

İKLİM KOŞULLARINA BAĞLI OLARAK İLÂÇLARIN STABİLİTE İNCELEMELERİNDE TANIMLAR VE SINIRLAMALAR

K. CANEFE *

A. BOZKIR*

ÖZET

Bu makalemizde farmasötik preparatların depolanmaları ve stabiliteilerinin incelenmesinde uygulanan iklime bağlı özellikler ele alınmış ve gerek uluslararası gerekse, Türkiye'ye özgü sıcaklık ve nem değerlerinden faydalanarak ilaçların bekletilmesi ve stabiliteilerinin incelenmesinde yararlanılacak kurallar ve sınırlamalar belirtilmiştir.

THE LIMITATIONS AND GENERAL DEFINITIONS ON THE STABILITY INVESTIGATIONS OF DRUGS UNDER DIFFERENT CLIMATIC CONDITIONS

SUMMARY

In this article, the climatic characteristics due to the climatic conditions that were applied to investigate the stabilities and the storage of pharmaceutical preparations have been examined and the rules and limitations that were used to investigate the storage and stabilities by the help of both international and Türkiye's characteristic temperature and humidity values have been established.

Key Words: *Storage conditions, stability, product stability, stability testing.*

* A.Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Tandoğan-Ankara

a) GİRİŞ

Çeşitli ülkelerde ve ülkemizde üretilen ilaç şekillerinin bir kısmının henüz stabilite kurallarını tam olarak sağladığı söylenememektedir. Özellikle satışta kalma süreleri diğer ülkelerdeki genel uygulama ve hesaplamalarına göre saptanan müstahzarların, ülkemizde hüküm süren çok değişik iklim bölgelerinde kullanılması, gerçekte yerli müstahzarların dayanıklılıklarının bu genel hesaplamalara uymamasına, dolayısıyla bazen ilaç israfına, bazen de yetersiz tedaviye yol açabilmektedir. Bu konuda yapılmış ön araştırmalar bu hususu ortaya çıkarmaktadır (1-6).

Diğer taraftan bu konuda yeterince bilgi ve deneyime sahip olmadan gelişigüzel uygulanan bazı sınırlamaların ise gerçeklerden uzak olduğu gibi, vahim yanlışlıklara da yol açtığı ortadadır.

Bu nedenle, ülkemizde üretilen ve kullanılan ilaçların spesifik olarak ülkemizin değişik iklim bölgelerindeki dayanıklılıklarının araştırılması ve ilaç sanayiindeki uygulamalara kesinlik ve kolaylık kazandıracak şekilde, bekletme ve depolama şartlarıyla, son kullanma sürelerinin gerçekci olarak tesbitine ait kriterlerin açıklığa kavuşturulması gerekmektedir.

b) Stabilite ve İlaç Formülasyonu ile İmalatındaki Yeri

Stabilite çalışma ve düzenlemelerinde önde gelen amaç, preparat içindeki etken madde ile bizzat ilaç formunun öngörülen süreler içerisinde ve hasta tarafından kullanılana kadar herhangi bir nedenle etkisini ve özelliklerini belli sınırların ötesinde kaybetmesini önlemektir (7-12).

İlaçların stabilitesi eczacılığın gelişim tarihi boyunca her zaman önemli bir faktör olmuştur. Stabilite, kaliteli bir ilaçta aranılan güvenlik ve etkinliğin yanı sıra, kullanışlı ve pazarlanabilir ürünlerin geliştirilmesi açısından da göz önünde bulundurulması gereken özelliklerin başta gelenlerindedir. Bu nedenle, değişik farmasötik şekillerde hazırlanan ilaçların dayanıklılıkları, en az etken maddenin etkinliği kadar önemli olmakta ve herhangi bir ilaç şekli hazırlanırken önde gelen amaçlardan biri de o ilacın ve içindeki etken maddelerin en uzun süre dayanıklı kalacak şekilde bir formülasyonunun hazırlanması olmaktadır.

Bir preparatın dayanıklılığı bir yandan fiziksel ve kimyasal yapısına, formülasyon şekline, kullanma ve depolama süresine, öte yandan sıcaklık, nem, ışık ve ambalajlama şekli vs. gibi dış etkenlere bağlıdır (13-23).

İlaç tasarımı ve imalatı ile ilgili olarak stabilitenin ilk amacı; etkinliği tesbit edilmiş bir maddenin yıllarca dayanıklı kalabileceği formül haline sokularak, o ilacın raf ömrünün mümkün olduğunca uzatılmasını sağlamaktır. Etkinliği belirlenmiş olan maddenin formülasyonu aşamasında, maddenin en doğru zaman ve yerde en iyi etkiyi yapabileceği bir ilaç şekli bulunmalı ve geliştirilmelidir. Geliştirilen ilaç şekli seçilen etken maddeyi koruyarak stabilitesini arttırmalı, özellikle dış faktörler olan hava, ışık,

sıcaklık ve nemin etkisini en az düzeye indirmelidir. Aynı zamanda diğer etken madde ve yardımcı maddeler ile olabilecek etkileşimleri önlemelidir. Bunun yanısıra kullanılacak etken maddenin molekül yapısı, yapısal değişiklikleri (polimorfizm, izomerizasyon, inverisyon vs), reaksiyona girme yeteneği ve etrafına karşı duyarlılığı da optimal olarak ayarlanmalıdır (24-27).

c) İlaçların Stabilitesini Etkileyen Faktörler

Bir formülasyonun stabilitesi değerlendirilirken, göz önünde bulundurulması gereken bir çok parametre vardır. Bunların bir kısmı yüzey görünümü, sertliği, ufalanma-aşınma miktarı, dağılma zamanı, çözünme hızı, viskozitesi gibi fiziksel faktörlerdir. Rutin olarak incelenen noktalardan birisi de ilacın içerisindeki etken maddenin, dozaj şekli içerisinde kimyasal olarak parçalanıp parçalanmadığının bilinmesidir.

Bir ilacın geliştirilmesi sırasında, parçalanma ürünlerinin tanımlanması kadar, parçalanma mekanizması ve kinetiğinin de anlaşılması gerekmektedir. Parçalanma ürünlerinin kantitatif incelenmesi bu ürünler toksik ise daha da önem kazanır. Ashında stabilizeyi belirleyici tayin, o ürünün sadece parçalanma durumunu değil, raf ömrü boyunca kullanılabilirliğinin resmi, ya da kabul edilmiş standartlara uygun olarak kaldığını gösterebilmelidir (28-30).

