



**ANTİEPİLEPTİK ETKİN MADDE İÇEREN İLAÇ
ŞEKİLLERİNİN HAZIRLANMASI VE
KARAKTERİZASYONU**

Büşra KANDİLLİ

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Meltem ÇETİN

Doktora Tezi-2019

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

**ANTİEPİLEPTİK ETKİN MADDE İÇEREN İLAÇ
ŞEKİLLERİNİN HAZIRLANMASI VE
KARAKTERİZASYONU**

Büşra KANDİLLİ

**Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Meltem ÇETİN**

**ERZURUM
2019**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

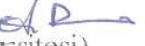
**ANTI EPİLEPTİK ETKİN MADDE İÇEREN İLAÇ ŞEKİLLERİNİN
HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU**

Büşra KANDİLLİ

Tez Savunma Tarihi : 08.07.2019

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Meltem ÇETİN (Atatürk Üniversitesi) 

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ayşe Vildan BEŞE (Atatürk Üniversitesi) 

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Afife Büşra UĞUR KAPLAN (Atatürk Üniversitesi) 

Jüri Üyesi : Prof. Dr. İmran VURAL (Hacettepe Üniversitesi) 

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Esra DEMİRTÜRK (Çukurova Üniversitesi) 

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Duygu ARIKAN
Enstitü Müdürü 

Doktora Tezi
ERZURUM - 2019

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	VI
ÖZET	VII
ABSTRACT.....	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
TABLolar DİZİNİ.....	XVI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Epilepsi	3
2.2. Antiepileptik İlaçlar	8
2.2.1. KBZ	9
2.2.1.1. KBZ'nin Fizikokimyasal Özellikleri	9
2.2.1.2. KBZ'nin Farmakolojik Özellikleri	10
2.2.1.3. KBZ'nin Farmakokinetik Özellikleri.....	11
2.2.1.4. KBZ'nin Stabilitesi	13
2.2.1.5. KBZ Dozu.....	14
2.2.1.6. KBZ'nin Piyasa Preparatları	15
2.2.2. LEV	15
2.2.2.1. LEV'in Fizikokimyasal Özellikleri	15
2.2.2.2. LEV'in Farmakolojik Özellikleri.....	16
2.2.2.3. LEV'in Farmakokinetik Özellikleri.....	18
2.2.2.4. LEV'in Stabilitesi	19
2.2.2.5. LEV'in Kullanım Dozu	20

2.2.2.6. LEV'in Piyasa Preparatları	21
2.3. İlaç Taşıyıcı Nanopartiküler Sistemler	21
2.3.1. NP Hazırlama Yöntemleri	24
2.3.1.1. Nanoçöktürme Yöntemi.....	24
2.3.2. NP Hazırlanmasında Kullanılan Polimerler	25
2.3.2.1. PLGA	28
2.4. ADT'ler.....	29
2.4.1. ADT Formülasyonlarının Üretim Yöntemleri	32
2.4.1.1. Liyofilizasyon (Dondurarak Kurutma) Yöntemi	32
2.4.1.2. Direkt (Doğrudan) Basım Yöntemi	33
3. MATERYAL VE METOT.....	35
3.1. Materyal	35
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	35
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	36
3.2. Metot.....	37
3.2.1. KBZ ve LEV'in UV Spektrumu	37
3.2.2. KBZ ve LEV'in HPLC Yöntemiyle Miktar Tayini	37
3.2.2.1. KBZ ve LEV'e ait Kalibrasyon Doğrusunun Elde Edilmesi	37
3.2.2.2. Analitik Yöntemin Geçerliliği	38
3.2.3. KBZ'nin Çözünürlük Tayini Çalışması	42
3.2.4. Nanopartiküler Sistemlerin Hazırlanması.....	42
3.2.5. Hazırlanan Nanopartiküler Sistemlerin Karakterizasyonu	45
3.2.5.1. Yüzey Özellikleri.....	45
3.2.5.2. Partikül Büyüklüğü, Partikül Büyüklüğü Dağılımı ve Zeta Potansiyel Tayini .	45
3.2.5.3. Enkapsülasyon Etkinliği ve Yükleme Kapasitesi Tayini.....	45

