

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DÜŞÜK GEÇİRGENLİK VE ÇÖZÜNÜRLÜK GÖSTEREN
FARMASÖTİK FORMUN KALİTE TASARIMI İLE
GELİŞTİRİLMESİ VE *IN VİTRO* FARMAKOKİNETİK
ÇALIŞMASI

Erhan KOÇ

DOKTORA TEZİ

Biyomühendislik Anabilim Dalı
Biyomühendislik Programı

Danışman

Prof. Dr. Rabia ÇAKIR

Aralık, 2023

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DÜŞÜK GEÇİRGENLİK VE ÇÖZÜNÜRLÜK GÖSTEREN
FARMASÖTİK FORMUN KALİTE TASARIMI İLE
GELİŞTİRİLMESİ VE *IN VİTRO* FARMAKOKİNETİK
ÇALIŞMASI**

Erhan KOÇ tarafından hazırlanan tez çalışması 22.12.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı, Biyomühendislik Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Rabia ÇAKIR
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Rabia ÇAKIR, Danışman

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Nergis ARSU, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Seval KORKMAZ, Üye

Biruni Üniversitesi

Dr. Öğr. Üye. Serap YEŞİLKIR BAYDAR, Üye

İstanbul Gelişim Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. Rabia ÇAKIR sorumluluğunda tarafımca hazırlanan “Düşük Geçirgenlik ve Çözünürlük Gösteren Farmasötik Formun Kalite Tasarımı ile Geliştirilmesi ve *In Vitro* Farmakokinetik Çalışması” başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Erhan KOÇ

İmza



Anneme, Babama

Eşime ve Kızıma

TEŞEKKÜR

Doktora programına başladığım ilk günden bu yana bana son derece özverili, yardımsever ve hassas davranan; deneyimini ve bilgisini her an benimle paylaşan değerli tez danışmanım Prof. Dr. Rabia ÇAKIR'a en büyük teşekkürlerimi sunarım.

Yoğun çalışma temposu içerisinde hücre kültürü çalışmalarındaki engin tecrübelerini ve yorumlarını paylaşan ve benim doktoramı yapmamı sağlayan değerli hocam ve arkadaşım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Seval KORKMAZ'a sonsuz teşekkür ederim.

Ara dönem raporlarında vermiş oldukları geri bildirimler ve önerilerle çalışmama değer katan Sayın Prof. Dr. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ'a, ve sitotoksikte çalışmalarında da verdiği destek için Hilal ÇALIK'a şükranlarımı sunarım.

Doktora tezimi, çalışmalarım süresince sabır, anlayış ve fedakârlık gösteren, başarımda büyük pay sahibi olan eşim Tuğba BÜNÜL KOÇ ve kızım Nil KOÇ'a ithaf ediyorum. Her zaman yanımda olan anneme ve babama sonsuz teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunuyorum.

Erhan KOÇ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iv
SİMGE LİSTESİ	vi
KISALTMA LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	1
2 MATERYAL VE METOT	23
2.1 Kullanılan Malzemeler ve Ekipmanlar	23
3 BULGULAR VE TARTIŞMA	66
3.1 Sonuçlar	66
4 SONUÇ	93
4.1 Genel Sonuç	93
KAYNAKÇA	110
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR	119

SİMGE LİSTESİ

Papp	Apparent permeability, Görünür geçirgenlik katsayısı
n	Difüzyon veya salım üssü
M	Dozaj formunda ilacın toplam kütlesi
Fa	Fraction Absorb, emilen doz
Tmaks	Kan Plazmasında Maksimum Konsantrasyona Ulaşılması için Geçen Süre
kp	Kilopond
Km	Kinetik sabit
p	Olasılık Faktörü
R ² -pred	Regresyon Modeli Tahmin Parametresi
R ²	Regresyon Uyumu Parametresi
t	Saat olarak zaman
SS	Standart Sapma
Mt	t anında salınan ilacın kütlesi
V	Volüme, Hacim

KISALTMA LİSTESİ

ANOVA	Analysis Of Variance Varyans analizi
AUC	Area under the curve, Eğrinin altındaki alan
BCS	Biopharmaceutics Classification System, Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi
CQA	Critical Quality Attributes, Kritik Kalite Özellikleri
DMF	Dimetilformamid
DMSO	Dimetil sülfoksit
DoE	Design of Experiments, Deney Tasarımı
FDA	United States Food and Drug Administration, Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi
FTIR	Fourier Transform Infrared, Fourier Dönüşümlü Kızılötesi
HDPE	High Density Polyethylene, Yüksek yoğunluklu polietilen
HPLC	High-performance liquid chromatography Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
ICH	The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Beşeri İlaçların Ruhsatlandırılmaları için Teknik Gerekliliklerin Uyumuna Üzerine Uluslararası Konferans
LOD	Limit of Detection, Saptama Sınırı
LOQ	Limit of Quantitation, Tayin Sınırı
LY	Lucifer Yellow, Lucifer Sarısı
MDR	Multiple drug resistance, Çoklu ilaç direnci
MRP	Multidrug resistance protein, Çoklu İlaça Direnç Proteini
PAMPA	Parallel Artificial Membrane Permeability Assay, Paralel Yapay Membran Geçirgenlik Testi
QbD	Quality by Design, Kalite Tasarımı
QTPP	Quality target product profile, Kalite Odaklı Ürün Profili
SLS	Sodyum lauril sülfat
USP	United States Pharmacopeia, Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1 QbD - Pratik Yaklaşım	7
Şekil 1.2 Risk yönetim araçları.....	8
Şekil 1.3 Deney tasarımı seçim ağacı	16
Şekil 2.1 Etken maddenin çökme koşulları çalışması sonuçları.....	38
Şekil 2.2 Bağırsak fırça sınırında ilaç emilim yolları.....	63
Şekil 3.1 Karşılaştırılmalı çözünme profili.....	71
Şekil 3.2 0,1N HCl Çözünme Hızı karşılaştırmalı çözünme profili	81
Şekil 3.3 pH 4,5 Asetat Ortamı Çözünme Hızı Karşılaştırma profili	82
Şekil 3.4 pH 6,8 Fosfat ortamı Çözünme Hızı Karşılaştırma profili	83
Şekil 4.1 Kontur ve 3D tepki yüzey çizimi.....	95
Şekil 4.2 Kontur ve 3B tepki yüzey çizimi.....	96
Şekil 4.3 Yarı Normal pilot grafikleri	97
Şekil 4.4 Deney tasarım alanı	98
Şekil 4.5 <i>In vitro</i> İlaç salınım profili	99
Şekil 4.6 Formülasyon 4 (F4) için Korsmeyer peppas	102
Şekil 4.7 Hücre canlılık sonuçları.....	103
Şekil 4.8 Metilprednizolon HCl'nin bağırsak geçirgenlik profili	104

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1	Kortikosteroidlerin kortizole göre potent ve etki süreleri.....	2
Tablo 1.2	Malzemesi özellikleri, proses parametreleri ve kalite özellikleri	18
Tablo 2.1	Tezde kullanılan malzemeler	23
Tablo 2.2	Tezde kullanılan ekipmanlar ve yazılımlar.....	24
Tablo 2.3	Etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri	27
Tablo 2.4	Risk sınıflandırması	29
Tablo 2.5	Etkin madde özelliklerinin başlangıç risk değerlendirilmesi.....	30
Tablo 2.6	Etkin madde başlangıç risk değerlendirmesi gerekçelendirmesi	31
Tablo 2.7	Etkin maddenin fiziko-kimyasal özellikleri.....	35
Tablo 2.8	Metilprednisolon etkin maddesinin çökme çalışması sonuçları	37
Tablo 2.9	Yardımcı maddelerin karşılaştırma tablosu	39
Tablo 2.10	Yardımcı madde geçimlilik çalışması numune dağılımı	40
Tablo 2.11.	Medrone tablet karakterizasyonu.....	43
Tablo 2.12	Çözünürlük çalışması.....	44
Tablo 2.13	Seçilen Çözünme Ortamı	47
Tablo 2.14	Metilprednisolon 100 mg tablet için kalite odaklı ürün profili.....	48
Tablo 2.15	Metilprednisolon 100 mg tablet kritik kalite özellikleri	51
Tablo 2.16	Risk sınıflandırma sistemi	54
Tablo 2.17	Başlangıç formülasyon risk değerlendirilmesi	55
Tablo 3.1	Geçimlilik çalışması	66
Tablo 3.2	Medrone 100 mg tablet farklı pH'lardaki çözünme hızı profilleri	70
Tablo 3.3	Referans ürünün incelenmesi ve analiz sonuçları.....	72
Tablo 3.4	Medrone 100 mg tablet fiziksel ve kimyasal analizleri	73
Tablo 3.5	Çözünürlük çalışması.....	74

Tablo 3.6	Formülasyon çalışmaları	77
Tablo 3.7	Deneme 1A birim formülasyon	77
Tablo 3.8	Deneme 1B birim formülasyon.....	78
Tablo 3.9	0,1N HCl çözünme hızı profilleri	80
Tablo 3.10	pH 4,5 Asetat ortamı çözünme hızı profilleri	82
Tablo 3.11	pH 6,8 Fosfat ortamı çözünme hızı profilleri	83
Tablo 3.12	Deneme 13 birim formülasyon	84
Tablo 3.13	0,1N HCl çözünme hızı profilleri	85
Tablo 3.14	Formülasyon başlangıç risk değerlendirmesi	86
Tablo 3.15	Proses kontrol ve kritik kalite parametreleri.....	89
Tablo 3.16	Optimizasyon tasarımı	89
Tablo 3.17	Methylprednisolone 100 mg tabletlerin deneysel tasarımları.....	90
Tablo 4.1	Medrone 100 mg Tablet ve test ürünü için çözünme sonuçları (%).....	99
Tablo 4.2	Test formülasyonu (F4) için ilaç salınım modeli.....	101
Tablo 4.3	Lucifer sarı geçirgenlik test sonuçları.....	103
Tablo 4.4	İlaç geçirgenlik değerleri (%)	105

Düşük Geçirgenlik ve Çözünürlük Gösteren Farmasötik Formun Kalite Tasarımı ile Geliştirilmesi ve *In Vitro* Farmakokinetik Çalışması

Erhan KOÇ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Biyomühendislik Programı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Rabia KOÇ ÇAKIR

Metilprednizolon düşük çözünürlüğe ve geçirgenliğe sahip bir molekül olduğundan Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi'nde (BCS) Sınıf II veya IV molekül olarak sınıflandırılmaktadır. Suda az çözünür olması biyoyararlanımını etkilemektedir.

Düşük çözünürlük ve düşük geçirgenlik, farmasötik endüstrisinde sıkça karşılaşılan sorunlardır.

Bezelye proteini, özellikleri nedeniyle formülasyonda çözünürlüğü artırmak için değerlendirilmiştir. Bezelye proteini, ilaç moleküllerine bağlanarak onların çözünürlüğünü artırabilir.

Doktora tezi, hidrolize bezelye proteininin metilprednizolonu maskeleyme özelliğini kullanarak farmasötik tablet formuna dönüştürme amacıyla gerçekleştirilmiştir. Sprey kurutucu ile üretilen tabletlerin fizikokimyasal özellikleri, akış kabiliyetleri ve in vitro salım davranışları incelenmiştir. Belirlenen optimum formülasyon, sitotoksikite ve hücre geçirgenliği çalışmaları yapılarak referans ürüne karşı değerlendirilmiştir.

Bezelye proteini ve Polisorbat 20 konsantrasyonunun hem in vitro salım davranışı hem de hücre geçirgenliği testleri üzerinde önemli bir etkisi olduğu görülmüştür.

Optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlenen Bezelye proteini ve Polisorbat 20 konsantrasyonunun, in vitro salım profilinde 5. dakikadaki çözünürlük profilini referans ürünle benzer şekilde etkilediği ve hücre geçirgenlik çalışması sonuçlarına göre referans ürüne göre daha yüksek hücre geçirgenliği sağladığı gözlenmiştir. Bulgular, bezelye proteini ile kaplanmış metilprednizolonun, oral biyoyararlanım üzerinde etkisi olduğu ve film kaplama olmadan yapılan tabletlerdeki acı tadı maskelediği için farmasötik formülasyon çalışmalarında umut verici bir fonksiyonel yardımcı madde olma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, bu çalışma QbD felsefesi ile formülasyonun anlaşılması ve bezelye proteininin caco2 geçirgenliği üzerindeki etkisini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Metilprednizolon, deneysel tasarım, tasarımda kalite, farmasötik formülasyon, faktöriyel tasarım, Caco-2, sitotoksiste.

Development of a Low Permeability and Solubility Pharmaceutical Form by Quality Design and *In Vitro* Pharmacokinetic Study

Erhan KOÇ

Department of Bioengineering

Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Rabia ÇAKIR

Methylprednisolone is classified as a Class II or IV molecule in the Biopharmaceutical Classification System (BCS) due to its low solubility and permeability. Its low solubility in water affects its bioavailability.

Low solubility and permeability are common challenges in the pharmaceutical industry. Pea protein has been evaluated in formulations to increase solubility due to its properties. Pea protein can enhance the solubility of drug molecules by binding to them.

This study was conducted to transform hydrolyzed pea protein and methylprednisolone into a pharmaceutical tablet using the masking property of hydrolyzed pea protein. The physicochemical properties like flow properties were examined at a spray dryer produced powder. The determined optimal formulation was evaluated against a reference product through cytotoxicity and cell permeability studies. The concentration of pea protein and Polysorbate 20 was found to have a significant impact on both in vitro release behavior and cell permeability tests. Optimization studies revealed that the concentration of pea protein and Polysorbate 20 influenced the solubility profile at the 5th minute similarly to the reference product in the in vitro release profile. Moreover, based on

cell permeability study results, the determined concentrations provided higher cell permeability compared to the reference product. Findings indicated that pea protein-coated methylprednisolone has an impact on oral bioavailability and holds promise as a functional excipient in pharmaceutical formulation studies by masking the bitter taste in tablets without film coating. In conclusion, this study demonstrated the understanding of formulation with the Quality by Design (QbD) philosophy and highlighted the potential of pea protein on Caco-2 permeability.

Keywords: Methylprednisolone, quality by design, design of experiment, pharmaceutical formulation, factorial design, Caco-2, cytotoxicity.



1.1 Literatür Özeti

Kortikosteroidler, adrenal korteks tarafından salınan, glukokortikoidleri ve mineralokortikoidleri içeren bir steroid hormon sınıfıdır. Ancak, "kortikosteroidler" terimi genellikle glukokortikoidleri ifade etmek için kullanılır. Bu adlandırma, gelişim, homeostaz, metabolizma ve iltihaplanma dahil olmak üzere çeşitli hücresel fonksiyonları düzenleyen glukokortikoidlerin karbonhidrat metabolizması üzerindeki etkilerinden kaynaklanmaktadır [1]–[5]. Kortikosteroidlerin salınımını adrenokortikotropik hormon (ACTH) düzenlemektedir. Etkin bağışıklık düzenleyici etkileri bulunan glukokortikoidler, dünyada en yaygın reçete edilen ilaçlardan biri olarak kabul edilmekte olup, küresel glukokortikoid pazarının yıllık gelirinin 10 milyar ABD dolarını aştığı tahmin edilmektedir. Bu ilaçlar, astım, alerji, septik şok, romatoid artrit, enflamatuvar bağırsak hastalığı ve multipl skleroz gibi bir dizi enflamatuvar ve otoimmün hastalığın tedavisinde klinik bir temel oluşturmuştur.

Ancak glukokortikoidlerin terapötik faydaları yanı sıra yüksek dozunun (sistemik vasküler ve SLE tedavisinde kullanılan) ve uzun süreli kullanımla ilişkili olumsuz yan etkileri de mevcuttur. Bu olumsuz etkiler arasında osteoporoz, deri atrofisi, diyabet, karın içi obezite, glokom, katarakt, avasküler nekroz ve enfeksiyon bulunmaktadır. Ayrıca, büyüme geriliği ve hipertansiyon da bu yan etkiler arasında yer almaktadır [6]–[10].

1.1.1 Kortikosteroidlerin Farmakokinetik Özellikleri

Kortikosteroidler hücre içine girerek steroidi hücre içine taşıyan reseptörlere bağlanırlar. Steroid reseptör kompleksi gen ekspresyonunu değiştirir. Steroid uygulanan dokudaki spesifik yanıtlar hormon reseptör kompleksi ve özel yanıt elementleri arasındaki etkileşimi kontrol eden her dokudaki farklı protein regülatörlerinin varlığı ile mümkün olmaktadır. Steroidlerin organ ve dokular üzerinde metabolik, katabolik, immunsupresif ve antienflamatuvar etkileri bulunmaktadır [11]–[15].

1.1.1.2 Kortikosteroidlerin Fizyolojik ve Farmakolojik Etkileri

- Glikoz metabolizması: Kortikosteroidler insüline zıt etki oluşturmaktadırlar.
- Protein Metabolizması: Kortikosteroidler, protein yıkımını artırabilir, bu da kas kütlelerinde azalmaya neden olabilir.
- Su ve Elektrolit Dengesi: Sodyum tutulumu, potasyum kaybı.
- Organ Nakli Sonrası İmmüsupresyon
- Anti-İnflamatuvar Etki: Astım, romatoid artrit ve diğer iltihabi durumları tedavisine endikedir [16]–[18].

1.1.2 Kortikosteroid İlaç Türleri

Kortikosteroid ilaç türleri kortizon asetat, hidrokortizon, prednizon, prednizolon, Metilprednisolon, triamsinolon, deksametazon, betametazon, mometazon furoat, fludrokortizon asetat, flumetazon pivalat, flusinolon asetonid, diflukortolon valerat, prednikarbat, holometazon, beklometazon dipropionat, flunisolid, flutikazon propionat, deflazakort ve budesoniddir [19], [20].

Metilprednizolon, sentetik bir glukokortikoidtir ve genellikle antienflamatuvar ve immünosupresif etkileri nedeniyle reçete edilmektedir. Bu ilaç, kronik hastalıklarda genellikle düşük dozlarda veya akut alevlenme durumlarında yüksek dozlarda kullanılmaktadır. Hem metilprednizolon hem de dexamethasone, bu özellikleri nedeniyle oral veya parenteral yollarla uygulanabilen sıkça kullanılan steroid türündeki ilaçlardır.

Tablo 1.1 Kortikosteroidlerin kortizole göre potent ve etki süreleri

	Antienflamatuvar	Topikal	Tuz tutucu	Etki süresi (saat)
Hidrokortizon	1	1	1	8-12
Prednizolon	5	4	0,3	12-36

Tablo 1.1 Kortikosteroidlerin kortizole göre potent ve etki süreleri (Devamı)

Metilprednizolon	5	5	0,25	12-36
Triamsinolon	5	6	0	15-24
Deksametazon	30	10	0	24-36
Fludrokortizon	10	0	250	8-12

1.1.3 Kortikosteroidlerin sınıflandırılması

1.1.3.1 Kullanım Şekillerine Göre Kortikosteroidler

- a) Topikal: Cilde uygulanır. Krem, jel ve losyon formları bulunur. Sistemik yan etkisi azdır. Nadiren sistemik emilime bağlı adrenal aks baskılanması görülebilmektedir [2], [21].
- b) İntraartiküler: Aynı ekleme uygulama aralıklarının altı haftadan uzun olması önerilir, etki süresi en uzun olan ve en etkin kortikosteroid triamsinolon heksaasetoniddir [2], [22], [23].
- c) Nazal: Nazal kortikosteroidler alerjik rinit tedavisinde kullanılmaktadır [2].
- d) İnhalasyon: Beklometazon dipropionat, budesonid, flunisolid, flutikazon dipropionat ve mometazon furoat inhalasyon yoluyla verilen kortikosteroidlerdir [24], [25].
- e) Sistemik: Sistemik tedavi oral ve intravenöz şekilde uygulanabilir.

Kortikosteroidler etki süresi, tedavi süresi, tedavi takvimi ve dozlarına göre sınıflandırılmaktadırlar.

1.1.3.2 Etki Sürelerine Göre Kortikosteroidler

Kortikosteroidler, antiinflamatuvar ve immünosupresif etkileri nedeniyle birçok tıbbi durumun tedavisinde kullanılan önemli ilaçlardır. Kortikosteroidlerin etki

süreleri, tedavi amacına ve hastalığın ciddiyetine göre değişebilir. Kortikosteroidler genellikle kısa, orta ve uzun etkili olarak sınıflandırılırlar.

Kısa etkili kortikosteroidler, etkilerini yaklaşık 12 saat boyunca sürdüren kortikosteroidlerdir. Bu gruba kortizol ve kortizon örnek olarak verilebilir.

Orta etkili kortikosteroidler ise etkilerini 12 ila 36 saat boyunca sürdüren kortikosteroidlerdir. Prednizolon, metilprednizolon ve prednizon bu kategoriye dahildir.

Uzun etkili kortikosteroidler, etkilerini 36 saatten daha uzun süre boyunca sürdürebilen kortikosteroidlerdir. Örnek olarak deksametazon, betametazon ve deflazakort verilebilir.

Bu sınıflandırma, kortikosteroidlerin kullanımında dozaj ve tedavi süresinin belirlenmesine yardımcı olur ve hastanın ihtiyacına uygun bir tedavi planının oluşturulmasına katkı sağlar [26]–[28].

1.1.3.3 Kortikosteroidlerin Klinikte Kullanım Alanları

- Astım, bronşial hiperreaktivite, aspirasyon ve kimyasal pnömoni, krup kliniği
- Nefrotik sendrom, lupus nefriti
- Adrenokortikal yetmezlik
- Konjenital adrenal hiperplazi
- Artrit, tenosinovit, bursit
- Vaskülitler
- Akut romatizmal kardit
- Dermatolojik hastalıklar (ekzema, sebore dermatit, pemfigüs)
- Alerjik hastalıklar (ürtiker, anjioödem, kontakt dermatiti, alerjik rinit)
- Anafilaksi, şok
- Nörolojik hastalıklar (intrakraniyal basınç artışı, beyin ödemi, akut omurilik zedelenmesi, serebrovasküler olay, polinörit, myotoni, ensefalit, Gullian Barre)

- Enfeksiyonlar (Hemofilus influenza tip B menenjit, Tüberküloz menenjit)
- Ülseratif kolit, Crohn hastalığı, subakut hepatik nekroz, kronik aktif hepatit
- Diğer kullanım yerleri lösemi, lenfoma, otoimmün hemolitik anemi, idiopatik trombositopenik purpura, tiroidit, prematür doğum öncesi anneye uygulanım organ nakli ve üveyiktir [29]–[32].

Bir kortikosteroid olan Metilprednisolon, adrenal bezleriniz tarafından üretilen doğal bir hormona benzer vücutta iltihaplanmaya neden olan maddelerin salınmasını önler. Artrit, lupus, sedef hastalığı, ülseratif kolit, alerjik bozukluklar ve daha pek çok enflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılır. Metilprednisolon ayrıca belirli kanser türlerine yönelik tedavide de kullanılmaktadır. Piyasada tablet, ampul, krem ve pomad formlarında bulunur.

Şişlik, ısı, kızarıklık ve ağrı gibi enflamatuvar belirtileri hafifletmek amacıyla kullanılır. Ayrıca, belirli artrit türlerinin tedavisinde etkilidir; cilt, kan, böbrek, göz, tiroid ve bağırsak bozuklukları gibi durumları (örneğin kolit) tedavi etmek için de kullanılır. Ayrıca, şiddetli alerjilere ve astıma karşı etkili olabilir.

Glukokortikoidler hem doğal hem de sentetik olan, gastrointestinal sistemden kolayca emilen adrenokortikal steroidlerdir. Metilprednisolon, beyaz renkli ve hemen hemen kokusuz bir kristal toz şeklinde ortaya çıkar. Alkol, dioksan ve metanol içinde iyi çözünen bir yapıya sahiptir, ancak aseton ve kloroformda hafifçe çözünür ve eterde neredeyse çözünmez. Suda ise neredeyse hiç çözünmez [1], [13], [33]–[35].

İlacın çözünürlüğü ve mide-bağırsak geçirgenliği ağızdan ilaç emiliminin oranını ve kapsamını kontrol eden önemli parametrelerdir. Bu iki özelliğin önemi, biyofarmasötik sınıflandırma sistemi (BCS) tarafından vurgulanmıştır, çünkü bu sistem ilaçları çözünürlük ve geçirgenlik özelliklerine göre dört farklı gruba ayırmaktadır [36]. Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS), esasen ilaçların çözünürlüğüne ve geçirgenliğine dayanan bir sınıflandırma sistemidir. BCS, çözünme hızı ile değerlendirildiğinde jenerik ilaçların in vivo biyoeşdeğerlik çalışmalarından muafiyetinde önemli bir adımdır [36]. Biyofarmasötik sınıflandırma sistemi, BCS'e göre kategori II (düşük çözünürlük- yüksek permeabilite) ve kategori IV (düşük çözünürlük düşük permeabilite) özellikleri olan

aktif ilaç hammaddelerinin biyoyararlanımları fonksiyonel yardımcı hammaddeler ve özel üretim yöntemleri kullanılarak artırılabilir. Farmasötik bir formun geliştirilmesinde önemli aşama, aday ilaçların farmakokinetik (PK) ve fizikokimyasal (PC) özelliklerinin değerlendirilmesidir. Bu sisteme göre, bir ilaç maddesi, 37 °C'de pH 1-7,5 aralığında en yüksek dozu 250 mL veya daha az sulu ortamda çözündüğünde "yüksek oranda çözünür" olarak kabul edilir [37]–[40].

1.1.4 Geçirgenlik tayini

- İnsan deneklerde yapılan farmakokinetik çalışmalar genellikle kütle-denge çalışmalarını, mutlak biyoyararlanım (BA) çalışmalarını veya bağırsak geçirgenlik yöntemlerini içerir
- Uygun bir hayvan modelinde gerçekleştirilen *in vivo* veya *in situ* bağırsak perfüzyonu
- Eksize edilmiş bağırsak dokularını kullanan *in vitro* geçirgenlik yöntemleri
- Uygun epitel hücrelerinin tek tabakaları. Örneğin; Caco-2 hücreleri veya TC-7 hücreleri

Bağırsak ve / veya karaciğerdeki potansiyel ilaç-ilaç etkileşimlerini ve ilaç dağılımını tahmin etmek için çözünürlük ve metabolizmaya göre geliştirilen sistem biyofarmasötik ilaç dağılım sınıflandırma sistemi (BDDCS) olarak adlandırılır. Çözünürlük ve geçirgenlik / metabolizmaya dayalı olarak ilaçların BCS ve BDDCS sınıflandırmasını aşağıdaki gibi gösterilmektedir [39]–[41].

- Class I : Yüksek Çözünürlük- Yüksek Geçirgenlik - Yüksek Metabolizma
- Class II : Düşük Çözünürlük – Yüksek Geçirgenlik - Yüksek Metabolizma
- Class III : Yüksek Çözünürlük – Düşük Geçirgenlik- Düşük Metabolizma
- Class IV : Düşük Çözünürlük - Düşük Geçirgenlik- Düşük Metabolizma

1.1.5 Farmasotik Geliştirmede Tasarım

1.1.5.1 Tasarımla Kalite

Tasarımla kalite (QbD) önceden belirlenmiş hedef ve kriterler ile ürün ve süreç anlayışını tanımlayan bilim ve kalite risk yönetimine dayalı sistematik bir geliştirme yaklaşımını tanımlar.

Tasarımla Kalite; önceden belirlenmiş amaçlarla başlayan, güvenilir bilimsel veriler ve kalite risk yönetiminin temel alındığı, ürün ve üretim işleminin iyi bir şekilde anlaşılmasının önemini vurgulayan sistematik bir farmasötik ürün geliştirme yaklaşımıdır. Bu modern yaklaşım, kalite hedef ürün profilinin tanımlanması, kritik kalite özellikleri ve kritik işlem parametrelerinin belirlenmesi, tasarım aralığı ve kontrol stratejisi oluşturulması gibi öğelerden oluşmaktadır [55]. Tasarımla kalite uygulamalarında proses analitik teknolojisi araçlarının ve gerçek zamanlı serbest bırakma stratejilerinin kullanımı ilaç üretim süreçlerinin etkinliğini arttırmaktadır. Tasarımla kalite yaklaşımında farmasötik ürün kalitesi, formülasyon ve üretim işlemi değişkenlerinin anlaşılması ve kontrol edilmesi ile güvence altına alınmaktadır. Farmasötik ürünlerde QbD yaklaşımı, ICH Q8 (R2) (Farmasötik Geliştirme), ICH Q9 (Kalite Risk Yönetimi) ve ICH Q10 (Farmasötik Kalite Sistemleri) da tanımlanmıştır [59]–[65]. Bu belgeler, kalite tasarımının kapsamı ve tanımına uygun olarak ilaç endüstrisi için detaylı talimatlar sunar. Kalite risk yönetim basamakları ve araçları Şekil 1.1 ve Şekil 1.2 de gösterilmiştir.



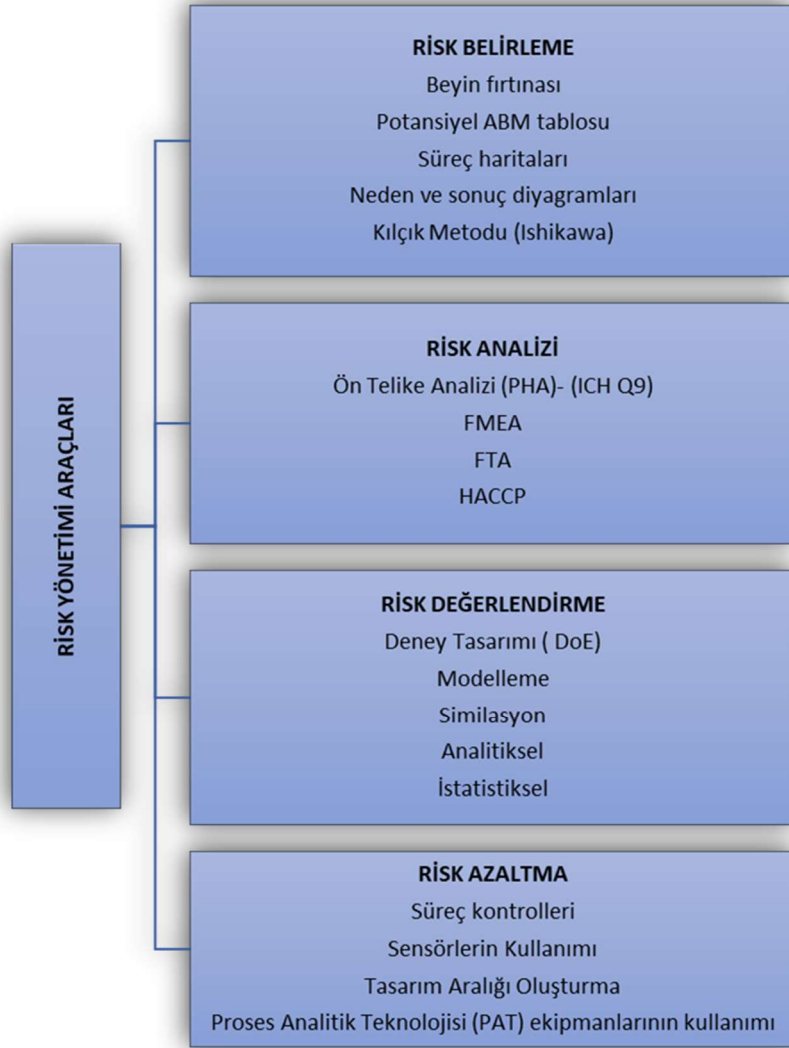
Şekil 1.1 QbD - Pratik Yaklaşım

1.1.5.2 Kritik Kalite Özelliği (CQA)

Kritik kalite özelliği, ürün kalitesini etkileyen bir malzemenin fiziksel, kimyasal veya mikrobiyolojik özelliği veya karakteristiği olarak tanımlanır ve kalite tasarımlı ürün profilinin bir alt kümeleridir ve geliştirme stratejisini belirlemede risk temelli bir yaklaşım kullanılır [66].