Sonuç olarak ilaçların bozunmalarının hangi şartlarda ve ne şekilde olduğunu bilmek, ilaçların kullanılabilirlikleri açısından önem kazanmaktadır. Bu yazımızda ilaç stabilitesi üzerinde genellikle ülkemiz coğrafi ve iklim yapısının etkisi ele alınacağından, bu çerçevede çok önemli iki parametreye olan sıcaklık ve nem faktörleri irdelenmektedir.

Sıcaklık

Herhangi bir kayıt olmadığı zaman ilaçları saklamak için kabul edilen sıcaklık oda sıcaklığıdır. Düşük sıcaklıktaki ortamlarda iyi bir saklama ortamı olarak kabul edilebilir, ancak koloidal çözeltiler, dispers sistemler, aşı, serum, insulin gibi protein yapısındaki preparatlarda çökme ve viskozite değişimi dolayısıyla uygun olmayabilir (31). Yüksek sıcaklık nedeniyle rase-mizasyon, cis-trans izomerizasyonu ortaya çıkabilir. Ayrıca tanecik büyüklüğü dağılımının değişmesi ile maddenin çözünme hızı, absorpsiyon özellikleri değişir. Çözeltilerde, uygun olmayan plastik kap ve kapağa bağlı olarak çözücü buharlaşmasına ve konsantrasyon değişimine neden olur. Süspansiyon, emülsiyon ve emülsiyon tipli merhemlerde faz ayrışması veya karışma zorlukları ortaya çıkar. Katı ve sıvı ilaç şekillerinde renklenmeye, koku ve tad değişimine, estetik görünümün bozularak mekanik dayanıklılığın azalmasına neden olur. Öğütme ve basma işlemleri sırasında veya depolama sırasında sıcaklık yükselmesine bağlı olarak etken maddenin polimorfik değişimine, buna bağlı olarak da etken maddenin serbest hale geçişinin yetersiz olmasına yol açar (24, 30, 32-36).

Nem

Özellikle katı ilaç şekillerinde preparatın öncelikle fiziksel stabilitesinde çok önemli rol oynar. Nemin etkisiyle; tablet ve drajeler sertleşir veya yumuşar. Kapsüllerin içeriği taşlaşır, böylece preparatların dağılması ve etken maddenin serbest hale geçişi gecikir. Ortamın nem durumuna bağlı olarak efervesan tabletlerin sertleşmesiyle veya tabletlerin imalatı sırasında tozların nem miktarının yüksek olmasıyla etken maddenin çözünme hızı değişir. Ambalajlama, nakliye ve kullanım sırasında tabletlerde fazla miktarda ufalanma veya kırılma görünmesinin bir nedeni de nem miktarının çok az olmasıdır. Böylece mekanik direncin azalmasıyla, katı ilaç şekillerinde estetik görünümün bozulmasının ötesinde doz hatalarına neden olur. Bu arada pek çok etken madde nemin etkisiyle parçalanır (enzimler, Vit A, B, C, D vb.) bazıları da çiçeklenme ve yumaşama gösterir. Nem izomerizasyon, rasemizasyon ve mutarotasyona da neden olur (24, 30, 37).

d) Stabilite Testlerinin Önemi ve Amacı

İlaçların endüstriyel boyutlarda üretimi, stabilite testlerinin kusursuz yapılmasını gerektirir. İlaç endüstrisi geliştikçe ve değişik iklimli ülkelere yöneldikçe, stabilite testlerinin maliyeti ve karmaşıklığı belirgin olarak artmaktadır.

Böylece özellikle ilaç endüstrisinde bu konuda yıllar geçtikçe ilerlemeler kaydedilmiş ve fen bilimlerinin tümünden yararlanılarak sadece analitik sınırlarda kalınmamış farmasötik teknolojiden geniş ölçüde yararlanılmıştır (38, 39).

Stabilite testlerinin iki ana amacı vardır;

1- İlacın farmasötik teknolojik gelişmesi esnasında en uygun formülasyonu seçmek.

2- Ürünün raf ömrünün sonuna kadar tam olarak aktivitesini sağlamak üzere son kullanma zamanını tesbit etmek.

Stabilite testleri sonucu elde edilen ilacın kullanma süresi organoleptik, fiziko-farmasötik, kimyasal ve mikrobiyolojik kriterleri içermelidir. Bir ilacın üretimi esnasında yapılması gereken stabilite çalışmalarının temel prensipleri ile ilgili bir plan yapmak gerekirse;

A- Ön dayanıklılık deneyleri ile

- İlacın stabilite profilinin tesbiti,
- Formülasyonun oluşturulması,
- Laboratuvarda ön üretim sağlanmalıdır.

Bu deneylerin amacı;

- İlaç stabilitesini etkileyen faktörleri açığa çıkarmak ve aydınlatmak,

- Formülasyonun zayıf yönlerini ortaya çıkarmak,
- Gözlem metodlarını geçerli hale koymak,
- Ambalajlamayı uygun hale getirmek,
- İlacın ömrünü yaklaşık olarak saptamaktır.

B- Uzun süreli testler

Bu testler laboratuvar üretiminden asıl üretime geçişte yapılır. Bu deneylerin amacı;

- Ön dayanıklılık çalışmalarını kontrol etmek ve onaylamak,
- İlacın son kullanma zamanını tayin etmektir.

Elde edilen sonuçlar, stabilite için zorunlu olan rapor ve lisans dökümanlarının tescili için bir temel oluşturur.

C- İzleme çalışmaları

Bu çalışmanın amacı;

- Rutin üretimi yönetmek ve kontrol etmek,
- Stabilite çalışmalarını yönlendirip bunları istatistiksel olarak değerlendirmektir.

Stabilite testlerinin bu 3 aşamada yerine getirilmesiyle preparatın stabilitesi ile ilgili geniş bir bilgi sağlanmış olur, gereksiz araştırmalar için fazla çaba sarfedilmesi önlenir (40).

Formül geliştirilmesi sırasında yapılması gereken stabilite çalışmaları şu özellikleri içerir (39, 41, 42).