3.2.5.4. Hazırlama Verimi	46
3.2.5.5. <i>İn Vitro</i> Salım Çalışması.....	46
3.2.5.6. NP Formülasyonlarına Ait FT-IR Analizi	47
3.2.5.7. NP Formülasyonlarına Ait DSC Analizi	47
3.2.6. ADT Formülasyonlarının Hazırlanması	47
3.2.6.1. Liyofilizasyon Yöntemiyle ADT Formülasyonu Hazırlanması.....	49
3.2.6.2. Direkt Basım Yöntemiyle ADT Formülasyonu Hazırlanması	50
3.2.7. Direkt Basım Yöntemiyle Hazırlanan ADT'ler İçin Toz Kontrolleri.....	50
3.2.7.1. Yığın Açısı ve Akış Süresi Kontrolü	50
3.2.7.2. Basılabilirlik İndisi ve Hausner Oranı Tespiti	51
3.2.8. Hazırlanan ADT'ler Üzerinde Yapılan <i>İn Vitro</i> Kontroller.....	52
3.2.8.1. ADT'lerin Kütle Tekdüzeligi Tayini	53
3.2.8.2. ADT'lerin İçerik Tekdüzeligi Tayini.....	53
3.2.8.3. ADT'lerin Çap ve Kalınlığı Tayini.....	53
3.2.8.4. ADT'lerin Kırılmaya Karşı Direncinin Tayini	54
3.2.8.5. ADT'ler İçin Ufalanabilirlik (Friyabilite) Tayini	54
3.2.8.6. ADT'lerin Dağılma Testi.....	54
3.2.8.7. ADT'lerin Çözünme Testi	55
3.2.8.8. ADT'lerin Islanma Süresi ve Su Absorplama Kapasitesi Tayini	55
3.2.8.9. ADT'lerin Dispersiyon Süresinin Tayini.....	56
3.2.8.10. ADT Formülasyonlarına Ait FT-IR Analizleri.....	56
3.2.8.11. ADT Formülasyonlarına Ait DSC Analizleri	56
3.2.9. <i>İn Vivo</i> Çalışmalar	56
3.2.9.1. PTZ ile Tutuşma Modelinin Oluşturulması	57

3.2.9.2. PTZ ile Sıçanlarda Oluşturulan Epilepsi Modelinde KBZ+LEV-PLGA-NPs ve DB-ADT'lerin Etkilerinin İncelenmesi	58
3.2.10. İstatistiksel Yöntem	61
4. BULGULAR.....	62
4.1. KBZ ve LEV'in UV Spektrumu	62
4.2. KBZ ve LEV'in HPLC Yöntemiyle Miktar Tayini	63
4.2.1. KBZ ve LEV'e ait Kalibrasyon Doğrusunun Elde Edilmesi	63
4.2.2. Analitik Yöntemin Geçerlilik Bulguları	65
4.2.2.1. Doğrusallık ve Çalışma Aralığı	65
4.2.2.2. Doğruluk	65
4.2.2.3. Kesinlik	65
4.2.2.4. LOD ve LOQ Değerleri	67
4.2.2.5. Özgüllük.....	68
4.2.2.6. Stabilitate	70
4.2.3. KBZ'nin Çözünürlük Tayini Bulguları.....	74
4.3. Hazırlanan Nanopartiküler Sistemlerin Karakterizasyon Bulguları	74
4.3.1. Yüzey özellikleri.....	74
4.3.2. Partikül Büyüklüğü, Partikül Büyüklüğü Dağılımı ve Zeta Potansiyel Tayini Sonuçları.....	75
4.3.3. % EE ve % YK Sonuçları	77
4.3.4. Hazırlama Verimi	77
4.3.5. <i>İn Vitro</i> Salım Çalışması.....	78
4.3.6. NP Formülasyonlarına Ait FT-IR Spektrumları	79
4.3.7. NP Formülasyonlarına Ait DSC Termogramları	82
4.4. DB-ADT'lerin Toz Kontrolü Bulguları	86