- Kritik Malzeme Özelliği (CMA) ve Kritik Süreç Parametresi (CPP)

CMA ve CPP, CQA üzerinde bir etkiye sahiptir ve bu nedenle, aktif maddenin veya ürünün istenen kaliteyi karşıladığından emin olmak için önceden tanımlanmış sınırlar içinde kontrol edilmelidir [52], [53], [55], [67], [68]. Kalite Risk Yönetimi, farmasötik formun kalitesine yönelik risklerin ürün yaşam döngüsü boyunca tanımlanması, değerlendirilmesi ve kontrol edilmesi için sistemli bir süreçtir [52], [55], [58], [68].



Şekil 1.2 Risk yönetim araçları

1.1.5.3 Kalite İçin Deney Tasarımı

Deneylerin Tasarımı (DoE) Yaklaşımı etkileşime giren faktörlerin aralarındaki ilişkilerin incelenmesini sağlayan bir yöntemdir [69]–[72]. Anahtar girdiler, çıktılar

ve süreç parametreleri, risk değerlendirme metodolojileri kullanılarak tanımlanır ve ürün ve üretim süreci bilgisi, tasarım süreci için çok önemlidir. Bu yöntem, önemli kalite özellikleri üzerinde en büyük etkiye sahip olan değişkenlerin yanı sıra bunların etkileşimleri ve bağlantılarını belirlemek için kullanışlıdır. Önemli süreç parametrelerinin ve tasarım aralığının tanımı, önemli kalite özellikleri için kabul edilebilir sınırlar belirlenerek yönlendirilebilir.

1.1.5.4 Tasarım Alanı

Ürün kalitesine ulaşıldığını göstermek için, çok değişkenli bir aralık olan tasarım alanında, işlem malzemesi öznelitliklerinin, işlem parametrelerinin ve etkileşimlerin kombinasyonları tanımlanır. Tasarım kalitesi tekniğini kullanırken, tasarım alanını geliştirmek gerekli değildir. Bir tasarım alanı oluşturmak, başvuru değerlendirme süreci [69], [71]–[75] boyunca ruhsatlandırma makamı ile ilaç işi arasındaki iletişimi geliştirmeye yardımcı olur. Ürünün sürekli gelişimini sağlamada çok önemli bir adım, ürünün kalite hedef profilinin geliştirilmesiyle başlayan ve ürünün yaşam döngüsü boyunca devam eden bir kavram olan tasarım alanının inşasıdır [69]–[73], [76].

Tasarım alanını tasvir etmek için doğrusal aralıklar, matematiksel ilişkiler, zamana bağlı fonksiyonlar veya değişken karışımları kullanılabilir. Bir sürecin belirli koşulları karşılayan bir ürün yaratma kapasitesi, süreç yeteneği olarak bilinir. Bu açıdan bakıldığında tasarım alanı, işleme kapasitesi en yüksek olan alanı ifade eder. Başka bir deyişle, tasarım alanı, yüksek güven sağlayan ve yeterince yüksek olasılıkla standartlara uyan alandır. Raporlara göre, tasarım alanını doğru bir şekilde tahmin edebilmek için, bu tahminlerin dağılımı, sürecin sonucunu tahmin etmek kadar önemlidir [69]–[73], [75]–[77].

1.1.6 Deney Tasarımına Giriş ve Temel Kavramlar

Deneyisel tasarım [69], [71], [73], [75], [78], belirli bir yanıt üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla deneyisel değişkenleri birlikte sistematik bir şekilde değiştiren ve bu süreci resmi bir matematiksel yöntemle planlayan ve uygulayan bilimsel çalışmalardır. Bu yöntem, minimum örneklem büyüklüğü ile neden-sonuç ilişkileri hakkında maksimum miktarda bilgi elde etmek için girdi değişkenlerinde kontrollü değişiklikler yapar. Belirli bir yanıt üzerindeki etkileri gözlemlemek için, "her

seferinde bir değişkeni" değiştirmeye yönelik standart bir yaklaşımdan daha etkili bir yöntemdir. Deneysel tasarımı, çeşitli faktörlerin bir yanıt değişkeni üzerindeki etkisi hakkında bilgi üretir ve bazı durumlarda bu faktörler için en uygun ayarları belirleyebilir.

Deneysel tasarımı, belirli bir yanıtı etkileyebilecek temel faktörleri tartışmak için fikir paylaşımlarını teşvik eder ve çalışmalarda etkin olabilecek faktörleri belirlenmesine katkı sağlar. Deneysel tasarımı, piyasada bulunan çok sayıda istatistiksel yazılım paketi tarafından kolayca desteklenir.

Deneysel tasarımıdaki Temel Adımlar aşağıda ve şekil 1.3'te detaylı olarak verilmiştir.

1. Deneyin planlanması,
2. Veri toplama süreci,
3. İstatistiksel analiz aşaması, ve
4. Deneyin sonuçları ile elde edilen sonuçlar ve yapılan neriler.

1.1.6.1 Deneysel Tasarımın Planlanması

Bir bilimsel deney, katılımcıların deneyin amacı, soruları ve beklenen sonuçları hakkında net bir anlayışa sahip olmaları gereken bir süreçtir. İncelenen sorunu anlamak için belirlenen bağımlı değişken(ler) ve bu değişkenlerin ölçülmesi için önerilen yöntemler, ölçümün güvenilirliği dahil olmak üzere dikkatle seçilmelidir. Ayrıca, araştırılacak bağımsız değişkenleri ve her birinin seviyelerini (nicel ve/veya nitel) belirlemek önemlidir. İstatistiksel g ile ekonomik verimlilik arasındaki dengeyi göz önünde bulundurarak, verilerin toplanması ve analiz edilmesi için en uygun deneysel tasarımı seçilmelidir. Genellikle, deneyin sonuçlarını öngörmek için yapay veriler kullanmak ve analiz etmek faydalı olabilir. Deney, mümkün olduğunca tutarlı bir ortamda yürütülmelidir. Rast gele eşleştirme ve ölçüm sistemi doğruluğu gibi faktörler dikkatle göz önünde bulundurulmalıdır. Veri toplama süreci, deneysel tasarımı kritik bir aşamasıdır. Veriler, uygun istatistiksel modeller kullanılarak analiz edilmelidir. Model doğruluğunu kontrol etmek için temel varsayımları doğrulamak önemlidir. İstatistiksel modellemede grafik teknikleri de dahil olmak üzere, tüm araçlar kullanılmalıdır. Analiz sonuçlarına dayanarak, sonuçlar çıkarılmalı, bulguların fiziksel anlamları yorumlanmalı ve pratik önemleri

belirlenmelidir. Ayrıca, daha fazla araştırma veya eylem planları önerileri dahil olmak üzere ileri adımlar için öneriler sunulmalıdır [79]–[81]. Veri analizi sürecinde, temel varsayımları doğrulayarak model doğruluğunu kontrol etmek amacıyla uygun istatistiksel modeller kullanılmalıdır. Bilgi üretiminin maksimum düzeyde olması için istatistiksel yazılım paketindeki tüm araçlar, grafik teknikleri dahil olmak üzere geniş bir yelpazede kullanılmalıdır.

1.1.6.2 Faktöriyel (2k) Tasarım

Deneyler birkaç faktörü (k) içerir ve bu tasarımın bir matris formunu ifade eder. Bu tasarım genellikle bir faktöriyel deney tasarımıdır, yani farklı faktör seviyelerinin kombinasyonları üzerinde yapılan bir dizi deneyi içerir. "2k" ifadesi ise faktörlerin iki seviyesi olduğunu belirtir. Ayrıca, olağan normallik varsayımları da karşılanır. Deneysel çalışmanın ilk aşamalarında, pek çok faktörün araştırılması muhtemel olduğunda ve tedavi kombinasyonlarının sayısını (numune boyutu) en aza indirmek istediğinizde, ancak aynı zamanda, tüm k faktörlerini tam bir faktöriyel düzenlemede (deney, tüm olası faktör seviyeleri kombinasyonlarında veri toplar).

Kesirli Faktöriyel Tasarımlar – toplam deneysel çalışma sayısı 2'nin (4, 8, 16, 32, 64, ...) katı olmalıdır. Her bir deney, faktörlerin belirli bir kombinasyonunu temsil eder ve bu kombinasyonlar üzerinde yapılan ölçümler, faktörlerin etkileşimlerini ve deneyin sonuçlarını anlamak için kullanılır.

Plackett-Burman Tasarımları – n'nin 4 katı olduğu (çalışma sayısı 4, 8, 12, 16, ... olacaktır) n deneysel çalışmada n-1 faktörü incelemek için kullanılan iki seviyeli, çözünürlük III tasarımları. n oldukça büyük olabileceğinden, orta derecede küçük örneklem büyüklükleriyle çok sayıda faktörü inceleyebilirsiniz (n = 100, 100 çalışma ile 99 faktörü inceleyebilirsiniz).

Araştırma konusu olan faktör veya faktörlerin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını belirlemede kullanılan istatistiksel analize Varyans Analizi (Analysis of Variance) adı verilir. Denemeler, deneyde birden fazla faktör olduğunda faktör seviyelerinin kombinasyonlarıdır. Örneğin, deney iki bileşen içeriyorsa (A ve B gibi) ve A'nın üç düzeyi (A1, A2 ve A3) ve B'nin iki düzeyi (B1, B2) varsa kombinasyon sayısı 6'dır. Bu denemeler, A1B1, A1B2, A2B1, A2B2, A3B1 ve A3B2 harfleriyle gösterilen bağımsız grupları içerecektir. Bu tür çalışmalar

öncelikle değişkenlerin birincil etkilerini ve etkileşimlerini araştırmak için yapılır. Varyans Analizi, araştırmanın konu faktörünün veya faktörlerinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını incelemek için kullanılan bir istatistiksel analiz türüdür [82]–[85].

Etkileşim, her bir ögenin etkisi diğer faktörlerin seviyelerine bağlı olduğunda ortaya çıkan ortak faktör etkileri için kullanılan terimdir. Etkileşimin anlamlı olmaması, değişkenlerin bağımlı değişken üzerinde bağımsız etkileri olduğunu gösterir. Etkileşimin önemi, bağımlı değişken üzerindeki etkiler arasında bir karşılıklı bağımlılık olduğunu göstermektedir. Tipik olarak, benzer çevresel koşullar altında aynı teste tabi tutulan test ünitelerinden yapılan ölçümlerin benzer olacağına inanılır. Ancak, deneysel birimlerin tasarımı göz önüne alındığında, bu mümkün değildir. Deneysel hata, deneysel birimler arasındaki bu kaçınılmaz varyasyonları ifade eder. Deneysel tasarımının temel amacı, planlı bir çalışmadan toplanacak bilgiyi kullanarak yapılacak deney sayısını azaltmaktır. Faktöriyel tasarımlar, özellikle endüstri, mühendislik, tarım ve biyoloji gibi birçok alanda kullanılır. Deney tasarımı alanında kullanılan bir yöntemdir ve birçok faktörün aynı anda değerlendirilmesine olanak tanır. Bu tasarımlar, faktörlerin etkileşimlerini ve her bir faktörün etkisini belirlemek amacıyla kullanılır. Faktöriyel tasarımlar genellikle çoklu faktörlerin ve seviyelerin etkileşimlerini anlamak, optimize etmek veya en iyi koşulları belirlemek için kullanılır. Tam faktöriyel deney tasarımı, bir deneydeki tüm faktörlerin ve seviyelerinin tüm kombinasyonlarını içeren bir tasarımıdır. Bu tasarım, her faktörün her seviyesinin diğer faktörlerin her seviyesi ile birleştirildiği bir matris oluşturur. Tam faktöriyel tasarım formülü denklem (1.1)'de gösterilmiştir.

$$N=nk \quad (1.1)$$

N, Toplam deneme sayısı, n Bir faktördeki seviye sayısı ve k Toplam faktör sayısını belirtmektedir. Plackett-Burman tasarımı, faktör sayısını azaltarak deney tasarımını basitleştiren bir yöntemdir. Bu tasarım, özellikle endüstriyel süreçlerde faktörlerin etkilerini belirlemek ve en önemli faktörleri belirleyerek maliyeti düşürmek amacıyla kullanılır [86]. Plackett-Burman tasarımı, özellikle çok sayıda faktör içeren deneylerde, hangi faktörlerin öne çıkması gerektiğini belirlemede etkili bir

araçtır [86]–[91]. Bu yaklaşım, faktörler arasındaki etkileşimleri belirlemek için daha az deney sayısı ile önemli bilgiler elde etmeyi mümkün kılar [92].

Plackett-Burman tasarımı denklem (1.2)'de gösterilmiştir.

$$N=2^{k-1} \quad (1.2)$$

Burada, N: Toplam deneme sayısı ve k: Faktör sayısıdır. Bu formül, Plackett-Burman tasarımının deneme sayısını belirler [90].

1.1.6.3 Optimizasyon Tasarımı

Optimizasyon tasarımı, bir sürecin veya sistemin performansını optimize etmek amacıyla kullanılan bir deney tasarımı yöntemidir. Bu tasarım, deneme sayısını azaltmak için matematiksel veya istatistiksel optimizasyon tekniklerini içerir ve genellikle çoklu faktörlerin etkileşimlerini anlamak ve en iyi koşulları belirlemek amacıyla kullanılır [93]. Bu yöntemde yanıt yüzeyi belirlenerek değişkenler arasındaki etkileşimleri ve optimum parametre değerleri tanımlanır. Yanıt yüzeyi, deneylerin sonuçlarını analiz etmek ve optimum koşulları belirlemek için kullanılır. Ancak, Yanıt yüzey yöntemi değişken sayısına bağlı olarak gereken deney sayısını artırır. Değişken sayısının artması ile tasarım için gereken deney sayısı da katlanarak artar. Bu nedenle, bu yöntemin pratikte uygulanabilirliği ve maliyet etkinliği dikkate alınmalıdır. Değişken sayısını optimize etmek ve deney sayısını azaltmak için istatistiksel yöntemler ve optimizasyon algoritmaları kullanılabilir.

Yanıt yüzey yöntemi (Response Surface Methodology- RSM), bir sürecin veya sistemin performansını optimize etmek amacıyla kullanılan bir deneysel tasarım ve optimizasyon tekniğidir. Bu yöntem, bir yanıt değişkenini (bağımlı değişken) bir veya daha fazla bağımsız değişkene (faktörler ve seviyeler) bağlı olarak modellemeyi amaçlar.

Taylor denklemi yanıt yüzey yönteminin çıkış noktası Taylor denklemidir. Denklem (1.3)'te verilmiştir.

$$f(x)=f(a)+f'(a)(x-a) +f''(a)(x-a)^2/2! +f'''(a)(x-a)^3/3!+... \quad (1.3)$$

$f(x)$: Fonksiyonun genel formu, a : Yaklaşım noktası, $f'(a)$: $f(x)$ fonksiyonunun a noktasındaki birinci dereceden türevi, $f''(a)$: $f(x)$ fonksiyonunun a noktasındaki

ikinci dereceden türevi, $f''(a): f(x)$ fonksiyonunun a noktasındaki üçüncü dereceden türevi, $(x-a)$: Yaklaşım noktasına olan uzaklığı ifade eder.

1.1.6.4 Merkezi Kompozit Tasarımı

Optimizasyon tasarımlarında yaygın olarak kullanılan bir diğer yöntemdir. Bu yöntem, Yanıt Yüzey Yönteminin bir genişlemesi olarak kullanılır ve optimum parametre değerlerini belirlemek için kullanışlı bir araç sağlar. Merkezi Kompozit Tasarımı, faktörler arasındaki etkileşimleri ve doğrusal olmayan ilişkileri dikkate alan bir deneysel tasarım yöntemidir. Bu tasarım, bir faktörün merkez değeri (0 seviyesi) etrafında bir dizi faktör ayarı içerir. Bu ayarlar, faktörlerin düşük ve yüksek seviyelerinin yanı sıra merkez değerine yakın seviyeleri de içerir. Merkezi Kompozit Tasarımı, faktör sayısı ve düzeylerine bağlı olarak deney sayısını artırılabilir. Ancak, genellikle etkileşimleri ve doğrusal olmayan ilişkileri hesaba kattığı için daha doğru sonuçlar sağlar. Ayrıca, Yanıt Yüzey Yönteminden farklı olarak, Merkezi Kompozit Tasarımı, deney bölgeleri dışında da geçerli sonuçlar sağlayabilir [94].

Bu tasarım, yanıt yüzey yöntemi ve Plackett-Burman tasarımları gibi diğer optimizasyon yöntemleriyle birlikte kullanılabilir. Merkez noktalar ise deneysel hatayı tahmin etmek için tekrar edilen noktalardır. Merkezi kompozit tasarımında her bir parametrenin beş düzeyi vardır. Bunlar +1 ve -1 faktöriyel noktalar $+\alpha$ ve $-\alpha$ eksenel noktalar, 0 olarak ifade edilen merkez noktasıdır. Merkezi kompozit tasarımı için temel formül, genellikle aşağıdaki denklemdeki gibi (1.4) ifade edilir.

$$Y = \beta_0 \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} \beta_i x_i x_j + \epsilon \dots \dots \dots (1.4)$$

- Y : Yanıt değişkeni (bağımlı değişken)
- x_i : i -inci faktörün seviyesi
- β_0 : Sabit (intercept) terimi
- β_i : i -inci faktörün doğrusal etkisi
- β_{ii} : i -inci faktörün karesel etkisi
- β_{ij} : i -inci ve j -inci faktörler arasındaki etkileşim terimi
- ϵ : Hata terimi

Bu formül, faktörlerin doğrusal, karesel ve ikinci dereceden etkileşimlerini içerir. Merkezi kompozit tasarım, genellikle doğrusal olmayan ve etkileşimleri olan modelleri temsil edebilen bir matematiksel model oluşturarak faktörlerin etkilerini anlamaya yöneliktir. Deneylerden elde edilen veriler, bu modeldeki katsayılarla birleştirilerek optimize edilecek koşullar ve faktör seviyeleri belirlenebilir.

1.1.6.5 Box-Behnken Tasarımı

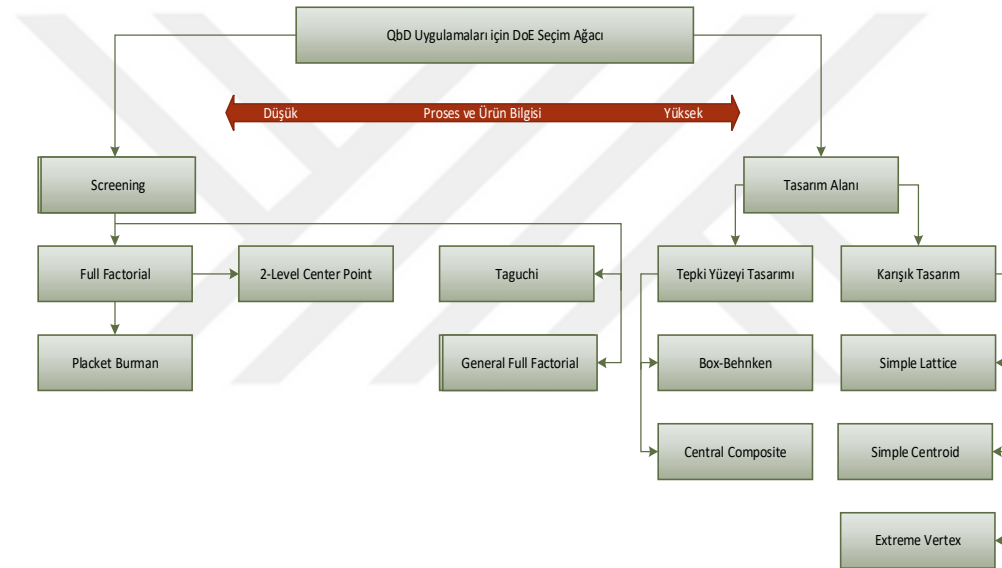
Box-Behnken tasarımı, faktörler arasındaki etkileşimleri belirlemek ve optimal yanıtı elde etmek için kullanılan istatistiksel bir tasarım yöntemidir. Bu tasarım, faktörlerin etkilerini değerlendirmek ve yanıt yüzeyini modellemek amacıyla bir matematiksel model oluşturur. Bu yöntem, faktörlerin seçimi, seviyeleri ve deney noktalarının belirlenmesi gibi adımları içerir ve deneysel verilerin analizinde kullanılır [95]–[97]. Box-Behnken tasarımı bazı avantajlar sunar. Deneysel veri toplama süresini azaltır, optimal yanıtı elde etme olasılığını artırır, faktörlerin etkilerini ve etkileşimlerini tahmin etmek için kullanılan matematiksel modeller oluşturur. Bu modeller, faktörlerin etkisini anlamak ve gelecekteki yanıtları tahmin etmek için kullanılabilir. Daha az deney noktası gerektirir ve böylece deneysel çalışmanın maliyetini azaltır ve daha az deney yapma imkânı sağlar. Faktörler arasındaki etkileşimlerini belirleyerek faktörlerin tek başına etkisi yerine, etkileşimleri de dikkate alarak daha gerçekçi sonuçlar elde edilmesini sağlar.

1.1.6.6 Taguchi Deney Tasarımı

Diğer bir tasarım ise Taguchi deney tasarımıdır. Bu yöntem üretim ve işlemlerin optimize edilmesi için kullanılan bir yoldur. Bu tasarım, sistematik bir şekilde faktörlerin etkilerini analiz etmek ve üretim süreçlerinin dayanıklılığını artırmak için geliştirilmiştir [98]–[100]. Taguchi Deney Tasarımı, faktörlerin ve seviyelerinin seçilmesi, deney planının oluşturulması ve sonuçların analiz edilmesi gibi aşamaları içerir. Tasarım, optimum performansı elde etmek için faktörlerin etkisini belirlemek ve bu faktörlerin doğru seviyelerini bulmak amacıyla yapılan deneylerden yararlanır. Taguchi Deney tasarımının bilimsel olarak önemli avantajlarından biri, deney planının minimum sayıda deney noktası ile yapılabilmesidir. Bu, zaman ve maliyet tasarrufu sağlar. Ayrıca, tasarım, faktörlerin

etkileşimlerini ve optimum seviyelerini belirlemek için istatistiksel teknikleri kullanır.

Taguchi Deney Tasarımı, üretim süreçlerindeki varyasyonları azaltmayı hedefler. Bu, ürün kalitesini artırır, maliyetleri düşürür ve müşteri memnuniyetini artırır. Tasarım, istenmeyen etkileri en aza indirmek için faktörlerin ve seviyelerinin seçiminde özen gösterir. Sonuç olarak, Taguchi Deney Tasarımı, üretim süreçlerinin optimize edilmesi ve kalite iyileştirmesi için bilimsel ve sistemli bir yaklaşım sunar. Bu yöntem, faktörlerin etkisini analiz eder, optimum performansı belirler ve üretim süreçlerinin dayanıklılığını artırır.



Şekil 1.3 Deney tasarımı seçim ağacı

Farmasötik formülasyonlar, etken madde (aktif madde) ve yardımcı madde olarak bağlayıcılar, dolgu maddeleri, dağıtıcılar, çözünürlük artırıcılar, koruyucular ve daha birçok bileşen içermektedir. Farmasötik Formülasyonlarda Malzeme Özellikleri, Proses Parametreleri ve Kalite Özellikleri Tablo 1.2’de detaylı olarak gösterilmiştir.

- **Malzeme Özellikleri:**

Etken Madde: İlaç formülasyonunun temel bileşenidir ve terapötik etkiyi sağlar. **Aktif madde,** kimyasal ve fiziksel olarak kararlı olmalıdır. **Yardımcı Maddeler:** İlaç formülasyonunun stabilitesini artırmak, çözünürlüğü geliştirmek veya ilacın

fonksiyonellik vermek için kullanılırlar. Bu maddelerin saflığı ve etken madde ile geçimliliği çok önemlidir.

- Proses Parametreleri:

İlaç üretim süreçleri, ilaç formülasyonunun hazırlanmasında kullanılan malzemelerin direk karıştırılması, granülasyonu, tablet veya kapsül üretimi gibi ya da daha kompleks üretim adımlarını içerebilir. Bu adımların her biri, belirli proses parametrelerini gerektirir. Örneğin, karıştırma süresi, granülasyon yöntemi, tablet sıkıştırma kuvveti gibi parametreler kontrol edilmelidir.

- Kalite Özellikleri:

İlaç formülasyonlarının kalite kontrolü, ilacın güvenli ve etkili olmasını sağlamak için kritik öneme sahiptir. Kalite özellikleri, ilaçların saflık, dozaj doğruluğu, çözünürlük, dağılım ve mikrobiyolojik özelliklerini içerir. Kalite kontrol testleri, ilaçların belirli standartlara uygun olduğunu doğrulamak için yapılır ve ilacın serbest bırakılmasını veya geri çekilmesini etkileyebilir. Farmasötik formülasyonların hazırlanması ve üretimi, katı kalite kontrol standartlarına tabi tutulur ve bu süreçler, ilaçların güvenliği ve etkinliği için kritik öneme sahiptir. Genel olarak formülasyon tasarımlarında ve süreçte faydalanılabilecek malzemesi özellikleri, proses parametreleri ve kalite Özellikleri Tablo 1.2’de verilmiştir.

Tablo 1.2 Malzemesi özellikleri, proses parametreleri ve kalite özellikleri

Proses Basamağı	Malzeme Özellikleri	Proses Parametreleri	Kalite Özellikleri
Kuru Karışım / Toz Karışım (Doğrudan Karışım)	Bulk ve sıkıştırılmış yoğunluk Adeziv ve kohezif özellikler Elektrostatik özellikler Boyut-İnce ve kalın boyut Nemli içeriği Parçacık şekli Parçacık boyutu Partikül boyutu dağılımı	Blender hacmi Deşarj yöntemi Ortam sıcaklığı ve bağıl nem Bekletme süresi Eklenen enerji (karıştırma süresi ve hızı) Mikser Dolum Hacmi Dönüş sayısı (zaman ve hız) Ekleme sırası Toz düşüş yüksekliği Hava temizleme basıncı Mikser tipi ve geometrisi	Karışım tekdüzeliği Bulk / sıkıştırılmış yoğunluk Adeziv ve kohezif özellikler Yoğunluk ve akışkanlık Elektrostatik özellikler İnce partikül dozu Akış özellikleri Homojenlik Nem içeriği (LOD) Parçacık boyutu Partikül boyutu dağılımı Parçacık yapısı Potens Toz ayrımı Görsel Tekdüzelik
Granülasyon (Bağlayıcı) Çözeltisi Hazırlığı		% Katı miktarı Solüsyon verme süresi Karışım Hızı Karışım Zamanı Mikser / Bıçak Tasarımı Ekleme Sırası Sıcaklık	Çözelti veya Süspansiyonun Homojenliği Solüsyon stabilitesi

Tablo 1.2 Farmasötik formülasyonlarda malzemesi özellikleri, proses parametreleri ve kalite özellikleri (Devamı)

Yaş granülasyon	Kırılgenlik Bulk / sıkıştırılmış yoğunluk Adeziv ve kohezif özellikler Esneklik Elektrostatik özellikler Granül boyutu Sertlik / plastisite Nem içeriği Parçacık şekli Partikül boyutu dağılımı Katı form / polimorf Viskoelastisite	Bağlayıcı Çözeltinin Eklenme Oranı ve Süresi Kazan sıcaklığı (ceket sıcaklığı) Kıyıcı hızı, konfigürasyon, konum Dolum Hacmi Granül sıvı ekleme oranı ve süresi Granül sıvısı veya çözücü miktarı Granüle edici sıvı sıcaklığı Granül sıvı kabı (örneğin basınçlı, ısıtılmış) Pervane hızı, uç hızı, konfigürasyon, konum, güç tüketimi / tork Bağlayıcı ekspiyan ekleme yöntemi (kuru / ıslak) Sıvı ekleme granülleme yöntemi (püskürtme veya pompa) Karışım süresi (Kuru karışım) Granülasyon sonrası karıştırma süresi Ürün sıcaklığı Pompa Tipi: Peristaltik, Dişli tip Püskürtme başlığı modeli Granülasyon ekipmanı türü	Aglomera Boyutu API polimorfik formu veya geçişi Karışım / Karışım tekdüzelik Bulk / sıkıştırılmış yoğunluk Adeziv ve kohezif özellikler Sıkıştırılabilirlik Elektrostatik özellikler Uç nokta ölçümü (ör. Güç tüketimi, tork vb.) Akış Granül kırılgenliği Granül esnekliği Granül boyutu ve dağılımı Granül mukavemeti ve tekdüzelik Nem profili ve içerik seviyesi Partikül boyutu ve dağılımı Fiziksel tanım Potens Güç tüketimi (süreç kontrolü) Katı form Tork (süreç kontrolü)
-----------------	--	---	---

Tablo 1.2 Farmasötik formülasyonlarda malzemesi özellikleri, proses parametreleri ve kalite özellikleri (Devamı)

Yaş granülasyon- Akışkan yataklı granülasyon	Kırılgenlık Bulk / sıkıştırılmış yoğunluk Adeziv ve kohezif özellikler Esneklik Elektrostatik özellikler Cezalar / Büyük Boy Sertlik / plastisite Nemli içerik Parçacık şekli Partikül boyutu dağılımı Kati form / polimorf Viskoelastisite	Atomizasyon Hava Basıncı Bağlayıcı Çözeltinin Eklenme Oranı ve Süresi Taban elek boyutu ve türü Tabancanın Akışkan Toz Yatağına Uzaklığı ve Konumu Doluluk oranı Filtre tipi Granüle edici sıvı konsantrasyonu / viskozite Granül sıvı miktarı Granül sıvı püskürtme hızı Granüle edici sıvı sıcaklığı Giriş hava akışı ve hacmi, sıcaklığı Bağlayıcı ekspiyan ekleme yöntemi	Yeterli akış Aglomera Boyutu API polimorfik formu veya geçişi Karışım / Karışım tekdüzelik Bulk / sıkıştırılmış yoğunluk Adeziv ve kohezif özellikler Sıkıştırılabilirlik Elektrostatik özellikler Uç nokta ölçümü (ör. Güç tüketimi, tork vb.) Akış Granül kırılgenlığı Granül esnekliği Granül boyutu ve dağılımı Granül mukavemeti ve tekdüzelik
Kurutma- Tepsi	Kırılgenlık Adeziv ve kohezif özellikler Esneklik Elektrostatik özellikler Para cezaları / büyük boy Sertlik / plastisite Nemli içerik Parçacık şekli Partikül boyutu dağılımı Kati form / polimorf Viskoelastisite	Hava akımı Yatak kalınlığı / tepsi derinliği (tepsi başına ürün derinliği) Kuruma süresi ve sıcaklığı Giriş havası çiy noktası Bölme başına miktar arabaları ve tepsileri Tepsi başına ürün miktarı Kurutma tepsisi astarının türü Tepsi kurutucunun tipi	Yeterli Akışkanlaştırma API polimorfik formu veya geçişi Bulk / sıkıştırılmış yoğunluk Adeziv ve kohezif özellikler Elektrostatik özellikler Granül boyutu ve dağılımı Granül mukavemeti, tekdüzelik Nem profili ve içerik seviyesi Parçacık boyutu Potens Saflık profili Uçucular

