

MURAT MUHİBBİ
IŞIK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS
TEZİ

İSTANBUL-2019

Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak

Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak.

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

Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**ANTIENFLAMATUVAR VE KAS GEVŞETİCİ ETKEN MADDE
KOMBİNASYONU İÇEREN TOPIKAL EMÜLJEL DOZAJ
FORMU ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR**

MURAT MUHİBBİ IŞIK

**DANIŞMAN
DOÇ.DR. SEDEF ERDAL**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Farmasötik Teknoloji Programında Yüksek Lisans öğrencisi Murat Muhibbi IŞIK tarafından, Doç. Dr. M. Sedef ERDAL'ın danışmanlığında hazırlanan "Antienflamatuvar ve Kas Gevşetici Etken Madde Kombinasyonu İçeren Topikal Emüljel Dozaj Formu Üzerinde Araştırmalar" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 22/08/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Yıldız ÖZSOY
İstanbul Üniversitesi,
Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Teknoloji
Anabilim Dalı

Jüri-Danışman

Doç. Dr. M. Sedef ERDAL
İstanbul Üniversitesi,
Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Teknoloji
Anabilim Dalı

Jüri

Doç. Dr. Buket AKSU
Altınbaş Üniversitesi,
Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Teknoloji
Anabilim Dalı

BEYAN

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

Murat Muhibbi IŞIK

(İmza)



İTHAF

Oğluma, Eşime ve Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam boyunca tezimin yönetilmesi ve çalışmalarımın yönlendirilmesinde her zaman gösterdiği yakın ilgi, destek ve yardımlarından dolayı, bilimsel bakış açısıyla vizyonumu genişleten sabrı, güler yüzü ve hoşgörüsüyle manevi desteğini her zaman hissettiğim sevgili danışman hocam Sayın **Doç. Dr. M. Sedef Erdal**'a;

Yardım ve desteklerinden dolayı Eczacılık Fakültesi Dekanı Sayın **Prof. Dr. Erdal Cevher**'e ve Eczacılık Teknolojisi Bölümü ve Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. Ahmet Araman**'a

Yüksek lisans tez çalışmam sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, lisans üstü öğrenim hayatım boyunca gösterdiği samimiyet ve yardımlarından dolayı Sayın **Prof. Dr. Yıldız Özsoy-Erginer**'e ve birçok konuda bana yardımcı olan Sayın **Prof. Dr. Sevgi Güngör** ile Farmasötik Teknoloji A.B.D diğer öğretim görevlisi ve akademisyenlere

Yüksek lisans tez çalışmalarım sırasında sağladığı imkân ve izinler ile bana kolaylık sağlayan Sayın Pharmactive İlaç Genel Müdürü **Fatih Elay** ve **Sancak Ailesi**'ne, Pharmactive İlaç'ta çalıştığım sürece bana destek olan tüm Ar-Ge yöneticileri ve ekip arkadaşlarıma,

Beni hem bilimsel hem de manevi olarak destekleyen Ali Raif İlaç Ar-Ge Merkezi Direktörü **Prof. Dr. Serdar Ünlü**'ye ile tez yazımda bana yardımcı Ali Raif İlaç Ar-Ge Merkezi çalışma arkadaşlarıma

Son olarak, özellikle zor günlerimde hoşgörü ve sevgileriyle her anımda bana destek olan **Eşime** ve **Aileme** teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Xİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	XVİİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XX
ÖZET	XXİİİ
ABSTRACT.....	XXİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Deri Hakkında Genel Bilgiler	5
2.1.1. Derinin Yapısı ve Genel Özellikleri.....	5
2.1.2. Derinin Tabakaları	5
2.1.2.1. Epidermis	5
2.1.2.2. Dermis	8
2.1.2.3. Hipodermis	8
2.1.3. Deriden Geçiş (Permeasyon)	9
2.1.3.1. Deriden Geçiş Yolları	9
2.1.3.2. Etkin Maddelerin Deriden Geçişini Etkileyen Faktörler	11
2.2. Topikal Uygulanan Dozaj Formları ve Jeller Hakkında Genel Bilgiler	14
2.2.1. Jellerin Tanımı ve Özellikleri	17
2.2.2. Jel formülasyonlarında yapılan testler	21
2.2.3. Emüljel yapısı	22
2.3. Topikal Uygulanan Antienflamatuvar ve Kas Gevşetici İlaçlar Hakkında Genel Bilgiler.....	22
2.3.1. NSAİ İlaçlar Hakkında Genel Bilgiler.....	23
2.3.2. Kas Gevşeticiler Hakkında Genel Bilgiler.....	23
2.3.3. Diklofenak Hakkında Genel Bilgiler	24
2.3.3.1. Diklofenak'ın Tanımı ve Tarihçesi	24

2.3.3.2. Diklofenak Dietilamonyum'un Yapısı ve Özellikleri	24
2.3.3.3. Diklofenak Dietilamonyumun Farmakodinamik Özellikleri	25
2.3.3.4. Diklofenak Dietilamonyumun Farmakokinetik Özellikler	26
2.3.3.5. Diklofenak Dietilamonyum İçeren İlaç Ürünleri	27
2.3.4. Tiyokolşikozit Hakkında Genel Bilgiler	28
2.3.4.1. Tiyokolşikozit'in Tanımı ve Tarihçesi	28
2.3.4.2. Tiyokolşikozitin Farmakodinamik Özellikleri	29
2.3.4.3. Tiyokolşikozitin Farmakokinetik Özellikleri	30
2.3.4.4. Tiyokolşikozit İçeren Müstahzarlar	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. Formülasyon Gelitirme, Analitik Validasyon, <i>in vitro</i> Salım Testi ve Proses Validasyonda Kullanılan Malzemeler ve Gereçler	32
3.2. Formülasyon Çalışmaları	34
3.2.1. Etkin Maddeye Ait Fiziksel Özellikler	34
3.2.1.1. Diklofenak Dietilamonyum Tanıma	34
3.2.1.2. Tiyokolşikozit Tanıma	34
3.2.2. Etkin Maddelerin Miktar Tayini Analizi ve Yöntemi	35
3.2.2.1. Diklofenak Dietilamonyum Tayini	35
3.2.2.2. Tiyokolşikozit Tayini	35
3.2.3. Etkin Maddelerin İlgili Bileşikler (Safsızlık) Analizi ve Yöntemi	37
3.2.3.1. Diklofenak Dietilamonyum Safsızlık Tayini	37
3.2.3.2. Tiyokolikozit Safsızlık Tayini	39
3.2.4. Referans Ürünlerin Bileşimi ve Analizleri	43
3.2.5. Etkin Maddelerin Yardımcı Maddelerle Geçimlilik Çalışmaları	45
3.2.6. Formülasyonda Yer Alan Yardımcı Maddeler	45
3.3. Bitmiş Ürün Miktar Tayini Analitik Metot Validasyon Çalışmaları	48
3.3.1. Doğruluk (<i>Accuracy</i>)	48
3.3.2. Kesinlik (<i>Precision</i>)	50
3.3.2.1. Yöntem Kesinliği (<i>Repeteability</i>)	50
3.3.2.2. Laboratuvar İçi Kesinlik (<i>Intermediate Precision</i>)	50
3.3.2.3. Sistem Uygunluk (<i>System Suitability</i>)	51
3.3.3. Spesifiklik (<i>Specifity</i>)	51
3.3.4. Doğrusallık (<i>Linearity</i>)	54

3.3.5. Uygulama Aralığı (<i>Range</i>).....	55
3.3.6. Sağlamlık (<i>Robustness</i>).....	56
3.3.6.1. Çözelti Stabilitesi	56
3.4. Bitmiş Ürün Safsızlıkları Analitik Metot Validasyon Çalışmaları.....	56
3.4.1. Doğruluk (<i>Accuracy</i>).....	56
3.4.2. Kesinlik (<i>Precision</i>)	59
3.4.2.1. Yöntem Kesinliği (<i>Repeatability</i>)	59
3.4.2.2. Laboratuvar İçi Kesinlik (<i>Intermediate Precision</i>)	59
3.4.2.3. Sistem Uygunluk (<i>System Suitability</i>).....	60
3.4.3. Spesifiklik (<i>Specificity</i>)	60
3.4.4. Doğrusallık (<i>Linearity</i>)	63
3.4.5. Tespit Limiti (<i>Limit of Detection=LOD</i>)	67
3.4.6. Hesaplanabilirlik Limiti (<i>Limit of Quantitation=LOQ</i>).....	68
3.4.7. Uygulama Aralığı (<i>Range</i>).....	68
3.4.8. Sağlamlık (<i>Robustness</i>).....	68
3.4.8.1. Çözelti Stabilitesi	68
3.5. Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar	70
3.6. Bitmiş Ürün Spesifikasyonları Üzerine Yapılan Çalışmalar	72
3.7. Proses İçi Kontrol ve Bitmiş Ürün Analiz Metotları	74
3.7.1. Görünüm	74
3.7.2. pH.....	74
3.7.3. Tanıma (YBSK)	74
3.7.4. Viskozite	75
3.7.5. Ortalama Dolum Ağırlığı	75
3.7.6. Miktar Tayini	75
3.7.7. Safsızlık Tayini (İmpürite).....	78
3.7.8. Mikrobiyolojik Kontroller.....	83
3.7.9. Sızdırmazlık (IPK Analizi)	83
3.8. Pilot Üretim Proses Validasyonu Çalışmaları	83
3.8.1. Kritik ve Kritik Olmayan Parametrelerin Değerlendirilmesi.....	84
3.8.2. IPK, Rutin ve Validasyon Testleri Spesifikasyonları	85
3.8.3. Bitmiş Ürün (Serbest Bırakma) Spesifikasyonları.....	86
3.8.4. Numune Alma Planı.....	87

3.9. Pilot Üretim Stabilité Çalışmaları.....	88
3.10. Etken Maddelerin <i>in vitro</i> İlaç Salım Çalışması.....	89
4. BULGULAR.....	91
4.1. Etken Maddelere Ait Fiziksel ve Kimyasal Özelliklere ait Bulgular	91
4.1.1. Diklofenak Dietilamonyum Tanıma	91
4.1.2. Tiyokolşikozit Tanıma	93
4.2. Etken Maddelerin Miktar Tayinine Ait Bulgular	95
4.2.1. Diklofenak Dietilamonyum Sonuçları	95
4.2.2. Tiyokolşikozit Sonuçları	95
4.3. Etken Madde İlgili Bileşikler (Safsızlık) Analizine Ait Bulgular	96
4.3.1. Diklofenak Safsızlık Sonuçları	96
4.3.2. Tiyokolşikozit Safsızlık Sonuçları	96
4.3.3. Referans Ürünlerin Bileşimi ve Analize ait Bulgular	97
4.3.4. Geçimlilik Çalışmalarına ait Bulgular.....	98
4.4. Bitmiş Ürün Miktar Tayini Analitik Metot Validasyon Çalışmalarına Ait Bulgular.....	99
4.4.1. Doğruluk	99
4.4.2. Kesinlik	101
4.4.2.1. Yöntem Kesinliği	101
4.4.2.2. Laboratuvar İçi Kesinlik	102
4.4.2.3. Sistem Uygunluk.....	103
4.4.3. Spesifiklik (Specifity)	104
4.4.4. Doğrusallık.....	105
4.4.5. Uygulama Aralığı.....	107
4.4.6. Sağlamlık	107
4.4.6.1. Çözelti Stabilitesi	107
4.5. Bitmiş Ürün Safsızlıkları (İmpürite) Analitik Metot Validasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	109
4.5.1. Doğruluk	109
4.5.2. Kesinlik	111
4.5.2.1. Yöntem Kesinliği	111
4.5.2.2. Laboratuvar İçi Kesinlik	111
4.5.2.3. Sistem Uygunluk.....	112

4.5.3. Spesifiklik	112
4.5.4. Doğrusallık.....	114
4.5.6. Tespit Limiti.....	121
4.5.7. Hesaplanabilirlik Limiti	121
4.5.8. Uygulama Aralığı.....	121
4.5.9. Sağlamlık	123
4.5.9.1. Çözelti Stabilesi	123
4.6. Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular.....	124
4.6.1. Formülasyon Deneme Çalışmaları Bulguları.....	124
4.6.2. Optimize Edilmiş Formülasyon	126
4.7. Pilot Üretim Proses Validasyonuna Ait Bulgular	129
4.8. Pilot Üretim Serileri İn-Proses ve Bitmiş Ürün Analizlerine Ait Bulgular.....	130
4.9. Pilot Üretim Stabille Çalışmalarına Ait Bulguları.....	135
4.10. Etkin Maddelerin <i>in vitro</i> İlaç Salım Çalışması Bulguları.....	139
5. TARTIŞMA	141
KAYNAKLAR	148
HAM VERİLER	159
FORMLAR	160
ETİK KURUL KARARI	161
PATENT HAKKI İZNİ	162
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	163
ÖZGEÇMİŞ	164

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Topikal dozaj formlarında başlıca formülasyon bileşenleri.....	16
Tablo 2-2 Jel oluşturunucu ajanların sınıflandırılması	19
Tablo 2-3: Türkiye’de Diklofenak içeren topikal müstahzarları	27
Tablo 2-4: Türkiye’de Tiyokolşikozit içeren topikal müstahzarları	31
Tablo 3-1 - Diklofenak Dietilamonyum içeren referans ürün Voltaren Emulgel %1 kalitatif içeriği.....	44
Tablo 3-2 - Tiyokolşikozit içeren referans ürün Muscoril® merhem %0,25 kalitatif içeriği	44
Tablo 3-3 – Referans ürün Voltaren Emulgel ile geliştirilen formülasyonun karşılaştırmalı içeriği	45
Tablo 3-4: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 emüljel’ formülasyon çalışmalarında kullanılacak çözücüler ile yapılan geçimlilik çalışması	46
Tablo 3-5: Formülasyon deneme çalışmaları kavramsal tasarımı	70
Tablo 3-6 - Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyon denemeleri (1/2).....	72
Tablo 3-7 - Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyon denemeleri (2/2).....	72
Tablo 3-8: Formülasyon geliştirme sırasında yapılan kontrollerin değerlendirmesi.....	74
Tablo 3-9: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel prosesi için kritik ve kritik olmayan parametrelerin değerlendirilmesi	84
Tablo 3-10: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel’e ait IPK, rutin ve validasyon testleri spesifikasyonları.....	85
Tablo 3-11: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel’ e ait Bitmiş Ürün (Serbest Bırakma) Spesifikasyonları.....	86
Tablo 3-12: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel’e ait numune alma planı.....	87

Tablo 3-13: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Bitmiş Ürün Raf Ömrü Spesifikasyonları	88
Tablo 3-14: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Stabilitesi Test Edilen Seriler	89
Tablo 3-15: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Stabilité Periyotları ve Koşulları	89
Tablo 3-16: <i>in vitro</i> permeasyon çalışma tasarımı ve numune bilgisi	90
Tablo 4-1: Diklofenak Dietilamonyum hammaddede yapılan etken maddesi miktar tayini analiz sonuçları	95
Tablo 4-2: Bitmiş ürünlere yürütülen Diklofenak Dietilamonyum Miktar Tayini Sonuçları	95
Tablo 4-3: Tiyokolşikozit hammaddede yapılan miktar tayini analiz sonuçları	95
Tablo 4-4 - Bitmiş ürünlere yürütülen Tiyokolşikozit miktar tayini sonuçları	95
Tablo 4-5 –Diklofenak Dietilamonyum hammaddede yapılan safsızlık analizi sonuçları	96
Tablo 4-6: Bitmiş ürünlere yürütülen Diklofenak Dietilamonyum safsızlık analizi sonuçları	96
Tablo 4-7: Tiyokolşikozit hammaddede yapılan safsızlık analizi sonuçları	96
Tablo 4-8: Bitmiş ürünlere yürütülen Tiyokolşikozit safsızlık analizi sonuçları	97
Tablo 4-9: Voltaren Emulgel (Diklofenak Dietilamonyum) %1 analiz sonuçları	97
Tablo 4-10 - Muscoril (Tiyokolşikozit) Merhem %0,25 Analiz Sonuçları	98
Tablo 4-11 - Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel' formülasyon çalışmalarında kullanılacak çözücüler ile yapılan geçimlilik çalışması bulguları	98
Tablo 4-12: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel ürününde diklofenak dietilamonyum geri kazanım sonuçları	99
Tablo 4-13: Her bir Diklofenak Dietilamonyum konsantrasyonu seviyesindeki geri kazanım ortalama sonuçlarının değerlendirilmesi	99

Tablo 4-14: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel ürününde tiyokolşikozit geri kazanım sonuçları	100
Tablo 4-15: Her bir Tiyokolşikozit derişimi seviyesindeki geri kazanım ortalama sonuçlarının değerdendirilmesi.....	100
Tablo 4-16: Diklofenak Dietilamonyum %1,16/ Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel'de Diklofenak Dietilamonyum için miktar tayini yöntem kesinliğı sonuçları	101
Tablo 4-17: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel'de Tiyokolşikozit miktar tayini yöntem kesinliğı sonuçları	101
Tablo 4-18: Diklofenak Dietilamonyum %1,16/ Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Diklofenak Sodyum için miktar tayini laboratuvar içi kesinlik sonuçları (1.gün)	102
Tablo 4-19: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Tiyokolşikozit için miktar tayini laboratuvar içi kesinlik sonuçları (3.gün)	102
Tablo 4-20: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Diklofenak Sodyum için analist 1 ve 2'nin miktar tayini ortalama sonuçları	102
Tablo 4-21: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Tiyokolşikozit için 1. ve 3. günde miktar tayini ortalama sonuçları	102
Tablo 4-22: Diklofenak için sistem uygunluk sonuçları.....	103
Tablo 4-23: Tiyokolşikozit için sistem uygunluk sonuçları	103
Tablo 4-24: Spesifiklik testi Diklofenak Dietilamonyum filtre etkisi için sonuç tablosu	104
Tablo 4-25: Spesifiklik testi Tiyokolşikozit filtre etkisi için sonuç tablosu	104
Tablo 4-26: Spesifiklik testi Diklofenak pik tanımlaması, kör ve plasebo etkisi için sonuç tablosu.....	104
Tablo 4-27 - Spesifiklik testi Tiyokolşikozit pik tanımlaması, kör ve plasebo etkisi için sonuç tablosu.....	104
Tablo 4-28: Diklofenak (Sodyum) miktar tayini yöntem validasyonu için doğrusallık sonuçları.....	105
Tablo 4-29: Tiyokolşikozit miktar tayini yöntem validasyonu için doğrusallık sonuçları	106

Tablo 4-30: Diklofenak (Sodyum) doğrusallık kabul kriterleri değerlendirmesi	106
Tablo 4-31: Tiyokolşikozit doğrusallık kabul kriterleri değerlendirmesi.....	106
Tablo 4-32: Diklofenak Dietilamonyum için uygulama aralığı tablosu	107
Tablo 4-33: Tiyokolşikozit için uygulama aralığı tablosu.....	107
Tablo 4-34: Diklofenak (Sodyum) için çözelti stabilitesi (standart)	108
Tablo 4-35: Diklofenak (Dietilamonyum) için çözelti stabilitesi (numune)	108
Tablo 4-36: Tiyokolşikozit için çözelti stabilitesi (standart)	108
Tablo 4-37: Tiyokolşikozit için çözelti stabilitesi (numune).....	108
Tablo 4-38: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit % 0.25 Emüljel Diklofenak Safsızlık A geri kazanım sonuçları	109
Tablo 4-39: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit % 0.25 Emüljel Diklofenak Dietilamonyum Geri Kazanım Sonuçları	109
Tablo 4-40: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit % 0.25 Emüljel bitmiş ürününde Tiyokolşikozit geri kazanım sonuçları.....	110
Tablo 4-41: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit % 0.25 Emüljel bitmiş ürününde Kolşikozit safsızlığı geri kazanım sonuçları.....	110
Tablo 4-42: Diklofenak Sodyum %1 & Tiyokolşikozit %0.25 Emüljel bitmiş ürününde Kolşisin safsızlığı geri kazanım sonuçları	110
Tablo 4-43: Safsızlık tayini yöntem kesinliği sonuçları	111
Tablo 4-44: Safsızlık tayini laboratuvar içi kesinlik sonuçları	111
Tablo 4-45: Farklı günlerde safsızlık tayini kesinlik ve laboratuvar içi kesinlik çalışması ortalama sonuçları.....	111
Tablo 4-46: Safsızlık parametresinde sistem uygunluk sonuçları	112
Tablo 4-47: <i>Spiked</i> numune çözeltisi için Nylon filtre etkisi sonuçları.....	113
Tablo 4-48: <i>Spiked</i> numune çözeltisi için Rejenere Selüloz (RC) filtre etkisi sonuçları	113
Tablo 4-49: Standart çözeltisi için Nylon ve RC filtre etkisi sonuçları	114

Tablo 4-50: Seçicilik validasyon parametresi sonuçları özet tablosu.....	114
Tablo 4-51: Safsızlık yöntem validasyonunda Tiyokolşikozit doğrusallık parametresi sonuçları.....	116
Tablo 4-52: Safsızlık yöntem validasyonunda Kolşikozit doğrusallık parametresi sonuçları.....	116
Tablo 4-53: Safsızlık Yöntem Validasyonunda Kolşisin Doğrusallık Parametresi Sonuçları.....	117
Tablo 4-54: Safsızlık yöntem validasyonunda Diklofenak Safsızlık A doğrusallık parametresi sonuçları	118
Tablo 4-55: Safsızlık yöntem validasyonunda Diklofenak Sodyum doğrusallık parametresi sonuçları	118
Tablo 4-56: Bağlı cevap katsayısı ve düzeltme faktörü.....	119
Tablo 4-57: Tespit limiti (LOD) tablosu.....	121
Tablo 4-58: Hesaplanabilirlik limiti (LOQ) sinyal/ gürültü sonuçları.....	121
Tablo 4-59: Tiyokolşikozit için uygulama aralığı	121
Tablo 4-60: Kolşikozit için uygulama aralığı.....	122
Tablo 4-61: Kolşisin için uygulama aralığı	122
Tablo 4-62: Diklofenak Safsızlık A için uygulama aralığı.....	122
Tablo 4-63: Diklofenak Sodyum için uygulama aralığı	122
Tablo 4-64: Tiyokolşikozit standart çözeltisinin çözelti stabilitesi sonuçları (10°C)...	123
Tablo 4-65: Diklofenak (Sodyum) standart çözeltisinin çözelti stabilitesi sonuçları (10°C)	123
Tablo 4-66: Kolşikozit için çözelti stabilitesi sonuçları (10°C)	123
Tablo 4-67: Kolşisin için çözelti stabilitesi sonuçları (10°C).....	124
Tablo 4-68: Diklofenak Safsızlık A için çözelti stabilitesi sonuçları (10°C)	124
Tablo 4-69 - Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyon denemeleri ve sonuçları (1/2)	124

Tablo 4-70 - Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyon denemeleri ve sonuçları (2/2)	125
Tablo 4-71 - Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel'e ait DT1310D010 serisinin kimyasal stabilite analiz sonuçları	126
Tablo 4-72:- Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel'e ait nihai formülasyon	126
Tablo 4-73: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel (Seri no: DT424001 ve DT424002) ile Voltaren Emulgel (Seri no:152053) ve Muscoril Merhem %0.25 (Seri no: 001012)'in fiziksel ve kimyasal özelliklerinin kıyaslanması	128
Tablo 4-74: Diklofenak Dietilamonyum %1,16/ Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel üretimi için proses parametreleri	130
Tablo 4-75: Operasyon-4 pH sonuçları	130
Tablo 4-76: Operasyon 9: karıştırma görünüm sonuçları	130
Tablo 4-77: Operasyon 9: pH sonuçları	131
Tablo 4-78: Operasyon-9 viskozite sonuçları	131
Tablo 4-79: Operasyon-9 Diklofenak (Dietilamonyum) miktar tayini sonuçları	131
Tablo 4-80: Operasyon-9 Tiyokolşikozit miktar tayini sonuçları	131
Tablo 4-81: Operasyon-9 tanıma sonuçları	131
Tablo 4-82: Operasyon-9 mikrobiyolojik kontroller sonuçları	132
Tablo 4-83: Operasyon -10 görünüm sonuçları	132
Tablo 4-84: Operasyon -10 pH sonuçları	132
Tablo 4-85: Operasyon -10 viskozite sonuçları	132
Tablo 4-86: Operasyon -10 diklofenak miktar tayini sonuçları	132
Tablo 4-87: Operasyon -10 Tiyokolşikozit miktar tayini sonuçları	133
Tablo 4-88: Operasyon -10 ortalama dolum ağırlığı sonuçları	133
Tablo 4-89: Operasyon -10 sızdırmazlık sonuçları	133
Tablo 4-90: Operasyon -10 tanıma (HPLC) sonuçları	133

Tablo 4-91: Operasyon -10 Diklofenak safsızlık tayini sonuçları.....	133
Tablo 4-92: Operasyon -10 Tiyokolşikozit safsızlık tayini sonuçları.....	134
Tablo 4-93: Operasyon -10 mikrobiyolojik kontroller sonuçları.....	134
Tablo 4-94: DT424001 numaralı seriye ait pilot üretim “hızlandırılmış” stabilite sonuçları	135
Tablo 4-95: DT424001 numaralı seriye ait pilot üretim “ara koşul” stabilite sonuçları	135
Tablo 4-96: DT424001 numaralı seriye ait pilot üretim “uzun süreli” stabilite sonuçları (1/2).....	136
Tablo 4-97: DT424001 numaralı seriye ait pilot üretim “uzun süreli” stabilite sonuçları (2/2).....	136
Tablo 4-98: DT424002 numaralı seriye ait pilot üretim “hızlandırılmış” stabilite sonuçları	137
Tablo 4-99: DT424002 numaralı seriye ait pilot üretim “ara koşul” stabilite sonuçları	137
Tablo 4-100: DT424002 numaralı seriye ait pilot üretim “uzun süreli” stabilite sonuçları (1/2).....	138
Tablo 4-101: DT424002 numaralı seriye ait pilot üretim “uzun süreli” stabilite sonuçları (2/2).....	138
Tablo 4-102: Tiyokolşikozit’in dozaj formundan <i>in vitro</i> kümülatif salım miktarları .	139
Tablo 4-103: Diklofenak’ın dozaj formundan <i>in vitro</i> kümülatif salım miktarları	139
Tablo 4-104: <i>in vitro</i> ilaç salım çalışmasında serbestleşen Diklofenak (Dietilamonyum) miktarı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$).....	139
Tablo 4-105: <i>in vitro</i> ilaç salım çalışmasında serbestleşen Tiyokolşikozit miktarı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	140

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Derinin katmanları	5
Şekil 2-2: Epidermisin tabakaları	6
Şekil 2-3: Epidermisin katmanlarında hücre yapıları	8
Şekil 2-4: Deriden geçiş yolları	10
Şekil 2-5: Topikal dozaj formları ve sınıfları (Brown 2012'dan).....	15
Şekil 2-6: Diklofenak Dietilamonyum kimyasal yapısı.....	24
Şekil 2-7: Tiyokolşikozitin kimyasal yapısı	28
Şekil 3-1: Proses validasyonu için yürütülen kazandan numune alma planı	87
Şekil 4-1: Diklofenak dietilamonyum ve referans standarta ait karşılaştırmalı ır spektrumu (# DDA/19120046-WS-12-15/-3).....	91
Şekil 4-2: Diklofenak Dietilamonyum etken maddesinin analiz sertifikası (Aarti Drugs - #DDA/14040010)	92
Şekil 4-3 - Tiyokolşikozit etken maddesi ve standardına ait IR spektrumu (#077102407027- THN-013).....	93
Şekil 4-4: Tiyokolşikozit etken maddesinin analiz sertifikası (Alchem - #077102407027)	94
Şekil 4-5: Diklofenak Sodyum doğrusallık grafiği.....	105
Şekil 4-6: Tiyokolşikozit doğrusallık grafiği.....	106
Şekil 4-7: Safsızlık yöntem validasyonunda Tiyokolşikozit doğrusallık grafiği.....	116
Şekil 4-8: Safsızlık yöntem validasyonunda Kolşikozit doğrusallık grafiği	117
Şekil 4-9: Safsızlık yöntem validasyonunda Kolşisin doğrusallık grafiği.....	117
Şekil 4-10: Safsızlık yöntem validasyonunda Diklofenak Safsızlık A doğrusallık grafiği	118
Şekil 4-11: Safsızlık yöntem validasyonunda Diklofenak Safsızlık A doğrusallık grafiği	119
Şekil 4-12: Proses validasyonu akış şeması.....	127

Şekil 4-13 - Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel'e ait nihai formülasyon üretim akış şeması	129
Şekil 4-14: Serbestleşen Diklofenak (Dietilamonyum) miktarı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) profilleri	140
Şekil 4-15: Serbestleşen Tiyokolşikozit miktarı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) profilleri.....	140



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AUC: Eğri Altın Alan (*Area Under Curve*)

BP: İngiliz Farmakopesi

C: Konsantrasyon

Cmaks: Maksimum kan konsantrasyonu

COX: Siklooksijenaz

cps: centipoise

Da: Dalton

DAD: Diode array dedektör

DDA: Diklofenak Dietilamonyum

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü (*WHO: World Health Organization*)

EMAD: Etken Madde Ana Dosyası (DMF, *Drug Master File*)

FP: Fransız Farmakopesi

GSK: Glaxo-Smith Kline

HEC: Hidroksietilselülöz

HPC: Hidroksipropilselülöz

HPLC (YBSK): Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK), *High Performance Liquid Chromatography*

HPMC: Hidroksipropilselülöz

ICH: Uluslararası Harmanizasyon Topluluğu (*International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceutical for Human Use*)

I.M.: intramuskuler (i.m.)

IPA: İzopropil Alkol

IR: Kızılötesi

IUPAC: Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği

KÜB: Kısa Ürün Bilgisi

LOD: Tespit Limiti (*Limit of Detection*)

logP: Partisyon katsayısı

LOQ: Teşhis Limiti (*Limit of Quantification*)

Maks.: Maksimum

Min.: Minimum

NSAİ: *Non-steroidal* antienflamatuvar ilaçlar

OA: Osteoartrit

R.S.: Raporlama Seviyesi

R²: Korelasyon Katsayısı

RA: Romatoid Artrit

rpm: Dakikadaki Dönüş Sayısı

RSD: Bağlı Standart Sapma

RSS: Farkların Karesinin Toplamı

SD: Standart Sapma

SDK: Sabit Doz Kombine

T.E.: Tespit Edilemedi

TEWL: Transepidermal su kaybı (*Transepidermal Water Loss*)

TİTCK: Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu

TKK: Tiyokolşikozit

Tx: Tromboksan

U.Y.: Uygulaması Yok

USP: Amerikan Farmakopesi

UV: Morötesi (Ultraviole)

UV-VIS: Morötesi Görünür Bölge



ÖZET

Işık, M. M. (2019). Antienflamatuvar ve Kas Gevşetici Etken Madde Kombinasyonu İçeren Topikal Emüljel Dozaj Formu Üzerinde Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Kas ve iskelet sistemi ağrısının semptomatik tedavisinde NSAİ ilaçlar ve analjezik ilaçlar, genellikle kas gevşeticiler ile kombine olarak kullanılmaktadır. Ancak sedasyon başta olmak üzere advers etkiler nedeniyle bazı kas gevşeticilerin kullanımı sınırlıdır.

NSAİ bir ilaç olan Diklofenak (Dietilamonyum) ve kas gevşetici bir ilaç olan Tiyokolşikozit akut ve kronik kas ve iskelet sistemi hastalıklarında sıklıkla tercih edilmektedir. Her iki ilaç analjezik ve antienflamatuvar etki göstermekte ayrı ayrı kullanıldığı gibi beraber de kullanılabilmekte ve hekimler tarafından sıklıkla reçetelendirilmektedir.

İlaç ürünü olarak literatürde Diklofenak ve Tiyokolşikozit etken maddelerinin kombinasyonunu içeren katı dozaj şekilleri ile yama preparatı yer almaktadır. Enflamasyon ve ağrı ile eşlik eden rahatsızlıklarının tedavisinde Diklofenak ve Tiyokolşikozit etken madde sabit doz kombinasyonunu içeren topikal bir formülasyona dönüştürülmesi amaçlanmıştır.

Geliştirilen emüljel formülasyonu sabit doz kombine ilaç ürününün optimizasyonu, proses validasyonu ile stabilitesi ölçülmüştür ve doğrulanmıştır. Her iki etken maddenin sentetik membrandan *in vitro* koşullardaki ilaç salım performansı (Franz Difüzyon) araştırılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, etken maddelerin topikal formdaki referans ürün preparatlarından alınan sonuçlar ile farmasötik benzerliği karşılaştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Diklofenak, Tiyokolşikozit, Topikal Emüljel, *in vitro* salım, Sabit Doz Kombinasyonu

ABSTRACT

ISIK, M.M. (2019). Investigation on Topical Emulsion Dosage Form Containing Combination of Antiinflammatory and Muscle Relaxing Agents. Istanbul University, Institute of Health Sciences, Department of Pharmaceutical Technology. Master Thesis. Istanbul. Istanbul. 2019

NSAIDs and analgesic drugs are often used in combination with muscle relaxants for the symptomatic treatment of musculoskeletal pain. However, use of some muscle relaxants is limited due to adverse effects, especially sedation.

NSAID drug Diclofenac (Diethylammonium) and muscle relaxant Thiocolchicoside are frequently used in acute and chronic musculoskeletal disorders. Both drugs have analgesic and anti-inflammatory effects and they can be used together, and they are frequently prescribed by physicians.

Solid dosage forms containing a combination of Diclofenac and Thiocolchicoside active substances and patch preparation are included in the literature as a pharmaceutical product.

Fixed dose emulgel formulation drug product was developed, and the product was optimized. Process validation and stability were conducted and *in vitro* drug release performance (Franz Diffusion) of active substances from synthetic membrane was investigated. The obtained results in the scope of this studies were compared with the results obtained from the individual reference product preparations and pharmaceutical similarity between formulated product and reference products was performed.

Keywords: Diclofenac, Thiocolchicoside, Topical Emulsion, *in vitro* release, Fixed Dose Combination

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kas ve iskelet sistemi ağrılarının temel sebebi, bağ dokusu veya kaslardaki yaralanma veya artrit gibi hastalıklardan kaynaklanmaktadır. Osteoartrit (OA) prevelansı en fazla olan hastalıklardan biridir ve yaşlı hastalar diz eklemleri ağrılarından sıklıkla yakınmaktadır. Ayrıca, spor yaralanmaları kaynaklı ağrılarda ciddi artış olduğu bildirilmektedir. (Haroutiunian 2010, Nair 2010). Miyofasiyal ağrı sendromu bir veya birkaç kas ve/veya bağ dokusunda bulunan ve tetik nokta denilen hipersensitif bölgelerle kendini gösteren; ağrı, kas spazmı, hassasiyet, sertlik, hareket kısıtlılığı, güçsüzlük ve nadiren otonomik disfonksiyon yapabilen bir rahatsızlıktır (Ketenci ve ark 2009). Topikal preparatlar akut yaralanmalar ile OA hastalıklarına tedavisinde uzun yıllardır tercih edilen bir uygulamadır.

Topikal ilaç kullanımındaki başlıca amaç, formülasyon içerisindeki etken maddeyi epidermal ya da derin dermal patolojik bölgelere hedefleyerek bir yandan da sistemik absorpsiyonu en aza indirmek ve bazı ilaçların ilk geçiş metabolizmasına engelleyerek, ilacın etkinliğini ve güvenliğini sağlamayıabilmektedir (Patravale ve Date 2009). Topikal olarak uygulanan dozaj formlarından, öncelikle molekülün formülasyondan serbestleşerek derinin *stratum corneum* tabakasına difüze olması ve sonra epidermise ulaşabilmesi istenir. Canlı epidermise erişen ilaç daha derin dokulara penetre olabilmektedir. Topikal uygulamalar ile ilaçların deride lokalizasyonu sağlanabildiği ve terapötik açıdan efektif konsantrasyonlara ulaşılabilirdiği belirlenmiştir (Brown ve ark 2006; Lee ve Maibach 2006).

İlaçların etki mekanizması ile beklenen terapötik etkiye göre dermal uygulamalarda farklı hedefler olabilmektedir. Bunlar; dermatolojik lokal etki (dermatit tedavisi için kortikosteroidlerin kullanılması gibi), deriden geçiş ile sistemik etki (ör sigara bırakmak için kullanılan nikotin yamalar), yüzeysel etki (güneş yanığı ürünleri, kozmetik ürünler, anti-infektifler) veya daha derin dokularda etki (kas ve iskelet sistemi inflamasyonlarında kullanılan ilaçları) istenebilir (Roberts ve ark 2002; Walters ve Roberts 2002).

Topikal formda ve kas-iskelet sistemi hastalıklarında en çok kullanılan ilaç grupları arasında steroid yapıda olmayan antienflamatuvar (NSAİ) İlaçlar gelmektedir. NSAİ ilaçları OA, RA, tendonit, tenosinovit, burkulma ve incinme ile eşlik eden spor

yaralanmaları gibi akut ve kronik kas ve iskelet sistemi hastalıklarında sıklıkla tercih edilmektedir (Moore ve ark 1998; Lionberger ve Brennan 2010). NSAİ ilaçların analjezik ve antienflamatuvar etkileri prostaglandin biyosentezinin inhibisyonuna dayanmaktadır. Oral yolla kullanılarak sistemik etki hedeflendiğinde NSAİ ilaçların, dispepsiden mide kanaması kadar ciddi gastrointestinal yan etkilere yol açtığı uzunca yıllardır bilinmektedir (Hooper ve ark 2004; Lionberger ve Brennan 2010). NSAİ ilaçların topikal uygulanması; kan geçiş oranında düşüş ve dolayısıyla prostaglandin inhibisyonuna bağlı olarak ortaya çıkan etkilerin azalmasını sağlar. Topikal tedavi ile olası akut böbrek yetmezliği, nefrotik sendrom, NSAİ ilaç gastropatisi, kanama zamanının uzaması ve sıvı retansiyonu gibi yan etkiler ve ilaç-ilac etkileşimi olasılığı da azalmaktadır (Heyneman ve ark 2000; Lionberger ve Brennan 2010).

Topikal dozaj formları kullanılan formülasyonun tipi ve temel bileşimleri etken maddenin dermal ve transdermal yolla taşınmasını ve terapötik etkinliğini belirlemektedir. Tedavi açısından önemli olan bu durum, formülasyonun temel bileşimi ve fizikokimyasal özelliklerine değişmektedir (Jankowski ve ark 2017): Hidrofobik formülasyonlar (hidrokarbon temelli/oleojinöz merhem, susuz absorpsiyon merhemleri, oleojeller), Hidrofilik formülasyonlar (hidrojeller, suda çözünen merhemler) veya Hidrofilik veya hidrofobik faz karışımından oluşan emülsiyon formülasyonları (krem, emüljel, bijel, mikroemülsiyon jeller) (USP General Chapter <3> 2018).

Kullanım kolaylığı ve hasta uyuncu açısından jel tipi formülasyonlar tercih sebebi olabilmektedir. Jeller, katı partiküllerin bir ağ yapısı ile sıvı içerisinde kolloidal yapıda dağılmasıdır. Jel formülasyonların bileşiminde su bazlı olması sayesinde genelde ilacı daha iyi çözünme hızı gösterdiği, ayrıca krem ve merhemlere göre ilacın uygulanması ile sistemden daha kolay salım gerçekleştirdiği belirtilmektedir. Bu avantajlarına rağmen, hidrofobik bileşiklerde taşıyıcı sistem olarak kullanılması kısıtlayıcı olabilmektedir. Hidrofobik bileşiklerin formülasyonu için emüljel denilen formlardan faydaniılmaktadır (Hardenia ve ark 2014, Değim 2009).

Emüljeller, emülsiyon tipi sistemde dış fazında jel oluşturuocu ajan içeren yapılarıdır. Jel oluşturuocu ajan dış fazın viskozitesini artırarak emülsiyon sistemin stabilitesini artırır (Banys ve ark 2014; Mohammed 2001). Konvansiyonel emülsiyonlarda karşılaşılan çeşitli stabilite problemlerinin yanı sıra özellikle lipofilik etkin maddelerin jel tipi preparatlarının hazırlanmasındaki zorluklar, emüljel olarak

tanımlanan ve bir emülsiyon sisteminin jelleştirilmesi ile oluşturulan dozaj şekilleri ile aşılabilmektedir (Ajazuddin ve ark 2013, Khullar ve ark 2012). Tikotropik, yağlı olmayan, kolayca yayılabilen, kolayca temizlenebilen, emolyen, leke bırakmayan, biyogeçimli, transparan ve kozmetik özellikteki emüljeller birçok açıdan avantajlıdır ve jel formları ile emülsiyon sistemlerin özelliklerini bir arada barındırır (Ashara ve ark 2015).

Asetik asit türevi bir NSAİ ilaç olan diklofenak ulusal pazarda oral ve parenteral dozaj şekillerinin yanı sıra topikal uygulamaya yönelik jel, emüljel, losyon, krem ve merhem şekillerinde de bulunmaktadır. Diklofenak molekülünün topikal uygulamalarında lokal etkili jel formülasyonları ile transdermal yama formülasyonları da bulunmaktadır (Altman ve ark 2015). Topikal kullanımda etkin madde diklofenak dietilamonyum tuzudur ve topikal jel formülasyonları %1 Diklofenak sodyuma eşdeğer miktarda etkin madde içerir ve Diklofenak (Voltaren Emulgel- önceden Novartis İlaç, sonra GSK İlaç) %1 emüljel formülasyonun yağ tipi emülsiyon sistemine sahip jel formülasyonu özelliğinde olduğu görülmektedir (Voltaren Emulgel-KÜB 2017). Travmatik ve romatizmal enflamasyon durumlarında antienflamatuvar ve analjezik etkisi ile enflamasyona bağlı şişkinliği azaltan etkin madde uygulandığı deri bölgesinden enflamasyonlu bölgeye penetre olarak etki göstermekte, sistemik dolaşıma ise oral kullanıma göre %3-5 oranında geçmektedir (Martindale 2009, Altman 2015). Diklofenak Dietilamonyum emüljel preparatı Türkiye’de 25 yılı aşkın bir süredir hastalar tarafından kullanılmaktadır (Voltaren Emulgel-KÜB 2017).

Tiyokolşikozit, GABA-mimetik ve glisinerjik aktivite gösterdiği ileri sürülen ve etkisini çizgili kasları gevşeterek gösteren bir etken maddedir. Doğal bir glikozit olan kolşikozitin yarı sentetik bir türevi olan madde, ağrılı kas spazmlarının semptomatik tedavisi için oral, parenteral ve topikal yol ile kullanılmaktadır. Tiyokolşikozit analjezik ve antienflamatuvar aktivitelerinin yanı sıra sedasyon yapmadığı çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (Ketenci ve ark 2009). 2007 yılından itibaren merhem tipi preparatı ülkemizde bulunmakta, kas spazmı ile romatolojik rahatsızlıkların semptomatik tedavisinde kullanılmaktadır (Aguzzi 2008, Muscoril-KÜB 2014).

DSÖ yayımladığı rehberlerde Sabit Doz Kombine (SDK) İlaçları tek bir formülasyon içinde iki veya daha fazla ilacın bulunması olarak tanımlanmaktadır (WHO 2005). Sabit Doz kombinasyonu (SDK) ilaçlar birçok avantaj sağlarken, hastanın ilaç

almasını kolaylaştırmak, hastanın ayrı ayrı aldığı farmasötik formların sayısını azaltmak ve böylece hasta uyuncunun artırılması ön plana çıkmaktadır.

Bu yüksek lisans tezi ile Diklofenak ve Tiyokolşikozit etken maddelerini bir arada olduğu SDK bir ilacın, emöljel sistemi hazırlanarak formölasyonu ve optimizasyonu ile bir Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) cihaz ile analitik yönteminin geliştirilerek valide edilmesi amaçlanmaktadır (EMA 2008). Elde edilen prototip formölasyonun proses validasyonu ve stabilite çalışmaları ile *in vitro* salım testi ile farmasötik benzerliği araştırılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

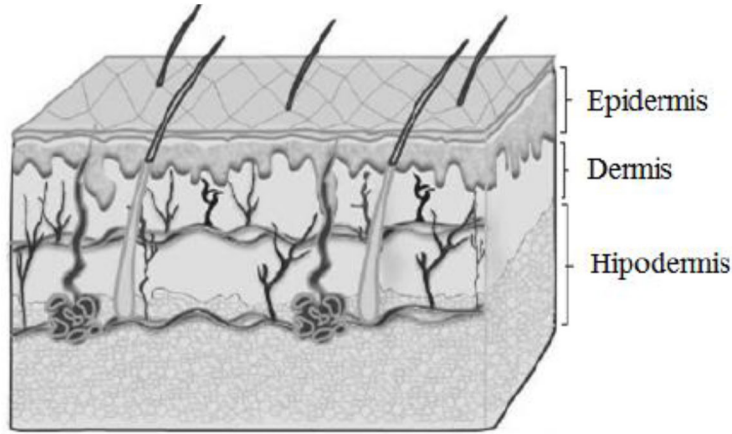
2.1. Deri Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Derinin Yapısı ve Genel Özellikleri

Deri diğer bir adıyla cildimiz, dış etkenlere karşı koruyarak tüm vücudumuzu kapayan 0,5-3 mm kalınlığa sahip ve 1,7-2 m² büyüklüğünde ve insan vücudunun en geniş yüzey alanına sahip yapıdır (Tur 1997). Genel dolaşımdaki kanın üçte biri deriden geçer. Kimyasal maddelere ve patojen mikroorganizmaların vücuda geçişini engellemenin yanında vücuttan sıvı kaybının da önlemek başlıca görevleridir. Ayrıca, UV ışınlardan koruma, dokunma duyusunu sağlamak, vücut sıcaklığının düzenlenmesi gibi birçok görevi vardır. Vücut içi pH nötral pH'a yakın iken, deri yüzeyi asidik yapıdadır ve normalde pH değeri 4,5-6 arasındadır. Bu asidik pH'a sahip derinin fizyolojik rolü ile konakçı organizmalara karşı koruma sağlamaktadır (Ali 2013)

2.1.2. Derinin Tabakaları

Deri, dıştan içe doğru 3 ana katmandan oluşmaktadır: epidermis, dermis ve hipodermis (Kent 2011). Derinin tabakaları Şekil 2-1'de gösterilmiştir (Escobar-Chavez 2008).

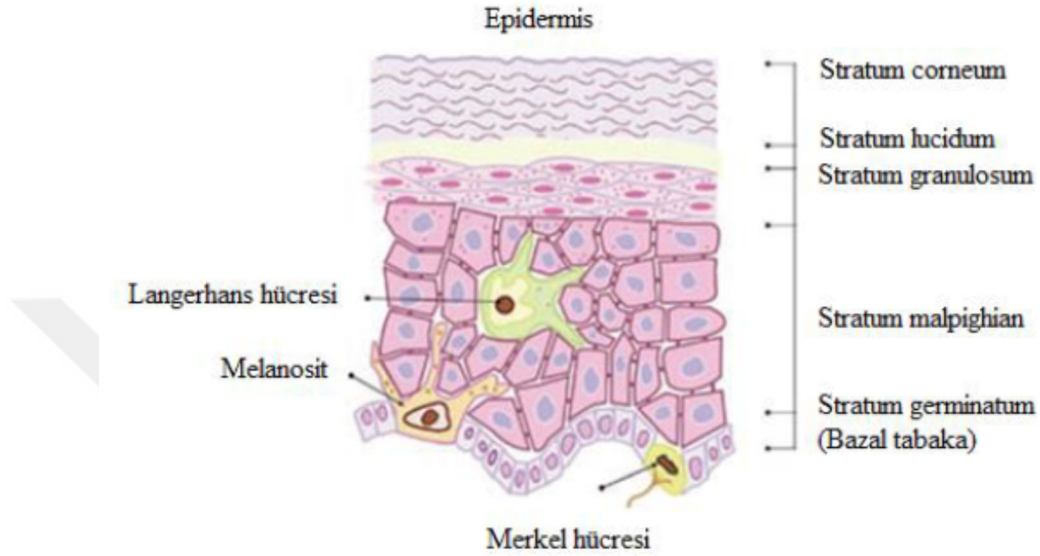


Şekil 2-1: Derinin katmanları

2.1.2.1. Epidermis

Epidermis derinin en dış tabakasıdır. Epidermis kalınlığı 150-180 µm arasında değişirken, kan damarı ve lenfatik sistem içermez. Ağrının algılanması için bazı sinir sonlanmaları içerir (Escobar-Chavez 2008). Etken maddelerin deriden geçişimde hız sınırlayıcı bir bariyer özelliği göstermektedir. Epidermis yapısında keratinositler,

melanositler, Langerhans hücreleri ve Merkel hücreleri yer almaktadır. Epidermis beş tabakadan oluşur. Bu tabakalar Şekil 2-2’de gösterildiği gibi dıştan içe doğru sırasıyla, *Stratum corneum*, *Stratum lucidum*, *Stratum granulosum*, *Stratum spinosum*, *Stratum germinativum*=*basale*’dir (Zaidi ve Lanigan 2010).



Şekil 2-2: Epiderminin tabakaları

Stratum corneum

Epiderminin en üst tabakası olan *stratum corneum*, “boynuzsu tabaka” olarak da adlandırılmaktadır ve kalınlığı 10-20 µm arasındadır. 15-25 kat yassı ve tamamen keratinize haldeki korneositler’i içerir.

Korneositler, keratinositlerden değişime uğramış keratinleşmiş ölü hücrelerdir ve çift tabakalı lipid matriks içine gömülüdürler (Jankowski ve ark 2017). Epiderminin diğer tabakalarındaki çekirdekli hücrelerin aksine *stratum corneum* tabakasındaki bu hücrelerin çekirdekleri yoktur. Bu nedenle *stratum corneum* tabakası “cansız epidermis”, diğer tabakalar ise “canlı epidermis” olarak adlandırılmaktadır. Yeni hücreler *stratum corneum*’a ulaştıklarından üstteki hücreler pul pul olarak deri yüzeyinden dökülürler. Bazal tabakayı oluşturan hücrelerin boynuzsu tabaka hücrelerine dönüşmesi yaklaşık olarak 21 gün sürmektedir (Değim 2009).

Stratum corneum’daki hücrelerarası lipid matriks seramidler, kolesterol, serbest yağ asitleri, kolesterol esterler ve kolesterol sülfattan oluşur, fosfolipit içermez, çok katmanlı ve oldukça düzenli bir yapıdır. Burada yer alan lipidler yoğun bir şekilde paketlenmiş kristal

benzeri yapıları oluşturur. *Stratum corneum* ilaç moleküllerinin deriden geçişinde en önemli bariyeri oluşturmaktadır (Wertz ve Berg 1998; Benson 2012).

Stratum lucidum

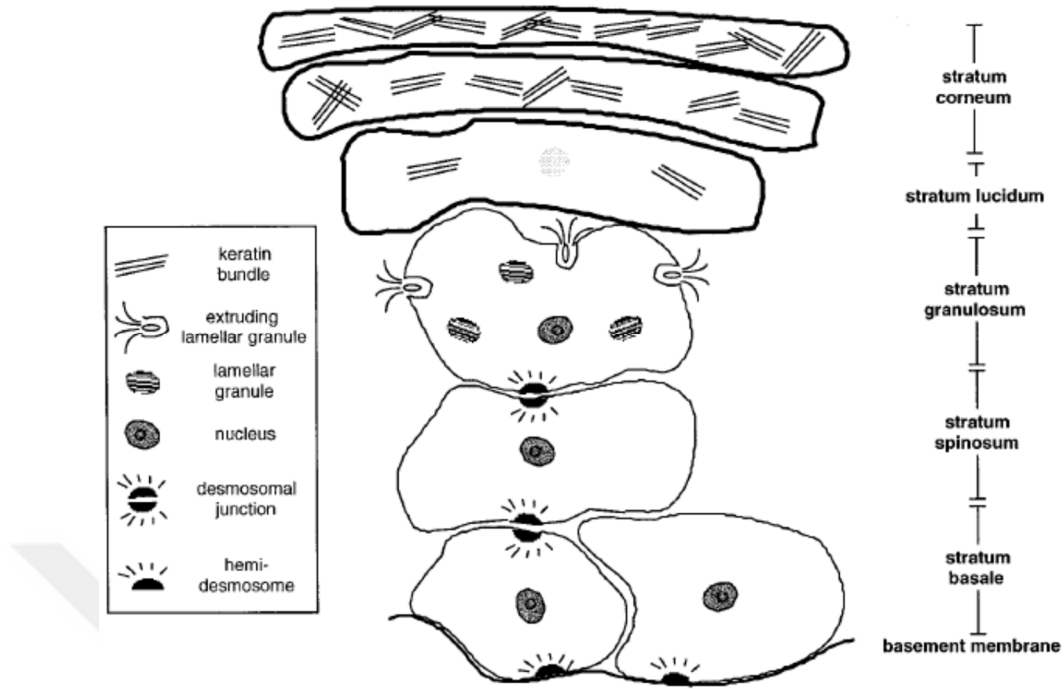
Bu tabaka, sadece avuç içi ve ayak tabanı gibi derinin çok kalın olduğu belirli bölgelerde görülebilmektedir (Denda 2000; Değim 2009).

Stratum granulosum (Granüler Tabaka)

Stratum granulosum'tabakasındaki hücrelerin sitoplazmaları kalın granüller şeklinde görüldüğünden dolayı bu tabaka granüler tabaka olarak adlandırılmaktadır. Canlı epidermin en dış sınırır. Hücrelerinde çekirdek taşır. Keratinin büyük bir bölümü ile yapısal protein üretiminin büyük bir kısmı bu tabakada gerçekleşmektedir (Denda 2000; Değim 2009).

Stratum spinosum

Bazal tabakanın hemen üstünde bulunmakta ve tek sıralı hücrelerden oluşmaktadır. *Stratum basale* hücrelerine desmozom (Şekil 2-3) adı verilen birimler ile bağlanmıştır. Lipit yönünden zengin tabakalı bölümler içerdiği ve fosfolipitlerin gliserol ve serbest yağ asitlerine, glikosilseramitlerin de seramitlere bu tabakada parçalandığı bildirilmiştir (Roberts ve ark 2002; Denda 2000; Değim 2009).



