

İLAÇLARDA STABİLİTE TESTLERİ

Gönül HAKYEMEZ (*)

ÖZET:

Günümüzde stabilite testleri ilaç endüstrisi laboratuvarlarının önemli faaliyetlerinden biridir. Her müstahzar, bu laboratuvarlarda geliştirme ve üretim sırasında bir seri stabilite testine tabi tutulur. Bu derleme yazısı, bir müstahzarın bu farklı safhalardaki stabilite testlerinin amaç ve tasarımını tanımlamaktadır.

STABILITY TESTING OF DRUGS

SUMMARY:

Today, stability tests are an important actions in the drug industry's laboratories. In this laboratories, every product is subjected to a series of stability tests during its evolution and production. This review describes the objects and the designs of these tests of a drug in different stages.

GİRİŞ:

Stabilite testleri, herhangi bir müstahzarın geliştirilmesi, üretilmesi ve pazarlanması sırasında ilaç endüstrisi laboratuvarlarının başlıca faaliyetleri arasındadır. Bu çalışmalar ilacın stabl (dayanıklı) formülasyonunun geliştirilmesini, saklama koşullarının ve raf ömrünün saptanmasını amaçlamaktadır. Teknoloji geliştikçe, müstahzar ilaçların geliştirilmesinde yürütülen faaliyetler de çok yönlü ve disiplinler arası bir özellik kazanmaktadır. Stabilite testleri de bu çalışmalar arasında önemli bir yere sahiptir. Günümüzde yeni bir ilaç adayının stabilitesi ile ilgili çalışmalar ilaç geliştirmenin ilk safhalarında başlatılmakta ve daha sonraki geliştiri-

me ve imalat safhalarında devam edilerek pazarlanmış serilerin izlenmesi şeklinde sürdürülmektedir. Her safhaya ait stabilite çalışmalarının kendine özgü amaçları varsa da esas genel amaç tüketiciye etkili ve güvenilir ilacı sağlamaktır. Bu fazların herhangi birinde elde edilen veriler ve diğer arkadan gelen fazlardaki çalışmalar ile kuvvetlendirilir ve genişletilir(1). Bu stabilite faaliyetlerinin hepsinin ortak ve ana hedefi, ruhsatlı bir ilaç müstahzarının nakliye, satım ve kullanım sırasında özelliklerinin daha önceden belirlenmiş limitler içinde kalmasını sağlamaktır(2,3).

Bugün etkili olduğu saptanan yeni bir ilacın hastaya ulaşmaya kadar, bilimsel ve yasal yönden geçirmesi zorunlu olan

(*) Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı-Ankara

aşamalar genel olarak şunlardır: Önformülasyon, formülasyon geliştirme, klinik çalışmalar için küçük çapta üretim ve büyük çapta üretime geçmeden önce pilot üretim çalışmaları(1-4). Çoğu zaman klinik çalışmalar için yapılan üretim ile pilot üretim aynı olmaktadır(5). Bu aşamaların her birinde, diğer faaliyetlerin yanı sıra, farklı programlar doğrultusunda stabilite testleri uygulanmaktadır. Son aşamada üretilen mamul ürünün stabilite testleri ruhsat almada kullanılmaktadır. Ancak bir çok durumda pazarlanmış ürüne ait stabilite testleri de gerekebilir. Pazarlanmış bir ürünün stabilitesinin kontrolünü gerektirdiği kabul edilen bu değişiklikler;

- * formülasyonda bir değişiklik,
- * etken maddenin temin edildiği kaynağın değişmesi ya da bu kaynağın özelliklerindeki bir değişiklik,
- * yardımcı maddelerin kaynağının veya özelliklerinin değişmesi,
- * ambalaj değişikliği ve
- * imalat yönteminde bir değişiklik-tir(2,6,7).