Tablo 1.2 Farmasötik formülasyonlarda malzemesi özellikleri, proses parametreleri ve kalite özellikleri (Devamı)

Kurutma- Akışkan yatak	Kırılabilirlik Adeziv ve kohezif özellikler Esneklik Elektrostatik özellikler Granüllerin boyutu Sertlik / plastisite Nemli içerik Parçacık şekli Partikül boyutu dağılımı Katı form / polimorf Viskoelastisite	Egzoz havası sıcaklığı, akış Dolgu Hacmi Filtre tipi ve orifis boyutu Giriş hava akışı ve hacmi, sıcaklığı, çiy noktası Ön ısıtma Sıcaklığı Ürün sıcaklığı Çalkalama aralığı ve süresi Toplam kuruma süresi Akışkan Yatak Tipi	Yeterli Akışkanlaştırma API polimorfik formu veya geçişi Bulk / sıkıştırılmış yoğunluk Adeziv ve kohezif özellikler Elektrostatik özellikler Granül boyutu ve dağılımı Granül mukavemeti, tekdüzellik Nem profili ve içerik seviyesi Parçacık boyutu Potens Saflık profili Uçucular
Kurutma- Vakum / mikrodalga	Kırılabilirlik Yapışkan / yapışkan özellikler Esneklik Elektrostatik özellikler Para cezaları / büyük boy Sertlik / plastisite Nemli içerik Parçacık şekli Partikül boyutu dağılımı Katı form / polimorf Viskoelastisite	Hava boşaltma hacmi Fırın ve kapak sıcaklığı Kondenser sıcaklığı Elektrik alanı Sağlanan enerji Çark hızı Ceket sıcaklığı Mikrodalga gücü Ürün sıcaklığı Toplam kuruma süresi Vakum basıncı	Yeterli Akışkanlaştırma API polimorfik formu veya geçişi Bulk / sıkıştırılmış yoğunluk Adeziv ve kohezif özellikler Elektrostatik özellikler Granül boyutu ve dağılımı Granül mukavemeti, tekdüzellik Nem profili ve içerik seviyesi Parçacık boyutu Potens Saflık profili Uçucular

Tablo 1.2 Farmasötik formülasyonlarda malzemesi özellikleri, proses parametreleri ve kalite özellikleri (Devamı)

Tablet Baskı	Kırılabilirlik Bulk / sıkıştırılmış yoğunluk Adeziv ve kohezif özellikler Esneklik Elektrostatik özellikler Para cezaları / büyük boy Sertlik / plastisite Nem Parçacık / granül şekli Partikül / granül boyutu ve dağılımı Katı form / polimorf Viskoelastisite	Bekleme süresi Tableti çıkartma kuvveti Besleme çerçevesi türü ve hızı Besleyici doldurma derinliği Besleme mekanizması Doldurma Kamı Hazne tasarımı, yükseklik, açısı, titreşim Ana sıkıştırma kuvveti Maksimum zımba yükü Kürek Hızı Ön sıkıştırma kuvveti Basın hızı Zımba penetrasyon derinliği Zımba tasarımı Kalıp Türleri	Görünüm (Tabaka oluşumu, yapışma, kapak oluşumu, kabartma okunabilirliği) Kırılabilirlik: Çentikli tabletlerde İçerik tekdüzeliği Dağılım Çözünme profili Kırılabilirlik Genel görsel nitelikler Sertlik Nem içeriği Tablet kusurları Tablet ağırlığı Kalınlık / boyutlar Ağırlık tekdüzeliği
Film Kaplama Kazanı	Yoğunluk Sertlik / plastisite Nemli içerik Gözeneklilik Tablet kusurları Tablet boyutları	Atomizasyon hava basıncı Bölme (tasarım, konum) Tabancalar arasındaki mesafe Egzoz havası sıcaklığı, hava akışı Tabanca püskürtme hızı Giriş hava debisi, hacmi, sıcaklığı Tabanca yönü Tabancanın mesafesi Tabanca sayısı Pan yükleme seviyesi Pan dönüş hızı	% Ağırlık alımı Görünüm Kaplama homojenliği Kaplama verimliliği Ön ısıtmadan önce ve sonra çekirdek tablet ağırlığı Parçalanma Çözünme Film oluşması Film kalınlığı Genel görsel nitelikler

2.1 Kullanılan Malzemeler ve Ekipmanlar

Tez çalışmasında kullanılan tüm yardımcı maddeler, etken madde ve kullanılan ekipmanlar Tablo 2.1 ve Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.1 Tezde kullanılan malzemeler

Kullanılan Malzemeler	Üretici
Metilprednisolon	Tianjin Tianyao pharmaceuticals
Polivinilpirolidon	BASF SE, Almanya
Krospovidon	BASF SE, Almanya
Magnezyum Stearat	Mallinckrodt Inc., ABD
Kolloidal Silikondioksit	Evonik Degussa GMBH, Almanya
Mikrokristalin Selüloz Tip 101	JRS Pharma, Almanya
Mikrokristalin Selüloz Tip 102	JRS Pharma, Almanya
RLD-Referans Tablet	USA,Pfizer
Asetonitril	Sigma-Aldrich Co., ABD
Metanol	Sigma-Aldrich Co., ABD
Etanol	Sigma-Aldrich Co., ABD

Tablo 2.1 Tezde kullanılan malzemeler (Devamı)

Trifloroasetik asit	Sigma-Aldrich Co., ABD
HPLC/UPLC viali ve kapağı	Sigma-Aldrich Co., ABD
Amonyum Asetat	Merck, Almanya
Asetik Asit	Merck, Almanya
Tripsin-EDTA Sol.	Sigma
Lucifer Yellow disodium Salt	Sigma
HEPES Solution	Sigma
Hidroklorik asit	Sigma-Aldrich Co., ABD

Tablo 2.2 Tezde kullanılan ekipmanlar ve yazılımlar

Ekipman	Marka
Granülasyon makinesi	GEA Collette Microgral, Almanya
Akışkan yataklı kurutucu	Glatt GPCG 5, Almanya
Konteyner karıştırıcı	Erweka AR 403 CM, Almanya
Eksantrik tablet baskı makinesi	Korsch EKO, Almanya

Tablo 2.2 Tezde kullanılan ekipmanlar ve yazılımlar (Devamı)

Eleme makinesi	Frewitt MF-Lab, Almanya
Mekanik karıştırıcı	IKA Eurostar 40, Almanya
Sıkıştırılmış yoğunluk testi	Erweka SVM 102, Almanya
Aşınma testi	Erweka TAR, Almanya
Yığın açısı testi	Erweka GTB, Almanya
Çözünme hızı testi	Agilent Varian 7010, ABD
Dağılma testi	Sotax DT2, İsviçre
Kalınlık, boyut ve ağırlık testleri	Sotax HT 100, İsviçre
Sertlik testi	Copley TBF 1000, İngiltere
Nem tayini cihazı	Mettler Toledo HG 63, ABD
Su miktarı tayini cihazı	Mettler Toledo V10S Compact KS, ABD
Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi	Waters HPLC, ABD
Partikül boyutu dağılımı testi	Malvern Mastersizer 2000, İngiltere

Tablo 2.2 Tezde kullanılan ekipmanlar ve yazılımlar (Devamı)

X-ışını kırınımı (XRD)	Rigaku Ultima IV, Japonya
Diferansiyel taramalı kalorimetre	Shimadzu DSC-60A, Japonya
SEM	Marmara Üniversitesi
İstatistiksel yazılım	Design Expert & Minitab

2.1.1 Etkin Madde (Metilprednisolon)

Bu farmasötik gelişim çalışması Metilprednisolon 100 mg Tablet’ in farmasötik ürününün geliştirilmesinin bir özetidir. Referans ürün olan Pfizer tarafından üretilen Medrone Tablet 100 mg’a eşdeğer Metilprednisolon 100 mg Tablet formülasyonu geliştirmesi ve kısmi proses optimizasyonu amaçlanmıştır. Geliştirme süresince nihai ürünün kalite, güvenlik ve etkinleme potansiyeli taşıyan formülasyon ve proses değişkenlerini belirlemek için risk değerlendirme çalışmaları yapılmıştır. Bununla birlikte uygun bir kontrol stratejisi geliştirmek için ürün ve prosesi anlama yönünde gerekli çalışmalar belirlenmiştir. Ürün ve proses hakkında bilgi edindikçe risk değerlendirmede de gerekli güncellemeler yapılmıştır. Formülasyon geliştirme çalışmaları çerçevesinde, yardımcı madde seçimi referans ürün içeriğine göre gerçekleştirilirken, formülasyon tasarımı ve üretim yöntemleri ürün geliştirme tecrübesine göre yapılmıştır. Geliştirmenin en başında yapılan etkin madde yardımcı madde karışımı geçimlilik çalışmalarına göre etken madde olan Metilprednisolon ve diğer yardımcı maddeler arasında geçimsizlik olup olmadığı araştırılmış, sonrasında minimal değişiklikler ile formülasyon geliştirme çalışmaları başarıyla tamamlanmıştır.

Metilprednisolon 100 mg Tablet in formülasyon tasarımı, “ICH Q8 Pharmaceutical Development” kılavuzunda belirtilen kriterler göz önüne alınarak formülasyon geliştirme süreci tamamlanmıştır. Laboratuvar boyutunda üretimler ile kritik proses parametrelerinin kullanım aralığı belirlenmiştir. Oluşturulan kontrol stratejisi ile

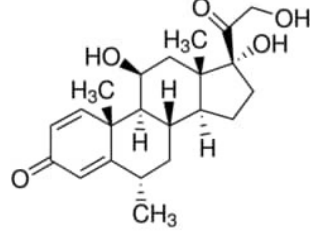
yüksek riskli değişkenler kontrol altına alınmıştır. Metilprednisolon 100 mg Tablet' in tüm farmasötik gelişimi boyunca kullanılan etkin madde Symbiotec Pharma firmasından tedarik edilmiştir. Etkin maddelerin (API) fizikokimyasal özellikleri Tablo 2.3'te verilmiştir. Metilprednizolon (Depo-Medrol, Medrol, Solu-Medrol), öncelikle anti-inflamatuar ve immünosupresif etkileri için reçete edilen sentetik bir glukokortikoiddir. Kronik hastalıklarda düşük dozlarda veya akut alevlenmelerde yüksek dozlarda eş zamanlı olarak kullanılır. Metilprednizolon ve türevleri hem oral hem de parenteral uygulama yollarıyla kullanılabilir. Ciddi yan etkiler arasında Cushing Sendromu, hipertansiyon, osteoporoz, diyabet ve cilt atrofisi bulunmaktadır. Kimyasal yapı olarak, metilprednizolon, hidrokortizon ve prednizolondan türetilen sentetik bir steroid hormondur. Metilprednizolon, ilk olarak FDA tarafından Ekim 1957'de Amerika Birleşik Devletleri'nde onaylandı. 2019'da Amerika Birleşik Devletleri'nde en sık reçete edilen 161. ilaç oldu, 3 milyondan fazla reçete ile. Ayrıca, metilprednizolon, lenfoid lösemiye karşı etkileri nedeniyle Dünya Sağlık Örgütü'nün Temel İlaçlar Listesi'nde de yer almaktadır.

Aşağıdaki Tablo 2.3'te etkin maddeye ait bazı fiziksel ve kimyasal özellikler aşağıda sunulmuştur.

Tablo 2.3 Etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri

Hammadde adı	Metilprednizolon
Kimyasal Adı	(6'a,11b)-11,17,21-Trihydroxy-6-methylpregna-1,4-diene-3,20-dione
ATC Kodları	H02AB04

Tablo 2.3 Etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri (Devamı)

CAS Numarası	83-43-2
Yapısal Formülü	
Moleküler Formül	C ₂₂ H ₃₀ O ₅
Moleküler Ağırlık	374.47 g/mol
Çözünürlük	Alkolde, dioksanda ve metanolde az çözünür, asetonunda ve kloroformda az çözünür ve eterde çok
Görünüş	Beyaz ila pratik olarak beyaz, kokusuz, kristal toz
Erime Noktası	228- 237 °C
Nem Tutma	Nem tutma özelliğine sahip değildir
logP	1.5
pKa (Kuvvetli Asidik)	12.58
pKa (Kuvvetli Bazik)	-2.9
Polimorfizm	Polimorfizm gösterir

2.1.1.1 Etkin Madde Risk Değerlendirmesi

Etkin maddenin hangi özelliklerinin ürünün kritik kalite özelliklerine (CQA) etkisinin olduğunu belirlemek amacıyla bir risk değerlendirme çalışması yapılmıştır. Değerlendirme sonucu ve gerekçelendirmesi aşağıda Tablo 2.4, Tablo 2.5 ve Tablo 2.6’da detayları ile verilmiştir. Her bir etkin madde niteliği için göreceli risk derecesi yüksek, orta ya da düşük olarak belirlenmiştir. Kritik kalite

niteliklerine etkisi yüksek olan hammadde özellikleri, etkisi az olan maddelere göre detaylı incelenmiştir.

Tablo 2.4 Risk sınıflandırması

Düşük	Risk rahatça kabul edilebilir. Detaylı incelemeye gidilmez.
Orta	Risk kabul edilebilir. Riskin düşürülmesi için detaylı inceleme gerekebilir.
Yüksek	Risk kabul edilemez. Riskin düşürülmesi için detaylı inceleme gerekmektedir.

Tablo 2.5 Etkin madde özelliklerinin başlangıç risk değerlendirilmesi

[illegible]

Tablo 2.6 Etkin madde başlangıç risk değerlendirmesi gerekçelendirmesi

Etkin Madde Özellikleri	Ürün Kritik Kalite Özellikleri	Gerekçe
Katı Hal Formu	Miktar Tayini	Etkin maddenin katı hal formu tabletlerin miktar tayini ve içerik tek düzelikliğini etkilemez. Risk düşük seviyededir.
	İçerik Tekdüzelikliğı	
	Çözünme	Etkin maddenin farklı katı hal formlarının farklı çözünürlükleri vardır ve bu da bitmiş ürünün çözünme hızını etkiler. Bu nedenle risk yüksek seviyededir.
	İlgili Bileşikler	Etkin maddenin farklı katı hal formlarının farklı kimyasal stabiliteleri vardır ve bitmiş ürünlerdeki ilgili bileşikler etkileyebilirler. Bu nedenle risk orta seviyededir.
Partikül Boyutu Dağılımı	Miktar Tayini	Partikül boyutu dağılımının aynı zamanda etkin maddenin akışkanlığına etkisi olmasından dolayı ürünün miktar tayini ve içerik tekdüzelikliğı üzerinde büyük etkisi olabilir. Risk yüksek seviyededir.
	İçerik Tekdüzelikliğı	
	Çözünme	BCS Sınıflandırmasına bağlı olarak partikül boyutu dağılımı çözünme ve hücre geçirgenliğini etkiler. Risk yüksek seviyededir.

Tablo 2.6 Etkin madde başlangıç risk değerlendirmesi gerekçelendirmesi
(Devamı)

Nem tutma	Miktar Tayini	Etkin maddesinin nem tutma özelliği çok az olduğundan risk düşük seviyededir.
	İçerik Tekdüzeliliği	
	Çözünme	
	İlgili Bileşikler	
Çözünürlük	Miktar Tayini	Çözünürlük; tablet miktar tayinini, içerik tekdüzeliğini ve ilgili bileşikleri etkilemez. Bu yüzden risk düşük seviyededir.
	İçerik Tekdüzeliliği	
	İlgili Bileşikler	
	Çözünme	Çözünürlüğü düşüktür. Etkin madde çözünürlüğü, ürün çözünme profiline direkt etki etmektedir. Bu sebeple risk yüksektir. Formülasyon ve üretim prosesi bu riski azaltacak şekilde tasarlanacaktır.
Nem İçeriği	Miktar Tayini	Nem, etkin madde spesifikasyonlarında kontrol altında tutulmaktadır. Ayrıca etkin maddenin nem tutma özelliği yoktur. Böylece miktar tayini, içerik tekdüzeliği, ilgili bileşikler ve çözünmeyi etkilemez. Risk düşük seviyededir.
	İçerik Tekdüzeliliği	
	Çözünme	

Tablo 2.6 Etkin madde başlangıç risk değerlendirmesi gerekçelendirmesi
(Devamı)

Kalıntı Çözücüler	Miktar Tayini	Kalıntı çözücüler, etkin madde spesifikasyonlarında kontrol altında tutulur ve ICH limitleri ile uyumludur. Ppm seviyesinde kalıntı çözücüler miktar tayini, içerik tekdüzeliği, ilgili bileşikler ve çözünmeyi etkilemez. Risk düşük seviyededir.
	İçerik Tekdüzeliği	
	Çözünme	
	İlgili Bileşikler	
Proses Safsızlıkları	Miktar Tayini	Toplam safsızlık, etkin madde spesifikasyonlarında kontrol altında tutulur ve safsızlık limitleri ICH Q3A kılavuzları ile uyumludur. Bu aralıkta proses safsızlıkları miktar tayini, içerik tekdüzeliği ve çözünmeyi etkilemez. Risk düşük seviyededir.
	İçerik Tekdüzeliği	
	Çözünme	
	İlgili Bileşikler	Yardımcı hammadde geçimlilik çalışmaları sonucunda proses safsızlıkları ile genel olarak bilinen yardımcı hammaddeler arasında bir geçimsizlik gözlenmemiştir. Risk düşük seviyededir.

Tablo 2.6 Etkin madde başlangıç risk değerlendirmesi gerekçelendirmesi
(Devamı)

Kimyasal Stabilite	Miktar Tayini	Etkin maddenin kimyasal stabilitesi bitmiş ürün miktar tayinini etkileyebilir. Bu sebeple risk orta seviyededir.
	İçerik Tekdüzeliliği	İçerik tekdüzeliği genellikle karışım tekdüzeliğinden etkilendiğinden, kimyasal stabilitenin içerik tekdüzeliği üzerinde etkisi yoktur. Risk düşük seviyededir.
	Çözünme	Çözünme genel olarak etkin madde çözünürlüğü ve partikül boyutu dağılımından etkilenir. Etkin maddenin kimyasal stabilitesi bitmiş ürün çözünürlüğü ile bağlantılı değildir. Risk düşük seviyededir.
	İlgili Bileşikler	Etkin maddenin kimyasal stabilitesi bitmiş ürünlerdeki ilgili bileşikler etkileyebilir. Bu sebeple risk orta seviyededir.
Akış Özellikleri	Miktar Tayini	Etkin madde granül haline getirilerek tablet baskı aşamasında kullanıldığından etkin maddenin akış özelliklerinin bitmiş ürünün miktar tayini ve içerik tekdüzeliği üzerinde etkisi yoktur. Bu yüzden risk düşük seviyededir.
	İçerik Tekdüzeliliği	

2.1.1.2 Partikül Boyutu Dağılımı

Partikül boyutu dağılımının etkin maddenin kimyasal ve fiziksel özelliklerini etkilediği bilinmektedir. Bu etki bitmiş ürünün sadece fiziksel özelliklerini değil

biyofarmasötik davranışını da etkiler. Katı dozaj formlarında partikül boyutu içerik tekdüzeliği, çözünme ve akışkanlık gibi özellikleri etkileyebilir. Metilprednisolon etkin maddesinin sudaki düşük çözünürlüğünden dolayı, formülasyon çalışmaları için partikül boyutu d(90) 10 mikrondan düşük olarak tercih edilmiştir.

Tablo 2.7 Etkin maddenin fiziko-kimyasal özellikleri

TESTLER	SPESİFİKASYONLAR
Görünüş	Beyaz veya beyazımsı kristal toz
Tanıma	
a. IR	Standart ve numunenin IR spektrumları benzer olmalıdır.
b. HPLC	Miktar tayini analizinden elde edilen numune ve standart kromatogramlarındaki ana pikin alıkonma zamanları benzer olmalıdır.
Optik Rotasyon	97°~103°
Kurutma Kaybı	Maks. %1,0
İlgili Bileşikler	
İmpürite A	Maks. %0,10
İmpürite B	Maks. %0,10

Tablo 2.7 Etkin maddenin fiziko-kimyasal özellikleri (Devamı)

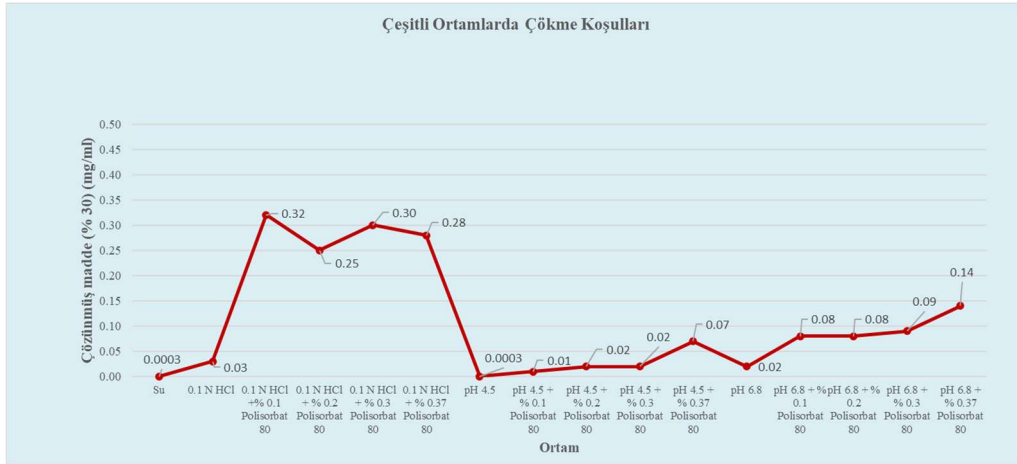
İmpürite C	Maks. %0.10
İmpürite D (D izomer 1)	Maks. %0.10
İmpürite D (D izomer 2)	Maks. %0.10
İmpürite E	Maks. % 0.10
İmpürite F	Maks. %0.10
İmpürite G	Maks. %0.10
İmpürite H	Maks. %0.10
İmpürite I	Maks. %0.10
Tek bilinmeyen impürite	Maks. %0.10
Toplam impürite	Maks. %2,0
Miktar Tayini (kuru baz)	%98- %102
Diklormetan	Maks. 600 ppm
Metanol	Maks. 3000 ppm
Kloroform	Maks. 60 ppm
Partikül Boyutu	D90: Maks. 10 µm

2.1.1.3 Çökme Koşulları

Yapılan çözünürlük çalışmalarına göre, etken maddenin pH 1.2 haricindeki tüm fizyolojik pH ortamlarında çözünürlüğü olmadığı belirtilmiş ve zayıf çözünürlüğe sahip bir molekül olarak kabul edilmiştir. Aşağıda belirtilen çökme koşulları farklı çözünme ortamlarında test edilmiş ve sonuçlar Tablo 2.8 ve Şekil 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.8 Metilprednisolon etkin maddesinin çökme çalışması sonuçları

Ortam	Çözünürlük (mg/ml)				Sonuçlar (%30) (mg/ml)
	N 1	N 2	N 3	Ortalama	
Su	0,001	0,001	0,001	0,001	<0,001
0,1 N HCl	0,09	0,09	0,09	0,09	0,03
0,1 N HCl +%0,1 Polisorbat 80	0,97	0,96	0,97	0,97	0,32
0,1 N HCl +%0,2 Polisorbat 80	0,67	0,78	0,84	0,76	0,25
0,1 N HCl +%0,3 Polisorbat 80	0,92	0,89	0,86	0,89	0,30
0,1 N HCl +%0,37 Polisorbat 80	0,82	0,85	0,84	0,84	0,28
pH 4.5	0.003	0.002	0.002	0.002	<0.001
pH 4.5 + % 0,1 Polisorbat	0,04	0,04	0,04	0,04	0,01
pH 4,5 + % 0,2 Polisorbat	0,06	0,05	0,06	0,06	0,02
pH 4,5 + % 0,3 Polisorbat	0,07	0,06	0,06	0,06	0,02
pH 4,5 + % 0,37 Polisorbat 80	0,21	0,21	0,17	0,20	0,07
pH 6,8	0,07	0,07	0,07	0,07	0,02
pH 6,8 + % 0,1 Polisorbat	0,20	0,27	0,27	0,25	0,08
pH 6,8 + % 0,2 Polisorbat	0,24	0,28	0,25	0,26	0,08
pH 6,8 + % 0,3 Polisorbat 80	0,33	0,27	0,24	0,28	0,09
pH 6,8 + % 0,37 Polisorbat 80	0,45	0,45	0,53	0,48	0,14



Şekil 2.1 Etken maddenin çökme koşulları çalışması sonuçları

Metilprednisolon 100 mg Tablet için çökme konsantrasyonu 0,10 mg /ml'dir (100 mg etken / 1000 ml çözünme ortamı). Tabloda verilen pH 1.2 + 0.1% Polisorbat çözünme ortamında sink koşulunu sağlamaktadır. pH 1.2 + 0.1 % Polisorbat 80 ortamı sink koşulunu daha düşük yüzey aktif konsantrasyonuyla sağladığından dolayı çözünme ortamı' olarak belirlenmiştir ve bitmiş ürün çözünme profilleri analizlerinde kullanılmıştır.

2.1.2 Yardımcı Maddeler

Metilprednisolon 100 mg Tablet formülasyonundaki yardımcı maddelerin seçimi, kaynakçada [101], [102] tanımlanan, katı oral formülasyonlarda genelde kullanılan yüzdeleri dikkate alınarak yapılmıştır. Referans ürünün kalitatif formülasyonlarının karşılaştırması aşağıdaki Tablo 2.9'da verilmiştir.

Tablo 2.9 Yardımcı maddelerin karşılaştırma tablosu

Hammadde Adı	Referans Tablet	Metilprednisolon 100 mg Tablet
Metil Selüloz 15 cps mikronize	√	√
Sodyum Nişasta Glikolat	√	-
Mikrokristalin Selüloz	√	√
Maltodekstrin	-	√
Hidrolize Bezelye Proteini	-	√
Polysorbat 20	-	√
Kroskarmelloz Sodyum	-	√
Magnezyum Stearat	√	√
İndigo Carmin (E132)	√	√
Etanol (%96)	-	√
IPA	-	√
Deiyonize Su	√	√

2.1.2.1 Yardımcı Maddelerin Seçimi ve Geçimlilik Çalışması

- Geçimlilik Çalışması;

Etken madde ve formülasyonda kullanılması planlanan yardımcı maddelerin arasındaki etkileşimleri gözlemlemek amacıyla farklı oranlarda ve bileşimlerde etkin madde ve yardımcı madde karışımları hazırlanmış Tablo 2.10’da detayları

verilmiştir. Hazırlama yöntemleri literatür ve makalelerde belirtilen şekilde gerçekleştirilmiş; etkin madde ve yardımcı maddeler karıştırılırken aynı zamanda havanda birlikte ezilip toz haline getirilmiştir.

Tablo 2.10 Yardımcı madde geçimlilik çalışması numune dağılımı

Viallerin Dağılımı	Maruz Bırakılan Şart	Maruz Bırakılan Süre
Cam Vial / Açık	25°C / % 60 RH	15 gün / 30 gün
Cam Vial / Kapalı	25°C / % 60 RH	15 gün / 30 gün
Cam Vial / Açık	40°C / % 75 RH	15 gün / 30 gün
Cam Vial / Kapalı	40°C / % 75 RH	15 gün / 30 gün
Cam Vial / Kapalı	50°C / % 75 RH	15 gün / 30 gün

2.1.2.2 Yardımcı Maddelerin Seçimi

Metilprednisolon 100 mg Tablet formülasyonunda kullanılan yardımcı maddeler; Sodyum Nişasta Glikolat, Metil Selüloz, Kroskarmelloz Sodyum, Mikrokristalin Selüloz, Magnezyum Stearat, Saf Su ve İndigo Carmin'dir. Metilprednisolon 100 mg Tablet formülasyonu için kullanılan yardımcı maddelerin seçilme nedenleri aşağıda verilmiştir.

1. Sodyum Nişasta Glikolat

Sodyum nişasta glukonat tablet, kapsül ve granül formülasyonlarında dağıtıcı olarak kullanılır. Farmasötik formülasyonlarında hem direkt baskı hem de yaş granülasyon prosesleri için uygundur. Yaş granülasyon prosesinde kullanıldığında hem yaş hem de kuru faza eklenebilir. Metilprednisolon 100 mg Tablet formülasyonunda dağıtıcı olarak kullanılmıştır.

2. Metil Selüloz

Metilselüloz, oral ve topikal farmasötik formlarda yaygın olarak kullanılan bir yardımcı maddedir. Tablet formülasyonlarında düşük veya orta viskozite dereceleri, genellikle bağlayıcı madde olarak kullanılır. Ayrıca, yüksek viskoziteli metilselüloz dereceleri, tablet formülasyonlarında dağıtıcı olarak kullanılır. Metilprednisolon 100 mg Tablet formülasyonunda bağlayıcı olarak kullanılmıştır.

3. Kroskarmelloz Sodyum

Kroskarmelloz sodyum tablet, kapsül ve granül formülasyonlarında dağıtıcı olarak kullanılır. Farmasötik formülasyonlarında hem direkt baskı hem de yaş granülasyon prosesleri için uygundur. Yaş granülasyon prosesinde kullanıldığında hem yaş hem de kuru faza eklenebilir. Metilprednisolon 100 mg Tablet formülasyonunda dağıtıcı olarak kullanılmıştır.

4. Mikrokristalin Selüloz

Formülasyonlarında genel olarak dolgu maddesi ve kıvam verici olarak kullanılır. Tablet baskı prosesinde gelişmiş sıkışma özellikleri vardır. Metilprednisolon 100 mg Tablet formülasyonunda dolgu maddesi olarak kullanılmıştır.

5. Magnezyum Stearat

Magnezyum Stearat, tablet ve kapsül üretiminde kaydırıcı olarak çok sık olarak kullanılan bir yardımcı maddedir. Farmasötik formülasyonlarda genellikle % 0.25 a/a ile % 5 a/a arasında değişen oranlarda kullanılmaktadır. Metilprednisolon 100 mg Tablet formülasyonunda kaydırıcı olarak kullanılmıştır.

6. Maltodekstrin

Maltodekstrin, farmasötik formülasyonlarda bağlayıcı, tat ajanı ve dolgu maddesi olarak kullanılır.

7. Bezelye proteini

Formülasyonda etken maddeyi maskeleyen amaçlı kullanılmıştır.

