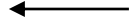


Adınızı soyadınızı giriniz

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)

**FENİRAMİDOL HCL'İN FARMASÖTİK
PREPARATLARDA HPLC İLE TAYİNİ**

GÖKHAN BAYRAK

**DANIŞMAN
PROF.DR.ARMAĞAN ÖNAL**

**ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
ANALİTİK KİMYA PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI**YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI**

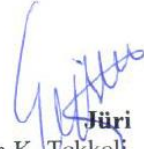
İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programında Yüksek Lisans öğrencisi Gökhan Bayrak tarafından Prof.Dr. Armağan Önal.'ın danışmanlığında hazırlanan FENİRAMİDOL HCL'İN FARMASÖTİK PREPARATLARDA HPLC İLE TAYİNİ" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından.09 /07/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı**

Prof.Dr. Zeynep Aydoğmuş
İ.Ü Eczacılık Fakültesi
Analitik Kimya Anabilim Dalı

**Jüri-Danışman**

Prof.Dr. Armağan Önal
İ.Ü Eczacılık Fakültesi
Analitik Kimya Anabilim Dalı

**Jüri**

Doç.Dr. Evrim K. Tekkeli
Bezmialem Vakıf Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Analitik Kimya 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 çalışmayla 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.

Gökhan Bayrak (İmza)

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yapılmasına olanak sağlayan, desteğini esirgemeyen, bilgisi ve yönlendirmeleriyle çalışmalarına ışık tutan Tez Danışmanım Prof. Dr. Armağan Önal'a, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalının tüm değerli öğretim üyelerine, çalışmalarım süresince laboratuvar olanaklarından yararlandığım Abdi İbrahim İlaç Sanayi A.Ş.'ye teşekkürlerimi bir borç bilirim.



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	Xİİİ
ABSTRACT.....	İ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Klinik Farmakolojisi	2
2.1.1. Etki mekanizması.....	2
2.1.2. Emilim.....	2
2.1.3. Dağılım.....	2
2.1.4. Biyotransformasyon ve Eliminasyon.....	2
2.1.5. Atılım	3
2.2. Feniramidol HCl'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	3
2.2.1. Feniramidol HCl'in Safsızlıkları.....	4
2.2.1.1. Stiren 2 Oksid.....	4
2.2.1.2. Amino Piridin.....	5
2.3. Geliştirilmiş Analitik Yöntemler	6
2.3.1. HPLC Yöntemleri	6
2.3.2. HPLC-Kütle Spektroskopisi Yöntemleri	6
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	7
3.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler.....	7
3.2. Çözeltiler.....	7
3.3. Hareketli Faz	7
3.4. Feniramidol HCl Miktar Tayini Analizi İçin Hazırlanan Çözeltiler.....	7

3.5. Aletler ve Diğer Gereçler	8
3.6. Analiz Yönteminin Geliştirilmesi ile İlgili Çalışmalar	9
3.7. Dedektör, Kolon ve Hareketli Faz Seçimi	9
3.7.1.1. Dedektör ve Dalga Boyu Seçimi	9
3.7.1.2. Çözücünün seçilmesi	10
3.7.1.3. HPLC Kolonu Seçimi	11
3.7.1.4. Metod Geliştirme Çalışmaları	11
3.8. Geliştirme Çalışmaları Sonunda Elde Edilen Analitik Yöntem	15
3.9. Feniramidol HCl miktar tayini analizi	15
3.10. Geliştirilen Yöntemin Validasyonu	17
3.11. Seçicilik	17
3.12. Doğrusallık	18
3.13. Doğruluk	19
3.14. Kesinlik – Tekrarlanabilirlik	20
3.15. Kesinlik – Sistem Kesinliği	20
3.16. Kesinlik – Ara Kesinlik	21
3.17. Dayanıklılık	21
3.18. Çözelti Stabilesi	21
3.19. Stress Çalışması	22
4. BULGULAR	23
4.1. Analiz Yönteminin Geliştirilmesi ile İlgili Bulgular	23
4.1.1. Yapılan Geliştirme Çalışmaları	23
4.1.2. Metod Geliştirmeye Ait Bulgular	23
4.2. Geliştirilen Yöntemin Validasyonu	25
4.2.1. Seçicilik	25
4.2.2. Doğrusallık	30
4.2.3. Doğruluk	32
4.2.4. Kesinlik	33
4.2.4.1. Sistem kesinliği çalışması sonuçları	34
4.2.4.2. Tekrarlanabilirlik çalışması sonuçları	34
4.2.4.3. Ara kesinlik çalışması sonuçları	35
4.2.5. Dayanıklılık	35
4.2.6. Çözelti stabilesi	36

4.2.7. Stres Çalışması.....	37
5. TARTIŞMA	40
KAYNAKLAR	42
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	45



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Feniramidol HCl 100 mcg/mL çözeltisinin UV-VIS spektrumundan elde edilen değerler.....	10
Tablo 3-2: Denemelerde Kullanılan HPLC Kolonlarının Sabit Faz Özellikleri.....	11
Tablo 3-3: Deneme 1 de elde edilen veriler.....	12
Tablo 3-4: Deneme 2 de elde edilen veriler.....	12
Tablo 3-5: Deneme 3 de elde edilen veriler.....	13
Tablo 3-6: Deneme 4 de elde edilen veriler.....	13
Tablo 3-7: Deneme 5 de elde edilen veriler.....	14
Tablo 3-8: Aktif madde doğruluk numuneleri hazırlama tablosu.....	20
Tablo 4-1: Seçicilik sonuçları	29
Tablo 4-2: Doğrusallık verileri	30
Tablo 4-3: Feniramidol HCl doğruluk sonuçları	33
Tablo 4-4: Sistem kesinliği çalışması sonuçları	34
Tablo 4-5: Aktif madde için kesinlik çalışması sonuçları	34
Tablo 4-6: Ara kesinlik aktif madde için kesinlik çalışması sonuçları.....	35
Tablo 4-7: Dayanıklılık çalışması sonuçları	35
Tablo 4-8: Numune çözeltisi stabilitesi (laboratuvar şartları)	36
Tablo 4-9: Standart çözeltisi stabilitesi (laboratuvar şartları).....	36
Tablo 4-10: Numune çözeltisi stabilitesi (HPLC şartları)	36
Tablo 4-11: Standart çözeltisi stabilitesi (HPLC şartları).....	36
Tablo 4-12: Stres çalışmaları sonuçları	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Feniramidol HCl'in kimyasal formülü.....	3
Şekil 2-2: Feniramidol HCl'in 100 mcg/mL derişimde sudaki çözeltisinin IR spektrumu	3
Şekil 2-3: Stiren 2 Oksit'in kimyasal formülü.....	5
Şekil 2-4: 2-Amino Piridin kimyasal formülü	5
Şekil 3-1: Feniramidol HCl 100 mcg/mL çözeltisinin UV-VIS spektrumu	9
Şekil 4-1: Deneme 1 ile elde edilen HPLC kromatogramı ($C_{\text{feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL)	23
Şekil 4-2: Deneme 2 ile elde edilen HPLC kromatogramı ($C_{\text{feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL)	23
Şekil 4-3: Deneme 3 ile elde edilen HPLC kromatogramı ($C_{\text{feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL)	24
Şekil 4-4: Deneme 4 ile elde edilen HPLC kromatogramı ($C_{\text{feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL)	24
Şekil 4-5: Deneme 5 ile elde edilen HPLC kromatogramı ($C_{\text{feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL)	25
Şekil 4-6: Çözücüye ait kromatogram	25
Şekil 4-7: Plaseboya ait kromatogram	25
Şekil 4-8: Standarta ait kromatogram	26
Şekil 4-9: Numuneye ait kromatogram.....	26
Şekil 4-10: Spesifikasyon üst limitinde 2-Amino piridine ve Stiren oksit katılmış numuneye ait kromatogram	26
Şekil 4-11: İmpürite üst spesifikasyon limit derişiminde hazırlanmış 2-Amino piridine ait kromatogram.....	27
Şekil 4-12: İmpürite üst spesifikasyon limit derişiminde hazırlanmış Stiren oksite ait kromatogram.....	27
Şekil 4-13: Retensiyon zamanını tayin etmek için hazırlanmış derişik 2-Amino piridin ait kromatogram.....	27
Şekil 4-14: Retensiyon zamanını tayin etmek için hazırlanmış derişik Stiren oksite ait kromatogram.....	28
Şekil 4-15: Feniramidol HCl doğrusallık grafiğı.....	31

Şekil 4-16: Başlangıç numunesine ait kromatogram	37
Şekil 4-17: Oksidatif bozundurma numunesine ait kromatogram	38
Şekil 4-18: Asidik bozundurma numunesine ait kromatogram	38
Şekil 4-20: Isı ve nem bozundurması numunesine ait kromatogram.....	39
Şekil 4-21: Bazik bozundurma numunesine ait kromatogram.....	39



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

EMA: Avrupa Tıbbi Ürünler Ajansı

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

HPLC: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

ICH: Uluslararası Harmonizasyon Konferansı

Rs: Ayrılma Faktörü

RSD: Bağlı Standart Sapma

Rt: Alıkonma Zamanı



ÖZET

Gökhan Bayrak (2019). Feniramidol HCl'in farmasötik preparatlarda HPLC ile tayini, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Bu tez çalışması kapsamında feniramidol hidroklorürün farmasötik preparatlarda tayini için yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemi kullanılarak bir miktar tayini metodu geliştirilmiş ve geliştirilen metodun validasyonu başarı ile tamamlanmıştır. Kromatografik ayırmalar, C18 kolonda hareketli faz olarak metanol: su (%0,1 Trifloroasetik asit) (40:60, h/h) kullanımıyla, 1.0 mL/dak. akış hızında, 310 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Doğrusal aralık 80 – 120 mcg/ml arasında bulunmuş, tayin edebilme sınırı (LOD) ve gözlenebilme sınırı (LOD) sırasıyla 1.65 mcg/mL ve 5.50 mcg/mL elde edilmiştir. Günler arası tekrarlanabilirlik sırasıyla %98,66 ve %98,63 olarak bulunmuştur. Tabletlerden geri kazanım değeri %100,9'dur. Geliştirilen bu metot ilaç etken maddesinin farmasötik preparatlardaki tayinine başarıyla uygulanmış ve ilaç sanayinde rutin analizlere kolaylıkla uygulanabilir niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Feniramidol HCl, Miktar Tayini, HPLC, Validasyon, Farmasötik Preparat

ABSTRACT

Gökhan Bayrak (2019). Determination of feniramidol HCl by HPLC in pharmaceutical preparations, Istanbul University Institute of Health Sciences, Analytical Chemistry, Department. Master Thesis. Istanbul.

Within scope of this thesis, a quantitative method has been developed by using high performance liquid chromatography method for the determination of phenyramidole hydrochloride in pharmaceutical preparations and method was validated. Chromatographic separations were carried out using methanol: water (0.1% Trifluoroacetic acid) (40:60, v / v) as the mobile phase in the C18 column, 1.0 mL / min. at a flow rate and wavelength of 310 nm. The linear range was established between 80 – 120 mcg/mL, limit of quantitation (LOQ) and limit of detection have been obtained as 1.65 mcg/mL and 5.50 mcg/mL. Day to day repeatability was obtained as 98.66% and 98.63%, respectively. The recovery value from the tablets is 100.94%. This method has been successfully applied for the determination of the drug substance in the pharmaceutical preparations and it is easily applicable to routine analyzes in the pharmaceutical industry.

Keywords: Phenyramidole HCl, Quantification, HPLC, Validation, Pharmaceutical Preparation

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Feniramidol HCl, $C_{13}H_{14}N_2O \cdot HCl$ kapalı kimyasal adı, molekül ağırlığı 214,263 g/mol ve açık adı 1-fenil-2-(piridin-2-ilamino) etanol hidroklorür ile adlandırılan bir bileşiktir. [1] $C_{13}H_{14}N_2O$ formülü ilk defa 1959 yılında Journal of the American Chemical Society dergisinde farklı tipteki ağrıların dindirilmesi konusunda kullanılabileceği bildirilmiştir. Molekülün bir adet kiral merkez atomu mevcuttur. [2] Feniramidol propandiol türevi, orta derecede etkili, non-narkotik analjezik ve non sedatif miyorelaksan ilaçlardandır [3]. İnternöronal blokaj yapması yolu ile kas gevşetici aktivitesi göstermektedir. Emilimi takiben uygulanan dozun çoğunu kas kütlesi tutar ve yavaş yavaş dolaşıma bırakılır. Feniramidol karaciğerde glukronik asit ile konjuge olur ve feniramidol glukronit olarak idrarla atılır. İlacın bir kısmı ise safra aracılığıyla dışkı ile atılır. 1960 yılında ilk klinik uygulanması gerçekleştirilmiştir. Oral solid dozaj formu ve enjeksiyonluk dozaj formları mevcuttur [4].

Feniramidolün analiz yöntemleri ile ilgili literatürde bazı çalışmalara rastlanmıştır. Bunlardan ilkinde çalışmada oldukça pahalı bir yöntem olan kütle spektrometeresi kullanılmıştır. [5] Farmasötik preparatlar için rutin uygulamaya yönelik HPLC ile bir metod literatürde bulunmamaktadır.