4.4.1. Yığın Açısı ve Akış Süresi.....	86
4.4.2. Basılabilirlik İndisi ve Hausner Oranı	86
4.5. Hazırlanan ADT'ler Üzerinde Yapılan <i>İn Vitro</i> Kontrollerin Bulguları	87
4.5.1. ADT'lerin Kütle Tekdüzeligi.....	88
4.5.2. ADT'lerin İçerik Tekdüzeligi	88
4.5.3. ADT'lerin Çap ve Kalınlığı	88
4.5.4. ADT'lerin Kırılmaya Karşı Direnci.....	88
4.5.5. ADT'lerin Friyabilitesi	89
4.5.6. ADT'lerin Dağılma Testi.....	90
4.5.7. ADT'lerin Çözünme Testi	90
4.5.8. ADT'lerin Islanma Süresi ve Su Absorplama Kapasitesi.....	91
4.5.9. ADT'lerin Dispersiyon Süresi	92
4.5.10. ADT Formülasyonlarına Ait FT-IR Spektrumları	93
4.5.11. ADT Formülasyonlarına Ait DSC Termogramları	98
4.6. <i>İn Vivo</i> Çalışma Bulguları.....	103
4.6.1.1. KBZ+LEV-PLGA-NPs ve DB-ADT Formülasyonlarının Nöbet Skorları ile <i>İn Vivo</i> Etkinliklerinin Değerlendirilmesi Sonuçları	103
5. TARTIŞMA.....	113
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	144
KAYNAKLAR	146
EKLER	180
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	180
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	181
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	182

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamın her aşamasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan, maddi/manevi her anlamda, her zaman yanımda olan değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Meltem ÇETİN'e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışması kapsamında gerçekleştirdiğim *in vivo* çalışmalarda laboratuvar imkanlarını sağlayan ve yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU'na ve ekibine, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Dr. Öğr. Üyesi Numan TAŞPINAR'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen kıymetli arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Afife Büşra UĞUR KAPLAN'a, manevi olarak her zaman yardım ve desteklerini gördüğüm arkadaşlarım Lale DUYSAK ve Gülsüm YİTİK TONKAZ'a teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan anneme ve babama, yoğun çalışmalarım sırasında sabır göstererek sevgi ve anlayışla bana destek olan eşime sonsuz teşekkürler ederim.

Büşra KANDİLLİ

ÖZET

Antiepileptik Etkin Madde İçeren İlaç Şekillerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Amaç: Bu çalışmanın amacı, epilepsi tedavisine yönelik KBZ ve LEV'i bir arada (KBZ+LEV) içeren nanopartikül ve ADT formülasyonlarını geliştirmek ve bu formülasyonların *in vitro* özelliklerini incelemektir. Ayrıca, epilepsi modeli oluşturulmuş sıçanlarda formülasyonların antiepileptik etkilerini *in vivo* olarak değerlendirmektir.

Materyal ve Metot: KBZ ve LEV'in miktar tayini için HPLC-UV yöntemi kullanılmış ve analitik yöntemin geçerliliği gösterilmiştir. KBZ+LEV-PLGA-NPs nanopresipitasyon yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Ayrıca, etkin madde içermeyen B-PLGA-NPs formülasyonu da hazırlanmıştır. Hazırlanan tüm nanopartikül formülasyonları için *in vitro* karakterizasyon çalışmaları (yüzey morfolojisi, partikül büyüklüğü ve dağılımı, ZP, EE, YK ve *in vitro* salım özellikleri) gerçekleştirilmiştir. Diğer taraftan, ADT formülasyonları liyofilizasyon (L-ADT) ve direkt basım (DB-ADT) yöntemleri ile hazırlanmıştır. ADT formülasyonlarının kütle tekdüzeliği, içerik tekdüzeliği, çapı, kalınlığı, kırılmaya karşı direnci, friyabilitesi, dağılma süresi, dispersiyon süresi, çözünme özellikleri, ıslanma süresi ve su absorplama kapasitesi incelenmiştir. Ayrıca, tüm formülasyonlar için FT-IR ve DSC analizleri de yapılmıştır. Daha sonra, PTZ ile sıçanlarda epilepsi modeli oluşturularak KBZ+LEV-PLGA-NPs ve DB-ADT formülasyonlarının antiepileptik etkileri incelenmiştir.