- 1- İlaç formu ve kimyasal yapı bakımından benzeştiği bileşikler üzerinde, daha önceden bilinen bilgilerin değerlendirilmesi,
- 2- Gerekiyorsa hızlandırılmış testler için uygun gerilim (stress) koşullarının seçilmesi,
- 3- Seçilen gerilim koşullarına ilaç örneklerinin bırakılması ve bu koşullarda belirli süreler için bekletilmesi,
- 4- Uygun teknikler ile gerilim altındaki ilaç örneklerinin daha önceden saptanmış olan zamanlarda kontrolü,
- 5- Sonuçların değerlendirilmesi.

Gerilim koşullarının ve kontrol için zamanların saptanması yani genel anlamda stabilite testinin tasarımı, ilacın kimyasal ve fiziksel yapısı göz önüne alınarak yapılır. Bu aşamada maddenin kimyasal yapısı ve fiziko kimyasal özellikleri hakkında az şey biliniyor ise, tasarım için maddenin

kimyasal ve fiziksel yapısına benzer, fakat özellikleri iyi bilinen maddelerin stabilite özellikleri göz önüne alınır.

Bozunma mekanizması her ne olursa olsun, ilaçların bozunması genellikle sıcaklığın etkisi ile arttığından termal saklama koşullarının saptanmasında etken maddenin erime derecesi, kaynama noktası, buhar basıncı ve süblimleşme özelliklerine dikkat edilir. Örneğin 100 °C'nın üzerinde bir erime derecesine sahip bir madde adayı için şu koşullarda çalışmak öngörülmektedir (41).

- 0-4 °C (kontrol olarak)
- 20° C (oda sıcaklığı)
- 37° C (vücut sıcaklığı)
- 45° C (hafifce hızlandırılmış bozunma için)
- 80° C (önemli ölçüde hızlandırılmış bozunma için)

Aynı zamanda bir higrostat içinde nem ve ısıyı birleştirmekte (Örneğin; 37°C de % 80 bağıl nemde) faydalı olmaktadır. Amaç, uygun bir süre içinde, ölçülebilir bir bozunma sağlayacak gerilimleri seçmektir. Ancak bu arada normal saklama koşullarında görülmesi mümkün olmayan yeni bozunma reaksiyonları oluşturmamaya dikkat etmelidir. Aksi halde değerlendirme aşamasında önemli problemler ortaya çıkabilir.

Katı haldeki ilaç ile yapılan bu çalışmalarda ölçülebilir bir bozunma sağlanamıyorsa, gerekli bilgileri daha kısa sürede alabilmek için ilacın çözeltisi ile çalışılır. Bozunma için en uygun gerilim koşullarının seçilmesi büyük ölçüde bir deneme-yanılma sorunudur. Ilacın %100 parçalanması ile hiç etkilenmemesi arasında uygun bir denge sağlayabilmek için, çözelti değişen pH, sıcaklık ve reaksiyon sürelerine tabi tutulur.

Hidrolizden sonra en çok rastlanılan bozunma şekli oksidasyon ile olmaktadır. Bu nedenle ilacın çözelti örneği içinden oksijen akımı geçirilerek sonuca etkisi de incelenir. Reaksiyonlar bir çok durumda ışık ile katalizlendiğinden, çözelti görünür ışık ve UV ile de test edilmelidir.

Katı etken maddeler için uygulanması gereken bir diğer testde öğütme, ezme gibi fiziksel şokların uygulanması ile ilgilidir. Polimorfik değişimlerin varlığı da, stabilite açısından önemlidir. Farklı kristal şekli gösterebilen bir maddenin ilacın absorpsiyonunu etkileyen farklı çözünme hızları veya farklı çözünürlükleri olduğu gibi stabilite özellikleri de farklıdır (37, 43, 44).

Formülasyon çalışmaları sırasında önerilen formül bileşenleri, amaçlanan dozaj şekilleri ve düşünülen ambalaj şekline göre doğrudan dozaj şekli üzerinde stabilite testleri yapılır (45, 46). Gerek bu aşamada ve gerekse daha sonraki aşamaların stabilite testleri, eğer ön formülasyon aşaması testleri

gereği gibi yapılmışsa daha az problem taşır (24, 47-51). Pazarlanan ilacın stabilite testlerinde, ilacın pazardaki dağıtım sırasında maruz kalacağı vibrasyon ve deformasyon gibi mekanik gerilmeler sonucu ambalaj kırılması, içeriği ambalaj dışına sızdırma veya dışarıdan ambalaj içine hava veya olabilecek mikrobik sızıntılar da göz önüne alınmalıdır.

Farmasötik ürünlerde dayanıksızlık problemlerinin neden olduğu istenmeyen durumlar genel olarak şöyle sıralanabilir (52, 53);

- 1- Aktif madde ve farmakolojik etki kaybı,
- 2- Yardımcı madde kaybı,
- 3- İçerik tek düzeliğinde kayıp,
- 4- İlacın biyoyararlanımında azalma,
- 5- Farmasötik zerafetin kaybı,
- 6- Toksik ya da diğer istenmeyen maddelerin oluşumu.

e) Stabilite Testleri İçin Depolama Koşullarının Belirlenmesi

Üretici açısından stabilite testleri uygun depolama koşullarının seçimi için önemlidir. İlaçlar genelde oda sıcaklığında saklandıkları için değişik ülkeler çeşitli yöntemlerle ortalama oda sıcaklığını belirleme yoluna gitmişlerdir. Avrupa farmakopesine göre oda sıcaklığı 15-25°C, Amerikan farmakopesine göre ise 15-30°C arasında belirlenmiştir (54). Buna göre yapılan bir çalışmada eğer örnek 15°C'de saklanacaksa ilaç içeriğinin %90 limitine 46 ay sonra, 21°C'de saklanacaksa 24 ay sonra, 25°C'de saklanacaksa 16 ay sonra ulaşıldığı görülmüştür (55,56). Eğer doğru olmayan depolama sıcaklıklarında saklanır ve bundan dolayı yanlış sonuçlar hesaplanırsa hatalı yorum yapılabileceğinden stabil olmayan preparatlar piyasaya verilebilir (9, 57-59).

Uzun süreli stabilite testleri ilacın ambalajlanmış son şekli üzerinde ve pratikte geçerli olan saklama koşullarında yürütülmekte olup, tüm stabilite test programının esasını oluşturmaktadır. Genel olarak 3, 6 ve 12 aylık sürelerde 3 ve 5 seri teste tabi tutularak, ilacın geçerlilik süresinin sonuna kadar 1 senelik aralıklarla, 5 seneden uzun olmayacak şekilde bu deneylere devam edilir (60).