Bu konudaki çalışmamızda, her analiz laboratuvarında kolaylıkla bulunabilen ve kütle spektroskopisine göre daha ucuz olan UV/PDA dedektörü kullanarak bir analiz yöntemi geliştirmeyi ve bu geliştirdiğimiz metodu Feniramidol HCl etken maddesinin farmasötik preparatlardaki analizine uygulanması planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Klinik Farmakolojisi

2.1.1. Etki mekanizması

Santral etkili kas gevşetici ilaçlar çizgili kasların artmış olan tonusunu santral sinir sistemindeki (SSS) etkileriyle azaltıp spazm halindeki kasların gevşemesini sağlayarak etki gösterirler. Çizgili kaslarda spazm oluşmasında iki faktör belirleyici rol oynar. Bunlardan biri kas ve iskelet hastalıklarında periferden gelen duyuşal uyarı kalıbının bozulması, diğeri bazı nörolojik hastalıklarda görüldüğü gibi, omurilikteki motor nöronlar üzerinde etkili supraspinal kaynaklı ekzitatör ve inhibitör tonuslar arasındaki dengenin bozulmasıdır. Santral etkili kas gevşetici ilaçlar periferik refleks yayları üzerinde ve supraspinal inisi yolaklardaki sinapsları etkileyerek çizgili kasların gevşemesini sağlarlar. Feniramidol santral kas gevşetici etkisini omurilikteki polisınaptik refleks yolları üzerinde bulunan ara nöronları inhibe ederek gösterir. Sonuçta polisınaptik refleksler deprese olur. Monosınaptik refleksler üzerinde bir etkisi yoktur. Feniramidol'un santral kas gevşetici etkisinden bağımsız analjezik etkisi de bildirilmiştir. [6]

2.1.2. Emilim

Gastrointestinal kanal emilimini takiben maksimum plazma düzeyine 1 saat sonunda ulaşır.[6]

2.1.3. Dağılım

İskelet kas kütlesinde büyük oranda dağılım göstermekte ve çok yavaş olarak dolaşıma katılmaktadır. [6]

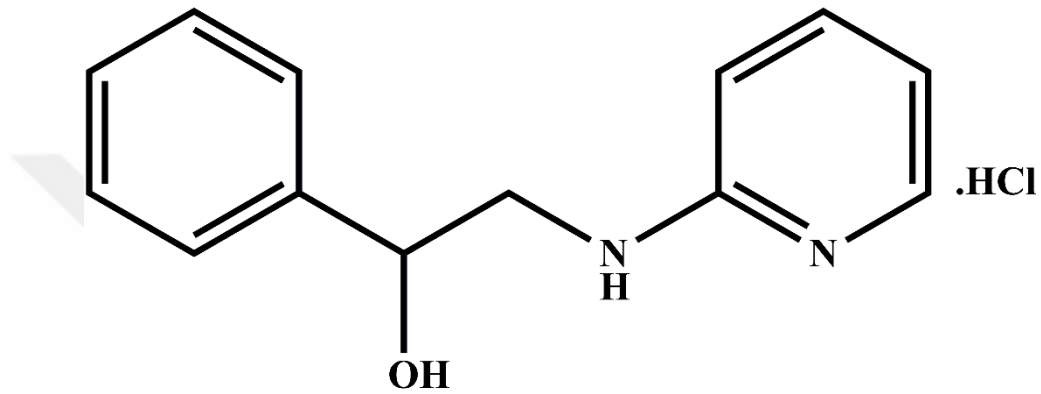
2.1.4. Biyotransformasyon ve Eliminasyon

Sitokrom P450 enzimleri etken maddenin metabolizmasında etki göstermektedir. Karaciğerde glukronik asit ile konjuge olarak ve bir kısmı feniramidol glukronidi halinde idrar yoluyla atılmaktadır. [6]

2.1.5. Atılım

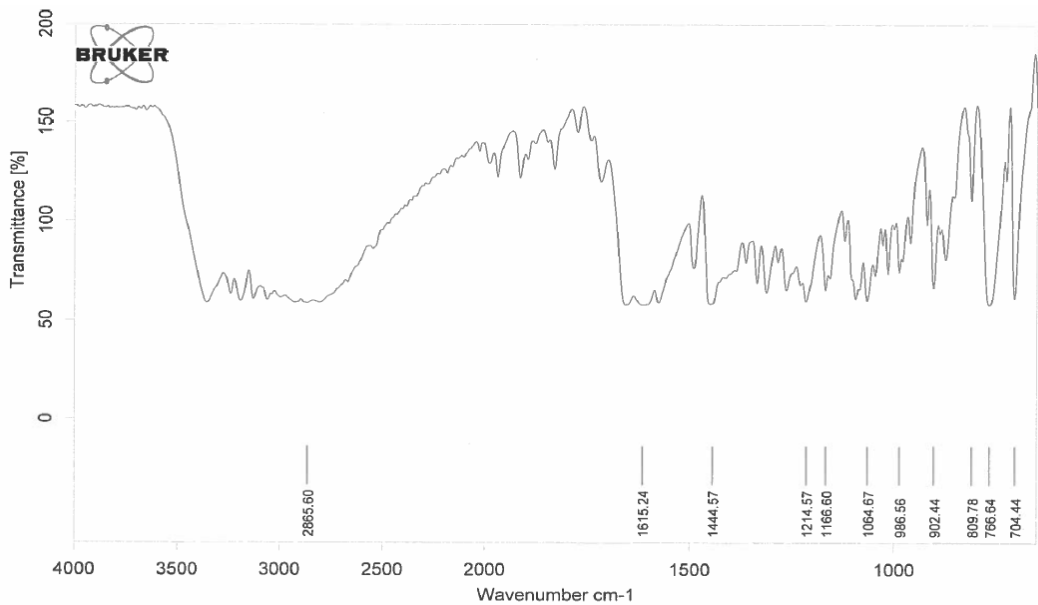
İlaç büyük oranda safra yoluyla ve ince barsaktan bakteriyal glukronida etkisiyle serbest molekül formunda (tuz olmayan etken bazı) olarak enteroheptik dolaşıma katılıp feçesle atılmaktadır. [6]

2.2. Feniramidol HCl'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri



Şekil 2-1: Feniramidol HCl'in kimyasal formülü

Feniramidol HCl kimyasal adı alfa-(2-Piridilaminometil) benzil alkol hidroklorür olan beyaz renkli kristal toz halinde bir piridin türevidir (Şekil 2-1). Molekül ağırlığı 250,7 g/mol'dür. Kapalı formülü $C_{13}H_{14}N_2O \cdot HCl$ 'dir. Suda ve fizyolojik pH'daki çözeltilerde serbestçe çözünür.



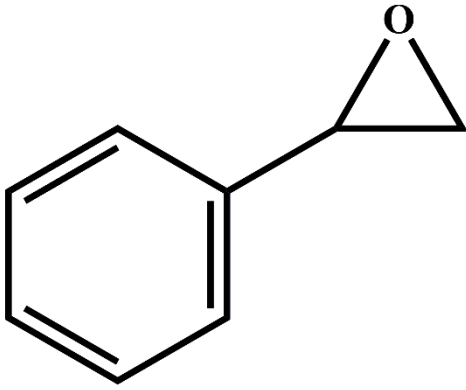
Şekil 2-2: Feniramidol HCl'in 100 mcg/mL derişimde sudaki çözeltisinin IR spektrumu

2.2.1. Feniramidol HCl'in Safsızlıkları

Feniramidol HCl'in bilinen herhangi bir farmakopede monografi bulunmamaktadır. Literatür araştırmalarında ise tanımlı herhangi bir impüritesinde rastlanmamıştır. Bu bağlamda etken madde sentezi konusundaki patentler incelenmiş ve temel olarak iki adet sentez materyali tespit edilmiştir. Bu sentez materyalleri proses impüritesi sınıfında değerlendirilerek, geliştirilecek analitik metodun seçicilik çalışmalarında kullanılacaktır.

2.2.1.1. Stiren 2 Oksid

Kimyasal adı feniloksiran'dır (Şekil 2-3). Kapalı formülü C_8H_8O veya $C_6H_5CHCH_2O$ 'tir. WO 2007/135463 A1 patentine göre Feniramidol HCl'in sentezlenmesinde ön sübstrattır [7]. Molekül ağırlığı 120,15 g/mol'dür. World Health Organization International Agency Research on Cancer, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 82'ye göre muhtemel bir kanser yapıcı materyaldir [8]. Stiren 7 ve 8 oksit, insanlarda, farelerde ve farelerde DNA ile kovalent bağ oluşturur, bakteri ve kemirgen hücrelerinde in vitro gen mutasyonunu indükler, insan hücrelerinde in vitro olarak kromozomal sapmalar, mikronükleus ve kardeş kromatid değişimini indükler ve in vivo olarak farelerde kromozomal sapmaları ve kız kardeşi kromatit değişimini indükler [9]. Ayrıca başka bir kaynakta belirtildiği şekilde, içerdiği gruplara bakıldığı zaman epoksi grubundan ötürü DNA transformasyonuna yol açan alarm gruplarından bulunmakadır [9]. Ayrıca Vega in-silico programı ile yapılan molekül modelleme çalışması ile molekülün mutajen olduğu bulunmuştur. Bu sebeplerden ötürü genotoksik impürite olarak değerlendirilip, seçicilik çalışmalarında limit belirleme çalışmaları ilgili ICH M7(R1) kılavuzunda bulunan Tablo 3'teki karar ağacında belirtilen Acceptable Total Daily Intakes for Multiple Impurities göre kronik ağrı şikayeti olan ve mütemadiyen bu molekülü kullanması gereken bir birey üzerinden en kötü senaryolama ile 5 mcg günlük limit konmuş ve tüm hesaplamalar bunun üzerine yapılmıştır.



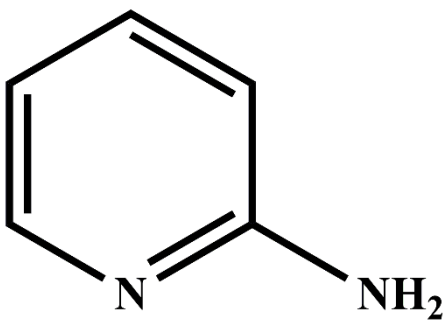
Şekil 2-3: Stiren 2 Oksit'in kimyasal formülü

2.2.1.2. Amino Piridin

Kimyasal adı piridin-2-amin (Şekil 2-4). Kapalı formülü $C_5H_6N_2$ veya $NH_2C_5H_4N$ 'dir.

US 3,165,527'e göre Feniramidol HCl'in sentezlenmesinde kullanılan bir başka ön sübstrattır [10]. Molekül ağırlığı 94,12 g/mol'dür. Genotoksik alarm veren bir grup bulunmamaktadır. Vega in-silico ile yapılan çalışmalarda bunu desteklemektedir.

Bu bağlamda ICH Q3B (R2) kılavuzu ek 1 karar ağacına göre, Feniramidol HCl'in maksimum günlük alım dozunun 800 mg olduğu göz önüne alındığında, 2-amino piridin bitmiş ürünlerdeki impürite limit %0,2 olarak karşımıza çıkmaktadır. Tüm hesaplamalar bu şekilde yapılacaktır [11].



Şekil 2-4: 2-Amino Piridin kimyasal formülü

2.3. Geliştirilmiş Analitik Yöntemler

2.3.1. HPLC Yöntemleri

WO 2007/135463 patentinde Feniramidol HCl'in kiral safsızlık tayinine dair bir metoda rastlanmıştır. Bu çalışmada α_1 – acid glycoprotein 100 x 4.0 mm kolon ile %4 tetrahidrofuran'ın 10 mM pH 7 fosfat tamponu kullanılmıştır. Dalga boyu 225 nm ve numune derişimi 20 mcg/mL olarak tanımlanmıştır [7].

2.3.2. HPLC-Kütle Spektroskopi Yöntemleri

Hakan Ergün ve arkadaşları bel ağrısı bulunan hastalarda oral ve intramasküler doz uygulamalarının etkinlik, güvenlik ve farmakokinetik parametreler açısından karşılaştırılmasını amaçlayan çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmalarda belirtilen HPLC metodu, Hypurity C₁₈ kolonu (50*4,6 mm, 5 mikron) ve MRM positive dedektörü analiz için kullanılmıştır. Hareketli faz pH 3,5'de asetonitril: 2 mM amonyum asetat (h/h 90:10) dan oluşmuştur. Akış hızı 0,90 mL/dk olup feniramidol'ün elüsyon zamanı 0,65 dakika ve metaprolol'ün elüsyon zamanı 1,5 dakika olarak bulunmuştur [12].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez çalışması Abdi İbrahim İlaç Sanayi ve A.Ş. Esenyurt Ar-Ge merkezinde 2018-2019 yılları arasında yapılmıştır.

3.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler

Feniramidol HCl (OPTRIX, India)

Stiren Oksit (OPTRIX, India)

2-Aminopiridin (OPTRIX, India)

Feniramidol HCl 400 mg Film Kaplı Tabletler (Seri no: 6401805P1 ve 6401805P2)

Trifloroasetik asit (Sigma-Aldrich)

Metanol (HPLC grade) (Merck)

Yüksek saflıkta su (HPLC saflıkta)

3.2. Çözeltiler

3.3. Hareketli Faz

Hareketli faz metanol: su (%0,1Trifloroasetik asit) (40:60, h/h) karışımından oluşur. Degaze edildikten sonra 0,45 µm membran filtreden süzülür.

3.4. Feniramidol HCl Miktar Tayini Analizi İçin Hazırlanan Çözeltiler

Feniramidol HCl Standart Hazırlığı: 20 mg Feniramidol HCl standardı tartıldı. 200 mL'lik balon jöjeye aktarılır. Yaklaşık 100 mL distile su ilave edilip, 10 dk. ultrasonik banyoda çözüldükten sonra hacmine distile su ile tamamlanır. ($C_{\text{Feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL).