8. Polysorbate 20

Hem yüzey aktif hem de maskeleyen ajanı olarak formülasyonda kullanılmıştır.

9. Etanol (% 96)

Etanol farmasötik formülasyonlarda ve kozmetikte çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Her ne kadar çoğunlukla çözücü olarak kullanılsa da antimikrobiyal koruyucu olarak da kullanılır. Metilprednisolon 100 mg Tablet formülasyonunda sprej granülasyon aşamasında çözücü olarak kullanılmıştır. Etanol kurutma sırasında uçtuğundan bitmiş üründe yer almamaktadır.

10. Saf Su

Farmasötik formülasyonlarda yardımcı madde olarak çok yaygın olarak kullanılır. Özgün kalitelerdeki su, farklı uygulamalarda %100'e kadar kullanılabilir. Metilprednisolon 100 mg Tablet formülasyonunda yaş granülasyon, sprej granülasyon ve film kaplama aşamalarında çözücü olarak kullanılmıştır. Saf su kurutma sırasında uçtuğundan bitmiş üründe yer almamaktadır.

11. İndigo Carmin

Renk ajanı olarak Metilprednisolon 100 mg Tablet formülasyonunda kullanılmıştır.

2.1.2.3 Formülasyon Gelişimi (Metilprednisolon 100 mg Tablet)

Tasarımda Kalite (QbD) yaklaşımına dayalı, Pfizer firması tarafından ruhsatlı olan Medrone Tablets 100 mg ismiyle piyasaya verilen referans ürüne farmasötik açıdan eşdeğer bir tablet formülasyonu geliştirmek amaçlanmıştır. Formülasyon denemelerinde öncelikle literatürden elde edilen bilgilere ve akademik ve sanayi tecrübelerine dayanarak tasarlanan formülasyonda etkin maddenin çözünürlüğünün görülmesi amaçlanmıştır. Formülasyon geliştirme, etkin madde ve yardımcı

maddelerin fizikokimyasal özellikleri ve üretim kolaylığı gibi bazı temel karakteristiklerini dikkate almaktadır. Metilprednisolon' un oral kullanımı için, yaş granülasyon, sprey granülasyon ve kuru granülasyon prosesleri birlikte kullanılarak üretim metodu olarak değerlendirilmiştir.

2.1.2.4 Referans Ürün Karakterizasyonu

Formülasyon geliştirme çalışmaları öncesinde referans ürün Medrone tablet analiz edilerek Tablo 2.11' de yer alan sonuçlar elde edilmiştir. Metilprednisolon 100 mg Tablet formülasyon geliştirme çalışmaları bu bilgilerin doğrultusunda devam etmiştir.

Tablo 2.11. Medrone tablet karakterizasyonu

Referans Ürün	Medrone 100 mg Tablet
Firma	Pfizer
Ruhsat Tarihi	03.05.1991
Formülü:	Metilprednisolon 100 mg Metil Selüloz 15 cps mikronize Sodyum Nişasta Glikolat Mikrokristalin Selüloz Magnezyum Stearat İndigo Carmin (E132)
Seri No	AF5255
Görünüş	Açık mavi renkli, yuvarlak bikonveks dörde bölünebilir tablet
Etkin madde miktar tayini	%98,44
Görünüş	Açık mavi renkli, yuvarlak bikonveks dörde bölünebilir tablet
Çap (n=10)	9,00 mm $\pm$ 0,1 mm
Sertlik (n=10)	65N $\pm$ 15N
Dağılma (n=6)	40 saniye $\pm$ 10 saniye
Ortalama Ağırlık (n=10)	220 mg $\pm$ 11 mg
Raf Ömrü	4 yıl
Saklama Koşulları	25 °C'nin altındaki oda sıcaklığında saklayınız.
Primer Ambalaj	HDPE şişe

- **Uygun Çözünme Ortamı Seçimi**

Formülasyon geliştirme çalışmaları sırasında, kritik olan referans ürünün çözünme profili testleri öncelikli olarak yapılmıştır. Aşağıda ki Tablo 2.12 ve Tablo 2.13'te formülasyon geliştirme çalışmalarında kullanılan referans ürün serilerinin farklı ortamlarda yapılan çözünme profili ve ortam seçim çalışmaları yer almaktadır.

Tablo 2.12 Çözünürlük çalışması

0.1 N HCl Ortamı			
Numune (n)	Teorik Tartım (gr)	Deneyisel Tartım (gr)	% Geri Kazanım
0.1N HCl-n1	10,30	10,10	98,07
0.1N HCl-n2	10,04	9,73	96,93
0.1N HCl-n3	10,35	10,12	97,78
0.1N HCl-n1	20,70	18,84	90,99
0.1N HCl-n2	20,13	18,52	92,01
0.1N HCl-n3	20,68	18,75	90,67
0.1N HCl-n1	40,77	21,13	51,83
0.1N HCl-n2	40,11	21,04	52,45
0.1N HCl-n3	40,67	21,08	51,84

Tablo 2.12 Çözünürlük Çalışması (Devamı)

pH 4.5 Asetat Ortamı			
pH 4.5 Asetat-n1	10,15	10,00	98,57
pH 4.5 Asetat-n2	9,99	9,96	99,70
pH 4.5 Asetat-n3	9,95	9,86	99,10
pH 4.5 Asetat-n1	20,16	17,79	88,26
pH 4.5 Asetat-n2	20,18	18,06	89,48
pH 4.5 Asetat-n3	19,97	18,02	90,26
pH 4.5 Asetat-n1	40,24	21,32	52,98
pH 4.5 Asetat-n2	40,23	21,50	53,45
pH 4.5 Asetat-n3	40,04	21,61	53,97
pH 6.8 Fosfat Ortamı			
pH 6.8 Fosfat-n1	9,95	9,75	98,03
pH 6.8 Fosfat-n2	9,97	9,87	98,96
pH 6.8 Fosfat-n3	9,96	9,85	98,91
pH 6.8 Fosfat-n1	20,09	17,56	87,43

Tablo 2.12 Çözünürlük Çalışması (Devamı)

pH 6.8 Fosfat-n2	19,9	17,25	86,70
pH 6.8 Fosfat-n3	20,23	17,62	87,09
pH 6.8 Fosfat-n1	40,07	19,77	49,35
pH 6.8 Fosfat-n2	39,94	19,59	49,05
pH 6.8 Fosfat-n3	40,32	19,83	49,18
Distile Su Ortamı			
Distile Su - n1	9,99	9,83	98,41
Distile Su – n2	9,95	9,72	97,71
Distile Su – n3	10,08	9,93	98,56
Distile Su - n1	20,29	18,73	92,30
Distile Su – n2	20,09	18,48	91,99
Distile Su – n3	20,32	18,42	90,64
Distile Su - n1	40,33	21,26	52,71
Distile Su – n2	40,08	21,15	52,77
Distile Su – n3	40,40	21,16	52,38

Tablo 2.13 Seçilen Çözünme Ortamı

İsim	Çözünme Yöntemi	Hız (rpm)	Çözünme Ortamı	Çözünme Ortamı Hacmi (ml)	Numune Alma Zamanı (Dakika)
Metilprednisolon 100 mg Tablet	USP II (Pedal)	50	0.1 N HCl+% 0.1 Polisorbat 80	900	45

2.1.2.5 Formülasyon Geliştirme Planı

Kritik Kalite Özelliklerinin (CQA) belirlenmesi, bu niteliklerin gereken kalite seviyesine ulaşamaması durumunda hastaya etkisinin ürün kalitesi, güvenliği ve etkinliği üzerindeki şiddetine göre yapılmıştır. Metilprednisolon 100 mg Tablet için belirlenen kritik kalite özellikleri miktar tayini, içerik tekdüzeliği, çözünme hızı ve safsızlıklar olarak belirlenmiş olup safsızlık çalışmaları tez kapsamı dışı tutulmuştur.

2.1.2.6 Jenerik Ürün için Kalite Odaklı Ürün Profili (QTPP)

Metilprednisolon 100 mg Tablet formülasyonu için hedeflenen Kalite Hedefli Ürün Profili ve gerekçelendirmesi aşağıdaki Tablo 2.14 te yer aldığı şekildedir.

Tablo 2.14 Metilprednisolon 100 mg tablet için kalite odaklı ürün profili

Kalite Odaklı Ürün Profili UNSURLARI	Hedef	Gerekçe
Dozaj Formu ve Dozajları	10 mg tablet	Farmasötik eşdeğerlik gerekliliği: aynı dozaj formu ve aynı dozaj
Uygulama Yolu	Ağız yoluyla aç veya tok alınabilir	Farmasötik eşdeğerlik gerekliliği: aynı uygulama yolu
Uygulama için alternatif metotlar	Mevcut değil	Referans ürünlerde alternatif kullanım yolu belirtilmemiştir
Dozaj Dizaynı	Oral Tablet	Referans ürün ile eşdeğer farmakokinetik özellikleri sağlamak
Kap-kapak sistemi	HDPE şişe	Ürün stabilitesi takip edilmeyeceği için ambalaj çalışması yapılmamıştır
Raf Ömrü	Özel bir saklama koşulu	Stabilite çalışması
Görünüş / Ticari	Referans ürünlerin	Pazarlama gerekçeleri
Patent Limitleri	Hiçbir ürünü ihlal söz konusu değildir.	Kısıtlayıcı patent mevcut değildir.

Tablo 2.14 Metilprednisolon 100 mg tablet için kalite odaklı ürün profili
(Devamı)

Tablet Ağırlığı	Tablet ağırlığı, hasta uyuncunu kolaylaştırmak adına referans ürün ile benzer tutulacaktır. Ancak, nihai hedef proje yapılabilirlik çalışmaları bittikten sonra karar verilecektir.	Hasta uyuncunu kolaylaştırmak. Stabil ve biyoeşdeğer ürün geliştirmek
Tablet Rengi	Referans ürün rengine benzer tasarım	Pazarlama gerekçeleri
Tablet Şekli	Hasta kullanımı ve üretim kolaylığı açısından uygun şeklin belirlenmesi	Hasta kullanımı ve üretim kolaylığı açısından uygun tablet şekli belirlenmelidir
Ürün Kalite Özellikleri	Fiziksel Özellikler	Farmasötik eşdeğerlik gerekliliği: aynı farmokope ve diğer uygulanabilir standartları karşılamalıdır. (Tanıma, miktar tayini, saflık ve kalite gibi.)
	Tanıma	
	Polimorfik form	
	Miktar Tayini	
	İçerik Tekdüzeliliği	
	Çözünme	

2.1.2.7 Metilprednisolon 100 mg Tablet’ in Kritik Kalite Özelliklerinin (CQA) Tanımlanması

Metilprednisolon 100 mg Tablet için ürün kritik kalite özelliklerinin sınıflandırılması Tablo 2.15 te verilmiştir. Bu ürün için, formülasyon ve proses değişkenlerinden etkilenebilme ihtimali olan partikül şekil/boyut, polimorfizm, miktar tayini, içerik tekdüzeliği ve çözünme gibi özellikler kritik kalite özelliklerinin alt başlıklarıdır. Buna bağlı olarak formülasyon ve proses geliştirme çalışmalarında detaylı olarak ele alınmalı ve incelenmelidir. Bununla birlikte çalışmada safsızlık, kalıntı çözücüler ve mikrobiyal limitler gibi özellikleri kapsayan kritik kalite özellikleri farmasötik gelişim raporunda incelenmeyecektir. Yine de iyi farmasötik kalite sisteminde ve kontrol stratejisinde, kritik kalite özellikleri kalite odaklı ürün profilinin hedef unsurlarıdır.

Tablo 2.15 Metilprednisolon 100 mg tablet kritik kalite özellikleri

İlaç Kalite Özellikleri			Hedef	Kritik Kalite Özelliği midir?	Gerekçe
Fiziksel Özellikler	Görünüş	Renk	Hastaya yönelik renk olmalıdır. Görsel bir tablet kusuru olmamalıdır.	Hayır	Renk direkt olarak kalite, güvenlik ve etki ile bağlantılı olmadığı için kritik bir özellik değildir.
		Şekil	Hastaya yönelik şekilde olmalıdır. Görsel bir tablet kusuru olmamalıdır	Hayır	Şekil hasta açısından ve ürün etkinliği için bu üründe kritik değildir.
	Boyut		Referans ürüne yakın olmalıdır.	Hayır	Yutmayı kolaylaştırması, hasta uyuncunun artırılması, tedavi rejimine uyum gibi etkenler nedeniyle tablet boyutunda referans ürüne benzer boyutlar hedeflenir.
	Koku		Hoş olmayan koku olmamalıdır.	Hayır	Genellikle belirgin koku direk olarak güvenlik ve verimlilik ile bağlantılı değildir ama hastanın kabullenişini etkileyebilir
	Çentik Yapısı		Çentikli tablet	Hayır	Çalışmada tabletlerde bölünebilirlik bakılmayacaktır.
	Friabilite		Maks %1,0	Hayır	Friabilite tabletler için uluslararası farmakopelerde tanımlanmış, standart olarak uygulanan bir testtir.

Tablo 2.15 Metilprednisolon 100 mg tablet kritik kalite özellikleri (Devamı)

Tanıma	Metilprednisolon için pozitif olmalıdır.	Evet	Tanıma testleri ürün içinde her bir etken için ayrı ayrı pozitif olmalıdır.
Stabilite Süresinde Polimorfizm Değişimi	Polimorfik formda değişim olmamalıdır.	Evet	Stabilite takibi süresince Metilprednisolon etkin maddesinin polimorfik formunda değişiklik olmamalıdır.
Miktar Tayini	Hedef değer etiket değerinin % 100'üdür. % 95 - % 100.0 aralığında olabilir.	Evet	Miktar tayini değişkenliği güvenlik ve verimliliği etkiler. Proses değişkenleri de ürünün miktar tayinini etkiler. Bu yüzden miktar tayini ürün ve proses gelişimi boyunca özellikle düşük dozlar için değerlendirilmelidir.

Tablo 2.15 Metilprednisolon 100 mg tablet kritik kalite özellikleri (Devamı)

İçerik Tekdüzeligi	E.P. 2.9.40 İçerik Tekdüzeligi' ne uygun olmalıdır.	Evet	İçerik tekdüzeligindeki değişkenlik güvenlik ve verimliliği etkiler. Proses değişkenleri ve formülasyonun her ikisi de içerik tekdüzeligini etkiler. Bu yüzden kritik kalite özellikleri ürün ve proses gelişimi boyunca değerlendirilmelidir.
Çözünme	pH 1.2 çözünme ortamında 30 dk içinde min 85 %	Evet	Ürün in-vitro çözünme özellikleri, in-vivo özellikleri ile direk ilişkide olduğu ve etkilediği için kritiktir. Belirlenecek limitler dahilinde ürün çözünme göstermelidir.
İlgili Bileşikler	ICH safsızlık spesifikasyonlarına uygun olmalıdır.	Evet	Çalışmada uygulanmayacaktır.
Kalıntı Çözücüler	ICH kalıntı çözücü spesifikasyonuna uygun olmalıdır.	Evet	Çalışmada uygulanmayacaktır.
Su İçeriği	Formülasyon dizaynına göre değerlendirilecektir.	Hayır	Ön literatür araştırmalarına ve ağızdan alınan dozaj formuna bağlı olarak su içeriği bozulma profilinde olduğu gibi ürün kalite özelliklerini etkilemeyecektir.
Mikrobiyal Limitler	İlgili farmokope kriterlerini karşılamalıdır.	Evet	Çalışmada uygulanmayacaktır.

2.1.2.8 Prototip Formülasyon Gelişimi

Formülasyon geliştirme çalışmalarında, Metilprednisolon etkin maddesini içeren ve referans ürününe çözünme ve diğer performanslarıyla temelde benzer, biyoeşdeğer tablet üretmek üzere Metilprednisolon etkin maddesinin farmasötik yönüyle ilgili literatürlerin detaylı incelemesi yapılmış ve deneme üretimlerine başlamak için gerekli tablet formülasyonu tasarlanmıştır.

2.1.2.9 Başlangıç Formülasyon Risk Değerlendirmesi

Ürün kritik kalite özelliklerine etkisini değerlendirmek için başlangıç formülasyonu risk değerlendirmesi yapıldı. Değerlendirmenin sonucu aşağıdaki tablolarda belirtilmiştir. Her özellik ile ilgili risk düşük seviye, orta seviye ve yüksek seviye olarak sınıflandırıldı. Yüksek seviye risk özellikleri daha detaylı araştırmalarla garanti altına alındı, düşük seviye risk özellikleri için detaylı araştırmalara gereksinimi yoktur. Orta seviyedeki risk özellikleri mevcut bilgiye göre kabul edilebilir. Riski azaltmak amacıyla orta seviye risk özellikleri için detaylı araştırma gerekli olabilir. Başlangıç formülasyonunun fizikokimyasal ve biyolojik özelliklerine göre, ürünün kritik kalite özelliklerine etkisini ölçmek amacıyla başlangıç formülasyonu için yapılan Risk sınıflandırma sistemi ve risk değerlendirmesi ve risk gerekçeleri Tablo 2.16, Tablo 2.17 ve Tablo 2.18 de gösterilmiştir.

Tablo 2.16 Risk sınıflandırma sistemi

Düşük	Çok düşük risk. Detaylı araştırmaya gerek yoktur.
Orta	Risk kabul edilebilir. Detaylı araştırma riski azaltmak için gerekli olabilir.
Yüksek	Risk kabul edilemez. Riski azaltmak için detaylı araştırma gereklidir.

Tablo 2.17 Başlangıç formülasyon risk değerlendirilmesi

Ürün Kritik Kalite Özellikleri	Etkin Madde PSD	Sodyum Nişasta Glikolat	Metil Selüloz	Mikrokristalin Selüloz Seviyesi	Magnezyum Stearat Seviyesi	İndigo Karmin Seviyesi	Maltodekstrin	Polisorbat 20	Hidrolize Bezelye Proteini
Miktar Tayini	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük
İçerik Tekdüzeliliği	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük
Çözünme	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Düşük	Yüksek	Düşük	Düşük	Yüksek	Düşük
İlgili bileşikler	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük
Polimorfizm	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük

Tablo 2.18 Metilprednisolon 100 mg tablet risk değerlendirmelerinin gerekçeleri

Başlangıç Formülasyonu	rn Kritik Kalite zellikleri	Gerekçe
Etkin Maddenin Partikül Boyutu Dağılımı (PSD)	Miktar Tayini	Partikül boyutu dağılımının aynı zamanda etkin maddenin akışkanlığına etkisi olmasından dolayı ürünün miktar tayini ve içerik tekdüzeliği üzerinde büyük etkisi olabilir. Ancak etkin maddenin, proses esnasında granlasyona eklenmesi ve tabletteki konsantrasyonu nedeni ile bu risk düşük seviyededir.
	İçerik Tekdüzeliği	
	nme	Metilprednisolon BCS Sınıflandırması 2 ya da 4' e dahildir ve buna bağlı olarak PSD nme ve biyoeşdeğerliği etkiler. Bu neden ile bu risk yüksek seviyededir.
	İlgili bileşikler	Partikül boyutu dağılımı ile bozunma arasında genel olarak bir bağlantı yoktur. Bu yüzden risk düşük seviyededir.
	Polimorfizm	Partikül boyutu dağılımı ile polimorfizm arasında genel olarak bir bağlantı yoktur. Bu yüzden risk düşük seviyededir.

Tablo 2.18 Metilprednisolon 100 mg tablet risk değerlendirmelerinin gerekçeleri
(Devamı)

Sodyum Nişasta Glikolat Seviyesi	Miktar Tayini	Sodyum Nişasta Glikolat granölasyon aşamasında kullanılması, sonrasında ise elde edilen granüllerin kuru granölasyon işlemine tabii tutulmasından dolayı granüllerin akışkanlık özelliğini dolayısıyla miktar tayini ve içerik tekdüzeliğini etkilemez. Risk düşük seviyededir
	İçerik Tekdüzeliği	
	özünme	Tableti dağıtıcı özellik sağlayan bir polimer olduğundan dağılmayı ve dolayısı ile çözünme hızını etkiler. Bu nedenle risk yüksek seviyededir.
	İlgili bileşikler	Etkin madde ile geçimli olduğundan ve etkin maddenin amorf formunun stabil yapısından dolayı ilgili bileşikleri ve polimorfik yapıyı etkilemez. Bu yüzden risk düşük seviyededir.
	Polimorfizm	

Tablo 2.18 Metilprednisolon 100 mg tablet risk değerlendirmelerinin gerekçeleri
(Devamı)

Metil Selüloz	Miktar Tayini	Granülasyon aşamasında çözücü içerisinde çözünerek kullanılması, sonrasında ise elde edilen granüllerin kuru granülasyon işlemine tabii tutulmasından dolayı kullanılacak miktar tayini ve içerik tekdüzeliğini etkilemez. Risk düşük seviyededir
	İçerik Tekdüzeliği	
	Çözünme	Tabletlerin dağılma zamanı değiştiği için, ürünün çözünme hızını ve dolayısı ile biyoeşdeğerliği etkiler. Bu nedenle risk yüksek seviyededir.
	İlgili bileşikler	Etkin madde ile geçimli olduğundan ve etkin maddenin amorf formunun stabil yapısından dolayı ilgili bileşikleri ve polimorfik yapıyı etkilemez. Bu yüzden risk düşük seviyededir.
	Polimorfizm	
Mikrokristalin Selüloz Seviyesi	Miktar Tayini	Daha büyük ve sert granülleri elde etmek için yapılan yaş granülasyon prosesinde bağlayıcı ve dolgu maddesi olarak kullanılmıştır.
	İçerik Tekdüzeliği	
	Çözünme	
	İlgili bileşikler	Etkin madde ile geçimli olduğundan risk düşük seviyededir.

Tablo 2.18 Metilprednisolon 100 mg tablet risk değerlendirmelerinin gerekçeleri
(Devamı)

Indigo Carmin Seviyesi	Miktar Tayini	Tabletlere renk vermek amacı ile kullanıldığından miktar tayini ve içerik tekdüzeliğini etkilemez. Risk düşük seviyededir.
	İçerik Tekdüzeliği	
	özünme	Indigo carminin çözünürlük üzerinde etkisi yoktur. Risk düşük seviyededir.
	İlgili bileşikler	Etkin madde ile geçimli olduğundan ve etkin maddenin amorf formunun stabil yapısından dolayı ilgili bileşikleri ve polimorfik yapıyı etkilemez. Bu yüzden risk düşük seviyededir.
	Polimorfizm	
Maltodekstrin Seviyesi	Miktar Tayini	Akış özelliklerini iyileştirdiği için miktar tayini ve içerik tekdüzeliğini etkilemez. Risk düşük seviyededir.
	İçerik Tekdüzeliği	
	özünme	Dağılma ve çözünme üzerine etkisi çok azdır. Bu nedenle risk düşük seviyededir.
	İlgili bileşikler	Etkin madde ile geçimli olduğundan ve etkin maddenin amorf formunun stabil yapısından dolayı ilgili bileşikleri ve polimorfik yapıyı etkilemez. Bu yüzden risk düşük seviyededir.
	Polimorfizm	

Tablo 2.18 Metilprednisolon 100 mg tablet risk değerlendirmelerinin gerekçeleri
(Devamı)

Polysorbat 20 Seviyesi	Miktar Tayini	Tat maskeleye ajanı olarak dūřuk miktarlarda kullanıldıęından ve űrűn akıřkanlıęını iyileřtirdięinden, miktar tayini ve içerik tekdűzelięini etkilemez. Risk dūřuk seviyededir
	İçerik Tekdűzelięi	
	özűnme	Yűzey aktif madde olduęundan dolayı űrűnün özűnme profilini etkileyecektir. Risk yűksek seviyededir.
	İlgili bileşikler	Etkin madde ile geçimli olduęundan ve etkin maddenin amorf formunun stabil yapısından dolayı ilgili bileřikleri ve polimorfik yapıyı etkilemez. Bu yűzden risk dūřuk seviyededir.
	Polimorfizm	
Bezelye Proteini Seviyesi	Miktar Tayini	Granűllerin akıřkanlık űzellięini ve tabletlerin basıla bilirlięini iyileřtirdięinden, miktar tayini ve içerik tekdűzelięini etkilemez. Risk dūřuk seviyededir
	İçerik Tekdűzelięi	
	özűnme	űrűnün özűnme profilini sulu çözelti içerisinde elde edilen etkin madde-yűzey aktif madde ve uygulanan sprey kurutma prosesi belirledięinden Bezelye proteininin özűnűrlűk űzerinde etkisi dūřuktur. Risk dūřuk seviyededir.

Tablo 2.18 Metilprednisolon 100 mg tablet risk değerlendirmelerinin gerekçeleri
(Devamı)

Magnezyum Stearat Seviyesi	Miktar Tayini	Genellikle Magnezyum stearat ürün akışını iyileştirir. Yeterli miktarda kullanılması durumunda Magnezyum stearat miktar tayini ve içerik tekdüzeliğini etkilemez. Risk düşük seviyededir.
	İçerik Tekdüzeliği	
	nme	Düşük seviyede kullanılması durumunda Magnezyum stearatın dağılma ve nmeyi etkilemesi beklenmez. Bu nedenle risk düşük seviyededir.
	İlgili bileşikler	Magnezyum stearat etkin madde ile geçimli olduğundan ve etkin maddenin amorf formunun stabil yapısından dolayı ilgili bileşikleri ve polimorfik yapıyı etkilemez. Bu yüzden risk düşük seviyededir.
	Polimorfizm	

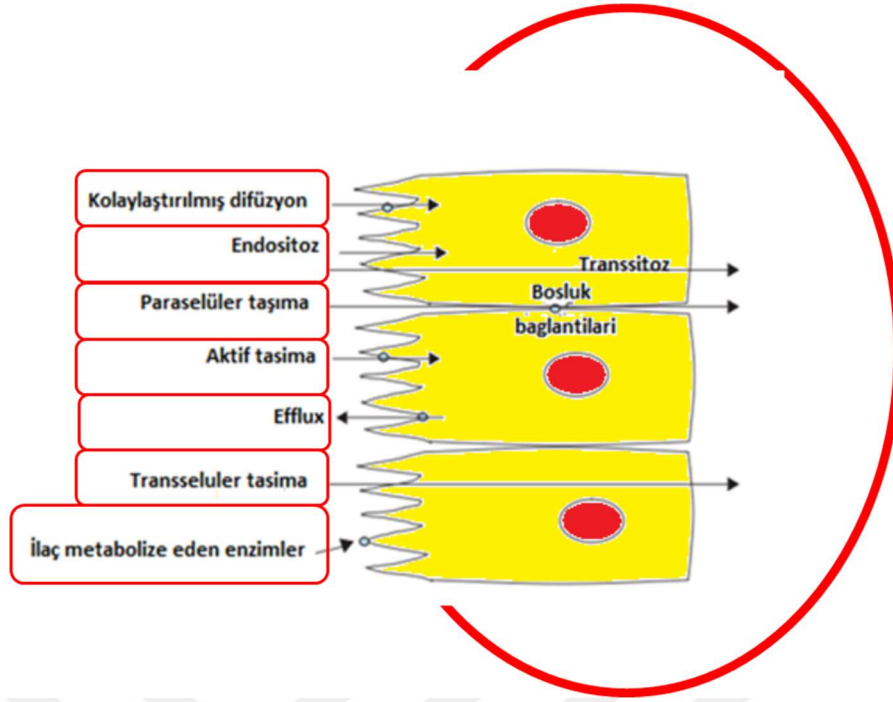
2.1.2.10 İlaç Emilimini ölçmek için Caco-2 Hücre Geçirgenliği Testi

Caco-2 hücreleri [103]–[105], insan bağırsak absorpsiyonunun bir modeli olarak kullanılan bir insan kolon epitel kanseri hücre hattını temsil eder. Tek tabaka olarak kültürlenmiş hallerinde, Caco-2 hücreleri, bileşiklerin hücre dışında hareketinin bir modeli olarak hizmet etmek üzere tek tabaka boyunca sıkı bağlantılar oluşturur ve farklılaşır. Caco-2 hücre tek tabakası, birçok açıdan insan bağırsak epitelini taklit eder. Normal hücreler ve Caco-2 hücreleri arasındaki fonksiyonel farklılıklardan biri, normalde bağırsakta yüksek seviyelerde eksprese edilen sitokrom P450 izozimlerinin ve özellikle CYP3A4'n ekspresyonunun olmamasıdır.

Ancak, Caco-2 hücreleri, D3 vitamini ile tedavi edilerek daha yüksek CYP3A4 CYP3A4 [106]–[108] seviyelerini ifade etmek üzere uyarılabilir. Caco-2 hücre tek tabakaları genellikle, çok gözlü kültür plakalarının oyuklarına yerleştirilebilen yarı geçirgen plastik destekler üzerinde kültürlenir. Test bileşenleri daha sonra tek tabakanın apikal veya bazolateral taraflarına eklenir. Çeşitli süreler için inkübasyondan sonra, test bileşiklerinin konsantrasyonunun belirlenmesi ve her bir bileşik için geçirgenlik oranlarının hesaplanması için (görünür geçirgenlik katsayıları olarak adlandırılır) karşı bölmelerdeki tamponun alikotları çıkarılır.

Farmasötik ajanların hasta uyumu açısından en uygun uygulama şekli ağızdan uygulama olduğundan, mümkün olduğunda ağızdan uygulama tercih edilir. Bağırsak emilimi biyoyararlanım için ciddi bir sorundur. Potansiyel yeni ilaçların bağırsak geçirgenliğinin *in vitro* analizlerini ele almak için, ilaç geliştirme sürecinin bir parçası olarak çeşitli yaklaşımlar geliştirilmiş ve bu yaklaşımlar Tablo 1'de özetlenmiştir. Bağırsak geçirgenliği, ince bağırsakta besinlerin emiliminden sorumlu birincil organdır ve sindirim enzimlerine karşı bir fiziksel ve biyolojik bariyer görevi görür. İlaçların bağırsaktan emilimini etkileyen birçok faktör arasında çözünme hızı, çözünürlük ve bağırsak geçirgenliği en etkili olanlardır. Bu faktörler, *in vitro* araçlar aracılığıyla değerlendirilerek, ilaçların bağırsak geçirgenliğini belirleme sürecine önemli katkılarda bulunmaktadır.

Çözünme hızı ve çözünürlük, ilacın lümen bağırsak sıvısında maksimum konsantrasyonuna ne kadar hızlı ulaştığını belirler ve *in vitro* olarak kolayca ölçülebilen sabitlerdir. Bağırsak geçirgenliğinin belirlenmesi karmaşık bir süreçtir ve emilim yolları Şekil 2.2 de basitçe gösterilmiştir. Oral yoldan verilen ilaçların bağırsaktan emilimi üç yolla gerçekleşir: pasif difüzyon, taşıyıcı aracılı veya sınırlı taşıma ve veziküler taşıma. Pasif difüzyonu paraselüler ve transselüler olarak ikiye ayırabiliriz.



