int*, 116(16), 271-278. doi:10.3238/arztebl.2019.0271
- Zietsman, S., Kilian, G., Worthington, M. ve Stubbs, C. (2007). Formulation development and stability studies of aqueous metronidazole benzoate suspensions containing various suspending agents. *Drug Dev Ind Pharm*, 33(2), 191-197. doi:10.1080/03639040601011215
- Zoller, E., Valente, C., Baker, K. ve Klepser, M. E. (2010). Development, clinical utility, and place in therapy of posaconazole for prevention and treatment of invasive fungal infections. *Drug Des Devel Ther*, 4, 299-311. doi:10.2147/DDDT.S7773

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

POSAKONAZOLÜN FARKLI ÜRETİM TEKNİKLERİ İLE SÜSPANSİYON FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ VE İN VİTRO PERFORMANSLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 10 BENZERLİK ENDEKSİ	% 9 İNTERNET KAYNAKLARI	% 1 YAYINLAR	% 3 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
----------------------------------	-----------------------------------	------------------------	--------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 4
2	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 1
3	dspace.gazi.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<% 1
6	farfar.pharmacy.bg.ac.rs İnternet Kaynağı	<% 1
7	acikders.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	damlakimya.net İnternet Kaynağı	<% 1

Submitted to Anadolu University