Numune Hazırlığı: 20 adet Feniramidol HCl 400 mg film kaplı tablet numunesi tartılır ve ortalama tablet ağırlığına denk gelen (yaklaşık 555 mg tablet tozu) 200 mL balon jöjeye aktarılır ve 100 mL distile su ile 10 dk. ultrasonik banyo yardımıyla çözünür. Hacmine aynı distile su ile tamamlanır. Bu çözeltiden 2,5 mL alınarak 50 mL lik balon jöjeye aktarılır ve distile su ile hacmine tamamlanır. ($C_{\text{Feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL)

3.5. Aletler ve Diğer Gereçler

1. Waters - Alliance HPLC Sistemi UV ve PDA dedektörlü (ABD)

Seperation Module 2695 (Numuneleyici, enjeksiyon ünitesi, pompa, degazer)

Kolon Fırını 186001791

Dedektör UV/Visible 2487

Dedektör PDA (Photodiode Array Dedector) 2996

Empower Yazılımı (Versiyon 2)

Empower Yazılımı (Versiyon 3)

2. Yazılımlar:

MS Office XP Excel

MS Office XP Word

Cambridge ChemDraw programı (Cambridge, ABD)

Vega in-silico platform Version 1.1.4

3. HPLC Kolonları:

Agilent Zorbax Eclipse XDB C8 (150 mm x 4,6 mm iç çap, 5 µm) (Kaliforniya, ABD)

Waters Symetry C18 (150 mm x 4,6 mm iç çap, 5 µm) (Kaliforniya, ABD)

4. Elga Purelab Flex 2 Su Saflaştırma Sistemi (Saint-Maurice, Fransa)

5. Millipore hareketli faz süzme filtresi 0,45 µm (Massachusetts, ABD)

6. Analitik Teraziler

Mettler Toledo AX204 Terazi (Goettingen, Almanya)

Mettler Toledo UMX-2 Terazi (Goettingen, Almanya)

7. Transonic 890 Ultrasonik Banyo

8. Waters Vida kapaklı HPLC Vialleri 2 mL (Massachusetts, ABD)

9. Cam Malzemeler:

Isolab Balonjoje (5, 10, 100, 200, 250 mL) (Wertheim, Almanya)

Isolab Mezür (500 mL, 1000 mL) (Wertheim, Almanya)

Isolab Beher (500 mL, 1000 mL) (Wertheim, Almanya)

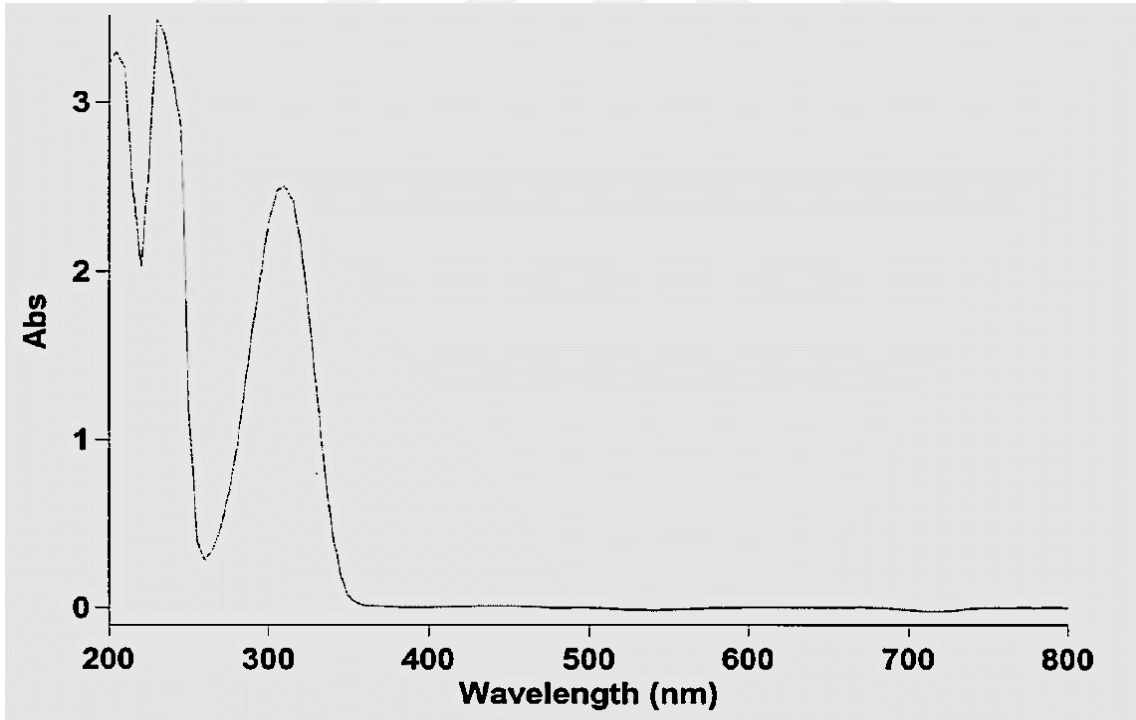
3.6. Analiz Yönteminin Geliştirilmesi ile İlgili Çalışmalar

3.7. Dedektör, Kolon ve Hareketli Faz Seçimi

Yöntem geliştirme ve validasyon çalışmaları Abdi Ibrahim Esenyurt Ar-Ge Merkez’inde gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar esnasında Waters marka Alliance modeli HPLC cihazları kullanılmıştır. Bu amaçla aşağıdaki çalışmalar yapılmıştır.

3.7.1.1. Dedektör ve Dalga Boyu Seçimi

Molekül yapısındaki UV ışığı absorblayabilen benzen ve piridin yapılarına istinaden metod geliştirme çalışmalarında UV/VIS ve PDA dedektörlerin kullanılması ön görülmüştür. Bu bağlamda 100 mcg/mL’lik standart çözeltisi spektrofotometrede dalga boyu taraması yapılmış ve 204,9 nm, 230,1 nm ve 310.0 nm’de üç pik elde edilmiştir. Daha geniş, simetrik ve analitik çalışmalar için yeterli bir absorbans değerine sahip bir pik veren 310 nm ile geliştirme çalışmalarına başlanmasına karar verilmiştir.



Şekil 3-1: Feniramidol HCl 100 mcg/mL çözeltisinin UV-VIS spektrumu

Tablo 3-1: Feniramidol HCl 100 mcg/mL çözeltisinin UV-VIS spektrumundan elde edilen değerler

Pik	Dalga Boyu (nm)	Absorbance
1	204,9	3,293
2	230,1	3,483
3	310,0	2,505

Çalışmalar sırasında kullanılan standart çözeltilerinin hazırlanışı:

Feniramidol HCl Standart Hazırlığı: 20 mg Feniramidol HCl standardı tartılır. 200 mL'lik balon jöjeye aktarılır. Yaklaşık 100 mL distile su ilave edilip, 10 dk. ultrasonik banyoda çözüldükten sonra hacmine distile su ile tamamlanır. ($C_{\text{Feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL).

3.7.1.2. Çözücünün seçilmesi

Metot geliştirmesi hedeflenen Feniramidol HCl 400 mg Film Kaplı tabletin kalitatif formülünde etken madde ile beraber ürün formülasyonunda yer alan yardımcı maddelerin çözünürlükleri ve birim formüldeki yüzdeleri göz önüne alınmıştır.

Feniramidol HCl fizyolojik pH aralığında suda serbestçe çözünür ve film kaplı tablet ağırlığının yaklaşık %72'sini oluşturmaktadır. Birim formülde bulunan diğer yardımcı maddeler Polietilen Glikol 4000, Mısır Nişastası, Düşük sübstitiyeli hidroksipropilmetil selüloz, Talk, Povidon K30, Magnezyum Stearat, Sheffcoat Yellow PVA 30608649 kaplama materyali (ticari karışım olarak: Polivinil Alkol, Kinolin sarısı alüminum lake, Polietilen Glikol 3350, Titanyum Dioksit, Talk, Polietilen Glikol 8000, Sarı Demir Oksit) bulunmaktadır. Bunlardan çoğu suda çözünmekle beraber, suda çözünmeyenler suda kolayca disperse olabilen yardımcı maddelerdir ve etken maddenin ürün matrisinden geri kazanılmasını engellemeyecekleri ön görülerek çözücü olarak metot geliştirme çalışmalarında su seçilmiştir.

3.7.1.3. HPLC Kolonu Seçimi

Literatürde HPLC ile doğrudan tayin metoduna rastlanmadığından ötürü, ilk etapta ters faz kromatografisinde ilk seçim olan C18 ve C8 kolonlarının analitik metod geliştirme çalışmalarında kullanılmasına karar verilmiştir. Tablo 3-2’de detayları verilen kolonların özellikleri bulunmaktadır. 150 mm uzunluğunda, 4,6 mm çapında 5 µm partikül boyunda Waters Symmetry C18 kullanılarak bölüm 3.4.3 (deneme çalışmaları) de elde edilen metod şartlarında bölüm 3.4.1.1 de belirtilen Feniramidol HCl numune çözeltisi hazırlandı ve 10 µl’lik enjeksiyonlar yapılarak alan, kuyruklanma faktörü, teorik plaka sayısı, pik saflığı gibi sistem parametreler belirlendi. Elde edilen kromatogramlar 4.1.2’de verilmiştir.

Tablo 3-2: Denemelerde Kullanılan HPLC Kolonlarının Sabit Faz Özellikleri

Kolon	Gözenek çapı (Å)	İç yüzey alanı (m ² /g)	End-capping*	Karbon yükü oranı (%)
Agilent Zorbax Eclipse XDB C8	80	180	Var (Çift)	7.6
Waters Symmetry C18	100	335	Var	19.0

* Daha yüksek pik simetrisi eldesi amacıyla, C18 polimerlerinin açık uçları kapmak suretiyle yapmış olduğu kimyasal işlem.

3.7.1.4. Metod Geliştirme Çalışmaları

Yukarıda bahsi geçen detektör, çözücü ve kolonlar ile metod deneme çalışmaları 3.5.1’de bahsi geçen şekilde hazırlanan numune çözeltisi ile başlatıldı. Mobil faz denemeleri, kolon fırını sıcaklığı belirlenmesi, akış hızının belirlenmesi kromatogramlarda elde edilen kolon basıncı, pik çıkış zamanı, pik şekli, pik simetrisi, teorik plaka sayısı vb. parametreler göz önüne alınarak optimize edilmiştir.

Deneme 1:

Hareketli Faz: (Metanol: Distile Su) (400:600, h/h)

Akış Hızı: 1,0 mL/dakika

Kolon fırın sıcaklığı: 25 °C

Enjeksiyon Hacmi: 10 µl

Tablo 3-3: Deneme 1 de elde edilen veriler

Parametre	Ön Görülen Limit	Sonuç
Pik çıkış zamanı	Maks. 5 dk.	19,8 dk.
Pik simetri faktörü	<1,5	1,53
Teorik plaka sayısı	>2000	82

Ön görülen parametrelere uygun bir pik elde edilememiştir. Pik zamanını öne çekmek için kolon fırını sıcaklığı ve akış hızı artırılmıştır.

Deneme 2:

Hareketli Faz: (Metanol: Distile Su) (400:600, h/h)

Akış Hızı: 1,5 mL/dakika

Kolon fırın sıcaklığı: 40 °C

Enjeksiyon Hacmi: 10 µl

Tablo 3-4: Deneme 2 de elde edilen veriler

Parametre	Ön Görülen Limit	Sonuç
Pik çıkış zamanı	Maks. 5 dk.	12,9 dk.
Pik simetri faktörü	<1,5	1,59
Teorik plaka sayısı	>2000	452

Deneme 1 ve Deneme 2 ile değiştirilen kolon sıcaklığı ve akış hızına istinaden elde edilen iyileştirme sınırlı kaldığı için mobil fazın organik oranının değiştirilmesine karar verilmiştir.

Deneme 3:**Hareketli Faz:** (Metanol: Distile Su) (500:500 h/h)**Akış Hızı:** 1,5 mL/dakika**Kolon fırın sıcaklığı:** 40 °C**Enjeksiyon Hacmi:** 10 µl**Tablo 3-5: Deneme 3 de elde edilen veriler**

Parametre	Ön Görülen Limit	Sonuç
Pik çıkış zamanı	Maks. 5 dk.	5,82 dk.
Pik simetri faktörü	<1,5	1,24
Teorik plaka sayısı	>2000	1396

Mobil faz değişikliği ile pik çıkış zamanı, pik simetri faktörü ve teorik plaka sayısı iyileştirilmiştir. Trifloroasetik asit eklenmesi ile etken madde pikinin önce çekilmesi ve kuyruklanma faktörünün düşürülmesi hedeflenmiştir.

Deneme 4:**Hareketli Faz:** (Metanol: Distile Su: TFA) (400:600:1, h/h/h)**Akış Hızı:** 1,5 mL/dakika**Kolon fırın sıcaklığı:** 40 °C**Enjeksiyon Hacmi:** 10 µl**Tablo 3-6: Deneme 4 de elde edilen veriler**

Parametre	Ön Görülen Limit	Sonuç
Pik çıkış zamanı	Maks. 5 dk	1,42
Pik simetri faktörü	<1,5	1,20
Teorik plaka sayısı	>2000	3047

Mobil faz değişikliği ile pik çıkış zamanı, pik simetri faktörü ve teorik plaka sayısı iyileştirilmiştir. Uygun pik parametleri elde edilen metot şartlarında, 1,5 mL/dk. kolon akış hızında elde edilen kolon basıncı uzun vadede bu metotla çalışılan kolonların ömrünü kısaltacağı ön görülerek, akış hızının 1,0 mL/dk. olmasına karar verilmiştir.

Deneme 5:**Hareketli Faz:** (Metanol: Distile Su: TFA) (400:600:1)**Akış Hızı:** 1,0 mL/dakika**Kolon fırın sıcaklığı:** 40 °C**Enjeksiyon Hacmi:** 10 µl**Tablo 3-7: Deneme 5 de elde edilen veriler**

Parametre	Ön Görülen Limit	Sonuç
Pik çıkış zamanı	Maks. 5 dk.	2,27
Pik simetri faktörü	<1,5	1,16
Teorik plaka sayısı	>2000	6451

Mobil faz değişikliği ile pik çıkış zamanı, pik simetri faktörü ve teorik plaka sayısı iyileştirilmiştir. Final metot şartları olarak bu denemenin koşulları belirlenmiştir.