İLAÇ GELİŞTİRME AŞAMALARINDA YAPILAN STABİLİTE TESTLERİ

İlk aşama olan önformülasyonda yapılan testlerin amacı, ilacın genel stabilite profilini çıkarmaktır(3). Yani ilaç adayının ısıya, ışığa, neme ve benzeri etkilere olan hassasiyetini saptamak için yapılır. Keza bu aşamada, formülasyonda kullanılması olası yardımcı maddeler ile ilacın geçimliliği de incelenmektedir. Bu aşamaya ait stabilite çalışmaları, saf maddeler ile yapılan bazı ön testler ve gerilim (stress) testleri olmaktadır. Hızlandırılmış stabilite testleri de denilen bu gerilim testleri daha sonraki formülasyon aşamasında önerilen dozaj şekli ve formül ile sürdürülmektedir. Ancak bu test sonuçlarının laboratuvarından pilot üretime geçişte 1-3 yıl gibi uzun süreli testlerle (long term testing) doğrulanması gerekmektedir(8).

Pilot üretim çalışmaları laboratuvar üretiminin genellikle 100-1000 misli büyüklükte olmaktadır(5). Gerek kimyasal maddenin gerekse dozaj şeklinin pilot ça-

lışmaları sonucu elde edilen ürün, laboratuvarında elde edilenlerden önemli ölçüde farklı olabilmektedir. Büyük çapta üretimde kimyasal madde, laboratuvar üretimine göre bulk dansite, yüzey alanı, porozite veya kristal şekli gibi bazı fiziksel farklılıklara sahip olabilmektedir. Dozaj şeklinin büyük çapta üretiminde ise formül bileşenleri ön denemelere göre daha yüksek kayma gerilimlerine maruz kalabilmekte veya daha uzun süre atmosferle temasta olabilmektedir. Sonuçta daha önce karşılaşılmamış olan bazı stabilite sorunları bu aşamada ortaya çıkabilmektedir. Yani üretimin çapı büyüdükçe, ilk aşamalarda farkedilemeyecek kadar küçük olan sorunlar da büyümektedir. Bu nedenle, genellikle 10-300 kg arasında yapılan pilot çalışmadan 50-5000 kg veya daha fazla üretimin yapıldığı ticari üretime geçişte, önformülasyon çalışmaları sırasında gözden kaçmış bazı sorunlar ortaya çıkabilmektedir. Ticari üretim sırasında artık belirli bir imalat yöntemi ve belirli bir formül vardır. Bu mamul ürünle yapılan stabilite testleri uzun süreli stabilite testleri olmaktadır ve ruhsatlandırma işlemlerinin esasını oluşturmaktadır.

Rutin üretimi izlemeyi amaçlayan stabilite çalışmaları da (follow-up studies) daha önce yapılmış olan stabilite değerlendirmelerin geçerliliğini kontrol etmek ve onları istatistiksel olarak doğrulamak için yapılmaktadırlar(3,9).

STABİLİTE TESTLERİNİN GENEL TASARIMI:

Hammadde üretimi de yapan çokuluslu ilaç firmalarında bu çalışmalar son derece sistemli olarak yürütülmektedir. Her aşamada yapılan stabilite testlerinin amaç ve protokolü bu laboratuvarlarda aynı ve ayrıntılı olarak önceden saptanmaktadır. Ancak bu yazıda, daha küçük ilaç üretim merkezlerinde, daha dar laboratuvar koşullarında yapılan stabilite testlerinin genel tasarımının verilmesi amaçlanmıştır.

Uzun süreli testlerin öncesinde veya paralelinde ruhsatlandırma işlemlerini çabuklaştırmak için hızlandırılmış testler

çok yaygın olarak yapılmaktadır. Bu hızlandırılmış stabilite testlerinin yapılmasında 5 safha söz konusu olmaktadır(10):

1. Üzerinde çalışılan ilaç veya onun kimyasal yapısına benzer diğer ilaçlar ile ilgili daha önceden var olan verilerin değerlendirilmesi.