Uzun süreli stabilite testlerinde çevre sıcaklığı, nem oranı, ışık, basınç vb. gibi faktörler oldukça önemlidir. Dünya çapındaki stabilite testlerinin depolama koşullarına uydurulması amacıyla dünya 4 iklim kuşağına ayrılmıştır (8, 9, 55-58). Bunlar;

- 1- Ilıman iklim kuşağı,
- 2- Akdeniz yöresi iklim kuşağı "Subtropikal",

3- Sıcak, kuru hava iklim kuşağı,

4- Sıcak, fakat nemli iklim kuşağı "Tropikal".

Bu dört iklim kuşağına uyarlanan depolama koşulları şu özellikleri içermelidir.

1- Depolama ortamı daha önce saptanmış olan o bölgenin iklimsel etkilerine uygun seçilmeli,

2- Gerçek olmayan ve zorlanmış (stress) koşulları içermemeli,

3- Uygulamalarda bağıl nem göz önüne alınmalı,

4- Bireysel iklim kuşakları için saptanan depolama koşulları uygun bir şekilde genel iklim koşullarına uyarlanmalı,

5- Saptanan depolama koşulları kesinlikle özelleştirilmeli ve uygun şekilde gözlenmelidir.

Depolama koşullarını saptarken uzun zaman önce saptanmış iklimsel verilere göz atmak gerekir. Sıcaklıkları, 19°C'nin altındaki tüm dereceler için 19°C olarak alınmalı ve ortalama değerler hesaplanmalıdır. Daha sonra ölçülen bağıl nem bu sıcaklığa göre doğrulanmalıdır. Çoğu şehirler için sıcaklık ve relatif nem değerleri aynı temele göre hesaplanarak iklim kuşakları için tipik sınırlar elde edilmiştir.

Depolama koşullarının saptanmasında ürünlerin stabilitesini belirgin olarak etkileyen sıcaklık ve nem önemli rol oynarlar. Her ikisi de organoleptik, fizikokimyasal, kimyasal ve mikrobiyolojik değişikliklere neden olur. Ancak her ülkede iklim verileri zaman içinde değişiklikler ve dalgalanmalar gösterebileceği için uzun süreli stabilite testlerinde depolama koşullarının ve sınırlarının uzun periyotlar arasında değiştirilebileceği de göz önüne alınmalıdır.

I- Depolama Koşullarının Saptanmasında Sıcaklığın Rolü

Vant't Hoff konusuna göre parçalanma reaksiyonunun hızı her 10°C sıcaklık artışı ile ikiye katlanır. Bu durum Arrhenius denklemi ile de açıklanmaktadır. Bu eşitliğe göre hız sabitinin logaritması ile mutlak sıcaklığın tersi arasında doğrusal bir ilişki vardır (8, 55).

$$\log k = f\left(\frac{1}{T}\right) \quad (1)$$

Depolama için doğru ve gerekli sıcaklığın saptanması çok önemlidir. Avrupa farmakopesine göre hem 21 °C hem de 23°C oda sıcaklığı olarak kabul edilmektedir. Arrhenius denklemine göre depolama sıcaklığının saptanması önemli bir sonucun ortaya çıkmasına neden olur. Eğer bir örnek hem 20°C'de hem de 40°C'de 1 ay saklanırsa aritmetik ortalama 30°C dir. Halbuki hesaplama Arrhenius denklemi ile yapılırsa ortalama değer 34.2°C ola-

rak bulunur. Haynes, Arrhenius denkleminde yararlanarak değişik sıcaklıklardaki kinetik ortalamayı hesaplamayı mümkün kılabilecek bir formül ortaya koymuştur (61, 62).

$$T_k = \frac{\Delta E/R}{-\ln\left(\frac{e^{-\Delta E/RT_1} + e^{-\Delta E/RT_2} + \dots + e^{-\Delta E/RT_n}}{n}\right)} \quad (2)$$

Burada;

T_k : Mutlak sıcaklık olarak kinetik ortalama sıcaklık (°K)

ΔE : Aktivasyon enerjisi (82 kJmol⁻¹)

R : Gaz sabitesi (kJ. mol⁻¹ .K⁻¹)

T_{1-n} : Kinetik ortalama sıcaklığın hesaplandığı sıcaklıklardır.

Bu formülden yararlanılarak günlük, aylık ve mevsimlik sıcaklık farklılıklarından kinetik ortalama sıcaklıkları hesaplamak suretiyle efektif sıcaklık değerleri belirlenebilir.

II- Depolama Koşullarının Tesbitinde Nemin Rolü

Bağlı nem de depolama koşullarını etkileyen önemli bir faktördür. Su-yun buhar basıncı ile mutlak sıcaklığı arasındaki ilişki Clausius-Clapeyron eşitliğinde görölmektedir (38, 55).

$$\ln P = -\frac{\Delta H_v}{R} \times \frac{1}{T} + \text{Sabite} \quad (3)$$

Burada; ΔH_v : Molar buharlaşma sıcaklığıdır.

Bu değerler log P' ye karşılık 1/T grafiği çizilerek elde edilen doğrunun eğiminden hesaplanır. Aritmetik çözüm için şu denklem önerilmiştir.

$$\ln \frac{P_2}{P_1} = \frac{\Delta H_v(T_2 - T_1)}{R(T_2 \cdot T_1)} \quad (4)$$

Burada P_1 ve P_2 , T_1 ve T_2 için buhar basıncıdır. Molar buharlaşma sıcaklığı ve bir sıcaklık için veriler bilirse buhar basıncı hesaplanabilir. Verilen bir basınçta, nemli havadaki kısmi su buharı basıncı, maksimum olarak aynı sıcaklıktaki kısmi basınca eşittir.

$$\phi = \frac{P_D}{P_S} \times 100 \quad (5)$$

P_S : Doygun su buharı basıncı

P_D : Kısmi su buharı basıncı

Eğer kısmi su buharı basıncı sabit kalır ve sıcaklık değişirse bağıl nem de değişir.

Yukarıda yer alan açıklama ve değerlendirmelerden yararlanarak ilaçların saklanması ve stabilite testlerinin yürütülmesinde faydalanılan uluslararası sınırlandırmalar Tablo 1'de topluca yer almaktadır.