3.8. Geliştirme Çalışmaları Sonunda Elde Edilen Analitik Yöntem

Kromatografik Şartlar

Kolon	: Waters Symetry C18 (150 mm × 4.6 mm), 3.5µm
Kolon sıcaklığı	: 40.0 °C
Numune sıcaklığı	: 25.0 °C
Akış hızı	: 1.0 mL/dak
Dalga boyu	: 310 nm
Enjeksiyon Hacmi	: 10.0 µL
Analiz süresi	: 5 dakika

HPLC sistemi

Cihaz	: Waters Alliance HPLC Sistemi
Sistem	: Yüksek basınçlı pompa (LC-20 AD XR)
	: Soğutuculu Otomatik Örnekleyici (SIL-20 AC HT)
	: Kolon Fırını (CTO-10 AS VP)
	: Diode Array Dedektör (Nexera X2 SPD-30A)
	: Empower Yazılımı (Version 2)
	: Empower Yazılımı (Version 3)

3.9. Feniramidol HCl miktar tayini analizi

Feniramidol HCl Standart Hazırlığı: 20 mg Feniramidol HCl standardı tartılır. 200 mL'lik balon jöjeye aktarılır. Yaklaşık 100 mL distile su ilave edilip, 10 dk ultrasonik banyoda çözüldükten sonra hacmine distile su ile tamamlanır. ($C_{\text{Feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL). Standart çözelti 1 ve standart çözelti 2 olmak üzere iki defa hazırlanır.

Numune Hazırlığı: 20 adet Feniramidol HCl 400 mg film kaplı tablet numunesi tartılır ve ortalama tablet ağırlığına denk gelen (yaklaşık 555 mg tablet tozu) 200 mL balon jöjeye aktarılır ve 100 mL distile su ile 10 dk. ultrasonik banyo yardımıyla çözünür. Hacmine aynı distile su ile tamamlanır. Bu çözeltiden 2,5 mL alınarak 50 mL'lik balon jöjeye aktarılır ve distile su ile hacmine tamamlanır. ($C_{\text{Feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL).

Yöntem

- Standart çözelti 1, 2 kez enjekte edilir.
- Standart çözelti 2, 6 kez enjekte edilir ve sistem uygunluğu parametreleri kontrol edilir.
- Numune çözeltileri 2'şer kez enjekte edilir

Sistem Uygunluk

- Standart Çözelti 2'nin ardışık altı enjeksiyonundan elde edilen pik alanlarının arasındaki bağıl standart sapma değeri % 2.0'den küçük olmalıdır
- Standart çözelti ve kontrol standart çözelti arasındaki alan/miktar uyum oranı % 98.0 ile % 102.0 arasında olmalıdır.

Hesaplama

Aşağıda verilen ve denklem haline getirilmiş formül ile numune içindeki Feniramidol HCl miktarı hesaplanır (Denklem 3-1):

$$\frac{A_N}{A_S} \times \frac{T_s}{200} \times P \times \frac{200}{T_N} \times \frac{50}{2,5} \times \frac{OTA}{E} \times 100 \quad (\text{Denklem 3-1})$$

A_N : Numune çözeltisinden elde edilen pik alanı.

A_S : Standart çözeltisi 2'nin ardışık 6 enjeksiyonundan elde edilen ortalama pik alanlarının aritmetik ortalaması.

P : Standardının % as is potensi.

T_s : Standart tartımı, mg.

T_N : Numune tartımı, mg.

OTA : Ortalama tablet ağırlığı, mg.

E : Feniramidol HCl etiket değeri (400 mg)

3.10. Geliştirilen Yöntemin Validasyonu

Geliştirilmesi tamamlanan yöntemin validasyonu ICH Kılavuzu Q2 (R1)'ye göre yapıldı [13].

3.11. Seçicilik

Seçicilik, numune matrisinde bulunan diğer bileşenlerin varlığında ilgilenilen analitin doğru, spesifik ve ayrı olarak ölçülebilmesidir.

Kabul kriteri: Numune matrisi bileşenleri ana pik ile girişim yapmamalıdır.

2-Amino piridin stok çözeltisi: 2,00 mg 2-Amino piridin standardı tartıldı ve 20 mL'lik balon jöjeye aktarıldı, etanol ile çözülür ve etanol hacmine tamamlandı. Bu çözeltiden 1 mL alınarak 20 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine etanol ile tamamlandı.

(C_{2-Amino piridin}: 5 mcg/mL)

2-Amino piridin standart çözeltisi: 2-Amino piridin stok standart çözeltisinin 2 mL'si 50 mL'lik balon jöjeye alınır ve hacmine distile su ile tamamlanır.

(C_{2-Amino piridin}: 0, 2 mcg/mL)

Stiren oksit stok çözeltisi: 3,15 mg Stiren oksit standardı tartıldı ve 20 mL'lik balon jöjeye aktarıldı, metanol ile çözüldü ve hacmine tamamlandı. Bu çözeltiden 2 mL alınarak 100 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine metanol ile tamamlandı. Bu çözeltinin 1 mL'si 100 mL'lik balon jöjeye alındı ve hacime metanol ile tamamlandı.

(C_{Stiren oksit}: 0,0315 mcg/mL)

Stiren oksit standart çözeltisi: 2-Amino piridin stok standart çözeltisinin 2 mL'si 100 mL'lik balon jöjeye alınır ve hacmine metanol ile tamamlanır.

(C_{Stiren oksit}: 0,00063 mcg/mL)

3.12. Doğrusallık

Analitik metodların doğrusallığı, numune içerisindeki analitin belirli bir konsantrasyon aralığında, elde edilen test sonucu ile doğrusal olması olarak açıklanır.

Feniramidol HCl Stok Standart Hazırlığı: 20 mg Feniramidol HCl standardı tartılır. 20 mL'lik balon jöjeye aktarılır. Yaklaşık 10 mL distile su ilave edilip, 10 dk. ultrasonik banyoda çözüldükten sonra hacmine distile su ile tamamlanır. ($C_{\text{Feniramidol HCl}}$: 1000 mcg/mL)

%50 standart çözeltisi: 1,0 mL stok standart çözelti, 20 mL balon jöjeye alındı ve hacmine distile su ile tamamlandı. ($C_{\text{Feniramidol HCl}}$: 50 mcg/mL)

%80 standart çözeltisi: 2,0 mL stok standart çözelti, 25 mL balon jöjeye alındı ve hacmine distile su ile tamamlandı. ($C_{\text{Feniramidol HCl}}$: 80 mcg/mL)

%90 standart çözeltisi: 1,8 mL stok standart çözelti, 20 mL balon jöjeye alındı ve hacmine distile su ile tamamlandı. ($C_{\text{Feniramidol HCl}}$: 90 mcg/mL)

%100 standart çözeltisi: 2,0 mL stok standart çözelti, 20 mL balon jöjeye alındı ve hacmine distile su ile tamamlandı. ($C_{\text{Feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL)

%110 standart çözeltisi: 2,2 mL stok standart çözelti, 20 mL balon jöjeye alındı ve hacmine distile su ile tamamlandı. ($C_{\text{Feniramidol HCl}}$: 110 mcg/mL)

%120 standart çözeltisi: 3,0 mL stok standart çözelti, 25 mL balon jöjeye alındı ve hacmine distile su ile tamamlandı. ($C_{\text{Feniramidol HCl}}$: 120 mcg/mL)

İşlem: Her bir standart çözeltinin derişimler ve ardışık 3 er enjeksiyonundan elde edilen alanları, en küçük kareler yöntemine göre doğrusallık denklemleri elde edildi. Sonuçlar ve doğrusallık grafikleri Bölüm 4.2.2'de verilmiştir.

3.13. Tayin Sınırı (LOQ) ve Gözlenebilme Sınırı (LOD)

Feniramdol HCl için LOQ ve LOD değerleri kalibrasyon doğrusunun eğimi (m) ve y eksenini kestiği nokta verileri kullanılarak aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplandı.

$$LOQ = \frac{10 \sigma}{m} \qquad LOD = \frac{3 \sigma}{m}$$

σ : Kalibrasyon doğrusunun y kesişiminin standart sapması

m: Kalibrasyon doğrusunun eğimi

Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.3.'te gösterilmiştir.

3.14. Doğruluk

Analitik metodun doğruluğu, numune matrisinden miktarı bilinen miktarda eklenmiş etken maddenin, geri kazanılması ve bilinen değere yakınlığıdır.

Feniramidol HCl Standart Hazırlığı: 20 mg Feniramidol HCl standardı tartılır. 200 mL'lik balon jöjeye aktarılır. Yaklaşık 100 mL distile su ilave edilip, 10 dk. ultrasonik banyoda çözüldükten sonra hacmine distile su ile tamamlanır. ($C_{\text{Feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL). Standart çözelti 1 ve standart çözelti 2 olmak üzere iki defa hazırlanır.

Numune Hazırlığı: Tablo 3.7'de belirtilen ortalama tablet ağırlığına denk gelen (yaklaşık 555 mg) miktarlardaki etken madde ve plasebolar, tartılır ve 200 mL balon jöjeye aktarılır ve 100 mL distile su ile 10 dk. ultrasonik banyo yardımıyla çözünür. Hacmine aynı distile su ile tamamlanır. Bu çözeltilerden 2,5 mL alınarak 50 mL'lik balon jöjeye aktarılır ve distile su ile hacmine tamamlanır. ($C_{\text{Feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL)

Tablo 3-8: Aktif madde doğruluk numuneleri hazırlama tablosu

Doğruluk Seviyesi	Etken Madde Tartımı (mg)	Plasebo Miktarı (mg)
% 80 seviyesinde numune hazırlığı 1	124	320
% 80 seviyesinde numune hazırlığı 2	124	320
% 80 seviyesinde numune hazırlığı 3	124	320
% 100 seviyesinde numune hazırlığı 1	155	400
% 100 seviyesinde numune hazırlığı 2	155	400
% 100 seviyesinde numune hazırlığı 3	155	400
% 120 seviyesinde numune hazırlığı 1	186	480
% 120 seviyesinde numune hazırlığı 2	186	480
% 120 seviyesinde numune hazırlığı 3	186	480

$$\text{Geri Kazanım} = \frac{\text{Deneysel Konsantrasyon}}{\text{Teorik Konsantrasyon}} \times 100 \quad (\text{Denklem 3-2})$$

Geri kazanım sonuçları Bölüm 4.2.3’de verilmiştir.

3.15. Kesinlik – Tekrarlanabilirlik

Kesinlik, analitik bir metodun homojen olan bir numune için yapılan çoklu örneklemelerde analiz edildiğinde elde edilen bireysel test sonuçları arasındaki uyum derecesidir.

Bölüm 3.5’te tarif edilen şekilde hazırlanan standart ve 6 adet numune çözeltieri analiz edildi. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.4.2’ de verilmiştir.

Kabul Kriteri: Etken madde miktar tayini sonuçları arasında bağıl standart sapma değeri %2,0 den küçük olmalıdır.

3.16. Kesinlik – Sistem Kesinliği

Kesinlik, analitik bir metodun homojen bir numunenin veya standart çözeltisinin tekrarlı enjeksiyonlarından elde edilen sonuçların arasındaki uyum derecesidir.

Bölüm 3.5'te tarif edildiği şekilde 6 standart çözeltisi hazırlandı ve analiz edildi. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.4.1' de verilmiştir.

Kabul Kriteri: Etken madde miktar tayini sonuçları arasında bağıl standart sapma değeri %2,0 den küçük olmalıdır.

3.17. Kesinlik – Ara Kesinlik

Farklı günler, analistler, ekipman vb. gibi rastgele olaylardan kaynaklanan laboratuvar içi değişikliklerden elde edilen sonuçlar tek tek değişkenlerin etkilerinin (varsa) izlenebilmesi için deneysel tasarımıdır.

Bölüm 3.5'te anlatıldığı şekilde hazırlanan standart ve numune çözeltileri hazırlandı ve analiz edildi. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.4.3' de verilmiştir.

Kabul Kriteri: Etken madde miktar tayini sonuçları arasında % RSD değeri %2,0 den az olmalıdır.

3.18. Dayanıklılık

Analitik bir metodun sağlamlığı, yöntem parametrelerinde küçük, ancak kasıtlı değişikliklerden etkilenmeden kalma kapasitesinin bir ölçüsüdür ve normal kullanım sırasında güvenilirliğinin bir göstergesidir.

Bölüm 3.5'te tarif edildiği şekilde hazırlanan numune ve standart çözeltileri, normal analiz koşulları yanında değiştirilmiş analiz koşullarında (farklı akış hızları, farklı kolon fırını sıcaklıkları, farklı dalga boyları) analiz edildi. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.5'de verilmiştir.

Kabul Kriteri: Etken madde miktar tayini normal şartlar ile elde edilen analiz ve değiştirilmiş her bir parametrenin analizi sonuçları arasında bağıl standart sapma değeri %2,0 den küçük olmalıdır.

3.19. Çözelti Stabilitesi

Numune ve standart çözeltilerinin belirlenen koşullarda ne kadar süre ile stabil kaldığının ve ne kadar süre kullanılabilir olduğunun ölçüldüğü çalışmalardır.

Bölüm 3.5'te tarif edildiği şekilde hazırlanan numune ve standart çözeltileri analiz edildi. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.6'da verilmiştir.

Kabul Kriteri: Numune ve standart çözeltilerinin farklı zamanlarda ölçülen alan değerleri ile başlangıç zamanı karşılaştırıldığında fark %2'yi geçmemelidir.