Şekil 2.2 Bağırsak fırça sınırında ilaç emilim yolları

Bu iki tip geçiş, vücutta birçok farklı dokuda ve özellikle sindirim sistemi, böbrekler gibi organlarda önemlidir. İlaçların emilimi, besin maddelerinin absorpsiyonu gibi birçok fizyolojik süreç bu geçiş türlerine bağlıdır. Caco-2 hücre tek tabaka modelinin hem hücre içi hem de hücre dışı absorpsiyondan kaynaklanan bağırsak geçirgenliğini ölçmek için kullanılabileceğine, oysa daha basit membran modellerinin yalnızca hücre içi pasif difüzyonu öngördüğüne dikkat edilmelidir.

Bazı ilaçlar, enterositlerden geçmek için pasif difüzyon veya taşıyıcı aracılı yolları kullanamayabilir, ancak bağırsak epitelini hala üç farklı veziküler taşıma yöntemi olan reseptör aracılı endositoz, sıvı fazlı endositoz ve transsitoz ile aşabilir (Şekil 2.2). Bazı büyük moleküller sıvı fazlı endositoz yoluyla emilir. Plazma zarı, çözülmüş molekülleri içine çeken ve içeriye doğru hareket eden veziküller veya pinozomlar oluşturarak bu süreci gerçekleştirir. Veziküllerde ve pinozomlarda bulunan çözülmüş moleküller, sonunda lizozomlarla birleşen endozomlara taşınır. Bağırsak absorpsiyonunun biyolojik modelleri, yalnızca Caco-2 hücre tek katmanlı analiz gibi, ilaçların bağırsak absorpsiyonunu tahmin etme mekanizması olarak veziküler taşımayı içerir. Bağırsak mukozası, çeşitli taşıyıcı proteinler içerir; di-veya tripeptit taşıyıcıları, büyük nötr amino asitler, safra asitleri, nükleositler ve monokarboksilik asitler. Bazı taşıyıcılar, bağırsak sıvısındaki molekülleri bağlayan

ve onları enterositlerin bazolateral tarafına taşıyan içeri akış taşıyıcılarıdır. Diğer taşıyıcılar ise ters olarak bileşikleri hücre sitoplazmasından bağırsak lümenine taşıyarak bileşiklerin emilimini azaltır. Çoklu ilaç direnci ve çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein ailelerindeki taşıyıcılar, belirli moleküllerin emilimini engelleyen akış taşıyıcılarıdır. Taşıyıcı ve akış proteinleri, Caco-2 hücre tek tabakaları tarafından ifade edilir.

Bağırsak ilaç metabolizması, bir ilacın biyoyararlanabilirliğini etkileyen önemli bir faktördür. Bu süreç, ilacın bağırsak mukozasında metabolize edilmesi ve değiştirilmesini içerir. İlaçların bağırsak metabolizması, genellikle sitokrom P450 enzimleri (CYP450) gibi metabolik enzimler tarafından gerçekleştirilir. Bu enzimler, ilaç moleküllerini daha küçük, suya daha çözünür ve genellikle daha kolay atılabilen ürünlere dönüştürerek metabolizma sürecini yönetirler. Bağırsakta ilacın kararlılığı, ilacın metabolize olma olasılığını etkiler. Bazı ilaçlar, bağırsak mukozasında hızla metabolize olduğu için sistemik dolaşıma geçme şansını azaltabilir.

İlaç, bağırsak mukozasında metabolize olduktan sonra daha biyoyararlı veya etkili hale gelebilir. Ancak, bazı durumlarda bu metabolizma, ilacın biyoyararlanabilirliğini azaltabilir. Bağırsak metabolizması, ilacın aktif formunu inaktif metabolitlere dönüştürebilir. Bu durum, ilacın terapötik etkilerini azaltabilir. Bağırsak metabolizması, bir ilacın başka bir ilaçla etkileşimini artırabilir veya azaltabilir. Özellikle CYP450 enzimleri, birçok ilaçta rol oynayan önemli bir enzim ailesidir ve bu enzimler aracılığıyla ilaçlar birbirleriyle etkileşime girebilir. Bağırsak metabolizması, ilacın belirli bir dozda ve sıklıkta alınmasının etkilerini belirleyebilir. Hızlı metabolizma durumunda, ilacın daha sık alınması gerekebilir. Bağırsak metabolizması, bireyler arasında farklılık gösterebilir. Genetik faktörler, bağırsak mikrobiyotası ve diğer bireysel özellikler, bağırsak ilaç metabolizmasını etkileyebilir. Bu faktörlerin birleşimi, bir ilacın biyoyararlanabilirliğini belirleyen karmaşık bir etkileşim ağı oluşturur. Bu nedenle, bir ilacın bağırsak metabolizmasının anlaşılması, ilaç geliştirme süreçlerinde ve klinik uygulamalarda önemlidir.

2.1.2.11 Bağırsak Absorpsiyon Modelleri

Bağırsak absorpsiyon modelleri, ilaçların bağırsak mukozasından sistemik dolaşıma geçişini anlamak ve değerlendirmek için kullanılan deneysel sistemlerdir. Bu modeller, ilaç geliştirme sürecinde, formülasyon optimizasyonunda ve farmasötik araştırmalarda önemli bir rol oynar. İşte yaygın olarak kullanılan bağırsak absorpsiyon modellerinden bazıları:

Caco-2 Hücre Monokültürü: İnsan kolon epitel kanseri hücre hattı olan Caco-2 hücreleri, tek tabaka olarak kültürlenerek bağırsak mukozasını taklit eden bir model oluşturur. Yüksek geçirgenlik özellikleri, CYP450 enzim aktivitesi, taşıyıcı protein ifadesi gibi bağırsak özelliklerini içerir. İlaçların bağırsak absorpsiyonunu, permeabilitesini ve taşıyıcı etkileşimlerini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılır.

Yarı-Geçirgen Membran Modelleri: Yarı-geçirgen membranlar, bağırsak mukozasını temsil etmek üzere kullanılan sentetik veya hayvan kaynaklı membranlardır. Basit ve hızlı bir değerlendirme sağlar, geçirgenlik özelliklerini ölçer. İlaçların geçirgenliğini ve emilimini belirlemek için kullanılır.

İzotop İzleme Tekniği: İzotop izleme tekniği, radyoaktif izotop etiketli ilaç moleküllerinin kullanıldığı bir yöntemdir. İlaç emilimini izlemek ve miktarını belirlemek için kullanılır. Hassas ve spesifik bir ölçüm sağlar. İlaçların bağırsak emilimini belirleme, farmakokinetik çalışmalarda kullanılır.

Bu modeller, ilaç geliştirme süreçlerinde ve farmasötik araştırmalarda ilaçların bağırsak absorpsiyonunu değerlendirmek için önemli araçlar olarak kabul edilir. Her bir modelin avantajları ve sınırlamaları, kullanılacakları belirli uygulamalara bağlı olarak dikkate alınmalıdır.

3

BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1 Sonuçlar

Yardımcı madde geçimlilik çalışması detayları ve fiziksel gözlemler

Geçimlilik çalışması sonucu elde edilen veriler aşağıdaki Tablo 3.1 de sunulmuştur.

Tablo 3.1 Geçimlilik çalışması

No.	Karışım Bilgileri	Karışım Oranı	Başlangıç Görünümü	50°C±2
% 75 RH±5				Kapalı
				30.Gün
1	Metilprednisolon	-	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
2	Sodyum Nişasta Glikolat	-	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
3	Hipromelloz	-	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
4	Mısır Nişastası	-	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
5	Kolloidal Silikon Dioksit	-	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG

Tablo 3.1 Geçimlilik çalışması (Devamı)

6	Kroskarmelloz Sodyum	-	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
7	Hidrolize Bezelye Proteini	-	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
8	Silisifiye Mikrokristalin Selüloz	-	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
9	L-Hidroksipropil Selüloz	-	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
10	Magnezyum Stearat	-	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
11	Metilen Klorür	-	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
12	Maltodekstrin	-	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
13	İndigo Carmin	-	Mavi toz	DG
14	Metilprednisolon + Sodyum Nişasta Glikolat	2:1	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
15	Metilprednisolon +Hipromelloz	2:1	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG

Tablo 3.1 Geçimlilik çalışması (Devamı)

16	Metilprednisolon + Mısır Nişastası	2:1	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
17	Metilprednisolon + Kolloidal Silikon Dioksit	2:1	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
18	Metilprednisolon + Kroskarmelloz Sodyum	2:1	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
19	Metilprednisolon + Maltodekstrin	2:1	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
20	Metilprednisolon +Silisifiye Mikrokristalin Selüloz	2:1	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
21	Metilprednisolon +L- Hidroksipropil Selüloz	2:1	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
22	Metilprednisolon +Magnezyum Stearat	2:1	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
23	Metilprednisolon + İndigocarmin	2:1	Mavi toz	DG
24	Metilprednisolon + Hidrolize bezelye proteini	1:2	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG

Tablo 3.1 Geçimlilik çalışması (Devamı)

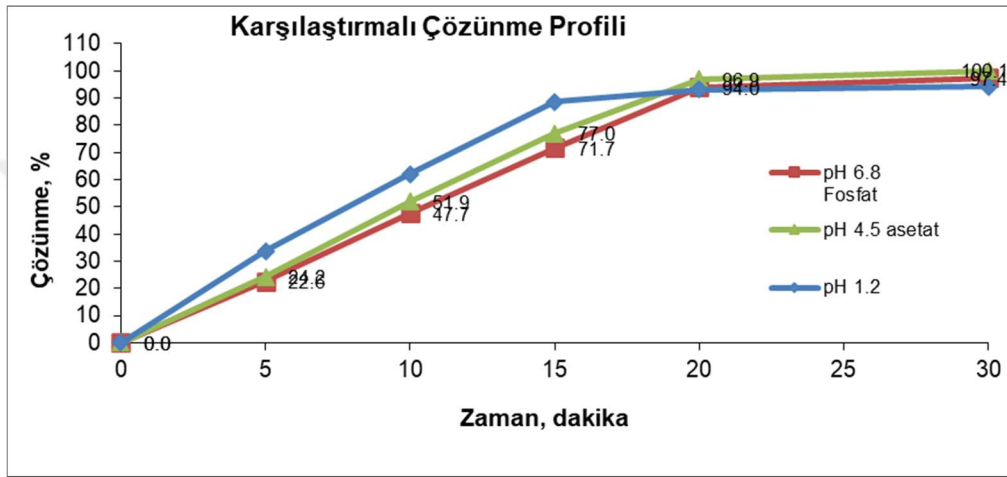
25	Metilprednisolon + Maltodektrin+ Hidrolize bezelye proteini	1:2:2	Beyaz ya da beyazımsı toz	DG
26	Metilprednisolon + İndigo Carmin+Maltodekstrin	2:1:2	Mavi-beyaz karışımı toz	DG
27	Metilprednisolon + İndigo Carmin+ Hidrolize bezelye proteini	1:1:2	Mavi-beyaz karışımı toz	DG
28	Sodyum Nişasta Glikolat + Hipromelloz + Mısır Nişastasası + Kolloidal Silikon Dioksit + Kroskarmelloz Sodyum + Laktoz Granül + Silisifiye Mikrokristalin Selüloz + L-Hidroksipropil Selüloz + Magnezyum Stearat +İndigo Carmin	1:1:1: 1:1:1:1:3:2:2	Mavi-beyaz karışımı toz	DG
29	İndigo Carmin + D.Su	1:5	Mavi berrak karışım	DG

Tablo 3.2 Medrone 100 mg tablet farklı pH'lardaki çözünme hızı profilleri

Zaman (dk)	pH 1.2 +% 0.1 Polisorbat 80	pH 4.5 +% 0.37 Polisorbat 80	pH 6.8 +% 0.37 Polisorbat 80
0,0	0,0	0,0	0,0
5,0	33,7	24,2	22,6
10,0	61,9	51,9	47,7
15,0	88,7	77,0	71,1
20,0	93,2	96,9	94,0
30,0	94,3	100,1	97,4
45,0	96,6	99,6	98,6

Yapılan geçimlilik çalışması sonucu Metilprednisolon etkin maddesinin belirlenen yardımcı hammaddelerle fiziksel olarak geçimli olduğu görülmüştür. Tablo 3.1’de verilen kısaltma DG; değişiklik gözlemlendi olarak formüle edilmiştir. Metilprednisolon 100 mg Tablet, farklı pH seviyelerinde Tablo 3.2 de olduğu gibi farklı çözünme hızı profilleri sergileyebilir. Bu, ilacın sindirim sistemi içindeki davranışının pH seviyelerine bağlı olarak değişebileceği anlamına gelir. Bu nedenle, ilacın vücutta nasıl etki göstereceğini anlamak için pH seviyelerinin dikkate alınması önemlidir. Medrone 100 mg Tablet, çeşitli pH seviyelerinde değişen çözünme hızı aynı dozajda jenerik bir ürünle karşılaştırıldığında bu çözünme profilleri arasında belirgin farklılıklar gözlemlenebilir. Bu farklılıklar, ilacın etkisini ve biyoyararlanımını pH değerlerine bağlı olarak nasıl etkileyebileceğini anlamamıza yardımcı olabilir.

Medrone 100 mg Tablet, yapılan çözünme testlerinde çeşitli pH seviyelerinde gözlenen elde edilen sonuçlar Şekil 3.1 de verilmiştir. Medrone 100 mg Tablet, tüm ortamlarda belirli oranlarda yüzey aktif madde kullanılarak %100 çözünürlüğe ulaşılmıştır. Asidik koşullarda, çözünme hızının arttığı gözlemlenmiştir. Bu durum, yüzey aktif maddelerin çözünürlüğü artırdığını ve ilacın çözünme hızını artırdığını göstermektedir. Yüzey aktif maddeler, ilacın daha etkili bir şekilde çözünürlüğünü sağlayarak *in vitro* kontrollerini sağlayabilir. Bu sonuçlar, ilacın formülasyonu ve etki mekanizması hakkında önemli bilgiler sunmaktadır.



Şekil 3.1 Karşılaştırmalı çözünme profili

Çökme koşullarının belirlenmesine yönelik yapılan test sonuçları ile hem etkin madde hem de referans ürün ile yapılan çözünme çalışmaları sonucunda pH 1.2 +% 0.1 Polisorbat 80 çözünme ortamı olarak seçilmiştir. Medrone 100 mg Tablet'in formülasyonu ve içeriğinin belirlenmesi için bir dizi literatür araştırması ve tersine mühendislik çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar, ilacın bileşenlerini ve üretim yöntemini anlamak amacıyla yapılmıştır. İlk olarak, ilacın literatürdeki bilgileri ve bileşen listesi araştırılmıştır. Bu bilgiler, ilacın temel bileşenlerini ve potansiyel etken maddeleri içermektedir. Daha sonra, tersine mühendislik yöntemleri kullanılarak Medrone 100 mg Tablet'in içeriği ve üretim metodu belirlenmeye çalışılmıştır. Bu süreçte, ilacın fiziksel özellikleri, kimyasal bileşimi ve çözünme özellikleri gibi faktörler dikkate alınmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.3 ve Tablo 3.4 de verilmiştir.

Tablo 3.3 Referans ürünün incelenmesi ve analiz sonuçları

Referans Ürün	Medrone 100 mg Tablet
Firma	Pfizer
Ruhsat Tarihi	03.05.1991
Formülü:	Metilprednisolon (Mikronize) 100 mg Metil Selüloz 15 cps mikronize Sodyum Nişasta Glikolat Mikrokristalin Selüloz Magnezyum Stearat İndigo Carmin (E132)
Seri No	AF5255
Görünüş	Açık mavi renkli, yuvarlak bikonveks dörde bölünebilir tablet
Etkin madde miktar tayini	%98,44
Raf Ömrü	4 yıl
Saklama Koşulları	25 °C'nin altındaki oda sıcaklığında saklayınız.
Primer Ambalaj	HDPE şişe

Tablo 3.4 Medrone 100 mg tablet fiziksel ve kimyasal analizleri

YAPILAN FİZİKSEL ANALİZ	ANALİZ SONUCU
Görünüş	Açık mavi renkli, yuvarlak bikonveks dörde bölünebilir tablet
Çap	9,00 mm $\pm$ 0,1 mm
Sertlik	65N $\pm$ 15N
Dağılma	40 saniye $\pm$ 10 saniye
Ortalama Ağırlık	220 mg $\pm$ 11 mg
Miktar Tayini	% 98,44

3.1.1 Formülasyon Deneme Çalışmaları

Formülasyon geliştirme çalışmalarında temelde benzer tablet üretmek üzere Metilprednisolon’ un farmasötik yönüyle ilgili literatürlerin detaylı incelemesi yapılmış ve deneme üretimlerine başlamak için gerekli tablet formülasyonu tasarlanmıştır.

Tablo 3.5 teki analizler kapsamında referans ürün olan Medrone 100 mg Tablet fiziksel ve kimyasal özellikleri incelenmiştir. Bu kapsamda Deneme 1 formülasyonu aşağıdaki Tablo 3.6 da verildiği gibi tasarlanmıştır. Formülasyon çalışmalarında “Handbook of Pharmaceutical Excipients 2009” kaynağından yararlanılmış kullanılan maddelerin fonksiyonları Tablo 3.6 da verilmiştir.

Tablo 3.5 Çözünürlük çalışması

0.1 N HCl Ortamı			
Numune (n)	Teorik Tartım (gr)	Deneyisel Tartım (gr)	% Geri Kazanım
0.1N HCl-n1	10,30	10,10	98,07
0.1N HCl-n2	10,04	9,73	96,93
0.1N HCl-n3	10,35	10,12	97,78
0.1N HCl-n1	20,70	18,84	90,99
0.1N HCl-n2	20,13	18,52	92,01
0.1N HCl-n3	20,68	18,75	90,67
0.1N HCl-n1	40,77	21,13	51,83
0.1N HCl-n2	40,11	21,04	52,45
0.1N HCl-n3	40,67	21,08	51,84

Tablo 3.5 Çözünürlük çalışması (Devamı)

pH 4.5 Asetat Ortamı			
pH 4.5 Asetat-n1	10,15	10,00	98,57
pH 4.5 Asetat-n2	9,99	9,96	99,70
pH 4.5 Asetat-n3	9,95	9,86	99,10
pH 4.5 Asetat-n1	20,16	17,79	88,26
pH 4.5 Asetat-n2	20,18	18,06	89,48
pH 4.5 Asetat-n3	19,97	18,02	90,26
pH 4.5 Asetat-n1	40,24	21,32	52,98
pH 4.5 Asetat-n2	40,23	21,50	53,45
pH 4.5 Asetat-n3	40,04	21,61	53,97
pH 6.8 Fosfat Ortamı			
pH 6.8 Fosfat-n1	9,95	9,75	98,03
pH 6.8 Fosfat-n2	9,97	9,87	98,96
pH 6.8 Fosfat-n3	9,96	9,85	98,91
pH 6.8 Fosfat-n1	20,09	17,56	87,43

Tablo 3.5 Çözünürlük çalışması (Devamı)

pH 6.8 Fosfat-n2	19,9	17,25	86,70
pH 6.8 Fosfat-n3	20,23	17,62	87,09
pH 6.8 Fosfat-n1	40,07	19,77	49,35
pH 6.8 Fosfat-n2	39,94	19,59	49,05
pH 6.8 Fosfat-n3	40,32	19,83	49,18
Distile Su Ortamı			
Distile Su - n1	9,99	9,83	98,41
Distile Su – n2	9,95	9,72	97,71
Distile Su – n3	10,08	9,93	98,56
Distile Su - n1	20,29	18,73	92,30
Distile Su – n2	20,09	18,48	91,99
Distile Su – n3	20,32	18,42	90,64
Distile Su - n1	40,33	21,26	52,71
Distile Su – n2	40,08	21,15	52,77
Distile Su – n3	40,40	21,16	52,38

Tablo 3.6 Formülasyon çalışmaları

Hammadde Adı	Fonksiyonu
Metilprednisolon	Etkin madde
Metil Selüloz 15 cps	Bağlayıcı
Sodyum Nişasta Glikolat	Dağıtıcı
Mikrokristalin Selüloz	Seyreltici
İndigo Karmin Aluminyum Lake	Boyar madde
Magnezyum Stearat	Lubrikant

Tablo 3.7 Deneme 1A birim formülasyon

İçerik	Birim Formül (mg)
Metilprednisolon (Mikronize)	100,0
Metil Selüloz 15 cps	0,5
Sodyum Nişasta Glikolat	71,4
Mikrokristalin Selüloz PH-102	45,1
İndigo Karmin	1,6
Magnezyum Stearat	1,4

Deneme 1A aşağıdaki üretim yöntemine göre üretilmiştir.

- 1 Metilprednisolon ve Metil selüloz birlikte 20 mesh (0,8mm) elekten geçirilir ve karıştırılır.
- 2 İndigo Karmin 100 mg saf suda homojen bir karışım olacak şekilde karıştırılır.
- 3 İndigo karmin çözeltisi Metilprednisolon ve Metil selüloz karışımının üzerine eklenerek granülasyon yapılır.
- 4 Yaş granüller 50°C sıcaklığa ayarlanmış etüvde %5 neme gelene kadar kurutulur.
- 5 Hamurlaşan granüller kurutma prosesinde bir iyileşme göstermediğı için üretimden vazgeçildi. Renk homojenliğini sağlamak ve granülü daha sağlıklı, tablet basılabilirliğini uygun hale getirebilmek adına bağlayıcı ajanı olan Metil Selüloz 15 cps suda çözülerek, indigo karmin iç fazda kullanılmıştır. Fiziksel olarak uygun granül elde edilemediğinden bir sonraki çalışmada su miktarının artırılmasına karar verilmiştir.

Tablo 3.8 Deneme 1B birim formülasyon

İçerik	Birim Formül (mg)
Metilprednisolon (Mikronize)	100,0
Metil Selüloz 15 cps	0,5
Sodyum Nişasta Glikolat	71,4
Mikrokristalin Selüloz PH-102	45,6
İndigo Karmin	1,1
Magnezyum Stearat	1,4

Tablo 3.8 Deneme 1B birim formülasyon (Devamı)

Saf Su*	50,0
Saf Su*	125,0
Tablet ağırlığı	220,0

*Bitmiş üründe bulunmaz

Deneme 1B aşağıdaki üretim yöntemine göre üretilmiştir.

- 1 Metilprednisolon ve İndigo karmin birlikte 20 mesh (0,8mm) elekten geçirilir ve karıştırılır.
- 2 Metil selüloz 50 mg saf suda çözülür ve metil selüloz çözeltisi Metilprednisolon ve İndigo karmin karışımının üzerine eklenerek granülasyon yapılır.
- 3 Mikrokristalin Selüloz PH-102 ve Sodyum nişasta glikolat 0,8 mm elekten elenerek 3.basamaktaki granüle eklenerek 5 dakika karıştırılır.
- 4 4.basamaktaki karışma 125,0 mg saf su eklenerek 2.granülasyon gerçekleştirilir.
- 5 5.basamaktaki ıslak granüller 2,5 mm elekten elenir. Elenen granüller 50°C sıcaklığa ayarlanmış etüvde %5 neme gelene kadar kurutulur. Kuruyan granüller Fitzmill 1 mm elekten elenir. Magnezyum stearat 0,5 mm elekten elenerek karışıma eklenir ve 3 dakika karıştırılır. Final karışım uygun zımbalar kullanılarak tablet baskı makinesinde basılarak tablet haline getirilir.

Tabletlere ait in-proses sonuçları aşağıda verilmiştir.

Ortalama Ağırlık: 220 mg $\pm$ 7 mg

Sertlik: 42,5 N $\pm$ 12,5 N ve 95 N $\pm$ 15N sertlikte numune tabletler basılmıştır.

Dağılma Süresi: 15 saniye $\pm$ 5 saniye (42,5 N), 50 saniye $\pm$ 10 (95 N)

Aşınma: %0,13 (42,5 N), %0,06 (95 N)

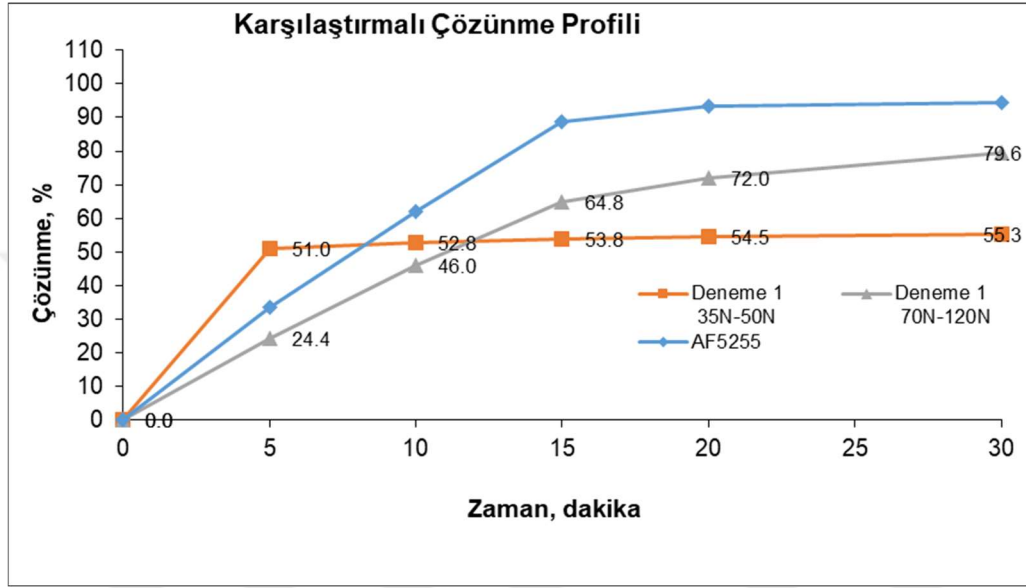
İçerik Tekdüzeliliği: %104,2

Tablo 3.9 0,1N HCl çözünme hızı profilleri

Zaman (dk)/Ortam	Deneme 1B 35N-50N %	Deneme 1B 70N-120N %	Medrone 100 mg %
0,0	0,0	0,0	0,0
5,0	51,0	24,4	33,7
10,0	52,8	46,0	61,9
15,0	53,8	64,8	88,7
20,0	54,5	72,0	93,2
30,0	55,3	79,6	94,3
45,0	58,2	86,0	96,6

Tablet sertliği, bir ilacın çözünme profili üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. İlaçların çözünme profili, ilacın aktif bileşenlerinin vücuda ne kadar hızlı ve etkili bir şekilde salınacağını belirleyen önemli bir faktördür. Tablet sertliği, ilacın yapısının ve formülasyonunun bir göstergesi olarak tabletin fiziksel özelliklerini ifade eder. Tablet sertliği arttıkça (yani daha sert tabletler), çözünme profili genellikle daha yavaş olur. Daha sert tabletler, suda çözünmeleri için daha fazla zaman gerektirir. Bu, ilacın vücuda emilme hızını etkileyebilir. Özellikle bir ilacın hızlı bir etki göstermesi gerekiyorsa, sert tabletler bu hızı azaltabilir. Buna karşın daha yumuşak tabletler, genellikle daha hızlı çözünen ve vücuda daha hızlı emilen tabletlerdir. Bu, ilacın etkisinin daha çabuk başlamasına ve daha hızlı bir şekilde etki göstermesine yardımcı olabilir. Ancak tablet sertliği, her ilaç için aynı şekilde işlemeyebilir ve çözünme profili üzerindeki etkisi ilacın bileşenlerine, formülasyonuna ve terapötik gereksinimlere bağlı olarak değişebilir. Bu nedenle,

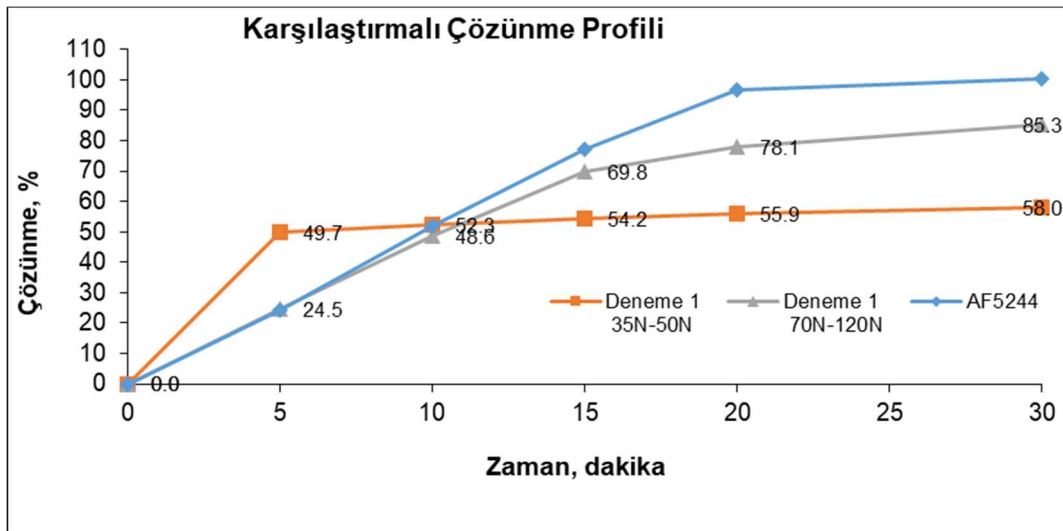
bir ilacın tablet sertliği, ilacın tasarımı ve performansında önemli bir rol oynayan kritik bir faktördür ve formülasyon mühendisleri tarafından dikkate alınır. İlaç geliştirme sürecinde, tablet sertliği ile çözünme hızı arasındaki dengeyi sağlamak önemlidir, böylece ilacın istenilen terapötik etkiyi sağlaması mümkün olur. Tablo 3.5, Tablo 3.6, Şekil 3.1 ve Şekil 3.2 de verilen çözünme hızı sonuçlarında tablet sertliğinin çözünmeyi etkilediği görölmüştür.