Şekil 2-3: Epidermisin katmanlarında hücre yapıları

Stratum basale (Bazal Tabaka)

Epidermisin en altta yer alan tabakasıdır. Epidermis hücreleri olan Langerhans hücreleri, melanositler, merkel hücreleri ve epidermiste hücre bölünmesine uğrayan tek hücre olan keratinositler bazal tabakada yer almaktadır. Diğer tabakalara göre, daha hızlı bölünebilen, çoğalabilen hücreleri içerir ve bu hücreler deri yüzeyine doğru ilerlerken farklılaşarak diğer tabakaları oluşturacak şekilde yer değiştirir. Dermise, hemidesmozom adı verilen bağlantı birimleri bağlanmışlardır. (Değim 2009; Benson 2012)

2.1.2.2. Dermis

Kalınlığı 1-5 mm arasındadır. Diğer tabakalarına göre daha az yağ hücresi içeren fibröz bir yapıya sahiptir. Ana bileşeni lif demetleri halinde bulunan kolajendir. Lenf kanallarını içerir ve mast hücreleri ile makrofajlar aracılığıyla enflamatuvar reaksiyonun ve immün yanıtın oluşumunu sağlar. Saç folikülleri ve yağ bezlerinden oluşan “pilosebaze bezler”, terlemeden sorumlu “ekrin bezler” ve “apokrin bezler” dermiste bulunmaktadır (Walters 2002; Değim 2009).

2.1.2.3. Hipodermis

Bu doku, dermisin hemen altındadır ve büyük miktarlarda yağ üreten ve depolayan hücrelerden oluşur. Darbe emici ve ısı yalıtımı görevlerinin yanı sıra enerji

depolama bölgesi olarak rol alır. Yağ hücrelerinin yanı sıra fibroblastlar ve makrofajlar da hipodermiste bulunurlar. Ayrıca kan ve lenf damarları ve sinir lifleri bu tabakada yer almaktadır (Walters 2002; Değim 2009).

2.1.3. Deriden Geçiş (Permeasyon)

Dışarıdan deriye uygulanan bir etken maddenin deriden geçebilmesi için öncelikle *stratum corneum* 'u aşması gerekmektedir. Derinin içerisindeki terapötik hedef bölgesi ilaca göre değerlendirilmelidir. Anti-histaminik, anestezik, anti-enflamatuvar ve antimikotik etkili çoğu topikal uygulama daha derin deri dokularına veya sistemik dolaşıma ulaşırken; güneş kremleri, kozmetik ve koruyucu amaçlı bazı tedavilerde hedef bölgesi olarak deri yüzeyine veya akne, saç çıkarma ve terleme önleyiciler gibi preparatlar ise vücut apendajları amaçlanmaktadır (Benson 2012).

Deriden permeasyon çoğunlukla pasif difüzyonla gerçekleşmektedir (Tojo 1987). Pasif difüzyon ise, Fick'in birinci kanunu ile açıklanabilmektedir. Fick'in birinci kanununa göre;

$$J/A = \frac{dQ}{dt} = K \times D \times \frac{(C_1 - C_2)}{\Delta x}$$

(J/A) Geçiş Hızı = birim zamanda birim alandan geçen ilaç miktarı (mol cm⁻² s⁻¹)

A: membranın yüzey alanı(cm²)

Δx: membranın kalınlığı (cm)

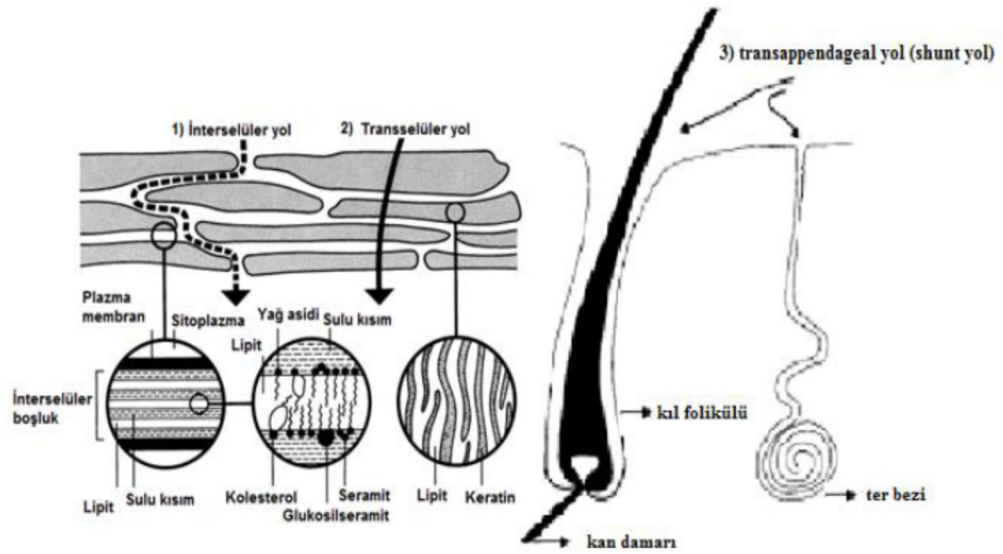
D: membranda ilacın difüzitesi (cm⁻² s⁻¹)

K: membran ve faz 1 arasındaki ilacın dağılım katsayısı

C₁-C₂: membranın her iki yüzeyi arasındaki konsantrasyon farkı (mol cm⁻³)

2.1.3.1. Deriden Geçiş Yolları

Deri yüzeyine uygulanan bir penetrant madde epidermisi 3 potansiyel yolla geçebilmektedir (Şekil 2-4): 1) hücre içi (intraselüler/transselüler), 2) hücreler arası (interselüler), 3) yan geçit yolları (*Shunt* yollar: ter bezleri, yağ bezleri, kıl folikülleri) (Değim 2009, Benson 2012).



Şekil 2-4: Deriden geçiş yolları

Hücre içi (transselüler) geçiş yolu

İlaç moleküllerinin intraselüler geçiş hızı, transelüler yola göre daha yavaştır. Bunun nedeni olarak, hücre içi lipit çift tabakadan hem de keratinositlerden geçmek zorunda kalması olduğu düşünülmektedir (Roberts ve ark 2002; Benson 2012). Bu yoldan daha ziyade polar olmayan maddeler geçebilir. Bu geçiş tipinde etkin maddenin molekül ağırlığı da önem kazanır, küçük molekül ağırlıklı maddelerin geçişi daha kolaydır (Hagraft 2004; Patzelt ve ark 2008).

Hücreler arası (interselüler) geçiş yolu

Hücrelerarası (interselüler) yol, etken maddenin hücrelerin arasındaki lipit çift tabakalardan geçişi anlamına gelmektedir. Hücrelerarası geçiş yolu, intraselüler yola kıyasla, etken maddeye karşı daha az bariyer özellik gösterdiğinden daha üstündür ve apolar ilaçların geçişi bu yolla gerçekleşmektedir (Hadgraft 2004; Kalia ve Guy 2001). Etkin maddelerin *stratum corneum* boyunca geçişinde halen en önemli yolun interselüler yol olduğunu belirtmektedir (Benson 2012). İnterselüler geçiş sırasında ilaç molekülleri lipit tabakaları doğrudan geçemez ve hücreler arasından eğri bükürlü bir yol izlerler, böylece 20µm kalınlığından *stratum corneum*'dan daha uzun, yaklaşık 500 µm civarında bir yol izlerler (Hadgraft 2004; Barry 2006). Ayrıca, ilaç moleküllerinin öncelikle lipit faza geçtiği, daha sonra da difüze olduğu bildirilmektedir. (Roberts ve ark 2002).

Yan geçit yolu

Polar yol olarak da bilinen bu yol (*transappendageal pathway*), kıl folikülü ve ter bezi yoluyla ana bariyeri geçen molekül için düşük dirençli kısa bir yan geçittir (*Shunt Yol*). Yan geçit yoluyla etkin maddeler *stratum corneum*'un oluşturduğu bariyer direncine uğramadan dermise ulaşırlar. Su dolu ter kanalları Ter bezleri hidrofilik ve polar olan maddeler için önemli bir geçiş yoludur (Değim 2009). Ayrıca, ter ve yağ bezleri ile kıl folikülleri zengin bir kapiller ağ ile kaplanmıştı ve böylece içinde etken maddeler depolanabildiği bildirilmiştir (Lademann ve ark 2006; Patzelt ve ark 2008). *Stratum corneum*'dan geçiş hızı yavaş olan büyük polar bileşikler ile elektrolitler için bu yolun önemli olduğu bildirilmektedir (Huang ve ark 2005).

2.1.3.2. Etken Maddenin Deriden Geçişini Etkileyen Faktörler

Deriden emilimi etkileyen faktörler genel olarak 4 gruba ayrılmaktadır:

- Biyolojik faktörler
- Derinin fizyolojik durumu
- Etkin maddenin fizikokimyasal zellikleri
- Formülasyon ve kullanılan yardımcı maddelerin etkisi

Biyolojik Faktörler

Deriden penetrasyon yaşa bağlı olduğu kadar, derinin ait olduğu vücut bölgesine ve hidrasyonuna bağlı olarak değişir. Değişik vücut bölgelerindeki derinin lipit içeriği farklıdır ve derinin lipit içeriği ile geçişin ters orantılı olduğu bulunmuştur.

Derinin yaşı: Derinin yaşlanması etkin maddelerin deriden geçişi üzerinde önemli bir etkiye sahip değildir, ancak TEWL yaş ile birlikte artmaktadır (Benson 2012). Yapılan çalışmalarda bebek ve ocuk derisinin, yetişkinlere göre daha geçirgen olduğu ve bu durumun derinin hidrasyonu ilgili olduğu bildirilmiştir. Derinin su içeriği fetüste %80, yeni doğanda %68 iken, yetişkinde bu değer %62'ye düşmektedir. Dolayısıyla etkin maddelerin penetrasyonu açısından fetüs ve ocuk derileri daha geçirgendir (Brain ve ark 2002; Surber ve Davis 2002; Değim 2009).

Tr farklılıkları: İnsan derisinin temin edilmesindeki etik olmadığından, insan derisinden oldukça farklı yapıda olmalarına rağmen tavşan, fare, sıçan gibi hayvanların derileri *in vitro* geçiş çalışmalarında sıklıkla model membran olarak kullanılmaktadır

(Riviere ve Papich 2001). İnsan derisinin *stratum corneum* kalınlığı, birim alandaki kıl folikülleri, ter ve yağ bezlerinin dağılımı açısından hayvan derisinden farklılık göstermektedir (Mills ve Cross 2006; Godin ve Touitou 2007). Ayrıca, farklı hayvan türlerinin ve cinslerinin deri anatomileri dahi birbirinden oldukça farklı olabilmektedir (Riviere ve Papich 2001). Tavşan ve sıçan derisi, kıl foliküllerinin fazlalığı ve ter bezleri olmadığından insan derisine göre çok daha geçirgendir (Mills ve Cross 2006; Godin ve Touitou 2007). Domuz derisi, insan derisine en çok benzeyen deridir ve bunun hücrelerarası lipid yapının bileşiminin benzerliğinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Stewart ve Downing 1999).

Derinin fizyolojik durumu

Derinin hidrasyonu: Doku hidrasyonunun artırılması hidrofilik ve lipofilik karakterdeki moleküllerin deriden geçişini artırır (Williams ve Barry 2004). Su, *stratum corneum*'un sıkı yapısında genişlemeler neden olarak ilaçların geçişinde artışa neden olur. Derinin üzerinin örtülmesi (oklüzyon) veya uygulanan formülasyondaki sıvının kapatıcı veya bariyer etkisiyle terleyerek ve suyun epidermisin alt tabakalarından, üst tabakalarına doğru difüze olması ile *stratum corneum* tabakasının hidrasyonu artmakta ve böylece etken maddelerin deriden penetrasyonu artmaktadır (Charalambopoulou ve ark. 2004; Silva ve ark. 2007; Jungersted ve ark. 2008).

Derinin bölgeleri: İlaç molekülleri vücut bölgelerine göre farklı oranlarda geçiş özelliği gösterirler. Bu durumun ana nedeni, vücudun çeşitli bölgelerinde *stratum corneum* kalınlığının farklılık göstermesidir (Brain ve ark. 2002).

Derinin bütünlüğü: Derinin bariyer fonksiyonunu yitirecek yaralanmalar, çeşitli deri rahatsızlıkları veya asit, alkali ya da bazı çözücülerle maruz kalma gibi nedenlerle yapısının bozulması etken maddelerin perkütan absorpsiyonunu artırır. İyontoforez, elektroporasyon gibi elektriksel etkiler ve ses dalgaları kullanılarak uygulanan ultrason yöntemi deri bütünlüğünün bilinçli bir şekilde bozulması sağlanarak etken maddelerin deriden penetrasyonunda artış sağlanan bir çok çalışma bulunmaktadır. (Elias ve ark 2002; Brain ve ark 2002).

Derinin sıcaklığı: İlaçların büyük çoğunluğunda, sıcaklığın artmasıyla birlikte deriden geçen miktarı artmaktadır. Deriye uygulanan sıcaklık, sebum viskozitesini düşürür ve kan damarları genişleyerek dermal kan sirkülasyonu artmaktadır. Ayrıca, deriye

uygulanan sıcaklık 39,3 °C'nin üstüne çıkması durumunda proteinleri yapısı bozulmakta ve geçirgenlik artmaktadır (Hikima ve ark 2005).

Etken maddeye ait fizikokimyasal faktörler

Etken madde lipofilitesinin etkisi:

İlaç moleküllerinin *stratum corneum*'dan geçişi pasif difüzyonla olduğundan etkin maddenin yağ/su partiyon katsayısı (logP değeri) biyolojik membranlardan difüzyonunu yüksek oranda etkilemektedir (Godin ve Touitou 2007). Derinin membranlarındaki lipit yapıdan dolayı ilaç geçiş hızı, ilacın lipofilik yapısına bağlıdır (Hincal ve Memişoğlu-Bilensoy 2004). Yüksek permeabilite için, yağ/su dağılım katsayısının 1-3 arasında olması istenir. Çok lipofilik olan ilaçlar *stratum corneum*'a sıkı bir şekilde bağlandıkları için genellikle bu tabakada birikir ve *stratum corneum* bariyerini aşarak canlı epidermise geçmeleri çok uzun sürebilir. Hidrofilik bir ilaç molekülünün ise *stratum corneum*'un lipidik yapısına olan afinitesi azdır ve *stratum corneum*'a olan partiyonu daha yavaş olacaktır. Buna karşı *epidermis*' in hidrofilik yapısına olan ilgisi yüksek olduğu için, hidrofilik moleküllerin *stratum corneum*'dan canlı deriye partiyonu daha hızlı gerçekleştiği bildirilmiştir (Jadoul ve ark 1995; Langer 2004).

Etken madde konsantrasyonunun etkisi: Deriye uygulanan ilaçta etken maddenin termodinamik aktivitesi deriden emilimini etkilemektedir. Formülasyon bileşiminde yer alan etken maddenin sıvıya doygunluk derecesine bağlı olarak Deriden geçen madde miktarı değişmektedir (Schwarb ve ark 1999).

Etken maddenin molekül ağırlığı ve molekül hacmi: Etken maddelerin molekül ağırlığı ve büyüklüğü ile deriden geçiş arasında ters orantı bulunmaktadır. Etken maddenin molekül ağırlığı 500 Da'dan küçük olmalıdır ve molekül hacmi ne kadar küçük ise deriye difüzyonu o kadar arttığı bilinmektedir (Naik ve ark 2000; Langer 2004; Tanner ve Marks 2008).

Etken maddenin iyonizasyon derecesi ve pH: Zayıf asidik ve zayıf bazik karakterdeki ilaç moleküllerinin emilim hızı formülasyonun pH'sından etkilenmektedir ve bu özellikteki moleküller iyonize olmamış şekilleri ile *stratum corneum*'dan pasif difüzyonla geçmektedir. Zayıf asidik maddeler asit ortamda, zayıf bazik maddeler ise bazik ortamda noniyonize halde bulunurlar, dolayısıyla noniyonize halde bulundukları pH'larda deriden geçiş hızları daha yüksektir (Vavrova ve ark. 2008).

Difüzyon Katsayısı, Erime derecesi ve Sudaki Çözünürlüğü: Etken maddenin difüzyon katsayısı perkütan absorpsiyonda önemli rol oynar ve difüzyon katsayısı arttıkça penetrasyon özelliği de artmaktadır. Erime derecesi 200 °C'nin altında olan, sudaki çözünürlüğünün 1 mg/mL'den düşük olan ve yüksek termodinamik aktiviteye sahip olan etkin maddelerin difüzyon katsayısı da artırmaktadır (Naik ve ark. 2000).

Formülasyon ve kullanılan yardımcı maddelerin etkisi

İlaç taşıyıcı sistem ve dolayısıyla formülasyonun özellikleri, etken madde salım hızını ve deriye penetrasyonunu değiştirebilmektedir. Formülasyon, etken maddenin *stratum corneum*'daki çözünürlüğü ya da difüzyonunu etkileyebilmektedir. Kullanılan sıvağ ile *stratum corneum* lipidleri arasındaki partiyon katsayısı, sıvağın deriyi nemlendirme özelliği ile deriyi kapama özelliği, etkin maddelerin deriye geçiş oranını ciddi anlamda etkiler. Formülasyon içerisindeki sıvağın deri yüzeyini kapama etkisiyle *stratum corneum* hidrasyonu gerçekleşmekte ve etken maddenin difüzyonunu artırmaktadır. Sıvağın deri yüzeyiyle sıkı teması sonucunda, deride yer alan lipidlerle birleşir ve ilacın deriden geçişini hızlanması da ayrı bir faktördür. Formülasyonda içerisindeki sıvağın fizikokimyasal özelliklerinin değiştirilmesi yoluyla, etken maddenin sıvağdan kolaylıkla ayrılarak deriye penetrasyonun artırıldığı bildirilmektedir (Brain ve ark 2002).

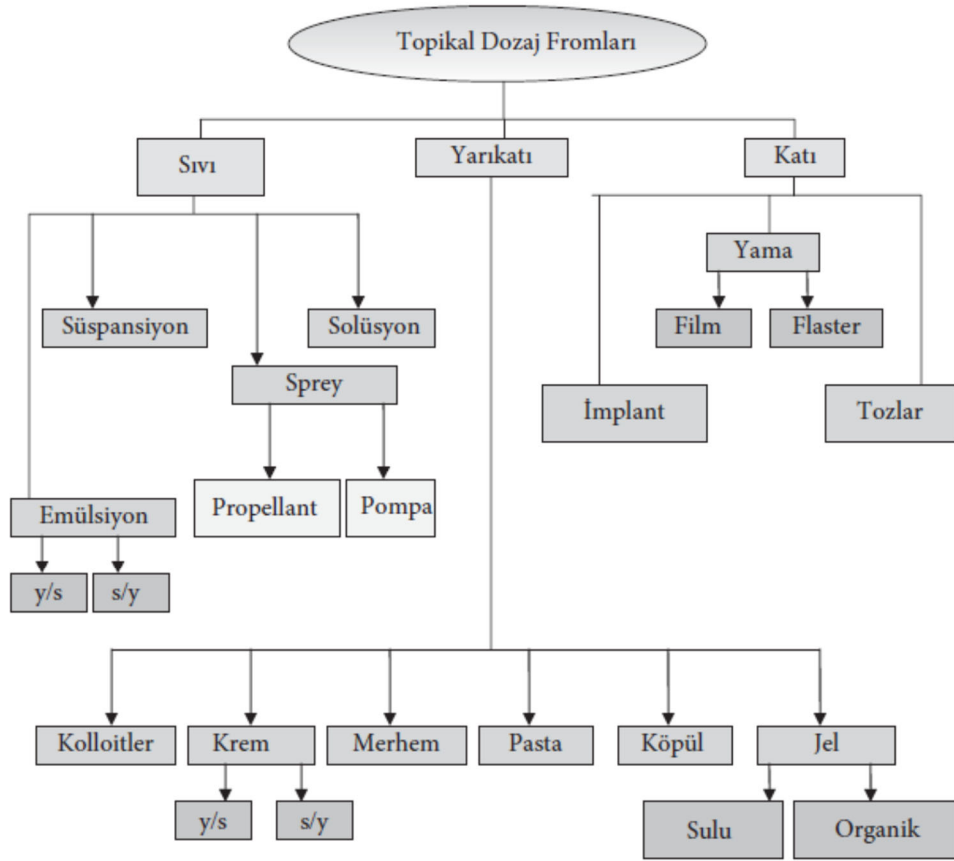
Bazı yardımcı maddeler, *stratum corneum*'un bariyer özelliğini geri dönüşlü ortadan kaldırılabilmekte veya azaltabilmektedir (Hadgraft 1999; Williams ve Barry 2004). Deri bileşenleri ile etkileşerek fonksiyon gösteren bu tarz yardımcı maddeler literatürde “penetrasyon artırıcı maddeler” olarak geçmektedir. Bu maddeler, *stratum corneum* lipid yapısı ile etkileşerek ya da etken maddenin veya taşıyıcı sistemin *stratum corneum*'a partiyonunu artırarak etki gösterirler (Williams 2003).

2.2. Topikal Uygulanan Dozaj Formları ve Jeller Hakkında Genel Bilgiler

Topikal ilaç uygulamaları ilacın, oftalmik, rektal, vajinal ve deri yolu ile kullanılmasıdır. Deri, topikal ilaç uygulamalarında en kolay ulaşılabilir organlardan biridir ve ana rotayı oluşturur (Sharma ve Singh 2018; Hardenia ve ark 2014).

Etkin maddelerin transdermal yol ile uygulanmasının bazı avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır (Değim 2009). Deriden ilaç verilisinin en önemli avantajlarından biri, etken maddenin karaciğer ilk geçiş etkisinden ve gastrointestinal sistemde zarar görmesinden korunmuş olması, ayrıca etken maddenin bizzat kendisinin de gastrointestinal sisteme zarar vermesi olasılığının önlenmesidir. Ayrıca transdermal

sistemlerin uygulanması ile sürekli ve kontrollü olarak ilaç plazma düzeyi sağlanabildiği için yan etki görülme olasılığının azalması ve hasta uyuncunun arttırılması mümkündür. Tedavi süresince istenmeyen bir etki görüldüğünde dozaj formu deriden kolayca uzaklaştırılabilir (Değim 2009). Transdermal uygulamanın en önemli dezavantajı ise uygulama bölgesinde gerçekleşebilecek lokal iritasyon veya alerjik reaksiyonlardır. Diklofenak preparatlarının topikal uygulamaları sonrası yan etkilerini inceleyen araştırmalarda, hastalarda en çok deride kuruluk, döküntü ve kaşıntı belirtileri görüldüğü bildirilmiştir (Nair 2010). Ayrıca derinin düşük geçirgenliğe sahip olması deriden etken maddelerin uygulamasına sınırlamalar getirmektedir (Değim 2009).



Şekil 2-5: Topikal dozaj formları ve sınıfları (Brown 2012’den)

Topikal ilaç ürünleri geliştirilirken fonksiyonel yardımcı maddelerin yer aldığı yalın bir tasarım tercih edilir. Tablo 2-1’de topikal dozaj formlarında kullanılan temel formülasyon bileşenlerine değinilmektedir (Chang ve ark 2013).

Tablo 2-1: Topikal dozaj formlarında başlıca formülasyon bileşenleri

Bileşenin Fonksiyonu	Bileşim Tanımı	Örnek
Emolyan, sertleştirici, yağ bazlı	Yarı-katı formların ana bileşenidir. Yapıları ve bileşimlerine göre Hidrokarbon, Absorpsiyon, Suyla yıkanan, Suda çözünen baz tiplerine ayrılmıştır	<i>Carnauba wax, Cetyl alcohol, Cetyl ester wax, Emulsifying wax, Hydrous lanolin, Lanolin, Lanolin alcohols, Microcrystalline wax, Paraffin, Petrolatum, Polyethylene glycol, Stearic acid, Stearyl alcohol, White wax, Yellow wax</i>
Emülsifiyan, Çözdürücü Ajan	Surfaktanlar yüzeyler arası gerilimi düşürerek emülsiyon sistemini stabilize eder, hidrofobik materyallerin çözünürlüğünü artırır.	<i>Polysorbate 20, Polysorbate 80, Polysorbate 60, Poloxamer, Emulsifying wax, Sorbitan monostearate, Sorbitan monooleate, Sodium lauryl sulfate, Propylene glycol monostearate, Diethylene glycol monoethyl ether, Docusate sodium</i>
Hümektan (polioller)	Suyun sistem içerisinde kalmasını sağlar	<i>Glycerin, Propylene glycol, Polyethylene glycol, Sorbitol solution, 1,2,6 Hexanetriol</i>
Kıvam artırıcı, Jel yapıcı Ajan	Viskoziteyi artırır, Jel formunun ana yapısıdır	<i>Carbomer, Methyl cellulose, Sodium carboxyl methyl cellulose, Carrageenan, Colloidal silicon dioxide, Guar gum, Hydroxypropyl cellulose, Hydroxypropyl methyl cellulose, Gelatin, Polyethylene oxide, Alginic acid, Sodium alginate, Fumed silica</i>
Koruyucu	Mikrobiyal üremeyi engeller	<i>Benzoic acid, Propyl paraben, Methyl paraben, Imidurea, Sorbic acid, Potassium sorbate, Benzalkonium chloride, Phenyl mercuric acetate, Chlorobutanol, Phenoxyethanol</i>
Permeasyon Artırıcı	Etken maddenin Stratum corneum'dan difüzyonu, partitasyonu artırarak etki eder	<i>Propylene glycol, Ethanol, Isopropyl Alcohol, Oleic acid, Polyethylene glycol</i>
Şelat Ajanları	Serbest metal iyonlarını bağlayarak metal katalizasyonuna engel olur ve stabiliteyi artırır	<i>Ethylene diamine tetraacetate (EDTA)</i>
Antioksidan	Oksidatif bozunmaya engel olur	<i>Butylated hydroxyanisole (BHA), Butylated hydroxytoluene (BHT)</i>
Tampon ajanı, asit/alkali kaynağı	Ürünün uygun pH'a gelmesini sağlar	<i>Citric acid, Phosphoric acid, Sodium hydroxide, Monobasic sodium Phosphate, Di/Trietanolamine</i>
Taşıyıcı Solvent	Etken maddenin dispersionu veya çözünmesini sağlar	<i>Purified water, Hexylene glycol, Propylene glycol, Oleyl alcohol, Propylene carbonate, Mineral oil</i>

Deriye topikal olarak uygulanan ilaç ürünleri, lokal etki ve sistemik etki sağlayanlar olmak üzere iki genel kategoriye ayrılır. Lokal etki, uygulama bölgesinde (örneğin *stratum corneum*), uygulama bölgesinin altında (epidermis ve dermis gibi dokularda) ve subkutan dokularda gerçekleşebilir. Şekil 2-5’de gösterildiği gibi, lokal etki amacıyla kullanılan dozaj formları olarak merhemler, kremler, emülsiyonlar, köpükler, jeller, losyonlar, pastalar, tozlar, spreyleyler, kollodiyonlar, topikal aerosoller, topikal solüsyonlar ve topikal süspansiyonlar olarak sıralanabilir (USP <1151> 2019). Sistemik etki elde etmek amacı ile deriye uygulama yapılıyorsa, en çok kullanılan preparatlar bir veya daha fazla etken madde içeren, değişken boyutlarda olan, esnek, kendinden yapışkanlı transdermal ilaç dağıtım sistemleri veya transdermal yamalar olarak adlandırılan farmasötik formlardır (USP <1151> 2019).

2.2.1. Jellerin Tanımı ve Özellikleri

Jeller küçük inorganik partiküllerin süspansiyonu veya sıvı ile şişmiş büyük makro moleküllerden oluşan genellikle homojen, berrak yarı katı preparatlardır. (Yener 2012; USP <1151> 2019). Jellerin en önemli özelliği süreklilik oluşturan yapılar içermesi sayesinde yarı-katı form oluşturmalarıdır (Barry 2001). Küçük inorganik yapıdaki partiküller jel yapısı içinde üç boyutlu polimerik matris oluşturur. Doğal veya sentetik polimerler olan büyük inorganik makromoleküller ise birbirlerinin zinciri ile temasta olarak jel yapısını oluşturur (Yener 2012; Tojo ve ark 1987).

Jeller farmasötik ve kozmetik kullanımda birçok avantaja sahiptir. Jeller, merhem ve krem gibi dozaj formlarına göre daha kararlı bir formdur. Jel formülasyonu iyi emilim özellikleri sağlar ve bu nedenle ilacın biyoyararlanımını artırır. Klinik çalışmalar, topikal yolla kullanılan jelin deri ile ilgili hastalıkların tedavisinde güvenli ve etkili bir tedavi seçeneği olduğunu göstermektedir (Rathod ve Metha 2015; Kaur ve Guleri 2013).

Jellerin birçok avantajına rağmen, hidrofobik etken maddelerin kullanılmasında yaşanan zorluklar en büyük dezavantajıdır. Bu sorunun üstesinden gelmek için, bir hidrofobik terapötik yapının verimli bir şekilde dahil edilip, jeller yoluyla iletilebilmesi için emülsiyon bazlı bir yaklaşım kullanılmaktadır. Jeller ve emülsiyonlar birleşik formda kullanıldığında, dozaj formları emüljeller olarak adlandırılır (Pakhare ve ark 2017; Khullar ve ark 2012).

Jeller kolloidal fazlara, kullanılan çözücünün yapısına, fiziksel yapıya ve reolojik özelliklere göre 4 genel kategoriye ayrılır (Sharma ve Singh 2018). Jel

formülasyonlarında kullanılan polimerin molekül ağırlığı kadar jel yapıcı maddenin konsantrasyonu da formülasyonun kıvamını etkiler (Yener 2012). Jelleştirici ajanların konsantrasyonu çoğunlukla %10'dan az, genellikle %0,5 ile %2,0 aralığında kullanılır (Rathod ve Metha 2015; Chandira ve ark. 2010). Jeller, jel yapıcı ajanın yapısına bağlı olarak Newton tipi, plastik veya psödoplastik gibi farklı akış özellikleri gösterebilmektedir (Yener 2012).

Jel hazırlanmasında kullanılan polimerler, sentetik veya doğal özelliktedir (Barui 2018). Topikal ilaç dozaj formunda kullanılacak bir jel yapıcı maddenin şu özelliklere sahip olması beklenir (Pena 1990): inert ve saf olmalı, etken madde ve diğer yardımcı maddelerle geçimli olmalı, düşük konsantrasyonda etkili olmalı; ulaşılabilir ve ekonomik olmalı, saklama ve muhafaza boyunca özelliklerini korumalı, estetik açıdan uygun olmalı, uygulanması kolay olmalı, uygulama sonrası temizliği kolay olmalı. Doğal zamklar, selüloz türevleri, karbomerler jel hazırlanmasında kullanılan başlıca polimerler ve polimerlerin sınıflandırılması Tablo 2-2'de verilmiştir (Bhasha ve ark 2013).

Doğal Polimerler:

Jelatin: Hayvan deri ve kemiklerinden elde edilen doğal bir proteindir ve iki yöntemle elde edilir: A tipi jelatin: Domuz ve sığır postlarından asidik işlem uygulanarak; B tipi jelatin: Boynuz ve kemiklerden alkali işlem uygulanarak.

Pektin: Bazı meyvelerin kök, kabuk ve rizomlarından elde edilir. Asidik polisakkarit yapıda olan pektin; jel formülasyonlarında %0,5-5 oranında kullanılır.

Kitozan: Kitin'in deasetilasyonu ile elde edilen lineer bir aminopolisakkarittir. Kitin, kabuklu deniz hayvanlarının kabuklarında çok miktarda mevcut olan ve yeryüzünde selülozdan sonra en fazla bulunan doğal bir biyopolimerdir. Bakteri fermentasyonu ile üretilir. %0,5-5 oranında jel yapıcı madde olarak kullanılır (Pena 1990).

Aljinatlar: Aljinik asit adı verilen biyopolimerin uzun zincirli tuzlarına aljinat denir. Kahverengi alglerden elde edilir, polisakkarit yapısında bileşiklerdir. Beyaz toz haldedirler. Çoğunlukla sodyum tuzları kullanılır. %1-5 konsantrasyonda jel oluşturur. Çözeltideki iyonlara (kalsiyum) ve elde edildiği alg türüne bağlı olarak viskozitesi ve fonksiyonu değişir (Pena 1990).

Karagen: Galaktoz ve 3,6 anhidrogalaktozun sodyum, potasyum, amonyum, kalsiyum ve magnezyum sülfat esterlerinin karışımından oluşan bir yapıya sahiptir. Kırmızı alglerden elde edilir ve jel hazırlamada %1-5 konsantrasyonda kullanılır (Pena 1990).

Tablo 2-2 Jel oluşturunucu ajanların sınıflandırılması

Doğal Polimerler	Yarı-Sentetik Polimerler	Sentetik Polimerler	İnorganik Bileşikler	Diğer
Agar	Selüloz türevleri	Karbomerler	Mikrokristalin selüloz	Beeswax
Aljinatlar	Sodyum Karboksimetil selüloz	Poloksamerler	Killer	Setilester mumları
Karagen	Metilselüloz	Poliakrilamitler		Alüminyum stearatlar
Kitre Zamkı	Hidroksipropilselüloz	Polietilen ve kopolimerleri		
Pektin	HPMC			
Ksantan	HEC			
Gellan Zamkı				
Guar Zamkı				
Arap Zamkı				
Kitozan				

Gellan zankı: Polisakkarit yapısında bir zank olan gellan zankı, fermentasyonla üretilir. %0,05 gibi çok düşük konsantrasyonlarda dahi jelleşebilir (Pena 1990).

Arap zankı: Nötral ve hafif asit karakterdedir ve kalsiyum, magnezyum ve potasyum iyonlarını içerir. Kokusuz, renksiz ve toksik olmayan bir tuzdur. Viskozitesi, sıcaklığa bağlı olarak değişir. pH 6-7 arasında viskozitesi maksimum değere ulaşır. pH'dan daha yüksek pH'larda viskozitesi azalır. Sodyum sitrat ilavesi ile viskozitesi artar (Pena 1990)

Kitre zankı: Yapısında bassorin ve tragakantin bulunan arap zankı; astragalus türlerinden elde edilir. Jel formülasyonlarında, %0,5-3 konsantrasyonda kullanılır (Pena 1990).

Yarı-Sentetik Polimerler:

Metil selüloz: Jel formülasyonlarında yaygın olarak kullanılan bu polimer; sulu çözeltisinin ısıtılmasıyla jelleşir. Genellikle, %1-5 oranında kullanılır (Rowe ve ark 2009).

Sodyum karboksi metil selüloz: Selülozun polikarboksimetil eterinin sodyum tuzudur. Jel hazırlamada genellikle, %4-6 oranında kullanılır (Rowe ve ark 2009).

Hidroksi etil selüloz (HEC): Suda çözünen noniyonik karakterde bir polimerdir. Jel formülasyonlarında genellikle %1-5 oranında kullanılır (Rowe ve ark 2009).

Hidroksi propil selüloz (HPC): Selülozun polihidroksipropil eteridir. Jel formülasyonlarında genellikle %1-5 oranında kullanılır (Rowe ve ark 2009).

Hidroksipropil metil selüloz (HPMC): Farmasötik formülasyonlarda %0,5-5 oranında kullanılır (Rowe ve ark 2009).

Sentetik Polimerler:

Polaxamerler: polioksietilen/polioksipropilen blok kopolimerleri gibi bazı noniyonik yüzey etkin maddeler %20-40 gibi yüksek konsantrasyonlarda; mineral yağ ve su ile karıştırıldığında saydam görünümlü jel oluşturma özelliğine sahiptirler (Pena 1990).

Karbomerler: %56-68 oranında karboksilik asit içeren akrilik asit polimerleridir. Sentetik, büyük molekül ağırlıklı jel oluşturu maddelerin başında gelir. Farmasötik ve kozmetik endüstrisinde yaygın olarak kullanılırlar. %0,5-2 oranında jel formülasyonlarında kullanılır (Rowe ve ark 2009). Karbomerlerle, alkol veya su yardımıyla jel formülasyonları hazırlanabilmektedir.

Formülasyonlara alkol ilavesi jelin yapısını bozmamasına rağmen, alkol miktarının aşırı artması viskoziteyi ve şeffaflığı azaltır. Jelin viskozitesini, ortamın pH'sı ve çeşitli iyonların varlığı büyük ölçüde değiştirmektedir. Reolojik ve estetik yönden en ideal jel formülasyonu için optimum pH değerini 7 olduğudur. Alkali pH'da viskozite azalır ve geri dönüşsüz yapısal bozukluklar oluşabilir (Pena 1990).

En çok kullanılan karbomerler; Carbopol 934P, 940P ve 974P'dır (Lubrizol, 2011). %0,5-1 oranında Carbopol 934P kullanılarak hazırlanan sulu ve hidroalkolik sistemlerin reogramları, psödoplastik akış göstermektedir. Molekül ağırlığı 3×10^6 olan Carbopol 934P'nin jel oluşturma mekanizması, akrilik asidin yapısındaki karboksilik asit içeriğinin nötralizasyonuna dayanır ve nötralize edildiğinde, şeffaf bir görünüm alır. Nötralizasyon için genellikle dietilamin, trietanolamin veya sodyum hidroksit kullanılır. Carbopol 940 P, hakiki çözeltiler ve hidroalkolik jellerin hazırlanmasında kullanılır. Akışkanlığı yavaştır ve mayoneze benzer bir reoloji gösterir (Pena 1990).

İnorganik Bileşikler

Killer (kolloidal maddeler): Alüminyum silikat yapısındaki Veegum ve Bentonit gibi inorganik polimerler yüksek konsantrasyonda sulu ortamda jel oluşturma özelliğine sahiptir. Ayrıca, mikrokristalin selüloz %0,5-3; mikrokristal silika ise %2-10 oranında jel oluşturur (Pena 1990).

Jellerin hazırlanışı

Jeller genel olarak endüstriyel ölçekte oda sıcaklığında üretilir. Ancak üretim prosesinden önce jel formülasyonlarında kullanılan polimerlerin özel işlemlere tabi tutulması gerekir. Jel formülasyonlarında solvent, tampon, koruyucu, antioksidan, tatlandırıcı gibi bileşenler kullanılabilir. Jel formülasyonların hazırlanmasında kullanılacak bileşenlerin toksik olmaması, birbirleri ve varsa etken madde ile uyumlu olması gerekir. (USP <1151> 2019; Sharma ve Singh 2018).

Jel Oluşum Mekanizmaları:

Uygun bir çözücü ile jel yapıcı maddeler karıştırıldığında, üç boyutlu kolloidal bir ağ yapısında yarı katı bir polimer oluştururlar ve sonuçta oluşan polimerin yapısı değişir ve reolojik özelliklerini etkiler. İlaç endüstrisinde kullanılan jel yapıcı maddelerin çoğu, spiral ağ yapısında düzensiz polimer oluştururlar. Bu yapı, genellikle, polimer-polimer ve polimer-çözücü etkileşimi sonucunda oluşur (Barry 2001).

Polimer-polimer etkileşimi: Polimer konsantrasyonu arttıkça, partiküller arası mesafeler azalır ve polimer zinciri katlanır. Ağ yapısını oluşturan çapraz bağların sayısının artması ile polimer zincirlerinin birleşmesini sağlar. Çözücü moleküllerinin kinetik enerjisi azalır; akmaya karşı direnç artar ve jel oluşur (Barry 2001; Pena 1990).

Polimer-çözücü etkileşimi: Çözücü moleküllerinin polimere ilgisi artarsa, polimer zincirleri çözücü molekülleri tarafından sarılır ve düzensiz ağ yapısının genişlemesini sağlar. Eğer çözücü zayıf ise, polimer zincirleri ile temas daha az olacağından çapraz bağların sayısı azalır ve jel daha zayıf yapılı olur (Barry 2001; Pena 1990).

2.2.2. Jel formülasyonlarında yapılan testler

Farmakope testleri ile sınırlı kalmadan; görünüş, pH ölçümü, viskozite ölçümü, akışkanlık, homojenlik, etken madde içerik tekdüzeliği, etken madde ve koruyucu (varsa) miktar tayini, partikül boyutu veya partikül morfolojisi (etken madde dispersiyon ise),

sızdırmazlık, stabilite testleri, *in vitro* permeabilite çalışması, *in vivo* çalışmalar, deri irritasyon testi gibi değerlendirmeler ile jel formülasyonunun uygunluğu kontrol edilmektedir (Sharma ve Singh 2018; Hardenia ve ark. 2014; Brown ve ark 2012; Chang ve ark 2013).

2.2.3. Emüljel yapısı

Jel yapıcı bir madde ile karıştırılarak jelleştirilen, su içinde yağ veya yağ içinde su tipinde emülsiyonlardır. Hem su içinde yağ hem de yağ içine su emülsiyonları, terapötik özellikleri için deriye çeşitli etken maddelerin verilmesinde kullanılan en yaygın dozaj şekildir. Emüljeller deriye nüfuz etme yeteneği yüksek, kolay uygulanan ve kolay yıkanabilen dozaj formudur (Pakhare ve ark 2017; Hardenia ve ark 2014).

Emuljellerin avantajları:

- Hidrofobik özellikteki etken maddelerin topikal kullanımı
- Diğer dozaj şekillerine göre daha fazla etken madde yüklenmesi
- Yüksek stabilite
- Kolay hazırlanabilirlik ve düşük maliyet
- Kontrollü salım yapabilmesi
- Sonikasyonun olmaması

şeklinde sıralanabilir (Hardenia ve ark 2014; Wang ve Fang 2008; Panwar ve ark 2011)

2.3. Topikal Uygulanan Antienflamatuvar ve Kas Gevşetici İlaçlar Hakkında Genel Bilgiler

Kas ve iskelet sistem hastalıkları tedavi seçenekleri arasında non-farmakolojik tedaviler, manuel ve fizyolojik tedaviler, tamamlayıcı tedaviler ve farmakolojik yaklaşımlar (Analjezikler veya NSAİ ilaçlar) bulunmaktadır (Babatunde ve ark 2017). NSAİ ilaçlar, kas ve iskelet sistemi hastalıklarında hem antienflamatuvar hem de analjezik özellikleriyle yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu kategorideki ilaçların kullanımının akut yaralanmalardan uzun vadeli kronik hastalığa kadar geniş olduğu belirtilmektedir (Nair ve Taylor-Gjevre 2010).

Kas ve iskelet sistemi rahatsızlıkları, tipik olarak ağrı (genellikle kalıcı ağrı), hareket ve el becerisi ile fonksiyonel yetenekteki kısıtlamalar ile karakterize edilmektedir. En sık görülen ve engelleyici kas-iskelet sistemi rahatsızlıkları Osteoartrit (OA), sırt ve

boyun ağrısı, kemik kırılabilirliği ile ilişkili kırıklar, yaralanmalar ve Romatoid Artrit (RA) olarak belirtilmektedir.

Topikal uygulamamanın getirdiği avantajlar arasında ilk geçiş etkisinden kurtulmak ve sistemik kullanım ile gerekli yüksek doz konsantrasyonunu azaltmak yer alır (Vaile ve Davis 1998). NSAİ İlaçlar, kas ve iskelet sistemi hastalıklarında en çok tercih edilen ve yaygın olarak kullanılmasına karşın; gastrointestinal, kardiyovasküler ve renal yan etkilerinden şikâyet, hastaneye yatış veya uzun süreli kullanımdan dolayı ölümlerin gerçekleştiği uzunca yıllardır bilinmektedir (Haroutiunian ve ark 2010). Bu nedenle, topikal uygulanan antienflamatuvar ve kas gevşetici ilaçlar geliştirilmesindeki amaç, sistemik absorpsiyonu düşürmek ve toksisitesini sınırlandırmak yoluyla lokal etki ve fayda sağlamaktır (Nair ve Taylor-Gjevre 2010). NSAİ İlaçların jel, krem veya sprey şeklinde topikal preparatları ile uygulanması her zaman tercih edilmektedir (Massey ve ark 2010).

2.3.1. NSAİ İlaçlar Hakkında Genel Bilgiler

Non-steroidal antienflamatuvar (NSAİ) ilaçlar yapısal olarak birbirine yakın iki siklooksijenaz enziminin, COX-1 ve COX-2'nin yarışmalı ve geri dönüşümlü inhibitörleridir. Bunlar, enflamatuvar PGE ve PG prostaglandinleri ve vazodilatör prostanoitler tromboksan A₂ (TXA₂) ve prostasiklin (PGI₂) biyosentezinde hız sınırlayıcı enzimlerdir. COX enzimlerinin inhibisyonu, enflamatuvar yanıtın sönmesine neden olur (Zito ve ark 2019).

2.3.2. Kas Gevşeticiler Hakkında Genel Bilgiler

Kas gevşeticiler genellikle üst nöron sendromlarından spastisite, kas ağrıları ve periferik kas iskelet sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Mevcut kullanımdaki kas gevşeticiler farklı etkinlik, etki mekanizması ve yan etki profili göstermektedir. İyi tolere edilen bir ilaç grubudur, en sık yan etkilerinin uyku hali ve bulantı olduğu belirtilmektedir. Kas gevşeticiler farmakolojik etkilerini merkezi olarak omurilik, beyin sapı veya beyincikte gösterirken kas lifleri üzerine de etkileri bulunmaktadır (Sharmila 2015).

2.3.3. Diklofenak Hakkında Genel Bilgiler

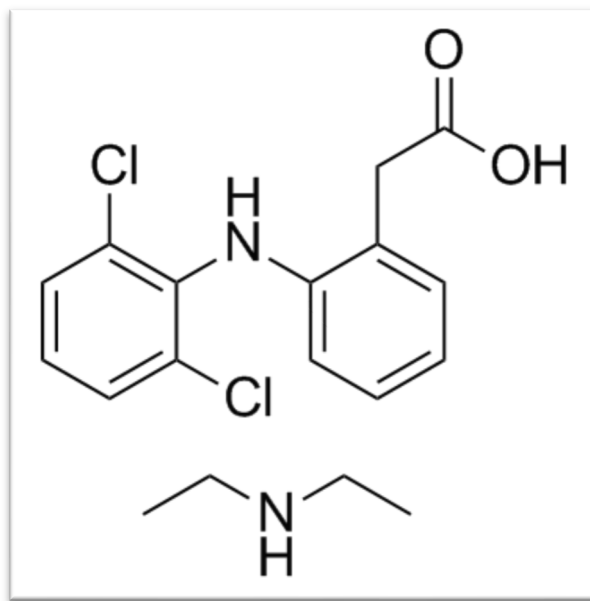
2.3.3.1. Diklofenak'ın Tanımı ve Tarihçesi

Diklofenak, dünya çapında en yaygın reçete edilen non-steroidal antienflamatuvar ilaçlardan biridir. 1973 yılında Alfred Sallmann ve Rudolf Pfister tarafından sentezlenen fenil asetik asit türevi bir moleküldür ve analjezik, antipiretik ve antienflamatuvar etkilere sahiptir (Franceschi ve ark 2015; Açıkgöz ve ark 1994). Asidik diklofenak iyonize olmayan formlarında suda düşük çözünürlük göstermektedir ve bu durum yüksek erime derecesinden ve intrinsik hidrofobik yapısından kaynaklanmaktadır. Çözünürlük problemlerinin üstesinden gelmek amacıyla formülasyonlarda tuz formları tercih edilmektedir (Fini ve ark 2012).

Diklofenak veya tuzlarının onaylı oral ve topikal kullanılan birçok farmasötik formu dünyada ticari ürün olarak yer almaktadır (Altman ve ark 2015)

2.3.3.2. Diklofenak Dietilamonyum'un Yapısı ve Özellikleri

Diklofenak sodyum, bir fenilsetik asit türevidir. Asitlik sabiti 4,0 ve partiyon katsayısı 13,4'tür. Yapısında fenil asetik grubu, sekonder amin grubu ve klor atomları içeren fenil halkası bulundurur (Açıkgöz ve ark, 1994). Diklofenak sodyum beyazdan açık sarıya değişen renkte, higroskopik, kristalize bir tozdur. Suda az çözünür, alkolde çözünür, asetonunda hafifçe çözünür; eterde pratik olarak çözünmez, metil alkolde serbestçe çözünür.



Şekil 2-6: Diklofenak Dietilamonyum kimyasal yapısı

Eşanlamları: Diklofenak dietilamin, Diklofenak dietilamonyum tuzu, *Diclofenac diethylamine (ing)*, *Diclofenac diethylammonium salt (ing)*

Molekül ağırlığı: 369.3 g/mol

CAS No: 78213-16-8

Kapalı formül: $C_{18}H_{22}Cl_2N_2O_2$

IUPAC İsmi: [(Dikloro 2,6 fenilamino)-2 fenil] 2 asetat Dietilamonyum,

2-{2-[(2,6-dichlorophenyl)amino]phenyl}acetic acid; diethylamine (ing)

Görünüş: Beyaz veya açık bej renkli kristal toz

Çözünürlük: Su ve asetonda eser miktarda çözünür, etanol (%96) ve metanolde serbestçe çözünür, 1M NaOH' de pratikte çözünmez.

Erime Noktası: Yaklaşık 154 °C' de bozunarak erir.

logP: 4.26; pKa: 4 (DrugBank 2019)

2.3.3.3. Diklofenak Dietilamonyumun Farmakodinamik Özellikleri

Etki Mekanizması

Diklofenak antienflamatuvar etkilerini prostaglandin sentezi için gerekli olan siklooksijenaz enzimini inhibe ederek gösterir. Travmatik veya romatizmal kaynaklı enflamasyonda, diklofenak jelin ağrıyı dindirdiği, ödemi azalttığı ve normal fonksiyonlara dönüş süresini kısalttığı gösterilmiştir. (Voltaren Emüljel-KÜB 2017)

Diklofenak'ın topikal etki mekanizmasıyla ilgili olarak yapılan çalışmalarda, yüksek doku konsantrasyonlarda nosiseptif afferent lifler üzerindeki lokal anestezik benzeri etkilere aracılık etmek için sodyum kanal blokörü gibi etki etme potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir (Nair ve Taylor-Gjevre 2010).

Endikasyonları

Diklofenak jel analjezik ve antienflamatuvar etkileriyle; osteoartrit, romatoid artrit, periartrit, tendinit, tenosinovit ve bursit gibi romatizmal hastalıkların, ezilme ve burkulma gibi yumuşak doku travmalarının, ağrı, enflamasyon ve kas gerginliği ile kendini gösteren kas-iskelet sistemi hastalıklarının lokal tedavisinde endikedir (Voltaren Emüljel-KÜB 2017).

2.3.3.4. Diklofenak Dietilamonyumun Farmakokinetik Özellikler

Diklofenak dietilamonyum tuzu jel formu topikal olarak uygulanmaktadır. Uygulandığı deri bölgesinden absorbe olur. Sağlıklı gönüllülerde deriye jel formunda uygulandığında idrarda saptanabilir düzeylerde bulunur; jel formunda uygulandığında idrarda ölçülen diklofenak ve hidroksilli metabolitlerinin miktarı ağızdan verilen aynı miktardaki ilacın yaklaşık %6'sına eşdeğerdir. Romatoid artritli hastalarda enflamasyonlu bilek bölgesinden ameliyat sırasında alınan sinoviyal doku ve sinoviyal sıvı örneklerinde ölçülen aktif madde konsantrasyonlarının, plazma konsantrasyonlarından daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu bulgular diklofenak dietilamonyumun topikal olarak uygulandığında enflamasyonlu bölgeye derinlemesine penetre olduğunu göstermektedir (Radermacher ve ark 1991; Voltaren Emüljel-KÜB 2017)

Emilim

Deriden emilen diklofenak miktarı, jelin uygulandığı cilt ve tedavi alanına temas süresi ile orantılı olup toplam uygulanan doz ve derinin hidrasyonuna da bağlıdır. 500 cm²'lik bir alana 2,5 g Diklofenak jel topikal uygulamasından sonra, diklofenak dozunun yaklaşık %6'sı emildiği bildirilmektedir. 10 saatlik oklüzyon ile emilen diklofenak miktarının 3 katına çıkmasını sağlandığı bildirilmektedir (Voltaren Emüljel-KÜB 2017).

Dağılım

Diklofenak dietilamonyum jel formu el ve diz eklemlerine lokal olarak uygulandıktan sonra, plazma, sinoviyal doku ve sinoviyal sıvıdaki diklofenak seviyeleri ölçülebilir. Topikal uygulamasından sonra elde edilen en yüksek diklofenak plazma konsantrasyonları tablet formuna göre yaklaşık 100 kat daha düşüktür. Diklofenak başlıca albümin (%99,4) olmak üzere serum proteilerine %99,7 oranında bağlanır. Diklofenak cilt içinde birikerek bu dokularda uzatılmış salım sağlayan rezervuar gibi etki göstermektedir. Bu bölgeden öncelikli olarak dağılır ve derin iltihaplı dokularda (eklemler gibi) kalır. Bu dokularda plazmaya karşı 20 kat daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmuştur.

Biyotransformasyon

Ağızdan alınan Diklofenak sodyumun hemen hemen tamamı absorbe olurken ilk geçişte metabolize olan ilacın %60'ı değişmeden dolaşıma geçmektedir (Açıkgöz ve

Hıncal 1994). Diklofenakın biyotransformasyonu, kısmen esas molekülün glukuronidasyonu, fakat esas olarak, çoğu glukuronid konjugatlarına halinde atılan, çeşitli fenolik metabolitlerin elde edildiği, tek veya multipl hidroksilasyon yolu ile olur. Bu fenolik metabolitlerin ikisi, diklofenaka kıyasla çok az da olsa, biyolojik olarak aktiftir.

Eliminasyon

Diklofenakın plazmadan total sistemik klerensi 263 ± 56 ml/dk.'dır. Plazma terminal yarı ömrü 1-2 saattir. İki aktif metabolit de dahil olmak üzere metabolitlerin dördü de 1-3 saatlik kısa bir yarılanma ömrüne sahiptir. Diğer bir metabolit 3-hidroksi-4-metoksi diklofenak uzun bir yarılanma ömrüne sahip olmakla birlikte hemen hemen inaktiftir. Diklofenak ve metabolitleri başlıca idrarla atılır (Voltaren Emüljel-KÜB 2017).