3.20. Stress Çalışması

Safsızlık veya bozunma ürünü standartları mevcut değilse ve/veya geliştirilen analitik metodun farklı stress koşullarında maruz kalmış numune matrisinde oluşabilecek safsızlıklar ile etken maddenin spesifik olarak ayrılıp ayrılamadığının ölçüldüğü çalışmalardır. Örnek olarak uygulanabilecek stress koşulları, ışık, ısı ve nem, asit / baz hidrolizi ve oksidasyondur.

Bölüm 3.5'te anlatıldığı şekilde hazırlanan standart çözeltileri hazırlandı ve numune çözeltileri asitik, bazik, hidroliz ve sıcaklık-nem koşullarında stress koşullarına tabi tutulan numuneler analiz edildi. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.7'de verilmiştir.

Kabul Kriteri: Numune çözeltilerinden elde edilen piklerde purity angle değeri purity treshold değerinden küçük olmalıdır.

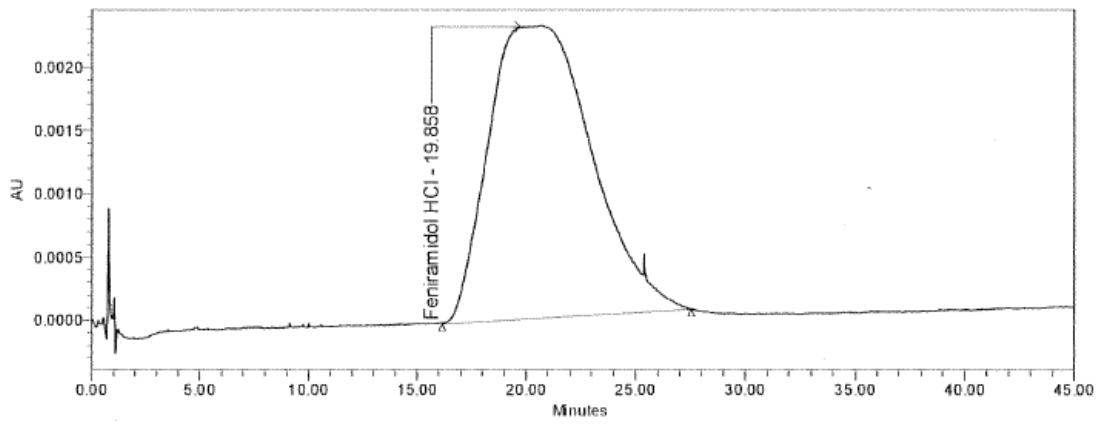
4. BULGULAR

4.1. Analiz Yönteminin Geliştirilmesi ile İlgili Bulgular

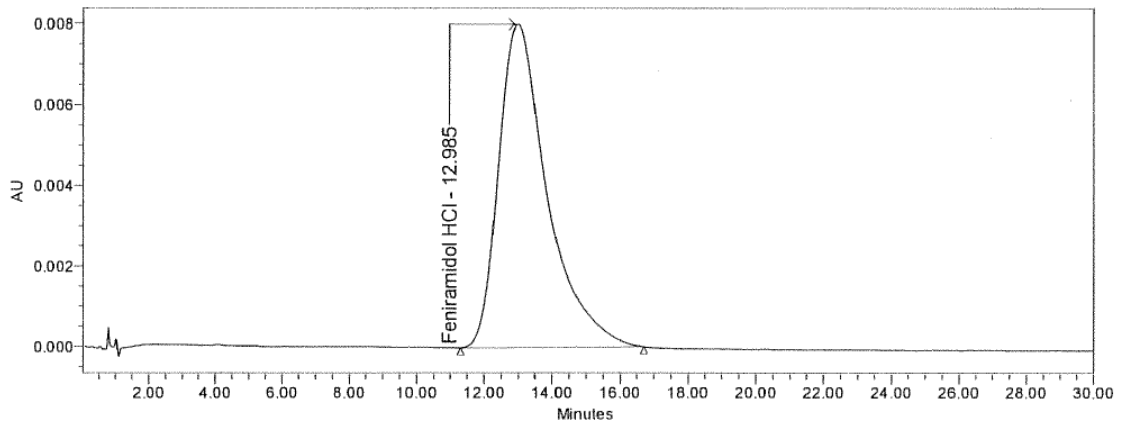
4.1.1. Yapılan Geliştirme Çalışmaları

4.1.2. Metod Geliştirmeye Ait Bulgular

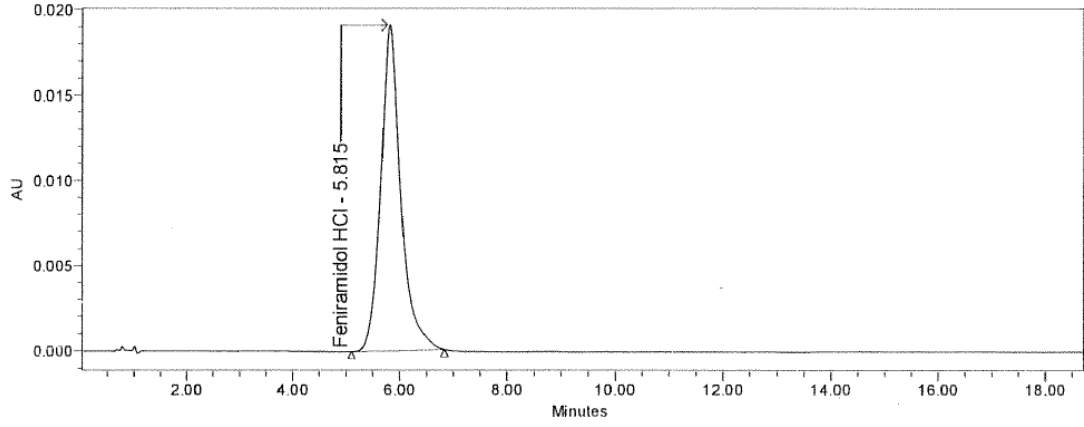
Denemeler sonucunda elde edilen kromatogramlar Şekil 4-1, 4-2, 4-3, 4-4 ve 4-5'te ve ayırım faktörleri Tablo 3-3, 3-4, 3-5, 3-4 ve 3-5'de verilmiştir.



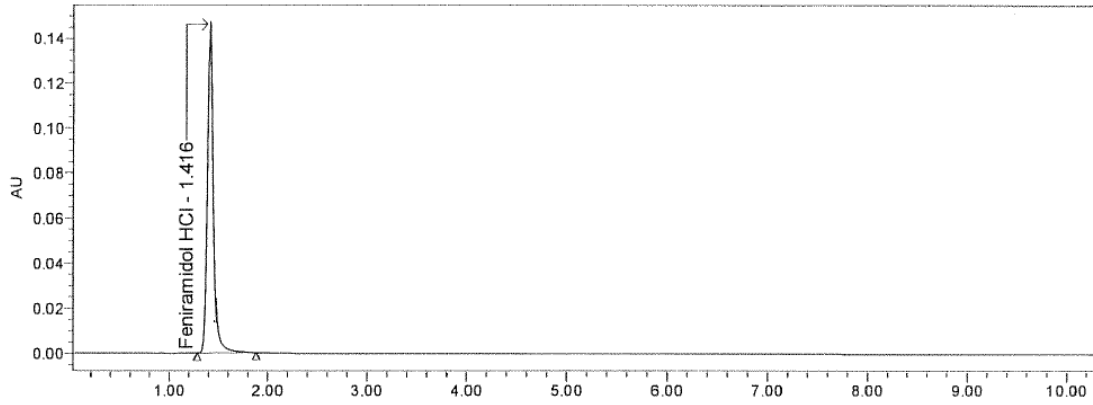
Şekil 4-1: Deneme 1 ile elde edilen HPLC kromatogramı ($C_{\text{feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL)



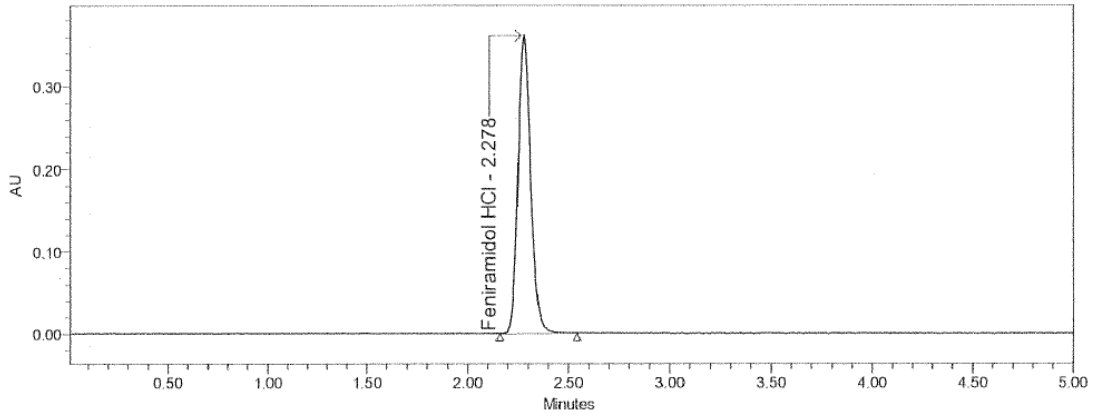
Şekil 4-2: Deneme 2 ile elde edilen HPLC kromatogramı ($C_{\text{feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL)



Şekil 4-3: Deneme 3 ile elde edilen HPLC kromatogramı ($C_{\text{feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL)



Şekil 4-4: Deneme 4 ile elde edilen HPLC kromatogramı ($C_{\text{feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL)

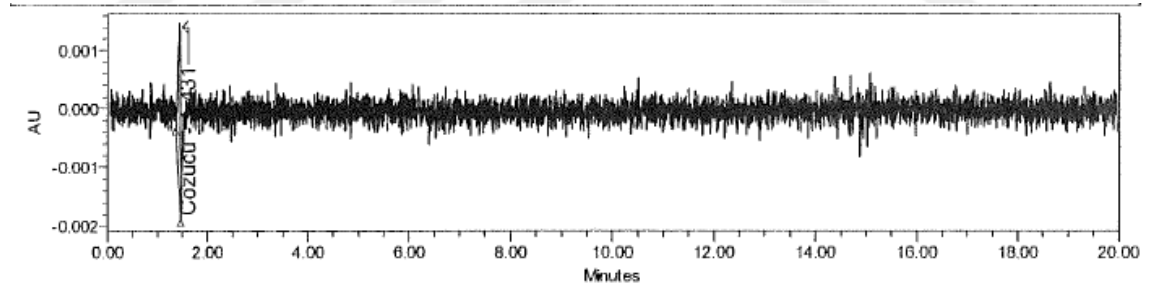


Şekil 4-5: Deneme 5 ile elde edilen HPLC kromatogramı ($C_{\text{feniramidol HCl}}$: 100 mcg/mL)

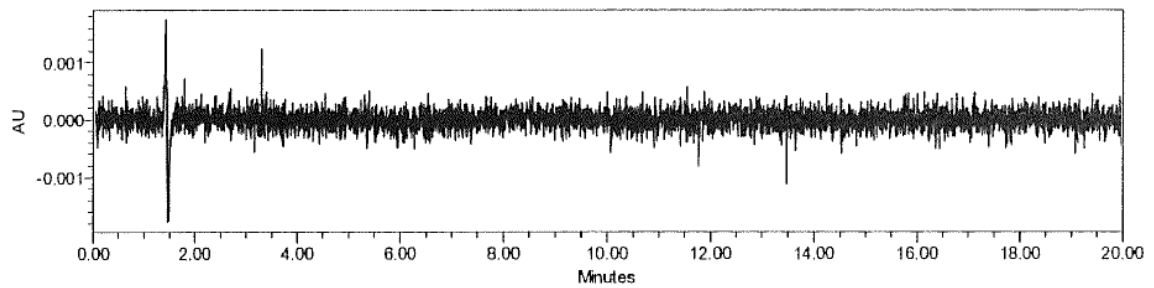
4.2. Geliştirilen Yöntemin Validasyonu

4.2.1. Seçicilik

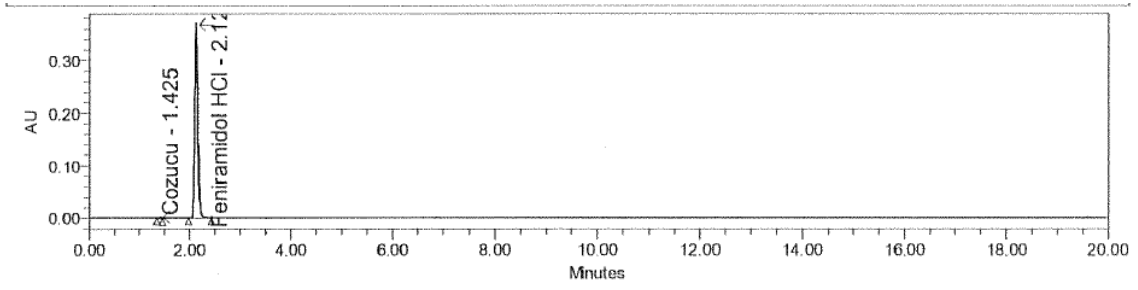
Seçicilik enjeksiyonlarından elde edilen kromatogramlarda, ana pik ile her hangi bir pikin girişimi olmadı belirlenmiştir. Çözeltilere ait kromatogramlar Şekil 4-6'da verilmiştir.