Tablo I: Yeryüzündeki tüm iklim kuşakları için hesaplanan iklim koşulları

İklim Koşulları	Sıcaklık (°C)	Bağıl Nem (%)
I	21	60
II	26	65
III	31	60
IV	31	70

Depolama açık havada yapılmadığı için bu iklim değerlerinde düzeltme yapılmıştır. Depolama koşulunu her ülke için hesaplamak kolaydır. Ama üretim genellikle dünya çapında olduğu için tüm iklim koşulları göz önüne alınmaktadır. III. ve IV. iklim kuşaklarının depolama sıcaklıkları aynı olduğundan değerler bir araya getirilebilir. Böylece 21°C'de %60 bağıl nem ve 31°C'de %70 bağıl nem dünya çapında uygulama için stabilite testlerinde kullanılmak üzere verilmiş iki uygun ortam olarak belirlenmiştir (8, 40, 55-57).

f) Türkiye İklim Koşullarının Tesbiti

Ülkemizde iklim koşullarını belirlemek amacıyla Devlet Meteoroloji Enstitüsü tarafından çeşitli sınıflandırmalar kullanılmaktadır. Bunlar başlıca;

1- Thornthwaite yöntemine göre iklim sınıflandırması

Bu iklim sınıflandırması temel olarak su bilançosunun gider kısmını kesin olarak belirlemek amacıyla dayanır. Bu yöntem aynı zamanda herhangi bir alanın su noksanının, su fazlasının ve buharlaşmasının hesaplanması ile yakından ilgilidir. Bu iklim sınıflandırması Türkiye'yi esas olarak dört bölgeye ayırmaktadır (63).

I. Step İklimi

a- İç Anadolu step iklimi

b- Güneydoğu Anadolu step iklimi

II- Karadeniz iklimi

a- Doğu Karadeniz iklimi

b- Orta Karadeniz iklimi,

c- Batı Karadeniz iklimi

III. Akdeniz İklimi

a- Asıl Akdeniz iklimi

b- Marmara iklimi

IV. Doğu Anadolu İklimi

a- Her mevsim yağışlı tip

b- Yazları kurak tip

2- *Martonne-Gotmann yöntemine göre iklim sınıflandırması*

Bu yöntem yeryüzünün çeşitli yerlerini yağış etkinliği bakımından karşılaştırır. Vejetasyon, toprak, drenaj, tarım ve bunun gibi hususlarda farklı görünüşler arzeden sahaların meydana gelişinde iklim etkinliğini araştırarak, değişik karakterdeki alanları ayıran sınır değerlerini belirler (64).

3- *Koppen'e göre iklim sınıflandırması*

Türkiye orta kuşak, dolayısıyla ılıman iklim ve subtropikal iklim kuşağı içerisine girmektedir (65).

a- Subtropikal iklim: Bu iklim kuşağında yılın 4 ilâ 11 ayı genellikle sıcak olup, aylık ortalama sıcaklık 20°C'nin üstünde bulunmaktadır. Bu iklim kuşağına Türkiye'de Akdeniz ve Ege kıyı şeritleri girmektedir. Karadeniz ve Marmara'nın dar kıyı şeritleri ise yarı subtropikal iklim kuşağına girmektedir.

b- İlıman iklim: Genellikle ılıman iklim karakteri göstermekle beraber bu iklim kuşağına giren bölgelerde (örneğin Türkiye'nin İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgeleri) çok sıcak yazların ve çok soğuk, hatta dondurucu kışların hüküm sürdüğü görülmektedir. Bu istisnaların dışında kuşağın yıllık ortalama sıcaklığı 10°C ile 20°C arasında bulunmaktadır. Bu nedenle İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri ılıman iklim kuşağı içerisinde yer almakla beraber; iklim özellikleri itibarıyla daha çok karasal iklim özelliklerini aksettirmektedir.

4- *Erinç kuraklık indisi formülüne göre iklim sınıflandırması*

Bu formülde yağış etkinlik indisi şekillendirilerek elde edilmiştir. Yağış etkinliği indisi bir yerin aldığı yağış miktarı ile, kaybettiği su miktarı arası-

ndaki orana bağlıdır. Bu nedenle formül gelir-gider oranı şeklindedir(66).

$$I = \frac{P}{T_{ort}} \quad (6)$$

P : Yıllık yağış miktarı

T_{ort} : Ortalama sıcaklık

I : İndis

Bir yerin hidrolojik bilançosunda gelir olarak kaydedilen su, başta yağmur ve kar olmak üzere çeşitli yağış ürünleri halinde zemine düşen yağışlar gelir unsurları, buharlaşma ve terleme, sızma ve akış yolu ile meydana gelen kayıplar ise gider unsurlarıdır.

g) Sonuç

Bu sınıflandırmalar göz önüne alındığında Türkiye'nin bölgelere göre çok değişik iklim koşulları içerdiği gözlenmektedir. Böylece özellikle dış kaynaklı ve Türkiye'nin içinde yer aldığı pek çok ülkeyi birarada inceleyen ve iklim şartlarını böylece sınırlayan uluslararası genellemelerin memleketimizin gerçek ilaç saklama ve depolama koşullarını ifadeden uzak olduğu da ortaya çıkmaktadır.

Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü'nün son 20 yıllık gözlem ve verilerine dayanılarak yapılan inceleme ve hesaplamaların sonuçlarına göre elde edilen değerler Tablo 2 ve 3'de yer almaktadır (67, 68).

Tablo 2: Türkiye'nin en sıcak, en soğuk, en nemli ve en az nemli 10 ili (Gündüz saat 14.00'deki ölçümlerden hareketle ve 19°C den küçük sıcaklıklar 19°C olarak değerlendirilerek)

Türkiye'nin en sıcak 10 ili °C		Türkiye'nin en soğuk 10 ili °C		Türkiye'nin en nemli 10 ili % B.n.		Türkiye'nin en az nemli 10 ili % B.n.	
Urfa	25.9	Kars	20.3	Tekirdağ	74.1	Adıyaman	34.5
Adana	25.8	Zonguldak	20.4	Samsun	72.7	Sivas	42.0
Aydın	25.0	Erzurum	20.5	Rize	71.8	Urfa	42.7
Adıyaman	25.0	Sinop	20.6	Sinop	71.1	Siirt	44.7
K. Maraş	24.7	Trabzon	20.6	Ordu	70.9	Elazığ	46.3
Siirt	24.7	Yozgat	20.7	Trabzon	69.7	Niğde	47.6
G. Antep	24.4	Rize	20.7	Giresun	68.3	K. Maraş	48.4
Manisa	24.3	Artvin	20.8	İstanbul	67.5	G. Antep	50.1
Antakya	24.2	Samsun	20.8	Çanakkale	67.4	Amasya	51.3
Antalya	24.1	Ordu	20.9	Mersin	67.2	Gümüşhane	51.4