2.3.3.5. Diklofenak Dietilamonyum İçeren İlaç Ürünleri

Ülkemizde Diklofenak veya tuzlarını içeren farklı farmasötik formlarda birçok ürün ilaç pazarına sunulmuştur. Diklofenak içeren dozaj formları; enjektabl preparat, jel ve kombine jel, oftalmik preparat, sprey, supozituar, tablet ve kombine tabletlerdir. Tablo 2-3'de Türkiye'deki Diklofenak içeren topikal ilaç ürünleri TITCK web sitesinden derlenerek tablo halinde sunulmuştur.

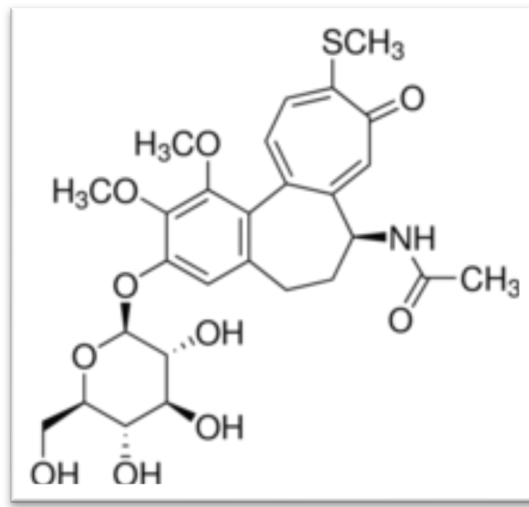
Tablo 2-3: Türkiye'de Diklofenak içeren topikal müstahzarları

İlaç Adı	Firma	İlaç Dozu
Actinoma jel	Orva	%3
Aklofen Jel	Berko	%3
Albaran Jel	Kentfarma	%1
Clodifen Jel	World Medicine	%1; %5
Diclative Jel	Pharmactive	%1
Diclomec Jel	Abdi İbrahim	%1
Dicol Jel	Biofarma	%1
Difenak Jel	Terra	%1
Diklofar Jel	Farmalas İlaç	%1
Dikloron Jel	Deva	%1
Elfenor Jel	Vefa İlaç	%5
Romatim Jel	Kurtsan	%1
Voltaren Emulgel	Gloxosmithklein	%1; %2,2
Kombine Jeller		
Diclomec Plus Jel (Diklofenak-Tiyokolşikozit))	Abdi İbrahim	%1-%0,25
Muscoflex Duo Jel (Diklofenak-Tiyokolşikozit)	Bilim	%1-%0,25

2.3.4. Tiyokolşikozit Hakkında Genel Bilgiler

2.3.4.1. Tiyokolşikozit'in Tanımı ve Tarihçesi

Tiyokolşikozit, *Gloriosa superba* bitkisinde bulunan doğal bir glikozit olan kolşikozitin sülfürlenmesiyle elde edilen yarı sentetik bir moleküldür (Umarkar 2011). 35 yıldan fazla bir sürede klinikte çizgili kaslar üzerine olan kas gevşetici özelliklerinin yanı sıra antienflamatuvar ve analjezik olarak kullanılmaktadır. Bu özellikleriyle ortopedik, travmatik ve romatolojik rahatsızlıklarda endikedir (Aguzzi ve ark 2008; Reuter ve ark 2010).



Şekil 2-7: Tiyokolşikozitin kimyasal yapısı

Eşanlamları: *Thiocolchicoside (ing)*

Molekül ağırlığı: 563,62 g/mol

CAS No: 602-41-5

Kapalı Formül: $C_{27}H_{33}NO_{10}S$

IUPAC İsmi: (S)-N-(1,2-Dimetoksi-3-glukopiranosiloksi-10-metiltiyo-9-okso-5,6,7,9-tetrahidrobenzo[a]heptalen-7-il)asetamid,

N-[(10S)-3,4-dimethoxy-14-(methylsulfanyl)-13-oxo-5-{[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}tricyclo[9.5.0.0²,7]hexadecan-1(16),2,4,6,11,14-hexaen-10-yl]acetamide (ing)

Görünüş: Sarı kristal toz

Çözünürlük: Suda çözünür (0,348 mg/mL), Alkolde yavaş çözünür, Aseton ve eterde pratikte çözünmez.

Erime Noktası: 190-198 °C

logP: 0,34; pKa: 12,2 (DrugBank 2019)

2.3.4.2. Tiyokolşikozitin Farmakodinamik Özellikleri

Etki Mekanizması

Tiyokolşikozit, G-amino bütirik asit tip A (GABA-A) ve strikinin duyarlı glisin reseptörlerine bağlanmaktadır. GABA-A reseptör antagonisti olarak görev yaparak supraspinal düzeyde kas gevşetici etki göstermektedir. Düzenleyici nitelikteki etki mekanizmasında glisinerjik mekanizma da yer almaktadır. Diğer bir etki yolunun ise, kemokin ve prostanoid üretiminin modüle edilmesini, nötrofil ve eklem inflamasyonu ile ilişkili olan endotel hücre adezyon moleküllerinin inhibe edilmesidir (Umarkar ve ark 2011). Yapılan çalışmalarda herhangi bir sedatif yan etki olmadan kas gevşemesini indüklediği, deneysel modellerde ise analjezik ve antienflamatuvar etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Ketenci ve ark 2009).

Son zamanlarda tiyokolşikozit içeren topikal ürünlerin etki mekanizması ve farmakokinetik özellikleri tartışılmaya başlanmıştır. 2017 yılından Marco Gervasi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma sonucunda etkisini, glisinerjik veya GABAnerjik gibi yollar aracılığı ile merkezi sinir sistemi yolu üzerinden değil, miyofasial dokulara doğrudan etki etmesi ile gösterdiği bildirmektedir. Ayrıca, bu etkinin sadece miyoreleksan ile sınırlı kalmadığını, Tiyokolşikozit'in antienflamatuvar ve analjezik etkilerinden kaynaklandığını ileri sürmektedir (Gervasi ve ark 2017).

Endikasyonları

Tiyokolşikozit, antienflamatuvar ve analjezik etki gösteren bir kas gevşeticidir, aynı zamanda topikal olarak kas spazmları ve romatolojik, ortopedik ve travmatolojik hastalıklarda kullanılmaktadır (Umarkar ve ark 2011). Terapötik endikasyonların yetişkinlerde ve 16 yaştan itibaren adolesanlarda, akut spinal patolojideki ağrılı kas spazmlarının ek tedavisinde endike olduğu belirtilmektedir. Merhemlerde ise ağrılı kas spazmlarının semptomatik tedavisinde endike olduğu belirtilmiştir (Muscoril Merhem-KÜB 2014).

2.3.4.3. Tiyokolşikozitin Farmakokinetik Özellikleri

Emilim

IM uygulama sonrası C_{maks} 'a 30 dk'da 4 mg doz için 113 ng/ml'ye, 8 mg doz için 175 ng/ml'ye ulaşır. Bunlara karşılık gelen AUC değerleri ise sırasıyla 283 ng.h/ml ile 417 ng.h/ml'dir. Farmakolojik olarak aktif olan metabolit SL18.0740 da düşük konsantrasyonlarda gözlenmektedir. Oral uygulama sonrası plazmada tiyokolşikozite rastlanmazken, farmakolojik olarak aktif SL18.0740 metaboliti ile inaktif olan SL59.0955 metabolitine rastlanır (Muscoril Merhem-KÜB 2014).

Dağılım

8 mg'lık IM uygulama sonrası Tiyokolşikozitin görünür dağılım hacmi 42,7 L'dir.

Metabolizasyon

Oral uygulama sonrası Tiyokolşikozit öncelikle aglikon 3-demetil-tiyokolşikozin (SL59.055)'e metabolize olur. Bu adımın esas olarak intestinal metabolizma aracılığıyla gerçekleşmesi, oral yolla uygulandığında dolaşımda değişmemiş Tiyokolşikozit bulunmayışını açıklamaktadır. Daha sonra SL59.0955, Tiyokolşikozite eşdeğer farmakolojik etkinliğe sahip olan SL18.0740'a metabolize olur ve oral uygulama sonrasında Tiyokolşikozitin farmakolojik etkinliğini destekler. SL59.0955, didemetil-tiyokolşikozine de demetilasyonu olur.

Eliminasyon

IM uygulama sonrasında Tiyokolşikozitin görünür eliminasyon yarı ömrü ($t_{1/2}$) 1,5 saat, plazma klerensi 19,2 L/saat'tir. Oral uygulama sonrasında feçesle atılma %79 oranındayken idrarla atılma %20 oranındadır (Muscoril Merhem-KÜB).

2.3.4.4. Tiyokolşikozit İçeren Müstahzarlar

Ülkemizde Tiyokolşikozit içeren enjektabl preparatlar, kombine jel preparatları, kapsül, krem, pomat ve kombine sprey preparatları, tablet, kombine tablet ve kombine toz preparatları bulunmaktadır. Tablo 2-4'de kombine jel, sprey, krem ve merhem ticari müstahzarları TITCK web sitesinden alınarak verilmiştir.

Tablo 2-4: Türkiye’de Tiyokolşikozit içeren topikal müstahzarları

İlaç Adı	Firma	İlaç Dozu
Jel kombine		
Diclomec Plus Jel(Diklofenak dietilamonyum tuzu-Tiyokolşikozit)	Abdi İbrahim	% 1-% 0.25
Elektra Plus Jel (Deksketoprofen trometamol-Tiyokolşikozit)	Santa Farma	% 1.25-% 0.25
Majezik Duo Topikal Jel (Flurbiprofen-Tiyokolşikozit)	Sanovel	% 5-% 0.25
Muscoflex Duo Jel (Diklofenak dietilamonyum tuzu-Tiyokolşikozit)	Bilim	% 1-% 0.25
Nimes Combo Jel (Nimesulid-Tiyokolşikozit)	Sanovel	% 1-% 0.25
Sarcophen Jel (Deksketoprofen trometamol-Tiyokolşikozit)	Pharma Dor	% 1.25-% 0.25
Tiyokas Jel (Deksketoprofen trometamol-Tiyokolşikozit)	Nobel	% 1.25-% 0.25
Krem		
Muscoflex Krem (Tiyokolşikozit)	Bilim	% 0.25
Merhem		
Muscoril Merhem, (Tiyokolşikozit)	Sanofi	% 0.25
Recoside Merhem (Tiyokolşikozit)	Ali Raif	% 0.25
Kombine Sprey		
Majezik Duo Topikal Sprey (Flurbiprofen-Tiyokolşikozit)	Sanovel	% 5-% 0.25

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Formülasyon Geliştirme, Analitik Validasyon, in vitro Salım Testi ve Proses Validasyonda Kullanılan Malzemeler ve Gereçler

Kimyasal Maddeler

Diklofenak Dietilamonyum (Aarti)

Tiyokolşikozit (Alchem)

Carbopol 974 (Lubrizol)

İzopropil Alkol (Deepak)

Propilen Glikol (Ineos)

Likit Vazelin (Petroyağ)

Cetomacragol 1000/ Emulgin B2 PH/Kolliphor CS 20 (BASF)

Cetiol LC PH/Kollicream 3C (BASF,

Trietanolamin (Panreac ITW)

Mentol Esansı (Aromsa)

Lavanta Esansı (Aromsa)

Aluminyum Tüp (Perfektüp)

Metanol HPLC (Merck)

Su (ELGA)

Water R (Reagents (R), European Pharmacopoeia 7.0)

Asetonitril (Merck)

Metanol (Merck)

Potasyum Dihidrojen Fosfat (Merck)

Orto-fosforik asit (Merck)

Diklofenak Dietilamonyum Çalışma Standardı (Aarti, Hindistan)

Diklofenak Safsızlık A Standardı (Aarti, Hindistan)

Tiyokolşikozit Çalışma Standardı (Alchem, Hindistan)

Kolşikozit Safsızlık Standardı (Alchem, Hindistan)

Kolşisin Safsızlık Standardı (Alchem, Hindistan)

Ekipmanlar

Çalkalayıcı su banyosu (Wisebath)

Ultrasonik Banyo (Sonorex)

Distile su cihazı (Elga Purelab Option)

Franz Difüzyon Sistemi (PermeGear, V6A Stirrer)

Manyetik karıştırıcı (IKA®-Werke, RT 15)

Selüloz Asetat Membran (Sartorius)

Ceketli Karıştırıcı (Erweka)

Pervaneli karıştırıcı (IKA)

Mobil pH metre (Mettler Toledo)

Nylon (PA) Filtre (Chromafil)

PET Filtre (Chromafil)

PTFE Filtre (Millipore)

PVDF Filtre (Millipore)

RC Filtre ((Chromafil)

HPLC/YBSK (Shimadzu)

Kolon 120-10-Phenyl 3µm; 150 x 4,6 mm (EMR ChrometiSIL)

Kolon: C-8 (250 x 4,6 mm) 5 µm (Zorbax-Agilent)

Hassas Terazı (Sartorius)

Stabilite Kabinleri (Onat Climatic)

Pomat İmalat Kazanı (Taşkın)

Likit Stok Kazanı (Concept)

Tüp Dolum TFS 10 Makinası (IWKA)

3.2. Formülasyon Çalışmaları

Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyonu geliştirmenin amacı; kullanımda olan Diklofenak (Dietilamonyum)'un %1 (Voltaren Emulgel %1, Menşei:Almanya) ve Tiyokolşikozit'in %0.25 (Muscoril Merhem %0,25, Menşei:Türkiye) konsantrasyonlarını aynı jel formülü üzerinde birleştirerek hastanın bir arada kullanımında kolaylığı sağlamak ve hasta uyuncunu arttırmaktır.

3.2.1. Etkin Maddeye Ait Fiziksel Özellikler

Diklofenak Dietilamonyum ve Tiyokolşikozit etken maddesinin çözünürlüğü, stabilitesi, safsızlık profili, miktar tayini, pKa'sı ve pH'sı gibi kritik parametreleri formülasyon gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Etkin maddelerin tamamen çözündüğü için partikül boyut dağılımı önem teşkil etmemektedir. Temin edilen etken maddelerin öncelikle IR spektrumlarında tanıma testleri yürütülmüştür.

3.2.1.1. Diklofenak Dietilamonyum Tanıma

Temin edilen Diklofenak Dietilamonyum molekülü, İngiliz Farmakopesi'ne (BP) kayıtlıdır ve fiziksel analizlerden tanıma testi yapılmıştır.

1-2 mg test numunesi havana alınır ve üzerine 300-400 mg kurutulmuş potasyum bromür eklenerek, ezilir ve iyice karıştırılır. 10-15 mm çapında ince bir plaka hazırlanarak, önceden yüklenmiş olan kurutulmuş potasyum bromür kör olarak alınarak spektrumu kaydedilir. Aynı prosedür, Diklofenak dietilamonyum çalışma standardı için tekrarlanır.

Test numunesinden elde edilen IR absorpsiyon spektrumu, Diklofenak dietilamonyum çalışma standardından elde edilen spektrum ile uyumlu olmalıdır.

3.2.1.2. Tiyokolşikozit Tanıma

Tiyokolşikozit, 1985 yılında Fransız Farmokopesine (FP) giriş yapmıştır. Ocak 2018'den itibaren geçerli olmak üzere Avrupa Farmakopesi'ne (EP 9.3) giriş yapmıştır. Alcehm firmasından temin edilen etken madde Fransız Farmakope'siyle uyumludur, bu bakımdan fiziksel analizlerden tanıma testi yapılmıştır:

1-2 mg test numunesi havana alınır ve üzerine 300-400 mg kurutulmuş potasyum bromür eklenerek, ezilir ve iyice karıştırılır. 10-15 mm çapında ince bir plaka hazırlanarak, önceden yüklenmiş olan kurutulmuş potasyum bromür kör olarak alınarak spektrumu kaydedilir. Aynı prosedür, Tiyokolşikozit SCR FR çalışma standardı için tekrarlanır.

IR absorpsiyon spektrofotometrisiyle incelenir. İncelenen maddenin vermiş olduğu spektrum, Tiyokolşikozit SCR FR standardı spektrumu ile benzer pozisyon ve bağıl şiddette maksimum gösterir.

3.2.2. Etken Maddelerin Miktar Tayini Analizi ve Yöntemi

Formülasyon geliştirme uygunluğu ve geliştirilen formülasyonun etiket dozunu karşıladığını gözlemek amacıyla kullanılacak etken maddelerin hammadde ve bitmiş ürünlerdeki miktar tayini (*assay*) kontrol edilir. Aarti firması kaynaklı Diklofenak Dietilamonyum ve Alchem firması kaynaklı Tiyokolşikozit hammaddesinin miktar tayini analizleri yürütülmüştür.

3.2.2.1. Diklofenak Dietilamonyum Tayini

Diklofenak Dietilamonyum molekülü, İngiliz Farmakopesi'ne (BP) kayıtlıdır ve miktar tayini potansiyometrik analiz olarak aşağıda açıklandığı gibi yürütülmüştür

0,5 g hammadde 30 mL susuz asetik asit içerisinde çözülür, potansiyometrik olarak EP Susuz titrasyon Metot I (Ek VIII A) ile son nokta belirlenir. Her bir 0,1 M perklorik asit çalışma standardı'ı, 36.93 mg Diklofenak Dietilamonyum'a eşdeğerdir.

Limit: Kuru baz olarak hesaplandığında sonuçlar %99,0-%101,0 aralığında olmalıdır.

3.2.2.2. Tiyokolşikozit Tayini

Tiyokolşikozit etken maddesi, 1985 yılında Fransız Farmakopesine (FP) giriş yapmıştır. Ocak 2018'den itibaren geçerli olmak üzere Avrupa Farmakopesi'ne (EP 9.3) giriş yapmıştır. Alchem firmasından temin edilen etken madde Fransız Farmakope'siyle uyumludur, fakat miktar tayini yöntemi bulunmadığından miktar tayini analizi EMAD metoduna göre ve YBSK cihazı ile aşağıda açıklandığı gibi yürütülmüştür.

Kullanılan Cihazlar : İkili Gradient HPLC Sistemi

Mobil Faz : Mobil fazda su ve Asetonitril (HPLC Saflıkta) kullanılır.

Kromatografik Şartlar:

Çözücü A : Su

Çözücü B : Asetonitril

Gradient Koşulları:

Zaman (dk)	Akış (mL/dk)	% A	% B
0,01	1,0	90	10
10	1,0	90	10
11	1,0	75	25
12	1,8	75	25
15	1,8	75	25
17	1,8	70	30
18	1,8	70	30
20	1,8	90	10
22	1,0	90	10
Kolon : C-8 (250x4,6 mm) 5µm			
Dalga Boyu : 370 nm			
Enjeksiyon Süresi : 22 dk			
Enjeksiyon Hacmi :20 µL			

Numune Çözeltisi: 100 mg Tiyokolşikozit numunesi 100 mL'lik balon jojeye tartılır, tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar su eklenir. Çözelti 15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. Bu çözeltiden 10 mL alınır ve 100 mL'lik balon jojeye eklenir, tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar su eklenir. Çözelti 15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. Çözeltiden T1 ve T2 olmak üzere iki çözelti hazırlanır.

Standart Çözeltisi: 100 mg Tiyokolşikozit standardı 100 mL'lik balon jojeye tartılır, tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar su eklenir. Çözelti 15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. Bu çözeltiden 10 mL alınır ve 100 mL'lik balon jojeye eklenir, tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar su eklenir. Çözelti 15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. Çözeltiden S1 ve S2 olmak üzere iki çözelti hazırlanır.

Enjeksiyon Sıralaması: *Blank*, S1, S1, S1, S2, T1, T2, S1, S1, S1.

T1 sonuçları S1 standardının 6 enjeksiyonun ortalama alanın ve T2 sonuçları S2 standardının alanı ile hesaplanır. Final sonuç T1 ve T2'nin ortalaması ile hesaplanır ve bireysel sonuçlar limit içinde olmalıdır.

Sistem Uygunluk: Rölatif standart sapma S1 standardının 6 enjeksiyonundaki Tiyokolşikozit pik alanı için hesaplanır ve sonuç $\leq$ %2,0 olmalıdır.

S1 standardının ilk enjeksiyonu için;

Teorik Plaka Sayısı: en az 75.000

Tiyokolşikozit pikinin kuyruklanma faktörü Maks. 1,6

Tiyokolşikozit kuru bazda hesaplanır:

Hesaplama için konsantrasyon faktörü ile standardın ağırlığı düzenlenir.

$$\frac{H1}{H2} \times \frac{J1}{J2} \times \frac{100}{(100 - \%LOD)} \times 100$$

H1: Numune çözeltisindeki Tiyokolşikozit'in alanı

H1: Standart çözeltisindeki Tiyokolşikozit'in alanı

J1: Standart Tiyokolşikozit ağırlığı

J2: Numune Tiyokolşikozit ağırlığı

3.2.3. Etken Maddelerin İlgili Bileşikler (Safsızlık) Analizi ve Yöntemi

Formülasyon geliştirme uygunluğu ve geliştirilen formülasyonun uygun stabilite koşullarını karşıladığını gözlemlemek amacıyla kullanılacak etken maddelerin hammadde ve bitmiş ürünlerdeki safsızlıkları kontrol edilir. Aarti firması kaynaklı Diklofenak Dietilamonyum ve Alchem firması kaynaklı Tiyokolşikozit hammaddesinin miktar tayini analizleri yürütülmüştür.

3.2.3.1. Diklofenak Dietilamonyum Safsızlık Tayini

Diklofenak dietilamonyum etken maddesi analizlerinde ilgili bileşikler (safsızlık) EMAD ve BP metoduna göre tayin edilmektedir.

Kromatografik Şartlar:

Cihaz: Shimadzu HPLC

Dedektör : UV-VIS, DAD

Kolon : Zorbax C8 250 x 4,6 mm, 5 µm kolon

Dalga Boyu : 254 nm

Akış Hızı : 1mL/dk

Enjeksiyon Hacmi : 20 µL

Analiz Süresi : 45 dk

Kolon Sıcaklığı : 25 °C

Mobil Faz : Tampon : Metanol (34:66)

Tampon Çözeltisi

2,080 g sodyum dihidrojen fosfat tartılır, 2L'lik balona aktarılır ve 1 L Su R ile çözülür. Bu çözeltinin üzerine 0,58 mL ortofosforik asit ilave edilir ve Su R ile 2L hacmine tamamlanarak manyetik karıştırıcı ile karıştırılır. Ortofosforik asit ile pH'ı $2,5 \pm 0,05$ 'e ayarlanır ve karıştırılır.

Mobil Faz

pH 2,5 Fosfat Tamponu ile Metanol (34:66) oranlarında karıştırılır. 0,45 µm'lik filtre ile süzülür ve degaze edilir.

Test Çözeltisi

100,0 mg numune hassas olarak tartılır ve 100,0 mL'lik balon jojeye aktarılır. Mobil faz ile hacmine tamamlanır, karıştırılır. Çalkalanarak çözülür. 0,45 µm'lik Hidrofilik SRP filtre ile süzülür ve enjeksiyon yapılır.

Referans Çözelti (a)

2 hacim test çözeltisi hassas bir şekilde 100 mL' lik balon jojeye aktarılır. Mobil faz ile hacmine tamamlanır, iyice çalkalanarak çözülür. Bu çözeltiden 1 hacim alınarak 10 mL' lik balon jojeye aktarılır. Mobil faz ile hacmine tamamlanır. İyice çalkalanarak çözülür. 0,45 µm'lik Hidrofilik SRP filtre ile süzülür ve enjeksiyon yapılır.

Referans Çözelti (b)

Hassas olarak 1,0 mg Diklofenak İmpürite A çalışma standardı tartılır ve 200,0 mL' lik balon jojeye aktarılır. Üzerine 1,0 mL test çözeltisinden ilave edilerek mobil faz ile hacmine tamamlanır, karıştırılır. Çalkalanarak çözülür. 0,45 µm'lik Hidrofilik SRP filtre ile süzülür ve enjeksiyon yapılır.

İşlem:

20 µL Referans çözeltisi (b) enjekte edilir. Kromatogram, belirtilen koşullarda kaydedildiğinde, diklofenak dietilamonyuma ait alıkonma zamanı (RT) yaklaşık 25 dakika iken, Diklofenak Safsızlık A için 12 dakikadır. Kromatogramdan elde edilen piklerin yüksekliği, tüm skalanın en az %50'si olacak şekilde sistemin hassasiyeti ayarlanır.

Referans çözeltisi (b)'den elde edilen kromatogramda, Diklofenak Dietilamonyum ve Diklofenak Safsızlık A' ya ait pikler arasındaki rezolüsyon faktörü 6,5' tan küçük ise test geçersizdir.

20 µL Referans çözeltisi (a) enjekte edilir. Test çözeltisinden elde edilen kromatogram, ana pikin alıkonma zamanının 1,5 katına ulaşana kadar devam ettirilir. Test çözeltisinden elde edilen kromatogramda; referans çözeltisi (a)' dan elde edilen ana pik dışındaki her bir pikin alanı %0,20'den küçük olmalıdır. Referans çözeltisi (a)' ya ait kromatogramda; ana pik alanının 2,5 katından küçük olan bütün piklerin alanlarının toplamı %0,50'den küçük olmalıdır. Referans çözeltisi (a)' ya ait kromatogramda, ana pikin alanının 0,25 katından küçük olan her bir pik göz ardı edilir ve %0,05' ten küçük olmalıdır.

Limit:

% Safsızlık A: Maksimum %0,20

% Bilinmeyen Herbir Safsızlık: Maksimum %0,10

% Toplam Safsızlık: Maksimum %0,50

3.2.3.2. Tiyokolikozit Safsızlık Tayini

İlgili Bileşikler Analizi

Kullanılan Cihazlar :Dörtlü Gradient HPLC

Mobil Faz: HPLC Kalite n-heptan, kloroform, metanol ve AR Kalite asetik asit.

Kromatografik Şartlar:

Mobil Faz A: %2 asetik asit içeren n-heptan; Mobil Faz B: Kloroform;

Mobil Faz C: Metanol

Gradient Programı:

Zaman (dk)	Akış (mL/dk)	% A	% B	%C
0	0,8	86	10	4
50	0,8	0	65	35
51	0,8	86	10	4
60	0,8	86	10	4
Kolon : Silika (250x4,6 mm) 5µm				
Dalga Boyu : 360 nm				
Enjeksiyon Süresi : 60dk				

Çözelti (a): 50 mg Tiyokolşikozit maddesi tartılır ve 50 mL'lik balon jojeye eklenir. Tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar metanol eklenir. Çözelti 15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. T1 ve T2 olmak üzere 2 çözelti hazırlanır.

Referans Çözelti (b): 25 mg Kolşisin standardı tartılır ve 50 mL'lik balon jojeye eklenir. Tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar metanol eklenir. Çözelti 15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. 1 ve 1' olmak üzere 2 çözelti hazırlanır.

Referans Çözelti (c): 25 mg Kolşikozit standardı tartılır ve 50 mL'lik balon jojeye eklenir. Tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar metanol eklenir. Çözelti 15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. 2 ve 2' olmak üzere 2 çözelti hazırlanır.

Referans Çözelti (d) : 25 mg Tiyokolşikozit standardı tartılır ve 50 mL'lik balon jojeye eklenir. Tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar metanol eklenir. Çözelti 15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. 3 ve 3' olmak üzere 2 çözelti hazırlanır.

Referans Çözelti (e): 1, 2 ve 3 çözeltilerinden 2'şer mL alınır ve ayrı ayrı 100 mL'lik balon jodelere eklenir. Tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar metanol eklenir. Çözelti 15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. Bu çözeltiler sırasıyla A, B ve C olarak isimlendirilir.

Referans Çözelti (f): 1, 2 ve 3 çözeltilerinden 2 mL alınır ve 100 mL'lik balon jojeye eklenir. Tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar metanol eklenir. Çözelti 15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. Bu çözelti S1 olarak isimlendirilir.

Aynı yöntemler S2'nin hazırlanması için 1', 2' ve 3' ile hazırlanır.

Enjeksiyon Sıralaması: Blank, A, B, C, S1, S1, S1, S1, S1, S1, S2, T1 ,T2.

Standartta ve numune çözeltilerinde Kolşisin, Kolşikozit ve Tiyokolşikozit'in alıkonma zamanlarını görebilmek için çözelti A,B ve C enjekte edilir.

T1 sonuçları S1 standardının 6 enjeksiyonun ortalama alanı ve T2 sonuçları S2 standardının alanı ile hesaplanır. Final sonuç T1 ve T2'nin ortalaması ile hesaplanır ve bireysel sonuçlar limit içinde olmalıdır.

Sistem Uygunluk

Rölatif standart sapma S1 standardının 6 enjeksiyonundaki Tiyokolşikozit pik alanı için hesaplanır. Limit: $\leq 2,0$

S1'in birinci enjeksiyonu;

Teorik plaka sayısı ≥ 80000

Tiyokolşikozit pikinin kuyruklanma faktörü: $\leq 1,5$ olmalı

Hesaplama:

N-deasetil N-formil tiyokolşikozit ve bilinmeyen safsızlıklar Tiyokolşikozit alanlarından hesaplanır. N-diasetil N-formil tiyokolşikozit rölatif alıkonma zamanı Tiyokolşikozite göre yaklaşık 1,05 kattır.

% N-deasetil N-formil tiyokolşikozit:

$$\frac{A1}{A2} \times \frac{B1}{B2} \times \frac{2}{100} \times \frac{100}{(100 - \%LOD)} \times 100$$

% Kolşikozit:

$$\frac{C1}{C2} \times \frac{D1}{B2} \times \frac{2}{100} \times \frac{100}{(100 - \%LOD)} \times 100$$

% Kolşisin:

$$\frac{E1}{E2} \times \frac{F1}{B2} \times \frac{2}{100} \times \frac{100}{(100 - \%LOD)} \times 100$$

% Bilinmeyen:

$$\frac{G1}{A2} \times \frac{B1}{B2} \times \frac{2}{100} \times \frac{100}{(100 - \%LOD)} \times 100$$

Standart ağırlığının hesaplanması için konsantrasyon faktörü ile düzeltilebilir.

A1= Numune çözeltisindeki N-deasetil N-formil tiyokolşikozit alanı

A2= Tiyokolşikozit standardının alanı

C1= Numune çözeltisindeki Kolşikozit alanı

C2= Standart çözeltisindeki Kolşikozit alanı

E1= Numune çözeltisindeki Kolşisin alanı

E2= Standart çözeltisindeki Kolşisin alanı

G1= Numune çözeltisindeki bilinmeyen safsızlıkların toplam alanı

B1= Tiyokolşikozit standardının ağırlığı

B2= Tiyokolşikozit numunesinin ağırlığı

D1= Kolşikozit standardının ağırlığı

F1= Kolşisin standardının ağırlığı

Bozunma ürünü “A” (3-0, Demetil Tiyokolşin) Analizleri

Kullanılan Cihazlar: İkili Gradient HPLC Sistemi

Mobil Faz: Mobil fazda su ve Asetonitril (HPLC Saflıkta) kullanılır.

Kromatografik Şartlar:

Çözücü A: Su

Çözücü B: Asetonitril

Gradient Programı:

Zaman (dk)	Akış (mL/dk)	% A	% B
0,01	1,0	90	10
10	1,0	90	10
11	1,0	75	25
12	1,8	75	25
15	1,8	75	25
17	1,8	70	30
18	1,8	70	30
20	1,8	90	10
22	1,0	90	10
Kolon : C-8 (250x4,6 mm) 5µm			
Dalga Boyu : 370 nm			
Enjeksiyon Süresi : 22 dk			
Enjeksiyon Hacmi :20 µL			

Standart Çözeltisi:

20 mg Tiyokolşikozit çalışma standardı 100 mL’lik balon jojeye tartılır, tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar metanol eklenir. Çözelti 15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. Bu çözeltiden 5 mL alınır ve 100 mL’lik balon jojeye eklenir, tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar metanol eklenir. Çözelti

15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. Bu çözeltiden 1 mL alınır ve 100 mL'lik balon jojeye eklenir, tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar metanol eklenir. Çözelti 15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. Bu çözelti, “K” olarak adlandırılır.

Numune Çözeltisi:

100 mg Tiyokolşikozit numunesi 100 mL'lik balon jojeye tartılır, tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar metanol eklenir. Çözelti 15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. Bu çözeltiden 10 mL alınır ve 100 mL'lik balon jojeye eklenir, tamamlama çizgisine 1 cm kalıncaya kadar metanol eklenir. Çözelti 15 dakika 20-25 °C aralığında bekletilir ve tamamlanarak karıştırılır. Bu çözelti “L” olarak adlandırılır.

Enjeksiyon Sıralaması: Blank, K, L.

Bozunma ürünü ‘A’nın Tiyokolşikozite göre rölatif alıkonma zamanı (RRT) 1,29’dur. Hesaplama: Bozunma Ürünü “A”nın % değeri Çözelti K’daki tiyokolşikozitin alanı ile hesaplanır.

% Bozunma ürünü ‘A’ (3-0, Demetil Tiyokolşin)

$$\frac{L1}{K1} \times \frac{K2}{100} \times \frac{5}{100} \times \frac{1}{100} \times \frac{100}{L2} \times \frac{100}{10} \frac{100}{(100 - \%LOD)} \times 100$$

Hesaplama için konsantrasyon faktörü ile standardın ağırlığı düzenlenir.

K1: Standart çözeltideki Tiyokolşikozit’in alanı

L1: Standart çözeltideki bozunma ürünü “A”nın alanı

K2: Standart Tiyokolşikozit ağırlığı

L2: Numune Tiyokolşikozit ağırlığı

3.2.4. Referans Ürünlerin Bileşimi ve Analizleri

Sabit doz kombine ürün olarak geliştirilen formülasyon çalışmalarımızda referans (orijinal) ilaç olarak kullanılan ürünler ilaç pazarında ayrı ayrı ürün şeklinde yer almaktadır, Diklofenak Dietilamonyum referans ürünü Voltaren Emulgel %1 ürününün kalitatif içeriği aşağıda verilmiştir (Tablo 3-1).

Tablo 3-1 - Diklofenak Dietilamonyum içeren referans ürün Voltaren Emulgel %1 kalitatif içeriği

Voltaren Emulgel® 100g Ülke: Almanya Seri No: W0020- SKT:Ekim/2014

Karbomer
Makrogol Ketostearil Eter
Kokoil kaprilokarpat
Dietilamin
İzopropil alkol
Propilen Glikol
Sıvı Parafin
Krem Parfüm 45
Saf Su

Referans ilaç ürünü Voltaren'e; görünüş, tanıma, ortalama ağırlık, viskozite, pH, yoğunluk, miktar tayini, safsızlık tayini analizleri yürütülmüştür. Yurt dışından tedarik edilen referans ürün 100 g alüminyum tüp, karton kutu içerisinde ambalajlı olarak Almanya pazarından temin edilmiştir.

Tiyokolşikozit içeren Muscoril Merhem %0,25 ürünlerinin kalitatif içeriği aşağıda verilmiştir (Tablo 3-2),

Tablo 3-2 - Tiyokoşikozit içeren referans ürün Muscoril® merhem %0,25 kalitatif içeriği

Muscoril® Merhem 30g, Menşei: Türkiye Seri No: 1M005-SKT:Aralık/2015

Hidrojene lanolin
Metil parahidroksibenzoat
Etil parahidroksibenzoat
Propil parahidroksibenzoat
Polioksietilen-20-sorbitan monooleat
Sodyum lauril sülfat
Setil palmitat
Stearik asit
Sodyum alginat
Lavanta esansı
Yağ alkolleri ve hidrokarbonların karışımı
Dimetikon
Sıvı parafin

Referans ilaç ürünü Muscoril'e; görünüş, tanıma, ortalama ağırlık, viskozite, pH, miktar tayini ve safsızlık analizleri yürütülmüştür.

3.2.5. Etken Maddelerin Yardımcı Maddelerle Geçimlilik Çalışmaları

Formülasyon geliştirmede, yardımcı maddelerin seçimi etken madde ile her bir yardımcı maddenin geçimliliğine dayanmaktadır. Geçimlilik çalışması, etkin madde ile formülasyon geliştirme çalışmalarında kullanılabilecek yardımcı maddelerin genel kullanım oranları göz önünde bulundurularak karıştırılmaları ile yürütülmüştür.

Referans ürün Voltaren Emulgel ile benzer şekilde geliştirilen Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyonun kalitatif içerikleri benzerdir (Tablo 3-3)

Tablo 3-3 – Referans ürün Voltaren Emulgel ile geliştirilen formülasyonun karşılaştırmalı içeriği

Voltaren Emulgel® Seri No: W0020- SKT:10/2014	Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Seri No: DT424001 - SKT: 09/2016
Karbomer	Karbopol 974P
Macrogol Setostearil Eter	Makrogol setostearil eter (Eumulgin B 2 PH) (Cetomacrogol 1000)
Kokoil kaprilokarpat	Setiol LC
Dietilamin	Trietanolamin
İzopropil alkol	İzopropil Alkol
Propilen Glikol	Propilen Glikol
Sıvı Parafin	Vazelin Likit
Krem Parfüm 45	Mentol (Esans)
Saf Su	Lavanta (Esans)
-	Saf Su

Geçimlilik çalışmalarında etken maddeler ile formülasyon geliştirme çalışmalarında kullanılabilecek yardımcı maddelerin farklı oranlarda karıştırılmaları ile yapılmıştır, Etken madde ile yardımcı maddeler havanda karıştırılarak 3 farklı cam şişelere alınmıştır.

Diklofenak Dietilamonyum etken maddesi içeren Voltaren Emuljel formülasyonuna, Tiyokolşikozit etken maddesinin ilavesi ile elde edilecek ürünün kapsamında, her iki molekülün birbiri ile ve jel sıvağları içerisindeki geçimliliği ölçülmüştür. Bu geçimlilik çalışmasına ait tasarım Tablo 3-4’da verilmiştir.

3.2.6. Formülasyonda Yer Alan Yardımcı Maddeler

Referans ürünler dikkate alınarak belirlenen formülasyon bileşenlerinde kullanılacak yardımcı maddelere ait bilgiler aşağıda özetlenmiştir.

Tablo 3-4: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 emüljel' formülasyon çalışmalarında kullanılacak çözücüler ile yapılan geçimlilik çalışması

No	Etkin Mad.: Yardımcı Mad.	Oran	25°C±2 60%RH±5	40°C±2 75%RH±5
1	Diklofenak Dietilamonyum	-	√	√
2	Tiyokolşikozit	-	√	√
3	Diklofenak Dietilamonyum+ Tiyokolşikozit	1:1	√	√
4	Diklofenak Dietilamonyum + IPA	1:(y.m)	√	√
5	Tiyokolşikozit + Su	1:(y.m)	√	√
6	(Diklofenak Dietilamonyum+IPA) + (Tiyokolşikozit+Su)	1:1	√	√

Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyonu geliştirme çalışmaları boyunca, yardımcı madde olarak Karbopol 974P, Makrogol setostearil eter, Setiol LC, Trietanolamin, İzopropil Alkol, Propilen Glikol, Vazelin Likit, Mentol (Esans), Lavanta (Esans) ve Saf Su kullanılmıştır.

Karbopol 974P:

Karbomerler beyaz renkli, asidik, hafif kokuya sahip higroskopik tozlardır. Sıvı veya yarı katı farmasötik formülasyonlarda reoloji düzenleyici olarak kullanılır. Jelleştirici ajan, süspanse edici ajan, tablet bağlayıcı, kontrollü salınım ajanı olarak görev yapar. Yarı katı preparatlarda jelleştirici ajan olarak %0,5-2,0 arasında kullanılır. Mevcut formülasyonda %1,20 oranında jel yapıcı ajan olarak kullanılmıştır.

Macrogl Setostearil Eter (Emulgin B2PH veya Cetomacrogol 1000):

Polioksietilen Alkil Eterleri, n-alkollerin (lauril, stearil, miristil, cetil ve stearil) polioksietilen glikol eterleridir. Emülsifiye edici ajan, penetrasyon artırıcı, çözme ajanı ve surfaktan olarak görev yapar. Formülasyonda, surfaktan ve emülsifiye edici ajan olarak %3,5 oranında kullanılmıştır. Voltaren Emulgel® referans ürün formülasyonunda da yine Makrogol Setostearil eter yer almaktadır.

Setiol LC:

Cetiol LC, doygun C12-C18 alkol esterlerinin, kaprilik ve kaprik asitlerin karışımı, bu asitlerin doygun nebati yağ asitleri ile reaksiyonundan elde edilir. Hafif sarımsı bir sıvı olup, suda pratikçe çözünmez; alkol ve sıvı parafin ile karışabilir. Çözünürlük artırıcı ve kendinden emülsifiyan ajan olarak görev yapar. Mevcut formülasyonumuzda %4 oranında yağ fazı ajanı ve nemlendirici olarak kullanılmıştır. Cetiol LC, Voltaren Emulgel® referans ürün formülasyonunda da yer almaktadır.

Trietanolamin:

Trietanolamin, topikal farmasötik formülasyonlarda, özellikle emülsiyon formlarında alkalize edici ajan olarak sıklıkla kullanılır. Alkali ajan olarak %2-4 h/h konsantrasyonları kullanılır. Özellikle Karbomer gibi jel ajanlarının nötralizasyonu ve viskozite artırmak için kullanılır. Mevcut formülasyonumuzda pH ayarlayıcı olarak yaklaşık %1,48 oranında kullanılmıştır. Orijinal ürün olan Voltaren Emulgel® %1,16'da ise pH ayarlayıcı olarak dietilamin kullanılmıştır.

İzopropil Alkol (IPA):

Berrak, renksiz, uçucu, yanıcı, etanol ve aseton karışımı ispiro kokusuna ve acı tada sahip sıvı bir maddedir. Topikal formülasyonlarda genellikle çözücü olarak kullanılır. Bu yönüyle formülasyonda %16 oranında çözücü olarak kullanılmıştır. İzopropil alkol benzer şekilde, Voltaren Emulgel® referans ürün formülasyonunda da yer almaktadır.

Propilen Glikol:

Berrak, renksiz, viskoz, pratikte kokusuz sıvı bir madde olup, gliserin tadındadır. Topikal formülasyonlarda %15 oranında nemlendirici işlev görür ve Dikolefenak Dietilamonyum etkin maddesinin deride kalacak solüsyon içinde kalmasını sağlar. Propilen Glikol Mevcut formülasyonumuzda, penetrasyon artırıcı (taşıyıcı faz, koruyucu) olarak %9 oranında kullanılmıştır. Propilen Glikol, Voltaren Emulgel® referans ürün formülasyonunda da yer almaktadır.

Vazelin Likit:

Mineral yağ, petrolden elde edilen sıvı rafine doymuş alifatik (C14-C18) ve siklik hidrokarbon karışımlarından meydana gelmektedir. Şeffaf, renksiz, viskoz yağimsı, gün ışığında floresan özellik göstermeyen sıvı bir maddedir. Topikal farmasötik formülasyonlarda yardımcı madde olarak, aynı zamanda su içinde yağ tipi emülsiyonlarda çözücü olarak kullanılır. Mevcut formülasyonunda, %4 oranında yağ fazı bileşeni ve emoliyan olarak kullanılmıştır. Likit vazelin, Voltaren Emulgel® referans ürün formülasyonunda da yer almaktadır.

Mentol Esansı:

Mentol, farmasötik formülasyonlarda, aroma verici veya koku ajanı olarak kullanılır. Topikal formülasyonlarda, %0,05-10,0 konsantrasyonlarında yer almaktadır. Oda koşullarında muhafaza edildiğinde, %1 a/a mentol içeren sulu kremin 18 aya kadar stabil olduğu rapor edilmiştir. Mevcut formülasyonumuzda, koku verici ajanı olarak %0,25 oranında kullanılmıştır.

Lavanta Esansı:

Farmasötik formülasyonlarda koku ajanı olarak kullanılır. Mevcut formülasyonumuzda, koku verici ajanı olarak %0,75 oranında kullanılmıştır.

Saf Su:

Dozaj formlarında çözücü olarak kullanılan bir farmasötik ekspiyandır. Renksiz, berrak ve kokusuz sıvı yapısındadır.

3.3. Bitmiş Ürün Miktar Tayini Analitik Metot Validasyon Çalışmaları

Diklofenak Dietilamonyum %1 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel bitmiş ürünün YBSK cihazı ile miktar tayini her iki etken maddeyi de aynı kromatogram ile tespit edecek şekilde analitik bir yöntem oluşturulmuş, metodun validasyonu parametreleri yürütülmüş ve kabul kriterleri “ICH Q2(R1)-Validation of Analytical Procedures” kılavuzu “assay” metodolojisine göre belirlenmiştir (ICH Q2(R1) 2005).

Doğruluk (*Accuracy*), Kesinlik (*Precision*) [Sistem Uygunluk (*System Suitability*), Yöntem Kesinliği (*Repeatability*), Laboratuvar İçi Kesinlik (*Reproducibility*)], Spesifiklik (*Specificity*), Doğrusallık (*Linearity*), Uygulama Aralığı (*Range*), Sağlamlık (*Robustness*) [Çözelti Stabilitesi] parametreleri kontrol edilmiştir.

Kullanılan analitik yöntem, GEREÇ ve YÖNTEM bölümündeki 3.7.6 Miktar Tayini kısmında verildiği gibi uygulanmıştır.

3.3.1. Doğruluk (*Accuracy*)

Analitik yöntemin doğruluğu, örnek içindeki analiz edilecek maddenin hazırlanan konsantrasyonu ile tayin neticesi bulunan konsantrasyonunun birbiri ile uyum yakınlığı şeklinde ifade edilir.

Çalışma derişimin %70,0, %100,0 ve %130,0’u seviyelerinde ve her bir seviyeden 3’er adet olacak şekilde test çözeltileri, etkin maddenin plaseboya ilave edilmesi yöntemi

ile hazırlanıp yöntemde (GEREÇ ve YÖNTEM bölümündeki 3.7.6 Miktar Tayini) belirtildiği gibi analiz edilir.

Numune Hazırlığı:

%70'lik Numune Hazırlanışı: 9859,0 mg jel plasebosu, 70,0 mg Diklofenak Sodyum'a eşdeğer 81,2 mg Diklofenak Dietilamonyum çalışma standardı ve 17,5 mg Tiyokolşikozit çalışma standardı tartılarak 100.0 mL'lik balon jojeye aktarılır. Yarı hacmine kadar çözücü ilave edilir ve 1 dakika vorteks yapılır. Ultrasonik banyoda 2 dakika bekletilerek çözünmesi sağlanır ve oda ısısına getirilerek çözücü ile hacmine tamamlanır. Hazırlanan bu çözeltiden 2,0 mL alınarak 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılıp ile hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Multigrade Glassfiber filtreden süzülür ve vialerle aktararak enjeksiyon yapılır ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}$: 0,140 mg/mL; $C_{\text{Tiyokolşikozit}}$: 0,035 mg/mL).

%100'lük Numune Hazırlanışı: 9859,0 mg jel plasebosu, 100,0 mg Diklofenak Sodyum'a eşdeğer 116,0 mg Diklofenak Dietilamonyum çalışma standardı ve 25,0 mg Tiyokolşikozit çalışma standardı tartılarak 100,0 mL'lik balon jojeye aktarılır. Yarı hacmine kadar çözücü ilave edilir ve 1 dakika vorteks yapılır. Ultrasonik banyoda 2 dakika bekletilerek çözünmesi sağlanır ve oda ısısına getirilerek çözücü ile hacmine tamamlanır. Hazırlanan bu çözeltiden 2,0 mL alınarak 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılıp hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Multigrade Glassfiber filtreden süzülür ve vialerle aktararak enjeksiyon yapılır ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}$: 0,200 mg/mL, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}$: 0,050 mg/mL).

%130'luk Numune Hazırlanışı: 9859,0 mg jel plasebosu, 130,0 mg Diklofenak Sodyum'a eşdeğer 150,8 mg Diklofenak Dietilamonyum çalışma standardı ve 32,5 mg Tiyokolşikozit çalışma standardı tartılarak 100,0 mL'lik balon jojeye aktarılır. Yarı hacmine kadar çözücü ilave edilir ve 1 dakika vorteks yapılır. Ultrasonik banyoda 2 dakika bekletilerek çözünmesi sağlanır ve oda ısısına getirilerek çözücü ile hacmine tamamlanır. Hazırlanan bu çözeltiden 2,0 mL alınarak 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılıp ile hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Multigrade Glassfiber filtreden süzülür ve vialerle aktararak enjeksiyon yapılır ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}$: 0,260 mg/mL; $C_{\text{Tiyokolşikozit}}$: 0,065 mg/mL).

Kabul Kriterleri:

Her bir seviye için % geri kazanım %97,0-%103,0 aralığında olmalıdır. Her bir seviye için elde edilen geri kazanımların ortalama, SD ve %RSD değerleri raporlanır. Her bir seviyede elde edilen geri kazanım ortalamalarının ortalaması, SD ve %RSD'si raporlanır.

$$\text{Geri Kazanım (\%)} = \frac{\text{Test sonucu bulunan konsantrasyon}}{\text{Teorik konsantrasyon}} \times 100$$

3.3.2. Kesinlik (*Precision*)

Analitik yöntemin kesinliği, aynı homojen örnekten yapılan ardışık örneklemelerden elde edilen ölçüm serileri arasındaki uyum yakınlığı (saçınım derecesi) olarak tarif edilir. Kesinlik parametresi, homojen numune ile yapılmalıdır. Eğer homojen numune bulunamıyorsa suni olarak hazırlanır. Bu çalışmada sistem uygunluk, yöntem kesinliği ve laboratuvar içi kesinlik yapılmıştır.

3.3.2.1. Yöntem Kesinliği (*Repeatability*)

Yöntem kesinliği, aynı çalışma şartlarında kısa zaman aralığında tespit edilir. Sistem performansının numune hazırlama safhasından gelecek hatalar dahilinde değerlendirilmesidir.

İşlem: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel, DT1310D10 serisi kullanılarak, GEREÇ ve YÖNTEM bölümündeki 3.7.6 Miktar Tayini kısmında verildiği anlatıldığı şekilde yapılır ve 6 adet, test çözeltisi analiz edilir.

Kabul Kriteri: Sonuçlar spesifikasyon dışı olmamalıdır.

Sonuçların ortalama değerleri %RSD maksimum 2,0 olmalıdır.

3.3.2.2. Laboratuvar İçi Kesinlik (*Intermediate Precision*)

Laboratuvar içi kesinlik çalışması, laboratuvarında gün içindeki rasgele değişimlerin analitik yöntemin kesinliği üzerine etkisini görmek amacıyla aynı homojen numunenin farklı günde, farklı cihazda ve farklı analist tarafından test edilmesidir. Bu parametrelerin tek tek hepsini denemek gerekmez.

İşlem:

Aynı laboratuvarında farklı günlerde (1. Gün ve 3. Gün) Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel, DT1310D10 kullanılarak yöntemde (GEREÇ ve

YÖNTEM bölümündeki 3.7.6 Miktar Tayini) anlatıldığı şekilde yapılır ve 6 adet test çözeltisi analiz edilir.

Kabul Kriteri:

Sonuçlar spesifikasyon dışı olmamalıdır. Sonuçların ortalama değerleri $\%RSD \leq \%2,0$ olmalıdır. İki farklı günde yapılan çalışmanın ayrı ayrı ortalamaları arasındaki fark $\%3,0$ 'ten fazla olmamalıdır.

3.3.2.3. Sistem Uygunluk (*System Suitability*)

Sistem uygunlu, aynı çalışma şartlarında ve kısa zaman aralığında test edilir. Örnek hazırlama safhasından gelecek hatalardan bağımsız olarak sistem performansının ölçütüdür.

İşlem: GEREÇ ve YÖNTEM bölümündeki 3.7.6 Miktar Tayini kısmında verildiği gibi hazırlanan $\%100$ 'lük Standart Çözeltisinin ardışık 6 enjeksiyonundan elde edilen kromatogramlardaki Diklofenak ve Tiyokolşikozit pik alanlarının ortalaması, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapması ($\%RSD$) hesaplanır.

Kabul Kriteri:

Standart çözeltisinden yapılan 6 ardışık enjeksiyondan elde edilen Diklofenak ve Tiyokolşikozit'e ait pik alanları arasındaki $\%RSD \leq \%2,0$ olmalıdır.

3.3.3. Spesifiklik (*Specificity*)

Spesifiklik, analiz edilecek maddenin matris etkisi ve katkı maddelerinin varlığında, ürün içinde tartışmaya yer vermeksizin kesin olarak tayin edilebilirliğidir.

Filtre Etkisi İçin:

İşlem: Test çözeltisi, standart çözeltisi, çözücü (blank) ve plasebo çözeltisi analitik yöntemdeki (GEREÇ ve YÖNTEM bölümündeki 3.7.6 Miktar Tayini) gibi hazırlanır. Bu çözeltilerin bir miktarı santrifuj edilir (standart çözeltisi ve çözücünün santrifuj edilmesine gerek yoktur süzülmeden vialle alınır) ve üst faz vialle alınarak analiz edilir. Aynı çözeltilerden farklı filtre tipleri [Nylon/Poliamit, PTFE, RC (Rejenere Selüloz)] ile süzülerek ve bir tane de süzülmemiş olacak şekilde viallere alınır ve analiz edilir, $\%$ Fark hesaplanır.

$$\% \text{ Fark} = \frac{(AS - AF)}{AS} \times 100$$

AS : Süzülmemiş test çözeltisindeki pik alanı

AF: Filtre edilen test çözeltisindeki pik alanı

Pik Tanımlaması, Blank ve Plasebo Etkisi İçin:

İşlem: Çözücü, plasebo çözeltisi, test çözeltisi, standart çözeltisi, bilinen her bir safsızlık çözeltisinin ilave edildiği test çözeltisi ayrı ayrı enjekte edilir.

Blank Çözeltisi Hazırlanışı: Çözücü ve mobil faz 0,45 µm Nylon Multigrade Glassfiber filtreden süzülür ve vialerle aktararak enjeksiyon yapılır.

Plasebo Çözeltisi Hazırlanışı: 9859,0 mg jel plasebosu 100,0 mL'ye tartım alınarak aktarılır. Yarı hacmine kadar çözücü ilave edilir ve 1 dakika vorteks yapılır. Ultrasonik banyoda 2 dakika bekletilerek çözünmesi sağlanır ve oda ısısına getirilerek çözücü ile hacmine tamamlanır. Hazırlanan bu çözeltiden 2,0 mL alınarak 10,0 mL'lik balon jolye aktarılıp hacmine çözücü ile tamamlanır 0,45 µm Nylon Multigrade Glassfiber filtreden süzülür ve vialerle aktararak enjeksiyon yapılır.