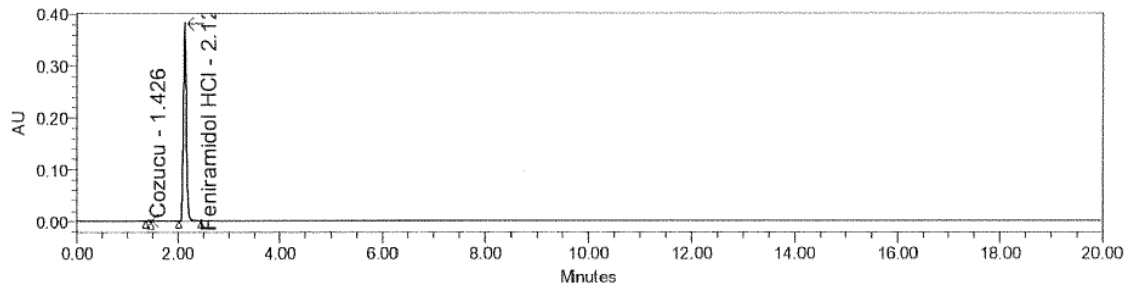
Şekil 4-6: Çözücüye ait kromatogram



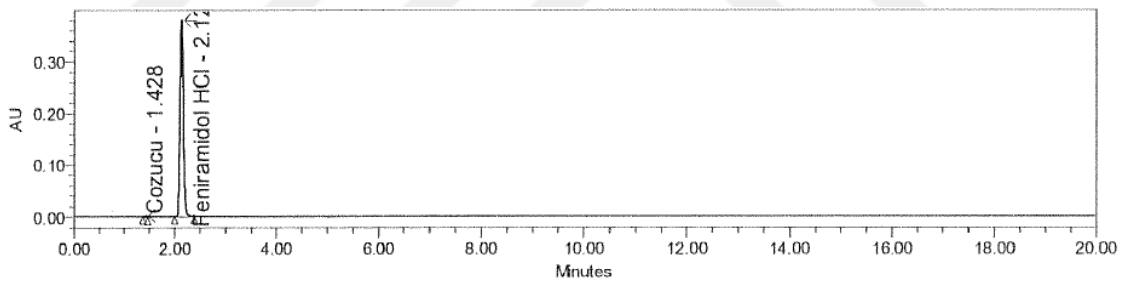
Şekil 4-7: Plaseboya ait kromatogram



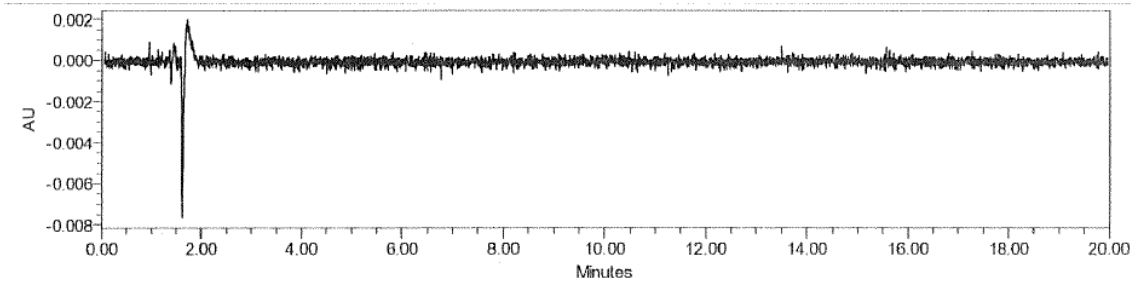
Şekil 4-8: Standarta ait kromatogram



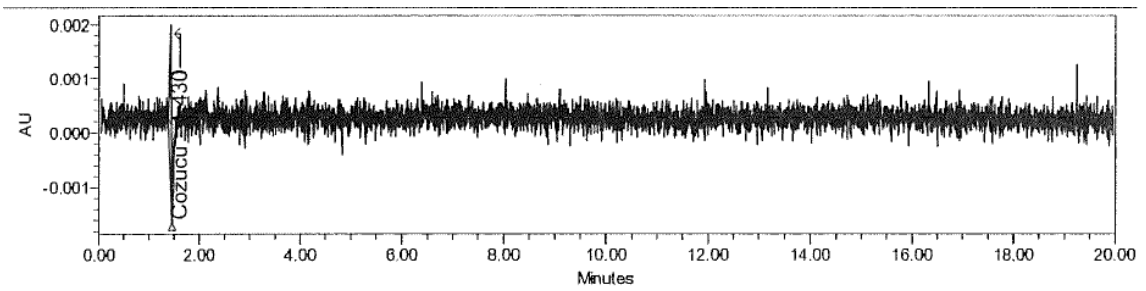
Şekil 4-9: Numuneye ait kromatogram



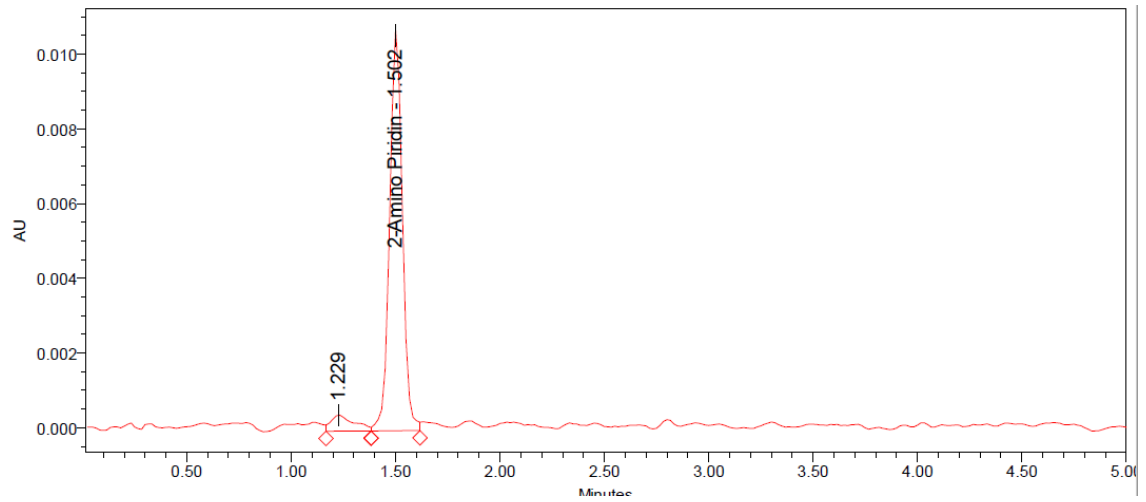
Şekil 4-10: Spesifikasyon üst limitinde 2-Amino piridine ve Stiren oksit katılmış numuneye ait kromatogram



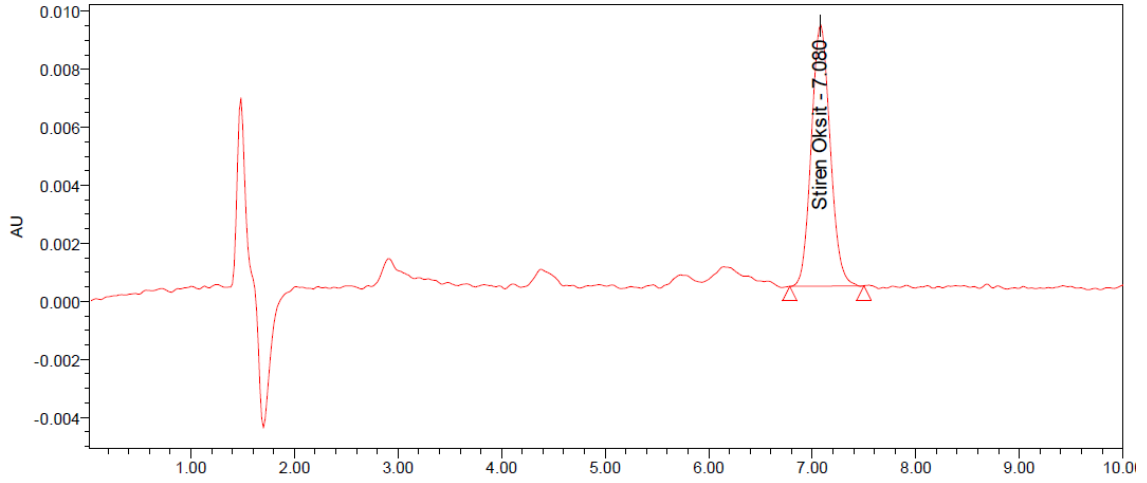
Şekil 4-11: İmpürite üst spesifikasyon limit derişiminde hazırlanmış 2-Amino piridine ait kromatogram



Şekil 4-12: İmpürite üst spesifikasyon limit derişiminde hazırlanmış Stiren oksite ait kromatogram



Şekil 4-13: Retensiyon zamanını tayin etmek için hazırlanmış derişik 2-Amino piridin ait kromatogram



Şekil 4-14: Retensiyon zamanını tayin etmek için hazırlanmış derişik Stiren oksite ait kromatogram

Tablo 4-1: Seçicilik sonuçları

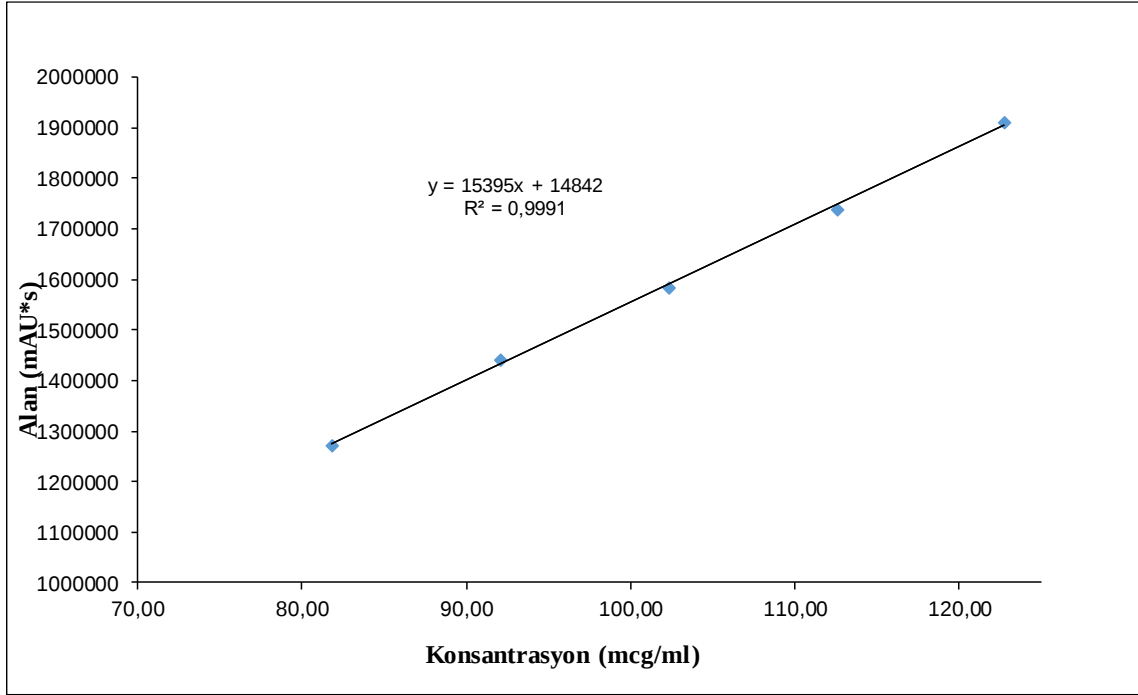
Çözelti Adı	Alıkonma Zamanı	Pik Alanı	Purity Angel	Purity Treshhold	Teorik Plaka Sayısı
Çözücü	1,43	9360	-	-	-
Plasebo	-	-	-	-	-
Standart çözeltisi	2.129	1511744	0,189	0,672	6524
Numune Çözeltisi	2.127	1562572	0,817	0,810	6548
2-Amino piridin	-	-	-	-	-
Stiren Oksit	-	-	-	-	-
Spike(katılmış) Numune					
Çözücü	1,425	8721	11,181	5539	7468
Feniramidol HCl	2.125	1556208	0,173	0,631	6480
2-Amino piridin	-	-	-	-	-
Stiren Oksit	-	-	-	-	-
Retensiyon tayin etme enjeksiyonları					
2-Amino piridin (derişik)	1,502	45739	-	-	-
Stiren Oksit (derişik)	7,080	113951	-	-	-

4.2.2. Doğrusallık

Bölüm 3.6.2’de belirtilen çözeltiler hazırlanarak ve hedef konsantrasyonundan 6 enjeksiyon (sistem kesinliği verilerinin elde edilmesi için), diğer konsantrasyon seviyelerinden 3 er (istatistiksel olarak bağlı standart sapması hesaplanabilmesi içindir) enjeksiyon yapılarak elde edilen alanlar ve ilgili konstrasyon değerleri, en küçük kareler yöntemine göre doğrusallık denklemi elde edildi. Elde edilen sonuçlar Tablo 4-2’dedir.

Tablo 4-2: Doğrusallık verileri

Feniramidol HCl					
Seviye	Konsantrasyon (mcg/mL)	Alan	Ortalama Alan	SD	%RSD
%80	81,82	1271415	1272066	745	0,06
		1271905			
		1272878			
%90	92,05	1437565	1440991	4212	0,29
		1445694			
		1439713			
%100	102,28	1582457	1584711	2270	0,14
		1583614			
		1586206			
		1582348			
		1585643			
		1587996			
%110	112,51	1734124	1738771	4668	0,27
		1743459			
		1738731			
%120	122,73	1911313	1910475	1695	0,09
		1908524			
		1911588			
Eğim			15395		
y-kesim noktası			14842		
R			0,9996		
R ²			0,9991		



Şekil 4-15: Feniramidol HCl doğrusallık grafiği

Analitik metod validasyonu, doğrusallık parametresi kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen pik alanları ve ilgili konsantrasyon değerleri ile elde ulaşılan denklemi eğimi, y-kesim noktası, korelasyon katsayısı (R), korelasyon katsayısının karesi (R^2) ve % y-kesim noktasının değeri Excel yardımıyla hesaplatılmıştır. İlgilenilen tüm maddeler için korelasyon katsayısı 0,998 değerinin üstünde olduğu görülmüştür. % Y-kesim noktası değeri ise %2'den küçük bulunmuştur. Feniramidol HCl için 80-120 mcg/mL konsantrasyonları aralığında, detektör yanıtı ile konsantrasyonlar arasında doğrusal bir ilişki olduğu bulunmuştur.

$$\% \text{ y - kesim noktası} = \frac{b}{\text{alan}} \times 100 \quad (\text{Denklem 4-1})$$

b: doğrusallık denkleminde y kesim noktası değerinin mutlak değeri.

alan: % 100 konsantrasyona karşılık gelen alanların aritmetik ortalaması.