Şekil 3.2 0,1N HCl Çözünme hızı karşılaştırmalı çözünme profili

Tablo 3.10 pH 4,5 Asetat ortamı çözünme hızı profilleri

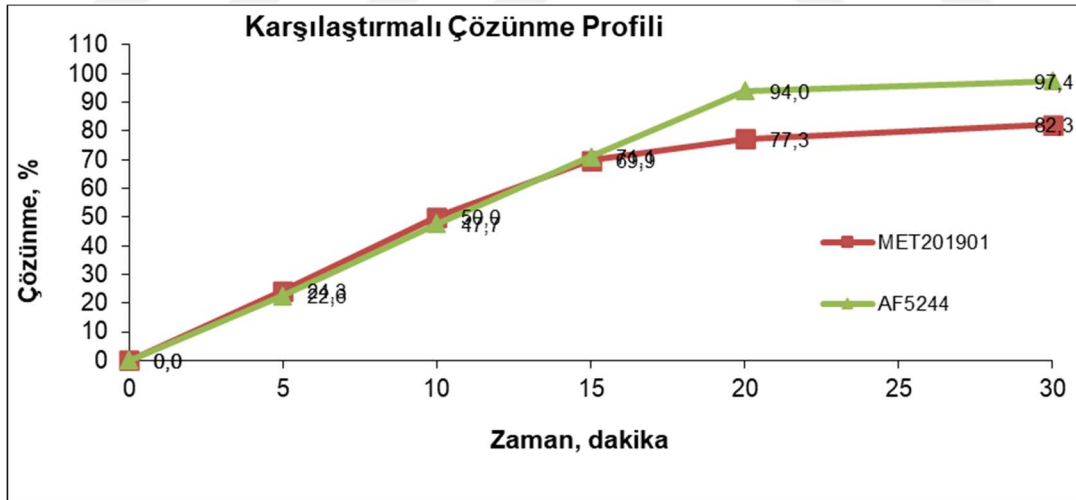
Zaman (dk)/Ortam	Deneme 1B 35N-50N %	Deneme 1B 70N-120N %	Medrone 100 mg %
0,0	0,0	0,0	0,0
5,0	49,7	24,5	24,2
10,0	52,3	48,6	51,9
15,0	54,2	69,8	77,0
20,0	55,9	78,1	96,9
30,0	58,2	85,3	100,1
45,0	60,3	90,8	99,6



Şekil 3.3 pH 4,5 Asetat ortamı çözünme hızı karşılaştırma profili

Tablo 3.11 pH 6,8 Fosfat ortamı çözünme hızı profilleri

Zaman (dk)/Ortam	Deneme 1B 70N-120N %	Medrone 100 mg %
0,0	0,0	0,0
5,0	24,3	22,6
10,0	50,0	47,7
15,0	69,9	71,1
20,0	77,3	94,0
30,0	82,3	97,4
45,0	86,4	98,6



Şekil 3.4 pH 6,8 Fosfat ortamı Çözünme Hızı Karşılaştırma profili

Fosfat tamponlu bir ortam, ilacın pH hassasiyetini azaltabilir ve sindirim sisteminin belirli bölgelerinde daha tutarlı bir şekilde çözünmesine yardımcı olabilir. Bu, ilacın

etkisinin daha istikrarlı ve öngörülebilir hale gelmesine katkıda bulunabilir. Ancak, her ilaç farklıdır ve çözünme profili, ilacın bileşenlerine, formülasyonuna ve yapısal özelliklerine bağlı olarak değişebilir. Bu nedenle, ilacın fosfatlı pH 6.8 ortamında daha hızlı salınmasının spesifik bir ilaç için geçerli olduğunu belirtmek önemlidir. Bu tür bilgiler, ilacın etkisi ve biyoyararlanımı üzerindeki etkilerini anlamak ve ilacın en iyi şekilde kullanılmasını sağlamak için önemlidir. 0.1 N HCl ve pH 4.5 asetat ortamında ilaç çözünürlüğü düşük kalmıştır. Formülasyon deneme çalışmasında hedef tüm ortamlarda referans ürün ile benzerliği sağlamaktır. Urunun çiğneme tablet formunda düşünülmüş olup bazı tat maskeleyme teknikleri kullanılarak çalışmalarda yapılmıştır. Bunlardan en ilginç ve en uygun sonucu veren bir çalışmada aşağıda verilmiştir. Fakat referans ürüne benzerlik açısından benzer tablet formu deney tasarımı için seçilmiştir.

Tablo 3.12 Deneme 13 birim formülasyon

İçerik	Birim Formül (mg)
Metilprednisolon	100,0
Sodyum Nişasta Glikolat	8,0
Maltodekstrin	65,75
Hidrolize Bezelye Proteini	43
Polysorbate 20	0,75
İndigo Karmin (Aluminyum Lake)	1,1
Magnezyum Stearat	1,4
Tablet ağırlığı	220,0

*Bitmiş üründe bulunmaz

Deneme 13 aşağıdaki üretim yöntemine göre üretilmiştir.

Distile su, 50-55 °C'ye kadar ısıtılır. Daha sonra, ısıtılmış suya yavaşça eklenen Polysorbate 20, 10 dakika boyunca nazikçe karıştırılarak tamamen çözülür. Ardından, sırasıyla Metilprednisolon ve İndigo karmin çözeltiye eklenir ve bu karışım 20 dakika boyunca dikkatlice homojen hale getirilir. Son olarak, Maltodekstrin, üçüncü aşamadaki çözeltiye eklenir ve bu adım 10 dakika süresince karıştırılır. Karışma bezelye proteini eklenerek 10 dakika daha yavaşça karıştırılır ve yüksek devirde 5 dakika homojenize edilir. Solüsyon giriş sıcaklığı 180°C, çıkış sıcaklığı 93°C ve pompa basıncı 300 psi da sprej kurutucuda spreyleyerek nem değeri % 5 ten küçük olana kadar kurutulur. Elde edilen matriks ve sodyum nişasta glikolat 0.5 mm elekten elenerek 15 dakika karıştırılır. Magnezyum stearat 0,5 mm elekten elenerek 8.basamaktaki karışıma eklenir ve 3 dakika karıştırılır. Final karışım uygun zımbalar kullanılarak tablet baskı makinesinde basılarak tablet haline getirilir.

Tablo 3.13 0,1N HCl çözünme hızı profilleri

Zaman (dk)/Ortam	Deneme 13 60N – 70 N	Medrone 100 mg %
0,0	0,0	0,0
5,0	45,6	19,7
10,0	75,9	51,9
15,0	91,9	87,7
20,0	94,1	94,2
30,0	97,8	98,1
45,0	97,9	97,7

Sonuçlar daha önceki denemelere göre daha uygun bulunmuştur. Aynı zamanda bu çalışmada acı bir tada sahip olan etken maddeye bezelye proteini kullanarak tat maskeleme yapılmış ve çözünürlüğü polysorbate 20 ile artırılmıştır. Çözünme

ortamında ise SLS kullanılmamıştır. Çalışma Deneme 8 de tekrar edilmiş ve SLS içermeyen pH 4.5 asetat ortamında da analizleri yapılmıştır.

3.1.1.1 Metilprednisolon 100 mg Tablet Deney tasarımı çalışması

Metilprednisolon 100 mg tabletlerin formülasyonu için normal bir iki faktörlü deneysel tasarım gerçekleştirilmiştir. Test tabletlerin çözünme hızı, içerik homojenliği ve miktar tayini belirlendi. Bu aşamada istatistiksel analizler yapıldı ve elde edilen veriler detaylı bir değerlendirmeye tabi tutuldu. Deneyler, bir veya birden fazla faktörün yanıtı etkilemesi durumunda istatistiksel analizde belirlenecek şekilde tasarlanmıştır. Çalışmada Design Expert'ten istatistik değerlendirme amaçlı faydalanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı ve anlamlı olmayan etkiler incelenmiştir. Tablo 3.14'te sunulan sürecin ilk risk değerlendirmesine dayanarak, Polisorbat 20 ve Bezelye protein oranının çözünme ve parçalanma üzerindeki etkisi yüksek olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.14 Formülasyon başlangıç risk değerlendirmesi

CQA	Partikül boyutu	Pea Protein seviyesi	Maltodextrin seviyesi	Magnezyum stearate seviyesi	Polysorbate 20 seviyesi
Miktar	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük
İçerik Tek Düzeligi	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük
Çözünme	Yüksek	Yüksek	Düşük	Düşük	Yüksek
Safsızlık	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük

İki faktörlü deneysel tasarım modeli Metilprednisolon 100 mg tabletlerin formülasyon denemelerinde kullanılmıştır. Polisorbat ve bezelye proteini formülasyondaki değişkenler olarak belirlenmiştir. Tablet sertliği, aşınma, çözünme ve parçalanma da deney yanıtları olarak belirlenmiştir. Optimum

formülasyonun çözünme profilinin referans ürüne (Medrone 100 mg tablet) benzer olmasını sağlamak hedeflenmiştir.

3.1.1.2 Fizikokimyasal değerlendirme

Tablet sıkıştırma işlemleri sırasında tabletlerin ağırlıkları ve sertlikleri Sotax HT 100 cihazı ile test edilmiştir. Ufalanabilirlik, mekanik etki nedeniyle tabletlerin yüzeyinden tozun ağırlık kaybı yüzdesi olarak tanımlanır. Avrupa farmakopesinin 2.9.7 monografına uygun olarak test edilecek tabletlerin ağırlığı 650 mg'dan daha düşük olduğu için 6.5 g civarında numune tartılarak plastikten yapılan yuvarlak haznelere konulmuştur. Erweka TAR cihazına bağlı hazne toplamda 100 dönüş olacak şekilde 4 dakika boyunca dakikada 25 devir hızı ile döndürülmüştür. Tabletler hazneden çıkarılarak yüzeyleri deformasyona-aşınmaya karşı kontrol edilmiş ve parçalanmış kütle kaybı miktarını ölçmek için tartılmıştır.

Aşınma miktarı ilgili monografa göre maksimum % 1,0'olmalıdır. Oral olarak uygulanan hızlı salımlı tabletler için dağılma süresi kritik bir özelliktir. Dağılma, çözünme sürecinin ilk adımı olarak belirli bir süre içerisinde gerçekleşmelidir. Dağılma süresindeki olası uzamalar çözünme hızını da etkileyeceğinden dolayı geliştirme ve üretim aşamalarında kontrol edilmelidir. Avrupa farmakopesi 2.9.1 monografına uygun olarak çekirdek tablet 15 dakikada, hızlı salım film kaplı tabletler 30 dakika içerisinde dağılmalıdır. Uzatılmış salımlı ve çiğneme tabletler için dağılma önemli olmadığından dolayı ilgili farmakopelerde bu dozaj formları için dağılma testleri yer almamaktadır.

Dağılma süresi, sıcaklık probu, ısıtılmalı su banyosu, banyo içerisindeki bölmelere yerleştirilen iki adet 1 litrelik beher, beherlerin içerisine yerleştirilen 2 adet sepetten oluşan Sotax DT2 cihazı ile test edilmektedir. Sepetlerin içerisinde tabletlerin içerisine konulduğu cam silindirler ile çevrelenen 6 adet altı delikli bölme bulunmaktadır. Aşağı yukarı yönde hareket eden kollar vasıtasıyla sepetler belirli sıcaklıktaki su ile doldurulan beherlerin içerisine daldırılıp çıkarılmaktadır. Test sırasında suyun yüzeyine çıkan tablet ve kapsüller için diskli dağılma metodu tercih edilmektedir. Cam silindirlerin üzerine tabletlerin bölme içerisinde tutulmasını sağlayan diskler konularak test gerçekleştirilmektedir. Tabletlerin yoğunluğu ve dağılma türüne göre diskli veya disksiz metot kullanılabilir.

Tablet tamamıyla yok olup herhangi bir kalıntı olmadığında, ıslanmamış parça içermeyen yumuşak bir kalıntı olduğunda veya kaplı tabletin sadece film kaplamasının kaldığı durumlarda dağılmanın tamamlandığı kabul edilmektedir.

Çözünme testi için 900 ml pH 1.2 tampon çözeltisi kullanılmıştır. Küvetlerin sıcaklığı $37,0^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'de sabitlenmiştir. 6 adet tablet 50 rpm pedal dönüş hızında çözünme testine tabi tutulmuştur. Çözünme testi için USP <711> monografi referans olarak kullanıldı. Dissolüsyon vesıllarına 900 ml pH 1.2 + %0,1 SLS tampon çözeltisi eklenip, sıcaklık $37,0^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'de sabitlendi. Her bir vesıla bir adet tablet atılıp 50 rpm hızında çalıştırıldı.

5., 10., 15., 30., 45., 60. ve 75. dakikalarda yaklaşık 5 ml dissolüsyon ortamı alınarak $0.45\mu\text{m}$ RC'den süzöldü ve örnekler küçük şişelere yerleştirildi. 20,0 mg Metilprednizolon çalışma standardı, 100 ml'lik ölçölü bir balona tam olarak tartıldı ve 5 ml %96 etanol ile ultrasonik banyoda 5 dakika sonikasyon yapılarak çözöldü. Dissolüsyon medyumunu ile hacme tamamlandı. Çözeltiden 5 ml alınarak ortam ile 10 ml'ye seyreltildi ve $0.45\mu\text{m}$ 'lik bir RC filtreden süzöldü.

Çalışma HPLC sisteminde ODS Hypersil $250 \times 4.6\text{mm}$, $5\mu\text{m}$ kolonu ile 247 nm de gerçekleşti. Fosforik asit: THF: ACN: damıtılmış su (10:15:10:65 v/v/v/v) ve fosforik asit: THF: ACN (10: 15: 75 v/v/v) karışımından oluşan mobil faz) 2.0 ml/dk akış hızı ile kullanılmıştır. 45°C kolon sıcaklığında ve 10 ul enjeksiyon hacminde analiz gerçekleştirilmiştir. 2 faktörlü, 3 merkezi nokta kontrollü optimizasyon çalışmasında 7 adet deney tasarlanmıştır. Formölasyon detayları aşğıdaki Tablo 3.15, 3.16 ve 3.17 de verilmiştir:

Tablo 3.15 Proses kontrol ve kritik kalite parametreleri

Test parametreleri	Kabul kriterleri
Sertlik (kp)	7 -10 kp
Aşınma (%)	≤ 1.0
Dagılma (sec)	≤ 40
Miktar (%)	95 - 105
Çözünme (%)5. dk	20 - 50 %

Tablo 3.16 Optimizasyon tasarımı

Çalışma Türü			Alt tür			Rastgele		
Tasarım türü			Test sayısı			7		
Tasarım modeli			Bloklar			Blocsuz		
Merkez nokta			Oluşturma zamanı (ms)			10,00		
Faktör	Ad	Birim	Min.	Maks.	Kod Düşük	Kod Yüksek	Ortalama	Std. sapma
A	Polisorbat 20	mg	0,5000	1,0000	-1	+1	0,750	0,20
B	Hydrolize bezelye Proteini	mg	35	50	-1	+1	42.71	6,13

Tablo 3.17 Methylprednisolone 100 mg tabletlerin deneysel tasarımları

İçerik	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
	mg/tablet						
Metilprednisolon	100	100	100	100	100	100	100
Polisorbat 20	0,75	0,5	0,75	1	0,75	1	0,5
Hidrolize bezelye proteini	43	50	43	35	43	50	35
Maltodextrin	65,75	59	65,75	73,5	65,75	58,5	74
Sodyum nişasta glikolat	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
Indigo Carmin	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
Magnesium Stearate	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Saf su	-	-	-	-	-	-	-
Tablet ağırlığı	220						

3.1.1.3 *In vitro* Değerlendirmeler

- Sitotoksite analizi

NIH/3T3 fare fibroblast hücreleri 37°C'de %5 CO₂ inkübatöründe %10 FBS ve %1 penisilin-streptomisin bulunan DMEM/F-12 medyasında yetiştirildi. Medya hücrelerin büyümesini gözlemlemek amacıyla her 2-3 günde bir değiştirildi. Hücreler birleşik tek tabaka oluşturduktan sonra mikroskop altında incelenerek, tripsin /EDTA solüsyonu kullanılarak kültür şişesinden ayrıldı. Ayrılan hücreler, 1000 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj edildi.

Hücreler kültür ortamında yeniden süspanse edilir ve 1×10^4 hücre/oyuk yoğunlukta 96 oyuklu plakalara ekildi ve 37°C 'de ve %5 CO_2 inkübatöründe 24 saat tutuldu. Test ürünü, referans ürün, etken madde ve plasebo karışımının NIH/3T3 fare fibroblast hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkileri, XTT hücre canlılığı testi ile araştırılmıştır. NIH/3T3 hücreleri, test numunelerinin 10, 25, 50 ve 100 mg/mL konsantrasyonları ile 24 saat 37°C 'de inkübe edildi. Numune içermeyen hücreler standart olarak kullanıldı. İnkübasyonun ardından, her kuyucuğa XTT tozu, ortamı ve PMS içeren 100 uL XTT solüsyonu eklendi. Hücrelerin absorbans değerleri 4 saatlik karanlık bir ortamda inkübe edilerek 450 nm'de ölçüldü. Hücre canlılığı Denklem (3.1)'e göre hesaplandı.

$$\text{Hücre Canlılığı (\%)} = (\text{OD}_{450} \text{ test ürünleri} / \text{OD}_{450} \text{ standart}) \times 100 \quad (3.1)$$

- Geçirgenlik Çalışmaları;

Çalışma geliştirilen test ürünün bağırsak geçirgenliğinin referans ilaca göre değerlendirilmesi ve biyofarmasötik sınıflandırma sisteminin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Caco-2 hücreleri %10 FCS'li 7.5 ml DMEM içinde 10.000 hücre/ cm^2 yoğunlukta 75 mm'lik doku ile işlenmiş polistiren kültür şişelerine ekilerek havada %5 CO_2 içeren nemli ortamda 37°C 'de inkübe edildi. Kültür ortamı 3 günde bir değiştirildi.

Caco-2 hücreleri, 10.000 hücre/ 0.143 cm^2 yoğunlukta, 0.4 um gözenek boyutuna sahip 96 oyuklu trans-kuyulu plaka (Corning-Costar, Kocaeli, Türkiye) üzerine ekilmiştir. Hücreler tohumlandıktan sonra 21 gün boyunca büyütüldü ve Caco-2 hücre tek tabakaları kullanılarak geçirgenlik deneyleri yapıldı.

Lucifer Sarısı (LY), hücre (yani Caco-2) tek tabakalarında yalnızca pasif paraselüler difüzyon (hücreler arasındaki boşluklar yoluyla) yoluyla hareket eder ve düşük geçirgenliğe sahiptir. Bu nedenle, hücreler arasında sıkı bağlantılar sağlandığında hücre tek tabakalarından geçemez. TEER testine alternatif bir bütünlük testi olarak LY taşıma miktarının belirlenmesi için standart eğriler kullanılmıştır.

- Caco-2 Geçirgenlik Deneyi;

Hücreler üzerindeki kültür ortamı, Caco-2 hücrelerinin trans kuyucuklu plakaya ekilmesinden 21. gün sonra çekildi. Caco-2 tek tabakaları, kültür ortamının izini çıkarmak için taşıma tamponu (10 mM HEPES) ile desteklenmiş HBSS (pH 6.5 ve 7.4'e HCl veya NaOH ile ayarlanmış) ile iki kez yıkandı. Aktif madde ve farmasötik formlar apikal bölmeyle ilave edilerek plakalar inkübe edildi. 0, 30, 60, 90 ve 120 dakika zaman aralıklarında plakaların hem apikal hem de bazolateral bölmelerinden numuneler toplandı ve analiz edildi.

Görünür geçirgenlik katsayısını (P_{app}) hesaplamak için aşağıdaki denklem (3.2) kullanıldı:

$$P_{app} = \left(\frac{V_A}{Alan \times zaman} \right) \times \left(\frac{ila\varsigma_{acceptor}}{ila\varsigma_{initial,donor}} \right) \quad (3.2)$$

4.1 Genel Sonuç

Bezelye proteini tat maskeleyici ajanı olarak, emülsifiye edici ve bağlayıcı madde olarak gıda takviyelerinde kullanılmaktadır. Çalışmaya göre, bu yardımcı madde farmasötik form formülasyonlarında kullanılabilir. Çalışma bazı yardımcı maddelerinde farmasötik formülasyonlarda fonksiyonel madde olarak kullanılabileceğini göstererek araştırmacılar için iyi bir bilgi kaynağı olacaktır. Çalışmada bezelye proteininin farmasötik formülasyonlarda kullanımı ve çözünürlük ile hücre geçirgenliği üzerindeki potansiyel etkisi araştırıldı. Etkinin tespiti ve çıktılarının değerlendirilmesi için toplam 7 adet deney tasarlanmış ve formülasyonlar yapılmıştır. Polinom denklemini kullanarak deneysel tasarımı doğrulamak için çözünme süresi seçildi. İki seviyeli bir deneysel tasarım, aşağıdaki formdaki bir polinom denklemine (4.1) uyması için yeterli veri sağlar:

$$y = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_{12}(X_1X_2) + \dots \quad (4.1)$$

Burada y deneysel yanıtı temsil eder, B₀ kesmeyi ve B₁ ila B₁₂, X₁ (polisorbat 20) ve X₂ (bezelye proteini) faktörleri için katsayılarıdır.

Ancak, bu denklem her bir faktörün nispi etkisini belirlemek için uygun değildir. Bütün testler, P<0.05 anlam düzeyinde yürütülmüştür ve %95 güven düzeyindedir. Nihai model denkleminde sadece anlamlı faktörler dahil edilmiştir. Tablo 4.1, tablet formülasyonunun fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait yanıt değerlerini içermektedir.

Baskı veya kuvvet altındaki tabletler kırılabilir veya kapanabilir. Tablet bu basınca dayanacak şekilde tasarlanmış olması çok önemlidir. Bazı yüksek sertlikteki tabletler sıkıştırma sırasında kapaklanma veya laminasyon geliştirme eğiliminde olduğundan, tablet sertliği mükemmel bir dayanıklılık göstergesi değildir. Dolayısıyla ufalanabilirlik, bir tabletin gücünün başka bir göstergesidir. Tabletler için ufalanabilirlik testi Avrupa Farmakopesi, İngiliz Farmakopesi ve Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi (USP) için aynıdır.

Tablet sertliği, 7 ile 10 kp arasında bir değerde tutulmuştur. Tabloda gösterilen bulguların analizine göre, Tablo 4.1'de gösterilen tüm deneysel testlerde ufalanabilirlik spesifikasyonlar içindeydi.

Ph. EUR. 2.9.7'ye göre, maksimum ağırlık kaybını %1,0'dan az kabul eder. Bezelye proteini ve polisorbata 20, tüm test sonuçlarının %0,02 ile %0,03 arasında olduğu için mevcut formülasyonun tabletin ufalanabilirliği üzerinde herhangi bir etkisi olmamıştır. Design Expert Yazılımı (Sürüm 13) ile yapılan varyans analizi, modelin anlamlı olmadığını gösteren 8.87 F değerini elde etmiştir.

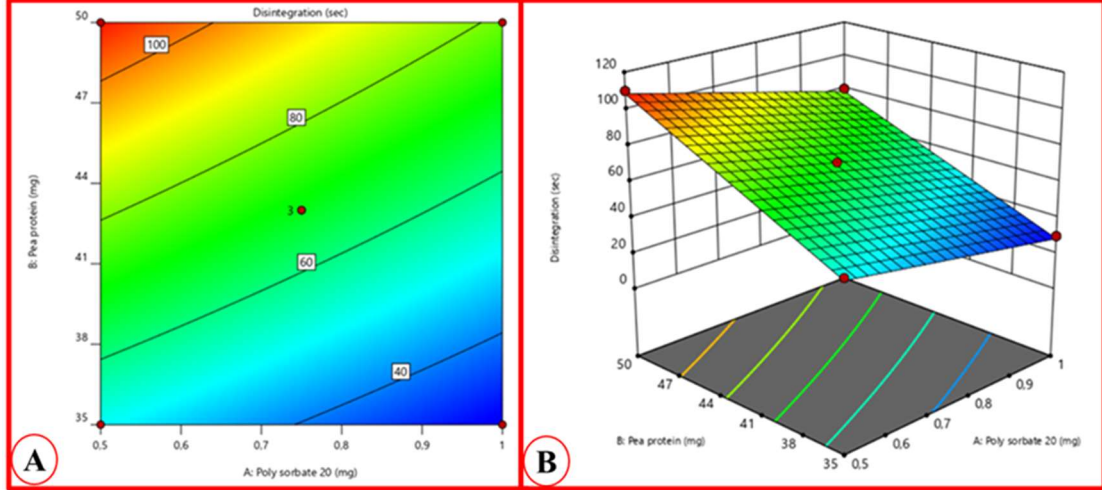
Gürültü nedeniyle bir "Model F-Değer"nin oluşma olasılığı yalnızca %5,3 olarak bulunmuştur.

0,0500'den küçük P değerleri, model terimlerinin anlamlı olduğunu gösterir. Bu durumda, AB model teriminin anlamlı olduğu bir durum söz konusudur. 0,1000'den büyük değerler, model terimlerinin anlamlı olmadığını gösterir. Gevreklik modeli, $p = 0,0530$ ile Polisorbata 20-X1 ($p = 0,11$) ve Bezelye proteini-X2 ($p = 0,3316$) düzeyi ile modelin anlamlı olmadığını ancak AB ($p = 0,0205$) ile anlamlı model terim olduğunu ifade eder.

Katı bir dozaj formunun çözülmesinden önce tabletin veya kapsülün daha küçük parçalara bölünmesi gerekip gerekmediği değerlendirilmelidir. Bir malzemenin normal koşullar altında daha küçük parçacıklara parçalanma kapasitesi, parçalanma testi ile doğru bir şekilde ölçülür. Katı dozaj formlarının büyük çoğunluğu için parçalanma, çözünme testine benzer şekilde sıklıkla bir farmakope testi gerekliliğidir. İn vivo teknikleri kullanmadan, ilacın vücuttaki biyoyararlanımı hakkında önemli güvenlik bilgileri verir. Bu yöntemin tüm partilerde tutarlılık ve homojenlik oluşturması, temel bir kalite kontrol adımıdır.

Şekil 4.1'deki kontur grafiği, 41–44 mg düzeylerinde bezelye proteini ve 0,7–0,8 mg düzeylerinde polisorbata 20'nin parçalanma süresi için pozitif sonuçlar üreteceğini göstermektedir. Şekil 4.2'deki 3D Tepki yüzey grafiği, Bezelye proteini konsantrasyonundaki artış ve Polisorbata 20 konsantrasyonundaki azalma ile parçalanma süresinin arttığını göstermektedir. ANOVA analizinden elde edilen 55.07'lik Model F-değer, modelin anlamlı olduğuna işaret etmektedir. Bezelye

proteininin tabletlerin parçalanma sürecini yavaşlattığı ve tablet formülasyonunda bir bağlayıcı görevi üstlendiği gösterilmiştir.

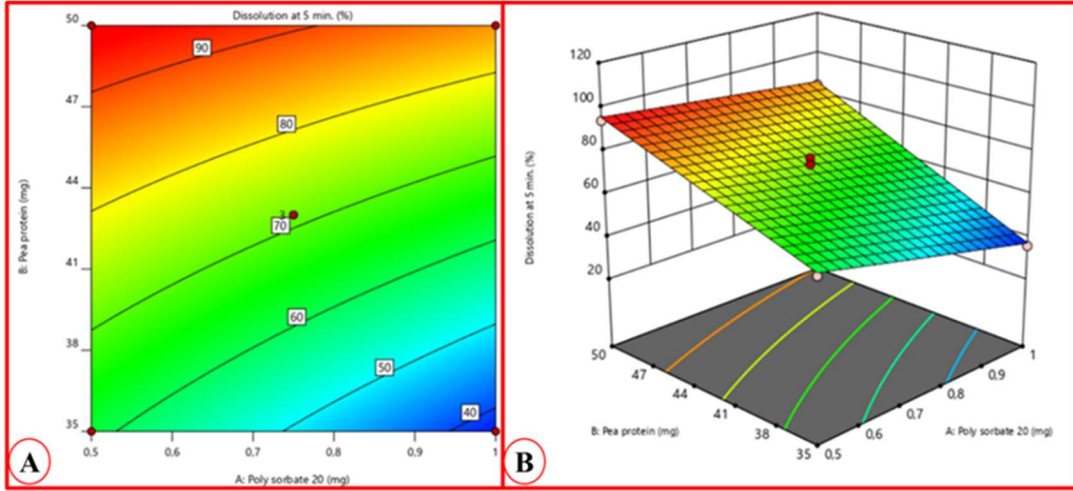


Şekil 4.1 . Polisorbat 20 ve Bezelye proteini miktarının tablet dağılma süresi üzerine etkisini gösteren kontur grafiği ve 3D tepki yüzey çizimi

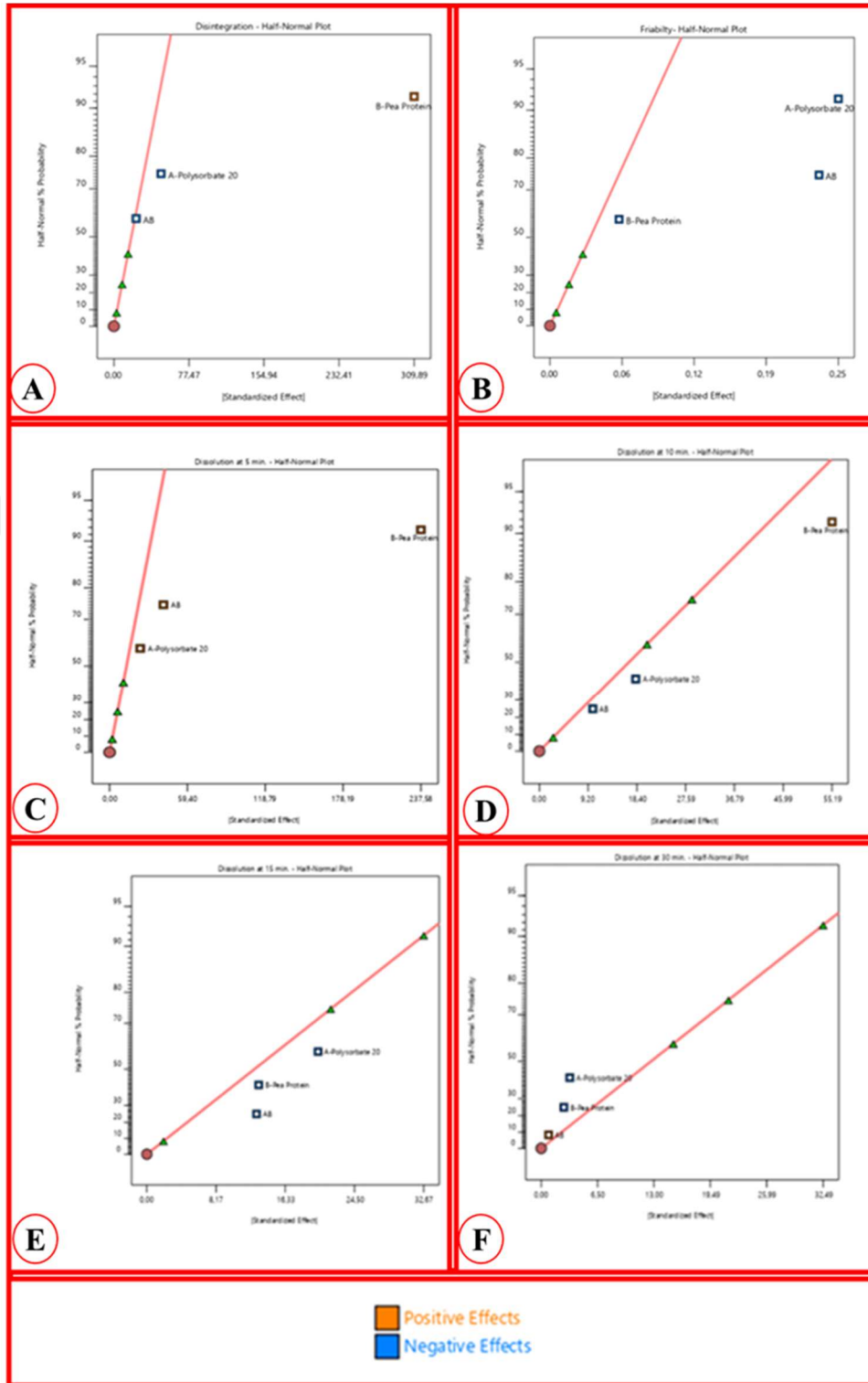
Bir maddenin çözeltiye dönüştüğü sürece çözünme denir. Bir ilacın biyolojik olarak kullanılabilir olması ve terapötik olarak etkili olabilmesi için çözünmesi gerekir. Gelişimin erken aşamalarında, çözünme testinin temel hedefleri, ilaç aktif maddesinin terapötik etkinliğini, biyoeşdeğerliğini ve biyoyararlanımını belirlemektir. Bu doz formlarının etkili olabilmesi için, ilacın sistemik dolaşıma emilmeden önce, gastrointestinal kanalda bir sıvı içinde çözünmesi gerekmektedir. Bu nedenle, ilacın veya kapsülün çözünme hızı çok önemlidir. Plazma veya idrar konsantrasyonunun periyodik olarak test edilmesiyle ilacın vücut üzerindeki etkisi belirlenir. Biyoeşdeğerlik çalışmalarının başarısı jenerik formülasyonun çözünme profili, referans ürün ile benzerliğine karşı değerlendirilebilir. Çözünürlük çalışmalarına ek olarak hücre deneylerinin yapılması, çözünürlüğü ve geçirgenliği sınırlı olan aktif bileşikler için avantajlı olabilir.