Standart Çözeltisinin Hazırlanışı: 10,0 mg Diklofenak Sodyum'a eşdeğer 11,60 mg Diklofenak Dietilamonyum çalışma standardı ve 2,5 mg Tiyokolşikozit çalışma standardı 50,0 mL'ye tartım alınarak aktarılır. Yarı hacmine kadar çözücü ilave edilir ve 1 dakika vorteks yapılır. Ultrasonik banyoda 2 dakika bekletilerek çözünmesi sağlanır ve oda ısısına getirilerek çözücü ile hacmine tamamlanır. ($C_{\text{Diklofenak sodyum}}:0,2 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{Tiyokolşikozit}}:0,05 \text{ mg/mL}$)

Standart çözelti ile aynı konsantrasyonda iki standart daha hazırlanır. Bu standart kontrol standardı olarak kullanılır.

Test Çözeltisinin Hazırlanışı: 10,0 g (100,0 mg Diklofenak Sodyum, 25,0 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel 100 mL'ye tartım alınarak aktarılır. Yarı hacmine kadar çözücü ilave edilir ve 1 dakika vorteks yapılır. Ultrasonik banyoda 2 dakika bekletilerek çözünmesi sağlanır ve oda ısısına getirilerek çözücü ile hacmine tamamlanır. Hazırlanan bu çözeltiden 2,0 mL alınarak 10 mL'lik balon jolye aktarılıp hacmine çözücü ile tamamlanır 0,45 µm nylon Multigrade Glassfiber filtreden süzülür ve vialerle aktararak enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak sodyum}}:0,20 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{tiyokolşikozit}}:0,05 \text{ mg/mL}$)

Stok Kolşikozit Hazırlanışı: 2,0 mg Kolşikozit standardı tartılır ve 20,0 mL'lik balon jolye aktarılır. Yarı hacmine kadar çözücü ilave edilir ve 1 dakika vorteks yapılır.

Ultrasonik banyoda 2 dakika bekletilerek çözünmesi sağlanır ve oda ısısına getirilerek çözücü ile hacmine tamamlanır. ($C_{\text{Kolşikozit}}:0,1 \text{ mg/mL}$)

Stok Kolşisin Hazırlanışı: 2,0 mg Kolşisin standardı tartılır ve 20,0 mL'lik balon jojeye aktarılır. Yarı hacmine kadar çözücü ilave edilir ve 1 dakika vorteks yapılır. Ultrasonik banyoda 2 dakika bekletilerek çözünmesi sağlanır ve oda ısısına getirilerek çözücü ile hacmine tamamlanır. ($C_{\text{Kolşisin}}:0,1 \text{ mg/mL}$)

Stok Diklofenak Safsızlık A Hazırlanışı: 2,0 mg Diklofenak Safsızlık A standardı tartılır ve 20,0 mL'lik balon jojeye aktarılır. Yarı hacmine kadar çözücü ilave edilir ve 1 dakika vorteks yapılır. Ultrasonik banyoda 2 dakika bekletilerek çözünmesi sağlanır ve oda ısısına getirilerek çözücü ile hacmine tamamlanır. ($C_{\text{Diklofenak Safsızlık A}}:0,1 \text{ mg/ml}$)

Spike Numune Hazırlanışı : 10 g (100,0 mg Diklofenak Sodyum, 25,0 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel 100 mL'ye tartım alınarak aktarılır. Yarı hacmine kadar çözücü ilave edilir ve 1 dakika vorteks yapılır. Ultrasonik banyoda 2 dakika bekletilerek çözünmesi sağlanır ve oda ısısına getirilerek çözücü ile hacmine tamamlanır. Daha sonra hazırlanan bu çözeltiden 2,0 mL , Stok Kolşikozit çözeltisinden 25,0 µl , Stok Kolşisin çözeltisinden 25,0 µl, Stok Diklofenak Safsızlık A çözeltisinden 100,0 µl alınarak 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır. Hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Multigrade Glassfiber filtreden süzülür ve vialle aktarılarak enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}:0,2 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{Tiyokolşikozit}}:0,05 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{Kolşikozit}}:0,00025 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{Kolşisin}}: 0,00025 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{Diklofenak Safsızlık A}} : 0,001 \text{ mg/ml}$)

Kabul Kriteri:

Filtre Etkisi İçin;

% Fark $\leq$ %2,0 olmalıdır. Blank ve plasebo kromatogramında etkin maddelerin alıkonma zamanında herhangi bir pik gözlenmemelidir. Etkin madde pikleri saf olmalıdır.

Pik Tanımlaması, Blank ve Plasebo Etkisi İçin;

Çözücü ve plasebo çözeltilerine ait kromatogramlarda etkin maddelerin alıkonma zamanında gelen herhangi bir pik gözlenmemelidir. Safsızlık pikleri etkin maddelerden ayrılmış olmalıdır. Etkin madde pikleri saf olmalıdır. (*Peak Purity Index > Single Point Threshold*)

3.3.4. Doğrusallık (*Linearity*)

Analitik yöntemin doğrusallığı, belirlenen aralıkta elde edilen test sonuçlarının numune içindeki etkin madde konsantrasyonu ile doğru orantıya sahip olması demektir.

İşlem: Çalışma derişiminin %70 ve %130 (Diklofenak Sodyum için 0,14 mg/mL ile 0,26 mg/mL, Tiyokolşikozit için 0,035 mg/mL ile 0,065 mg/mL) derişim aralığında olacak şekilde, 7 ayrı konsantrasyonda standart çözeltisi hazırlanarak, analiz edilecek ve dedektör yanıtına göre derişim/alan grafiğı çizilerek kabul kriterine uygunluğu test edilmiştir. Alt, üst ve %100 konsantrasyonlardaki çözeltiler uygulama aralığı tespitinde kullanılacağı için 6'şar kez enjekte edilir.

Standartların Hazırlanması:

Stok Standart Hazırlanışı: 200,0 mg Diklofenak Sodyum'a eşdeğer 232,0 mg Diklofenak Dietilamonyum çalışma standardı, 50,0 mg Tiyokolşikozit çalışma standardı 200,0 mL'ye tartım alınarak aktarılır. Yarı hacmine kadar çözücü ilave edilir ve 1 dakika vorteks yapılır. Ultrasonik banyoda 2 dakika bekletilerek çözünmesi sağlanır ve oda ısısına getirilerek çözücü ile hacmine tamamlanır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}} : 1,0 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{Tiyokolşikozit}} : 0,25 \text{ mg/mL}$).

%70 Konsantrasyonda Standart Çözelti Hazırlanışı: Stok standart çözeltisinden 1,4 mL alınır ve 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır, hacmine çözücü ile tamamlanır ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}} : 0,140 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{Tiyokolşikozit}} : 0,035 \text{ mg/mL}$).

%80 Konsantrasyonda Standart Çözelti Hazırlanışı: Stok standart çözeltisinden 1,6 mL alınır ve 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır, hacmine çözücü ile tamamlanır ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}} : 0,160 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{Tiyokolşikozit}} : 0,040 \text{ mg/mL}$).

%90 Konsantrasyonda Standart Çözelti Hazırlanışı: Stok standart çözeltisinden 1,8 mL alınır ve 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır, hacmine çözücü ile tamamlanır ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}} : 0,180 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{Tiyokolşikozit}} : 0,045 \text{ mg/mL}$).

%100 Konsantrasyonda Standart Çözelti Hazırlanışı: Stok standart çözeltisinden 2,0 mL alınır ve 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır, hacmine çözücü ile tamamlanır ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}} : 0,200 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{Tiyokolşikozit}} : 0,050 \text{ mg/mL}$).

%110 Konsantrasyonda Standart Çözelti Hazırlanışı: Stok standart çözeltisinden 2,2 mL alınır ve 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır, hacmine çözücü ile tamamlanır ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}} : 0,220 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{Tiyokolşikozit}} : 0,055 \text{ mg/mL}$).

%120 Konsantrasyonda Standart Çözelti Hazırlanışı: Stok standart çözeltisinden 2,4 mL alınır ve 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır, hacmine çözücü ile tamamlanır (C_{Diklofenak Sodyum}: 0,240 mg/mL ; C_{Tiyokolşikozit}: 0,060 mg/mL).

%130 Konsantrasyonda Standart Çözelti Hazırlanışı: Stok standart çözeltisinden 2,6 mL alınır ve 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır, hacmine çözücü ile tamamlanır (C_{Diklofenak Sodyum}: 0,260 mg/mL ; C_{Tiyokolşikozit}: 0,065 mg/mL).

Kabul Kriteri:

Diklofenak Sodyum ve Tiyokolşikozit konsantrasyonları için alanlara karşı konsantrasyonların grafiği çizilerek en küçük kareler metodu ile regresyon doğrusu ($y:mx+n$) hesaplanır; korelasyon katsayısı, y-kesişim noktası ve eğim değerleri rapor edilir.

Regresyon doğrusunun korelasyon katsayısı (R^2) $\geq 0,998$ olmalıdır.

$$\frac{\text{Residual Standard Deviation}}{\%100'lük Std Alanı} \times 100 \leq \%2,0$$

$$\text{Residual Standard Deviation} = \sqrt{\frac{RSS}{n-2}}$$

$$RSS (\text{farkların karesinin toplamı}) = \sum (Y - Y_{cal})^2$$

n : Doğrusallık çalışmasında kullanılan standart çözelti sayısı

$$\frac{Y_{kesim}}{\%100'lük std alanı} \times 100 \leq \%3,0$$

3.3.5. Uygulama Aralığı (*Range*)

Bir analitik yöntemin uygulama aralığı, tayin edilen bileşen için doğrusallık, doğruluk ve kesinliğin elde edilebildiği alt ve üst konsantrasyonlar arasındaki aralık olarak tarif edilir.

İşlem: Bölüm 3.3.4 Doğrusallık (*Linearity*) parametresi çalışmasının alt ve üst sınır çözeltilerinin 6'şar enjeksiyonunun %RSD'si hesaplanır.

Kabul Kriteri:

Alt ve üst sınır çözeltilerinden arka arkaya yapılan 6 enjeksiyon sonunda elde edilen Diklofenak ve Tiyokolşikozit pik alanları arasındaki %RSD, alt ve üst sınır çözeltileri için %2,0'den fazla olmamalıdır.

3.3.6. Sağlamlık (*Robustness*)

3.3.6.1. Çözelti Stabilitesi

Analizi yapılacak maddenin stabil olarak analiz şartlarında bekletilme süresi saptanması amaçlanmaktadır. Seçilecek bekletilme süresi analize özgüdür. Eğer etkin madde bu süre ve saklama şartlarında bozulacak olursa bu şartlara bir limit verilir ve yöntemde belirtilir.

İşlem: Standart ve numune çözeltileri, GEREÇ ve YÖNTEM bölümündeki 3.7.6 Miktar Tayini kısmında verildiği gibi hazırlanarak en az 60 saat boyunca 10 °C sıcaklıkta bekletilip belli sürelerde analiz edilir.

Kabul Kriteri:

Başlangıç değerine göre % bağıl değişim $\leq$ %2,0 olmalıdır.

$$\% \text{ Bağıl değişim} = \frac{A_X - A_{\text{Başlangıç}}}{A_{\text{Başlangıç}}} \times 100$$

A_X : Analiz yapılan X zamandaki alan değeri

$A_{\text{Başlangıç}}$: Başlangıçtaki alan değeri

3.4. Bitmiş Ürün Safsızlıkları (İmpürite) Analitik Metot Validasyon Çalışmaları

Bitmiş ürün jel dozaj formunun safsızlık analitik metot validasyonu kapsamında; Doğruluk (*Accuracy*), Kesinlik (*Precision*) [Sistem Uygunluk (*System Suitability*), Yöntem Kesinliği (*Repeatability*), Laboratuvar İçi Kesinlik (*Reproducibility*)], Spesifiklik (*Specificity*), Doğrusallık (*Linearity*), Uygulama Aralığı (*Range*), Sağlamlık (*Robustness*) [Çözelti Stabilitesi] parametreleri "ICH Q2(R1)-Validation of Analytical Procedures" kılavuzuna göre belirlenmiştir (ICH Q2(R1) 2005).

Bitmiş ürün safsızlıklarının analitik metot validasyonundaki ekipman koşulları, uygulama yöntemi GEREÇ ve YÖNTEM bölümündeki 3.7.7 Safsızlık Tayini (İmpürite) kısmında verildiği gibi yürütülmüştür.

3.4.1. Doğruluk (*Accuracy*)

Analitik yöntemin doğruluğu, örnek içindeki analiz edilecek maddenin hazırlanan konsantrasyonu ile tayin neticesi bulunan konsantrasyonunun birbiri ile uyum yakınlığı şeklinde ifade edilir. Safsızlık limitinin (LOQ) %100 ve %200 seviyelerinde 3 paralel numune hazırlanıp analiz edilecek ve kabul kriterlerine uygunluğu kontrol edilir.

Bilinen Safsızlıklar için Geri Kazanım:

%10 Seviyesinde Spike Numune Çözeltisinin (LOQ Seviyesi) Hazırlanışı: Yaklaşık 1.000,0 mg jel numunesi (10,0 mg Diklofenak Sodyum'a ve 2,5 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) 10,0 mL'lik balon jojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk degaze edilip çözünmesi sağlanır. Hassas olarak Diklofenak Safsızlık A Stok çözeltisinden 20,0 µL, Kolşisin Stok standart Çözeltisinden 12,5 µL, Kolşikozit Stok standart Çözeltisinden 12,5 µL eklenir ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 µm nylon filtreden süzülür ve vialerle aktararak enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 1,0 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,25 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Diklofenak Sodyum Saf. A}}: 0,0005 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşikozit}}: 0,000125 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşisin}}: 0,000125 \text{ mg/mL}$)

%100 Seviyesinde Spike Numune Çözeltisinin Hazırlanışı: Yaklaşık 1.000,0 mg jel numunesi (10,0 mg Diklofenak Sodyum'a ve 2,5 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) 10,0 mL'lik balon jojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir ve 10 dk ultrasonik degaze edilip çözünmesi sağlanır. Hassas olarak Diklofenak Safsızlık A Stok çözeltisinden 200,0 µL, Kolşisin Stok standart Çözeltisinden 125,0 µL, Kolşikozit Stok standart Çözeltisinden 125,0 µL eklenir ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 µm Nylon filtreden süzülür ve vialerle aktararak enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 1,0 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,25 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Diklofenak Sodyum Saf. A}}: 0,005 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşikozit}}: 0,00125 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşisin}}: 0,00125 \text{ mg/mL}$)

%200 Seviyesinde Spike Numune Çözeltisinin Hazırlanışı: Yaklaşık 1.000,0 mg jel numunesi (10,0 mg Diklofenak Sodyum'a ve 2,5 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) 10,0 mL'lik balonjojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir ve 10 dk ultrasonik degaze edilip çözünmesi sağlanır. Hassas olarak Diklofenak Safsızlık A Stok çözeltisinden 400,0 µL, Kolşisin Stok standart Çözeltisinden 250,0 µL, Kolşikozit Stok standart Çözeltisinden 250,0 µL eklenir ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 µm Nylon filtreden süzülür ve vialerle aktararak enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 1,0 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,25 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Diklofenak Sodyum Saf. A}}: 0,01 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşikozit}}: 0,0025 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşisin}}: 0,0025 \text{ mg/mL}$)

Bilinmeyen Safsızlıklar için Geri Kazanım:

%10 Standart Çözeltisi (LOQ Seviyesi) Hazırlanışı: Yaklaşık 985,9 mg jel numunesi (10,0 mg Diklofenak Sodyum'a ve 2,5 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) 10,0 mL'lik balon jojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk ultrasonik

banyoda degaze edilip çözünmesi sağlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 20,0 µL, Tiyokolşikozit Stok standart Çözeltisinden 12,5 µL eklenir ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 µm nylon filtreden süzülür ve viale aktararak enjeksiyon yapılır. (C_{Diklofenak Sodyum}: 0,0002 mg/mL, C_{Tiyokolşikozit}: 0,000125 mg/mL)

%100 Standart Çözeltisi Hazırlanışı: Yaklaşık 985,9 mg jel numunesi (10,0 mg Diklofenak Sodyum'a ve 2,5 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) 10,0 mL'lik balon jöjeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk ultrasonik banyoda degaze edilip çözünmesi sağlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 200,0 µL, Tiyokolşikozit Stok standart Çözeltisinden 125 µL eklenir ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 µm Nylon filtreden süzülür ve viale aktararak enjeksiyon yapılır. (C_{Diklofenak Sodyum}: 0,002 mg/mL, C_{Tiyokolşikozit}: 0,00125 mg/mL)

%200 Standart Çözeltisi Hazırlanışı: Yaklaşık 985,9 mg jel numunesi (10,0 mg Diklofenak Sodyum'a ve 2,5 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) 10,0 mL'lik balon jöjeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk ultrasonik banyoda degaze edilip çözünmesi sağlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 400,0 µL, Tiyokolşikozit Stok standart Çözeltisinden 250,0 µL eklenir ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 µm Nylon filtreden süzülür ve viale aktararak enjeksiyon yapılır. (C_{Diklofenak Sodyum}: 0,004 mg/mL, C_{Tiyokolşikozit}: 0,0025 mg/mL)

Kabul Kriteri:

Bilinen safsızlıklar için safsızlık limiti $\geq 0,50\%$ ise geri kazanım, LOQ seviyesi için $80-120\%$, diğer seviyeler için $90,0-110,0\%$ arasında olmalıdır.

Her bir seviye için elde edilen geri kazanımların ortalama, SD ve % RSD değerleri ile her bir seviyede elde edilen geri kazanım ortalamalarının ortalaması, SD ve % RSD'si raporlanır.

% Geri kazanım aşağıdaki formülle hesaplanır;

$$\% \text{ Geri kazanım} = \frac{\text{Deneyisel tespit edilen miktar}}{\text{Teorik (ilave edilen) miktar}} \times 100$$

3.4.2. Kesinlik (*Precision*)

Analitik yöntemin kesinliği, aynı homojen örnekten yapılan ardışık örneklemelerden elde edilen ölçüm serileri arasındaki uyum yakınlığı (saçınım derecesi) olarak tarif edilir. Kesinlik parametresi homojen numune ile yapılmalıdır. Eğer homojen numune bulunamıyorsa suni olarak hazırlanır. Bu çalışmada kesinliğin alt parametreleri olan sistem yöntem kesinliği (*repeatability*), laboratuvar içi kesinlik (*intermediate precision*) ve sistem uygunluk (*system suitability*) alt parametreleri yürütülmüştür.

3.4.2.1. Yöntem Kesinliği (*Repeatability*)

Yöntem kesinliği, aynı çalışma şartlarında kısa zaman aralığında tespit edilir. Sistem performansının numune hazırlama safhasından gelecek hatalar dahilinde değerlendirilmesidir. DT1310D10 seri numaralı Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyonu kullanılarak, yöntemde belirtildiği gibi 6 adet spike test çözeltisi hazırlanıp analiz edilir ve kabul kriterine uygunluğu test edilir.

%100 Spike Numune Çözeltisinin Hazırlanışı: GEREÇ ve YÖNTEM bölümündeki 3.7.7 Safsızlık Tayini (İmpürite) kısmında anlatıldığı gibi hazırlanır.

Kabul Kriteri:

Sonuçlar spesifikasyon dışı olmamalıdır. Bilinen safsızlıklar için; Safsızlık limiti $\geq \%0,50$ ise $RSD \leq \%2,0$ - $\%5,0$ arası olmalıdır.

3.4.2.2. Laboratuvar İçi Kesinlik (*Intermediate Precision*)

Laboratuvar içi kesinlik çalışması, laboratuvarda gün içindeki rastgele değişimlerin analitik yöntemin kesinliği üzerine etkisini görmek amacıyla aynı homojen numunenin farklı günde, farklı cihazda veya farklı analist tarafından herhangi bir koşulun test edilmesidir.

Aynı laboratuvarda farklı günlerde DT1310D010 seri numaralı Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyonu kullanılarak yöntemde belirtildiği şekilde 6 farklı numune hazırlanıp aynı cihazda aynı markanın seri numaralı kolonu kullanılarak analiz edilerek ve kabul kriterine uygunluğu test edilmiştir.

%100 Spike Numune Çözeltisinin Hazırlanışı: GEREÇ ve YÖNTEM bölümündeki 3.7.7 Safsızlık Tayini (İmpürite) kısmında anlatıldığı gibi hazırlanır

Kabul Kriteri:

Sonuçlar spesifikasyon dışı olmamalıdır. Bilinen safsızlıklar için, Safsızlık limiti $\geq \%0,50$ ise $\% \text{RSD} \leq \%2,0 - \%5,0$ arasında olmalıdır.

3.4.2.3. Sistem Uygunluk (*System Suitability*)

Sistem kesinliği, aynı çalışma şartlarında ve kısa zaman aralığında test edilir. Sistem kesinliği, örnek hazırlama safhasından gelecek hatalardan bağımsız olarak sistem performansının ölçütüdür. Doğrusallık çalışmasında $\%100$ 'lük standart çözeltinin 6 enjeksiyon sonucunun ortalaması, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapması (RSD) hesaplanmıştır.

Kabul Kriteri:

Standart Çözeltisinin ardışık 6 enjeksiyonundan elde edilen kromatogramlardaki Diklofenak ve Tiyokolşikozit pik alanlarının RSD'si $\%5,0$ 'dan fazla olmamalıdır. Diklofenak ile Diklofenak Safsızlık A pikleri arasındaki rezolüsyon minimum 5,0 olmalıdır.

Bilinen safsızlıklar için, Safsızlık limiti $\geq \%0,50$ ise $\% \text{RSD} \leq \%2,0 - \%5,0$ olmalıdır.

3.4.3. Spesifiklik (*Specificity*)

Spesifiklik, analiz edilecek maddenin matris etkisi ve katkı maddelerinin varlığında ürün içinde tartışmaya yer vermeksizin kesin olarak tayin edilebilirliğidir.

Filtre Etkisi için:

Bilinen ilgili safsızlıklar ilave edilmiş *spike* numune çözeltisi, standart çözeltisi, çözücü (*blank*) ve plasebo çözeltisi, *unspike* numune çözeltisi, Diklofenak Dietilamonyum içeren plasebo çözeltisi ve Tiyokolşikozit içeren plasebo çözeltisi farklı filtrelerden (Nylon Glass Fiber ve RC) süzülerek analiz edilir ve $\%$ farkı hesaplanır.

Pik Tanımlaması, Blank ve Plasebo Etkisi için:

Bilinen ilgili safsızlıklar ilave edilmiş *spike* numune çözeltisi, standart çözeltisi, çözücü (*blank*) ve plasebo çözeltisi, Diklofenak Dietilamonyum içeren plasebo çözeltisi ve Tiyokolşikozit içeren plasebo çözeltisi, *unspike* numune çözeltisi, limit seviyesinde hazırlanmış her bir safsızlık ve etken çözeltileri enjekte edilerek her birinden gelen pikler tespit edilir.

Plasebo ve Blank Çözeltisi Hazırlığı:

Blank Çözeltisi Hazırlanışı: Metanol ve saf su (80:20, h/h) oranında karıştırılır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır.

Plasebo Çözeltisi Hazırlanışı: Yaklaşık 9.859,0 mg jel numunesi 100,0 mL’lik balonjojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk ultrasonik banyoda degaze edilip çözünmesi sağlanır, hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır.

Diklofenak Dietilamonyum içeren plasebo çözeltisi hazırlanışı: Yaklaşık 9.966,0 mg (100,0 mg Diklofenak Sodyum’a ve 2,5 mg Tiyokolşikozit’e eşdeğer) jel numunesi 100 mL’lik balonjojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk ultrasonik degaze edilip çözünmesi sağlanır, hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. (C_{Diklofenak Sodyum}: 1,0 mg/mL)

Diklofenak Dietilamonyum Standart Çözeltisi hazırlanışı: 1,6 mg Diklofenak Sodyum’a eşdeğer 1,856 mg Diklofenak Dietilamonyum çalışma standardı, 20 mL’lik balonjojeye aktarılır, yarı hacmine kadar çözücü eklenir, ultrasonik banyoda 10 dk degaze edilip çözünmesi sağlanır, hacmine çözücü ile tamamlanır. Daha sonra bu çözeltiden 2,5 mL alınıp 100 mL’ye çözücüyle tamamlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. (C_{Diklofenak Sodyum}: 0,002 mg/mL)

Tiyokolşikozit Standart Çözeltisi Hazırlanışı: 1,0 mg Tiyokolşikozit çalışma standardı tartılır. 20 mL’lik balonjojeye aktarılır, yarı hacmine kadar çözücü eklenir, ultrasonik banyoda 10 dk degaze edilip çözünmesi sağlanır, hacmine çözücü ile tamamlanır. Daha sonra bu çözeltiden 2,5 mL alınıp 100 mL’ye çözücüyle tamamlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. (C_{Tiyokolşikozit}: 0,00125 mg/mL)

Standart Çözeltisi Hazırlanışı: 1,6 mg Diklofenak Sodyum’a eşdeğer 1,856 mg Diklofenak Dietilamonyum çalışma standardı ve 1,0 mg Tiyokolşikozit çalışma standardı tartılır, 20 mL’lik balonjojeye aktarılır, yarı hacmine kadar çözücü eklenir, ultrasonik banyoda 10 dk degaze edilip çözünmesi sağlanır, hacmine çözücü ile tamamlanır. Daha sonra bu çözeltiden 2,5 mL alınıp 100 mL’ye çözücüyle tamamlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. (C_{Diklofenak Sodyum}: 0,002 mg/mL, C_{Tiyokolşikozit}: 0,00125 mg/mL)

Numune Çözeltisi hazırlanışı: Yaklaşık 10 g jel (100,0 mg Diklofenak Sodyum'a ve 2,5 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) numunesi 100,0 mL'lik balonjojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk ultrasonik banyoda degaze edilip çözünmesi sağlanır, hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}} = 1,0 \text{ mg/mL}$ $C_{\text{Tiyokolşikozit}} = 0,25 \text{ mg/mL}$)

Rezolüsyon Çözeltisi Hazırlığı:

Sistem Uygunluk (rezolüsyon) Çözeltisinin Hazırlanışı: 10,0 mg Diklofenak Sodyum'a eşdeğer 11,6 mg Diklofenak Dietilamonyum çalışma standardı ve 2,5 mg Tiyokolşikozit çalışma standardı tartılır, 10 mL'lik balonjojeye aktarılır, yarı hacmine kadar çözücü eklenir, ultrasonik banyoda 10 dk degaze edilip çözünmesi sağlanır. Üzerine 0,2 mL Diklofenak Safsızlık A stok çözeltisinden eklenip çözücüyle hacmine tamamlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}} = 1,0 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}} = 0,25 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Diklofenak Saf. A}} = 0,005 \text{ mg/mL}$)

Spike Numune ve Unspike Numune Çözeltisi Hazırlığı:

Spike Numune Çözeltisi hazırlanışı: Yaklaşık 1000,0 mg jel numunesi (10,0 mg Diklofenak Sodyum'a ve 2,5 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) 10 mL'lik balonjojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk ultrasonik banyoda degaze edilip çözünmesi sağlanır. Üzerine 0,2 mL Diklofenak Safsızlık A stok çözeltisinden, 0,125 mL Kolşikozit stok çözeltisinden, 0,125 mL Kolşisin stok çözeltisinden eklenip hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}} = 1,0 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}} = 0,25 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Diklofenak Saf. A}} = 0,005 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşikozit}} = 0,00125 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşisin}} = 0,00125 \text{ mg/mL}$)

Unspike Numune Çözeltisi hazırlanışı: Yaklaşık 1000,0 mg jel numunesi (10,0 mg Diklofenak Sodyum'a ve 2,5 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) 10 mL'lik balonjojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk ultrasonik banyoda degaze edilip çözünmesi sağlanır, hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}} = 1,0 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}} = 0,25 \text{ mg/mL}$)

Kabul Kriteri:

Filtre Etkisi için;

Bilinen safsızlıklar için, Safsızlık limiti $\geq \%0,50$, % Fark $\%3,0$ olmalıdır.

Blank ve plasebo kromatogramlarından etken madde ve bilinen safsızlıkların alıkonma zamanında herhangi bir pik gözlenmemelidir.

Etken madde piki ve bilinen safsızlık pikleri saf olmalıdır.

Pik Tanımlaması, Blank ve Plasebo Etkisi için;

Çözücü ve plasebo kromatogramlarından etkin madde alıkonma zamanında gelen herhangi bir pik gözlenmemelidir.

Safsızlık pikleri etkin maddeden ve birbirlerinden ayrılmış olmalıdır.

Etkin madde ve safsızlık pikleri saf olmalıdır. (*Peak purity indeks > Single point threshold*)

3.4.4. Doğrusallık (*Linearity*)

Analitik yöntemin doğrusallığı, belirlenen aralıkta elde edilen test sonuçlarının numune içindeki etkin madde konsantrasyonu ile doğru orantıya sahip olmasıdır.

Çalışma derişiminin %10 (LOQ) ve %200 derişim aralığında olacak şekilde, 11 ayrı konsantrasyonda standart çözeltisi hazırlanarak analiz edilmiş ve dedektör yanıtına göre derişim/alan grafiğı çizilerek kabul kriterine uygunluğu test edilmiştir. Alt, raporlama (%20) ve üst konsantrasyonlardaki çözelti-lerden 6'şar enjeksiyon yapılmış ve uygulama aralığı tespitinde kullanılmıştır. %100'lük çözeltiden 6 enjeksiyon yapıp sistem kesinliği tespitinde kullanılmıştır.

Kolşisin Stok Standart Çözeltisi hazırlanışı: 2,0 mg Kolşisin standardı tartılır, 20,0 mL'ye çözücüyle seyreltilir. ($C_{\text{Kolşisin}} : 0,1 \text{ mg/mL}$)

Kolşikozit Stok Standart Çözeltisi hazırlanışı: 2,0 mg Kolşikozit standardı tartılır, 20,0 mL'ye çözücüyle seyreltilir. ($C_{\text{Kolşikozit}} : 0,1 \text{ mg/mL}$)

Diklofenak Safsızlık A Stok Standart Çözeltisi Hazırlanışı: 5,0 mg Diklofenak Safsızlık A standardı tartılır, 20,0 mL'ye çözücüyle seyreltilir. ($C_{\text{Diklofenak Safsızlık A}} : 0,25 \text{ mg/mL}$)

Diklofenak Dietilamonyum Stok Standart Çözeltisi hazırlanışı: 2,0 mg Diklofenak Dietilamonyum standardı tartılır, 20,0 mL'ye çözücüyle seyreltilir. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum Saf. A}} : 0,1 \text{ mg/mL}$)

Tiyokolşikozit Stok Standart Çözeltisi hazırlanışı: 2,0 mg Tiyokolşikozit standardı tartılır, 20,0 mL'ye çözücüyle seyreltilir. ($C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,1 \text{ mg/mL}$)

%5 Standart Çözeltisi (LOD Seviyesi) Hazırlanışı: Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 10,0 μL , Diklofenak Safsızlık A Stok çözeltisinden 10,0 μL , Kolşisin Stok standart Çözeltisinden 6,25 μL , Kolşikozit Stok standart Çözeltisinden 6,25 μL , Tiyokolşikozit Stok standart Çözeltisinden 6,25 μL alınır 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 μm nylon filtreden süzülür ve vialle aktararak enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 0,0001 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,0000625 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Diklofenak Safsızlık A}}: 0,00025 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşikozit}}: 0,0000625 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşisin}}: 0,0000625 \text{ mg/mL}$)

%10 Standart Çözeltisi (LOQ Seviyesi) hazırlanışı: Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 20,0 μL , Diklofenak Safsızlık A Stok çözeltisinden 20,0 μL , Kolşisin stok standart çözeltisinden 12,5 μL , Kolşikozit Stok standart Çözeltisinden 12,5 μL , Tiyokolşikozit Stok standart Çözeltisinden 12,5 μL alınarak 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 μm nylon filtreden süzülür ve vialle aktararak enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 0,0002 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,000125 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Diklofenak Safsızlık A}}: 0,0005 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşikozit}}: 0,000125 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşisin}}: 0,000125 \text{ mg/mL}$)

%20 Standart Çözeltisi (Raporlama Seviyesi) hazırlanışı: Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 100,0 μL , Diklofenak Safsızlık A Stok çözeltisinden 40,0 μL , Kolşisin stok standart çözeltisinden 25,0 μL , Kolşikozit Stok standart Çözeltisinden 25,0 μL , Tiyokolşikozit Stok standart Çözeltisinden 25,0 μL 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 μm Nylon filtreden süzülür ve vialle aktararak enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 0,001 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,00025 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Diklofenak Safsızlık Saf. A}}: 0,0010 \text{ mg/L}$, $C_{\text{Kolşikozit}}: 0,00025 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşisin}}: 0,00025 \text{ mg/mL}$)

%40 Standart Çözeltisi Hazırlanışı: Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 80,0 μL , Diklofenak Safsızlık A Stok çözeltisinden 80,0 μL , Kolşisin stok standart çözeltisinden 50,0 μL , Kolşikozit Stok standart Çözeltisinden 50,0 μL , Tiyokolşikozit Stok standart Çözeltisinden 50,0 μL 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 μm Nylon filtreden süzülür ve vialle aktararak

enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 0,0008 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,0005 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Diklofenak Safsızlık A}}: 0,0020 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşikozit}}: 0,0005 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşisin}}: 0,0005 \text{ mg/mL}$)

%70 Standart Çözeltisi hazırlanışı: Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 140,0 μL , Diklofenak Safsızlık A Stok çözeltisinden 140,0 μL , Kolşisin Stok standart Çözeltisinden 87,5 μL , Kolşikozit Stok standart Çözeltisinden 87,5 μL , Tiyokolşikozit stok standart çözeltisinden 87,5 μL alınarak 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 μm nylon filtreden süzülür ve viale aktarılarak enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 0,0014 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,000875 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Diklofenak Safsızlık A}}: 0,0035 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşikozit}}: 0,000875 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşisin}}: 0,000875 \text{ mg/mL}$)

%80 Standart Çözeltisi hazırlanışı: Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 160,0 μL , Diklofenak Safsızlık A Stok çözeltisinden 160,0 μL , Kolşisin stok standart çözeltisinden 100,0 μL , Kolşikozit Stok standart Çözeltisinden 100,0 μL , Tiyokolşikozit Stok standart Çözeltisinden 100,0 μL alınarak 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 μm nylon filtreden süzülür ve viale aktarılarak enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 0,0016 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,001 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Diklofenak Safsızlık A}}: 0,0040 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşikozit}}: 0,001 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşisin}}: 0,001 \text{ mg/mL}$)

%90 Standart Çözeltisi hazırlanışı: Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 180,0 μL , Diklofenak Safsızlık A Stok çözeltisinden 180,0 μL , Kolşisin stok standart çözeltisinden 112,5 μL , Kolşikozit Stok standart Çözeltisinden 112,5 μL , Tiyokolşikozit Stok standart Çözeltisinden 112,5 μL alınarak 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 μm Nylon filtreden süzülür ve viale aktarılarak enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 0,0018 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,00113 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Diklofenak Safsızlık A}}: 0,0045 \text{ mg/L}$, $C_{\text{Kolşikozit}}: 0,00113 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşisin}}: 0,00113 \text{ mg/mL}$)

%100 Standart Çözeltisi hazırlanışı: Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 200,0 μL , Diklofenak Safsızlık A Stok çözeltisinden 200,0 μL , Kolşisin stok standart çözeltisinden 125,0 μL , Kolşikozit Stok standart Çözeltisinden 125,0 μL , Tiyokolşikozit Stok standart Çözeltisinden 125,0 μL alınarak 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 μm Nylon filtreden süzülür ve viale aktarılarak enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 0,002 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}:$

0,00125 mg/mL, C_{Diklofenak Sodyum Saf. A}: 0,005 mg/mL, C_{Kolşikozit}: 0,00125 mg/mL, C_{Kolşisin}: 0,00125 mg/mL)

%140 Standart Çözeltisi Hazırlanışı: Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 280,0 µL, Diklofenak Safsızlık A Stok çözeltisinden 280,0 µL, Kolşisin stok standart çözeltisinden 175,0 µL, Kolşikozit stok standart çözeltisinden 175,0 µL, Tiyokolşikozit stok standart çözeltisinden 175,0 µL alınarak 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 µm Nylon filtreden süzülür ve vialle aktarılacak enjeksiyon yapılır. (C_{Diklofenak Sodyum}: 0,0028 mg/mL, C_{Tiyokolşikozit}: 0,00175 mg/mL, C_{Diklofenak Sodyum Saf. A}: 0,007 mg/mL, C_{Kolşikozit} : 0,00175 mg/mL, C_{Kolşisin} : 0,00175 mg/mL)

%160 Standart Çözeltisi hazırlanışı: Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 320,0 µL, Diklofenak Safsızlık A stok çözeltisinden 320,0 µL, Kolşisin stok standart çözeltisinden 200,0 µL, Kolşikozit stok standart çözeltisinden 200,0 µL, Tiyokolşikozit stok standart çözeltisinden 200,0 µL alınarak 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 µm nylon filtreden süzülür ve vialle aktarılacak enjeksiyon yapılır. (C_{Diklofenak Sodyum}: 0,0032 mg/mL, C_{Tiyokolşikozit}: 0,002 mg/mL, C_{Diklofenak Sodyum Saf. A}: 0,008 mg/mL, C_{Kolşikozit} : 0,002 mg/mL, C_{Kolşisin} : 0,002 mg/mL)

%180 Standart Çözeltisi hazırlanışı: Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 360,0 µL, Diklofenak Safsızlık A Stok çözeltisinden 360,0 µL, Kolşisin stok standart çözeltisinden 225,0 µL, Kolşikozit stok standart çözeltisinden 225,0 µL, Tiyokolşikozit stok standart çözeltisinden 225,0 µL alınarak 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 µm nylon filtreden süzülür ve vialle aktarılacak enjeksiyon yapılır. (C_{Diklofenak Sodyum}: 0,0036 mg/mL, C_{Tiyokolşikozit}: 0,00225 mg/mL, C_{Diklofenak Sodyum Saf. A}: 0,009 mg/mL, C_{Kolşikozit}: 0,00225 mg/mL, C_{Kolşisin} : 0,00225 mg/mL)

%200 Standart Çözeltisi hazırlanışı: Hassas olarak Diklofenak Dietilamonyum Stok standart Çözeltisinden 400,0 µL, Diklofenak Safsızlık A stok çözeltisinden 400,0 µL, Kolşisin stok standart çözeltisinden 250,0 µL, Kolşikozit stok standart çözeltisinden 250,0 µL, Tiyokolşikozit stok standart çözeltisinden 200,0 µL alınarak 10,0 mL'lik balon jojeye aktarılır ve çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 µm Nylon filtreden süzülür ve vialle aktarılacak enjeksiyon yapılır. (C_{Diklofenak Sodyum}: 0,004 mg/mL, C_{Tiyokolşikozit}: 0,0025

mg/mL, C Diklofenak Sodyum Saf. A: 0,01 mg/mL, C Kolşikozit: 0,0025 mg/mL, C Kolşisin: 0,0025 mg/mL)

Kabul Kriteri:

$R^2 \geq 0,99$ olmalıdır.

$$\text{Relative Residual Standard Deviation} = \frac{\text{Residual Standard Deviation}}{\%100'lük std alanı} \times 100 \leq \%10,0$$

– 20,0 olmalıdır.

$$\text{Residual Standard Deviation} = \sqrt{\frac{RSS}{n-2}}$$

RSS (farkların karesinin toplamı) = $\sum(Y - Y_{cal})^2$

n: Doğrusallık çalışmasında kullanılan standart çözelti sayısı

$$\frac{Y_{int}}{\%100'lük standart alanı} \times 100 \leq \%10,0 - \%20,0 \text{ olmalıdır.}$$

Safsızlıkların Bağlı Cevap Faktörleri (RRF) ve Düzeltme Faktörünün (CF) Hesaplanması:

$$RRF = \frac{\text{Safsızlığa ait uyum doğrusunun eğimi}}{\text{Etken madde seyreltik standarda ait uyum doğrusunun eğimi}}$$

$$CF = \frac{\text{Etken madde seyreltik standarda ait uyum doğrusunun eğimi}}{\text{Safsızlığa ait uyum doğrusunun eğimi}} = \frac{1}{RRF}$$

3.4.5. Tespit Limiti (*Limit of Detection=LOD*)

Örnekteki bileşenin doğru ve güvenilir şekilde teşhis edilebilen en düşük konsantrasyonudur. Bu miktarın gerçek değer olarak belirlenmesi gerekmemektedir. LOD seviyesinde hazırlanan safsızlık çözeltisinden 1 enjeksiyon yapılmıştır.

Numune hazırlığı, Bölüm “3.4.4 Doğrusallık (Linearity)” parametresi numune hazırlığı kısmında verilmiştir

Kabul Kriteri:

Örnek kromatogramda elde edilen sinyalin *blank* kromatogramındaki gürültüye oranının değeri en az 3,0 olması gerekir. (sinyal/gürültü $\geq 3,0$)

3.4.6. Hesaplanabilirlik Limiti (*Limit of Quantitation=LOQ*)

Örnekteki bileşenin doğru ve güvenilir şekilde hesaplanabildiği en düşük konsantrasyondur. LOQ seviyesinde hazırlanan safsızlık çözeltisinden 6 enjeksiyon yapılmıştır.

Numune Hazırlığı, Bölüm “3.4.4 Doğrusallık (Linearity)” parametresi numune hazırlığı kısmında verilmiştir

Kabul Kriteri:

Örnek kromatogramında elde edilen sinyalin gürültüye oranı değerinin en az 10,0 olması gerekir. (Sinyal/gürültü $\geq 10,0$).

Hesaplanabilirlik limiti $\leq$ Raporlama seviyesi olmalıdır.

3.4.7. Uygulama Aralığı (Range)

Bir analitik yöntemin uygulama aralığı, tayin edilen bileşen için doğrusallık, doğruluk ve kesinliğin elde edilebildiği alt ve üst konsantrasyonlar arasındaki aralık olarak tarif edilir. Doğrusallık çalışmasının alt ve üst sınır çözeltilerinin 6’şar enjeksiyonunun RSD’si hesaplanmıştır.

Kabul Kriteri:

Alt seviye sınır çözeltisi (LOQ seviyesi) için; RSD $\leq$ %5,0-%15,0 olmalıdır.

Üst seviye sınır çözeltisi için (%200); Bilinen safsızlıklar için, Safsızlık limiti $\geq$ %0,50 ise RSD $\leq$ %2,0-%5,0

3.4.8. Sağlamlık (*Robustness*)

3.4.8.1. Çözelti Stabilitesi

Analizi yapılacak maddenin stabil olarak analiz şartlarında bekletilme süresi saptanmalıdır. Seçilecek bekletilme süresi analize özgüdür. Eğer etkin madde bu süre ve saklama şartlarında bozulacak olursa bu şartlar limitlendirilir ve yöntemde belirtilir.

İşlem: Standart ve numune çözeltileri GEREÇ ve YÖNTEM bölümündeki 3.7.7 Safsızlık Tayini (İmpürite) kısmında anlatıldığı gibi hazırlanarak en az 48 saat boyunca 10 °C sıcaklıkta bekletilip belli sürelerde analiz edilmiştir.

%100 Spike Numune Çözeltisinin hazırlanışı GEREÇ ve YÖNTEM bölümündeki 3.7.7 Safsızlık Tayini (İmpürite) kısmında anlatıldığı gibi hazırlanmıştır

Kabul Kriteri:

Bilinen safsızlıklar için, Safsızlık limiti $\geq \%0,50$ ise başlangıç değerine göre % bağıl değişim $\leq \%2,0$ -%5,0 olmalıdır.

$$\% \text{ Bağıl değişim} = \frac{A_X - A_{Başlangıç}}{A_{Başlangıç}} \times 100$$

A_X : Analiz yapılan X zamandaki alan

$A_{Başlangıç}$: Başlangıçtaki alan



3.5. Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Formülasyon geliştirme çalışmaları ilacın etkinliği, güvenilirliği ve kalitesini her bir referans ürüne benzer olacak şekilde, referans ürün bileşimi ve emüljel formülasyonu üzerinden Tablo 3-5'deki gibi formülasyon bileşenleri kavramsal olarak değerlendirilmiş ve deneme çalışmalarının başlanmıştır.

Tablo 3-5: Formülasyon deneme çalışmaları kavramsal tasarımı

Bileşenler	Fonksiyonu	Formülasyon Hedefi/Yorum
Karbomer (Carbopol 974 P NF)	Jel Yapıcı Ajanı	Carbomer Homopolymer Type B tipi 974P türevidir ve genelde yüksek viskozite istenildiğinde tercih edilir. %1-1,5 arasında kullanılabilir.
İzopropil Alkol (IPA)	Çözücü	Alkol ve ko-solvan bileşimi su sistemi ile birleşerek suda az çözünün, hidrofobik bileşiklerin karışımını kolaylaştırıyor. Etkin madde çözünürlüğüne göre Etanol/IPA veya karışımı % 20 civarından kullanılabilir.
Propilen Glikol	Ko-Solvan	Dikolfenak'ın deriden penetrasyonu ve çözünmesini kolaylaştıracak kalacak solüsyon içinde kalmasını sağlıyor. Ko-solvan görevi ile beraber % 5-10 arası kullanılabilir.
Likit Vazelin (Sıvı Parafin)	Yağ Fazı	Sıvı özellikle yağ fazını oluşturur. Absorpsiyon bazlı ve su/yağ emülsiyonları için tercih edilmektedir. Yağ tipi Emüljel formülasyonu için uygun adaydır.
Macrogol Cetostearyl Ether (Cetomacragol 1000 veya Emulgin B2 PH)	Yağ Fazı, - Emüls. Yapıcı	Kendinden emülsifiyan maddedir veya yağ fazı için. 1-2 Hidroksil 6-34 Karbon karbon atomu ile 12-18 Karbon atomlar tercih edilir. Yağ alkolü eteri özeliğindedir. % 3 civarında formülasyon ile başlanmıştır.
Kokoil kaprilokaprat (Cetiol LC)	Yağ Fazı.	Doymuş Yağ Asitleridir. Yağ alkollerinin Kaprilik/Kaprik Asit esterleridir. Yağ Fazı için % 4-5 civarında kullanılabilir.
Dietilamin/Trietanolamin	Alkali Ajan	Karbopol polimerinin asit nötralizasyonu ve viskozite optimizasyonu için kullanılmıştır. pH 7 civarında jel formülasyonları stabildir.
Krem parfüm 45	Parfüm	Sunum için tercih edilir
Mentol Esansı	Esans	Sunum için tercih edilir
Lavanta Esansı	Esans	Sunum için tercih edilir
Saf Su	Çözücü	Tiyokolşikozit etken maddesi ve jel formülasyonu için çözücüdür

Hedeflenen görünüm ve viskozite değerine ulaşmak için formülasyon çalışmaları tasarlanmış ve makrogol setostaril eter miktarı, karbopol miktarı ile izopropil alkol miktarı üzerine denemeleri yapılmış ve formülasyonları Tablo 3-6 ve Tablo 3-7'de verilmiştir.

Formülasyon denemeleri toplam seri boyutu 1 kg olacak şekilde tasarlanmış ve tüm serilerin üretim metodu ve akışı aynı prensipte hazırlanmıştır. Üretim metodu aşağıdaki gibidir:

Formülasyon Denemeleri Üretim Metodu:

Ana kaba bir miktar saf su alınır ve üzerine Karbopol yavaş yavaş eklenir ve tamamen şeffaf görünüm elde edilene dek karıştırılır ve jel oluşumu sağlanır.

Ayrı bir içerisindeki ayrı Sıvı Vazelin alınır ve 50–55 °C’ye sıcak plaka veya su banyosunda tamamen eriyinceye dek ısıtılır. Üzerine Makrogol setostearil Eter ilave edilerek karıştırmaya devam edilir. Daha sonra Setiol LC ilave edilir ve eriyik karışım 50 °C-55 °C’ de bekletilir.

Bu eriyik karışım, ana kapta bulunan jel sistemine eklenir, homojen jel formu sağlanana dek en az 30 dakika karıştırılarak

Ardında bu karışıma trietanolamin yavaş yavaş ilave edilerek karıştırılır ve pH kontrolü yapılır.

Ayrı bir paslanmaz kaba İzopropil Alkol alınır ve üzerine Diklofenak Dietilamonyum, Propilen Glikol ilave edilerek, etkin madde tamamen çözününceye kadar karıştırılır. Jel sisteminin içine yavaşça eklenir ve karıştırılır.

Ayrı bir paslanmaz kap içerisine bir miktar Saf Su alınır ve üzerine Tiyokolşikozit ilave edilerek çözününceye kadar karıştırılır. Ana sisteme yavaş yavaş ilave edilir ve tüm karışım karıştırmaya devam edilir.

Son olarak Mentol (Esans) ve Lavanta (Esans) eklenerek karıştırılır ve gerekli kontroller yapılır.

Hazırlanan bulk jel ürün ortalama ağırlığı 50g olacak şekilde Alüminyum tüplere doldurulur.

Formülasyon Denemeleri Özet Tablosu

Denemelerin tasarımı aşağıda iki tablo halinde verilmiştir.

Tablo 3-6 - Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyon denemeleri (1/2)

Bileşim	DT1202D001	DT1202D002	DT1202D003	DT1202D004
Diklofenak Dietilamonyum	0,580	0,580	0,580	0,580
Tiyokolşikozit	0,125	0,125	0,125	0,125
Karbopol 974 P	0,475	0,475	0,475	0,475
İzopropil Alkol	8,000	8,000	8,000	8,000
Propilen Glikol	4,500	4,500	4,500	4,500
Vazelin Likit	2,000	2,000	2,000	2,000
Makrogol Setostearil Eter	1,250	1,450	1,550	1,750
Setiol LC	2,000	2,000	2,000	2,000
Trietanolamin	0,740	0,740	0,740	0,740
Mentol (Esans)	0,125	0,125	0,125	0,125
Lavanta (Esans)	0,375	0,375	0,375	0,375
Saf Su	ym	ym	ym	ym
TOPLAM (gr)	50,000	50,000	50,000	50,000

Tablo 3-7 - Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyon denemeleri (2/2)

Bileşim	DT1310D005	DT1310D006	DT1310D010	DT1310D011
Diklofenak Dietilamonyum ^{1,2}	0,580	0,580	0,580	0,580
Tiyokolşikozit ²	0,125	0,125	0,125	0,125
Karbopol 974 P	0,475	0,475	0,600	0,600
İzopropil Alkol	8,000	8,000	8,000	10,000
Propilen Glikol	4,500	4,500	4,500	4,500
Vazelin Likit	2,000	2,000	2,000	2,000
Makrogol Setostearil Eter	1,750	1,750	1,750	1,750
Setiol LC	2,000	2,000	2,000	2,000
Trietanolamin	0,740	0,740	0,740	0,740
Mentol (Esans)	0,125	0,125	0,125	0,125
Lavanta (Esans)	0,375	0,375	0,375	0,375
Saf Su	ym	ym	ym	ym
TOPLAM (gr)	50,000	50,000	50,000	50,000

3.6. Bitmiş Ürün Spesifikasyonları Üzerine Yapılan Çalışmalar

Erişilen prototip formülasyonu istenilen ilaç kalite nitelikleri taşıması için jel formülasyonunda üründe yapılacak ve geliştirmeye yön verecek kalite karakteristikleri ve aşağıda

Tablo 3-8'deki gibi tasarlanmıştır. Referans ürün Voltaren Emöljel ve Muscoril Merhem farmasötik açıdan eşdeğer ürünler olması, geliştirilen sabit doz komine ilacın ürün profilinin kalite gerekliliğidir.



Tablo 3-8: Formülasyon geliştirme sırasında yapılan kontrollerin değerlendirilmesi

KALİTE KARAKTERİSTİĞİ	HEDEF
Görünüm	Tiyokoşikozit in sarı renginden dolayı açık sarı görünümüne sahip jel formu beklenmektedir.
Viskozite	Reolojik özellikler rutin üretime elverişli, ürünün tüpten çıkışı rahat ama aşırı akışkan olmayacak şekilde, hasta kabulü için önemlidir. Tercihen 9.000-15.000 cps arasında bir viskozite değer hedeflenmiştir.
pH değeri	Uygun pH değeri ile hem etken madde stabilites hem jel formunun yapısını belirlenecektir. pH 6-8 arasında olması hedeflenmektedir.
Ortalama Ağırlık	Bitmiş ürün dozaj formunda yapılan rutin testlerdir. Dolum ağırlığı etken maddelerin dozaj formu içindeki oranına etki eder. Belli limitler dahilinde Ortalama 50 g olmalıdır.
Tanıma	İlacın kimliği ve analitik olarak tanınabilirliği için önemlidir.
Miktar Tayini	İlacın etkililiği için önemlidir. Etken maddelerin etiket dozajını karşılaması için serbest bırakma spesifikasyonları $\pm$ % 5 limitler içerisinde olmalıdır
Safsızlıklar	İlacın güvenliği için gereklidir. Safsızlıklar ilgili farmakope ve ICH kılavuzlarına uygun olmalıdır.
Mikrobiyal Kontroller	İlacın güvenliği için gereklidir. Dozaj formunun mikrobiyal stabilitesi farmakope limitleri dahilinde olmalıdır

Geliştirme boyunca kritik kalite nitelikleri değerlendirilmiş, pilot üretim sonucunda elde edilen bilgiler doğrultusunda son ve tüm kalite karakteristiklerine, dolayısıyla bitmiş ürün ve raf ömrü spesifikasyonlarına erişilmiştir. Bu spesifikasyon parametrelerinin kontrol metotları “Bölüm 3.7 Proses İçi Kontrol ve Bitmiş Ürün Analiz Metotları” bölümünde verilmiştir.

3.7. Proses İçi Kontrol ve Bitmiş Ürün Analiz Metotları

3.7.1. Görünüm

Yeterli miktarda numune temiz bir beher içine alınır. Oda ışığı altında, görsel olarak numunenin rengi ve yapısı incelenir.

3.7.2. pH

Avr. Farm. 2.2.3’e göre pH metre cihazı ile pH ölçümü yapılır.