4.2.3. Tayin Sınırı (LOQ) ve Gözlenebilme Sınırı (LOD)

Validasyonu yapılan yöntemin tayin sınırı (LOQ) ve gözlenebilme sınırı (LOD) değerleri Bölüm 3.1.3.'te verilen denklemlere göre hesaplandığında sırasıyla 1,65 mcg/mL ve 5,50 mcg/mL olarak bulunmuştur.

4.2.4. Doğruluk

Bölüm 3.5'de belirtildiği üzere standart çözeltiden 6 enjeksiyon yapılarak elde edilen alanların aritmetik ortalaması hesaplandı. %80, %100 ve %120 seviyelerinde hazırlanmış 3'er numune hazırlanarak, ikişer enjeksiyon yapıldı. Standart konsantrasyonu ve ortalama alanları kullanılarak numunelerdeki deneysel miktarlar mg cinsinden hesaplandı ve teorik miktarlar ile karşılaştırıldı. Sonuçlar Tablo 4-3'de verilmiştir.

Tablo 4-3: Feniramidol HCl doğruluk sonuçları

Seviye		Teorik Miktar (mg)	Deneyisel Miktar (mg)	% Geri Kazanım	% Ortalama Geri Kazanım	SD	RSD
% 80	1	321,5	325,6	101,28	101,01	0,32	0,31
	2	321,5	325,6	101,18			
	3	320,6	324,6	101,25			
	4	320,6	324,3	101,15			
	5	319,4	321,3	100,59			
	6	319,4	321,4	100,63			
% 100	1	400,6	404,6	101,00	100,89	0,11	0,11
	2	400,6	404,7	101,02			
	3	399,6	403,0	100,85			
	4	399,6	402,6	100,75			
	5	400,0	403,7	100,93			
	6	400,0	403,1	100,78			
% 120	1	479,8	484,6	101,00	100,92	0,07	0,07
	2	479,8	484,6	101,00			
	3	482,5	486,8	100,89			
	4	482,5	486,4	100,81			
	5	479,1	483,3	100,88			
	6	479,1	483,6	100,94			
Genel Ortalamalar					100,94	0,06	0,06

Doğruluk çalışması sonucunda elde edilen geri kazanım sonuçları Feniramidol HCl 80-120 mcg/mL konsantrasyonları arasında %100,94 ile %98.0-102.0 limitleri dahilinde bulunmuştur.

4.2.5. Kesinlik

Bölüm 3.5'te tarif edilen şekilde hazırlanan standart ve numune çözeltileri analiz edildi. Elde edilen sonuçların bağıl standart sapma değerleri hesaplanarak metodun kesinliği belirlenmiştir.

4.2.5.1. Sistem kesinliği çalışması sonuçları

Feniramidol HCl standart çözeltisi kullanılarak yapılan ardışık 6 enjeksiyondan elde edilen sonuçlar Tablo 4-4' de verilmiştir.

Tablo 4-4: Sistem kesinliği çalışması sonuçları

Feniramidol HCl				
Enjeksiyon No	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Alıkonma Zamanı (dakika)	Pik Alanı
1	1,17	6542	2,130	1570985
2	1,17	6561	2,131	1576016
3	1,17	6521	2,128	1572986
4	1,17	6586	2,132	1567928
5	1,17	6567	2,129	1571242
6	1,17	6593	2,130	1574449
Ortalama				1572268
Standart Sapma				2858
% RSD				0,18

4.2.5.2. Tekrarlanabilirlik çalışması sonuçları

Feniramidol HCl film tablet seri no 6401805P2 kullanılarak gerçekleştirilen miktar tayini çalışmalarında elde edilen sonuçlar Tablo 4-26' da verilmiştir.

Tablo 4-5: Aktif madde için kesinlik çalışması sonuçları

Feniramidol HCl	
Ölçüm	% Sonuç
1	100,26
2	101,88
3	102,53
4	101,68
5	101,69
6	101,51
Ortalama	101,56
Standart Sapma	0,74
% RSD	0,73

Miktar tayini sonuçları arasında bağıl standart sapma değeri %2,0 den küçük bulunmuştur.

4.2.5.3. Ara kesinlik çalışması sonuçları

Feniramidol HCl film tablet seri no 6401805P1 kullanılarak yapılan miktar tayini farklı gün, farklı HPLC cihazında, farklı kolon kullanılarak yapılmıştır ve çalışmalarında elde edilen sonuçlar Tablo 4-6' da verilmiştir.

Tablo 4-6: Ara kesinlik aktif madde için kesinlik çalışması sonuçları

Feniramidol HCl		
Analiz	Numune No	% Sonuç
1	1	98,11
	2	99,21
2	1	98,57
	2	98,69
Ortalama		98,65
Standart Sapma		0,45
% RSD		0,46

Miktar tayini sonuçları arasında bağıl standart sapma değeri % 2,0 den az bulunmuştur.

4.2.6. Dayanıklılık

Aşağıda özet tablosu verilen analiz şartları değiştirilerek analizler yapıldı ve metodun analiz şartlarına karşı dayanıklılığı test edildi.

Tablo 4-7: Dayanıklılık çalışması sonuçları

Feniramidol HCl				
Analiz Şartları	Miktar Tayini (%)	Alıkonma Zamanı (dakika)	Teorik Plaka Sayısı	Simetri Faktörü
Normal şartlar	98,31	2,239	3553	1,13
Yüksek akış (1,25 mL/dk.)	99,14	1,713	5914	1,14
Düşük akış (0,75 mL/dk.)	99,45	2,812	7018	1,20
Yüksek kolon fırını sıcaklığı	99,14	2,050	7065	1,18
Düşük kolon fırını sıcaklığı	99,15	2,224	5951	1,15
Farklı Dalga Boyu (305 nm)	98,47	2,253	3696	1,13
Farklı Dalga Boyu (315 nm)	98,33	2,239	3560	1,13
Ortalama	98,86			
Standart Sapma	0,47			
% RSD	0,48			

4.2.7. Çözelti stabilitesi

Aşağıda HPLC otomatik numuneleme sisteminde ve şeffaf balon jöjede, laboratuvar şartlarında bekletilen standart ve numune çözeltilerinin farklı saatlerde alınan numuneler HPLC sisteminde analiz edilmiştir. Sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 4-8: Numune çözeltisi stabilitesi (laboratuvar şartları)

Feniramidol HCl		
Saat	Alan	% Uyum
0	1562616	-
72	1560954	100,1
83	1558409	100,3

Tablo 4-9: Standart çözeltisi stabilitesi (laboratuvar şartları)

Feniramidol HCl		
Saat	Alan	% Uyum
0	1572268	
72	1576034	99,8
83	1572761	100,0

Tablo 4-10: Numune çözeltisi stabilitesi (HPLC şartları)

Feniramidol HCl		
Saat	Alan	% Uyum
0	1562616	
72	1563071	100,0
83	1557862	100,3

Tablo 4-11: Standart çözeltisi stabilitesi (HPLC şartları)

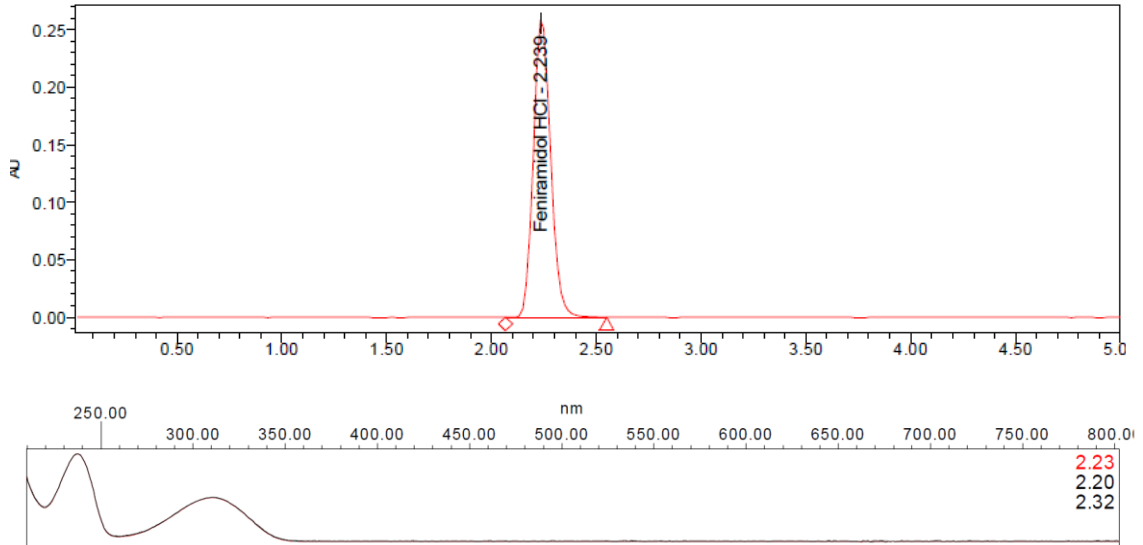
Feniramidol HCl		
Saat	Alan	% Uyum
0	1572268	
72	1571338	100,1
83	1573145	99,9

4.2.8. Stres Çalışması

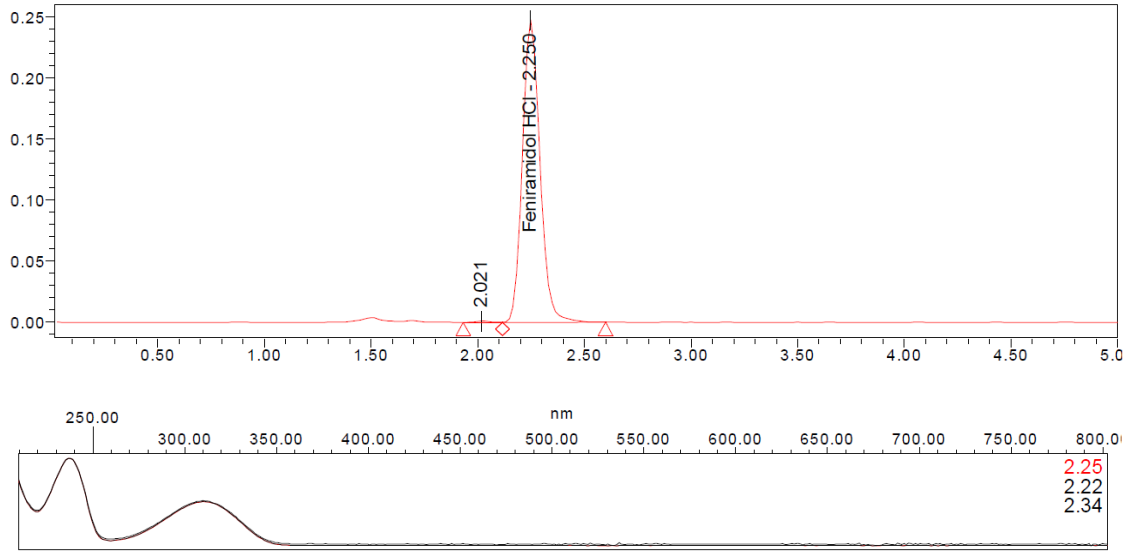
Aşağıda belirtilen koşullar, çözeltiler ve zamanlarda muamele edilen numuneler bölüm 3.5’de anlatıldığı şekilde analiz edilmiştir. Sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 4-12: Stres çalışmaları sonuçları

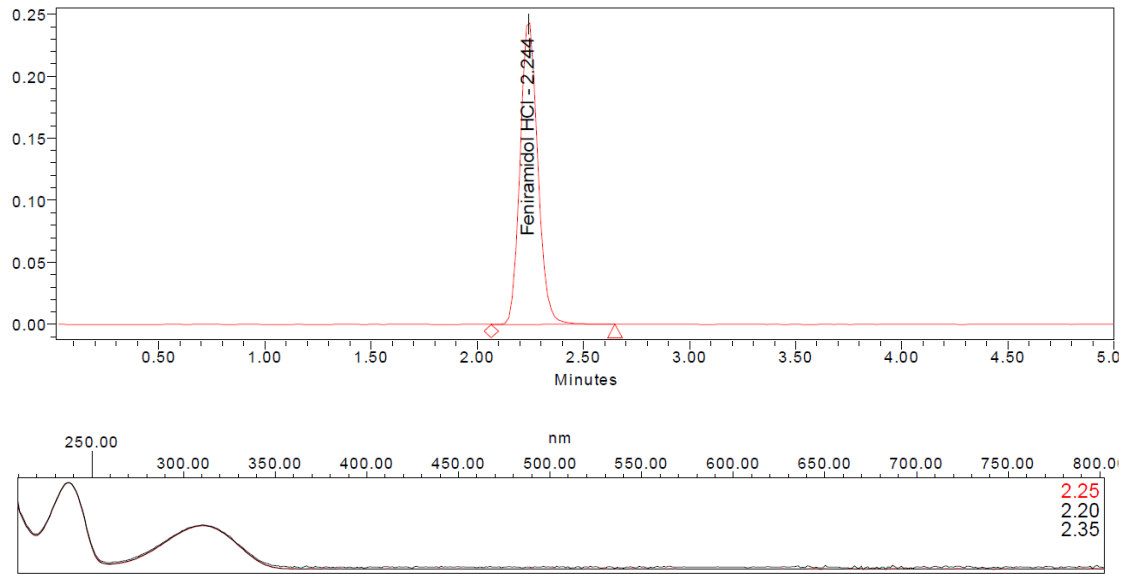
Feniramidol HCl				
Stress Koşulları	Seri Numarası	% Sonuç	Purity Angle	Purity Treshold
Başlangıç		98,31	0,144	0,313
Oksidatif Bozundurma (%3 Peroksit 2,5 saat)		92,45	0,180	0,322
Asidik Bozundurma (5N HCl 2,5 saat)		93,83	0,146	0,335
Isı ve Nem Bozundurması (50°C %75 RH 1 Hafta – Açık)		95,58	0,140	0,336
Bazik Bozundurma (5 N NaOH 2.5 saat)		96,94	0,124	0,324