Tablo 3. Türkiye'nin son 20 yıllık meteoroloji verilerine göre elde edilen kinetik ortalama değerler (En dūřuk depolama sıcaklığı alt sınırı 19°C olarak)

a) Oda sıcaklığı (Türkiye'nin kinetik ortalama sıcaklığı)	22 ° C
b) Oda nemi (Türkiye'nin ortalama nem oranı)	% 50 Bağıl nem
c) Stress sıcaklığı (Türkiye'nin en sıcak yöresinde hüküm süren en yüksek sıcaklıkların ortalaması) (Saat 14.00 itibariyle)	37°C
d) Stress sıcaklığının hüküm sürdüğü yörede bulunan en yüksek nem oranlarının ortalaması	%60 Bağıl nem
e) Türkiye'nin en nemli yöresinde hüküm süren en yüksek nem oranlarının ortalaması	% 80 Bağıl nem

Buna göre Türkiye'de üretilen, depolanan ve uzun süreli stabilite testlerine tabi tutulan farmasötik preparatlarda yukarıda açıklanan değerlerin kullanılması gerektiği ortadadır. Açıkca görüldüğü gibi, Türkiye'ye yakıştırılan 2. Bölge Akdeniz yöresi iklim kuşağının genellemeleri Türkiye'nin iklim özelliklerine uymamakta, çok çeşitli ve birbirleriyle çelişkili coğrafi ve iklim özelliklerine sahip ölkemizde dar kalıplar içindeki 2. Bölge sınırlarının geçerliliği şüpheli götürmektedir.

Ancak şunu da tekrar vurgulamak gerekmektedir ki, ölkemizde iklim verileri çeşitli faktörlerin etkisiyle (doğal yapının bozulması, hava kirliliği, büyük barajların inşaatı, vs.) zaman içinde değişiklikler gösterebilmekte ve uzun süreli stabilite testlerinde esas alınan kriterlerinde geniş zaman dilimlerinde yenilenmesi ve güncelleştirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. CANEFE, K. (1980) Amoksisilin Trihidrat Tabletlerinin Formülasyon Parametreleri, Stabilite Kinetiği ve Çözünme Hızı ile İlgili Çalışmalar, Doçentlik Tezi, A.Ü.Ecz.Fak.
2. ULUSOY, A. (1985) Sıvı Dispersiyon Yapısındaki İlaçların Türkiye İklim Koşullarındaki Stabiliteleri Üzerine Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, A.Ü.Ecz. Fak.
3. BOZKIR, A. (1989) Türkiye'de Üretilen Katı Formdaki İlaç Şekillerinin Memle-

kitimiz Coğrafi ve İklim Özelliklerine Bağlı Olarak Stabilitelerinin Araştırılması, Doktora Tezi, A.Ü.Ecz.Fak.

4. CANEFE, K., ŞİMŞEK, I., YÜKSEL, N. (1989) A Study on Vitamin C Contents of Vitamin C Preparations in Solution Form and Fruit Juices under Different Stability Conditions, *Acta Pharm. Tur.*, 31, 7-14.
5. CAN EFE, K., ŞİMŞEK, I., ÖZYURT, C., YÜKSEL, N. (1989) An Investigation on the Effects of Different Blister Packaging Materials on the Stability of Vitamin C Tablets, *Gazi Ecz. Fak. Der.*, 6,7-14.
6. AMIDON, K.E., MIDDLETON, K.R. (1988) Accelerated Physical Stability Testing and Long-Term Predictions of Changes in the Crushing Strength of Tablets Stored in Blister Packages, *Int. J. Pharm.*, 45, 79-89.
7. THOMA, K. (1978) *Arzeimittelstabilität*, Deutscher Apotheker Vertrieb, Frankfurt a. M., 16-162.
8. GRIMM, W., SCHEPKY, G. (1980) *Stabilitätsprüfung in der Pharmazie*, Editio Cantor, Aulendorf. 335-372.
9. GRIMM, W., THOMA, K. (1987) *Stability Testing of Drug Products*, Verlagsgesellschaft, Stuttgart., 17-76.
10. ESSIG, D., HOFER, J.J., SCHMIDT, P., STUMPF, H. (1986) *Stabilisierungstechnologie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart., 15-77.
11. CONNORS, K.A., AMIDON, G.L., STELLA, V. (1979) *Chemical Stability of Pharmaceuticals*, John Wiley Sons, New York.
12. RUBINSTEIN, M.H. (1989) *Pharmaceutical Technology-Drug Stability*, Ellis Horwood Limited, England., 11-24.
13. YORK, P. (1976) A preliminary Study of the Physical Stability of Tablets Prepared From Powders Stored under Tropical Conditions, *Pharmazie*, 31, 383-386, 1976.
14. WAHBA, S.K., AMIN, S.W., RAFAEL, N. (1968) Study of the Degradation of Dexamethasone in certain Pharmaceutical Preparations, *J. Pharm. Sci.*, 57, 1231-1233.
15. TARDIF, R. (1965) Reliability of Accelerated Storage Tests to Predict Stability of Vitamins (A, B, C) in Tablets, *J. Pharm. Sci.*, 54, 281-284.
16. CANEFE, K., BOZKIR, A. (1990) Tablet ve Kapsüllerin Stabilitelerinin İncelenmesi, *Pharmacia*, 30 (3), 126-135.
17. SANGEKAR, S.A., SARLI, M., SHETH, P.R. (1972) Effect of Moisture on Physical Characteristics of Tablets Prepared From Direct Compression Excipients, *J. Pharm. Sci.*, 61, 939-944.
18. REES, J.E., SHOTTON, E. (1971) Effects of Moisture in Compaction of Particula-