3.7.3. Tanıma (YBSK)

Miktar tayini testinde elde edilen kromatogramlar incelenir. Standart ve test çözeltisi enjeksiyonlarından elde edilen Diklofenak ve Tiyokolşikozit piklerinin alıkonma zamanları aynı olmalıdır.

3.7.4. Viskozite

Avr. Farm. 2.2.10 numaralı genel test yöntemine göre viskozimetre kullanılarak viskozite değeri “cps” olarak ölçülür.

Koşullar: Viskozimetre cihazı, Kullanılan Spindle: PA(Kalın), Sıcaklık: Oda sıcaklığı, Spindle Dönüş Hızı: 12 rpm

3.7.5. Ortalama Dolum Ağırlığı

10 adet boş tüpün ortalama darasında göre, 10 numune tartılır ve ortalama dolum ağırlığı hesaplanır.

3.7.6. Miktar Tayini

Ekipman Koşulları

Cihaz	: Shimadzu HPLC
Dedektör	: UV-VIS, DAD
Kolon	: EMR ChrometiSIL 120-10-Phenyl 3µm; 150 x 4,6 mm
veya eşdeğeri	
Dalga Boyu	: 260 nm
Akış Hızı	: 1,0 mL/dk
Enjeksiyon Hacmi	: 20,0 µL
Analiz Süresi	: 30 dk.
Tray Sıcaklığı	: 10 °C
Kolon Sıcaklığı	: 30 °C
Çözücü	: Metanol:Su (80:20)
Alıkonma zamanı	: Diklofenak RT: ~20,86 dk.
	Tiyokolşikozit RT: ~3,8 dk.

Mobil Faz A: 2,70 g Potasyum Dihidrojen Fosfat tartılır. 1 L saf suda çözülür. pH'ı, %85.0 'lık orto-fosforik asit ile 3,0'e ayarlanır. 0,22 µm'lık Nylon filtreden süzülür ve 25 °C'nin altındaki oda sıcaklığında muhafaza edilir. Mobil faz A, 48 saatte bir taze olarak hazırlanmalıdır.

Mobil Faz B : HPLC saflığında Asetonitril kullanılır.

Gradient Programı:

Zaman (Dakika)	Mobil Faz A (%)	Mobil Faz B (%)
0,01	75	25
7,00	70	30
15,00	55	45
25,00	55	45
25,01	75	25
30,00	75	25

Sistem Uygunluk Testi: Standart çözeltisi ve kontrol standardı enjeksiyonlarının aşağıdaki parametrelere uygunluğu kontrol edilir. Standart Çözeltisinin ardışık 6 enjeksiyonundan elde edilen kromatogramlardaki Diklofenak ve Tiyokolşikozit pik alanlarının %RSD'si %2,0' dan fazla olmamalıdır. Standart Çözeltisinde Diklofenak ve Tiyokolşikozit pikleri için kuyruklanma faktörü en fazla 2 olmalıdır.

Blank Çözeltisi Hazırlanışı: Çözücü 0,45 µm Nylon Multigrade Glassfiber filtreden süzülür ve vialle aktararak enjeksiyon yapılır.

Stok Standart Hazırlanışı: 116,0 mg Diklofenak Dietilamonyum çalışma standardı (100,0 mg Diklofenak Sodyum'a eşdeğer) ve 25,0 mg Tiyokolşikozit 100,0 mL'ye tartım alınarak aktarılır. Yarı hacmine kadar çözücü ilave edilir ve 1 dakika vorteks yapılır. Ultrasonik banyoda 2 dakika bekletilerek çözünmesi sağlanır ve oda ısısına getirilerek çözücü ile hacmine tamamlanır. ($C_{\text{diklofenak sodyum}}:1,0 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{tiyokolşikozit}}:0,25 \text{ mg/mL}$)

Standart Çözeltinin Hazırlanışı: 2,0 mL stok standart çözeltisi 10,0 mL'lik balon jofeye aktarılır. Hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Multigrade Glassfiber filtreden süzülür ve vialle aktararak enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}:0,2 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{Tiyokolşikozit}}:0,05 \text{ mg/mL}$). Standart çözelti ile aynı konsantrasyonda iki standart daha hazırlanır. Bu standartlar kontrol standardı olarak kullanılır.

Test Çözeltisinin Hazırlanışı: 10.000,0 mg (100,0 mg Diklofenak Sodyum'a eşdeğer, 25,0 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) Diklofenak Dietilamonyum % 1 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel, 100,0 mL'ye tartım alınarak aktarılır. Yarı hacmine kadar çözücü ilave edilir ve 1 dakika vorteks yapılır. Ultrasonik banyoda 2 dakika bekletilerek çözünmesi sağlanır ve oda ısısına getirilerek çözücü ile hacmine tamamlanır. Hazırlanan bu çözeltiden 2,0 mL alınarak 10,0 mL'lik balon jofeye aktarılıp hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Multigrade Glassfiber filtreden süzülür ve vialle aktararak enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak sodyum}}:0,2 \text{ mg/mL}$; $C_{\text{tiyokolşikozit}}:0,05 \text{ mg/mL}$)

Uygulama:

Blank çözeltisi 1 kez enjekte edilir.

Standart çözelti ardışık 6 kez enjekte edilir.

Kontrol standartları ardışık 2 kez enjekte edilir.

Her bir miktar tayini numune çözeltisinden 2 kez enjekte edilir.

Kontrol standardı ardışık 2 kez enjekte edilir.

Hesaplamalar:

Diklofenak Sodyum konsantrasyon hesabı:

$$C_{\text{Diklofenak Sodyum}} = \left[\frac{W_{\text{std}}}{V} \times \text{Potens} \times \text{Ç.F.} \right] \times \frac{2}{10}$$

$C_{\text{Diklofenak Sodyum}}$: Diklofenak Sodyum Standart çözelti konsantrasyonu (mg/mL)

W_{Std} : Diklofenak Dietilamonyum standart tartımı (mg)

Potens : Diklofenak Dietilamonyum standart potensi (*as is*)

V : Seyreltme hacmi (100,0 mL)

Ç.F. : Diklofenak Dietilamonyum'u Diklofenak Sodyum'a çevirme faktörü ($M_{A,\text{Diklofenak}}$

$\text{Sodyum} / M_{A,\text{Diklofenak Dietilamonyum}} = 318,13 \text{ g/mol} / 369,28 \text{ g/mol} : 0,8621$)

Tiyokolşikozit konsantrasyon hesabı:

$$C_{\text{Tiyokolşikozit}} = \left[\frac{W_{\text{std}}}{V} \times \text{Potens} \right] \times \frac{2}{10}$$

$C_{\text{Tiyokolşikozit}}$: Tiyokolşikozit Standart çözelti konsantrasyonu (mg/mL)

W_{Std} : Tiyokolşikozit standart tartımı (mg)

Potens : Tiyokolşikozit standart potensi (*as is*)

V : Seyreltme hacmi (100,0 mL)

$$\% \text{ Diklofenak Sodyum} = \frac{\left(\frac{A_{\text{Test}}}{A_{\text{Std}}} \right) \times C_{\text{Diklofenak Sodyum}}}{\left(\frac{W_{\text{Test}}}{100} \times \frac{2}{10} \right)} \times \frac{100}{1} \times 100$$

A_{Test} : Test çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki Diklofenak pik alanı

A_{Std} : Standart çözeltisinden elde edilen kromatogramlardaki Diklofenak ortalama pik alanı

C_{Std} : Hesaplanan Diklofenak Sodyum standart çözelti konsantrasyonu (mg/mL)

W_{Test} : Tartılan numunenin ağırlığı (mg)

100/1 : 100 g tüp numunesi içerisinde 1,0 g Diklofenak Sodyum vardır.

$$\% \text{ Tiyokolşikozit} = \frac{\left(\frac{A_{Test}}{A_{Std}}\right) \times C_{Tiyokolsikosit}}{\left(\frac{W_{Test}}{\frac{100 \times 2}{10}}\right)} \times \frac{100}{0,25} \times 100$$

A_{Test} : Test çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki Tiyokolşikozit pik alanı

A_{Std} : Standart çözeltisinden elde edilen kromatogramlardaki Tiyokolşikozit ortalama pik alanı

C_{Std} : Hesaplanan Tiyokolşikozit standart çözelti konsantrasyonu (mg/mL)

W_{Test} : Tartılan numunenin ağırlığı (mg)

100/0,25: 100 g tüp numunesi içerisinde 0,25 g Tiyokolşikozit vardır.

3.7.7. Safsızlık Tayini (İmpürite)

Ekipman Koşulları

Cihaz : Shimadzu HPLC; Kolon: EMR ChrometiSIL 120-10-Phenyl 3µm; 150 x 4,6 mm veya eşdeğeri; Dalgaboyu: UV detektör, 260 nm

Akış Hızı: 1.0 mL/dk; Enjeksiyon Hacmi: 20,0 µl; Analiz Süresi: 60 dk

Kolon Sıcaklığı: 30 °C; Tray Sıcaklığı: 10 °C

Çözücü: Metanol:Saf Su (80:20,h/h)

Mobil Faz-A Hazırlanışı: 13,6 gram KH₂PO₄ tartılır, 5 litre suyla çözülür. Çözeltinin pH'ı orto-fosforik asitle 3,0'a ayarlanır, 0,22 µm naylon filtreden süzülür ve degaze edilir. Mobil Faz-B: %100 Asetonitril degaze edilir.

Gradient Programı:

Zaman (Dakika)	Mobil Faz A (%)	Mobil Faz B (%)
0,01	85	15
7,00	75	25
15,00	70	30
25,00	65	35
25,01	65	35
30,00	60	40
35,00	65	35
55,00	85	15
60,00	85	15
60,01	STOP	

Blank Çözeltisi Hazırlanışı: Metanol ve saf su (80:20, h/h) oranında karıştırılır. 0,45 µm Naylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır.

Numune Çözeltisi Hazırlanışı: Yaklaşık 10.000,0 mg jel numunesi (100,0 mg Diklofenak Sodyum'a ve 25,0 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) 100 mL'lik balon jojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk ultrasonik banyoda degaze edilip çözünmesi sağlanır, hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 1,0 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,25 \text{ mg/mL}$)

Plasebo Çözeltisi Hazırlanışı: Yaklaşık 9.859,0 mg jel numunesi (100,0 mg Diklofenak Sodyum'a ve 25,0 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) 100,0 mL'lik balon jojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk ultrasonik banyoda degaze edilip çözünmesi sağlanır, hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır.

Diklofenak Dietilamonyum içeren Plasebo Çözeltisi Hazırlanışı: Yaklaşık 9.966,0 mg jel numunesi (100,0 mg Diklofenak Sodyum'a ve 25,0 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) 100,0 mL'lik balon jojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk ultrasonik banyoda degaze edilip çözünmesi sağlanır, hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 1,0 \text{ mg/mL}$)

Tiyokolşikozit içeren Plasebo Çözeltisi Hazırlanışı: Yaklaşık 9884,0 mg jel numunesi (100,0 mg Diklofenak Sodyum'a ve 25,0 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) 100,0 mL'lik balonjojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk ultrasonik banyoda degaze edilip çözünmesi sağlanır, hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,25 \text{ mg/mL}$)

Standart Çözeltisi Hazırlanışı: 1,6 mg Diklofenak Sodyum'a eşdeğer 1,856 mg Diklofenak Dietilamonyum çalışma standardı ve 1,0 mg Tiyokolşikozit çalışma standardı tartılır, 20,0 mL'lik balon jojeye aktarılır, yarı hacmine kadar çözücü eklenir, ultrasonik banyoda 10 dk ultrasonik banyoda tutulduktan sonra hacmine çözücü ile tamamlanır. Daha sonra bu çözeltiden 2,5 mL alınıp 100,0 mL'ye çözücüyle tamamlanır. 0,45 µm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 0,002 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,00125 \text{ mg/mL}$)

Diklofenak Safsızlık A Stok Çözeltisi Hazırlanışı: 5,0 mg Diklofenak Safsızlık A standardı tartılır ve 20,0 mL'ye çözücüyle seyreltilir. ($C_{\text{Diklofenak Saf. A}}: 0,25 \text{ mg/mL}$)

Diklofenak Safsızlık A Çözeltisi Hazırlanışı: Diklofenak Safsızlık A stok çözeltisinden 0,2 mL alınıp 10,0 mL'ye çözücüyle seyreltilir. ($C_{\text{Diklofenak Saf. A}}: 0,005 \text{ mg/mL}$)

Kolşikozit Stok Çözeltisi Hazırlanışı: 2,0 mg Kolşikozit standardı tartılır, 20,0 mL'ye çözücüyle seyreltilir. ($C_{\text{Kolşikozit}}: 0,1 \text{ mg/mL}$)

Kolşikozit Çözeltisi Hazırlanışı: Kolşikozit stok çözeltisinden 0,125 mL alınıp 10,0 mL'ye çözücüyle seyreltilir. ($C_{\text{Kolşikozit}}: 0,00125 \text{ mg/mL}$)

Kolşisin Stok Çözeltisi Hazırlanışı: 2,0 mg Kolşisin standardı tartılır, 20,0 mL'ye çözücüyle seyreltilir. ($C_{\text{Kolşisin}}: 0,1 \text{ mg/L}$)

Kolşisin Çözeltisi Hazırlanışı: Kolşisin stok çözeltisinden 0,125 mL alınıp 10,0 mL'ye çözücüyle seyreltilir. ($C_{\text{Kolşisin}}: 0,00125 \text{ mg/mL}$)

Sistem Uygunluk (rezolüsyon) Çözeltisinin Hazırlanışı: 10,0 mg Diklofenak Sodyum'a eşdeğer 11,6 mg Diklofenak Dietilamonyum çalışma standardı ve 2,5 mg Tiyokolşikozit çalışma standardı tartılır, 10,0 mL'lik balonjojeye aktarılır, yarı hacmine kadar çözücü eklenir, ultrasonik banyoda 10 dk degaze edilip çözünmesi sağlanır. Üzerine 0,2 mL Diklofenak Safsızlık A stok çözeltisinden eklenip çözücüyle hacmine tamamlanır. 0,45 μm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 1,0 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,25 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Diklofenak Saf. A}}: 0,005 \text{ mg/mL}$)

Spike Numune Çözeltisi Hazırlanışı: Yaklaşık 1.000,0 mg jel numunesi (10,0 mg Diklofenak Sodyum'a ve 2,5 mg Tiyokolşikozit'e eşdeğer) 10,0 mL'lik balonjojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk ultrasonik banyoda degaze edilip çözünmesi sağlanır. Üzerine 0,2 mL Diklofenak Safsızlık A stok çözeltisinden, 0,125 mL Kolşikozit stok çözeltisinden, 0,125 mL Kolşisin stok çözeltisinden eklenip hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 μm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 1,0 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,25 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Diklofenak Saf. A}}: 0,005 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşikozit}}: 0,00125 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Kolşisin}}: 0,00125 \text{ mg/mL}$)

Unspike Numune Çözeltisi Hazırlanışı: Yaklaşık 1000,0 mg jel numunesi 10,0 mL'lik balonjojeye tartılır, üzerine bir miktar çözücü ilave edilir, 10 dk ultrasonik banyoda degaze edilip çözünmesi sağlanır, hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 μm Nylon Glass Fiber filtreden süzülür ve enjeksiyon yapılır. ($C_{\text{Diklofenak Sodyum}}: 1,0 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{Tiyokolşikozit}}: 0,25 \text{ mg/mL}$)

Yöntem:

Mobil Faz 1 kez enjekte edilir.

Blank çözeltisi 1 kez enjekte edilir.

Sistem uygunluk çözeltisi 1 kez enjekte edilir.

Plasebo çözeltisi 1 kez enjekte edilir.

Diklofenak Dietilamonyum içeren plasebo çözeltisi 1 kez enjekte edilir.

Tiyokolşikozit içeren plasebo çözeltisi 1 kez enjekte edilir.

Standart çözelti ardışık 3 kez enjekte edilir

Her bir numune çözeltisinden 1 kez enjekte edilir.

Sistem uygunluk çözeltisi 1 kez enjekte edilir.

Sistem Uygunluk Testi: Standart Çözeltisinin ardışık 6 enjeksiyonundan elde edilen kromatogramlardaki Diklofenak ve Tiyokolşikozit pik alanlarının RSD'si % 5,0'dan fazla olmamalıdır. Diklofenak ile Diklofenak Safsızlık A pikleri arasındaki rezolüsyon minimum 5,0 olmalıdır.

Molekül Adı	Alıkonma Zamanı (dk)	RRT
Diklofenak Dietilamonyum	37.43	-
Tiyokolşikozit	8.48	-
Kolşikozit*	5.54	0.653
Kolşisin*	13.75	1.621
Diklofenak Safsızlık A **	33.79	0.903

*RRT Tiyokolşikozit' e göre hesaplanmıştır.

**RRT Diklofenak Dietilamonyum ' a göre hesaplanmıştır.

Safsızlık Tayini için Hesaplama:

Bilinen Safsızlık (Diklofenak Dietilamonyum safsızlıkları için);

$$(\%) \text{ Bilinen Safsızlık} : \frac{\left(\frac{A_{Num}}{A_{Std}}\right) \times \left(\frac{W_{Std} \times \frac{2.5}{20} \times \frac{100}{100 \times PxCF}}{100}\right)}{\left(\frac{W_{Num}}{100}\right)} \times \frac{100}{L} \times DF \times 100$$

A_{Num} : Test çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki bilinen safsızlık pik alanı

A_{Std} : Standart çözeltisinden elde edilen kromatogramlardaki Diklofenak pik alanı ortalaması

W_{Std} : Standart tartımı (Diklofenak Dietilamonyum) (mg)

W_{Num} : Numune Tartımı (mg)

P : Diklofenak Dietilamonyum Çalışma standardının potensi (*as is*)

ÇF : Diklofenak Dietilamonyum' u Diklofenak Sodyum' a Çevirme Faktörü: $M_{A,Diklofenak Sodyum}/$

$M_{A,Diklofenak Dietilamonyum} : 318,13 \text{ g/mol} / 369,28 \text{ g/mol} = 0,8621$

DF : Düzeltme Faktörü

L : Diklofenak Sodyum Etiket Değeri (1,0)

Bilinen Safsızlık (Tiyokolşikozit safsızlıkları) için;

$$(\%) \text{ Bilinen Safsızlık} = \frac{\left(\frac{A_{Num}}{A_{Std}}\right) \times \left(\frac{W_{Std}}{20} \times \frac{2,5}{100 \times P}\right)}{\left(\frac{W_{Num}}{100}\right)} \times \frac{100}{L} \times DF \times 100$$

A_{Num} : Test çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki bilinen safsızlık pik alanı

A_{Std} : Standart çözeltisinden elde edilen kromatogramlardaki Tiyokolşikozit pik alanı ortalaması

W_{Std} : Standart tartımı (tiyokolşikozit) (mg)

W_{Num} : Numune Tartımı (mg)

P : Tiyokolşikozit Çalışma standardının potensi (*as is*)

DF : Düzeltme Faktörü

L : Tiyokolşikozit Etiket Değeri (0,25)

Bilinmeyen Safsızlık (Diklofenak Dietilamonyum safsızlıkları için);

$$(\%) \text{ Bilinmeyen Safsızlık} = \frac{\left(\frac{A_{Num}}{A_{Std}}\right) \times \left(\frac{W_{Std}}{20} \times \frac{2,5}{100 \times P \times \text{ÇF}}\right)}{\left(\frac{W_{Num}}{100}\right)} \times \frac{100}{L} \times 100$$

A_{Num} : Test çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki bilinmeyen safsızlık pik alanı

A_{Std} : Standart çözeltisinden elde edilen kromatogramlardaki Diklofenak pik alanı ortalaması

W_{Std} : Standart tartımı (Diklofenak Dietilamonyum) (mg)

W_{Num} : Numune Tartımı (mg)

P : Diklofenak Dietilamonyum Çalışma standardının potensi (*as-is*)

ÇF : Diklofenak Dietilamonyum'u Diklofenak Sodyum'a Çevirme Faktörü: $M_{A,Diklofenak Sodyum}/$

$M_{A,Diklofenak Dietilamonyum} : 318,13 \text{ g/mol} / 369,28 \text{ g/mol} = 0,8621$

L : Diklofenak Sodyum Etiket Değeri (1,0)

Diklofenak Dietilamonyum safsızlıkları için Toplam Safsızlık:

Yukarıda hesaplanan bilinen ve bilinmeyen safsızlıklar toplanır:

“Toplam safsızlık = Bilinmeyen safsızlıklar + Bilinen safsızlıklar”

Bilinmeyen Safsızlık (Tiyokolşikozit safsızlıkları için);

$$(\%) \text{ Bilinen Safsızlık} = \frac{\left(\frac{A_{Num}}{A_{Std}}\right) \times \left(\frac{W_{Std}}{20} \times \frac{2,5}{100 \times P}\right)}{\left(\frac{W_{Num}}{100}\right)} \times \frac{100}{L} \times 100$$

A_{Num} : Test çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki bilinmeyen safsızlık pik alanı

A_{Std} : Standart çözeltisinden elde edilen kromatogramlardaki Tiyokolşikozit pik alanı ortalaması

W_{Std} : Standart tartımı (Tiyokolşikozit) (mg)

W_{Num} : Numune Tartımı (mg)

P : Tiyokolşikozit Çalışma standardının potansi (as-is)

L : Tiyokolşikozit Etiket Değeri (0,25)

Tiyokolşikozit safsızlıkları için Toplam Safsızlık:

Yukarıda hesaplanan bilinen ve bilinmeyen safsızlıklar toplanır.

Toplam safsızlık = Bilinmeyen safsızlıklar + Bilinen safsızlıklar

3.7.8. Mikrobiyolojik Kontroller

Avr. Farmakopesi 2.6.12 numaralı mikrobiyolojik kontrol yöntemine göre test edilir.

Limit:

Toplam aerobik bakteri sayısı : Maksimum 10^2 CFU / g

Toplam maya ve küf sayısı : Maksimum 10 CFU / g

P.aeruginosa : Bulunmamalı / g

S.aureus : Bulunmamalı / g

3.7.9. Sızdırmazlık (IPK Analizi)

Kontrol yapılacak dolu tüpler orta yerinden parmakla sıkılır. Tüpün alt (katlama), ağız veya diğer bir yerinde akma olup olmadığı kontrol edilir. Kontroller 10 tüple yapılır.

3.8. Pilot Üretim Proses Validasyonu Çalışmaları

DT1310D10 seri numaralı final formülasyon üzerinden 2 seri (DT424001 ve DT424001), 3000 Tüp'lük şarj boyu (150 kg) ile pilot üretim ve proses validasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.8.1. Kritik ve Kritik Olmayan Parametrelerin Değerlendirilmesi

Üretim prosesi esnasındaki kritik/kritik olmayan parametrelerin analizi ve değerlendirmesi Tablo 3-9’te verilmiştir. “Kritik” olarak belirlenen aşamalar için İPK/validasyon testleri gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3-9: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel prosesi için kritik ve kritik olmayan parametrelerin değerlendirilmesi

Op. No	Operasyon	Kritik Proses Parametreleri (E/H)	Testler	Yorum
1	Karıştırma	H	-	Karıştırma işleminin yeterli sürede, etkinlikte ve üretim metoduna uygun yapılması yeterlidir
2	Karıştırma	H	-	Yağ fazının homojen karışabilmesi için belirtilen “sıcaklık” değerine ulaştırılması ve etkin bir karıştırmanın gerçekleştirilmesi gerekmektedir.
3	Karıştırma	H	-	Karıştırma işleminin yeterli sürede, etkinlikte ve üretim metoduna uygun yapılması yeterlidir
4	Karıştırma	E	pH	Jelleşmenin sağlanabilmesi için pH değerinin istenilen limitlerde olması gerekmektedir.
5	Karıştırma	H	-	Karıştırma işleminin yeterli sürede, etkinlikte ve üretim metoduna uygun yapılması yeterlidir
6	Karıştırma	H	-	Karıştırma işleminin yeterli sürede, etkinlikte ve üretim metoduna uygun yapılması yeterlidir
7	Karıştırma	H	-	Karıştırma işleminin yeterli sürede, etkinlikte ve üretim metoduna uygun yapılması yeterlidir.
8	Karıştırma	H	-	Karıştırma işleminin yeterli sürede, etkinlikte ve üretim metoduna uygun yapılması yeterlidir
9	Karıştırma	E	Görünüm pH Viskozite Miktar Tayini Tanıma Mikrobiyolojik Kontrol	Bulk ürün fiziksel nitelikleri belirlenen görünüş spesifikasyonları dahilinde olmalıdır. Jel pH’sı ve viskozite birbiri ile doğrudan ilintilidir. Sonuçlar belirlenen spesifikasyonlar dahilinde olmalıdır. Etkin madde miktar tayini etiket dozu için belirlenen limitler dahilinde olmalıdır Tanıma sonuçları belirlenen spesifikasyonlar dahilinde olmalıdır. Mikrobiyal üremenin olmaması için yarı-katı ürünler için geçerli ve belirlenen spesifikasyonlar dahilinde olmalıdır.
10	Tüp Dolumu	E	Görünüm pH Viskozite Miktar Tayini Tanıma Safsızlık Tayini Mikrobiyolojik Kontroller Ortalama Dolum Ağırlığı Sızdırmazlık	Bulk ürün fiziksel nitelikleri belirlenen görünüş spesifikasyonları dahilinde olmalıdır. Jel pH’sı ve viskozite birbiri ile doğrudan ilintilidir. Sonuçlar belirlenen spesifikasyonlar dahilinde olmalıdır. Etkin madde miktar tayini etiket dozu için belirlenen limitler dahilinde olmalıdır Tanıma sonuçları belirlenen spesifikasyonlar dahilinde olmalıdır. Safsızlık düzeyleri, belirlenen spesifikasyonlar dahilinde olmalıdır. Mikrobiyal üremenin olmaması için yarı-katı ürünler için geçerli ve belirlenen spesifikasyonlar dahilinde olmalıdır. Seçilen tüplerde yapılan ortalama dolum ağırlığı testi sonucu belirlenen limitler içerisinde olmalıdır. Hiçbir tüpte sızdırma olmamalıdır.

3.8.2. IPK, Rutin ve Validasyon Testleri Spesifikasyonları

Pilot üretimde yürütülen IPK, rutin ve validasyonu testleri Tablo 3-10'da verilmiştir

Tablo 3-10: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel'e ait IPK, rutin ve validasyon testleri spesifikasyonları

OpNo	Operasyon	Test	Spesifikasyon
4	Karıştırma	pH	7,2 ± 0,5
9	Karıştırma	Görünüm	Açık sarı, homojen emüljel
		pH	7,2 ± 0,5
		Viskozite	12000 cPs ± %25
		Miktar Tayini DDA	%95,0-%105,0
		TKK	%95,0-%105,0
		Tanım(HPLC)	Standart ve test çözeltisi enjeksiyonlarından elde edilen Diklofenak ve Tiyokolşikozit piklerinin alıkonma zamanları aynı olmalıdır,
10	Tüp Dolumu	Mikrobiyolojik Kontrol	Toplam Aerobik Bakteri Sayısı Maksimum 10 ² cfu/g Toplam Maya ve Küf Sayısı Maksimum 10 cfu/g <i>P.aeruginosa</i> Bulunmamalı/g <i>S.aureus</i> Bulunmamalı/g
		Görünüm	Açık sarı, homojen emüljel
		pH	7,2 ± 0,5
		Viskozite	12000 cps ± %15
		Miktar Tayini DNa	%95,0-%105,0
		THC	%95,0-%105,0
		Tanım(HPLC)	Standart ve test çözeltisi enjeksiyonlarından elde edilen Diklofenak ve Tiyokolşikozit piklerinin alıkonma zamanları aynı olmalıdır,
		Ortalama Dolum Ağırlığı	50 g ± % 10 (45,0-55,0 gr)
		Safsızlık Tayini	<u>Tiyokolşikozit için:</u>
			Kolşikozit : Maksimum % 0,5
			Kolşisin : Maksimum % 0,5
			Bilinmeyen her bir Safsızlık : Maksimum % 0,5
			Toplam Safsızlık : Maksimum % 2,0
			Raporlama Seviyesi : Maksimum % 0,1
			<u>Diklofenak Dietilamonyum için:</u>
			Diklofenak Safsızlık A : Maksimum % 0,5
			Bilinmeyen her bir Safsızlık : Maksimum % 0,2
			Toplam Safsızlık : Maksimum % 2,0
			Raporlama Seviyesi: Maksimum % 0,1
	Mikrobiyolojik Kontrol	Toplam Aerobik Bakteri Sayısı	Maksimum 10 ² cfu/g
		Toplam Maya ve Küf Sayısı	Maksimum 10 cfu/g
		<i>P.aeruginosa</i> <i>S.aureus</i>	Bulunmamalı/g Bulunmamalı/g
	Sızdırmazlık		Hiçbir tüpte sızdırma olmamalıdır

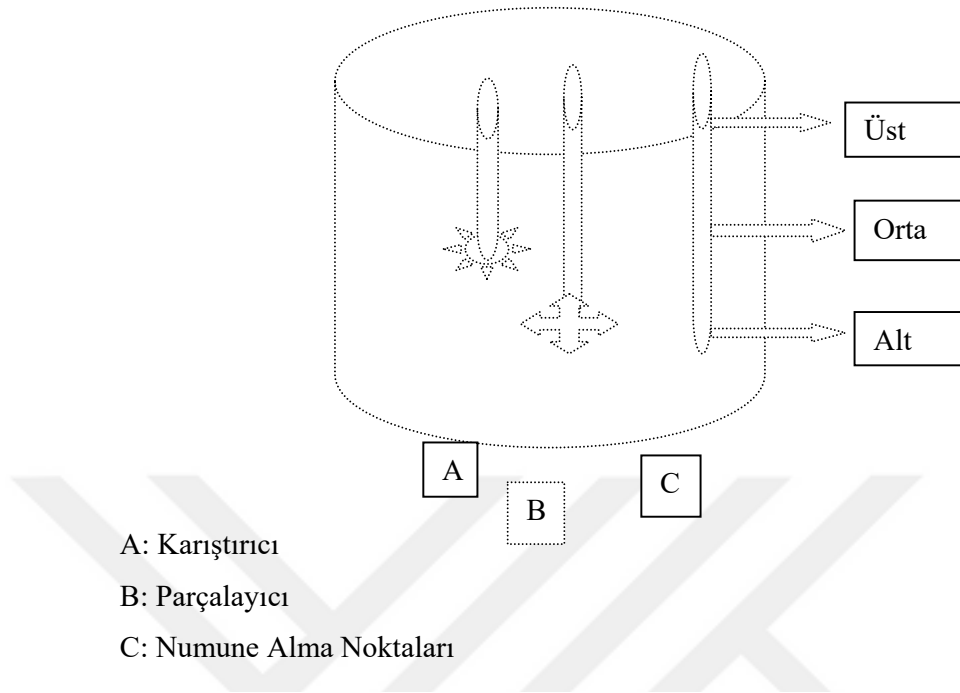
3.8.3. Bitmiş Ürün (Serbest Bırakma) Spesifikasyonları

Bitmiş ürün spesifikasyonları Tablo 3-11'deki gibidir.

Tablo 3-11: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel'e ait Bitmiş Ürün (Serbest Bırakma) Spesifikasyonları

Testler	Spesifikasyonlar	Kaynaklar
Görünüm	Açık sarı, homojen emüljel	Firma Spesifikasyonu
pH	7,2 ± 0,5	Avr. Farm.
Viskozite	12000 cps ± %25	Avr. Farm.
Miktar Tayini (DDA)	%95,0-%105,0	Firma Spesifikasyonu
Miktar Tayini (TKK)	%95,0-%105,0	Firma Spesifikasyonu
Ortalama Dolum Ağırlığı	50 g ± %10 (45,0-55,0 g)	USP
Tanım (DDA-TKK)	Standart ve test çözeltisi enjeksiyonlarından elde edilen Diklofenak ve Tiyokolşikozit piklerinin alıkonma zamanları aynı olmalıdır	Firma Spesifikasyonu
Safsızlık Tayini	Tiyokolşikozit için; Kolşikozit: Maksimum % 0,5 Kolşisin: Maksimum %0,5 Bilinmeyen her bir Safsızlık : Maksimum % 0,5 Toplam Safsızlık : Maksimum % 2,0 Raporlama Seviyesi : Maksimum % 0,1 Diklofenak Dietilamonyum için; Diklofenak Safsızlık A : Maksimum % 0,5 Bilinmeyen her bir Safsızlık: Maksimum % 0,2 Toplam Safsızlık: Maksimum % 2,0 Raporlama Seviyesi: Maksimum % 0,1	Firma Spesifikasyonu
Mikrobiyolojik Kontroller	Toplam Aerobik Bakteri Sayısı Maksimum 10 ² cfu/g Toplam Maya ve Küf Sayısı Maksimum 10 cfu/g <i>P.aeruginosa</i> Bulunmamalı/g <i>S.aureus</i> Bulunmamalı/g	Avr. Farm.

3.8.4. Numune Alma Planı



Şekil 3-1: Proses validasyonu için yürütülen kazandan numune alma planı

Tablo 3-12: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel'e ait numune alma planı

Op. No.	Operasyon	Test	Numune Alma Noktası	Toplam Numune Miktarı
4	Karıştırma	pH	Alt-Orta-Üst	3x20 g
9	Karıştırma	Görünüm	Alt-Orta-Üst	3x20 g
		pH	Alt-Orta-Üst	3x20 g
		Viskozite	Alt-Orta-Üst	3x20 g
		Miktar Tayini DDA	Alt-Orta-Üst	3x20 g
		TKK	Alt-Orta-Üst	3x20 g
		Tanıma	Alt-Orta-Üst	-
		Mikrobiyolojik Kontrol	Alt-Orta-Üst	3x3x20 g
10	Tüp Dolumu	Görünüm	Baş-Orta-Son	3x1 tüp
		pH	Baş-Orta-Son	3x1 tüp
		Viskozite	Baş-Orta-Son	3x1 tüp
		Miktar Tayini DDA	Baş-Orta-Son	3x1 tüp
		TKK	Baş-Orta-Son	3x1 tüp
		Ortalama Dolum Ağırlığı	Baş-Orta-Son	3x10 tüp
		Safsızlık Tayini	Baş-Orta-Son	3x1 tüp
		Mikrobiyolojik Kontrol	Baş-Orta-Son	3x3x1 tüp
		Sızdırmazlık	Baş-Orta-Son	3x1 tüp

Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel validasyon planı jel kazanında için yürütülen numune alım şekli, aşağıdaki 'de gösterildiği gibi alınmıştır. Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel için numune alma planı Tablo 3-12'de verilmiştir. Tüp dolum aşamasında prosesin başı, ortası ve sonunda belirtilen sayılarda numune alınır.

3.9. Pilot Üretim Stabilité Çalışmaları

50g'lık alüminyum tüplere doldurulan Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel ürününün ICH Q6A *Specifications* ve ICH Q1A(R2) *Stability Testing of New Drug Substances and Products* kılavuzları doğrultusunda pilot üretim serilerine uzun, ara ve kısa dönem stabilite çalışmaları yürütülmüştür (Tablo 3-13-15).

Tablo 3-13: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Bitmiş Ürün Raf Ömrü Spesifikasyonları

Testler	Spesifikasyonlar	Kaynaklar
Görünüm	Açık sarı, homojen emüljel	Firma Spesifikasyonu
pH	Bilgi amaçlıdır,	Avr, Farmakopesi
Tanıma	Standart ve test çözeltisi enjeksiyonlarından elde edilen Diklofenak ve Tiyokolşikozit piklerinin alıkonma zamanları aynı olmalıdır,	Firma Spesifikasyonu
Viskozite	Bilgi amaçlıdır,	Ph,Eur
Ortalama Dolum Ağırlığı	50,0 g $\pm$ %10 (45,0-55,0 gr)	USP
Miktar Tayini	%90,0-%110,0	-
Diklofenak Dietilamonyum	%90,0-%110,0	-
Tiyokolşikozit		
Safsızlık Tayini	Maksimum: %0,5	-
Tiyokolşikozit	Maksimum: %0,5	
Kolşikozit	Maksimum: %0,5	
Kolşisin	Maksimum: %2,5	
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık		
Toplam Safsızlık		
Safsızlık Tayini	Maksimum: %0,5	-
Diklofenak Dietilamonyum	Maksimum: %0,2	
Diklofenak Safsızlık A	Maksimum: %2,5	
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık		
Toplam Safsızlık		
Mikrobiyolojik Kontroller		Avr, Farmakopesi
Toplam Aerobik Bakteri Sayı	Maksimum 10 ² CFU/g	
Toplam Maya ve Küf Sayısı	Maksimum 10 CFU/g	
<i>P.aeruginosa</i>	Bulunmamalı /g	
<i>S.aureus</i>	Bulunmamalı /g	

Tablo 3-14: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Stabilitesi Test Edilen Seriler

Seri No	Üretim Tarihi	Son Kullanma Tarihi	Seri Büyüklüğü (Tüp)
DT424001	Eylül 2014	Eylül 2016	3.000
DT424002	Eylül 2014	Eylül 2016	3.000

Tablo 3-15: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Stabilité Periyotları ve Koşulları

Çalışma koşulları	Sıcaklık	Bağıl nem	Test periyotları (ay)
Uzun süreli stabilite	25 °C ± 2 °C	% 60 ± % 5	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
Ara stabilite	30 °C ± 2 °C	% 65 ± % 5	0, 3, 6, 9, 12
Hızlandırılmış stabilite	40 °C ± 2 °C	% 75 ± % 5	0, 3 ve 6

3.10. Etken Maddelerin *in vitro* İlaç Salım Çalışması

Emüljel formülasyonunun *in vitro* penetrasyon çalışmalarında, sentetik membrandan geçiş testi yürütülmüştür. Sentetik membran, yarım saat reseptör faz (pH 7,4 Fosfat Tamponu) içinde bekletilmiştir.

in vitro penetrasyon çalışmalarında franz hücrelerinin hacmi 12 mL, difüzyon alanı 1,77 cm², dönme hızı 500 rpm olan PermeGear Franz Difüzyon Sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. pH 7,4 fosfat tamponu reseptör faz olarak kullanılmıştır. Reseptör faz ultrasonik banyoda degaze edildikten sonra hücrelere doldurulmuş, her bir hücreye birer karıştırıcı magnet konulmuştur.

Membranlar dikkatlice Franz difüzyon hücrelerine hücrelerin üzerinde hava boşluğu olmayacak şekilde yerleştirilmiştir. Sistemin su banyosu 37 °C'e sabitlenmiştir. Donör faz olarak her bir üründe 1 g numune olacak şekilde uygulanarak yürütülmüş ve üzerleri parafilm ile kapatılmıştır. Her bir formülasyon için 2'şer hücre ile çalışılmış ve 4 yollu tasarımı Tablo 3-16'de verildiği gibi yürütülmüştür. 6 saatlik süre boyunca reseptör fazdan bir defa 1 mL örnek alınmış, hacmine reseptör faz ile tamamlanarak membrandan Diklofenak Dietilamonyum ve Tiyokolşikozit geçişi değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

1 g numunede 11,6 mg Diklofenak Dietilamonyum, 2,5 mg ise Tiyokolşikozit etken madde bulunmaktadır. pH 7,4 reseptör fazının 12 mL'lik franz hücresinden tamamının geçişi ile konsantrasyon Diklofenak Dietilamonyum için $11,6\text{mg}/12\text{mL} = 0,96\text{ mg/mL}$, Tiyokoşikozit konsantrasyonu ise $2,5\text{mg}/12\text{mL} = 0,208\text{ mg/mL}$ 'ye ulaşacaktır. Reseptör fazda etken maddelerin 10 katına kadar konsantrasyonda (sırasıyla 9,6 mg/ml ve 2,08 mg/mL) sink koşulu sağlayacak şekilde çalışma yürütülmüştür.

Tablo 3-16: *in vitro* permeasyon çalışma tasarımı ve numune bilgisi

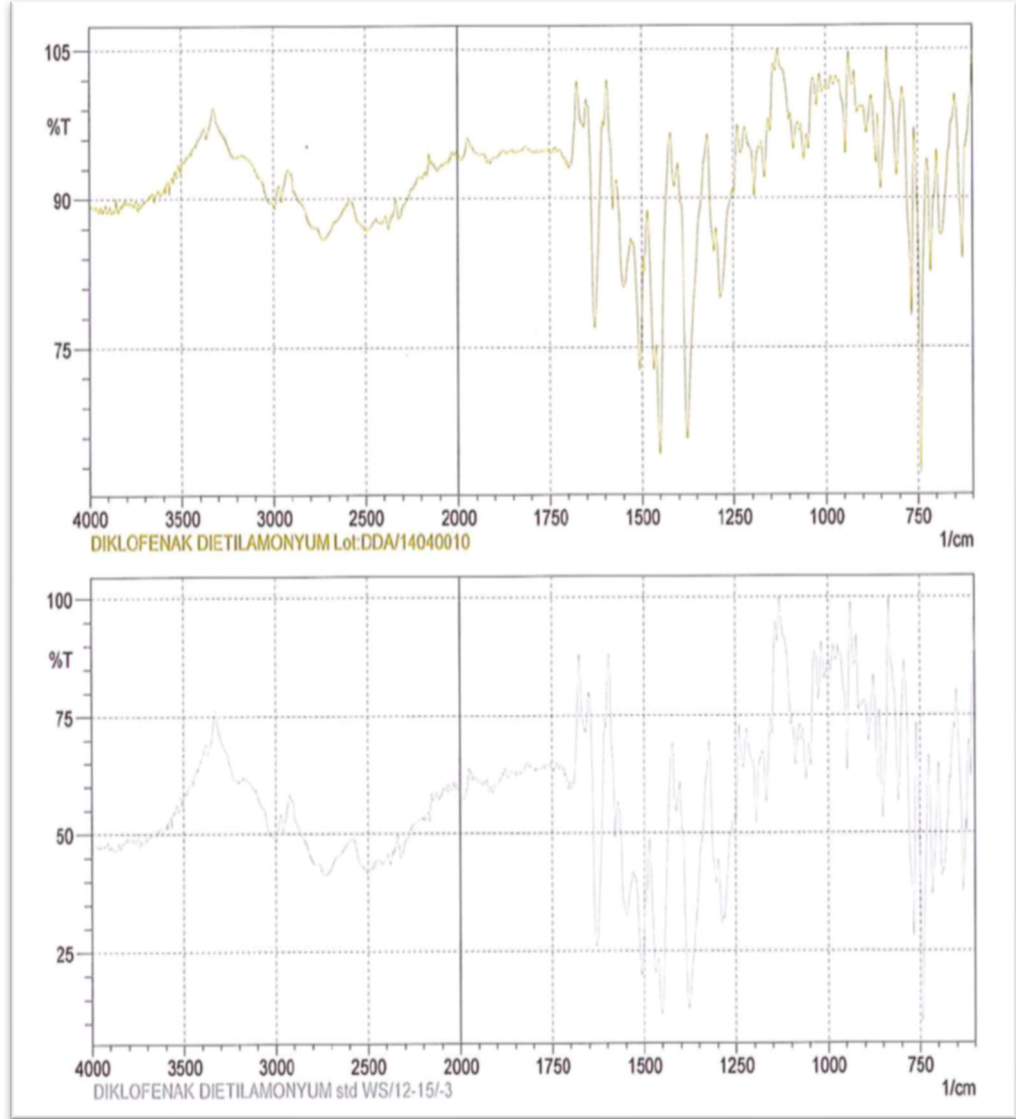
Numune Adı	Franz Hücre No	Seri No	SKT
Voltaren Referans Ürün	1	W0020	Ekim/2014
Voltaren Referans Ürün	2	W0020	Ekim/2014
Muscoril Referans Ürün	3	1M005	Aralık/2015
Muscoril Referans Ürün	4	1M005	Aralık/2015
Voltaren+Muscoril Referans Ürünlerin Manuel Karışımı	5	W0020 + 1M005	-
Voltaren Muscoril Referans Ürünlerin Manuel Karışımı	6	W0020 + 1M005	-
Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel	7	DT424002	Ekim/2016
Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel	8	DT424002	Ekim/2016

4. BULGULAR

4.1. Etken Maddelere Ait Fiziksel ve Kimyasal Özelliklere ait Bulgular

4.1.1. Diklofenak Dietilamonyum Tanıma

Etken madde ve referans standart maddenin IR spektrumlarına ait bulgular aşağıda verilmiştir (Şekil 4-1).



Şekil 4-1: Diklofenak dietilamonyum ve referans standartta ait karşılaştırmalı ır spektrumu (# DDA/19120046-WS-12-15/-3)

Diklofenak dietil amonyum etken maddesine ait analiz sertifikası Şekil 4-2'de verilmiştir



Aarti Drugs Limited
Manufacturers of : Bulk Drugs & Chemicals

CORPORATE OFFICE : Plot No.109-D, Mahendra Industrial Estate, Ground Floor, Road No.29, Sion (East), Mumbai - 400 022, (India)
Tel. : 91 22 2407 2249 • Fax : 91 22 2407 0144 / 2407 3462
Email:sales@aartidrugs.com • Website : www.aartidrugs.com

REGD. OFFICE : Plot No. N-198, MIDC, Tarapur, Tal-Palghar, Dist. Thane - 401 506 (M.H.) INDIA Tel. : 91-2525 270259/271699
Fax : 91 2525 273368

QUALITY CONTROL
CERTIFICATE OF ANALYSIS

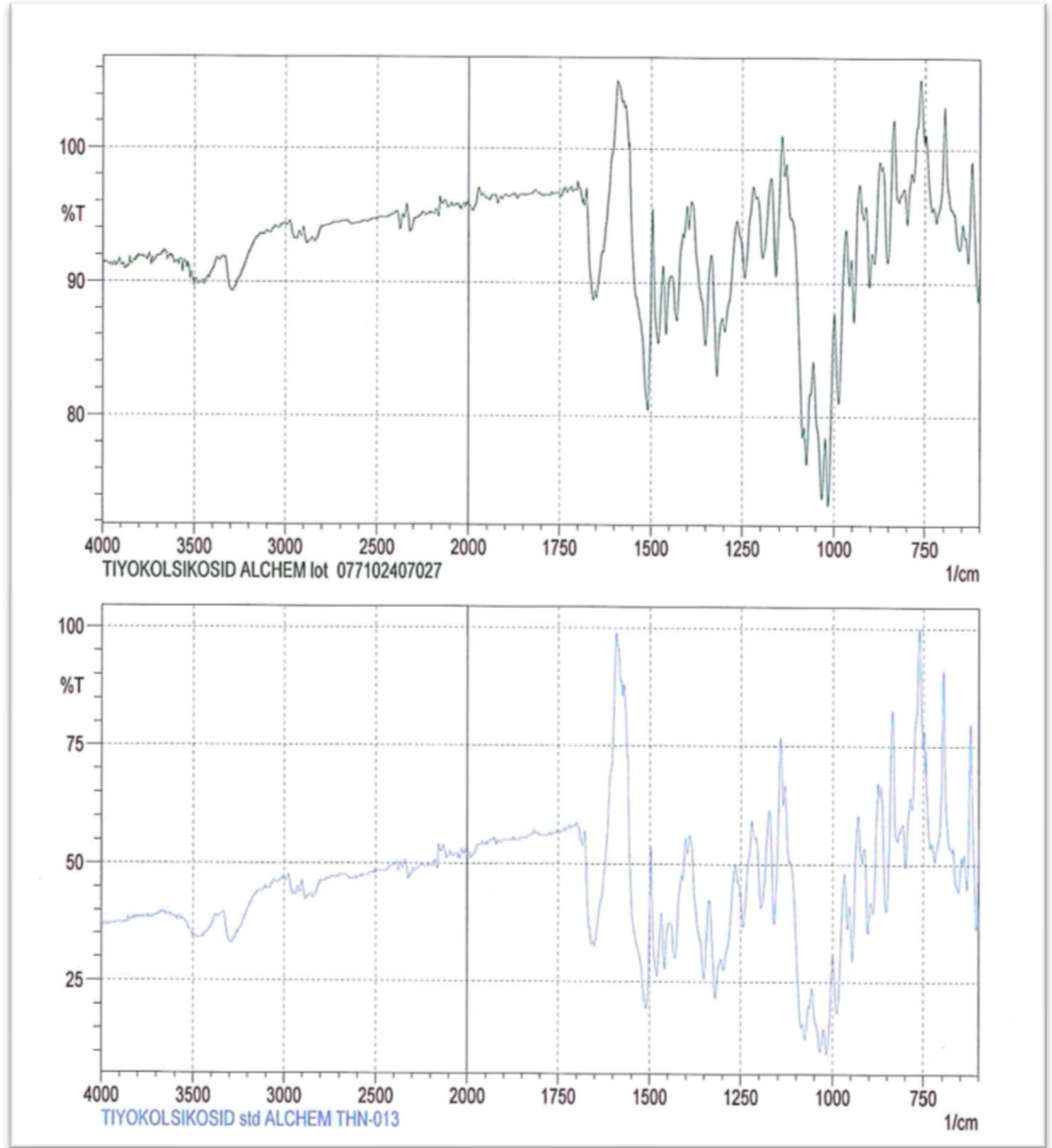
PRODUCT NAME	: DICLOFENAC DIETHYLAMINE BP		
BATCH NO.	: DDA/14040010		
MFG. DATE	: April '2014	A.R. NO.	: FG/14979
EXP. DATE	: Mar '2019	RELEASE DATE	: 18/04/2014
SR. NO.	TESTS	SPECIFICATION	RESULTS
1	Characters	A white or light beige, crystalline powder	A white crystalline powder
2	Solubility	Sparingly soluble in water and in acetone, freely soluble in ethanol (96%) and in methanol, practically insoluble in 1 M sodium hydroxide.	Sparingly soluble in water and in acetone, freely soluble in ethanol (96%) and in methanol, practically insoluble in 1 M sodium hydroxide.
3	Melting point	It melts at about 154 °C, with decomposition	It melts at about 152.4 °C, with decomposition.
4	Identification A. I. R Spectrum B. TLC	The Infrared absorption spectrum of sample is concordant with Infrared absorption spectrum of diclofenac diethylamine .WS The principal spot obtained in test solution is similar in position and size to the principal spot obtained with reference solution (a).	IR absorption spectrum of sample is Concordant with IR absorption spectra of diclofenac diethylamine WS The principal spot in the test matches with reference solution (a).
5	Acidity or alkalinity	PH of 1.0 % w/v solution in ethanol (10 %) is in between 6.4 to 8.4	7.05
6	Clarity and colour of solution	5 % w/v solution in methanol is clear. The absorbance of the solution measured at 440 nm is not greater than 0.05	5 % w/v solution in methanol is clear. The absorbance of the solution measured at 440 nm is 0.0073
7	Heavy metals	Not more than 10 ppm, determined on 2.0 g.	Less than 10 ppm
8	Related substances • Any Known impurity • Any unknown Impurity • Total impurities	Not more than 0.2 % Not more than 0.10 % Not more than 0.5 %	Not detected. Not detected. Not detected.
9	Loss on drying	Not more than 0.5 %, determined on 1.0 g when drying at a pressure not exceeding 1 kPa for 24 hrs.	0.13 %
10	Sulphated ash	Not more than 0.1 %. Using 1 g.	0.055 %
11	Assay by potentiometrically	Not less than 99 % and not more than 101 % of C ₁₈ H ₂₂ Cl ₂ N ₂ O ₂ , calculated with reference to the dried substance	99.30 %
Opinion		: The above material passes as per BP Specification.	
Analyzed By	:	Checked By	:
Date	: 18/04/2014	Date	: 18/04/2014
Approved By	:		
Date	: 18/04/2014		

Factory Address – Plot No. - G-60, MIDC, Tarapur, Boisar – 401 506, Dist – Thane, Maharashtra, INDIA.
Tel. No. – 02525 271241, 271924 Fax – 271001 Email – adlg60@aartidrugs.com

Şekil 4-2: Diklofenak Dietilamonyum etken maddesinin analiz sertifikası (Aarti Drugs - #DDA/14040010)

4.1.2. Tiyokolşikozit Tanıma

Tiyokolşikozit etken madde ve referans standart maddenin IR spektrumlarına ait bulgular Şekil 4-3’de verilmiştir.



Şekil 4-3 - Tiyokolşikozit etken maddesi ve standardına ait IR spektrumu (#077102407027- THN-013)

Tiyokolşikozit etken maddesine ait analiz sertifikası Şekil 4-4’de verilmiştir

CERTIFICATE OF ANALYSIS		
NO	284/2013	DATE OF ISSUING : 08/08/2013
PRODUCT	: THIOLCHICOSIDE	BATCH NO. : 077102407027
DATE OF MFG.	: 11/07/2013	MFG BY : ALCHEM
QUANTITY	: 2.800 Kgs.	BATCH SIZE : 12.800 Kgs.
DATE OF EXPIRY	: 10/01/2018	Page No. : 1 of 2
SAMPLING DATA		
DATE OF SAMPLING: 03/08/2013	SAMPLE QUANTITY: 80 gram.	
ANALYSIS RECORD		
QUANTITY ACTUALLY USED IN ANALYSIS: 20 gms.		PRODUCT SPECIFICATION NO.: 0771/V-Rev.08
QUANTITY RETAINED AS CONTROL SAMPLE: 60 gms.		ANALYTICAL PROTOCOL NO.: 10771/V Rev.08
TESTS	REQUIREMENTS/LIMITS	RESULTS
DESCRIPTION	Yellow crystalline powder.	Yellow crystalline powder.
IDENTIFICATION	Should comply By UV Spectrophotometer By IR Spectrophotometer By Thin Layer Chromatography	Complies by UV Spectrophotometer Complies by IR Spectrophotometer Complies by Thin Layer Chromatography
SOLUBILITY	Soluble (1gm in 10 to 30ml) in water, slightly soluble (1gm in 100 to 1000 ml) in alcohol, practically insoluble (1 gm in a 10,000 ml) in ether and acetone.	Soluble in water, slightly soluble in alcohol, practically insoluble in ether and acetone.
SULPHATED ASH	NMT 0.2%	0.06%
SPECIFIC ROTATION $[\alpha]_D^{25}$	(-550° to -580°)	(-574.9°)
ABSORBANCE $E_{1\%}^{1cm}$ At 375nm	315 to 345	336.4
LOSS ON DRYING	NMT 4.0%	1.2%
RELATED SUBSTANCES (By TLC)		
Colchicine	NMT 0.5%	Less than 0.5%
Other Impurities	Not more than 2 in number, neither of them is not more intense to 0.5%.	Less than 2 and none of impurities is more intense to 0.5%.
TESTS	REQUIREMENTS/LIMITS	RESULTS
POTENTIAL IMPURITIES (HPLC)		
N-Desacetyl formyl	NMT 0.5%	0.01%
Thiolchicoside	NMT 0.5%	0.80%
Colchicoside	NMT 0.4%	0.06%
Colchicine and other impurities	NMT 0.1%	Less than 0.05%
Impurities Product A ¹ (N-Desacetyl Thiolchicoside)	NMT 1.5%	0.07%
RESIDUAL SOLVENTS		
Ethanol	NMT 5000 ppm	112 ppm
Chloroform	NMT 50 ppm	Less than 10 ppm
Methanol	NMT 50 ppm	13 ppm
pH	6.0 to 7.5	6.58
ASSAY (HPLC) on dried basis	98.0% to 102.0%	100.3%
MICROBIOLOGICAL CONTROL		
Total Viable Bacteria Count	NMT 1000 cfu/gm	26 cfu/gm
Total Viable Yeast & Moulds	NMT 100 cfu/gm	Nil cfu/gm
Staphylococcus aureus	Should be absent/1gm	Absent/1gm
Enterobacteriaceae	Should be absent/1gm	Absent/1gm
Pseudomonas aeruginosa	Should be absent/1gm	Absent/1gm
Streptococcus	Should be absent/1gm	Absent/1gm
Aspergillus	Should be absent/1gm	Absent/1gm
Geotrichum	Should be absent/1gm	Absent/1gm
Bacterial Endotoxin content	NMT 87.5 EU/mg	Less than 87.5 EU/mg

¹ This value is 0.5% of Organoleptic Product A is 0.94%.