2,4 ve 6 numaralı formülasyonları incelediğimizde hem bezelye proteini hem de polisorbat 20'nin 5 dakikada çözünmeyi etkilediği açıkça görülmektedir. Şekil 2.A'nın kontur çizimi, 41–44 mg seviyelerinde bezelye proteini ve 0,7–0,8 mg seviyelerinde polisorbat 20'nin 5 dakika sonra çözündükten sonra pozitif sonuçlar

vereceğini göstermektedir. Şekil 4.2'nin 3B yanıt yüzey grafiği, Bezelye proteini konsantrasyonundaki artış ve Polisorbat 20 konsantrasyonundaki azalma ile parçalanma süresinin arttığını göstermektedir. Varyans analizinden (ANNOVA) model F-değerinin 61.18 olması, modelin anlamlı olduğunu ima eder.



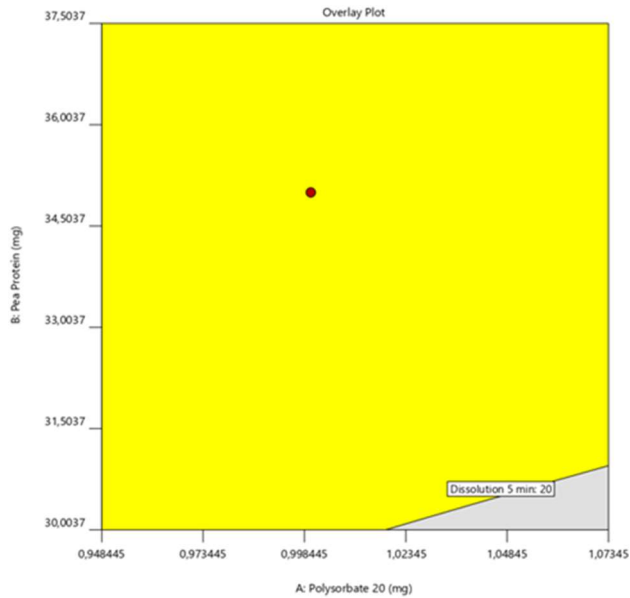
Şekil 4.2 Polisorbat 20 ve Bezelye proteini miktarının miktarının 5 dakikada çözünme üzerindeki etkisini gösteren kontur grafiği ve 3D Tepki Yüzey Çizimi



Şekil 4.3 Metilprednizolon 100 mg tabletler için yarı normal grafikler.

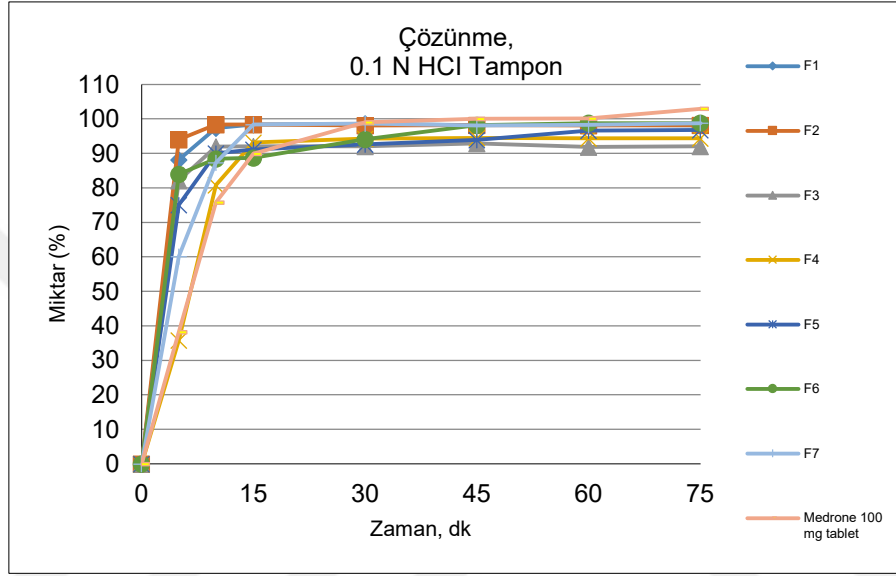
A. Parçalanma için Yarı Normal pilot, B. Ufalanabilirlik için Yarı Normal pilot, C. 5 dakikada çözünme için Yarı Normal pilot, D. 10 dakikada çözünme için Yarı Normal pilot, E. 15 dakikada çözünme için Yarı Normal pilot, F 30 dakikada çözünme için Yarı Normal pilot. Metilprednizolon 100 mg tabletler için bireysel yanıtları etkileyen ana faktörleri belirlemek için Yarı Normal grafikler. Parçalanma modeli, $p=0.004$ ile, polisorbate 20 ve Bezelye protein seviyesi ile modelin önemli bir model terimi olduğu anlamına gelir (Polisorbat 20 için $p=0.0114$ ve Bezelye proteini için $p=0.0014$). Ayrıca, 5 dakikada tablet çözünmesi için model, anlamlı model terimi olarak Polisorbate 20 ve Bezelye protein seviyesi ile $p=0.034$ ile modelin anlamlı olduğunu ima eder (Polisorbat 20 için $p=0.0143$ ve Bezelye proteini için $p=0.0011$) ($p < 0.05$ model ve model terimlerinin anlamlı olduğunu gösterir)

Sarı renkli tasarım alanı (Şekil 4.4), 5 dakikadaki çözünmenin %20-50 olduğu ve dağılma süresinin alt sınırının 40 saniyeden az olduğu noktayı göstermektedir. Bu araştırma, kritik kalite spesifikasyonunu sağlamak için 0,97-1,02 mg polisorbate ve 33-36 mg bezelye proteini içeren optimal tabletleri elde etmek için kullanılabileceğini göstermiştir. Genel olarak, formülasyon 4, istenen spesifikasyonları başarılı bir şekilde karşılamaktadır.



Şekil 4.4 Deney tasarım alanı

Genel değerlendirmeden sonra, referans ürün olan Medrone 100 mg tabletin in vitro çözünürlük profiline yüksek benzerliği nedeniyle formülasyon 4 nihai formül adayı olarak seçildi. Tabletlerin parçalanması ve sonrasında beşinci dakikada çözünmesi, bezelye proteininin konsantrasyonunun artırılması ile hızlandırılmıştır. Çözünme profilleri, Medrone 100 mg tabletlerine karşı F1 ila F7 formülasyonları için Tablo 4.1 ve Şekil 4.5'te ayrıntılı olarak sunulmuştur. Formülasyon 4 en uygun formülasyondur çünkü referans ürün gibi 5 dakikada daha yavaş çözünür.



Şekil 4.5 *In vitro* ilaç salınım profili (F1-F7 & Medrone 100 mg tablets)

Tablo 4.1 Medrone 100 mg Tablet ve test ürünü için çözünme sonuçları (%)

Örnekler	0	5	10	15	30	45	60	75
F1	0	88,2	97,3	98,4	98,6	98,2	98,3	98,1
F2	0	94	98,4	98,4	98,1	98,2	98,1	98,2
F3	0	82,1	92	92,1	92,1	92,9	91,9	92,1
F4	0	35,8	80,8	93,2	94,3	94,5	94,4	94,4
F5	0	75,1	90	91,1	92,6	93,9	96,6	96,8

Tablo 4.1 Medrone 100 mg Tablet ve test ürünü için çözünme sonuçları (%)

(Devamı)

F6	0	84	88,4	88,7	94,1	98,2	98,8	98,8
F7	0	60,1	87,3	98,4	98,6	98,1	98,3	98,8
Medrone 100 mg tablet	0	38,2	75,8	89,9	99	100	100,1	103

Test formülasyon salım kinetiği, sıfır derece, birinci derece, Higuchi, Korsmeyer-Peppas ve Hixon kinetik modelleme için değerlendirilmiş ve en uygun R^2 değerine göre uygun model seçilmiştir. Korsmeyer-Peppas modelinin diğer modellere göre daha uygun olduğu belirlendi, çünkü bu modelin R^2 değeri en yüksekti. Model test tabletlerin çözünme profiline uygulandı (Tablo 4.2) ve grafiksel olarak değerlendirildi (Şekil 4.6). Fickian difüzyon Super case I transport, ilaç salım üssünün 0.14 olduğu tespit edildi, bu da en olası salım modeli olarak kabul edildi.

Korsmeyer-Peppas modeli aşağıdaki denklem ile hesaplanmaktadır (4.2):

$$(M_t / M_\infty) = K_m \cdot t^n \quad (4.2)$$

M_t ilacın belirli bir zamandaki salım miktarı,

M_∞ ilacın toplam salım miktarı,

k bir malzeme ve sistem özelliğini temsil eden bir sabittir,

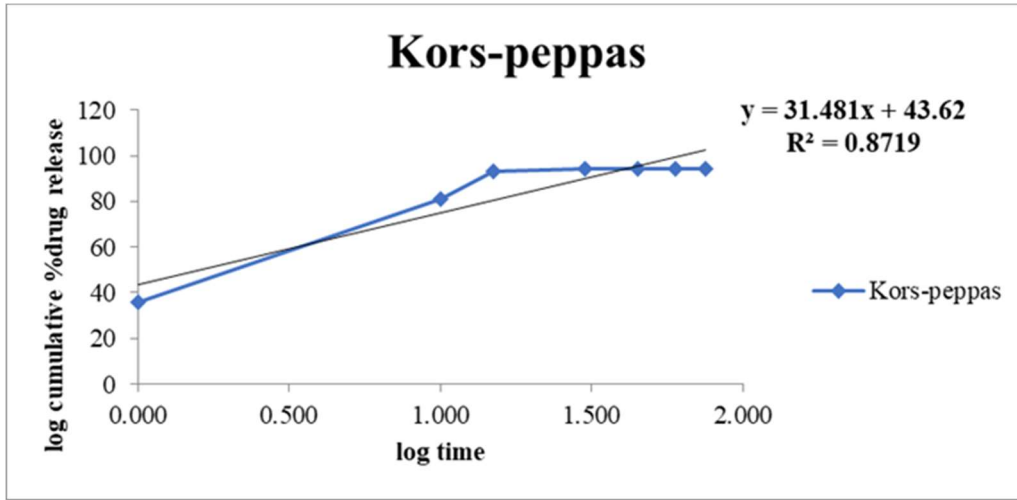
t zaman,

n salım mekanizmasını belirleyen bir üstel terimdir.

Bu denklem, farklı salım mekanizmalarını temsil edebilecek şekilde geniş bir kullanım alanına sahiptir. Özellikle, n değeri, salımın Fick difüzyonundan farklı olduğunu belirtir: Bu denklem, deneysel verilerin analizi için kullanılır ve ilaç salımının arkasındaki mekanizmaların anlaşılmasına yardımcı olabilir. Korsmeyer-Peppas modeline göre K : 1.84, n : 0.14, R^2 : 0.998, SSD: 0.014 olarak bulunmuştur.

Tablo 4.2 Test formülasyonu (F4) için ilaç salınım modeli

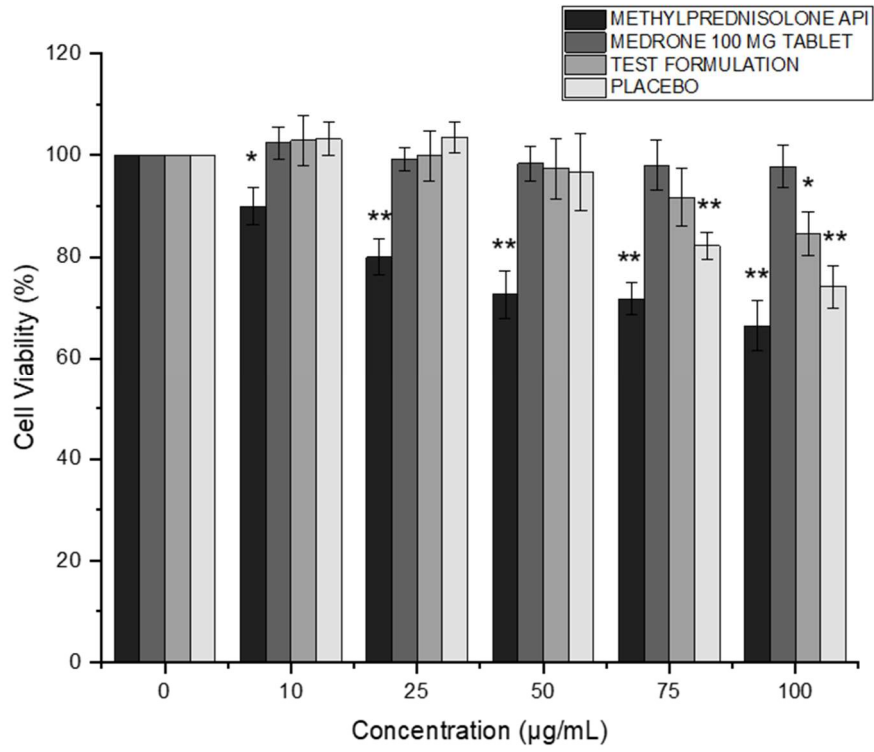
Zaman (dk)	% Kümülatif İlaç salınım	% kalan ilaç	Zamanın kare kökü	log % kümülatif kalan ilaç mik.	Zamanın logaritması	log % kümülatif salınan ilaç	% salınan ilaç	Küp kök % kalan ilaç (Wt)	Wo-Wt
5	35,8	64,2	2,236	1,808	0,000	0,000	100	4,004	0,000
10	80,8	19,2	3,162	1,283	1,000	1,907	45	2,678	1,964
15	93,2	6,8	3,873	0,833	1,176	1,969	12,4	1,895	2,747
30	94,3	5,7	5,477	0,756	1,477	1,975	1,1	1,786	2,856
45	94,5	5,5	6,708	0,740	1,653	1,975	0,2	1,765	2,877
60	94,4	5,6	7,746	0,748	1,778	1,975	-0,1	1,776	2,866
75	94,4	5,6	8,660	0,748	1,875	1,975	0	1,776	2,866



Şekil 4.6 Formülasyon 4 (F4) için Korsmeyer peppas

4.1.1 Hücre canlılığı sonuçları

Metilprednizolon, Medrone 100 mg tabletler, test formülasyonu ve 10, 25, 50 ve 100 mg/mL konsantrasyonlarda plasebonun sitotoksikite değerlendirmesi, XTT testi ile NIH3T3 fare fibroblast hücreleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.8'de açıkça görüldüğü üzere, aktif maddenin sırasıyla 50, 75 ve 100 mg/mL konsantrasyonları, hücre canlılığını %72, %71 ve %66 oranında azalttığı görülmüştür ($p \leq 0,0001$). Medrone 100 mg tablet, fibroblast hücreleri üzerinde herhangi bir sitotoksik etki gösterirken, test formülasyonu, kontrol ile karşılaştırıldığında 100 mg/mL konsantrasyonda ($p \leq 0,005$) hücre canlılığını yalnızca %84'e düşürdü. 75 ve 100 mg/mL konsantrasyonlarında plasebo, sırasıyla %82 ve %74 hücre canlılığı gösterdi ($p \leq 0,0001$). Bu sonuçlar, referans ürün ve test ürünün, plasebo ve aktif madde ile karşılaştırıldığında tüm konsantrasyon seviyelerinde daha üst düzeyde hücre canlılığı sergilediğini göstermektedir.



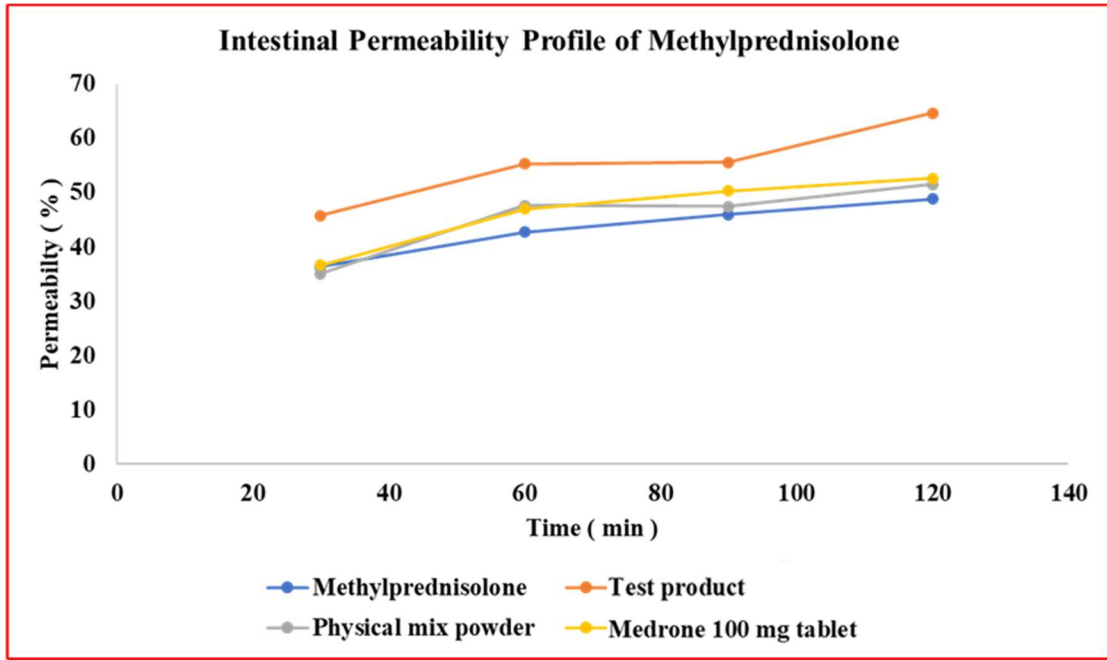
Şekil 4.7 Hücre canlılık sonuçları

4.1.2 Lucifer Sarı Test Sonuçları

Ortalama LY Geçirgenliği: %1,66 (Geçirgenlik testleri için mevcuttur). Wells LY geçirgenlik testi sonuçları, %5'in altındaki geçirgenlik testleri için uygun olabilir.

Tablo 4.3 Lucifer sarı geçirgenlik test sonuçları

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Apikal	177 7	175 8	179 2	177 5	173 5	162 6	167 8	163 8	160 4	158 2	164 1	161 0
Bazolateral	15	11	14	14	51	58	26	19	55	25	30	21
Geçirgenlik %	0.84	0.62	0.78	0.78	2.86	3.44	1.53	1.15	3.32	1.56	1.80	1.29



Şekil 4.8 Metilprednizolon HCl'nin bağırsak geçirgenlik profili

Metilprednizolonun önemli bir toksik etkisi bulunmadığı ve bazı antiepileptik ilaçlar ve bishidroksikumarin türevlerinin metabolizmalarını etkilediği bilimsel çalışmalarda rapor edilmiştir. Bu veriler ışığında, Metilprednizolon güvenli bir ilaç olarak değerlendirilmelidir. Caco-2 çalışması sonuçları, jenerik tabletin bağırsak geçirgenliğinin referans tabletin geçirgenlik değerlerine kıyasla daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, jenerik tabletin klinik çalışma sonuçları için daha düşük bir AUC değeri ile ilişkilendirilebilir, özellikle referans ürünün %80-85 aralığında olduğu zamanlarda. Fiziksel karışım (tablet haline gelmemiş toz karışım) ve aktif madde karşılaştırıldığında, fiziksel karışımın salınabilir olduğu gösterilmiştir. Metilprednizolon tablet formülasyonundaki etkin ve tüm yardımcı maddelerin incelenmesi, jenerik ürün ile fiziksel karışım arasında anlamlı bir geçirgenlik farkı olmadığını ortaya koymaktadır. Bu durum, formülasyon işleminin (tablet baskı, harmanlama vb.) jenerik ürüne uygun olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.4 İlaç geçirgenlik değerleri (%)

Sıra	Permeability Values of Test Groups (%)				
	GRUPLAR	ZAMAN			
		30 dk	60 dk	90 dk	120 dk
1	Metilprednisolon	36,323	42,724	45,953	48,871
3	Fiziksel karışım	35,078	47,662	47,482	51,509
4	Test ürünü	36,639	46,995	50,337	52,609
5	Medrone 100 mg Tablet	45,786	55,327	55,574	64,697
6	Fark % Test ürün/Ref	80	85	90	81

Jenerik tabletin geçirgenlik değerleri üzerinde ne yardımcı maddelerin ne de tablet baskı işleminin olumsuz bir etkisi olmamasına rağmen, düşük geçirgenlik, API'nin düşük çözünürlük özellikleri ve üretim süreci (referans ürünün API'sinden farklı polimorfizm) ile ilişkilendirilebilir.

Test sonuçlarımıza göre Metilprednizolonun Papp değerleri 3×10^{-6} cm/s ve Fa değerleri %30 civarında ölçülmüştür, bu veriler Metilprednizolon HCl'nin “orta derecede geçirgenliğe” sahip olduğunu ve geçebileceğini göstermektedir. Düşük çözünürlük gösterdiğinden BCS Sınıf II-IV'e ait olabilir.

4.1.2 Tartışma

Bezelye proteini yağ-su arayüzünde adsorbe oldukları ve arayüzey gerilimini azalttıkları için su içinde yağ emülsiyonlarının dengeleyicileri olarak hizmet edebilen amfifilik biyopolimerlerdir. Bezelye proteini tarafından kendi kendine birleşen bezelye proteini parçacıklarının emülsifiye edici özelliklerinde bildirilen değerlere benzer olan formülasyonda emülgatör olarak kullanılır ve birlikte çözünür. Formülasyon da kullanılan yardımcı maddeler ve proses tipi hücre geçirgenliğini etkilemektedir. Bezelye proteinleri emülgatör özellikleri, Metilprednisolon hücre geçirgenliğini iyileştirmiştir.

Çalışmada, bezelye proteininin farmasötik formülasyonlarda fonksiyonel madde olarak kullanımına ve bunun bitmiş ürünün çözünürlüğü üzerindeki olası etkisi incelendi. Çalışmanın bulgularına göre, bu yardımcı madde farmasötik formülasyonlarda etkin bir şekilde kullanılabilir. Daha fazla araştırma için bir başlangıç noktası olarak hizmet edecektir. Formülasyon parametreleri, Minitab sürüm 13.0 kullanılarak optimize edildi. Üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri ve kontur grafikleri kullanılarak bileşenlerin etkileri değerlendirilmiş ve Medrone 100 mg içeren tabletler için benzer oranda çözünme sağlayacak ideal formülasyon bileşimi bulunmuştur. En iyi çözünme oranını veren formülasyon elementleri, çeşitli 2 seviyeli faktöriyel deney tasarımları kullanılarak toplam 7 test gerçekleştirildikten sonra belirlendi. Erken tarama denemeleri ile, püskürterek kurutmada jenerik ürünler için en iyi yardımcı maddeler belirlendi. Medrone 100 mg tabletlerin 0,1 N HCl ortamında en iyi çözünme hızı, 1 mg Polisorbat 20 ve 35 mg hidrolize bezelye proteininde bulundu. Formülasyon 4'ün 100 mg Medrone içeren tabletlerin çözünme profiline en iyi şekilde uyduğu keşfedildiğinden, nihai formülasyon olarak bu seçildi. Üretilen tabletler, malzeme serbest akışlı olduğu için tutarlı ağırlıktaydı (durma açısı değeri 30" ve Carrs indeksi %15). Tabletlerin ağırlık dağılımı, proses kontrol limitinin %7,5'inin altında kaldığı için spesifikasyon limitleri içindedir. Tüm formülasyonlar tablet ağırlık dağılımı ve ufalanabilirlik testlerinden geçmiştir. Formülasyon optimize edilmiş ve proses kaynaklı riskler spesifikasyonlar ile kontrol altına alınmıştır.

Jenerik ürünün tüm kalite parametrelerini karşılanması istenmektedir. Ürün ticari olarak üretilebilir olmalıdır. Ufalanabilirlik, sertlik, parçalanma ve çözünme,

farmasötik tabletlerin performanslarını ve etkinliklerini etkileyen önemli özellikleridir tarafından lifle zenginleştirilmiş süt tabletlerinin ufulanabilirlik, sertlik ve lif içeriği analizi üzerine yaptığı çalışmada bahsedilmiştir.

Tabletlerin dağılması, uygun bir ortamdaki bu genellikle su varlığında tamamen küçük parçacıklara ayrıldığı süreçtir. Biyoyararlanımı veya ilaç etken maddesinin kan dolaşımına emilme derecesini ve hızını etkileyebilir. Bir tablet parçalanmazsa yani bir bütün olarak kalırsa, ilaç tabletten ayrılamayacağı için geç çözünmeye ve düşük emilime neden olacaktır. İlacın etkinliğinin azalması ve yan etki riskinin artması potansiyel risklerdir. Bu nedenlerden dolayı, Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi (USP) gibi düzenleyici kurumlar, tüm oral tabletlerin belirtilen çözünme gereksinimlerini karşılamasını şart koşar. Bir ilacın biyolojik olarak kullanılabilir olması ve terapötik olarak etkili olabilmesi için çözünmesi gerekir.

Araştırmacılar, ilaç ürünü performansını en üst düzeye çıkarmak ve beşerî ve veteriner kullanımı için kalitesini ve güvenliğini doğrulamak amacıyla çoklu formülasyonları, dozaj formlarını ve üretim yöntemlerini değerlendirmek için çözünme testini kullanabilir. Aktif madde içeren farmasötik formun etkili olabilmesi için ilacın sistemik dolaşıma emilmeden önce gastrointestinal kanalda çözünmesi gerekir. Bu nedenle, ilacın veya kapsülün çözünme hızı çok önemlidir. Plazma veya idrar konsantrasyonunun periyodik olarak test edilmesiyle ilacın vücut üzerindeki etkisi belirlenir. Jenerik formülasyonun çözünme profili biyoeşdeğerlik çalışmalara ışık tutabilmeli ve biyoeşdeğer olabilmesi için referans ürün ile benzer profile sahip olmalıdır. Çözünürlük çalışmalarına ek olarak hücre deneylerinin yapılması, çözünürlüğü ve geçirgenliği sınırlı olan aktif bileşikler için avantajlı olabilir. Metilprednisolon formülasyonunda bezelye proteininin fonksiyonel bir madde olarak kullanımı ile ilgili literatürde hiçbir çalışmaya rastlanmamış ve sınırlı sayıda Metilprednisolon aktif madde içeren formülasyon çalışmaları yapılmıştır. Püskürtme teknolojisi, çözünürlüğü düşük aktif farmasötik maddeler için kullanılan bir tekniktir. Sürfaktan ile çözülen aktif maddeler çok daha ince toz halinde elde edilebilmekte ve çözünme profili düzenlenebilmektedir. Tarafından laboratuvar ölçekli bir sprey kurutucu kullanılarak hazırlanan katı dispersiyonların çözünürlük davranışı ve fiziksel stabilitesi üzerindeki sprey kurutma işlemi parametrelerinin etkileri çalışmasının çıktıları çalışmamıza katkıda bulunmuştur. 2, 4 ve 6 numaralı

formülasyonları incelediğimizde hem bezelye proteini hem de polisorbat 20'nin 5 dakikada çözünmeyi etkilediği açıkça görülmektedir. Genel değerlendirmeden sonra, referans ürün olan Medrone 100 mg tabletin in vitro çözünürlük profiline yüksek benzerliği nedeniyle formülasyon 4 nihai formül adayı olarak seçildi. Artan bezelye proteini konsantrasyonu tabletlerin dağılımını yani parçalanmasını ve akabinde de ilk 5.dakikadaki çözünürlüğünün artmasını desteklemiştir. Referans ürüne karşı F1 ila F7 formülasyonlarının çözünme profilleri Tablo 6 ve Şekil 5'te gösterilmektedir. Formülasyon 4 en uygun formülasyondur çünkü referans ürün gibi 5 dakikada daha yavaş çözünür. Medrone 100 mg tablet, fibroblast hücreleri üzerinde herhangi bir sitotoksik etki gösterirken, test ürünü, kontrol ile karşı durumlarda 100 mg/mL gücünde ($p \leq 0,005$) hücre canlılığını yalnızca %84'e düşürdü. 75 ve 100 mg/mL dozlarında plasebo, sırasıyla %82 ve %74 hücre canlılığını gösterdi ($p \leq 0.0001$) [34]. Sonuç olarak Medrone ve test çalışmasını, diğer maddelerle karşı karşıya kalan tüm işlevlerde daha iyi hücre canlılığını gösterdi. Jenerik tabletin geçirgenlik çalışmasına yardımcı maddeler için olumlu bir etki vardır, yüksek geçirgenlik, formülasyonda ve üretim sürecinde polisorbat 20 ve bezelye proteini ile ilişkilendirilebilir. Hücre çalışmaları Metilprednizolon orta geçirgenlik ve düşük çözünürlük gösterdiği için BCS Sınıf II-IV'e ait olabileceğini göstermiştir. Bazı belgelerde ise Metilprednizolonun Biyofarmasötik sınıf 4'e dahil olduğu belirtilmiştir. Sprey kurutma yönteminin, Metilprednizolon 100 mg tablet formülasyonu için yönetilebilir ve ticarileşebilir olduğu görülmüştür. Metilprednizolon tabletlerinin Caco-2 hücrelerine alınması ve uygulanması başarılı olmuştur. Formülasyon parametreleri, Minitab sürüm 13.0 kullanılarak optimize edildi. Üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri ve kontur grafikleri kullanılarak bileşenlerin etkileri değerlendirilmiş ve Medrone 100 mg içeren tabletler için benzer oranda çözünme sağlayacak ideal formülasyon bileşimi bulunmuştur. En iyi çözünme oranını veren formülasyon elementleri, çeşitli 2 seviyeli faktöriyel deney tasarımları kullanılarak toplam 7 test gerçekleştirildikten sonra belirlendi. Erken tarama denemeleri ile, püskürterek kurutmada jenerik ürünler için en iyi eksipiyanlar belirlendi. Medrone 100 mg tabletlerin 0,1 N HCl ortamında en iyi çözünme hızı, 1 mg Polisorbat 20 ve 35 mg hidrolize bezelye proteininde bulundu. Formülasyon 4'ün 100 mg Medrone içeren tabletlerin çözünme profiline en iyi şekilde uyduğu keşfedildiğinden, nihai formülasyon olarak bu seçildi. Üretilen

tabletler, malzeme serbest akışlı olduğu için tutarlı ağırlıktaydı (durma açısı değeri 30" ve Carrs indeksi %15). Geliştirilen formülasyon ile ağırlık değişimi ve ufalanabilirlik testlerinden geçilmiştir. Metilprednizolon tabletlerinin üretim sürecinin nihai risk değerlendirmesinde formülasyon optimize edildiğinden beri API'nin partikül boyutu, hidrolize bezelye proteini miktarı ve polisorbat 20 gelecek süreç için herhangi bir risk göstermemektedir. Test ve referans tablet formülasyonları içerik olarak farklıdır. API'nin geçirgenlik profili üzerindeki etkisinin, biyomuafiyet belgesinin lisans başvurusu için sunulamayacağını göstermiştir. Metilprednizolon tabletler film kaplı tabletler değildir ve çok acı bir tada sahiptir. Ayrıca tabletlerin acı tadı bezelye proteini, polisorbat 20 ve maltodekstrin tarafından maskelenmiştir.