- Tablet Material, *J. Pharm. Sci.*, 60, 1704-1708.
19. NYQVIST, H. (1982) Studies on the Physical Properties of Tablets and Tablet Excipients-The Application of Accelerating test Conditions to the Study of Water Sorption and Change in Hardness, 19, 401-412.
 20. NYQVIST, H., NICKLASSON, M. (1981) Studies on the Physical Properties of Tablets and Tablet Excipients-Water Sorption and its Effect on Hardness and Disintegration, *Acta Pharm. Suec.*, 18, 305-314.
 21. NYQVIST, H., NICKLASSON, M. (1982) Studies on the Physical Properties of Tablets and Tablet Excipients-Film Coating for Protection of a Light-Sensitive Tablet Formulation, *Acta Pharm. Suec.*, 19, 223-228.
 22. NYOVIST, H., NICKLASSON, M. (1982) Studies on the Physical Properties of Tablets and Tablet Excipients- A Program for Accelerated Light Stability Testing, *Acta Pharma. Suec.*, 19, 91-98.
 23. MATSUDA, Y., ITOOKA, T., MITSUHASHI, Y. (1980) Photostability of Indomethacin in Model Gelatin Capsules: Effects of Film Thickness and Concentration of Titanium Dioxide on the Coloration and Photolytic Degradation, *Chem. Pharm.Bull.*, 28, 2665-2671.
 24. LACHMAN, L., LIEBERMAN, H.A., KANIG, J.L. (1986) *The Practice of Industrial Pharmacy*, 3 th ed., Lea and Febiger, Philadelphia, 761-803.
 25. COOPER, M.S., LINTNER, C.J. (1973) *Quality Control in the Pharmaceutical Industry*, Vol. 2, Academic Press, New York, 142-221.
 26. MOLLICA, J.A., AHUJA, J.(1978) Stability of Pharmaceuticals, *J. Pharm. Sci.*, 67, 443-455.
 27. MOLLICA, J.A., COHEN, J. (1986) Ürün Tasarım ve Geliştirilmesinde Stabilitenin Önemi, Uluslararası 2. Farmasötik Teknoloji Sempozyumu, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara, 251-258.
 28. FLOREY, K. (1986), Farmasötik Preparatlar için Stabilité Tayinlerinin Geliştirilmesi, Uluslararası 2. Farmasötik Teknoloji Sempozyumu, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara, 1-8.
 29. WILLIG, S.H., TUCKERMAN, M.M. (1982) *Good Manufacturing Practices for Pharmaceuticals*, Marcel Dekker, INC., New York, 137-144.
 30. PARROT, E.L. (1970) *Pharmaceutical Technology*, Burgess Pub. Comp. Minneapolis, 250-273.
 31. CUTIE, M.R. (1980) Effects of Cold and Freezing temperatures, *Drug and Cosm. Chem.*, 40-43.
 32. POLDERMAN, J. (1977) *Formulation and Preparation of Dosage Forms*, Elsevier, North-Holland. 271-305.

33. GSTIRNER, F. (1973) Arzneibereitung, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft MBH, Stuttgart, 177-250.
34. CARSTENSEN, J. T. (1974) Stability of Solid and Solid Dosage Forms, *J. Pharm. Sci.*, 63, 1-4.
35. CARSTENSEN, J.T., JOHNSON, J.B., VALENTINE, W., VANCE, J.T. (1964), Extrapolation of Appearance of Tablets and Powders from Accelerated Storage Tests, *J. Pharm. Sci.*, 53, 1050-1054.
36. CARSTENSEN, J.T., OSADCA, M., RUBIN, S.H., (1969), Degradation mechanisms for Water-Soluble Drugs in Solid Dosage Forms, *J. Pharm. Sci.*, 58, 549-553.
37. MARTIN, E. W., COOK, E.F. (1980) Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Comp., Easton, 16 th ed, 1425-1437.
38. GRIMM, W., THOMA, K. (1988) Stability Testing in Industry for World Wide Marketing, Özel Seminer Notları, Boehringer Ingelheim, 1-36.
39. LIEBERMAN, H.A., LACHMAN, L. (1981) Pharmaceutical Dosage Forms-Tablets, Vol. 2, Marcel Dekker, Inc., New York.
40. AUTERHOFF, G. (1989) "Follow-up" Stabilitätsuntersuchungen, *Pharm. Ind.* 51, 419-422.
41. BUDDLE, G.C., DOBSON, K., STUBBLES, J.A. (1981) Stability Testing of Drug Substances at the Pre-Development Stage, *Int. J. Pharm., Tech. and Prod. Mfr.*, 2, 28-31.
42. MONKHOUSE, D.C. (1984) Stability Aspects of Preformulation and Formulation of Solid Pharmaceuticals, *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 10, 1373-1413.
43. GÖNÜL, N. (1977) Sülfametoksazolün Değişik Kristal Şekillerinin (Polimorfolarının) Çözünme Kinetiğinin İncelenmesi, Doçentlik Tezi, A.Ü.Ecz. Fak.
44. HALEBLIAN, J., Mc CRONE, W. (1969), Pharmaceutical Applications of Polymorphism, *J. Pharm. Sci.*, 58, 911-929.
45. FDA: Guideline for Submitting Documentation for the Stability of Human Drugs and Biologics, February 1987.
46. DUKES, G. (1984) Stability Programs for Formulation Studies, *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 10: 1413-1425.
47. DEAN, D.A. (1984) Stability Aspects of Packaging, *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 10: 1463-1495.
48. LANTZ, R. J. (1984) Stability and Scale-up Studies, *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 10, 1425-1432.
49. MARTIN, A. N., SWARBRICK, J. (1969) Physical Pharmacy, Lea and Febiger, Philadelphia, 2 nd Ed., 354-372.