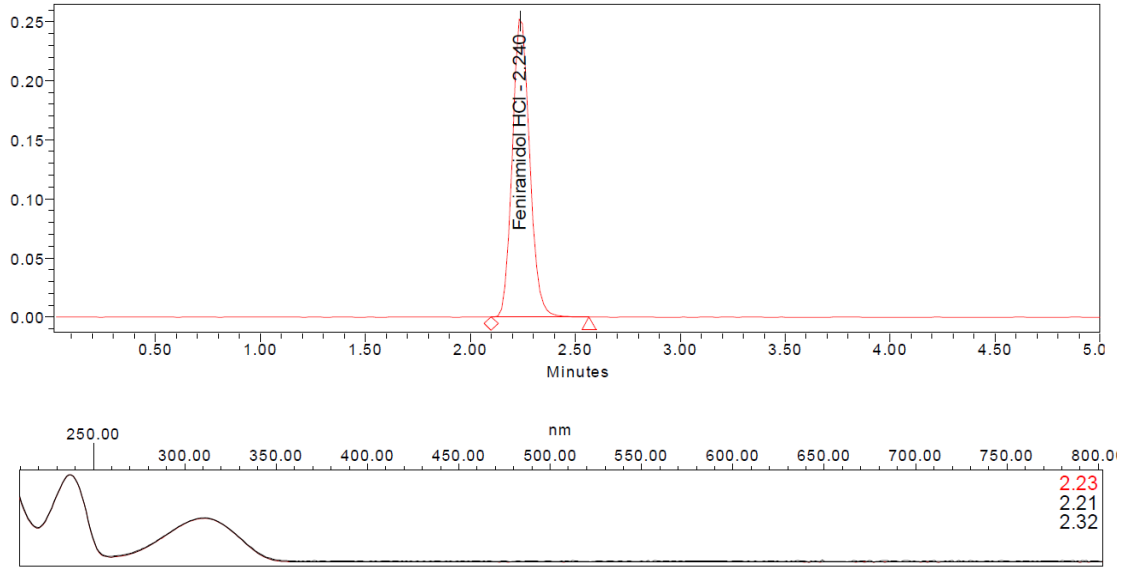
Şekil 4-16: Başlangıç numunesine ait kromatogram



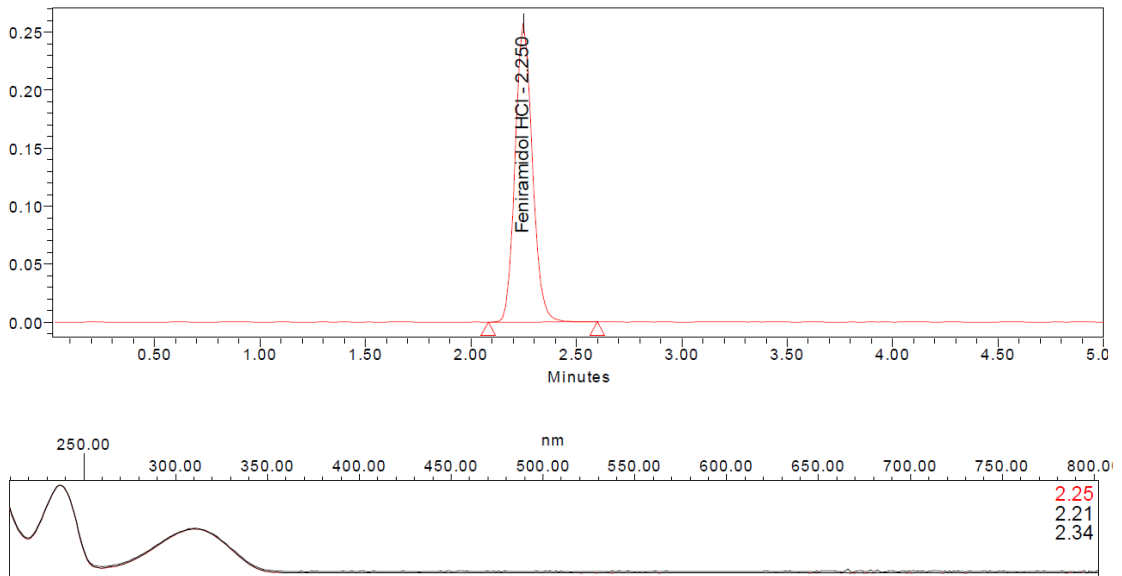
Şekil 4-17: Oksidatif bozundurma numunesine ait kromatogram



Şekil 4-18: Asidik bozundurma numunesine ait kromatogram



Şekil 4-19: Isı ve nem bozundurması numunesine ait kromatogram



Şekil 4-20: Bazık bozundurma numunesine ait kromatogram

5. TARTIŞMA

Kas ağrıları ve kasılmaları, toplumumuzda oldukça çok sık rastlanan bir sorundur. Tedavi sırasında bir veya birden çok molekül ve bunların kombinasyonları kullanılmaktadır. Feniramidol HCl farklı enantiyomeleri ile hem kas ağrısına hem de kas kasılmalarında endikedir.

Feniramidol HCl ile ait literatürler incelendiğinde bu etken maddenin doğrudan tayini için yüksek performanslı likit kromatografisi yöntemine rastlanmamıştır. Dolayısıyla karşılaştırma yoluyla geliştirilen metodu irdelemek mümkün olmamaktadır. Biz bu çalışmamızda bu ilaç etken maddesinin farmasötik preparatlarda analizine izin veren bir yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemi geliştirdik ve bu yöntemi solid oral dozaj formundaki farmasötik preparata uyguladık.

Öncelikle molekül yapısındaki fonksiyonel gruplar incelenerek, muhtemel dedektör tipi belirlenmiş ve deneysel çalışmalar ile uygunluğu ispatlanmıştır. Sonrasında etken madde çözünürlüğü ve solid oral dozaj formun üretilmesinde kullanılan yardımcı maddelerin çözünürlükleri göz önüne alınarak çözücü belirlenmiştir. Sonrasında optimum kromatografik koşullar, yapılan metot denemeleri neticesinde belirlenmiştir. Bahsi geçen kromatografik koşullar, HPLC kolonu olarak 150 mm uzunluğunda, 4,6 mm iç çapında, 5 µm partikül çaplı C18 kolon ile mobil faz olarak da Metanol:Distile su:Trifloroasetik asit (400:600:1, h/h) ile su çözücü sisteminde, 40°C kolon fırını sıcaklığında, 1 mL/dak akış hızı olarak sunulmaktadır. Çalışmalar UV ve PDA dedektörlerinde, 310 nm dalga boyu kullanılarak yapılmıştır. Etken maddenin alıkonma zamanı ise 2,2 dakika civarında olduğu tespit edilmiş ve herhangi bir iç standart kullanımına ihtiyaç duyulmamıştır.

Belirlenen çalışma koşullarında doğrusal aralık, 80 mcg–120 mcg/mL olarak, tayin edilebilme sınırı (LOQ) ve gözlebilme sınırı (LOD) sırasıyla 1,65 mcg/mL ve 5,50 mcg/mL olarak tespit edilmiştir. Geliştirilen yöntemin tekrarlanabilirliğini ölçümlemek için farklı günlerde, farklı HPLC cihazı, farklı kolon kullanılarak analizler yapılmış ve sonuçların bağıl standart sapma değerleri %0,46 olarak saptanmıştır. Yöntemin doğruluğunu belirlemek amacıyla standart katma metodu ile %80,0-120,0 aralığında yapay numuneler hazırlanmış ve geri kazanım değerleri uygun bulunmuştur. Çözelti stabilitesinin belirlenebilmesi amacıyla standart ve numune çözeltilerinin oda

sıcaklığında ve otomatik numune örnekleyicisinde bekletilerek alan değişimi gözlenmiş ve her iki koşulda 83 saatlik süre zarfında stabil kaldıkları tespit edilmiş ve ideal olan en az 72 saatlik (endüstriyel uygulama olarak Cuma gününden Pazartesi gününe olan hafta tatili) üzerinde olduğu için çalışma bu noktada kesilmiştir.

Özet olarak bu çalışmada solid oral dozaj formlarında Feniramidol HCl'in kullanımı kolay, tekrarlanabilirliği ve güvenilirliği yüksek literatürde mevcut olmayan bir HPLC yöntemi geliştirilmiştir.



KAYNAKLAR

1. RxMediaPharma Interaktif İlaç Bilgi Kaynağı 2019. 2019 19.0.88th ed., Prof.Dr. Levent Üstünes, 2019
2. American Chemical Society 81, 4347-4351, 1959
3. Elcioglu Ö.C., Ozkok A., Bakan A., Ozluk Y., Kilicaslan I., Odabas A.R., Phenylramidol Induced Acute Tubular Necrosis, J Nephrol Ther 2014, 4:1
4. Köksal Ş. A, Köklü S, Filik L, Şaşmaz N, Şahin B. Phenylramidol– Associated Liver Toxicity. Ann Pharmacother, 2003; 37:1244– 6
5. Gamze D. Tizanidin HCl, Feniramidol HCl ve İbandronik Asit’ in Analiz Yöntemleri, Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Bitirme Ödevi, Mayıs 2012
6. Recordati İlaç San. ve Tic. A.S. Kısa Ürün Bilgisi (KÜB). Recordati İlaç San. ve Tic. A.S., 15.04.2015, www.recordati.com.tr/Urunler/116-cabral%C2%AE-400-mg-film-tablet-ila%C3%A7-prospekt%C3%BCs/68/
7. FER-MENTA BIOTECH (UK) LIMITED. OPTICAL ENANTIOMERS OF PHENYRAMIDOL AND PROCESS FOR CHIRAL SYNTHESIS. WO 2007/135463 A1 ed., World Intellectual Property Organization International Bureau, 29.11.2007.
8. World Health Organization International Agency Research on Cancer, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 82 12-19 February, 2002
9. Mutagenic and carcinogenic structural alerts and their mechanisms of action. National Institute of Chemistry Slovenia, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia DOI: 10.1515/aiht-2016-67-2801
10. Neisier Laboratories, Inc., PYRIDYL AMINO LOWER ALKANE DERIVATIVES AND PROCESS. 3,165,527rd ed., United States Patent Office, 12.01.1965.
11. ICH Q3B (R2), Impurities in New Drug Products. 2 Haziran 2006
https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3B_R2/Step4/Q3B_R2_Guideline.pdf

12. Ergün H, Polat O, Demirkan A. N, Günalp M, Gürler S. The efficiency, safety and pharmacokinetics of intramuscular and oral phenylramidol in patients with low back pain in an emergency department. Turkish Journal Medical Sciences, 2010; 40 (1):71-76
13. ICH Q2 (R1), Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. 2005 Kasım. Erişim 10.02.2016; http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Gökhan	Soyadı	Bayrak
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	04.11.1981
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	28303550152
Email	bayrakhan@hotmail.com	Tel	0532 702 54 27

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Lisans	On Dokuz Mayıs Üniversitesi Fen .Ed. Fak. Kimya	2005
Ön Lisans	Trakya Üniversitesi, Lüleburgaz Meslek Yüksek Okulu	2002
Lise	İnönü Endüstri Meslek Lisesi	1998

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Farmasötik Geliştirme Yöneticisi	Abdi İbrahim İlaç San. ve A.Ş.	2017- Halen
2.	Pre-Formülasyon Yöneticisi	Abdi İbrahim İlaç San. ve A.Ş.	2016-2017
3.	Farmasötik Geliştirme Uzmanı	Abdi İbrahim İlaç San. ve A.Ş.	2012-2016
4.	Analitik Geliştirme Uzmanı	Abdi İbrahim İlaç San. ve A.Ş.	2011-2012
5.	Analitik Geliştirme Analisit	Mustafa Nevzat İlaç San. ve A.Ş.	2009-2011
6.	Ürün Geliştirme Sorumlusu	Yeni İlaç San. ve A.Ş.	2007-2009

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	71.25	-
-					

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	61,98841	61,01225	58,95558
(Diğer) Puanı	-		

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Ms Office Programları	İyi
Ms Windows	İyi
Internet Explorer	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

-

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

FENİRAMİDOL HCL'İN FARMASÖTİK PREPARATLARDA HPLC İLE TAYİNİ

ORIJİNALLIK RAPORU

% 13	% 3	% 0	% 11
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 8
2	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi	% 2
3	pharmacy.erciyes.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	www.recordati.com.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	www.cheric.org İnternet Kaynağı	<% 1
6	epdf.tips İnternet Kaynağı	<% 1
7	Submitted to Kafkas Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
8	Submitted to Eastern Mediterranean University Öğrenci Ödevi	<% 1

9	Submitted to Selçuk Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
10	Submitted to University of Malta Öğrenci Ödevi	<%1
11	www.biomeddefinition.com İnternet Kaynağı	<%1

Alıntıları çıkart

üzerinde

Eşleşmeleri çıkar

< 5 words

Bibliyografyayı Çıkart

üzerinde