2. Uygun gerilim koşullarının seçilmesi.

3. Seçilen gerilim koşullarına ilaç numularının bırakılması.

4. Uygun analiz yöntemleri ile gerilime bırakılan numunelerin kontrolü.

5. Sonuçların değerlendirilmesi.

Mevcut Verilerin Değerlendirilmesi:

Stabilite testlerinin tasarımı, ilacın dozaj şekli ve fizikokimyasal özellikleri ile belirlenir. Fiziksel ve kimyasal özellikleri bir ilacın genel bozunma yolu hakkında önemli ipuçları verdiği için, gerilim koşullarının kararlaştırılmasında belirleyici olmaktadır. Örneğin 40°C'lik bir sıcaklıkta numuneleri bekletme aseptolojisi yapısındaki bir ilaç için uygun bir seçimdir. Ancak aynı sıcaklık prostoglandin yapısı için uygun değildir. Çünkü bu tip bir madde, bu sıcaklıkta bir kaç saat içinde bütünüyle bozunmuş olacaktır(10). Karboksil bileşiklerinin hidroliz ile bozunmaya yatkın olduğu ama buna karşılık bir fenotiazin türevinin oksidasyonla bozunacağı önceden kestirilebilmektedir(6,10). Bu nedenle stabilite testlerine başlamadan önce ilacın erime derecesi, süblimasyon özellikleri, çözünürlüğü, çözünme hızı, partikül büyüklüğü ve dağılımı, dağılma katsayısı, polimorfizm gösterip göstermediği ve diğer kristal özellikleri gibi bilgilerin deneysel olarak veya literatürden sağlanması gerekmektedir(11). Bu özelliklerin bir kısmı testlerde kullanılacak olan analiz yönteminin seçiminde, bir kısmı da gerilim koşullarının seçilmesinde çok değerli olmaktadır.

Uygun Gerilim Koşullarının Seçilmesi:

Fiziksel stabilite testleri için de gerilim koşulları uygulanmaktadır. Örneğin süspansiyonlarda çökeltme hızını tayinde,

santrifüj yardımı ile yerçekiminden daha büyük g değerlerine süspansiyonu maruz bırakmak ya da yaz aylarında günlerce bir otomobilin torpido gözünde kalabilecek bir güneş yağı ya da sütünü, fiziksel dayanıklılığının kontrolü için 50°C'lik sıcaklıklarda bırakmak gibi(12). Ancak fiziksel stabilite testleri de kimyasal stabilite testleri kadar önemli olduğundan, bir başka yazı kapsamına bırakılmışlardır.

Kimyasal stabilite testlerinde ilacın bozunma yolu her ne olursa olsun, bozunma sıcaklığının artması ile hızlandığından ilaca uygulanacak olan gerilimin birinci tipi ısı olmaktadır. Bu termal stabilite testlerinde kullanılacak sıcaklıkların seçiminde ilacın erime derecesi ve süblimleşme özelliğinin olup olmaması gözönüne alınmaktadır. Örneğin 100°C'nin üzerinde bir erime derecesine sahip yeni bir katı ilaç için şu koşullar önerilmektedir(10):

- * 0-4°C kontrol olarak
- * 20°C oda sıcaklığı
- * 37°C vücut sıcaklığı
- * 45°C az hızlandırılmış bozunma temini
- * 80°C çok hızlandırılmış bozunma temini

Bu koşulların bazıları ilacın maruz kalacağı koşulları taklit için seçilirler. Fakat hızlandırılmış çalışmaların amacı, ilacı (saf halde veya dozaj şekli içinde) yüksek sıcaklıklarda saklayarak makul bir süre içerisinde ölçülebilir bir bozunma elde edebilmek ve bu ölçümün sonuçlarından hesaplama yolu ile raf ömrünü hesaplayabilmektir. Bu amaçla seçilen yüksek sıcaklığın ilacın normal koşullarda göstermesi mümkün olmayan yeni bozunma yollarına neden olmaması önemlidir. Maddenin yapısına göre bazı çalışmalarda 110°C sıcaklık dahi muhafaza koşulu olarak alınabilirken(13), bazı durumlarda da 80°C uygun muhafaza koşulu olmayacak kadar yüksektir(10). Genellikle uygulanan sıcaklıklar birbirinden önemli ölçüde uzak üç sıcaklık olmaktadır(3). (Örneğin 37°, 45°, 60°C gibi). Toz madde ile veya katı dozaj şekilleri ile yapılan hızlandırılmış çalışmalarda ayrıca bir higrostat