² The limit of detection of Organoleptic Product A is 0.94%.

Şekil 4-4: Tiyokolşikozit etken maddesinin analiz sertifikası (Alchem - #077102407027)

4.2. Etken Maddelerin Miktar Tayinine Ait Bulgular

4.2.1. Diklofenak Dietilamonyum Sonuçları

Elde edilen sonuçlar, üretici analiz sonuçları ile kıyaslamalı olarak aşağıda verilmiştir (Tablo 4-1).

Tablo 4-1: Diklofenak Dietilamonyum hammaddede yapılan etken maddesi miktar tayini analiz sonuçları

TEST	Spesifikasyonlar	Sonuç	Aarti Drugs – DDA/14040010
Miktar Tayini (Potansiyometrik)	%99-101 (kuru madde)	%99,4	%99,30

Formülasyon geliştirme çalışmaları sonrasında elde edilen nihai formül üzerinden yürütülen, iki seri bitmiş ürüne ait etken madde miktar tayini sonuçları Tablo 4-2’de verilmiştir.

Tablo 4-2: Bitmiş ürünlere yürütülen Diklofenak Dietilamonyum Miktar Tayini Sonuçları

TEST	Spesifikasyonlar	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Miktar Tayini (YBSK)	%95,0-105,0	%97,7	%102,0

4.2.2. Tiyokolşikozit Sonuçları

Elde edilen sonuçlar, üretici analiz sonuçları ile kıyaslamalı olarak Tablo 4-3’de verilmiştir.

Tablo 4-3: Tiyokolşikozit hammaddede yapılan miktar tayini analiz sonuçları

TEST	Spesifikasyonlar	Sonuç	Alchem;077102407027
Miktar Tayini (YBSK)	%98,0 - %102,0 (kuru madde)	%99,6	%100,5

Formülasyon geliştirme çalışmaları sonrasında elde edilen nihai formül üzerinden yürütülen iki pilot seri bitmiş ürüne ait etken madde miktar tayini sonuçları Tablo 4-4’de verilmiştir.

Tablo 4-4 - Bitmiş ürünlere yürütülen Tiyokolşikozit miktar tayini sonuçları

TEST	Spesifikasyonlar	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Miktar Tayini (YBSK)	%95,0-105,0	%102,6	%99,9

4.3. Etken Madde İlgili Bileşikler (Safsızlık) Analizine Ait Bulgular

4.3.1. Diklofenak Safsızlık Sonuçları

Yapılan tayinde geçerli spesifikasyonları ve elde edilen bulgular Tablo 4-5’de verilmiştir.

Tablo 4-5 –Diklofenak Dietilamonyum hammaddede yapılan safsızlık analizi sonuçları

Etken Madde Analiz tarihi Seri No	Elde Edilen Bulgu Haziran/2014 DDA/14040010	Elde Edilen Bulgu Haziran/2014 DDA/14040010
İlgili Bileşikler Tayini	Spesifikasyon	SONUÇLAR
Her bir bilenen safsızlık (Safsızlık A)	Maks, %0,2	Tespit Edilmedi
Her bir bilinmeyen safsızlık	Maks %0,1	%0,03
Toplam Safsızlık	Maks, %0,5	%0,05

Formülasyon geliştirme çalışmaları sonrasında elde edilen nihai formül üzerinden yürütülen, iki pilot serisinin bitmiş ürün safsızlık sonuçları Tablo 4-6’da verilmiştir,

Tablo 4-6: Bitmiş ürünlere yürütülen Diklofenak Dietilamonyum safsızlık analizi sonuçları

TEST	Spesifikasyonlar	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Diklofenak Safsızlık A	Maks %0,5	<RS	<RS
Bilinmeyen her bir safsızlık	Maks %0,2	<RS	<RS
Toplam safsızlık	Maks %2,0	<RS	<RS

4.3.2. Tiyokolşikozit Safsızlık Sonuçları

Diklofenak dietilamonyum etken maddesi analizlerinde ilgili bileşikler (safsızlık) tayin edilmektedir, EMAD ve BP metoduna göre yapılan tayinde geçerli spesifikasyonları ve elde edilen bulgular Tablo 4-7’de verilmiştir.

Tablo 4-7: Tiyokolşikozit hammaddede yapılan safsızlık analizi sonuçları

Etken Madde Analiz tarihi Seri No	Elde edilen bulgu Haziran/2014 077102407027	Alchem Temmuz/2013 077102407027
İlgili Bileşikler Tayini	Spesifikasyon	SONUÇLAR
N-Deasetil-n-formil	Maks. %0,5	%0,01
Kolşikozit	Maks. %0,5	%0,41
Kolşisin	Maks. %0,5	%0,06
3-O-Demetil Tiyokolşisin	Maks. %0,1	Tespit Edilmedi
Toplam Safsızlık	Maks. %1,5	%0,48

Not: 3-O-Demetil Tiyokolşisin’in tespit limiti (TL) % 0,01’dir,

Formülasyon geliştirme çalışmaları sonrasında elde edilen nihai formül üzerinden yürütülen, iki pilot seri bitmiş ürüne ait safsızlık sonuçları Tablo 4-8'de verilmiştir,

Tablo 4-8: Bitmiş ürünlere yürütülen Tiyokolşikozit safsızlık analizi sonuçları

TEST	Spesifikasyonlar	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Kolşikozit	Maks %0,5	%0,446	%0,430
Kolşisin	Maks %0,5	<RS	<RS
Bilinmeyen her bir safsızlık	Maks %0,5	<RS	<RS
Toplam Safsızlık	Maks %2,0	%0,446	%0,430

Raporlama Seviyesi (RS): % 0,1

4.3.3. Referans Ürünlerin Bileşimi ve Analize ait Bulgular

Voltaren Emulgel®'e ait fiziksel ve kimyasal karakterizasyonun özeti sunulmuştur (Tablo 4-9).

Tablo 4-9: Voltaren Emulgel (Diklofenak Dietilamonyum) %1 analiz sonuçları

Ülke	Almanya
Lot No	W0020
Son Kullanma Tarihi	Ekim/2014
TESTLER	SONUÇLAR
Görünüş	Beyaz veya beyaza yakın, yumuşak, homojen, krem-benzeri jel
Tanıma	Uygun
Ortalama Ağırlık	100 g
Viskozite (20 °C)	9338 cp
pH	7,30
Miktar Tayini	%98,5
Safsızlık Tayini	
Diklofenak Safsızlık A	<RS (% 0,008)
Her Bir Bilinmeyen Safsızlık	% 0,23
Toplam Bilinmeyen Safsızlık	% 0,23

Raporlama Seviyesi (RS): %0,1

Muscoril (Tiyokolşikozit) Merhem'e ait fiziksel ve kimyasal karakterizasyonun özeti sunulmuştur (Tablo 4-10).

Tablo 4-10 - Muscoril (Tiyokolşikozit) Merhem %0,25 Analiz Sonuçları

Ülke	Türkiye
Lot No:	1M005
Son Kullanma Tarihi	Aralık/2015
TESTLER	SONUÇLAR
Görünüş	Yumuşak, açık sarı renkte, homojen merhem
Tanıma	Uygun
Ortalama Ağırlık (g)	30,5
Viskozite	30244 cps
pH	4,6
Tiyokolşikozit Miktar Tayini	%102,0
Safsızlık Tayini	
Kolşikozit	%0,04
Kolşisin	T,E,
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	%0,01
Toplam safsızlık	%0,05

4.3.4. Geçimlilik Çalışmalarına Ait Bulgular

Diklofenak Dietilamonyum ve Tiyokolşikozit hammaddeleri ile geçimlilik çalışmaları sonucunda etken madde ve yardımcı madde karışımlarında herhangi bir fiziksel değişiklik gözlenmemiştir.

Ayrıca Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyon çalışmalarında kullanılacak çözücüler ile yapılan geçimlilik çalışması sonucu metot bölümünde yer alan Tablo 4-11 belirtilen stabilite şartlarında 1'er aylık stabiliteleri gözlenmiş ve geçimlilik açısından sorun teşkil edecek bulguya rastlanmamıştır.

Tablo 4-11 - Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel' formülasyon çalışmalarında kullanılacak çözücüler ile yapılan geçimlilik çalışması bulguları

No	Etken Mad.: Yardımcı Mad.	Karışım Oranı	25°C±2,60%RH±5 40°C±2,75%RH±5	
			Kapalı	Kapalı
1	Diklofenak Dietilamonyum	-	Uygun	Uygun
2	Tiyokolşikozit	-	Uygun	Uygun
3	Diklofenak Dietilamonyum+ Tiyokolşikozit	1:1	Uygun	Uygun
4	Diklofenak Dietilamonyum + IPA	1:(y.m.)	Uygun	Uygun
5	Tiyokolşikozit + Su	1:(y.m.)	Uygun	Uygun
6	(Diklofenak Dietilamonyum+IPA) + (Tiyokolşikozit+Su)	1:1	Uygun	Uygun

4.4. Bitmiş Ürün Miktar Tayini Analitik Metot Validasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.4.1. Doğruluk

Çalışma konsantrasyonun %70, %100 ve %130 seviyelerinde 3 paralel numune ile yöntem bölümünde belirtildiği gibi hazırlanıp analiz edilmiştir. Sonuçlar, Diklofenak Dietilamonyum ve Tiyokolşikozit için sırasıyla Tablo 4-12 ve Tablo 4-14’de, sonuçların değerlendirildiği özet tablo ise Tablo 4-13 ve Tablo 4-15’de sunulmuştur.

Tablo 4-12: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel ürününde diklofenak dietilamonyum geri kazanım sonuçları

No	Seviye(%)	Numune Tartımı (mg)	Bulunan Miktar (mg)	Geri Kazanım (%)	Ortalama	SD	%RSD
1	%70	81,47	83,22	102,14	102,18	0,28	0,27
			83,20	102,12			
		81,72	83,75	102,49			
			83,74	102,47			
		81,72	83,34	101,98			
			83,25	101,87			
2	%100	116,78	119,70	102,50	102,50	0,24	0,23
			119,58	102,40			
		116,69	119,92	102,77			
			119,89	102,74			
		116,45	119,14	102,31			
			119,09	102,26			
3	%130	150,99	153,66	101,77	101,98	0,18	0,17
			153,79	101,86			
		150,16	153,11	101,96			
			153,13	101,98			
		150,71	153,88	102,11			
			154,07	102,23			
Ortalama%				102,22			
SD				0,26			
RSD %				0,25			

Tablo 4-13: Her bir Diklofenak Dietilamonyum konsantrasyonu seviyesindeki geri kazanım ortalama sonuçlarının değerlendirmesi

Seviye (%)	Diklofenak Dietilamonyum Ortalama Sonuçlar
%70	%102,18
%100	%102,50
%130	%101,98
Ortalama	%102,22
SD	0,26
%RSD	0,25

Tablo 4-14: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel ürününde tiyokolşikozit geri kazanım sonuçları

No	Seviye(%)	Nunume Tartımı (mg)	Bulunan Miktar (mg)	Geri Kazanım (%)	Ortalama (%)	SD	%RSD
1	%70	17,56	17,66	100,54	101,21	1,32	1,30
			17,65	100,52			
		17,73	17,78	100,28			
			17,81	100,47			
		17,66	18,15	102,77			
			18,14	102,70			
2	%100	25,71	25,87	100,64	100,85	0,96	0,95
			25,87	100,61			
		25,33	25,78	101,79			
			25,84	102,01			
		25,21	25,22	100,02			
			25,22	100,03			
3	%130	32,68	32,47	99,34	99,47	0,45	0,45
			32,50	99,44			
		32,62	32,30	99,03			
			32,33	99,12			
		32,52	32,48	99,87			
			32,53	100,04			
				Ortalama	100,51		
				SD	0,92		
				% RSD	0,91		

Tablo 4-15: Her bir Tiyokolşikozit derişimi seviyesindeki geri kazanım ortalama sonuçlarının değerdendirilmesi

Seviye (%)	Tiyokolşikozit Ortalama sonuçlar
% 70	%101,21
% 100	%100,85
% 130	%99,47
Ortalama	%100,51
SD	0,92
%RSD	0,91

Kabul Kriteri: Her bir seviye için % geri kazanım değerdleri, %97,0 ila %103,0 aralığında olmalıdır.

$$\text{Geri Kazanım (\%)} = \frac{\text{Test sonucu bulunan konsantrasyon}}{\text{Teorik konsantrasyon}} \times 100$$

Sonuçların kabul kriterine uygun olduğu tespit edilmiş ve Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel, YBSK cihazı ile miktar tayini yöntemi için doğruluk parametresi validasyonu gerçekleştirilmiştir.

4.4.2. Kesinlik

4.4.2.1. Yöntem Kesinliği

Miktar tayini validasyonu yöntem kesinliği çalışmasında elde edilen sonuçlar Diklofenak Dietilamonyum için Tablo 4-16'de, Tiyokolşikozit için Not: %1 Diklofenak Sodyum, %1,16 Diklofenak Dietilamonyum'a eşdeğerdir.

Tablo 4-17'de verilmiştir

Tablo 4-16: Diklofenak Dietilamonyum %1,16/ Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel'de Diklofenak Dietilamonyum için miktar tayini yöntem kesinliği sonuçları

YBSK Cihazı	Test	Sonuç g/100g jel	% Sonuç
Shimadzu	1	1,04	103,58
	2	1,05	104,48
	3	1,05	104,89
	4	1,05	104,93
	5	1,05	105,46
	6	1,06	105,52
	Ortalama	1,05	104,81
	SD	0,01	0,71
	%RSD	0,69	0,68

Not: %1 Diklofenak Sodyum, %1,16 Diklofenak Dietilamonyum'a eşdeğerdir.

Tablo 4-17: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel'de Tiyokolşikozit miktar tayini yöntem kesinliği sonuçları

YBSK Cihazı	Test	Sonuç g/100 g jel	% Sonuç
Shimadzu	1	0,26	103,52
	2	0,26	104,82
	3	0,26	104,76
	4	0,26	104,77
	5	0,26	104,38
	6	0,26	104,27
	Ortalama	0,26	104,42
	SD	0,00	0,50
	%RSD	0,48	0,48

Kabul Kriteri:

Sonuçlar spesifikasyon dışı olmamalıdır. Sonuçların ortalama değerleri %RSD en fazla %2,0 olmalıdır.

Sonuçların kabul kriterine uygun olduğu tespit edilmiştir.

4.4.2.2. Laboratuvar İçi Kesinlik

Aynı cihazda ilk gün ve sonrasında yürütülen 3.gün analiz sonuçları, Diklofenak Sodyum için Tablo 4-18 ve Tablo 4-20’de, Tiyokolşikozit için ise Tablo 4-19 ve Tablo 4-21’de verilmiştir.

Tablo 4-18: Diklofenak Dietilamonyum %1,16/ Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Diklofenak Sodyum için miktar tayini laboratuvar içi kesinlik sonuçları (1.gün)

Cihaz	Test	Sonuç g/100 g jel	Sonuç
Shimadzu	1	1,03	102,72
	2	1,04	103,71
	3	1,04	103,84
	4	1,04	104,35
	5	1,04	104,09
	6	1,05	104,79
	%Ortalama	1,04	103,92
	SD	0,01	0,70
	%RSD	0,67	0,67

Tablo 4-19: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Tiyokolşikozit için miktar tayini laboratuvar içi kesinlik sonuçları (3.gün)

Cihaz	Test	Sonuç g/100 g jel	Sonuç
Shimadzu	1	0,26	103,64
	2	0,26	103,85
	3	0,26	103,93
	4	0,26	104,42
	5	0,26	104,21
	6	0,26	104,45
	%Ortalama	0,26	104,08
	SD	0,00	0,33
	%RSD	0,32	0,32

Tablo 4-20: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Diklofenak Sodyum için analist 1 ve 2’nin miktar tayini ortalama sonuçları

Analiz Tekrarı	Cihaz	Ortalama Sonuçlar (%)
İlk Gün	Shimadzu	104,81
3 Gün sonrası	Shimadzu	103,92
Ortalama Sonuçlar arası % Fark		0,89

Tablo 4-21: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Tiyokolşikozit için 1. ve 3. günde miktar tayini ortalama sonuçları

Analiz Tekrarı	Cihaz	Ortalama Sonuçlar (%)
İlk Gün	Shimadzu	104,42
3 Gün sonrası	Shimadzu	104,08
Ortalama Sonuçlar Arası % Fark		0,34

Kabul Kriteri: Sonuçlar spesifikasyon dışı olmamalıdır. Sonuçların ortalama %RSD değerleri en fazla %2,0 olmalıdır. İki farklı günde yapılan çalışmanın ayrı ayrı ortalamaları arasındaki fark %3,0'ten fazla olmamalıdır.

Sonuçların kabul kriterine uygun olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bu veriler analitik yöntemin laboratuvar içi değişikliklerden etkilenmediği bulunmuştur.

4.4.2.3. Sistem Uygunluk

Miktar tayini sistem uygunluk parametresi sonuçları, Tablo 4-22 ve Tablo 4-23'de verildiği gibi bulunmuştur.

Tablo 4-22: Diklofenak için sistem uygunluk sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	Alan	Kuyruklanma Faktörü
1	5341194,8	1,27
2	5342071,6	1,27
3	5342075,2	1,27
4	5333068,4	1,28
5	5339633,6	1,28
6	5323399,3	1,28
Ortalama	5336907,1	1,28
SD	7435	0,00
%RSD	0,1	0,2

Tablo 4-23: Tiyokolşikozit için sistem uygunluk sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	Alan	Kuyruklanma Faktörü
1	1888682,7	1,48
2	1889410,5	1,48
3	1890038,0	1,49
4	1886475,9	1,48
5	1888232,4	1,49
6	1882751,7	1,49
Ortalama	1887598,5	1,49
SD	2667	0,00
%RSD	0,1	0,2

Sistem uygunluk için kabul kriterleri, standart çözeltisinin ardışık 6 enjeksiyonundan elde edilen kromatogramlardaki Diklofenak ve Tiyokolşikozit pik alanlarının RSD'si %2,0' dan fazla olmamasıdır. Diklofenak ve Tiyokolşikozit piklerinin kuyruklama faktörü $\leq 2,0$ olmalıdır.

Sonuçlar değerlendirildiğine kabul kriterine göre uygun veriler elde edilmiştir.

4.4.3. Spesifiklik (Specifity)

Filtre etkisi sonuçları Diklofenak Dietilamonyum için Tablo 4-24’de; Tiyyokolşikozit için Tablo 4-25’da verilmiştir.

Tablo 4-24: Spesifiklik testi Diklofenak Dietilamonyum filtre etkisi için sonuç tablosu

Filtre Tipi	Standart		Numune	
	Alan	% Fark	Alan	% Fark
Filtresiz	5286032,2	-	5885047,8	-
NYLON	5267001,3	0,4	5910453,2	0,4
PTFE	5325336,1	0,7	5665116,6	3,7
RC	5298363,1	0,2	5804080,5	1,4

Tablo 4-25: Spesifiklik testi Tiyyokolşikozit filtre etkisi için sonuç tablosu

Filtre Tipi	Standart		Numune	
	Alan	% Fark	Alan	% Fark
Filtresiz	2056750,5	-	2490537,4	-
NYLON	2049494,0	0,4	2500207,2	0,4
PTFE	2071926,3	0,7	2476536,6	0,6
RC	2061523,2	0,2	2481783,1	0,4

Pik Tanımlaması, Kör ve Plasebo Etkisi sonuçları Tablo 4-26 ve Tablo 4-27’de verilmiştir.

Tablo 4-26: Spesifiklik testi Diklofenak pik tanımlaması, kör ve plasebo etkisi için sonuç tablosu

Solvent Adı	Alıkonma Zamanı	Pik Saflık İndisi	Single Point Threshold
Çözücü	-	-	-
Plasebo	-	-	-
Diklofenak Dietilamonyum (Numune)	20,87	1,000000	0,999964
Diklofenak Sodyum (Standart)	20,86	0,999999	0,999970
Diklofenak Safsızlık A	19,99	-	-

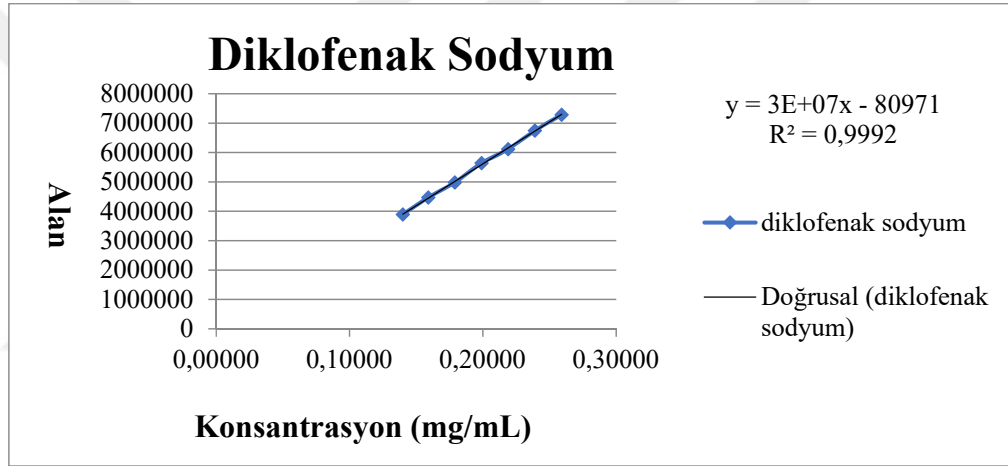
Tablo 4-27 - Spesifiklik testi Tiyyokolşikozit pik tanımlaması, kör ve plasebo etkisi için sonuç tablosu

Solvent Adı	Alıkonma Zamanı	Pik Saflığı İndisi	Single Point Threshold
Çözücü	-	-	-
Plasebo	-	-	-
Tiyyokolşikozit (Numune)	3,71	0,999997	0,999975
Tiyyokolşikozit (Standart)	3,70	0,999998	0,999970
Kolşikozit	2,54	-	-
Kolşisin	7,93	-	-

Spesifiklik sonuçlarına göre, etken maddenin alıkonma zamanında plasebodan ve çözücünden gelen herhangi bir pik tespit edilmemiştir. Etken madde piki saftır ve sonuçlar kabul kriterlerine uygun bulunmuştur. Filtre etkisi sonuçlarına göre 0,45µm Nylon filtrenin analiz için uygun olduğu gözlenmiştir.

4.4.4. Doğrusallık

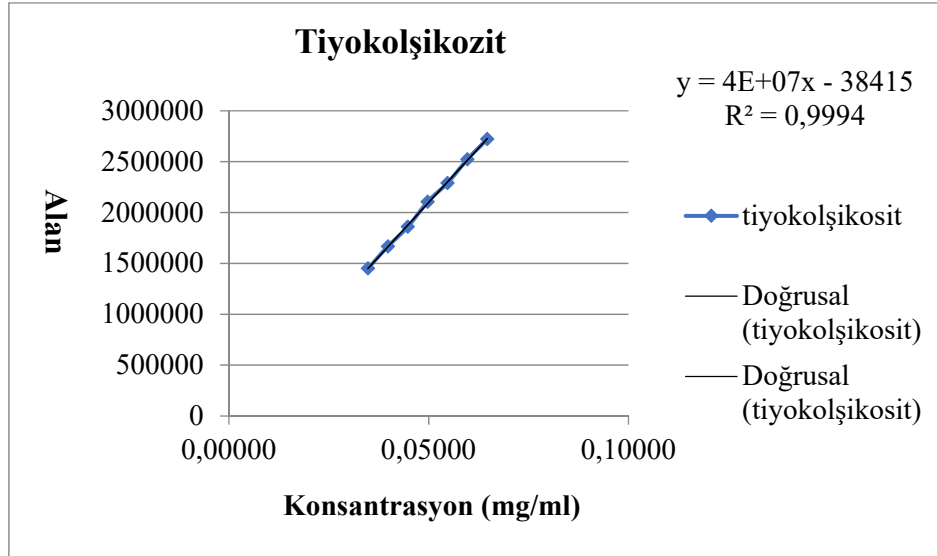
Standart bileşiği Diklofenak Sodyum ile elde edilen sonuçlar Tablo 4-28 ve Tablo 4-29 ile Şekil 4-5 ve Şekil 4-6'de verilmiştir. Sonuçlar kabul kriterlerine değerlendirilmesi Tablo 4-30 ve Tablo 4-31'de özetlenmiştir. Elde edilen sonuçlar GEREÇ ve YÖNTEM bölümünde belirlenen kabul kriterlerine uygundur ve sonuç olarak bu derişim aralığında derişime bağı alan değerin doğrusal olduğu kanıtlanmıştır.



Şekil 4-5: Diklofenak Sodyum doğrusallık grafiği

Tablo 4-28: Diklofenak (Sodyum) miktar tayini yöntem validasyonu için doğrusallık sonuçları

Standart Konsantrasyon Seviyesi (%)	Konsantrasyon (mg/ ml) (x)	Alan Ortalaması (y)	Hesaplanan Alan (y _{cal})	Fark (y-y _{cal})	Farkların karesi (y-y _{cal}) ²
%70	0,140	3893552	3906703	-13151	172958842
%80	0,159	4469597	4447888	21709	471277174
%90	0,179	4983529	5017555	-34027	1157825440
%100	0,199	5641634	5587223	54411	2960583676
%110	0,219	6117887	6156891	-39004	1521338604
%120	0,239	6747147	6726559	20588	423882454
%130	0,259	7285700	7296226	-10526	110796975
				RSS	6818663165
				%RSD	36928,75
				%RRSD	0,65



Şekil 4-6: Tiyokolşikozit doğrusallık grafiği

Tablo 4-29: Tiyokolşikozit miktar tayini yöntem validasyonu için doğrusallık sonuçları

Standart Konsantrasyon Seviyesi (%)	Konsantrasyon (mg/ ml) (x)	Alan Ortalaması (y)	Hesaplanan Alan (y_{cal})	Fark ($y - y_{cal}$)	Farkların karesi ($(y - y_{cal})^2$)
%70	0,0348	1450902	1450079	823	676678
%80	0,0398	1666807	1662721	4086	16692529
%90	0,0448	1859268	1875363	-16095	259042783
%100	0,0497	2105045	2088005	17041	290379639
%110	0,0547	2290144	2300647	-10503	110307952
%120	0,0597	2522188	2513289	889	79197283
%130	0,0647	2721680	2725931	-4251	18066776
				RSS	774363639
				%RSD	12444,79
				%RRSD	0,59

Tablo 4-30: Diklofenak (Sodyum) doğrusallık kabul kriterleri değerlendirmesi

R^2	0,999
RSS	6818663165
Residual Standard Deviation	36928,8
Relative Residual Standard Deviation %	0,65
$\frac{Y_{kestm}}{\%100'lük\ std\ alanı} \times 100$	% 1,44

Tablo 4-31: Tiyokolşikozit doğrusallık kabul kriterleri değerlendirmesi

R^2	0,999
RSS	774363639
Residual Standard Deviation	12444,8
Relative Residual Standard Deviation %	0,59
$\frac{Y_{kestm}}{\%100'lük\ std\ alanı} \times 100$	% 1,82

4.4.5. Uygulama Aralığı

Uygulama aralığı parametresi çalışmasının sonuçları Diklofenak Dietilamonyum için Tablo 4-32 ve Tiyokolşikozit için Tablo 4-33’de verilmiştir.

Tablo 4-32: Diklofenak Dietilamonyum için uygulama aralığı tablosu

Enjeksiyon sayısı	Alt Seviye Alanı (%70)	Üst Seviye Alanı(%130)
1	3890139	7293965
2	3901608	7291712
3	3893432	7268278
4	3892061	7266803
5	3891829	7296617
6	3892242	7296827
Ortalama	3893551,8	7285700,3
SD	4085,8	14199,1
%RSD	0,105	0,195

Tablo 4-33: Tiyokolşikozit için uygulama aralığı tablosu

Enjeksiyon sayısı	Alt Seviye Alanı (%70)	Üst Seviye Alanı(%130)
1	1450558	2714226
2	1453768	2725234
3	1450835	2730551
4	1450080	2721579
5	1450730	2721634
6	1449438	2716857
Ortalama	1450901,5	2721680,1
SD	1495,7	5833,7
%RSD	0,103	0,214

Sonuçların kabul kriterine uygun olduğu tespit edilmiş ve etken maddenin çalışma derişiminin %70 ile %130 aralığı çalışma aralığı olarak uygun bulunmuştur.

4.4.6. Sağlamlık

4.4.6.1. Çözelti Stabilitesi

60 saat boyunca 10°C sıcaklıkta bekletilip belli sürelerde analiz edilerek hesaplanan (alan olarak) %değişim ve sonuçları Tablo 4-34Tablo 4-37’de verilmiştir.

Tablo 4-34: Diklofenak (Sodyum) için çözelti stabilitesi (standart)

Zaman	Alan	% Fark
0	5333346	-
6. saat	5285153	0,9036
12. saat	5277477	1,0475
18. saat	5276488	1,0661
27. saat	5275192	1,0904
33. saat	5275214	1,0900
40. saat	5274334	1,1065
50. saat	5256234	1,4458
60. saat	5245674	1,6438

Tablo 4-35: Diklofenak (Dietilamonyum) için çözelti stabilitesi (numune)

Zaman	Alan	% Fark
0	5933723	-
6. saat	5906113	0,4653
12. saat	5896428	0,6285
18. saat	5889828	0,7398
27. saat	5870209	1,0704
33. saat	5855179	1,3237
40. saat	5832626	1,7038
50. saat	5813374	2,0282
60. saat	5789827	2,4251

Tablo 4-36: Tiyokolşikozit için çözelti stabilitesi (standart)

Zaman	Alan	% Fark
0	1883880,0	-
6. saat	1867243,0	0,8831
12. saat	1863276,0	1,0937
18. saat	1864456,0	1,0311
27. saat	1861985,0	1,1622
33. saat	1862304,0	1,1453
40. saat	1861855,0	1,1691
50. saat	1855340,9	1,5149
60. saat	1850975,6	1,7466

Tablo 4-37: Tiyokolşikozit için çözelti stabilitesi (numune)

Zaman	Alan	% Fark
0	2272232,0	-
6. saat	2260812,0	0,5026
12. saat	2257606,0	0,6437
18. saat	2254987,0	0,7589
27. saat	2248012,0	1,0659
33. saat	2242038,0	1,3288
40. saat	2233071,0	1,7234
50. saat	2223409,4	2,1487
60. saat	2211107,8	2,6900

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, standart ve test çözeltilerinin 40 saat boyunca 10°C’ de stabil olduğunu tespit edilmiştir.

4.5. Bitmiş Ürün Safsızlıkları (İmpürite) Analitik Metot Validasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.5.1. Doğruluk

Diklofenak Dietilamonyum ve Diklofenak Safsızlık A için çalışma derişiminin %10 (LOQ), %100, %200 seviyelerinde ile Tiyokolşikozit ve Safsızlıkları (Kolşisin ve Kolşikozit) için çalışma derişiminin %10 (LOQ), %100, %200 seviyelerinde 3 paralel numune hazırlanıp analiz edilmiştir. Sonuçlar Tablo 4-38 ve Tablo 4-42 verilmiştir.

Tablo 4-38: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit % 0.25 Emüljel Diklofenak Safsızlık A geri kazanım sonuçları

Limit (%)	Teorik Miktar (mg/ml)	Geri Kazanım (%)	Ortalama	SD	% RSD
%10 (LOQ)	0,0005	100,40	99,73	0,6	0,6
	0,0005	99,40			
	0,0005	99,40			
100%	0,0050	105,56	105,93	0,4	0,4
	0,0050	106,42			
	0,0050	105,80			
200%	0,0100	107,09	107,10	0,1	0,1
	0,0100	107,24			
	0,0100	106,98			

Tablo 4-39: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit % 0.25 Emüljel Diklofenak Dietilamonyum Geri Kazanım Sonuçları

Limit (%)	Teorik Miktar (mg/ml)	Geri Kazanım (%)	Ortalama	SD	% RSD
%10 (LOQ)	0,0005	107,20	106,13	1,1	1,0
	0,0005	106,20			
	0,0005	105,00			
100%	0,0020	105,00	105,88	0,8	0,8
	0,0020	106,10			
	0,0020	106,55			
200%	0,0040	105,10	105,17	0,5	0,5
	0,0040	104,68			
	0,0040	105,73			

Tablo 4-40: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit % 0.25 Emüljel bitmiş ürününde Tiyokolşikozit geri kazanım sonuçları

Limit (%)	Teorik Miktar (mg/ml)	Geri Kazanım (%)	Ortalama	SD	% RSD
%10 (LOQ)	0,00013	103,08	101,28	2,5	2,4
	0,00013	102,31			
	0,00013	98,46			
%100	0,00125	108,56	108,51	0,3	0,3
	0,00125	108,16			
	0,00125	108,80			
%200	0,00250	103,84	104,83	1,0	1,0
	0,00250	105,84			
	0,00250	104,80			

Tablo 4-41: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit % 0.25 Emüljel bitmiş ürününde Kolşikozit safsızlığı geri kazanım sonuçları

Limit (%)	Teorik Miktar (mg/ml)	Geri Kazanım (%)	Ortalama	SD	% RSD
%10 (LOQ)	0,00013	106,15	109,74	6,2	5,7
	0,00013	116,92			
	0,00013	106,15			
%100	0,00125	102,16	102,96	0,7	0,7
	0,00125	103,60			
	0,00125	103,12			
%200	0,00250	102,60	102,60	0,6	0,5
	0,00250	102,04			
	0,00250	103,16			

Tablo 4-42: Diklofenak Sodyum %1 & Tiyokolşikozit %0.25 Emüljel bitmiş ürününde Kolşisin safsızlığı geri kazanım sonuçları

Limit (%)	Teorik Miktar (mg/ml)	Geri Kazanım (%)	Ortalama	SD	% RSD
%10 (LOQ)	0,00013	103,08	103,33	0,4	0,4
	0,00013	103,85			
	0,00013	103,08			
100%	0,00125	103,68	105,28	1,4	1,4
	0,00125	106,40			
	0,00125	105,76			
200%	0,00250	103,28	103,97	0,6	0,6
	0,00250	104,20			
	0,00250	104,44			

Sonuçların kabul kriterine uygun olduğu tespit edilmiş ve Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit % 0.25 Emüljel, YBSK cihazı ile safsızlık tayini yöntemi için doğruluk parametresi valide edilmiştir.

4.5.2. Kesinlik

4.5.2.1. Yöntem Kesinliği

Yöntem kesinliği çalışması sonrası elde edilen sonuçlar Tablo 4-43’de verilmiştir.

Tablo 4-43: Safsızlık tayini yöntem kesinliği sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	Kolşikozit(%)	Kolşisin (%)	Diklofenak Safsızlık A (%)
1	0,51	0,52	0,53
2	0,52	0,53	0,53
3	0,52	0,53	0,53
4	0,51	0,52	0,53
5	0,51	0,52	0,53
6	0,51	0,52	0,52
Ortalama	0,513	0,523	0,527
SD	0,004	0,006	0,003
%RSD	0,693	1,176	0,527

Sonuçların kabul kriterine uygun olduğu bulunmuştur.

4.5.2.2. Laboratuvar İçi Kesinlik

Laboratuvar içi kesinlik çalışmalarında elde edilen veriler Tablo 4-44’de verilmiştir. Aynı cihazda ilk gün ve 3.gün yürütülen laboratuvar içi kesinlik çalışması ile elde edilen sonuçlar ise Tablo 4-45’de verilmiştir.

Tablo 4-44: Safsızlık tayini laboratuvar içi kesinlik sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	Kolşikozit(%)	Kolşisin (%)	Diklofenak Safsızlık A (%)
1	0,49	0,53	0,52
2	0,49	0,53	0,53
3	0,50	0,53	0,53
4	0,50	0,53	0,53
5	0,49	0,53	0,53
6	0,50	0,53	0,53
Ortalama	0,496	0,531	0,526
SD	0,002	0,002	0,001
%RSD	0,429	0,438	0,172

Tablo 4-45: Farklı günlerde safsızlık tayini kesinlik ve laboratuvar içi kesinlik çalışması ortalama sonuçları

	Kolşikozit(%)	Kolşisin (%)	Diklofenak Safsızlık A (%)	Cihaz
İlk gün	0,513	0,523	0,527	Shimadzu
3. gün	0,496	0,531	0,526	Shimadzu
Fark %	0,017	0,009	0,001	

Sonuçların kabul kriterine uygun olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bu veriler analitik yöntemin laboratuvar içi değişikliklerden etkilenmediğini göstermektedir.

4.5.2.3. Sistem Uygunluk

Sistem uygunluk parametresi çalışmasında elde edilen sonuçlar, Tablo 4-46' de verilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, kabul kriterlerine göre uygun bulunmuştur.

Tablo 4-46: Safsızlık parametresinde sistem uygunluk sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	Std Tiyyokolkoşit Alan*	Std Diklofenak Dietilamonyum Alan*
1	55536,0	56241,0
2	55484,0	56488,0
3	55568,0	56086,0
4	55630,0	56002,0
5	55529,0	56339,0
6	55612,0	56463,0
Ortalama	55559,8	56270
SD	55	198
%RSD	0,1	0,4
Diklofenak ile Diklofenak Safsızlık A pikleri arasındaki rezolüsyon	6,0	

Not: Kesinlik Parametresi standart (std) sonuçlarından alınmıştır

4.5.3. Spesifiklik

Filtre etkisi sonuçları Tablo 4-47, Tablo 4-48 ve

Tablo 4-49’de, ilgili kromatogramlar ekte verilmiştir.

Tablo 4-47: *Spiked* numune çözeltisi için Nylon filtre etkisi sonuçları

Numune	Süzülmemiş (Alan)	Naylon (Alan)	% Fark
Kolşikozit	102528	103270	0,72
Kolşisin	74345	75203	1,15
Diklofenak safsızlık A	116734	114630	1,80

Tablo 4-48: *Spiked* numune çözeltisi için Rejenere Selüloz (RC) filtre etkisi sonuçları

Numune	Süzülmemiş (Alan)	RC (Alan)	% Fark
Kolşikozit	102528	102457	0,07
Kolşisin	74345	74505	0,22
Diklofenak safsızlık A	116734	115961	0,66

Tablo 4-49: Standart çözeltisi için Naylon ve RC filtre etkisi sonuçları

	Tiyokolkoşit (Alan)	Diklofenak (Alan)	Tiyokolkoşit %Fark	Diklofenak %Fark
Std-süzülmemiş	56365	54386	-	-
Std-Nylon Glass Fiber	56992	54379	1.11	0.01
Std-RC	56424	54814	1.00	0.80

Pik tanımlaması, kör ve plasebo etkisi çalışmasında elde edilen sonuçlar Tablo 4-50’de ve ilgili kromatogramlar ekte verilmiştir.

Sonuçlar değerlendirildiğinde, etken maddenin alıkonma zamanında plaseboda ve çözücünden gelen herhangi bir pik tespit edilmemiştir. Etken madde piki ve safsızlık pikleri saf şekilde bulunmuştur.

Tablo 4-50: Seçicilik validasyon parametresi sonuçları özet tablosu

	Alıkonma Zamanı	RRT	Peak Purity Index	Single Point Threshold
Çözücü	-	-	-	-
Plasebo (Etkenleri içermeyen plasebo)	-	-	-	-
Tiyokolkoşit Plasebosu (Diklofenak Dietilamonyum içeren)	-	-	-	-
Diklofenak Dietilamonyum Plasebo (Tiyokolşikozit içeren)	-	-	-	-
Diklofenak Dietilamonyum (Std)	37,43	-	1,000000	0,998442
Tiyokolkoşit (Std)	8,48	-	0,999893	0,988731
Kolşikozit (Spike Numune)*	5,54	0,653	1,000000	0,997908
Kolşisin (Spike Numune)*	13,75	1,621	0,999996	0,994433
Diklofenak Safsızlık A (Spike Numune)**	33,79	0,903	0,999999	0,996549

*Kolşikozit ve Kolşisin safsızlıkları için RRT’ler Diklofenak Dietilamonyum’a göre hesaplanmıştır.

**Diklofenak Safsızlık A için RRT Tiyokolkoşit’e göre hesaplanmıştır.

4.5.4. Doğrusallık

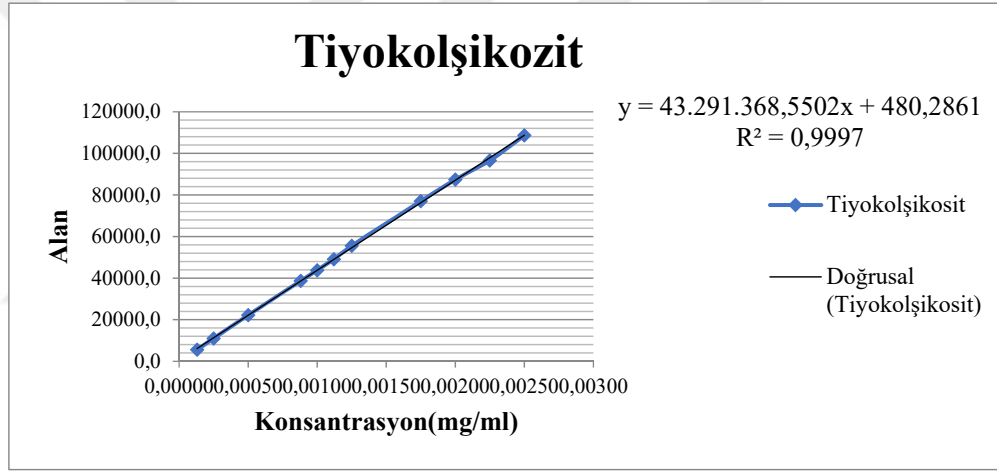
Tiyokolşikozit ve onun safsızlıkları ile Diklofenak Dietilamonyum ve onun safsızlıkları için yürütülen doğrusallık parametresi sonucunda elde edilen bulgular

Tablo 4-51-56 ve Şekil 4-7-Şekil 4-11’de verilmiştir.



Tablo 4-51: Safsızlık yöntem validasyonunda Tiyokolşikozit doğrusallık parametresi sonuçları

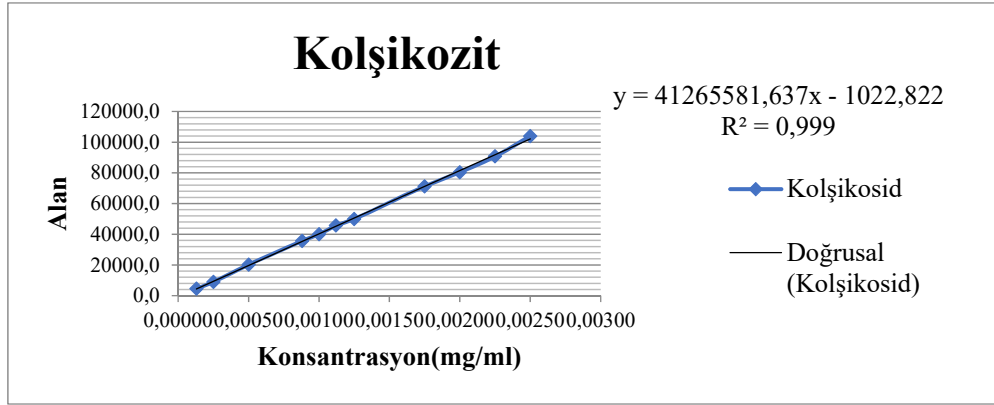
Seviye	Konsantrasyon	Alan Y-1	Bulunan Y-2	(Y1-Y2)	(Y1-Y2) ²
(LOQ)	0,00013	5578,2	6108	-530	280897
(RS)	0,00025	10989,3	11303	-314	98467
%40	0,00050	22194,5	22126	69	4696
%70	0,00088	38652,5	38577	76	5747
%80	0,00100	43780,0	43772	8	70
%90	0,00112	49036,5	48967	70	4883
%100	0,00125	55559,8	54594	965	931875
%140	0,00175	76989,0	76240	749	560730
%160	0,00200	87365,5	87063	302	91492
%180	0,00225	96581,0	97886	-1305	1702673
%200	0,00250	108618,2	108709	-91	8198
				RSS	3689729
				% RSD	579,16
				%RRSD	1,04



Şekil 4-7: Safsızlık yöntem validasyonunda Tiyokolşikozit doğrusallık grafiği

Tablo 4-52: Safsızlık yöntem validasyonunda Kolşikozit doğrusallık parametresi sonuçları

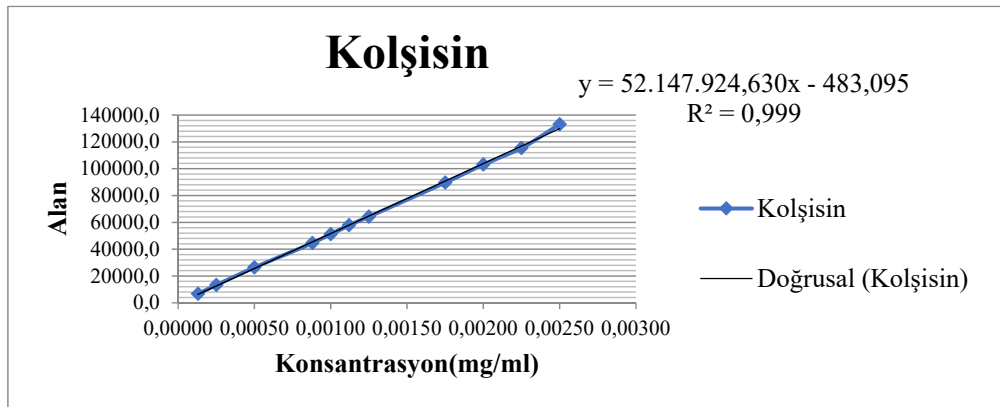
Seviye	Konsantrasyon	Alan Y-1	Bulunan Y-2	(Y1-Y2)	(Y1-Y2) ²
(LOQ)	0,00013	4516,2	4342	174	30437
(RS)	0,00025	8909,5	9294	-384	147512
%40	0,00050	20180,5	19610	571	325506
%70	0,00088	35635,0	35291	344	118412
%80	0,00100	40031,5	40243	-211	44631
%90	0,00112	45680,0	45195	485	235585
%100	0,00125	49940,5	50559	-619	382734
%140	0,00175	71222,0	71192	30	903
%160	0,00200	80330,5	81508	-1178	1387310
%180	0,00225	90780,5	91825	-1044	1090430
%200	0,00250	103972,7	102141	1832	3354520
				RSS	7117979
				%RSD	804,42
				R%RSD	1,61



Şekil 4-8: Safsızlık yöntem validasyonunda Kolşikozit doğrusallık grafiği

Tablo 4-53: Safsızlık Yöntem Validasyonunda Kolşisin Doğrusallık Parametresi Sonuçları

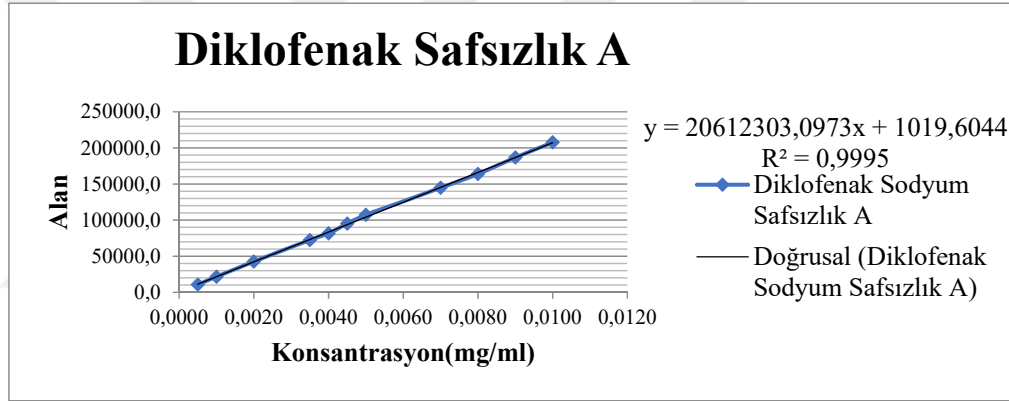
Seviye	Konsantrasyon	Alan Y-1	Bulunan Y-2	(Y1-Y2)	(Y1-Y2) ²
(LOQ)	0,00013	6771,7	6296	476	226130
(RS)	0,00025	13265,8	12554	712	506869
%40	0,00050	26356,5	25591	766	586194
%70	0,00088	44546,0	45407	-861	741456
%80	0,00100	51209,0	51665	-456	207781
%90	0,00112	57895,0	57923	-28	761
%100	0,00125	64263,5	64702	-438	192116
%140	0,00175	89599,5	90776	-1176	1383618
%160	0,00200	103120,5	103813	-692	479216
%180	0,00225	115381,0	116850	-1469	2157183
%200	0,00250	133053,7	129887	3167	10029573
				RSS	16510898
				%RSD	1225,15
				%RRSD	1,91



Şekil 4-9: Safsızlık yöntem validasyonunda Kolşisin doğrusallık grafiği

Tablo 4-54: Safsızlık yöntem validasyonunda Diklofenak Safsızlık A doğrusallık parametresi sonuçları

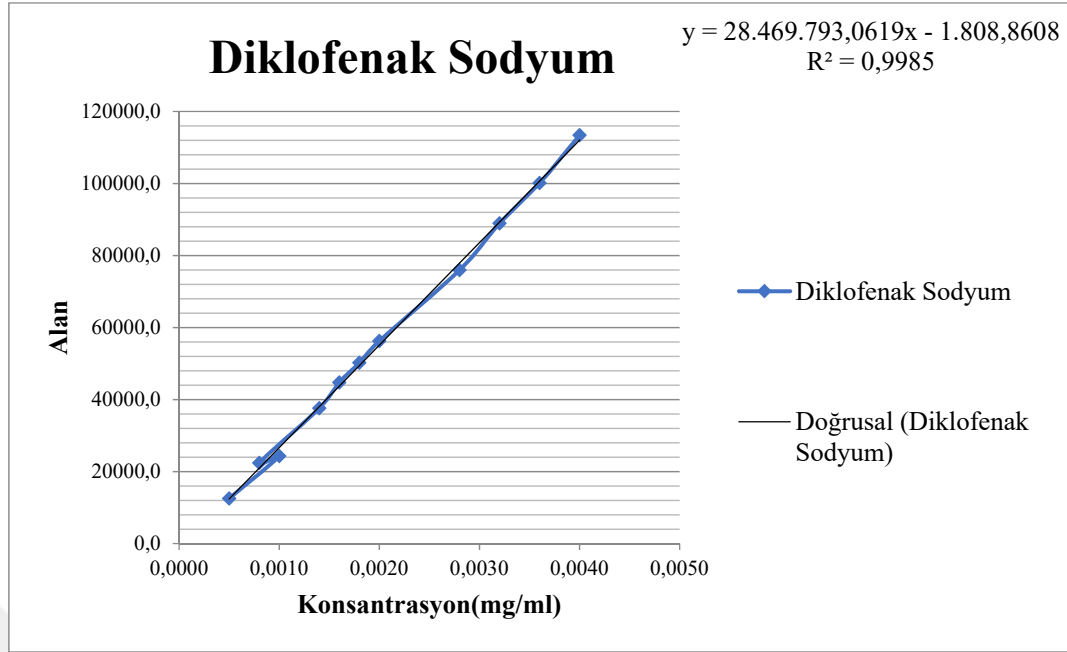
Seviye	Konsantrasyon	Alan Y-1	Bulunan Y-2	(Y1-Y2)	(Y1-Y2) ²
(LOQ)	0,0005	10748,7	11326	-577	333032
(RS)	0,0010	21645,3	21632	13	180
%40	0,0020	42652,5	42244	408	166700
%70	0,0035	72388,0	73163	-775	600106
%80	0,0040	81588,0	83469	-1881	3537472
%90	0,0045	95247,5	93775	1473	2168350
%100	0,0050	107254,8	104081	3174	10072457
%140	0,0070	144775,5	145306	-530	281140
%160	0,0080	163881,5	165918	-2037	4147451
%180	0,0090	186642,0	186530	112	12470
%200	0,0100	207762,3	207143	620	384026
				RSS	21703383
				%RSD	1404,65
				%RRSD	1,31



Şekil 4-10: Safsızlık yöntem validasyonunda Diklofenak Safsızlık A doğrusallık grafiği

Tablo 4-55: Safsızlık yöntem validasyonunda Diklofenak Sodyum doğrusallık parametresi sonuçları

Seviye	Konsantrasyon	Alan Y-1	Bulunan Y-2	(Y1-Y2)	(Y1-Y2) ²
(LOQ)	0,0005	12532,3	12426	106	11299
(RS)	0,0010	24274,3	26661	-2387	5695854
%40	0,0008	22367,0	20967	1400	1960074
%70	0,0014	37590,0	38049	-459	210543
%80	0,0016	44750,0	43743	1007	1014436
%90	0,0018	50201,5	49437	765	584817
%100	0,0020	56269,8	55131	1139	1297567
%140	0,0028	75943,5	77907	-1963	3853604
%160	0,0032	88927,0	89294	-367	135039
%180	0,0036	100113,5	100682	-569	323641
%200	0,0040	113397,8	112070	1328	1762314
				RSS	16849188
				%RSD	1237,64
				%RRSD	2,2



Şekil 4-11: Safsızlık yöntem validasyonunda Diklofenak Safsızlık A doğrusallık grafiği

Tablo 4-56: Bağlı cevap katsayısı ve düzeltme faktörü

	Eğim Değerleri	Bağlı Cevap Katsayısı (RRF)	Düzeltilme Faktörü
Tiyokolşikozit	43291368,55	-	-
Kolşikozit*	41265581,64	0,953205755	1,05
Kolşisin*	52147924,63	1,204580183	0,83
Diklofenak Sodyum	28469793,06	-	-
Diklofenak A**	20612303,1	0,724006074	1,38

*Tiyokolşikozit'e göre hesaplanmıştır, **Diklofenak Sodyum' a göre hesaplanmıştır

Kabul Kriteri:

$R^2 \geq 0,99$ olmalıdır.

$$\text{Relative residual standart deviation} = \frac{\text{Residual Standard Deviation}}{\%100'lük std alanı} \times 100 \leq \%10,0 -$$

$\%20,0$ olmalıdır.

$$\text{Residual Standard Deviation} = \sqrt{\frac{RSS}{n-2}}$$

$$RSS = \sum (Y - Y_{cal})^2$$

n : Doğrusallık çalışmasında kullanılan standart çözelti sayısı

$$\frac{Y_{int}}{\%100'lük standart alanı} \times 100 \leq \%10,0 - \%20,0 \text{ olmalıdır.}$$

Sonuçların Değerlendirilmesi:

Tiyokolşikozit için;

R^2	0,9997
RSS	3689729
<i>Residual Standard Deviation</i>	579,16
<i>Relative Residual Standard Deviation</i>	0,75
$\frac{Y_{kesim}}{\%100'lük\ std\ alanı} \times 100$	0,86

Kolşikozit için;

R^2	0,999
RSS	7117979
<i>Residual Standard Deviation</i>	804.42
<i>Relative Residual Standard Deviation</i>	1,13
$\frac{Y_{kesim}}{\%100'lük\ std\ alanı} \times 100$	2,05

Kolşisin için;

R^2	0,999
RSS	16510898
<i>Residual Standard Deviation</i>	1225,15
<i>Relative Residual Standard Deviation</i>	1,37
$\frac{Y_{kesim}}{\%100'lük\ std\ alanı} \times 100$	0,95

Diklofenak Safsızlık A için;

R^2	0,9995
RSS	21703383
<i>Residual Standard Deviation</i>	1404,65
<i>Relative Residual Standard Deviation</i>	0,97
$\frac{Y_{kesim}}{\%100'lük\ std\ alanı} \times 100$	3,22

Diklofenak Sodyum için;

R^2	0,9985
RSS	16849188
<i>Residual Standard Deviation</i>	1237,64
<i>Relative Residual Standard Deviation</i>	1,63

4.5.6. Tespit Limiti

Tespit Limiti parametresi için elde edilen sonuçlar Tablo 4-57’de verilmiştir.