- [1] S. Stone, G. A. Malanga, and T. Capella, "Corticosteroids: Review of the history, the effectiveness, and adverse effects in the treatment of joint pain," *Pain Physician*, vol. 24, no. S1, pp. 233–246, 2021, doi: 10.36076/ppj.2021.24.s233-s246.
- [2] E. J. Koshi, K. Young, J. C. Mostales, K. B. Vo, and L. P. Burgess, "Complications of Corticosteroid Therapy: A Comprehensive Literature Review," *Journal of Pharmacy Technology*, vol. 38, no. 6, pp. 360–367, 2022. doi: 10.1177/87551225221116266.
- [3] S. M. R. Bandara and H. M. M. T. B. Herath, "Corticosteroid actions on dengue immune pathology; A review article," *Clin Epidemiol Glob Heal*, vol. 8, no. 2, pp. 486–494, 2020, doi: 10.1016/j.cegh.2019.11.001.
- [4] I. A. Coutinho, J. Pita, A. L. Moura, M. Alves, C. Loureiro, and A. T. Bom, "Hypersensitivity to corticosteroids – a review," *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, vol. 28, no. 3, pp. 149–160, 2020. doi: 10.32932/rpia.2020.09.039.
- [5] M. Patel, "Intratympanic corticosteroids in Ménière's disease: A mini-review," *Journal of Otology*, vol. 12, no. 3, pp. 117–124, 2017. doi: 10.1016/j.joto.2017.06.002.
- [6] A. H. Jobe, M. Kemp, A. Schmidt, T. Takahashi, J. Newnham, and M. Milad, "Antenatal corticosteroids: a reappraisal of the drug formulation and dose," *Pediatric Research*, vol. 89, no. 2, pp. 318–325, 2021. doi: 10.1038/s41390-020-01249-w.
- [7] E. Eworuke *et al.*, "Risk of serious spinal adverse events associated with epidural corticosteroid injections in the Medicare population," *Reg Anesth Pain Med*, vol. 46, no. 3, pp. 203–209, 2021, doi: 10.1136/rapm-2020-101778.
- [8] M. Kapugi and K. Cunningham, "Corticosteroids," *Orthop Nurs*, vol. 38, no. 5, pp. 336–339, 2019, doi: 10.1097/NOR.0000000000000595.
- [9] T. Loftsson and E. Stefánsson, "Cyclodextrins in eye drop formulations: Enhanced topical delivery of corticosteroids to the eye," *Acta Ophthalmol Scand*, vol. 80, no. 2, pp. 144–150, 2002, doi: 10.1034/j.1600-0420.2002.800205.x.
- [10] S. S. Ibrahim, "Nanostructured Lipid Carriers for Oral Delivery of a Corticosteroid: Role of Formulation on Biopharmaceutical Performance," *J Pharm Sci*, vol. 112, no. 3, pp. 790–797, 2023, doi: 10.1016/j.xphs.2022.10.014.
- [11] M. Inoue, Y. Sumii, and N. Shibata, "Contribution of Organofluorine Compounds to Pharmaceuticals," *ACS Omega*, vol. 5, no. 19, pp. 10633–10640, 2020, doi: 10.1021/acsomega.0c00830.
- [12] M. C. Esposito, A. L. A. Santos, R. Bonfilio, and M. B. de Araújo, "A

- Critical Review of Analytical Methods in Pharmaceutical Matrices for Determination of Corticosteroids,” *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, vol. 50, no. 2. pp. 111–124, 2020. doi: 10.1080/10408347.2019.1581050.
- [13] S. A. Gaballa *et al.*, “Corticosteroids in ophthalmology: drug delivery innovations, pharmacology, clinical applications, and future perspectives,” *Drug Delivery and Translational Research*, vol. 11, no. 3. pp. 866–893, 2021. doi: 10.1007/s13346-020-00843-z.
 - [14] K. Townsend, J. Laffan, and G. Hayman, “Carboxymethylcellulose excipient allergy: a case report,” *J Med Case Rep*, vol. 15, no. 1, 2021, doi: 10.1186/s13256-021-03180-y.
 - [15] I. M. Balfour-Lynn, K. Welch, and S. Smith, “Inhaled corticosteroids for cystic fibrosis,” *Cochrane Database of Systematic Reviews*, vol. 2019, no. 7. 2019. doi: 10.1002/14651858.CD001915.pub6.
 - [16] M. J. Richard, J. B. Driban, and T. E. McAlindon, “Pharmaceutical treatment of osteoarthritis,” *Osteoarthr Cartil*, vol. 31, no. 4, pp. 458–466, 2023, doi: 10.1016/j.joca.2022.11.005.
 - [17] L. Fernández-Cabezón, B. Galán, and J. L. García, “New insights on steroid biotechnology,” *Frontiers in Microbiology*, vol. 9, no. MAY. 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.00958.
 - [18] V. Pavone, A. Vescio, M. Turchetta, S. M. C. Giardina, A. Culmone, and G. Testa, “Injection-Based Management of Osteoarthritis of the Knee: A Systematic Review of Guidelines,” *Frontiers in Pharmacology*, vol. 12. 2021. doi: 10.3389/fphar.2021.661805.
 - [19] A. C. Hackney, “Chapter 4 - Glucocorticoids,” *Emerg Issues Anal Chem*, pp. 37–48, 2018.
 - [20] V. Plaza Moral *et al.*, “Discrepancies Between GEMA and GINA in the Classification of Inhaled Corticosteroids,” *Archivos de Bronconeumologia*, vol. 56, no. 7. pp. 472–473, 2020. doi: 10.1016/j.arbres.2019.10.021.
 - [21] K. M. Phillips, L. P. Hoehle, D. S. Caradonna, S. T. Gray, and A. R. Sedaghat, “Intranasal corticosteroids and saline: Usage and adherence in chronic rhinosinusitis patients,” *Laryngoscope*, vol. 130, no. 4, pp. 852–856, 2020, doi: 10.1002/lary.28152.
 - [22] K. M. Phillips *et al.*, “Validity of systemic antibiotics and systemic corticosteroid usage for chronic rhinosinusitis as metrics of disease burden,” *Rhinology*, vol. 58, no. 3, pp. 194–199, 2020, doi: 10.4193/Rhin19.248.
 - [23] G. Ge, Y. Zhang, Y. Zhang, Z. Xu, and M. Zhang, “Corticosteroids usage and central serous chorioretinopathy: a meta-analysis,” *Graefe’s Arch Clin Exp Ophthalmol*, vol. 258, no. 1, pp. 71–77, 2020, doi: 10.1007/s00417-019-04486-w.
 - [24] O. Goektas, L. Lau, and H. Olze, “Treatment of Chronic Rhinosinusitis with Pressure-Pulsed Corticosteroid Inhalation,” *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*, vol. 65, no. SUPPL2, pp. 402–405, 2013, doi: 10.1007/s12070-013-0625-y.

- [25] S. Tadesse and Z. Beyene, “Contributing factors for underutilization of inhaled corticosteroids among asthmatic patients attending at adama hospital medical college, adama, ethiopia,” *J Asthma Allergy*, vol. 13, pp. 333–341, 2020, doi: 10.2147/JAA.S264119.
- [26] P. J. Barnes, “Corticosteroid effects on cell signalling,” *European Respiratory Journal*, vol. 27, no. 2. pp. 413–426, 2006. doi: 10.1183/09031936.06.00125404.
- [27] M. Yasir, A. Goyal, and S. Sonthalia, “Corticosteroid Adverse Effects,” in *StatPearls*, 2022, pp. 3–6.
- [28] J. E. Hartmann, W. C. Albrich, M. Dmitrijeva, and C. R. Kahlert, “The Effects of Corticosteroids on the Respiratory Microbiome: A Systematic Review,” *Frontiers in Medicine*, vol. 8. 2021. doi: 10.3389/fmed.2021.588584.
- [29] E. Heffler *et al.*, “Inhaled Corticosteroids Safety and Adverse Effects in Patients with Asthma,” *J Allergy Clin Immunol Pract*, vol. 6, no. 3, pp. 776–781, 2018, doi: 10.1016/j.jaip.2018.01.025.
- [30] Y. N. Ni, G. Chen, J. Sun, B. M. Liang, and Z. A. Liang, “The effect of corticosteroids on mortality of patients with influenza pneumonia: A systematic review and meta-analysis,” *Crit Care*, vol. 23, no. 1, 2019, doi: 10.1186/s13054-019-2395-8.
- [31] T. Maes, K. Bracke, and G. G. Brusselle, “COVID-19, asthma, and inhaled corticosteroids: Another beneficial effect of inhaled corticosteroids?,” *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 202, no. 1. pp. 8–10, 2020. doi: 10.1164/rccm.202005-1651ED.
- [32] C. Pilette *et al.*, “REALITI-A Study: Real-World Oral Corticosteroid-Sparing Effect of Mepolizumab in Severe Asthma,” *J Allergy Clin Immunol Pract*, vol. 10, no. 10, pp. 2646–2656, 2022, doi: 10.1016/j.jaip.2022.05.042.
- [33] A. Brinks, B. W. Koes, A. C. Volkers, J. A. N. Verhaar, and S. M. A. Bierma-Zeinstra, “Adverse effects of extra-articular corticosteroid injections: A systematic review,” *BMC Musculoskelet Disord*, vol. 11, 2010, doi: 10.1186/1471-2474-11-206.
- [34] P. Kim-Lim *et al.*, “Systematic Review of Systemic Corticosteroid Effects on Patch Testing,” *Dermatitis*, vol. 33, no. 6. pp. 405–410, 2022. doi: 10.1097/DER.0000000000000947.
- [35] Z. Yang, J. Liu, Y. Zhou, X. Zhao, Q. Zhao, and J. Liu, “The effect of corticosteroid treatment on patients with coronavirus infection: a systematic review and meta-analysis,” *Journal of Infection*, vol. 81, no. 1. pp. e13–e20, 2020. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.062.
- [36] Y. Iimura *et al.*, “Study protocol of a single-arm phase 2 study evaluating the preventive effect of topical hydrocortisone for capecitabine-induced hand-foot syndrome in colorectal cancer patients receiving adjuvant chemotherapy with capecitabine plus oxaliplatin (T-CRACC study),” *BMC Gastroenterol*, vol. 22, no. 1, 2022, doi: 10.1186/s12876-022-02411-w.

- [37] A. Charalabidis, M. Sfouni, C. Bergström, and P. Macheras, "The Biopharmaceutics Classification System (BCS) and the Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System (BDDCS): Beyond guidelines," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 566, pp. 264–281, 2019. doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.05.041.
- [38] P. Bransford *et al.*, "ICH M9 Guideline in Development on Biopharmaceutics Classification System-Based Biowaivers: An Industrial Perspective from the IQ Consortium," *Molecular Pharmaceutics*, vol. 17, no. 2, pp. 361–372, 2020. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.9b01062.
- [39] U. . F.D.A, "The Biopharmaceutics Classification System (BCS) Guidance," *Retrieved from FDA homepage 02/11/16*, p. 2, 2016.
- [40] J. E. Hastedt *et al.*, "IBCS: 1. Principles and Framework of an Inhalation-Based Biopharmaceutics Classification System," *Mol Pharm*, 2022, doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.2c00113.
- [41] P. Bäckman *et al.*, "iBCS: 2. Mechanistic Modeling of Pulmonary Availability of Inhaled Drugs versus Critical Product Attributes," *Mol Pharm*, vol. 19, no. 7, pp. 2040–2047, 2022, doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.2c00112.
- [42] J. Nandhini and A. Rajalakshmi, "Formulation development of methylprednisolone dispersible tablets using quality by design approach," *J Drug Deliv Ther*, vol. 9, no. 1–s, pp. 229–239, 2019, doi: 10.22270/jddt.v9i1-s.2328.
- [43] J. P. ter Horst, S. L. Turimella, F. Metsers, and A. Zwieters, "Implementation of Quality by Design (QbD) Principles in Regulatory Dossiers of Medicinal Products in the European Union (EU) Between 2014 and 2019," *Ther Innov Regul Sci*, vol. 55, no. 3, pp. 583–590, 2021, doi: 10.1007/s43441-020-00254-9.
- [44] T. Waghule, N. Dabholkar, S. Gorantla, V. K. Rapalli, R. N. Saha, and G. Singhvi, "Quality by design (QbD) in the formulation and optimization of liquid crystalline nanoparticles (LCNPs): A risk based industrial approach," *Biomedicine and Pharmacotherapy*, vol. 141, 2021. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111940.
- [45] A. S. Rathore, "Quality by Design (QbD)-Based Process Development for Purification of a Biotherapeutic," *Trends in Biotechnology*, vol. 34, no. 5, pp. 358–370, 2016. doi: 10.1016/j.tibtech.2016.01.003.
- [46] B. Jayagopal and S. Muruges, "QbD-mediated RP-UPLC method development invoking an FMEA-based risk assessment to estimate nintedanib degradation products and their pathways," *Arab J Chem*, vol. 13, no. 9, pp. 7087–7103, 2020, doi: 10.1016/j.arabjc.2020.07.014.
- [47] S. H. Lee, J. K. Kim, J. P. Jee, D. J. Jang, Y. J. Park, and J. E. Kim, "Quality by Design (QbD) application for the pharmaceutical development process," *Journal of Pharmaceutical Investigation*, vol. 52, no. 6, pp. 649–682, 2022. doi: 10.1007/s40005-022-00575-x.
- [48] S. K. Branch, "Guidelines from the International Conference on

- Harmonisation (ICH),” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 38, no. 5 SPEC. ISS. pp. 798–805, 2005. doi: 10.1016/j.jpba.2005.02.037.
- [49] N. K. Garg, G. Sharma, B. Singh, P. Nirbhavane, and O. P. Katare, “Quality by design (QbD)-based development and optimization of a simple, robust RP-HPLC method for the estimation of methotrexate,” *J Liq Chromatogr Relat Technol*, vol. 38, no. 17, pp. 1629–1637, 2015, doi: 10.1080/10826076.2015.1087409.
- [50] Y. Jiang, J. P. Xia, J. H. Yang, Z. F. Zhang, C. Q. Hu, and Z. R. Zhang, “Guidelines and strategy of the International Conference of Harmonization (ICH) and its member states to overcome existing impurity control problems for antibiotics in China,” *Chin J Nat Med*, vol. 13, no. 7, pp. 498–506, 2015, doi: 10.1016/S1875-5364(15)30044-3.
- [51] P. Salmikangas, “Design and optimisation of a quality target product profile for ATMPs,” *Regul Rapp*, vol. 16, no. 6, pp. 4–137, 2019.
- [52] O. Saliy, O. Los, T. Palchevska, and K. Nebylytsia, “Implementation of the Quality by Design approach for developing the composition and the manufacturing technology of an injectable drug for intra-articular introduction,” *News Pharm*, no. 1(101), pp. 28–37, 2021, doi: 10.24959/nphj.21.44.
- [53] A. S. Patil and A. M. Pethe, “Quality by design (QbD): A new concept for development of quality pharmaceuticals,” *Int J Pharm Qual Assur*, vol. 4, no. 2, pp. 13–19, 2013.
- [54] R. Vora and Y. Shah, “Investigation of quality target process parameters (qtp) and critical material attributes (cma) of nanocellulose as a potential excipient,” *Int J Appl Pharm*, vol. 11, no. 4, pp. 386–395, 2019, doi: 10.22159/ijap.2019v11i4.33656.
- [55] Abdurrahman, P. K. Sharma, and A. Saxena, “Glances into the realm of quality by design (QBD) in pharmaceuticals,” *International Journal of Drug Development and Research*, vol. 6, no. 3, pp. 1–6, 2014.
- [56] S. Ranga, M. Jaimini, S. K. Sharma, B. S. Chauhan, and A. Kumar, “A Review on Design OF Experiments (DOE),” *Int J Pharm Chem Sci*, vol. 3, no. 1, pp. 216–224, 2014.
- [57] S. Roy, “Quality by design: A holistic concept of building quality in pharmaceuticals,” *Int J Pharm Biomed Res*, vol. 3, no. 2, pp. 100–108, 2012.
- [58] Y. M. Than and V. Titapiwatanakun, “Tailoring immediate release FDM 3D printed tablets using a quality by design (QbD) approach,” *Int J Pharm*, vol. 599, 2021, doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120402.
- [59] S. A. VanDuyse, M. J. Fulford, and M. G. Bartlett, “ICH Q10 Pharmaceutical Quality System Guidance: Understanding Its Impact on Pharmaceutical Quality,” *AAPS J*, vol. 23, no. 6, 2021, doi: 10.1208/s12248-021-00657-y.
- [60] Ich, “ICH Q10 Pharmaceutical Quality Systems,” *EPT-The Electron News/ Pharm Tech Jun*, no. May, p. 21, 2009.

- [61] European Medicines Agency (EMA), "ICH guideline Q10 on Pharmaceutical Quality System," *Eur Med Agency*, vol. 44, no. September, pp. 1–20, 2015.
- [62] EMA, "Pharmaceutical Quality System (ICH Q10)," *Management Review*, vol. 44, no. January. p. 18, 2011.
- [63] EMA, "ICH guideline Q10 on Pharmaceutical Quality System," *Eur Med Agency*, vol. 44, no. September, pp. 1–20, 2015.
- [64] F. Ich, "Système Qualité Pharmaceutique (ICH Q10)," *Ich Harmon Tripart Guidel Pharm*, pp. 1–21, 2013.
- [65] J. Pogány, "ICH pharmaceutical quality system Q10," *WHO Drug Information*, vol. 22, no. 3. pp. 177–181, 2008.
- [66] A. S. Pebriani, S. Megantara, and R. Wijayanti, "Tinjauan Critical Quality Attributes (Cqa) dan Critical Process Parameter (Cpp) Sebagai Bagian dari Pendekatan Quality by Design dalam Proses Pengembangan Tablet Salut Selaput Film," *Maj Farmasetika*, vol. 7, no. 4, p. 255, 2022, doi: 10.24198/mfarmasetika.v7i4.38841.
- [67] M. A. Azad *et al.*, "Impact of Critical Material Attributes (CMAs)-Particle Shape on Miniature Pharmaceutical Unit Operations," *AAPS PharmSciTech*, vol. 22, no. 3, 2021, doi: 10.1208/s12249-020-01915-6.
- [68] J. B. Jadhav, N. Namdeogirawale, and R. A. Chaudhari, "Quality by Design (QBD) Approach used in Development of Pharmaceuticals," *Int J Pure Appl Biosci*, vol. 2, no. 5, pp. 214–223, 2014.
- [69] I. M. Fukuda, C. F. F. Pinto, C. D. S. Moreira, A. M. Saviano, and F. R. Lourenço, "Design of experiments (DoE) applied to pharmaceutical and analytical quality by design (QbD)," *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 54, no. Special Issue. 2018. doi: 10.1590/s2175-97902018000001006.
- [70] A. Jankovic, G. Chaudhary, and F. Goia, "Designing the design of experiments (DOE) – An investigation on the influence of different factorial designs on the characterization of complex systems," *Energy Build*, vol. 250, 2021, doi: 10.1016/j.enbuild.2021.111298.
- [71] S. N. Politis, P. Colombo, G. Colombo, and D. M. Rekkas, "Design of experiments (DoE) in pharmaceutical development," *Drug Development and Industrial Pharmacy*, vol. 43, no. 6. pp. 889–901, 2017. doi: 10.1080/03639045.2017.1291672.
- [72] SARTORIUS, "What is DOE? Design of Experiments Basics for Beginners," *Sartorius*. 2020.
- [73] S. A. Weissman and N. G. Anderson, "Design of Experiments (DoE) and Process Optimization. A Review of Recent Publications," *Org Process Res Dev*, vol. 19, no. 11, pp. 1605–1633, 2015, doi: 10.1021/op500169m.
- [74] M. Tavares Luiz *et al.*, "Design of experiments (DoE) to develop and to optimize nanoparticles as drug delivery systems," *Eur J Pharm Biopharm*, vol. 165, pp. 127–148, 2021, doi: 10.1016/j.ejpb.2021.05.011.

- [75] B. I. A. Muttaqin, "Telaah Kajian dan Literature Review Design of Experiment (DoE)," *J Adv Inf Ind Technol*, vol. 1, no. 1, pp. 33–40, 2019, doi: 10.52435/jaiit.v1i1.10.
- [76] D. Lendrem, M. Owen, and S. Godbert, "DOE (design of experiments) in development chemistry: Potential obstacles," *Org Process Res Dev*, vol. 5, no. 3, pp. 324–327, 2001, doi: 10.1021/op000025i.
- [77] K. Jindal and M. Goswami, "Significance of design of experiments (DoE) in pharmaceutical sciences: A brief review," *Annals of Tropical Medicine and Public Health*, vol. 23, no. 15. 2020. doi: 10.36295/ASRO.2020.231537.
- [78] L. Chen, Z. Liu, P. Sun, and W. Huo, "Formulation of a fuel spray SMD model at atmospheric pressure using Design of Experiments (DoE)," *Fuel*, vol. 153, pp. 355–360, 2015, doi: 10.1016/j.fuel.2015.03.013.
- [79] P. M. Murray, F. Bellany, L. Benhamou, D. K. Bučar, A. B. Tabor, and T. D. Sheppard, "The application of design of experiments (DoE) reaction optimisation and solvent selection in the development of new synthetic chemistry," *Organic and Biomolecular Chemistry*, vol. 14, no. 8. pp. 2373–2384, 2016. doi: 10.1039/c5ob01892g.
- [80] D. N. Carvalho *et al.*, "A Design of Experiments (DoE) Approach to Optimize Cryogel Manufacturing for Tissue Engineering Applications," *Polymers (Basel)*, vol. 14, no. 10, 2022, doi: 10.3390/polym14102026.
- [81] M. Barad, "Design of experiments (DOE)," in *SpringerBriefs in Applied Sciences and Technology*, no. 9783319683997, 2018, pp. 61–79. doi: 10.1007/978-3-319-68400-0_4.
- [82] P. Mishra, U. Singh, C. M. Pandey, P. Mishra, and G. Pandey, "Application of student's t-test, analysis of variance, and covariance," *Ann Card Anaesth*, vol. 22, no. 4, pp. 407–411, 2019, doi: 10.4103/aca.ACA-94-19.
- [83] C. Ricotta, S. Pavoine, B. E. L. Cerabolini, and V. D. Pillar, "A new method for indicator species analysis in the framework of multivariate analysis of variance," *J Veg Sci*, vol. 32, no. 2, 2021, doi: 10.1111/jvs.13013.
- [84] A. Balaram Naik and A. Chennakeshava Reddy, "Optimization of tensile strength in TIG welding using the Taguchi method and analysis of variance (ANOVA)," *Therm Sci Eng Prog*, vol. 8, pp. 327–339, 2018, doi: 10.1016/j.tsep.2018.08.005.
- [85] R. A. Armstrong, F. Eperjesi, and B. Gilmartin, "The application of analysis of variance (ANOVA) to different experimental designs in optometry," *Ophthalmic and Physiological Optics*, vol. 22, no. 3. pp. 248–256, 2002. doi: 10.1046/j.1475-1313.2002.00020.x.
- [86] H. T. Abd El-Hamid, A. E. AlProl, and M. A. Hafiz, "The efficiency of adsorption modelling and Plackett-Burman design for remediation of crystal violet by *Sargassum latifolium*," *Biocatal Agric Biotechnol*, vol. 44, 2022, doi: 10.1016/j.bcab.2022.102459.
- [87] A. V. Filgueiras, J. Gago, I. García, V. M. León, and L. Viñas, "Plackett Burman design for microplastics quantification in marine sediments," *Mar*

Pollut Bull, vol. 162, 2021, doi: 10.1016/j.marpolbul.2020.111841.

- [88] V. D. Ramani, G. K. Jani, and G. U. Sailor, "Application of Plackett-Burman design for screening of factors affecting pitavastatin nanoparticle formulation development," *Folia Med (Plovdiv)*, vol. 63, no. 5, pp. 775–785, 2021, doi: 10.3897/folmed.63.e58174.
- [89] E. S. Purnamasari, L. Septiana, A. Hardianto, U. M. S. Soedjanaatmadja, A. Anggraeni, and H. H. Bahti, "Selection of the Parameters in the Synthesis of Ethylenediamine-Folate Using the Plackett Burman Design," *Indones J Chem*, vol. 22, no. 3, pp. 599–608, 2022, doi: 10.22146/ijc.68313.
- [90] H. Veeranna, S. Dinta, P. Juvvi, B. S. Roopa, K. Venkatesh Murthy, and R. Chetana, "Functional hard-boiled candy formulation employing Plackett Burman design," *Indian J Tradit Knowl*, vol. 20, no. 1, pp. 230–236, 2021, doi: 10.56042/IJTK.V20I1.28833.
- [91] P. Benjasirimongkol, S. Piriyaprasarth, K. Moribe, and P. Sriamornsak, "Use of Risk Assessment and Plackett–Burman Design for Developing Resveratrol Spray-Dried Emulsions: a Quality-by-Design Approach," *AAPS PharmSciTech*, vol. 20, no. 1, 2019, doi: 10.1208/s12249-018-1220-z.
- [92] A. Venkata Narayana *et al.*, "Plackett-burman design for screening of fermentation process parameters and their effects on l-methionine production," *Curr Trends Biotechnol Pharm*, vol. 14, no. 2, pp. 182–189, 2020, doi: 10.5530/ctbp.2020.2.19.
- [93] P. Z. Korondi, M. Marchi, and C. Poloni, "Response surface methodology," in *Optimization Under Uncertainty with Applications to Aerospace Engineering*, 2021, pp. 387–409. doi: 10.1007/978-3-030-60166-9_12.
- [94] W. Y. I. Wan Azizee and N. A. Tahrim, "Optimization of Sulfamethoxazole Removal by Surface Reaction Method using Face Centered Composite Design," *Sains Malaysiana*, vol. 51, no. 12, pp. 3995–4008, 2022, doi: 10.17576/jsm-2022-5112-10.
- [95] S. L. C. Ferreira *et al.*, "Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods," *Analytica Chimica Acta*, vol. 597, no. 2, pp. 179–186, 2007. doi: 10.1016/j.aca.2007.07.011.
- [96] M. Agrawal *et al.*, "Design and optimization of curcumin loaded nano lipid carrier system using Box-Behnken design," *Biomed Pharmacother*, vol. 141, 2021, doi: 10.1016/j.biopha.2021.111919.
- [97] S. M. El-Sheikh, A. Barhoum, S. El-Sherbiny, F. Morsy, A. A. H. El-Midany, and H. Rahier, "Preparation of superhydrophobic nanocalcite crystals using Box–Behnken design," *Arab J Chem*, vol. 12, no. 7, pp. 1479–1486, 2019, doi: 10.1016/j.arabjc.2014.11.003.
- [98] X. Chen, J. Ding, D. Ji, S. He, and H. Ma, "Optimization of ultrasonic-assisted extraction conditions for bioactive components from coffee leaves using the Taguchi design and response surface methodology," *J Food Sci*, vol. 85, no. 6, pp. 1742–1751, 2020, doi: 10.1111/1750-3841.15111.
- [99] J. D. Kechagias, K. E. Aslani, N. A. Fountas, N. M. Vaxevanidis, and D. E.

- Manolakos, “A comparative investigation of Taguchi and full factorial design for machinability prediction in turning of a titanium alloy,” *Meas J Int Meas Confed*, vol. 151, 2020, doi: 10.1016/j.measurement.2019.107213.
- [100] V. Zulfia, M. Ainuri, N. Khuriyati, R. Yusuf, A. S. Alim, and U. Pato, “Optimizing of the Parameters of Coconut Sugar Production Using Taguchi Design in Riau, Indonesia,” *Int J Adv Sci Eng Inf Technol*, vol. 12, no. 2, pp. 398–403, 2022, doi: 10.18517/ijaseit.12.2.15684.
- [101] Q. M. Rowe RC, Sheskey PJ, “Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6th ed. Pharmaceutical Press and American Pharmacist Association,” *Rev des Nouv Technol l’Information*, vol. E.28, p. 242,283,488,651, 2009.
- [102] R. C. Rowe, “Handbook of Pharmaceutical Excipients e-book Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.,” *Rev des Nouv Technol l’Information*, vol. E.28, p. 328, 2006.
- [103] X. Ding *et al.*, “Differentiated Caco-2 cell models in food-intestine interaction study: Current applications and future trends,” *Trends in Food Science and Technology*, vol. 107, pp. 455–465, 2021. doi: 10.1016/j.tifs.2020.11.015.
- [104] J. Qiu, J. Zhang, and A. Li, “Cytotoxicity and intestinal permeability of phycotoxins assessed by the human Caco-2 cell model,” *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 249, 2023, doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.114447.
- [105] L. Yan *et al.*, “Polystyrene nanoplastics promote the apoptosis in Caco-2 cells induced by okadaic acid more than microplastics,” *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 249, 2023, doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.114375.
- [106] M. Saiz-Rodríguez *et al.*, “Effect of the most relevant CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms on the pharmacokinetic parameters of 10 CYP3A substrates,” *Biomedicines*, vol. 8, no. 4, 2020, doi: 10.3390/biomedicines8040094.
- [107] M. Kondža, M. Bojić, I. Tomić, Ž. Maleš, V. Rezić, and I. Ćavar, “Characterization of the cyp3a4 enzyme inhibition potential of selected flavonoids,” *Molecules*, vol. 26, no. 10, 2021, doi: 10.3390/molecules26103018.
- [108] X. yun Liu *et al.*, “Alflutinib (AST2818), primarily metabolized by CYP3A4, is a potent CYP3A4 inducer,” *Acta Pharmacol Sin*, vol. 41, no. 10, pp. 1366–1376, 2020, doi: 10.1038/s41401-020-0389-3.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. E. Koc and R.C. Koc, “Methylprednisolone 100 mg tablet formulation with pea protein: experimental approaches over intestinal permeability and cytotoxicity,” 3.International Congress of Engineering and Natural Sciences Studies, 24 -25 May 2023, Ankara

Makaleler

1. E.Koc, F. Ciftci, H. Calik, S. Korkmaz, and R. C. Koc, “Methylprednisolone 100 mg tablet formulation with pea protein: experimental approaches over intestinal permeability and cytotoxicity,” *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 2023, doi: 10.1080/03639045.2023.2234984.