içinde (örneğin 37°C / % 80 bağıl nemde) nem ve ısı gerilimlerini birleştirmek de çoğu zaman yararlı sonuçlar vermektedir. Hidroliz ile bozulan ilaçların çözeltisi ile çalışılırken, reaksiyonun genel ya da spesifik asit ya da baz ile katalizlenip katalizlenmediğini anlamak için bir ön deneme yararlı olmaktadır. Bunun için maddenin değişik pH'lardaki çözeltilerinin değişik sıcaklıklarda ve bu arada geri çeviren soğutucu altında en fazla 2 saat gibi kısa bir süre bekletilmesi sonunda ince tabaka kromatografisi ve UV spektrumlarının basit bir kontrolü son derece önemli bilgiler kazandırmaktadır. Ancak pH değişmelerine çok fazla hassas olduğu görülen maddelerin bir yüksek sıcaklıkta, fakat değişik pH'lara tamponlanmış çözeltilerinin hız sabitleri tayin edilerek ve bulunan hız sabitlerinin pH'ya karşı çizilen grafikleri (pH - hız grafikleri) iyi değerlendirilebildiğiyle ilacın bozunma yolunu aydınlatılabilmek mümkün olabilmektedir. Böyle bir grafiğin V, S veya çan şeklinde olmasına göre eğrinin değerlendirilmesi farklı olmaktadır. Eğrinin şekline göre ilaç maddesinin kimyasal yapısı, hangi pH'larda ne ile katalizlenebildiği ve hatta reaksiyonunun derecesi ile ilgili bilgiler çıkarılabilmektedir (6,14-16).

Hidrolizden sonra en çok rastlanan bozunma yolu oksidasyon olduğundan, oksijene hassas olan maddeler ile çalışırken, madde çözeltisinden oksijen gazının geçirilmesi de düşünülmelidir. Bir çok durumda oksidasyon reaksiyonları ışıkla katalizlendiğinden ilacın UV ve görünür ışıkla radyasyonu (oksijen ile ve oksijensiz) hızlandırma için gerekli olabilir (6,16).

Ayrıca katı dozaj şekillerinin formülasyon çalışmaları sırasında toz maddeye ezme ya da öğütme gibi bazı fiziksel şokların uygulanması önerilmektedir(10,17). Bu tip denemeler, bir dozaj şeklinin imalatı sırasında maddenin polimorfik değişmeler gösterip göstermeyeceğini belirlemektedir. Çünkü farklı kristal yapıları gösterebilen bir bileşiğin kristal şeklinde böyle bir değişikliğin imalat sırasında meydana gelmesi ilacın çözünürlüğünü ve

çözünme hızını etkilediğinden, ilacın absorpsiyonunu da etkilemektedir.

Bu ön denemelerin ışığında, madde numuneleri gerekiyorsa pazarlamada kullanılacak ambalajı içerisinde seçilmiş olan uygun gerilim koşullarına bırakılmaktadırlar.

Gerilime Bırakılan Numunelerin Kontrolü:

Gerilime bırakılan numunelerde meydana gelebilen değişmeler bazan gözle de farkedilebilirse de spektrofotometrik veya kalorimetrik bir kontrol gerekli olmaktadır. Gerilim altındaki toz maddenin erime derecesinde meydana gelen veya diferansiyel tarayan kalorimetri (DSC) ya da diferansiyel termal analiz (DTA) ile elde edilen termogramlarında ortaya çıkan değişmeler özellikle maddenin kristal yapısındaki değişiklikleri izlemede önemli olmaktadır (18,19).

Termal stabilite testlerinde kontroller genellikle spektrofotometrik yöntemlerle, ya bozunmadan kalan ilaç miktarının ya da bozunma ürünlerinden birinin ölçümü ile yürütülmektedir. Ancak test sonuçları ile elde edilebilecek olan parametrelerin doğruluğu bu analiz yönteminin özgünlüğü (specificity), doğrusallığı (linearity), kesinliği (precision), doğruluğu (accuracy) ve duyarlılığına (sensitivity) bağlı olmaktadır(20).