Tablo 4-57: Tespit limiti (LOD) tablosu

LOD Seviyesinde	Sinyal/Gürültü	Konsantrasyon(mg/ml)
Tiyokolşikozit	7,01	0,000065
Kolşikozit	5,12	0,000065
Kolşisin	5,47	0,000065
Diklofenak Dietilamonyum	4,92	0,000250
Diklofenak Safsızlık A	4,54	0,000250

Sonuçların değerlendirildiğinde, örnek kromatogramlarda elde edilen sinyallerin *blank* kromatogramlarındaki gürültüye oranı 3,0’dan büyük olarak tespit edilmiştir.

4.5.7. Hesaplanabilirlik Limiti

LOQ seviyesinin belirlemek için yürütülen çalışmalarda elde edilen sonuçlar Tablo 4-58’de verilmiştir. Sonuçların değerlendirildiğinde, sinyal/gürültü oranları 10,0’nün üstünde tespit edilmiş ve kabul kriterlerine uygundur.

Tablo 4-58: Hesaplanabilirlik limiti (LOQ) sinyal/ gürültü sonuçları

LOQ Seviyesinde	Sinyal/Gürültü	Konsantrasyon (mg/ml)
Tiyokolşikozit	13,37	0,00013
Kolşikozit	12,12	0,00013
Kolşisin	14,57	0,00013
Diklofenak Dietilamonyum	11,86	0,00050
Diklofenak Safsızlık A	15,27	0,00050

4.5.8. Uygulama Aralığı

Uygulama aralığı çalışması ile elde edilen sonuçları Tablo 4-59-Tablo 4-63’de verilmiştir.

Tablo 4-59: Tiyokolşikozit için uygulama aralığı

Enjeksiyon Sayısı	%10 (LOQ) Alan	%200 Alan
1	5536	108136
2	5521	109771
3	5667	106555
4	5617	107928
5	5505	109741
6	5623	109578
Ortalama	5578	108618
SD	66	1302
%RSD	1,18	1,20

Tablo 4-60: Kolşikozit için uygulama aralığı

Enjeksiyon Sayısı	%10 (LOQ)Alan	%200 Alan
1	4514	103354
2	4510	104969
3	4543	102873
4	4531	103109
5	4543	104728
6	4456	104803
Ortalama	4516	103973
SD	33	958
%RSD	0,72	0,92

Tablo 4-61: Kolşisin için uygulama aralığı

Enjeksiyon Sayısı	%10 (LOQ)Alan	%200 Alan
1	6806	133057
2	6782	133894
3	6777	132233
4	6801	131886
5	6628	133557
6	6836	133695
Ortalama	6772	133054
SD	73	826
%RSD	1,08	0,62

Tablo 4-62: Diklofenak Safsızlık A için uygulama aralığı

Enjeksiyon Sayısı	%10 (LOQ) Alan	%200 Alan
1	10460	207608
2	10581	208920
3	10662	205172
4	10735	207209
5	10795	208793
6	11259	208872
Ortalama	10749	207762
SD	276	1461
%RSD	2,57	0,70

Tablo 4-63: Diklofenak Sodyum için uygulama aralığı

Enjeksiyon Sayısı	%10 (LOQ) Alan	%200 Alan
1	12207	112372
2	12971	115109
3	12745	111937
4	12316	111654
5	12471	114442
6	12484	114873
Ortalama	12532	113398
SD	282	1576
%RSD	2,25	1,39

Sonuçların Değerlendirilmesi: Sonuçların kabul kriterine uygun olduğu tespit edilmiştir. Tiyokolşikozit ve safsızlıkları (Kolşisin ve Kolşikozit) için %10 (0,00013mg/ml)-%200 (0,0025mg/ml) mg/ml çalışma aralığı, Diklofenak Dietilamonyum için %10 (0,0005mg/ml)-%200 (0,004 mg/ml) çalışma aralığı ve Diklofenak Safsızlık A (0,0005mg/ml)-%200 (0,01 mg/ml) çalışma aralığı olarak uygun bulunmuştur.

4.5.9. Sağlamlık

4.5.9.1. Çözelti Stabilitesi

Standart ve test çözeltisi yönteme göre hazırlanarak 48 saat boyunca 10°C sıcaklıkta bekletilip belli sürelerde analiz edilerek % değişim hesaplanmıştır (alan olarak) ve sonuçlar Tablo 4-64 Tablo 4-68’de verilmiştir.

Tablo 4-64: Tiyokolşikozit standart çözeltisinin çözelti stabilitesi sonuçları (10°C)

Standart (Tiyokolşikozit)	Alan	% Fark
0.saat	55306	-
8.saat	55966	1,2
16.saat	55932	1,1
24.saat	55145	0,3
32.saat	55135	0,3
48.saat	54613	1,3

Tablo 4-65: Diklofenak (Sodyum) standart çözeltisinin çözelti stabilitesi sonuçları (10°C)

Standart (Diklofenak Sodyum)	Alan	% Fark
0.saat	55144	-
8.saat	55213	0,1
16.saat	54477	1,2
24.saat	54305	1,5
32.saat	54247	1,6
48.saat	54232	1,7

Tablo 4-66: Kolşikozit için çözelti stabilitesi sonuçları (10°C)

Spike Numune (Kolşikozit)	Alan	% Fark
0.saat	103270	-
8.saat	104329	1,0
16.saat	102457	0,8
24.saat	102274	1,0
32.saat	104746	1,4
48.saat	104269	1,0

Tablo 4-67: Kolşisin için çözelti stabilitesi sonuçları (10°C)

Spike Numune (Kolşisin)	Alan	% Fark
0.saat	73272	-
8.saat	73251	0,0
16.saat	73372	0,1
24.saat	73554	0,4
32.saat	72692	0,8
48.saat	72213	1,4

Tablo 4-68: Diklofenak Safsızlık A için çözelti stabilitesi sonuçları (10°C)

Spike Numune (Diklofenac Sodyum Safsızlık A)	Alan	% Fark
0.saat	114630	-
8.saat	114890	0,2
16.saat	115961	1,2
24.saat	113361	1,1
32.saat	113822	0,7
48.saat	113459	1,0

Sonuçta, standart ve numune çözeltisinin 10°C’de analizlendiği 48 saat boyunca stabil olduğu bulunmuştur.

4.6. Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

4.6.1. Formülasyon Deneme Çalışmaları Bulguları

Formülasyon üzerinde yapılan deneme çalışmaları ve bunlara ait sonuçlar Tablo 4-69 ve Tablo 4-70’da özetlenmiştir

Tablo 4-69 - Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyon denemeleri ve sonuçları (1/2)

Bileşim	DT1202D001	DT1202D002	DT1202D003	DT1202D004
Diklofenak	0,580	0,580	0,580	0,580
Dietilamonyum				
Tiyokolşikozit	0,125	0,125	0,125	0,125
Karbopol 974 P	0,475	0,475	0,475	0,475
İzopropil Alkol	8,000	8,000	8,000	8,000
Propilen Glikol	4,500	4,500	4,500	4,500
Vazelin Likit	2,000	2,000	2,000	2,000
Makrogol Setostearil Eter	1,250	1,450	1,550	1,750
Setiol LC	2,000	2,000	2,000	2,000
Trietanolamin	0,740	0,740	0,740	0,740
Mentol (Esans)	0,125	0,125	0,125	0,125
Lavanta (Esans)	0,375	0,375	0,375	0,375
Saf Su	ym	ym	ym	ym
TOPLAM (gr)	50,000	50,000	50,000	50,000

Bileşim	DT1202D001	DT1202D002	DT1202D003	DT1202D004
Fiziksel Analizler				
Görünüm	Akışkanlığı istenilen düzeyde değil	Akışkanlığı istenilen düzeyde değil	Akışkanlığı istenilen düzeyde değil	Akışkanlığı istenilen düzeyde değil
pH	6,99	7,02	6,89	7,05
Viskozite	6518 cps	7522 cps	7745 cps	8101 cps
Bulgular	Makrogol Setostearil Eter'in viskozite ve akışkanlığa önemli etkisi olmamıştır	Görünümü uygun değildir	Görünümü uygun değildir	Görünümü uygun değildir Karbomer polimeri üzerinden çalışmalara devam edilmesine karar verilmiştir

Tablo 4-70 - Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyon denemeleri ve sonuçları (2/2)

Bileşim	DT1310D005	DT1310D006	DT1310D010	DT1310D011
Diklofenak	0,580	0,580	0,580	0,580
Dietilamonyum				
Tiyokolşikozit ²	0,125	0,125	0,125	0,125
Karbopol 974 P	0,475	0,475	0,600	0,600
İzopropil Alkol	8,000	8,000	8,000	10,000
Propilen Glikol	4,500	4,500	4,500	4,500
Vazelin Likit	2,000	2,000	2,000	2,000
Makrogol Setostearil Eter	1,750	1,750	1,750	1,750
Setiol LC	2,000	2,000	2,000	2,000
Trietanolamin	0,740	0,740	0,740	0,740
Mentol (Esans)	0,125	0,125	0,125	0,125
Lavanta (Esans)	0,375	0,375	0,375	0,375
Saf Su	ym	ym	ym	ym
TOPLAM (gr)	50,000	50,000	50,000	50,000
Fiziksel Analizler				
Görünüm	Akışkanlığı istenilen düzeyde değil	Uygun	Uygun	Akışkanlığı istenilen düzeyde değil
pH	6,58	7,23	6,12	7,25
Viskozite	6500 cps	11153 cps	16145 cps	8487 cps
Bulgular	Karbopol 974 P'nin şişirilmesi basamağında sıcaklık uygulanmış, sonrasında Tietanolamin %20'lik çözeltisi ile pH ayarlaması yapılarak üretime devam edilmiştir	-D05 deneme formülünden farklı olarak Tiyokolşikozit etken maddesi suda çözünerek ilave edilmiştir	DT1310D006 serili deneme üzerinden Karbopol miktarı %0,95'ten %1,22'e çıkarılmıştır	DT1310D006 serili deneme üzerinden İzopropil Alkol oranı %16'dan %20'ye çıkarılmış ve aynı yöntem ile üretimi yapılmıştır

Bu formülasyon çalışmalarından DT1310D010 serisi prototip formülasyon olarak seçilmiştir. Yapılan denemelerden DT1310D010 seri numaralı denemenin 25°C ve 40 °C’de 3 aylık stabilitesi izlenmiştir, Stabilité süresince yapılan analizlerde elde edilen veriler de aşağıda verilmiştir (Tablo 4-71).

Tablo 4-71 - Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel’e ait DT1310D010 serisinin kimyasal stabilite analiz sonuçları

Safsızlık	Başlangıç	25°C ±2°C		40°C ±2°C	
		%60 RH ± %5	%60 RH ± %5	%75 RH ± %5	%75 RH ± %5
		1.5Ay	3. Ay	1.5 Ay	3. Ay
<u>Tiyokolşikozit</u>					
Kolşikozit	%0,5	<RS	<RS	<RS	<RS
Kolşisin	%0,5	<RS	<RS	<RS	<RS
Her Bir Bilinmeyen Safsızlık	%0,5	0,107	0,057	0,103	0,099
Toplam Bilinmeyen Safsızlık	%2,0	0,107	0,057	0,103	0,110
<u>Diklofenak Dietilamonyum</u>					
Diklofenak Safsızlık A	%0,5	<RS	<RS	<RS	<RS
Her Bir Bilinmeyen Safsızlık	%0,2	0,107	0,057	0,103	0,101
Toplam Bilinmeyen Safsızlık	%0,5	0,107	0,057	0,103	0,110

Sonuç olarak, yapılan denemelerin fiziksel ve kimyasal sonuçlarına dayanarak DT1310D10 seri numaralı denemenin formülü prototip formül olarak kabul edilmiştir.

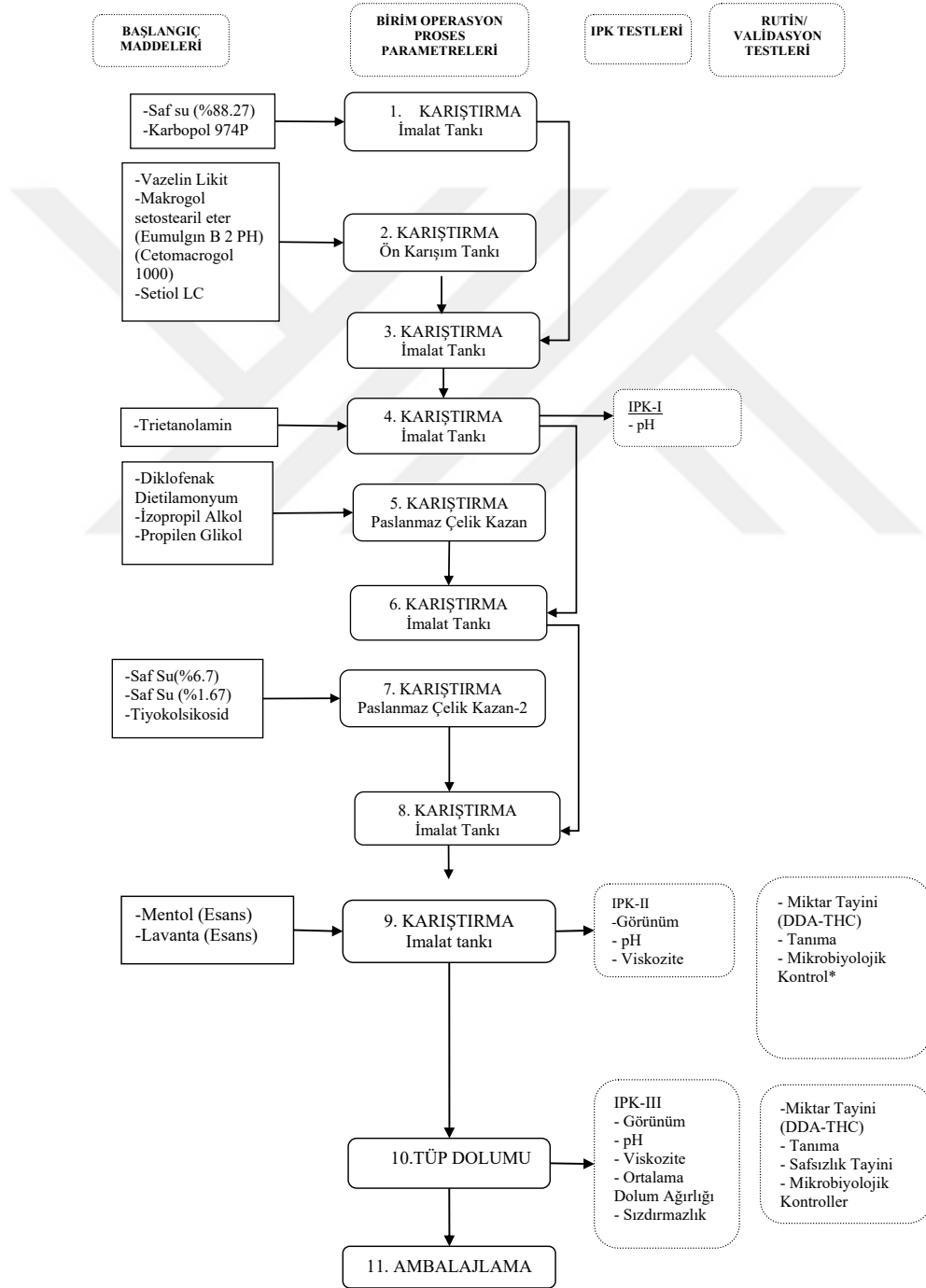
4.6.2. Optimize Edilmiş Formülasyon

Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Formüllerinde bileşimine Tablo 4-72’de verilmiştir.

Tablo 4-72:- Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel’e ait nihai formülasyon

Hammadde	Birim Formül (g)	Fonksiyonu
Diklofenak Dietilamonyum	0,580	Etken Madde
Tiyokolşikozit	0,125	Etken Madde
Karbopol 974P	0,600	Jelleştirici ajan
İzopropil Alkol	8,000	Çözücü
Propilen Glikol	4,500	Ko-Solvan, koruyucu, penetrasyon artırıcı
Vazelin Likit	2,000	Yağ fazı bileşeni, emoliyan
Makrogol setostearil eter (Eumulgin B 2 PH) (Cetomacrogol 1000)	1,750	Emülsifiye edici ajan
Setiol LC	2,000	Yağ fazı
Trietanolamin	0,950	pH ayarlayıcı
Mentol (Esans)	0,125	Koku Verici
Lavanta (Esans)	0,375	Koku verici
Saf Su	28,995	Çözücü
TOPLAM	50,000	-

Trietanolamin kullanımı ile Karbopol nötralizasyonu yapılarak pH alkaliye çekilmektedir. Böylece, viskozite değeri hedeflenen limite göre ayarlanabilmektedir. Prototip formül seçilen DT1310D010 serisine göre yapılan ve uygun sonuçlar elde edilen pilot serilerine (DT424001 ve DT424002) göre serisindeki Trietanolamin miktarının 0,74 mg yerine 0,90 - 0,97 mg aralığında olması gerektiğine karar verilmiştir.



Şekil 4-12: Proses validasyonu akış şeması

DT1310D10 seri numaralı prototip formülasyon üzerinden 2 seri (DT424001 ve DT424001), 3000 Tüp (150 kg) lık şarj boyu ile pilot üretim ve proses validasyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 4-12).

Referans ürün olan Voltaren Emulgel® ve MUSCORİL® % 0,25 Merhem ile Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel ürünlerinin farmasötik kalite kıyaslaması Tablo 4-73'de verilmiştir.

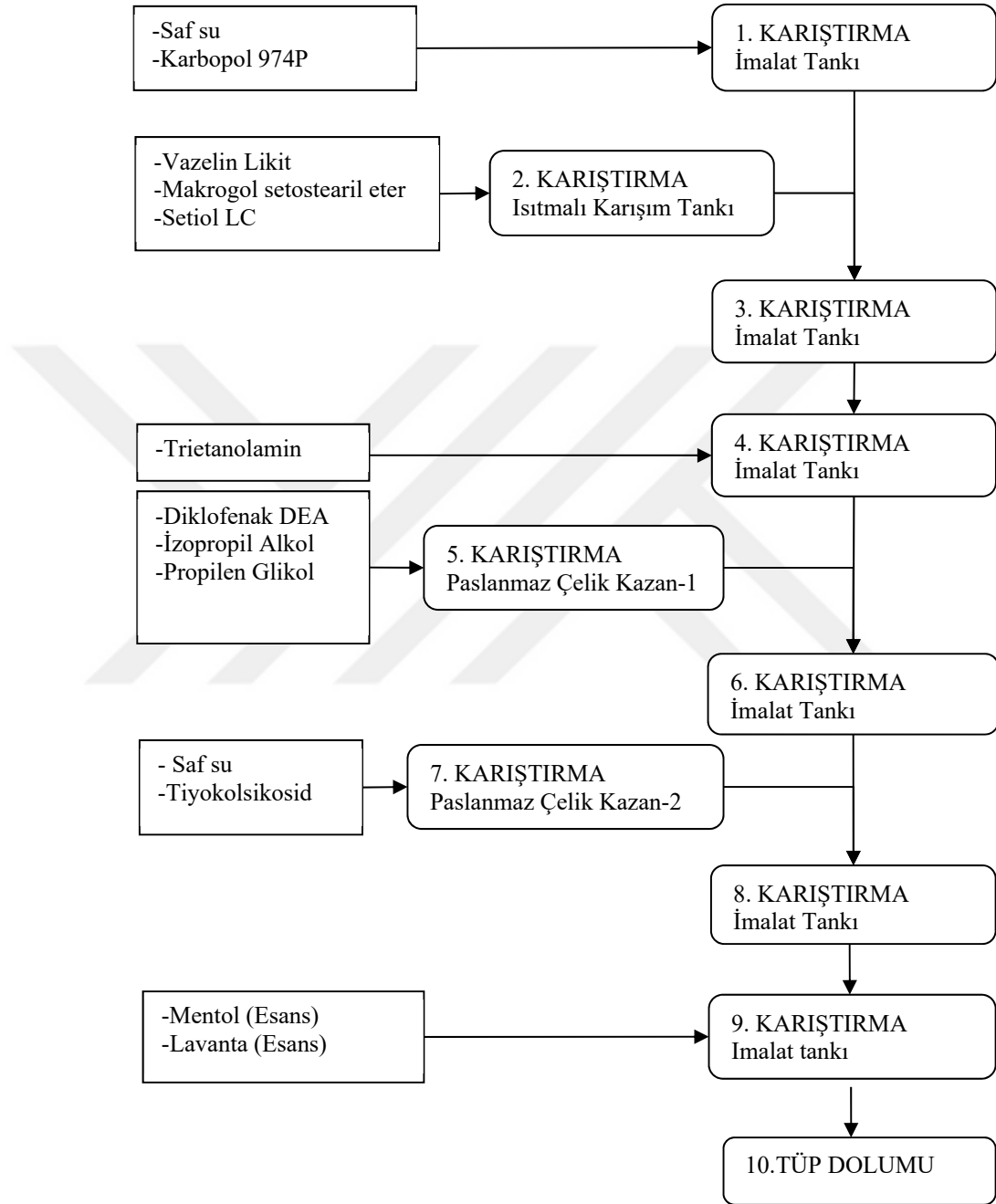
Tablo 4-73: Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel (Seri no: DT424001 ve DT424002) ile Voltaren Emulgel (Seri no:152053) ve Muscoril Merhem %0.25 (Seri no: 001012)'in fiziksel ve kimyasal özelliklerinin kıyaslanması

Seri No:	Voltaren Emulgel®, (Novartis)	Muscoril® %0,25 Merhem (Sanofi)	Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel	
SKT	W0020 10/2014	1M005 12/2015	DT424001 09/2016	DT424001 09/2016
TESTLER				
Görünüm	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
pH	7,30	4,6	7,10	7,20
Viskozite (cps)	9338	30244	10818	9132
Ortalama Ağırlık	100 g	30g	51,1g	50,4g
Mikrobiyal Koruyucu Tayini*	U.Y.	MPHB:%0,153 PPHB :%0,051	U.Y.	U.Y.
Diklofenak Dietilamonyum Miktar tayini	%98,5	U.Y.	%97,7	%100,4
Tiyokolşikozit Miktar Tayini	U,Y,	%102,0	%102,6	%100,6
Diklofenak Dietilamonyum Safsızlık Tayini				
Diklofenak Safsızlık A	<R.S.	-	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen her bir safsızlık	%0,23		<R.S.	<R.S.
Toplam Safsızlık	%0,23		< R.S.	< R.S.
Tiyokolşikozit Safsızlık Tayini				
Kolşikozit		%0,04	%0,45	%0,43
Kolşisin	-	T.E.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen her bir safsızlık		%0,01	<R.S.	<R.S.
Toplam Safsızlık		%0,05	%0,57	%0,54

* 30 g tüpte Propil parahidroksibenzoat (PPHB) 7,5 mg, Metil parahidroksibenzoat (MPHB) 42 mg içermektedir.

4.7. Pilot Üretim Proses Validasyonuna Ait Bulgular

Formülasyon geliştirme çalışmaları sonrasında saptanan üretim metoduna ait akış şeması Şekil 4-13’de verilmiştir.



Şekil 4-13 - Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel’e ait nihai formülasyon üretim akış şeması

Tablo 4-74: Diklofenak Dietilamonyum %1,16/ Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel üretimi için proses parametreleri

Proses Basamağı	Proses Parametre Değerleri	DT424001	DT424002
Operasyon-1 (Karıştırma)	Karıştırma Hızı	10-70 rpm	70 rpm
	Karıştırma Süresi	Minimum 60 dk	150 dk
	Homojenizatör	10-1400 rpm	250 rpm
	Homojenizasyon Süresi	Bilgi Amaçlıdır	100 dk
	Dissolver Durumu	Açık	Açık
	Sıcaklık	Bilgi amaçlıdır.	30,4 °C
Operasyon-2 (Karıştırma)	Karıştırma Hızı	10-70 rpm	70 rpm
	Karıştırma Süresi	Min 20 dk	40 dk
	Homojenizatör	10-1400 rpm	Kapalı
	Homojenizasyon Süresi	-	Kapalı
	Dissolver Durumu	Açık	Kapalı
	Sıcaklık	50-55 °C	50,2°C
Operasyon -9 (Karıştırma)	Karıştırma Hızı	10-70 rpm	70 rpm
	Karıştırma Süresi	Min 60 dk	90 dk
	Homojenizatör	10 - 1400 rpm	250 rpm
	Homojenizasyon Süresi	Min 10 dk	10 dk
	Dissolver Durumu	Açık	Kapalı
	Sıcaklık	Bilgi Amaçlıdır	35,1 °C

4.8. Pilot Üretim Serileri İn-Proses ve Bitmiş Ürün Analizlerine Ait Bulgular

Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel Proses Validasyonu Test Sonuçları aşağıdaki Tablo 4-75Tablo 4-93’de verilmiştir.

Tablo 4-75: Operasyon-4 pH sonuçları

Test	pH
Spesifikasyon	7,2 ± 0,5
Analiz sonuçları	
Numuneler	Seri No: DT424001 Seri No: DT424002
pH	7,2 7,2

Tablo 4-76: Operasyon 9: karıştırma görünüm sonuçları

Test	Görünüm
Spesifikasyon	Açık sarı, homojen emüljel
Analiz sonuçları	
Numuneler	Seri No: DT424001 Seri No: DT424002
Üst	Uygun Uygun
Orta	Uygun Uygun
Alt	Uygun Uygun
Sonuç	Uygun Uygun

Tablo 4-77: Operasyon 9: pH sonuçları

Test	pH*
Spesifikasyon	7,2 ± 0,5
Analiz sonuçları	
Numuneler	Seri No: DT424001 Seri No: DT424002
pH	7,0 7,2

*3 nokta (Alt-Orta-Üst) karıştırılarak bakılır.

Tablo 4-78: Operasyon-9 viskozite sonuçları

Test	Viskozite*
Spesifikasyon	12.000 cps ± %25
Analiz sonuçları	
Numuneler	Seri No: DT424001 Seri No: DT424002
Viskozite	10794 cps 9134 cps

Tablo 4-79: Operasyon-9 Diklofenak (Dietilamonyum) miktar tayini sonuçları

Test	Diklofenak Miktar Tayini	
Spesifikasyon	%95,0-%105,0	
Numuneler	Analiz sonuçları	
	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Üst	%95,6	%102,7
Orta	%97,4	%101,7
Alt	%98,2	%101,7
Ortalama	%97,1	%102,0

Tablo 4-80: Operasyon-9 Tiyokolşikozit miktar tayini sonuçları

Test	Tiyokolşikozit Miktar Tayini	
Spesifikasyon	%95,0-%105,0	
Numuneler	Analiz sonuçları	
	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Üst	%99,7	%100,4
Orta	%101,4	%99,4
Alt	%101,8	%99,4
Ortalama	%101,0	%99,7

Tablo 4-81: Operasyon-9 tanıma sonuçları

Test	Tanıma (HPLC) *	
Spesifikasyon	Standart ve test çözeltisi enjeksiyonlarından elde edilen Diklofenak ve Tiyokolşikozit piklerinin alıkonma zamanları aynı olmalıdır.	
Numuneler	Analiz sonuçları	
	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Standart Alıkonma Zamanı	Uygun	Uygun
Test Alıkonma Zamanı	Uygun	Uygun
Sonuç	Uygun	Uygun

Tablo 4-82: Operasyon-9 mikrobiyolojik kontroller sonuçları

Test	Mikrobiyolojik Kontroller*	
Spesifikasyon	Toplam Aerobik Bakteri Sayısı Toplam Maya ve Küf Sayısı <i>P.aeruginosa</i> <i>S.aureus</i>	Maksimum 10 ² CFU/g Maksimum 10 CFU/g Bulunmamalı/g Bulunmamalı/g
Numuneler	Analiz sonuçları	
	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Toplam aerobik bakteri sayı	0 CFU/g	5 CFU/g
Toplam maya ve küf sayısı	0 CFU/g	0 CFU/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bulunmadı	Bulunmadı
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bulunmadı	Bulunmadı

Tablo 4-83: Operasyon -10 görünüm sonuçları

Test	Görünüm	
Spesifikasyon	Açık sarı, homojen emüljel	
Numuneler	Analiz sonuçları	
	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Üst	Uygun	Uygun
Orta	Uygun	Uygun
Alt	Uygun	Uygun
Sonuç	Uygun	Uygun

Tablo 4-84: Operasyon -10 pH sonuçları

Test	pH	
Spesifikasyon	7,2 ± 0,5	
Numuneler	Analiz sonuçları	
	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Sonuç	7,1	7,2

Tablo 4-85: Operasyon -10 viskozite sonuçları

Test	Viskozite	
Spesifikasyon	12.000 cPs ± %25	
Numuneler	Analiz sonuçları	
	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Sonuç	10818 cPs	9132 cPs

Tablo 4-86: Operasyon -10 diklofenak miktar tayini sonuçları

Test	Diklofenak Miktar Tayini	
Spesifikasyon	%95,0-%105,0	
Numuneler	Analiz sonuçları	
	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Baş	%98,1	%100,6
Orta	%97,9	%100,4
Son	%97,1	%100,3
Ortalama	%97,7	%100,4

Tablo 4-87: Operasyon -10 Tiyokolşikozit miktar tayini sonuçları

Test	Tiyokolşikozit Miktar Tayini	
Spesifikasyon	%95,0-%105,0	
Numuneler	Analiz sonuçları	
	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Baş	%102,9	%100,8
Orta	%103,0	%100,5
Son	%101,9	%100,5
Ortalama	%102,6	%100,6

Tablo 4-88: Operasyon -10 ortalama dolum ağırlığı sonuçları

Test	Ortalama Dolum Ağırlığı	
Spesifikasyon	50 g ± % 10	
Numuneler	Analiz sonuçları	
	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Ortalama	51,1 g	50,4 g

Tablo 4-89: Operasyon -10 sızdırmazlık sonuçları

Test	Sızdırmazlık	
Spesifikasyon	Hiçbir tüpte sızdırma olmamalıdır	
Numuneler	Analiz sonuçları	
	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Baş	Uygun	Uygun
Orta	Uygun	Uygun
Son	Uygun	Uygun
Sonuç	Uygun	Uygun

Tablo 4-90: Operasyon -10 tanıma (HPLC) sonuçları

Test	Tanıma (HPLC)	
Spesifikasyon	Standart ve test çözeltisi enjeksiyonlarından elde edilen Diklofenak ve Tiyokolşikozit piklerinin alıkonma zamanları aynı olmalıdır.	
Numuneler	Analiz sonuçları	
	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Standart Alıkonma Zamanı	Uygun	Uygun
Test Alıkonma Zamanı	Uygun	Uygun
Sonuç	Uygun	Uygun

Tablo 4-91: Operasyon -10 Diklofenak safsızlık tayini sonuçları

Test	Safsızlık (HPLC) *	
Spesifikasyon	Diklofenak Dietilamonyum,	
	Diklofenak Safsızlık A:	Maksimum %0,5
	Bilinmeyen Her Bir Safsızlık:	Maksimum %0,2
	Toplam Safsızlık:	Maksimum %2,0
Numuneler	Raporlama Seviyesi:	
	Maksimum %0,1	
	Analiz sonuçları	
	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Diklofenak Safsızlık A	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen En Büyük Safsızlık	<R.S.	<R.S.
Toplam Safsızlık	<R.S.	<R.S.

Tablo 4-92: Operasyon -10 TiyoKolşikozit safsızlık tayini sonuçları

Test	Safsızlık (HPLC) *	
	Tiyokolşikozit için;	
Spesifikasyon	Kolşikozit	Maksimum %0,5
	Kolşisin	Maksimum %0,5
	Bilinmeyen her bir Safsızlık	Maksimum %0,5
	Toplam Safsızlık	Maksimum %2,0
	Raporlama Seviyesi	Maksimum %0,1
Analiz sonuçları		
Numuneler	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Kolşikozit	%0,45	%0,43
Kolşisin	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen her bir Safsızlık	<R.S.	<R.S.
Toplam safsızlık	%0,57	%0,54

Tablo 4-93: Operasyon -10 mikrobiyolojik kontroller sonuçları

Test	Mikrobiyolojik Kontroller	
Spesifikasyon	Toplam Aerobik Bakteri Sayısı	Maksimum 102 CFU/g
	Toplam Maya ve Küf Sayısı	Maksimum 10 CFU/g
	P.aeruginosa	Bulunmamalı/g
	S.aureus	Bulunmamalı/g
Analiz sonuçları		
	Seri No: DT424001	Seri No: DT424002
Toplam aerobik bakteri sayı	0 CFU/g	0 CFU/g
Toplam maya ve küf sayısı	0 CFU/g	0 CFU/g
Staphylococcus aureus	Bulunmadı	Bulunmadı
Pseudomonas aeruginosa	Bulunmadı	Bulunmadı

4.9. Pilot Üretim Stabilité Çalışmalarına Ait Bulguları

DT424001 ve DT42400 serili pilot üretimlerin stabilite çalışmalarına ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir (Tablo 4-94Tablo 4-101),

Tablo 4-94: DT424001 serisinin pilot üretim “hızlandırılmış” stabilite sonuçları

Etken Madde Adı: Diklofenak Dietilamonyum (AARTİ) Tiyokolşikozit (ALCHEM) AMBALAJ TÜRÜ: Aluminyum Tüp		Seri No: DT424001 BAŞLANGIÇ TARİHİ: Ekim/2014 STABİLİTE KOŞULLARI: Hızlandırılmış (40°±2 C/ 75% RH ±5)		
Testler	Spesifikasyonlar	Başlangıç	3.Ay	6.Ay
Görünüş	Açık sarı, homojen emülsel	Uygun	Uygun	Uygun
Viskozite (cps)	Bilgi Amaçlıdır	10818	10652	11382
pH	Bilgi Amaçlıdır	7,1	7,0	6,9
Miktar Tayini (Tiyokolşikozit)	%90-%110	%102,6	%99,1	%98,6
Miktar Tayini (Diklofenak)	%90-%110	%97,7	%96,9	%96,7
Ortalama Dolum Ağırlığı	50,0 g ± % 10	51,1	50,5	50,6
Safsızlık Tayini(Tiyokolşikozit)				
Kolşikozit	Maksimum: %0,5	%0,45	%0,46	%0,41
Kolşisin	Maksimum: %0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: %0,5	<R.S.	%0,41	%0,47
Toplam Safsızlık	Maksimum: % 2,5	%0,57	%1,07	%0,55
Safsızlık Tayini (Diklofenak)				
Diklofenak Safsızlık A	Maksimum: % 0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: % 0,2	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Toplam Safsızlık	Maksimum: % 2,5	<R.S.	%0,13	%0,14
Mikrobiyolojik Kontroller				
Toplam Aerobik Bakteri Sayı	Maks, 102 CFU/g	0 CFU/g	5 CFU/g	0 CFU/g
Toplam Maya ve Küf Sayısı	Maks, 10 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
P.aeruginosa	Bulunmamalı /g	Bulunmadı	Bulunmadı	Bulunmadı
S.aureus	Bulunmamalı /g	Bulunmadı	Bulunmadı	Bulunmadı

Tablo 4-95: DT424001 serisinin pilot üretim “ara koşul” stabilite sonuçları

Etken Madde Adı: Diklofenak Dietilamonyum (AARTİ) Tiyokolşikozit (ALCHEM) AMBALAJ TÜRÜ: Aluminyum Tüp		Seri No: DT424001 BAŞLANGIÇ TARİHİ: Ekim/2014 STABİLİTE KOŞULLARI: Ara Koşul (30°±2 C/ 65% RH ±5)				
Testler	Spesifikasyonlar	Başlangıç	3.Ay	6.Ay	9.Ay	12.Ay
Görünüş	Açık sarı, homojen emülsel	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Viskozite (cps)	Bilgi Amaçlıdır	10818	11223	11773	11441	11132
pH	Bilgi Amaçlıdır	7,1	6,9	6,9	6,9	6,9
Miktar Tayini (Tiyokolşikozit)	%90-%110	%102,6	%98,7	%99,1	%101,9	%101,4
Miktar Tayini (Diklofenak)	%90-%110	%97,7	%97,4	%97,1	%96,2	%97,3
Ortalama Dolum Ağırlığı	50,0 g ± % 10	51,1	50,5	50,1	50,9	50,2
Safsızlık Tayini(Tiyokolşikozit)						
Kolşikozit	Maksimum: %0,5	%0,45	%0,39	%0,45	%0,47	%0,47
Kolşisin	Maksimum: %0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: %0,5	<R.S.	<R.S.	<0,21	<0,21	<0,31
Toplam Safsızlık	Maksimum: %2,5	%0,57	%0,54	%0,65	%0,72	%1,25
Safsızlık Tayini (Diklofenak)						
Diklofenak Safsızlık A	Maksimum: %0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: %0,2	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Toplam Safsızlık	Maksimum: %2,5	<R.S.	<R.S.	%0,14	%0,13	%0,12
Mikrobiyolojik Kontroller						
Toplam Aerobik Bakteri Sayı	Maks, 102 CFU/g	0 CFU/g		0 CFU/g		0 CFU/g
Toplam Maya ve Küf Sayısı	Maks, 10 CFU/g	0 CFU/g	-	0 CFU/g		0 CFU/g
P.aeruginosa	Bulunmamalı /g	Bulunmadı		Bulunmadı		Bulunmadı
S.aureus	Bulunmamalı /g	Bulunmadı		Bulunmadı		Bulunmadı

Tablo 4-96: DT424001 serisinin pilot üretim “uzun süreli” stabilite sonuçları (1/2)

Etken Madde Adı: Diklofenak Dietilamonyum (AARTİ) Tiyokolşikozit (ALCHEM) AMBALAJ TÜRÜ: Aluminyum Tüp		Seri No: DT424001 BAŞLANGIÇ TARİHİ: Ekim/2014 STABİLİTE KOŞULLARI: Uzun Süreli (25°±2 C/ 60% RH ±5)				
Testler	Spesifikasyonlar	Başlangıç	3.Ay	6.Ay	9.Ay	12.Ay
Görünüş	Açık sarı, homojen emüljel	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Viskozite (cps)	Bilgi Amaçlıdır	10818	10668	11124	11746	11602
pH	Bilgi Amaçlıdır	7,1	7,0	7,0	7,1	6,8
Miktar Tayini (Tiyokolşikozit)	%90-%110	%102,6	%98,4	%101,8	%97,8	%102,0
Miktar Tayini (Diklofenak)	%90-%110	%97,7	%99,8	%100,5	%98,0	%98,8
Ortalama Dolum Ağırlığı	50,0 g ± % 10	51,1	50,2	49,9	49,9	50,4
Safsızlık Tayini(Tiyokolşikozit)						
Kolşikozit		%0,45	%0,47	%0,44	%0,42	%0,48
Kolşisin	Maksimum: %0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: %0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Toplam Safsızlık	Maksimum: % 2,5	%0,57	%0,60	%0,59	%0,61	%1,05
Safsızlık Tayini (Diklofenak)						
Diklofenak Safsızlık A	Maksimum: % 0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: % 0,2	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Toplam Safsızlık	Maksimum: % 2,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Mikrobiyolojik Kontroller						
Toplam Aerobik Bakteri Sayı	Maks, 102 CFU/g	0 CFU/g		0 CFU/g		0 CFU/g
Toplam Maya ve Küf Sayısı	Maks, 10 CFU/g	0 CFU/g		0 CFU/g		0 CFU/g
P.aeruginosa	Bulunmamalı /g	Bulunmadı	-	Bulunmadı	-	Bulunmadı
S.aureus	Bulunmamalı /g	Bulunmadı		Bulunmadı		Bulunmadı

Tablo 4-97: DT424001 serisinin pilot üretim “uzun süreli” stabilite sonuçları (2/2)

Etken Madde Adı: Diklofenak Dietilamonyum (AARTİ) Tiyokolşikozit (ALCHEM) AMBALAJ TÜRÜ: Aluminyum Tüp		Seri No: DT424001 BAŞLANGIÇ TARİHİ: Ekim/2014 STABİLİTE KOŞULLARI: Uzun Süreli (25°±2 C/ 60% RH ±5)		
Testler	Spesifikasyonlar	Başlangıç	18.Ay	24.Ay
Görünüş	Açık sarı, homojen emüljel	Uygun	Uygun	Uygun
Viskozite (cps)	Bilgi Amaçlıdır	10818	10943	12038
pH	Bilgi Amaçlıdır	7,1	7,0	6,9
Miktar Tayini (Tiyokolşikozit)	%90-%110	%102,6	%101,5	%99,1
Miktar Tayini (Diklofenak)	%90-%110	%97,7	%98,5	%96,5
Ortalama Dolum Ağırlığı	50,0 g ± % 10	51,1	50,4	50,8
Safsızlık Tayini(Tiyokolşikozit)				
Kolşikozit	Maksimum: %0,5	%0,45	%0,50	%0,47
Kolşisin	Maksimum: %0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: %0,5	<R.S.	<0,24	<0,32
Toplam Safsızlık	Maksimum: % 2,5	%0,57	%1,04	%1,01
Safsızlık Tayini (Diklofenak)				
Diklofenak Safsızlık A	Maksimum: % 0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: % 0,2	<R.S.	<R.S.	%0,07
Toplam Safsızlık	Maksimum: % 2,5	<R.S.	<R.S.	%0,17
Mikrobiyolojik Kontroller				
Toplam Aerobik Bakteri Sayı	Maks, 102 CFU/g	0 CFU/g		0 CFU/g
Toplam Maya ve Küf Sayısı	Maks, 10 CFU/g	0 CFU/g		0 CFU/g
P.aeruginosa	Bulunmamalı /g	Bulunmadı		Bulunmadı
S.aureus	Bulunmamalı /g	Bulunmadı		Bulunmadı

Tablo 4-98: DT424002 serisinin pilot üretim “hızlandırılmış” stabilite sonuçları

Etken Madde Adı: Diklofenak Dietilamonyum (AARTİ) Tiyokolşikozit (ALCHEM) AMBALAJ TÜRÜ: Aluminyum Tüp		Seri No: DT424002 BAŞLANGIÇ TARİHİ: Ekim/2014 STABİLİTE KOŞULLARI: Hızlandırılmış (40°±2 C/ 75% RH ±5)		
Testler	Spesifikasyonlar	Başlangıç	3.Ay	6.Ay
Görünüş	Açık sarı, homojen emüljel	Uygun	Uygun	Uygun
Viskozite (cps)	Bilgi Amaçlıdır	9132	10161	10673
pH	Bilgi Amaçlıdır	7,2	7,0	7,0
Miktar Tayini (Tiyokolşikozit)	%90-%110	%100,6	%99,9	%102,1
Miktar Tayini (Diklofenak)	%90-%110	%100,4	%98,3	%99,7
Ortalama Dolum Ağırlığı	50,0 g ± % 10	50,4	50,8	50,0
Safsızlık Tayini(Tiyokolşikozit)				
Kolşikozit	Maksimum: %0,5	%0,43	%0,46	%0,39
Kolşisin	Maksimum: %0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: %0,5	<R.S.	%0,34	%0,31
Toplam Safsızlık	Maksimum: % 2,5	%0,54	%0,34	%0,50
Safsızlık Tayini (Diklofenak)				
Diklofenak Safsızlık A	Maksimum: % 0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: % 0,2	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Toplam Safsızlık	Maksimum: % 2,5	<R.S.	%0,11	%0,11
Mikrobiyolojik Kontroller				
Toplam Aerobik Bakteri Sayı	Maks, 102 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
Toplam Maya ve Küf Sayısı	Maks, 10 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
P.aeruginosa	Bulunmamalı /g	Bulunmadı	Bulunmadı	Bulunmadı
S.aureus	Bulunmamalı /g	Bulunmadı	Bulunmadı	Bulunmadı

Tablo 4-99: DT424002 serisinin pilot üretim “ara koşul” stabilite sonuçları

Etken Madde Adı: Diklofenak Dietilamonyum (AARTİ) Tiyokolşikozit (ALCHEM) AMBALAJ TÜRÜ: Aluminyum Tüp		Seri No: DT424002 BAŞLANGIÇ TARİHİ: Ekim/2014 STABİLİTE KOŞULLARI: Ara Koşul (30°±2 C/ 65% RH ±5)				
Testler	Spesifikasyonlar	Başlangıç	3.Ay	6.Ay	9.Ay	12.Ay
Görünüş	Açık sarı, homojen emüljel	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Viskozite (cps)	Bilgi Amaçlıdır	9132	10430	11211	11063	10072
pH	Bilgi Amaçlıdır	7,2	6,9	6,9	6,9	6,9
Miktar Tayini (Tiyokolşikozit)	%90-%110	%100,6	%98,7	%99,1	%101,9	%101,4
Miktar Tayini (Diklofenak)	%90-%110	%100,4	%98,1	%98,8	%98,1	%101,1
Ortalama Dolum Ağırlığı	50,0 g ± % 10	50,4	49,9	49,9	50,1	50,9
Safsızlık Tayini(Tiyokolşikozit)						
Kolşikozit	Maksimum: %0,5	%0,43	%0,45	%0,45	%0,40	%0,39
Kolşisin	Maksimum: %0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: %0,5	<R.S.	<R.S.	<0,18	<0,18	<0,29
Toplam Safsızlık	Maksimum: %2,5	%0,54	%0,59	%0,75	%0,52	%1,01
Safsızlık Tayini (Diklofenak)						
Diklofenak Safsızlık A	Maksimum: %0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: %0,2	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Toplam Safsızlık	Maksimum: %2,5	<R.S.	<R.S.	%0,20	%0,39	%0,30
Mikrobiyolojik Kontroller						
Toplam Aerobik Bakteri Sayı	Maks, 102 CFU/g	0 CFU/g		0 CFU/g		0 CFU/g
Toplam Maya ve Küf Sayısı	Maks, 10 CFU/g	0 CFU/g	-	0 CFU/g		0 CFU/g
P.aeruginosa	Bulunmamalı /g	Bulunmadı		Bulunmadı		Bulunmadı
S.aureus	Bulunmamalı /g	Bulunmadı		Bulunmadı		Bulunmadı

Tablo 4-100: DT424002 serisinin pilot üretim “uzun süreli” stabilite sonuçları (1/2)

Etken Madde Adı: Diklofenak Dietilamonyum (AARTİ) Tiyokolşikozit (ALCHEM) AMBALAJ TÜRÜ: Aluminyum Tüp		Seri No: DT424002 BAŞLANGIÇ TARİHİ: Ekim/2014 STABİLİTE KOŞULLARI: Uzun Süreli (25°±2 C/ 60% RH ±5)				
Testler	Spesifikasyonlar	Başlangıç	3.Ay	6.Ay	9.Ay	12.Ay
Görünüş	Açık sarı, homojen emüljel	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Viskozite (cps)	Bilgi Amaçlıdır	9132	10887	10988	11974	11674
pH	Bilgi Amaçlıdır	7,2	7,0	6,9	7,0	6,8
Miktar Tayini (Tiyokolşikozit)	%90-%110	%100,6	%98,7	%100,8	%99,8	%101,0
Miktar Tayini (Diklofenak)	%90-%110	%100,4	%100,2	%99,5	%98,5	%100,8
Ortalama Dolum Ağırlığı	50,0 g ± % 10	50,4	50,1	49,8	50,3	50,4
Safsızlık Tayini(Tiyokolşikozit)						
Kolşikozit		%0,43	%0,46	%0,48	%0,46	%0,45
Kolşisin	Maksimum: %0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: %0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Toplam Safsızlık	Maksimum: % 2,5	%0,54	%0,52	%0,56	%0,61	%0,78
Safsızlık Tayini (Diklofenak)						
Diklofenak Safsızlık A	Maksimum: % 0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: % 0,2	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Toplam Safsızlık	Maksimum: % 2,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Mikrobiyolojik Kontroller						
Toplam Aerobik Bakteri Sayı	Maks, 102 CFU/g	0 CFU/g		0 CFU/g		0 CFU/g
Toplam Maya ve Küf Sayısı	Maks, 10 CFU/g	0 CFU/g		0 CFU/g		0 CFU/g
P.aeruginosa	Bulunmamalı /g	Bulunmadı	-	Bulunmadı	-	Bulunmadı
S.aureus	Bulunmamalı /g	Bulunmadı		Bulunmadı		Bulunmadı

Tablo 4-101: DT424002 serisinin pilot üretim “uzun süreli” stabilite sonuçları (2/2)

Etken Madde Adı: Diklofenak Dietilamonyum (AARTİ) Tiyokolşikozit (ALCHEM) AMBALAJ TÜRÜ: Aluminyum Tüp		Seri No: DT424002 BAŞLANGIÇ TARİHİ: Ekim/2014 STABİLİTE KOŞULLARI: Uzun Süreli (25°±2 C/ 60% RH ±5)		
Testler	Spesifikasyonlar	Başlangıç	18.Ay	24.Ay
Görünüş	Açık sarı, homojen emüljel	Uygun	Uygun	Uygun
Viskozite (cps)	Bilgi Amaçlıdır	9132	11399	10965
pH	Bilgi Amaçlıdır	7,2	6,9	7,1
Miktar Tayini (Tiyokolşikozit)	%90-%110	%100,6	%99,8	%97,0
Miktar Tayini (Diklofenak)	%90-%110	%100,4	%99,7	%96,8
Ortalama Dolum Ağırlığı	50,0 g ± % 10	50,4	50,2	50,1
Safsızlık Tayini(Tiyokolşikozit)				
Kolşikozit	Maksimum: %0,5	%0,43	%0,50	%0,47
Kolşisin	Maksimum: %0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: %0,5	<R.S.	<0,26	<0,30
Toplam Safsızlık	Maksimum: % 2,5	%0,54	%1,01	%1,20
Safsızlık Tayini (Diklofenak)				
Diklofenak Safsızlık A	Maksimum: % 0,5	<R.S.	<R.S.	<R.S.
Bilinmeyen Her Bir Safsızlık	Maksimum: % 0,2	<R.S.	<R.S.	%0,05
Toplam Safsızlık	Maksimum: % 2,5	<R.S.	<R.S.	%0,20
Mikrobiyolojik Kontroller				
Toplam Aerobik Bakteri Sayı	Maks, 102 CFU/g	0 CFU/g		0 CFU/g
Toplam Maya ve Küf Sayısı	Maks, 10 CFU/g	0 CFU/g		0 CFU/g
P.aeruginosa	Bulunmamalı /g	Bulunmadı		Bulunmadı
S.aureus	Bulunmamalı /g	Bulunmadı		Bulunmadı

4.10. Etken Maddelerin *in vitro* İlaç Salım Çalışması Bulguları

Diklofenak (Dietilamonyum) ve Tiyokolşikozit etken maddelerinin dozaj formundan *in vitro* salım testlerine dair bulguları aşağıdaki Tablo 4-102 ve Tablo 4-103’de verilmiştir.