50. RHODES, C. T. (1984) An Overview of Kinetics for the Evaluation of the Stability of Pharmaceutical Systems, Drug Dev. and Ind. Pharm., 10, 1163-1174.
51. THOMPSON, K. (1984) Gong Stability Programs for Marketed Batches, Drug Dev. and Ind. Pharm., 10, 1449-1461.
52. RHODES, C.T. (1984) Market Stres Tests, Drug Dev. and Ind. Pharm., 10;1500-1503.
53. HARTMANN, V., KRUMMEN, K., SCHNABEL, G., BETHKE, H. (1982) Techniques of Stability Testing and Shelf-Life Predictions, Pharm. Ind., 44, 71-75.
54. YANG, W. (1983) A Discussion on Room Temperature for Stability Testing, Drug Dev. and Ind. Pharm., 9, 849-861.
55. GRIMM, W. (1985) Storage Conditions for Stability Testing-I, Drugs Made in Germ., 28, 196-200.
56. GRIMM, W. (1986) Storage Conditions for Stability Testing-II, Drugs Made in Germ, 29, 39-47.
57. FUTSCHER, N. (1972) Haltbarkeitsrűfungen von Arzneispezialitaten, Pharm. Ind., 34, 479-480.
58. YANG, W. (1981) Statistical Treament of Stability Data, Drug Dev. and Ind. Pharm., 7, 63-77.
59. LINTNER, C.J., NORTHAM, J.I., COLE, R.J. (1970) Use of Computer Tables and Printouts for Interpreting and Predicting Drug Stability Data, Am., Perfum. Cosmet., 85, 31-37.
60. KRUMEN, K., SUCKER, H. (1986) Farmasötik Endüstride Stabilite Testlerinin Temel Prensipleri-Raf Ömrünü Saptama Yöntemleri, Uluslararası 2. Farmasötik Teknoloji Simpozyumu, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakűltesi, Ankara, 105-134.
61. HAYNES, J.D. (1971) Worldwide Virtual Temperatures for Product Stability Testing, J. Pharm. Sci., 60, 927-929.
62. HAYNES, J., SIMPSON, J., KRUEGER, J., CALLAHAN, J. (1984) Optimization of Experimental Designs for two Cases in Elevated Temperature Stability Studies, Drug Dev. and Ind. Pharm., 10, 1505-1526.
63. Thornhwaite İklim Tasnifi, Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü Dökümanları, 1986.
64. Martonne-Gottmann Metodu, Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü Dökümanları, 1986.
65. Koppen İklim Sınıflandırması, Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü Dökümanları, 1986.
66. ERTÜRK, A.K, BAYAR, F.A. (1984) Türkiye'nin İklim Tasnifi-Eriñç Kuraklık İndis Forműlüne Göre.
67. T.C. Başbakanlık Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü, EBİM Dökümanları (1970-1990).
68. Aylık Meteoroloji Bűlteni, T.C. Başbakanlık Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü, 1986 Şubat-1990 Aralık.

DÜZELTME

Pharmacia-JTPA'nın 30 (1), 1990 sayısında yayınlanan "Influence of nickel on hepatic monooxygenases, lipid peroxidation, glutathione and glutathione S-transferase of mice in vitro" isimli makalenin kaynaklar bölümünde basıma bağlı hata düzeltilerek ekte sunulmuştur.

6. Iscan, M., (1984) "A comparative study of the effects of cadmium and nickel on liver microsomal drug metabolizing enzymes of guinea-pig *in vitro*" **Comp. Biochem. Physiol.** 79 C, 429-433.
7. Nebert, D. W., Gelboin, H. V. (1968) "Substrate-inducible microsomal aryl hydroxylase in mammalian cell culture". **J. Biol. Chem.** 243, 6242-6249.
8. Tsang, S., Furst, A., (1976) "In vitro inhibition of aryl hydrocarbon hydroxylase by heavy metals". **Oncology** 33, 201-204.
9. İnci, M., (1983), "Characterization of microsomal ethylmorphine N-Demethylase from sheep liver". M.Sc. Thesis. METU, Ankara
10. Lui, E.M.K., Lucier, G.W., (1981), "Hypophysial regulation of cadmium-induced depression of the hepatic monooxygenase system in the rat" **Molec. Pharmacol.** 20, 165-171.
11. Karakaya, A., Iscan, M., (1988), "Effects of cadmium on pulmonary and renal microsomal drug metabolizing enzymes of the guinea-pig". **Comp. Biochem. Physiol.** 90C, 241-244.
12. Kamatagi, T., Kitagawa, H., (1973), "Effects of lipid peroxidation on activities of drug metabolizing enzymes in liver microsomes of rats". **Biochem. Pharmacol.** 22, 3199-3207.
13. Anundi, I., Hogberg, J., Stead, A.H., (1979) "Glutathione depletion in isolated hepatocytes: its relation to lipid peroxidation and cell damage". **Acta. pharmac. tox.** 45, 45-55.
14. Younes, M., Seigers, C.P., (1981), "Mechanistic aspect of enhanced lipid peroxidation following glutathione depletion *in vitro*" **Chem. Biol. Interact.** 34, 257-266.
15. Imai, Y., Ito, A., Sato, R., (1966), "Evidence for biochemically different types of vesicles in the hepatic microsomal fraction". **J. Biochem.** 60, 417-428.
16. Nash, T., (1953) "The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction." **Biochem. j.** 55, 416-421.
17. Cochin, J., Axelrod, J., (1959) "Biochemical and pharmacological changes in the rat following chronic administration of morphine, nalorphine and normorphine". **J. Pharmac. exp. Ther.** 125, 105-110.
18. Ellman, G.L., (1959), "Tissue sulfhydryl groups". **Archs. Biochem. Biophys.** 82, 70-77.
19. Ellman, G.L., Lysko, H., (1987), "A precise method for determination of whole blood and plasma sulphhydryl groups". **Analyt. Biochem.** 93, 98-105.
20. Placer, Z.A., Cushman, L., Johnson, B.C., (1966) "Estimation of product of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biochemical systems" **Analyt. Biochem.** 16, 357-364.
21. Habig, W.H., Pabst, M. J., Jakoby, W.B., (1974) "Glutathione-S transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation". **J. Biol. Chem.** 249, 7130-7139.
22. Lowry, O. H., Rosebrough, H. J., Farr, A. L., Randall, R. J., (1951), "Protein measurement with the Folin phenol reagent". **J. Biol. Chem.** 193, 265-275.
23. Arınc, E., İscan, M.Y., (1983) "Comparative studies of sheep liver and lung microsomal aniline 4-hydroxylase" **Comp. Biochem. Physiol.** 74C, 151-158.
24. Gonzalez, F. J., (1989) "The molecular biology of cytochrome P450 s". **Pharmac. Rev.** 40, 243-288.
25. Baird, M.B., (1980), "Microsomal NADPH-dependent lipid peroxidation does not require the presence of intact cytochrome P-450". **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 95, 1510-1516.
26. Stacey, N.H., Cantilena, L.R., Klaassen, C.D., (1980), "Cadmium toxicity and lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes". **Toxicol. Appl. Pharmacol.** 53, 470-480.
27. Stacey, N.H., Klaassen, C.D., (1981), "Comparison of the effects of metals in cellular injury and lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes". **J. Toxicol. Environ. Health.** 7, 139-147.
28. Stacey, N.H., Kappus, H. (1982), "Cellular toxicity and lipid peroxidation in response