Her ne kadar bu çalışmalar yaygın olarak spektrofotometrik ve hatta bazan titrimetrik yöntemlerle dahi yapılmakta ise de son yıllarda bu yaklaşım önemli ölçüde değişikliğe uğramıştır. Son yıllarda çok daha kısa sürede çok daha sağlıklı sonuçlar veren HPLC ve GC yöntemleri tercih edilmektedirler(20). Gerilime bırakılmış olan ilaç numunelerinden daha önceden belirlenmiş zaman ve miktarlarda örnek alınarak seçilen analiz yöntemi ile miktar tayini yapılmaktadır.

Sonuçların Değerlendirilmesi:

Gerilim koşulları altındaki numunelerde belli zamanlarda yapılan miktar tayini sonuçlarından ilacın raf ömrüne ulaşabilmek için, bu verilerin bazı matematiksel ve istatistiksel analizlere tabi tutulması gerekmektedir. Bu matematiksel işlemler

Arrhenius ilişkisine dayanmaktadır(6,11). Stabilite testleri sonucunda her muhafaza koşulu için zamanın bir fonksiyonu olarak bozunmadan kalan ilaç miktarının (ya da bozunma ürünü miktarının) normal ya da yarı logaritmik grafikleri ile bozunmanın reaksiyon derecesi ve o sıcaklıktaki bozunma hız sabitleri bulunmaya çalışılır. Ancak reaksiyon derecesini ayırt etmede, kullanılan analiz yönteminin seçimi çok önemli olmaktadır. Keza bozunmanın ilk % 20'si gerçekleşmeden bu ayırımı doğru olarak yapabilmek pek mümkün olamamaktadır. Diğer taraftan sonuçların istatistiksel yönden değerlendirilmesi birbirine yakın sonuçların farklılığının anlamlı olup olmadığını verebilmektedir. Birbirinden önemli ölçüde farklı en az üç ayrı sıcaklıkta bulunan bozunma hız sabitleri, Arrhenius eşitliğine göre, sıcaklığa karşı grafiklendiğinde elde edilen doğrunun oda sıcaklığına uzatılması ile raf ömrü hesaplanabilmektedir. Ayrıca bu doğrunun eğiminden, maddenin bozunmaya yatkınlığının bir ölçütü olan aktivasyon enerjisi hesaplanabilmektedir(6,11).

Bu şekilde yürütülen izotermal sıcaklık testleri ile raf ömrünü hesaplama yaygın olarak uygulanmakta ve oldukça gerçekçi sonuçlar elde edilmektedir. Ancak çok bileşenli kompleks formülasyonlarda bozunma reaksiyonları her zaman basit bir mekanizma ile ilerlemeyebilir. Bunun sonucu olarak bu testlerle hesaplanmış bir reaksiyon hızı, birçok farklı reaksiyon ve farklı reaksiyon derecelerinin karışımı şeklinde olabilmektedir. Bu nedenle matematiksel analiz sonuçlarını yorumlamada dikkatli olmalıdır(20,21).

Oksidasyonla bozunma kinetiği oldukça karmaşık reaksiyonlardır. Ancak bu ilaçlarla makul bir raf ömrüne sahip dozaj şekli hazırlayabilmek için formüle uygun antioksidanları ilave etme ve ambalajlamada oksijenin etkisinden kaçınabilme şanslarına sahip olmalıyız. Fakat buna karşılık hidroliz ile bozulan maddelerin çözeltilerinde bozunma reaksiyonunu kontrol altına alabilmek pek mümkün olamamaktadır. Örneğin bütün çabalara rağmen ha-

la stabl bir sıvı aspirin müstahzarı hazırlanamamıştır(20).

SONUÇ:

İlaçların, hızlı bozunmaya zorlayıcı koşullara (gerilim koşullarına) bırakılması ile elde edilen hızlandırılmış bozunma sonuçlarından raf ömrünü hesaplama, özellikle uygulanan gerilimler arttırıldıkça riskli olmaktadır. Ancak uzun süreli testler ise ticari bir kuruluş olan ilaç üreticileri için çok uzun bir süreyi gerektirmektedir. Dikkatli ve bilgilce yapılmış olan hızlandırılmış stabilite testleri güvenilirlerdir. Fakat üretimin başlamasından itibaren uzun süreli testler ile mutlaka doğrulanmalıdır.