Tablo 4-102: Tiyokolşikozit’in dozaj formundan *in vitro* kümülatif salım miktarları

Numune	Tiyokolşikozit(µg/ml)					
	0.5 saat	1. saat	2. saat	3. saat	4. saat	6. saat
1 (Voltaren)	-	-	-	-	-	-
2 (Voltaren)	-	-	-	-	-	-
3 (Muscoril)	8,03	10,69	13,98	16,01	18,05	21,15
4 (Muscoril)	8,23	11,19	14,78	16,64	18,97	21,98
5 (Voltaren + Muscoril)	6,14	8,41	11,47	13,30	15,71	19,02
6 (Voltaren + Muscoril)	5,14	6,49	8,84	10,52	11,52	14,77
7 (DT424002)	10,60	14,63	20,74	26,14	31,20	40,63
8 (DT424002)	9,89	13,72	20,81	23,32	28,38	37,53

Tablo 4-103: Diklofenak’ın dozaj formundan *in vitro* kümülatif salım miktarları

Numune	Diklofenak (µg/ml)					
	0.5 saat	1. saat	2. saat	3. saat	4. saat	6. saat
1 (Voltaren)	34,69	52,93	74,44	84,38	100,71	122,29
2 (Voltaren)	34,53	44,56	68,76	82,65	97,57	118,54
3 (Muscoril)	-	-	-	-	-	-
4 (Muscoril)	-	-	-	-	-	-
5 (Voltaren + Muscoril)	12,69	17,71	24,51	28,39	33,99	41,70
6 (Voltaren + Muscoril)	10,01	13,07	18,38	22,36	24,86	32,37
7 (DT424002)	30,39	41,44	57,67	71,52	84,30	107,08
8 (DT424002)	28,37	35,06	57,93	64,31	77,30	98,83

Geliştirilen sabit doz kombine (Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel) ürün ile tekil ürünlerin (Voltaren ve Muscoril) ve birebir karıştırılmış kombine ürünlerin dozaj formundan birim alandan her bir etken madde için serbestleşen ilaç salım miktarı hesaplamaları ve Tablo 4-104 ve Tablo 4-105’de, grafikleri ise Şekil 4-14 ve Şekil 4-15’de verilmiştir

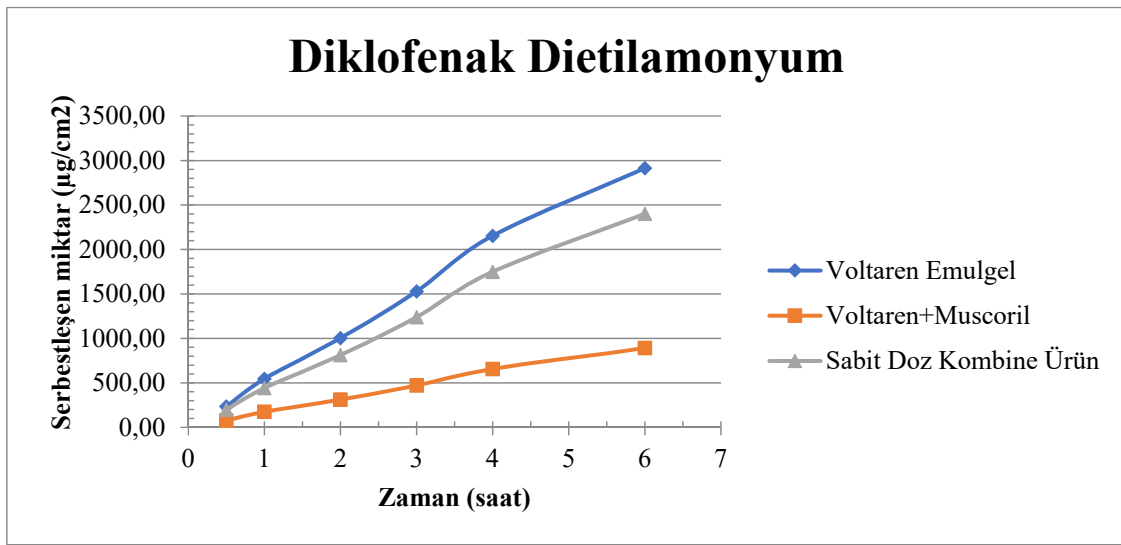
Tablo 4-104: *in vitro* ilaç salım çalışmasında serbestleşen Diklofenak (Dietilamonyum) miktarı (µg/cm²)

Zaman (saat)	Voltaren Emulgel	Voltaren + Muscoril Karışımı	Sabit Doz Kombine Ürün
0,5	234,64	76,95	199,19
1	545,56	174,88	441,93
2	1003,46	311,56	812,20
3	1529,22	471,49	1239,97
4	2154,17	656,64	1749,39

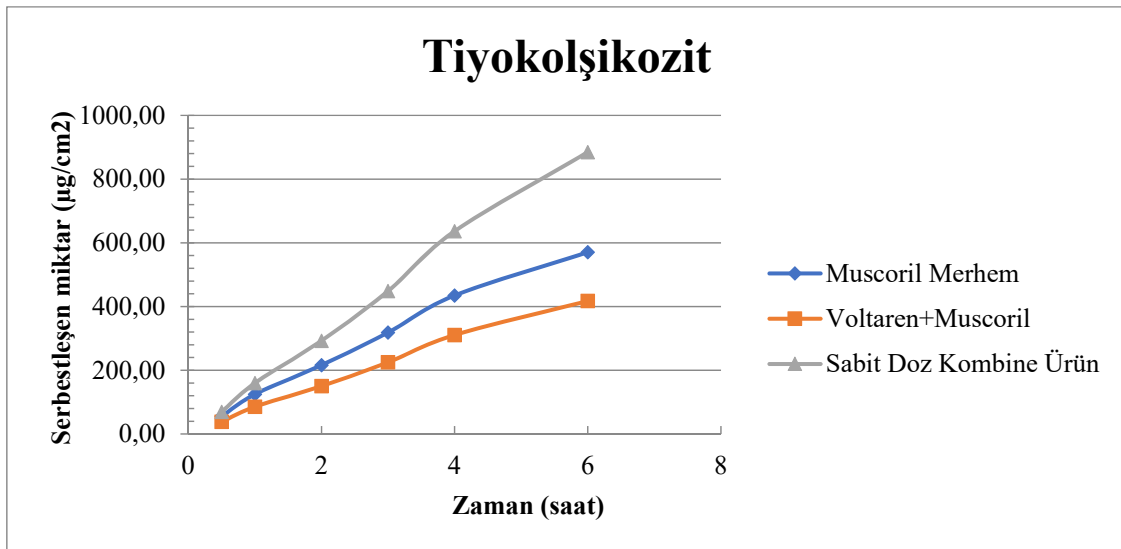
6	2914,54	891,12	2401,76
---	---------	--------	---------

Tablo 4-105: *in vitro* ilaç salım çalışmasında serbestleşen Tiyokolşikozit miktarı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

Zaman (saat)	Muscoril Merhem	Voltaren+Muscoril Karışımı	Sabit Doz Kombine Ürün
0,5	55,12	38,24	69,46
1	124,68	85,56	159,80
2	216,00	150,20	292,64
3	318,54	225,19	448,58
4	434,81	310,75	636,58
6	570,58	417,59	884,68



Şekil 4-14: Serbestleşen Diklofenak (Dietilamonyum) miktarı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) profilleri



Şekil 4-15: Serbestleşen Tiyokolşikozit miktarı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) profilleri

5. TARTIŞMA

Diklofenak etken maddesi; OA ve RA gibi kas ve iskelet sistemi hastalıkları tedavisinde analjezik ve antienflamatuvar etki amaçlı, Tiyokolşikozit etken maddesi ise ağrılı kas spazmlarında miyorelaksan ve analjezik etkisinden dolayı kullanılmaktadır (Sproviero ve ark 2018).

İlaçların oral ve parenteral kullanımı ile sistemik dolaşıma geçmesi etki mekanizmalarından dolayı bazı yan etkileri de beraberinde getirmektedir. NSAİ ilaçları, mide intoleransı gibi önemli yan etkiler oluştururken, kas gevşetici ilaçlar MSS üzerine etki ettiğinden genelde sedasyon, sersemlik, koordinasyon eksikliği gibi yan etkileri bulunmaktadır (Kumar ve ark 2014).

Kas ve iskelet sistemi hastalıklarının tedavisinde, NSAİ ilaçların sistemik yan etkilerini ortadan kaldıran ve lokal etki sağlayan topikal jel, krem ve merhem şeklinde farmasötik preparatları bulunmaktadır. Topikal uygulanan NSAİ ilaçların etkili olabilmesi için deriden penetre olması, hedef bölgeye ulaşması ve etkin konsantrasyon seviyesine ulaşması gerekmektedir (Moore ve ark 1998; Massey ve ark 2010).

Diklofenak ve onun dietilamonyum tuzu suda çok az çözünen, fakat nötral pH'larda çözünebilen lipofilik özellikte bir NSAİ bir ilaçtır. Bu özelliklerinde dolayı eklem sıvıları ve deri dahil hücre membranlarından penetrasyon kapasitesi bulunduğu bildirilmektedir. Bu yöndeki permeasyon özeliğinin yanı sıra güçlü PGE2 sentezi inhibisyonu ile Diklofenak molekülü topikal uygulandığında yüksek antienflamatuvar aktivite göstermektedir (Altman 2015). Topikal ve transdermal taşıyıcı sisteme sahip Diklofenak sodyum jel, Diklofenak Sodyum topikal solüsyon ve Diklofenak Epolamin içeren yama formları bulunmaktadır (Goh ve Lane 2014).

Tiyokolşikozit ise suda çözünen, kolşisinin yarı-sentetik türevidir (Martindale 2009 p 1898, Umkar 2011). Topikal ürünlerinde yalın olarak merhem formları, farklı NSAİ ilaçları ile kombine preparatları bulunmaktadır (Tablo 2-4). Tiyokolşikozit'in sedasyon göstermeden kas gevşetici etki gösterdiği bilinmektedir (Patat ve Klein 1991). Ravindra ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı çalışmada Tiyokolşikozit'in merhem, jel ve krem formülasyonu tasarlanmış ve her bir dozaj formun *in vitro* salım performansı ölçülmüş ve her bir formu farklı profil sergilediği görülmüştür. Mioten (Tiyokolşikozit) köpük adlı ürünün, Tiyokolşikozit solüsyon formuna karşı yapılan çalışmalarda, köpük

formunun daha hızlı salım profili sergilediği ve derinin derin tabakalarına geçiş yaptığı bulunmuştur (Aguzzi ve ark 2008). Mioten köpük formuna yapılan diğer bir çalışmada ise, Muscoril merhem referans üründen iki kat, kontrol formülasyonu olan Tiyokolşikozit jel formülasyonundan üç kat daha hızlı permeasyon gösterdiği bildirilmiştir (Bonina ve ark 2002).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yayımladığı rehberlerde sabit doz kombine ilaçlar (SDK) tek bir formülasyon içinde iki veya daha fazla ilacın bulunması olarak tanımlanmaktadır. Her bir ilaç bağımsız etkiye sahip olabilmekte ya da kombinasyonla sinerjik, aditif veya tamamlayıcı bir etki ortaya çıkartabilmektedir. Sabit doz kombine ilaç bileşenlerinin, farklı mekanizmalarla etki göstermeleri, farmakokinetik özelliklerinin çok farklılık göstermemesi ve supra-aditif toksik etki göstermemeleri önemlidir (Gautam ve Saha 2008).

Sabit doz kombinasyonu (SDK) ilaçların genel avantajları olarak; hastanın ilaç alımını kolaylaştırmak, kombinasyonla her etkin maddenin dozunun azaltılabilmesi, yan etkilerin azaltılabilmesi, aldığı farmasötik şekillerin sayısını azaltmak, hasta uyuncunun artırılması, hasta için daha düşük maliyetli olması ve ticari ürünlerin pazardaki yaşam ömürleri için iyi bir fırsat oluşturmaları olarak sıralanabilmektedir. Dezavantajları ise kombine ilacın gereksiz yere kullanılması, tekli ilaç ürünleriyle tedavi edilebilecek bir hastalıkta kombine ürün kullanılması, istenmeyen etki gelişme riskinin ve tedavinin maliyetini artırabilmesi ve tedavide dozaj esnekliğinin ortadan kalkması olarak sıralanmaktadır (EMA 2008).

Diklofenak tuzu ile Tiyokolşikozit moleküllerini içeren sabit doz kombine ve katı dozaj formunda formülasyona dair literatürde yer almaktadır (Denis 1996). Bu dozaj formundan farklı olarak fakat aynı amaçla, Diklofenak Dietilamonyum %1,16 / Tiyokolşikozit %0,25 sabit doz kombine (SDK) emüljel formülasyonu ile hastanın aldığı farmasötik formların sayısı azaltılmış, hasta uyuncu artırılmış ve hastanın dozları atlamasının önüne geçilmesi gibi katkılar sağlanmıştır. Ayrıca bu çalışma ile, geliştirilen SDK İlacın kullanımı ile hasta bakım yükünün azaltılması ve tedavi başarısının yükseleceği düşünülmektedir.

Yüksek lisans tez çalışmamızda kullanılacak hammaddelerin etkinliği (*potency*) ve saflığı formülasyon geliştirme sonrası bitmiş ürüne yansıtacağından önemlidir (ICH Q6A 1999). Hammaddeler temin edilmiş ve bu hammaddelere dair miktar tayini ve

safsızlık çalışmaları ile IR tanıma testleri yürütülmüş ve sonuçlar kaynak spesifikasyonları ve ilgili Farmakopeler ile uyumlu olduğu bulunmuştur (Diklofenak miktar tayini hammadde analizinde %99,4 ve pilot üretim bitmiş ürün analizinde ise sırasıyla %97,7 ile %102,0 bulunmuş; Tiyokolşikozit miktar tayini analizinde ise hammaddede %99,6 ve pilot üretim analizlerinde ise sırasıyla %102,6 ve %99,9 bulunmuştur. Safsızlık analizlerinde ise Diklofenak Safsızlık A, hammadde ve bitmiş üründe tespit edilmemiş; Tiyokolşikozit tespit edilen hammadde safsızlıklarından sadece Kolşikozit safsızlığı kayda değer miktarda bulunmuştur. Bu safsızlık hammaddede %0,41 seviyelerinde iken, bitmiş üründe sırasıyla %0,446 ve %0,430 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar bitmiş ürün formülasyonun her iki hammaddenin safsızlıklarında başlangıçta bir artışa neden olmadığını göstermektedir.

Emüljel yapısındaki SDK ilaç formülasyonun miktar tayini analitik metot validasyonu, doğruluk parametresi çalışmasında Diklofenak için %102,22; Tiyokolşikozit için %100,51 geri kazanım değerleri bulunmuş ve %97,0-103,0 hedef limitleri dahilinde uygun bulunmuştur (ICH Q2(R1) 2005). Kesinlik parametresinin alt parametrelerinden biri olan yöntem kesinliği kapsamında tekrarlı çalışmalar sonucunda RSD değer en fazla %2 olmalıdır ve Diklofenak için %0,68; Tiyokolşikozit için %0,48 olarak uygun bulunmuştur. Kesinliğin diğer bir alt parametresi olan ara kesinlik (veya laboratuvar içi kesinlik) parametresinde 3 gün sonra aynı koşullarda yapılan analizler arası fark Diklofenak için %0,89, Tiyokolşikozit için %0,34 bulunarak, %3,0'dan az olduğu tespit edilmiş ve uygun bulunmuştur. Sistem uygunluk alt parametresi çalışmasında ise, alanlar arası %RSD değeri %2,0'dan az olması hedefi ile Diklofenak ve Tiyokolşikozit için aynı değer %0,2 bulunmuştur. Spesifiklik parametresi sonuçlarına göre, etken maddenin alıkonma zamanında plasebodan veya çözücünden gelen herhangi bir pik tespit edilmemiş ve piklerin saf olduğu görülmüştür. Ayrıca, kullanılan filtre kaynaklı etki çalışması sonuçlarına göre 0,45µm Nylon filtrenin ürünümüzün analizi için uygun olduğu gözlenmiştir. Doğrusallık parametresi çalışması ile % 70-130 konsantrasyon aralığında; konsantrasyona bağlı alan değişimin doğrusal olduğu ve R^2 değerinin $\geq 0,999$ olması gerekmekte ve her iki molekülün doğrusal denklemi R^2 değeri 0,999 bulunmuştur. Ayrıca uygulama aralığı parametresi ile %70 ve %130 çalışma konsantrasyonlarının ile % RSD değerleri %1'in altında bulunmuştur. Sağlamlık parametresi herhangi bir limite dayanmadığı gibi, çalışma kapsamında standart ve test çözeltilerinin 40 saat boyunca 10°C'de stabil olduğunu tespit edilmiştir (FDA 1994).

Safsızlıkları (impürte) analitik metot validasyon çalışmaları ile doğruluk parametresi bitmiş üründe aranacak tüm bilinen safsızlıkların %10 (LOQ), %100, %200 seviyelerinde 3 paralel numune hazırlanıp analizlenmiş ve geri kazanım değeri %80-120 arasında olması hedeflendiğinde tüm safsızlıkların değerleri uygun bulunmuştur. Kesinlik parametresinde bilinen safsızlıklar için çalışma sonucunda elde edilen %RSD değerlerinin %2,0'den az olması beklenmiştir. Sistem kesinliği alt parametresi çalışmasında Tiyokolsikozit %RSD'si 0,10; Kolşikosit %RSD'si 0,17; Kolşisin %RSD'si 0,15; Diklofenak Dietilamonyum %RSD'si 0,31 ve Diklofenak Safsızlık A %RSD'si ise 0,35 olarak uygun bulunmuştur. Yöntem kesinliği alt parametresi çalışmasında bilinen safsızlıklardan Kokşikozit için %0,693; Kolşisin için %1,176; Diklofean Safsızlık A için ise %0,527 değeri bulunmuştur. Laboratuvar için kesinlik alt parametresi çalışmasında % fark değerleri Kokşikozit için %0,017; Kolşisin için %0,009; Diklofenak Safsızlık A için ise %0,001 bulunmuş ve safsızlık analitik yöntemin farklı günlerde çalışılmasından etkilenmediğini gösterilmiştir. Spesifiklik parametresi sonuçları değerlendirildiğinde etken maddenin alıkonma zamanında plasebodan veya çözücünden gelen herhangi bir pik veya kromatografik girişim tespit edilmemiş ve etken madde piki ile safsızlık piklerinin saflığını koruduğu görülmüştür. Tespit limiti parametresi çalışmasında, kromatogramında elde edilen sinyalin *blank* kromatogramındaki gürültüye oranının en az 3,0 olması gerekmektedir (ICH Q2(R1) 2005) ve sonuçta etken madde ve safsızlık sinyal/gürültü uygun bulunmuştur. Safsızlıkların kantitatif tespitinde kullanılan diğer bir validasyonu parametresin hesaplanabilirlik limiti (LOQ seviyesi) çalışmasında ise sinyal/gürültü oranının en az 10,0 olması gerekmektedir (ICH Q2(R1) 2005) ve etken madde ve safsızlık sinyal/gürültü oranı 10'un üstünde bulunmuştur. LOQ seviyesinden %200 konsantrasyona kadar tekrarlı analizler ile elde edilen LOQ seviyesi için %5,0'ın altında, bunun üstündeki konsantrasyonlarda %RSD değerinin 2,0'den düşük olması beklenmiş uygun sonuçlar elde edilmiştir. Safsızlık metodu validasyonu sağlamlık parametresi çalışmasıyla, standart ve numune çözeltisinin 10°C'de analizlendiği 48 saat boyunca stabil olduğu bulunmuştur.

Formülasyon geliştirme çalışmaları sonucunda, Karbopolün 974 P türevi özellikle yüksek viskozite değeri ve benzen kalıntı çözücü içermemesi ve losyon, krem ve jel gibi farklı topikal uygulamalarına olanak sağlaması nedeniyle formülasyonlarında tercih edilmektedir (Kaur 2013). Karbomer jel oluşturucu ajanların formülasyonda %0,1-3 arasında kullanılması ile uygun topikal jel formülasyonlarının elde edilebileceği tavsiye

edilmektedir (Lubriazol 2011a). Geliştirilen formülasyonlarda karbopol miktarında artış ile viskozitenin arttığı, ayrıca pH 6,0-7,0 arasında olacak şekilde tirtanolamin tampon ajanın karbomer nötralizasyonda kullanılmasının da etkisi görülmüştür (Lubriazol 2011b).

Suda çözünürlüğü düşük etken maddelerin jel formülasyonlarında surfaktan kullanmak yerine, etanol veya diğer alkol türevleri (propilen glikol ve izopropilalkol) hidroalkolik jel formülasyonları hazırlamak için tercih edilmektedir (Lurizol 2011c; Rafiee-Tehrani ve Mehramizi 2000). Diklofenak Dietilamonyum ve Tiyokolşikozit SDK emüljel formülasyonu çalışmaları tasarımı, özellikle düşük çözünürlüğe sahip Diklofenak için benzer yaklaşım yürütülmüştür. İzopropilalkol oranının artışı ile viskozitenin 16145 cps'den 8487 cps'e kadar düştüğü görülmüştür. Bunun nedeni, su bazlı jel formülasyonlarındaki hidrojen bağı sayısının hidroalkolik jel formülasyonuna göre daha fazla olması olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, geliştirilen formülasyonda yüksek alkol oranı (IPA ve propilen glikol) antimikrobiyal bir koruyucu kullanma gerekliliğini ortadan kaldırmıştır (Lubrizol 2011c; Man ve ark 2017).

Proses validasyonu geliştirilen ilacın kalitesini garanti altına alan bir uygulamadır (FDA 2011). 2 seri pilot ölçekli üretim ile yapılan fiziksel ve kimyasal analiz sonucunda geliştirilen formülasyonun tekrarlanabilirliği ve bunun sonucunda spesifikasyonlar dahilinde sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Özellikler IPK ve bitmiş ürün testlerinde pH değerinin ortalama 7,2 olması ve bunun sonucunda viskozite değerlerinin pilot üretim serileri için sırasıyla 10794 cps ve 9134 cps bulunmuştur. Miktar tayini ve safsızlıklar sonuçları da birbiri ile uyumlu olarak bulunmuştur.

Referans ürün Voltaren-Emulgel ve Muscoril merheme fiziksel ve formülasyon bileşimleri açıdan farklılık göstermektedir. Sadece Tiyokolşikozit içeren jel formülasyonunda herhangi bir ürün bulunmamakta fakat, jel formülasyonlarına dair çalışmalar literatürde yer almaktadır (Rathod ve ark 2016). Yürütülen fiziksel ve kimyasal analizler ile geliştirilecek formülasyonun farmasötik kalitesinin hedefi ortaya konulmuş ve geliştirilen sabit doz kombine ürünün referans ürünler karşı kalitesinin korunmuştur (WHO 2005). Geliştirilen formülasyona ile yürütülen iki seri pilot üretim serileri ile referans ürünlerin farmasötik kalite kıyaslaması Tablo 4-73'de verildiği gibi uygun bulunmuştur.

Pilot üretim serilerinin stabilite çalışmaları boyunca, bitmiş ürün dozaj formunda “önemli değişiklik” olmaması beklenir (TİTCK 2017). Geliştirilen formülasyonun jel yarı-katı dozaj formu kapsamında; arasında miktar tayini %5 değişimi, kabul limitlerini aşan bir bozunma ürünü; görünüm ve fiziksel özellikler diğer işlevsel niteliklerde herhangi bir değişimin kabul limitleri dışında olması ve pH değerinin limit dışında olması gibi bir önemli değişik stabilite boyunca oluşmadığı görülmüştür. Hızlandırılmış ($40^{\circ}\pm 2$ C/ 75% RH ± 5) koşulda 6 ay boyunca, Ara Koşulda ($30^{\circ}\pm 2$ C/ 65% RH ± 5) 12 ay boyunca ve Uzun Süreli ($25^{\circ}\pm 2$ C/ 60% RH ± 5) koşulda 24 ay boyunca sonuçları belirlenen spesifikasyonlar dahilinde olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bu stabilite sonuçları doğrultusunda kılavuzda (TİTCK 2017) yer aldığı gibi geliştirilen formülasyonuna ürüne “25°C'nin altındaki oda sıcaklığında” saklanabileceği ortaya çıkmıştır.

Dozaj formunun fiziksel ve kimyasal özellikleri ilacın salımına doğrudan etki etmektedir. Geliştirilen formülasyonun final ürün kalitesini belirleyen önemli özelliklerden biri de performans testidir. Referans ürünlere karşı karşılaştırmalı *in vitro* çalışmaları yürütülmüş, elde edilen bulgular doğrultusunda bir değerlendirme yapılmıştır (USP 1997). Goebel ve arkadaşlarının 2013 yılında yürüttüğü çalışmada, Diklofenak Dietilamonyum içeren farklı formülasyonlara sahip eşdeğer ürünlerin farklı salım profilleri verdiği görülmüştür.

in vitro ilaç salım çalışmaları sonucunda birim zamanda tespit edilen miktar tayini sonuçları kıyaslanmıştır. Elde edilen sonuçlardan birim zamanda ve difüzyon alanından serbestleşerek geçen etken madde miktarları karşılaştırılmıştır.

Aynı anda fakat ayrı ayrı kullanım (kombine manuel kullanım) formu ve geliştirilen SDK ilaç emüljel formülasyonu ile referans ürün Voltarene karşı kıyaslandığında; Diklofenak salım hızlarının 6 saat sonunda; Voltaren için 2914,54 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{saat}$, manuel kullanım ile 891,12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{saat}$ ve geliştirilen SDK için ise 2401,76 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{saat}$ bulunmuştur. Bu sonuçlara göre Voltaren ürün ile SDK ilaç ürününde Diklofenak Dietilamonyum etken madde salım hızlarının *in vitro* salım hızlarının benzerlik gösterdiği görülmektedir. Tersine, manuel karışımlar ile elde edilen formda etken madde salım hızının düştüğü görülmektedir. Bunun sebebinin ise, merhem formunun hidrofobik yapısından ve dolayısıyla dozaj formu yapısı ve formülasyonlar bileşimi farklılığı ileri geldiği düşünülmektedir.

Tiyokolşikozit etken maddesinin kombine manuel kullanım ve geliştirilen SDK ilaç emüljel formülasyonu ile referans ürün Muscoril merheme karşı kıyaslandığında; Tiyokolşikozit salım hızlarının 6 saat sonunda; Muscoril için $570,58 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{saat}$, manuel kullanım ile $417,59 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{saat}$ ve geliştirilen SDK için ise $884,68 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{saat}$ bulunmuştur. Muscoril merhem salım hızı ile kıyaslandığında manuel karıştırma sonucunda Tiyokolşikozit'in kısmen daha yavaş salım hızı sergilediği görülürken, geliştirilen SDK emüljel formülasyonu önemli derece daha hızlı salım profili sergilediği görülmüştür. Emüljel formülasyonun, Muscoril merhem formülasyonua göre daha hidrofilik yapıdaki formülasyona sahip olmasından dolayı, Tiyokolşikozite daha hızlı serbestleşme imkanı sağladığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, sabit doz kombine ürün olarak geliştirilen Diklofenak Dietilamonyum %1,16/Tiyokolşikozit %0,25 Emüljel formülasyonun, formülasyon geliştirmesi yapılmış ve proses validasyonu ile formülasyon ve üretimin tekrarlanabilirliği gösterilmiştir. Validasyonu yapılan analitik metotlar ile ürün aynı kalitede olduğunu gösterecek seçici analitik yöntem geliştirilmiş ve yürütülen stabilite çalışmaları ile ürünün 2 yıla kadar stabil olduğu tespit edilmiştir. Geliştirilen ürünün, referans ürün Voltaren ile benzer Diklofenak Dietilamonyum *in vitro* salımı özellikleri gösterdiği; referans ürün Muscoril merheme göre daha hızlı Tiyokolşikozit salım profili gösterdiği tespit edilmiştir. Emüljel formülasyonlarının suda çözünürlüğü düşük molekül olan Diklofenak Dietilmonyum bileşiği için uygun olduğu kadar, Tiyokolşikozit molekülü için de uygun bir form olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Açıkgöz, M., Kaş, H.S. ve Hıncal, A.A. (1994). Diklofenak Sodyum. *FABAD Farmasötik Bilimler Dergisi*, **19**, 37-47.
- Aguzzi, C. ve ark. (2008). Penetration and Distribution of Thiocolchicoside through Human Skin: Comparison Between a Commercial Foam (Miotens®) and a Drug Solution. *American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTech*, **9(4)**, 1185–1190
- Ajazuddin, Alexander, A., Khichariya, A., Gupta, S., Patel, R.J., Giri, T.K. ve Tripathi, D.K. (2013). Recent expansions in an emergent novel drug delivery technology: Emulgel. *Journal of Controlled Release*. **171**, 122–132
- Ali, S.M. ve Yosipovitch, G. (2013). Skin pH: From Basic Science to Basic Skin Care. *Acta Derm Venereol*, **93(3)**, 261-7
- Altman, R., Bosch., B., Brune, K., Patrignani, P., ve Young, C. (2015). Advances in NSAID Development: Evolution of Diclofenac Products Using Pharmaceutical Technology. *Drugs*, **75**, 859–877
- Ashara, K., Soniwala, M. ve Shah, K. (2016). Emulgel: A novel drug delivery system. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*, **26(3)**:244-249.
- Babatunde, O.O., Jordan, J.L., Van der Windt, D.A., Hill, J.C., Foster, N.E. ve Protheroe J. (2017). Effective Treatment Options For Musculoskeletal Pain in Primary Care: A Systematic Overview Of Current Evidence. *PLoS ONE*, **12 (6)**, 1-30.
- Banys, A., Sarecka-Hujar, B., Jankowski, A. ve Zalewska, M. (2014) Impact of base type on diclofenac sodium release from semi-solid dosage forms. *Annales Academiae Medicae Silesiensis*, **68**, 1
- Barry, B. (2001). Transdermal drug delivery. İçinde Aulton, M. ve Taylor, K. *Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design 2nd Edition*. UK: Churchill Livingstone; 499
- Barry, B.W. (2006). Penetration Enhancer Classification. İçinde E.W. Smith ve H.I. Maibach (Ed.), *Percutaneous Penetration Enhancers*, Roca Raton, London, New York: CRS Press, Taylor & Francis; 3-15.

- Barui, A. (2018). Synthetic polymeric gel içinde Pal, K. ve Banerjee, I. (Ed). *Characterization, Properties and Biomedical Applications*. Woodhead Publishing; 55-90.
- Bhasha, S.A., Khalid, S.A., Duraivel, S., Bhowmik, D. ve Kumar, K.P.S. (2013). Recent Trends In Usage Of Polymers In The Formulation Of Dermatological Gels. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, **1(2)**, 161-168.
- Benson, H.A.E. (2012). Skin Structure, Function, and Permeation. İçinde H.A.E. Benson and A.C. Watkinson (Ed.), *Transdermal and Topical Drug Delivery Principles and Practice*. New Jersey: John Wiley & Sons; 3-22.
- Bonina, F. ve ark. (2002). Vehicle effects on in vitro skin permeation of thiocolchicoside. *Pharmazie*; **57(11)**, 750-752.
- Brain, K.R., Walters, K.A. ve Watkinson, A.C. (2002). Methods for Studying Percutaneous Absorption. İçinde K.A. Walters (Ed.), *Dermatological and Transdermal Formulations*. New York: Marcel Dekker.
- Brown, M.B., Martin, G.P., Jones, S.A. ve Akomeah, F.K. (2006). Dermal and transdermal drug delivery systems: current and future prospects. *Drug Delivery*, **13**, 175-187.
- Brown, M. B., Turner, R., ve Lim, S. T. (2012). Topical Product Formulation Development. İçinde, H. Benson, ve A. Watkinson (Ed), *Transdermal and Topical Drug Delivery*. NJ: John Wiley & Sons; 255
- Chang, R.-K., Raw, A., Lionberger, R., ve Yu, L. (2013). Generic Development of Topical Dermatologic Products: Formulation Development, Process Development, and Testing of Topical Dermatologic Products. *The AAPS Journal*, **15(1)**, 41-52.
- Chandira R.M., Pradeep, Pasupathi A., Bhowmik, Chiranjib, Jayakar B., Tripathi K.K., Kumar K.P.S. (2010). Design, development and formulation of antiacne dermatological gel. *Journal Of Chemical And Pharmaceutical Research*, **2(1)**, 401-414.
- Charalambopoulou, G.C., Steriotis, T.A., Hauss, T., Stubos, A.K. ve Kanellopoulos, N.K. (2004). Structural alterations of fully hydrated human stratum corneum. *Physica B*, **350**, 603-606.

Değim, T. (2009). Deriden emilim ve deriye uygulanan yarı katı preparatlar. İçinde F. Acartürk, İ. Ağabeyoğlu, N. Çelebi, T. Değim, Z. Değim, T. Doğanay, S. Takka ve F. Tırnaksız (Ed.), *Modern Farmasötik Teknoloji*. Ankara: Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını; 337-364.

Denda, M. (2000). Skin barrier function as a self organizing system. *Forma*, **15**, 227-232.

Denis, P. ve ark (1996). *European Patent EP0837684. Pharmaceutical Compositions Containing A Diclofenac Salt And Thiocolchicoside*. Erişim tarihi: 17.09.2015. <https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20020417&DB=&locale=&CC=EP&NR=0837684B1&KC=B1&ND=2>

DrugBank 2019. *Diclofenac diethylamine*. Version 5.1.4, released 2019-07-02. Erişim Tarihi: 12.02.2019, <https://www.drugbank.ca/salts/DBSALT001945>

DrugBank 2019. *Thiocolchicoside*. Version 5.1.4, released 2019-07-02. Erişim Tarihi: 12.02.2019, <https://www.drugbank.ca/drugs/DB11582>

Elias, P.M., Tsai, J., Menon, G.K., Holleran, W.M., Freingold, K.R. (2002). The Potential of Metabolic Interventions to Enhance Transdermal Drug Delivery. *The Society for Investigative Dermatology*, **7**, 79-85.

EMA CHMP (2008, January). European Medicines Agency, Committee For Medicinal Products For Human Use (CHMP). *Guideline On Fixed Combination Medicinal Products*. Erişim Tarihi 10.02.2018. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-fixed-combination-medicinal-products-revision-1_en.pdf

EMA CHMP (2019, December). European Medicines Agency, Committee For Medicinal Products For Human Use (CHMP). *Draft guideline on quality and equivalence of topical products* Erişim Tarihi 25.12.2018. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-quality-equivalence-topical-products_en.pdf

Escobar-Chavez, J.J., Merino-Sanjuan, V., Lopez-Cervantes, M., Urban-Morlan, Z., Pinon-Segundo, E., Quintanar-Guerrero, D. ve Ganem-Quintanar, A. (2008). The tape stripping technique as a method for drug quantification in skin. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences*, **11**, 104-130.

FDA Reviewer Guidance (1994, November). *Validation of Chromatographic Methods*. Erişim 17.02.2015 <https://www.fda.gov/media/75643/download>

FDA Guidance Document (1997, May). *SUPAC-SS: Nonsterile Semisolid Dosage Forms; Scale-Up and Post-Approval Changes: Chemistry, Manufacturing and Controls; In Vitro Release Testing and In Vivo Bioequivalence Documentation*. Erişim 17.05.2019 <https://www.fda.gov/media/71141/download>

FDA Guidance Document (2011, Jan). *Guidance for Industry, Process Validation: General Principles and Practices*. Erişim 10.04.2015 <https://www.fda.gov/media/71021/download>

Fini, A., Bassini, G., Monastero, A. ve Cavallari, C. (2012). Diclofenac Salts, VIII. Effect of the Counterions on the Permeation through Porcine Membrane from Aqueous Saturated Solutions. *Pharmaceutics*, **4**, 413-429.

Franceschi, F. ve ark (2015). Safety and efficacy of low doses of diclofenac on acute pain in the emergency setting. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. **20**, 4401-4408

Gautam, C.S. ve Saha, L. (2008). Fixed dose drug combinations (FDCs): rational or irrational: a view point. *British Journal of Clinical Pharmacology*, **65(5)**, 795–796.

Gervasi, M. ve ark (2017). The effect of topical thiocolchicoside in preventing and reducing the increase of muscle tone, stiffness, and soreness: A real-life study on top-level road cyclists during stage competition. *Medicine*, **96(30)**, e7659

Godin, B. ve Touitou, E. (2007). Transdermal skin delivery: Predictions for humans from in vivo, ex vivo and animal models. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **59**, 1152–1161.

Goebel, K. ve ark (2013). In vitro release of diclofenac diethylamine from gels: evaluation of generic semisolid drug products in Brazil. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **49(2)**, 211-220.

Goh, C.F. ve Lane, M.E. (2014). Formulation of diclofenac for dermal delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, **473**, 607-616.

Hadgraft, J. (1999). Passive enhancement strategies in topical and transdermal drug delivery, *International Journal of Pharmaceutics*, **184**, 1–6.

Hadgraft, J. (2004). Skin deep, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **58**, 291–299

Hardenia, A., Jayronia, S. ve Jain S. (2014). Emulgel: An Emergent Tool In Topical Drug Delivery. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. **5(5)**, 1653-1660.

Haroutiunian, S., Drennan, D.A. ve Lipman, A.G. (2010). Topical NSAID Therapy for Musculoskeletal Pain. *Pain Medicine*, **11(4)**, 535–549.

Heyneman, C.A., Lawless-Liday, C. ve Wall, G.C. (2000). Oral versus topical NSAIDs in rheumatic diseases. *Drugs*, **60**, 555-574.

Hıncal, A.A. ve Memişoğlu-Bilensoy, E. (2004). Ön formülasyon ve ürün geliştirme. İçinde A.Z. Gürsoy (Ed.), *Farmasötik Teknoloji Temel Konular ve Dozaj Şekilleri*. İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını; 435-453.

Hikima, T., Tojo, K., Maibach, H.I. (2005). Skin Metabolism in Transdermal Therapeutic Systems. *Skin Pharmacology and Physiology*, **18**, 153-159.

Hooper, L., Brown, T.J., Elliott, R., Payne, K., Roberts, C. ve Symmons, D. (2004). The effectiveness of five strategies for the prevention of gastrointestinal toxicity induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: systematic review. *British Medical Journal*, **329**, 948-957

Huang, X., Tanojo, H., Lenn, J., Deng, C.H., ve Krochmal, L. (2005). A novel foam vehicle for delivery of topical corticosteroids. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **53**, 26-38.

ICH Q2(R1). (2005, November). *ICH Guideline, Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Step 4*. Erişim 12.05.2015

https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf

ICH Q6A (1999, October). *ICH Guideline, Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances, Step 4* Erişim 12.05.2015

https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q6A/Step4/Q6Astep4.pdf

- Jadoul, A., Hanchard, C., Thysman, S. ve Preat, V. (1995). Quantification and localization of fentanyl and TRH delivered by iontophoresis in the skin. *International Journal of Pharmaceutics*, **120**, 221-228.
- Jankowski, A., Dyja, R. ve Sarecka-Hujar B. (2017). Dermal and Transdermal Delivery of Active Substances from Semisolid Bases. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **79(4)**, 488-500.
- Jungersted, J.M., Hellgren, L.I., Jemec, G.B.E. ve Agner, T. (2008). Lipids and skin barrier function a clinical perspective. *Contact Dermatitis*, **58**, 255– 262.
- Kalia, Y.N. ve Guy, R.H. (2001). Modeling transdermal drug release. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **48**, 159–172.
- Kaur, L.P. ve Guleri, T.K. (2013). Topical Gel: A Recent Approach for Novel Drug delivery. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, **3(17)**, 1-5
- Kent, G.C. ve Carr, R.K. (2001). Comparative Anatomy of the Vertebrates (9th ed). London: McGraw-Hill Companies,
- Ketenci, A., Basat, H. ve Esmailzadeh, S. (2009). The efficacy of topical thiocolchicoside (Muscoril) in the treatment of acute cervical myofascial pain syndrome: a single-blind, randomized, prospective, phase IV clinical study. *Agri*, **21(3)**, 95-103
- Khullar, R., Kumar, D., Seth, N. ve Saini, S. (2012). Formulation and evaluation of mefenamic acid emulgel for topical delivery, *Saudi Pharmaceutical Journal*, **20**, 63–67.
- Kumar, S., Rani, S., Siwach, R. ve Verma, P. (2014). To compare the efficacy and safety of fixed dose combination of thiocolchicoside and aceclofenac versus chlorzoxazone, aceclofenac and paracetamol in patients with acute lower backache associated with muscle spasm. *International Journal of Applied Basic Medical Research*, **4(2)**, 101–105.
- Lademann, J., Jacobi, U., Surber, C., Weigmann, H.J. ve Fluhr, J.W. (2009). The tape stripping procedure-evaluation of some critical parameters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **72**, 317-323.
- Langer, R. (2004). Transdermal drug delivery: past, progress, current status and future prospects. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **56**, 557– 558.
- Lee, C.M. ve Maibach, H.I. (2006). Deep percutaneous penetration into muscle and joints. *American Pharmacist Association Journal of Pharmaceutical Sciences*, **95**, 1405-1413.

Lionberger, D.R. ve Brennan, M.J. (2010). Topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of pain due to soft tissue injury: diclofenac epolamine topical patch. *Journal of Pain Research*, **3**, 223-233.

Lubrizol (2011a, May 31). Polymers for Pharmaceutical Applications. *Lubrizol Pharmaceutical Bulletin 1*. Erişim 10.09.2014 <https://www.lubrizol.com/-/media/Lubrizol/Life-Sciences/Documents/Literature/Bulletin/Bulletin-01---Polymers-for-Pharmaceutical-Applications.pdf>

Lubrizol (2011b, May 31). Neutralization Procedures. *Lubrizol Pharmaceutical Bulletin*, 5. Erişim 10.09.2014 <https://www.lubrizol.com/-/media/Lubrizol/Life-Sciences/Documents/Literature/Bulletin/Bulletin-05---Neutralization-Procedures.pdf>

Lubrizol (2011c, May 31). Formulating Semisolid Products. Applications. *Lubrizol Pharmaceutical Bulletin 21*. Erişim 10.09.2014 <https://www.lubrizol.com/-/media/Lubrizol/Life-Sciences/Documents/Literature/Bulletin/Bulletin-21---Formulating-Semisolid-Products.pdf>

Man, A., Gâzandrei, A.Ş., Mare, A.D. ve Berța, L. (2017). Effects of low-molecular weight alcohols on bacterial viability. *Revista Română de Medicină de Laborator*, **25 (4)**, 335-343.

Martindale. The Complete Drug Reference (2009). (36th ed.), Londra: Pharmaceutical Press.

Massey, T., Derry, S., Moore, R.A ve McQuay, H.J. (2010). Topical NSAIDs for acute pain in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, **6**, Art. No: CD007402.

Mills, P.C. ve Cross, S.E. (2006). Transdermal drug delivery: Basic principles for the veterinarian. *The Veterinary Journal*, **172**, 218-233.

Mohammed, F.A. (2001). Topical permeation characteristics of diclofenac sodium from NaCMC gels in comparison with conventional gel formulations. *Drug Development and Industrial Pharmacy*; **27(10)**, 1083-97.

Moore, R.A., Tramér, M.R., Carroll, D., Wiffen, P.J. ve McQuay, H.J. (1998). Quantitative systematic review of topically applied non-steroidal anti-inflammatory drugs. *British Medical Journal*, **316**, 333-338.

- Muscoril Merhem - KÜB (Kısa Ürün Bilgisi, 10.10.2014. Erişim Tarihi. 10.02.2017. TİTCK, <https://titck.gov.tr/storage/kubKtAttachments/549ee95a24478.pdf>
- Naik, A., Kalia, Y.N. ve Guy, R.H. (2000). Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, **3**, 318-326.
- Nair, B. ve Taylor-Gjevre, R. (2010). A Review of Topical Diclofenac Use in Musculoskeletal Disease. *Pharmaceuticals (Basel)*. **Jun 11, 3(6)**, 1892-1908.
- Pakhare, A.V., Deshmane, S.S. ve Biyani, K.R. (2017). Design and development of emulgel preparation containing diclofenac potassium. *Asian Journal of Pharmaceutics*, **11(4)**, 712-715
- Panwar, A.S., Upadhyay, N., Bairagi, M., Gujar, S., Darwhekar, G.N. ve Jain, D.K. (2011). Emulgel: A Review. *Asian Journal of Pharmacy and Life Science*, **1(3)**, 333-343.
- Patat, A. ve Klein, M.J. (1991). Effects of acute and repeated doses of two muscle relaxants chlormezanone and thiocolchicoside, on vigilance and psychomotor performance of healthy volunteers. *Hum Psychopharmacol*, **6**, 285-92.
- Patravale, V.B. ve Date, A.A. (2009). Microemulsions: Pharmaceutical Applications. İçinde C. Stubenrauch (Ed.), *Microemulsions Background, New Concepts, Applications, Perspectives*. UK: JohnWiley & Sons; 259-301.
- Patzelt, A., Antoniou, C., Sterry, W. ve Lademann, J. (2008). Skin penetration from the inside to the outside: A review, *Drug Disc Today: Disease mechanisms*, **5**, 229- 235.
- Pena, L. (1990). Gel Dosage Forms : Theory, Formulation, and Processing. A. Amann, & D. Osborne içinde, *Topical Drug Delivery Formulations*. New York: Marcel Dekker Inc; s. 381-388
- Radermacher, J., Jentsch, D., Scholl, M.A., Lustinetz, ve T., Frölich, J.C. (1991). Diclofenac concentrations in synovial fluid and plasma after cutaneous application in inflammatory and degenerative joint disease. *British Journal of Clinical Pharmacology*, **31(5)**, 537-41
- Rathod, H.J. ve Metha, D.P. (2015). A review on pharmaceutical gel. *Acta scientifica international journal of pharmaceutical science*, **1**, 33-37.
- Rathod, R.A. ve ark (2016). Formulation and evaluation of Thiocolchicoside Topical Gel by using different method. *International Journal of Phytopharmacy*, **6(1)**, 27-30.

- Rafiee-Tehrani, M. ve Mehramizi, A. (2000). In vitro release studies of piroxicam from oil-in-water creams and hydroalcoholic gel topical formulations. *Drug Dev Ind Pharm*, **26(4)**, 409-14.
- Reuter, S. ve ark (2010). Thiocolchicoside Exhibits Anticancer Effects through Downregulation of NF- κ B Pathway and Its Regulated Gene Products Linked to Inflammation and Cancer. *Cancer prevention research (Philadelphia, Pa.)*. **3(11)**, 1462-1472
- Riviere, J.E. ve Papich, M.G. (2001). Potential and problems of developing transdermal patches for veterinary applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **50**, 175–203.
- Ravindra, J. Ve ark (2011). Formulation and Evaluation of Semisolid preparation (Ointment, Gel & Cream) of Thiocolchicoside. *Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Sciences*, **8(8)**, 1-6.
- Roberts, M. S., Cross, S. E., ve Pellet, M. A. (2002). *Skin Transport*. Walters K. A. (Ed) içinde, *Dermatological Formulation and Transdermal Systems*. NY: Marcel Dekker.
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., ve Quinn, M. E. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients (6h Ed)*. USA: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.
- Schwarb, F.P. Imanidis, G., Smith, E.W., Haigh, J.M. ve Surber, C. (1999). Effect of concentration and degree of saturation of topical floucinonide formulations on in vitro membrane transport and in vivo availability on human skin. *Pharmaceutical Research*, **16**, 909-915.
- Sharma, B. ve Singh, L.R. (2018). Pharmaceutical gels for topical drug delivery: An overview. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **3(2)**, 19-24
- Sharmila, R. (2015). Relaxants in Treating Tempromandibular Joint Disorder- An Update. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **7(8)**, 611-614.
- Silva, C.L., Topgaard, D., Kocherbitov, V., Sousa, J.J.S., Pais, A.A.C.C. ve Sparr, E. (2007). Stratum corneum hydration: Phase transformations and mobility in stratum corneum, extracted lipids and isolated corneocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1768**, 2647-2659.

Sproviero, E. Ve ark. (2018). Efficacy and safety of a fixed combination of intramuscular diclofenac 75 mg + thiocolchicoside 4 mg in the treatment of acute low back pain: a phase III, randomized, double blind, controlled trial. *European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine*, **54(5)**, 654-62

Stewart, M.E. ve Downing, D.T. (1999). A new 6-hydroxy-4-sphingenine-containing ceramide in human skin. *Journal of Lipid Research*, **40**, 1434- 1439.

Surber, C. ve Davis, A.F. (2002). Bioavailability and Bioequivalence of Dermatological Formulations. İçinde K.A. Walters (Ed.), *Dermatological and Transdermal Formulation*. New York: Marcel Dekker.

Tanner, T. ve Marks, R. (2008). Delivering drugs by the transdermal route: review and comment. *Skin Research and Technology*, **14**, 249-260.

TITCK (2017, Temmuz 17). *Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumunu, Etkin Maddelerin ve Bitmiş Ürünlerin Stabilité Testlerine İlişkin Kılavuz*. Erişim 9 Ağustos 2017 <https://titck.gov.tr/storage/legislation/P22DZYMR.pdf>

Tojo, K., Chiang, C.C. ve Chien, Y.W. (1987). Drug permeation across the skin: effect of penetrant hydrophilicity. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **76(2)**, 123-6.

Tur, E. (1997). Physiology of the skin-differences between women and men. *Clinics in Dermatology*, **15**, 5-16.

Umarkar, A.R, Bavaskar, S.R. ve Yewale, P.N. (2011). Thiocolchicoside as muscle relaxant: a review. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, **1(3)**, 364-371.

USP 42-NF37 (2018, Mayıs). General Chapter <3>. Topical and Transdermal Drug Products-Product Quality Tests. Erişim 18.06.2019, https://online.uspnf.com/uspnf/document/GUID-B8C993EA-A7A3-4637-99C7-D887C4719895_2_en-US?highlight=topical_drug_products

USP 42-NF37 (2019, Mayıs). General Chapter <1151> Pharmaceutical Dosage Forms. Erişim 18.06.2019, :https://online.uspnf.com/uspnf/document/GUID-431F93A9-1FEC-42AE-8556-AA5B604B2E36_4_en-US?highlight=pharmaceutical_dosage_forms

- Yener, G. (2012). Merhemler, kremler, jeller ve patlar. (Bölüm 22) İçinde A.Z. Gürsoy (Ed.), *Kontrollü Salım Sistemleri*. İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayınları 287-299
- Vaile, J.H. ve Davis, P. (1998). Topical NSAIDs for Musculoskeletal Conditions. *Drugs* **56(5)**, 783-799
- Vavrova, K., Lorencova, K., Novotny, J., Holy, A. ve Hrabalek, A. (2008). Permeation enhancer dodecyl 6-(dimethylamino)hexanoate increases transdermal and topical delivery of adefovir: Influence of pH, ion-pairing and skin species. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **70**, 901-907.
- Voltaren Emüljel - KÜB (Kısa Ürün Bilgisi, 08.02.2017). Erişim Tarihi. 10.02.2017. TITCK <https://titck.gov.tr/storage/kubKtAttachments/loV9iocvlz0PL.pdf>
- Walters, K. A. ve Roberts, M. S. (2002). *The Structure and Function of Skin*. Walters K. A. (Ed) içinde, *Dermatological Formulation and Transdermal Systems* (s. Chapter 1). NY: Marcel Dekker.
- Wang M ve Fang L. (2008). Percutaneous absorption of Diclofenac acid and its salts from emulgel. *Asian Journal Of Pharmaceutical Sciences*; **3(3)**, 131-138
- Wertz, P.W. ve van den Berg, B. (1998). The physical, chemical and functional properties of lipids in the skin and other biological barriers. *Chemistry and Physics of Lipids*, **91**, 85-96.
- Williams, A.C. (2003). Chemical Modulation of Topical and Transdermal Permeation. İçinde A.C. Williams (Ed.), *Transdermal and Topical Drug Delivery: From theory to clinical practice*. London: Pharmaceutical Press; 83-122.
- Williams, A.C. ve Barry, B.W. (2004). Penetration Enhancers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **56**, 603-618.
- WHO (2005) Guidelines for Registration of Fixed-dose Combination Medicinal Products. *WHO Technical Report Series*, No:929, Annex 5. Erişim 12.05.2019, <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s19979en/s19979en.pdf>
- Zaidi, Z. ve Lanigan, S.W. (2010). Skin: Structure and Function. İçinde Z. Zaidi ve W. Lanigan (Ed.), *Dermatology in Clinical Practice*. London: Springer-Verlag; 1-15.
- Zito, S.D. ve ark (2019). Foye Medisinal Kimya - Temel İlkeleri. Ankara: Ankara Nobel

HAM VERİLER

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

PATENT HAKKI İZİNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ANTİENFLAMATUVAR VE KAS GEVŞETİCİ ETKEN MADDE KOMBİNASYONU İÇEREN TOPIKAL EMÜLJEL DOZAJ FORMU ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

ORJİNALLİK RAPORU

% 12	% 7	% 2	% 9
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 4
2	acikarsiv.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
3	titck.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi	% 1
5	BAYİZİT, Arzu, Akpınar, YIL SAY, Tülay, Özcan and YÜCEL, Ahmet. "Donmuş midyelerin bazı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri", Tubitak, 2003. Yayın	<% 1
6	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	link.springer.com İnternet Kaynağı	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	MURAT MUHİBBİ	Soyadı	IŞIK
Doğ. Yeri	SAKARYA	Doğ. Tar.	07.07.1981
Eposta	ezc.mmi@gmail.com	Uyruğu	T.C.
Tel	05332547856	TC No	58765551732

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez, Yılı
Yük. Lis.	İstanbul Üniversitesi S.B.E. Farmasötik Teknoloji	2019
Yük. Lis.	Gazi Üniversitesi S.B.E. Farmasötik Kimya	2008
Lisans	Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2004
Lise	Sakarya Anadolu Lisesi	1999

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1	Ar-Ge Müdürü	Ali Raif İlaç Sanayi	2015-Halen
2	Ar-Ge Yöneticisi	Pharmactive İlaç Sanayi	2012-2015
3	Ar-Ge Uzmanı	Abdi İbrahim İlaç Sanayi	2012-2010
4	Ar-Ge Uzmanı	Fargem (Nobel) İlaç Sanayi	2006-2008
5	Ar-Ge Proje Uzmanı	Türk Eczacıları Birliği (TEB)	2004-2006

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜD S Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok İyi	İyi	İyi	-	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):