Aksi belirtilmedikçe bir ilacın etken madde içeriği beyan edilen raf ömrünün sona ermesinden önce % 90'nın altına düşmemelidir. Ancak raf ömrü tayini sadece potens düşünülerek yapılamaz. Yani bir ilacın son kullanma tarihinin saptanması için kimyasal test sonuçlarının yanı sıra fiziksel, mikrobiyolojik ve toksikolojik test sonuçları da hesaba katılmalıdır.

KAYNAKLAR:

1. PMA's Joint QC-PDS Stability Committee, "Stability concepts" Pharmaceutical Technology, 6, 42-48 (1984).
2. Cartwright, A.C. "Stability testing - The requirements of the United Kingdom Licensing Authority" Int. J.Pharm.Tech. and Prod.Mfr., 3, 43-46 (1982).
3. Grim, W. "Stability testing in industry for worldwide marketing" Drug Dev. and Ind. Pharm., 12, 1259-92 (1986).
4. Hill, S.A., Khan, K.A. "Protocols for stability testing" Int. J. Pharm. 8, 73-80 (1981).
5. Lantz, R.J. "Stability aspects of clinical supplies scale-up studies" Drug.Dev. and Ind. Pharm., 10, 1425-32 (1984).
6. Connors, K.A., Amidon, G.L., Ken-

- non, L. "Chemical Stability of Pharmaceuticals" John Wiley and Sons, New York (1979).
7. Thompson, K. "Gang stability programs for marketed batches" *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 10, 1449-61 (1984).
 8. Dukes, G.R. "Stability programs for formulation studies" *Drug. Dev. and Ind. Pharm.*, 10, 1413-24 (1984).
 9. Kaminski, E.E. "Stability program for marketed batches" *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 10, 1433-48 (1984).
 10. Buddle, G.C., Dobson, K., Stubbles, J.A. "Stability testing of drug substances at the pre-development stage" *Int. J. Pharm. Tech. and Prod. Mfr.*, 2, 28-31 (1981).
 11. Lachman, L., Lieberman, H.A., Kanig, J.L. "The Theory and Practice of Industrial Pharmacy" Lea and Febiger, Philadelphia (1970).
 12. Weiner, N. "Strategies for formulation and evaluation of emulsions and suspensions: Some thermodynamic considerations" *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 12, 933-51 (1986)
 13. Greene, D.S. "High pressure liquid chromatographic determination of haloperidol stability" *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 9, 485-93 (1983).
 14. Han, W.W., Yakatan, G.J., Maness, D.D. "Kinetics and mechanisms of hydrolysis of 1,4-benzodiazepines I: chlordiazepoxide and demoxepam" *J.Pharm.Sci.*, 65, 1198-1204 (1976)
 15. Streng, W.H. "The stability of oral liquids" *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 11, 1869-88 (1985).
 16. Garrett, E.R., Seyda, K. "Prediction of stability in pharmaceutical preparations XX: Stability evaluation and bioanalysis of cocaine and benzoyl ecgonine by HPLC" *J. Pharm.Sci.*, 72, 258-71 (1983).
 17. Nyquist, H. "Preformulation studies of drug substances for solid dosage forms" *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 12, 953-68 (1986).
 18. Graffner, C., Johansson, M.E., Nicklasson, M., Nyquist, H. "Preformulation studies in drug development program for tablet formulations" *J.Pharm.Sci.*, 74, 16-20 (1985).
 19. Monkhouse, D.C., Campen, L. "Solid state reactions - Theoretical and experimental aspects" *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 10, 1175-1276 (1984).
 20. Boehlert, J.P. "Assay development in stability test methods" *Drug Dev. and Ind.Pharm.*, 10, 1343-71 (1984)
 21. Rhodes, C.T. "An overview of kinetics for the evaluation of the stability of pharmaceutical systems" *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 10, 1163-74 (1984).