Bulgular: Hazırlanan nanopartiküllerin küresele yakın bir şekle sahip olduğu saptanmıştır. B-PLGA-NPs ve KBZ+LEV-PLGA-NPs'nin partikül büyüklüğü ve ZP değerleri sırasıyla 171.92 ± 4.637 nm ve 180.62 ± 6.260 nm ($p > 0.05$), -20.28 ± 2.992 mV ve -27.08 ± 3.110 mV ($p < 0.05$) olarak saptanmıştır. KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonunun % EE ve % YK değerleri sırasıyla KBZ için 51.00 ± 5.944 ve 3.89 ± 0.429 ; LEV için 2.05 ± 0.367 ve 0.16 ± 0.026 'dır. Diğer taraftan, hazırlanan ADT formülasyonlarının ise kütle tekdüzeliği, içerik tekdüzeliği, friyabilite ve çözünme test sonuçları farmakope limitleri içerisinde tespit edilmiştir. Ayrıca, L-ADT ve DB-ADT formülasyonlarının dağılma süreleri sırasıyla 1.55 ± 0.344 sn ve 31.50 ± 7.477 sn olarak saptanmış ve Avrupa Farmakopesi'ne göre ADT'lerin 3 dk.'dan daha kısa sürede dağılması gerekliliği karşılanmıştır. ADT'ler için yapılan dispersiyon süresi, ıslanma süresi ve su absorplama kapasitesi tayini bulguları ise literatürlerle uyumlu bulunmuştur. KBZ ve LEV grupları ile karşılaştırıldığında KBZ+LEV grubu için nöbet skorlarında anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p < 0.05$). KBZ+LEV-PLGA-NPs ve DB-ADT formülasyonları ise KBZ+LEV grubu ile benzer antiepileptik aktivite göstermiştir.

Sonuç: KBZ+LEV içeren nanopartikül ve ADT formülasyonları başarılı bir şekilde hazırlanmıştır. KBZ+LEV içeren formülasyonların kullanılması epilepsi tedavisinde faydalı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Ağızda dağılan tablet, epilepsi, karbamazepin, levetirasetam, nanopartikül.

ABSTRACT

Preparation and Characterization of Dosage Forms Containing Antiepileptic Active Substance

Aim: The aim of this study was to develop the nanoparticles and ODT formulations containing KBZ and LEV combination (KBZ+LEV) for the treatment of epilepsy and to investigate the *in vitro* characteristics of these formulations. It is also to evaluate the antiepileptic effects of the formulations *in vivo* in a rat epilepsy model.

Material and Method: HPLC-UV method was used for the determination of KBZ and LEV and also the analytical method was validated. KBZ+LEV-PLGA-NPs were prepared using nanoprecipitation method. Besides, B-PLGA-NPs formulation without active substance was also prepared. *In vitro* characterization studies (surface morphology, particle size and distribution, ZP, EE, DL and *in vitro* release properties) were performed for all prepared nanoparticle formulations. On the other hand, ODT formulations were prepared by lyophilization (L-ODT) and direct compression (DC-ODT) methods. The uniformity of mass, content uniformity, diameter, thickness, the resistance to crushing, friability, disintegration time, dispersion time, dissolution properties, wetting time and water absorption capacity of ODT formulations were examined. In addition, FT-IR and DSC analyzes were performed for all formulations. Subsequently, the antiepileptic effects of KBZ+LEV-PLGA-NPs and DC-ODT formulations were investigated PTZ-induced epilepsy model in rats.

Results: It was determined that the prepared nanoparticles were approximately spherical shape. The particle size and ZP values of B-PLGA-NPs and KBZ+LEV-PLGA-NPs were found as 171.92 ± 4.637 nm and 180.62 ± 6.260 nm ($p > 0.05$), -20.28 ± 2.992 mV and -27.08 ± 3.110 mV ($p < 0.05$), respectively. The EE % and DL % values of the KBZ+LEV-PLGA-NPs formulation were 51.00 ± 5.944 ve 3.89 ± 0.429 for KBZ and 2.05 ± 0.367 ve 0.16 ± 0.026 for LEV, respectively. On the other hand, the uniformity of mass, content uniformity, friability and dissolution test results of the ODT formulations were determined within the pharmacopoeia limits. In addition, the disintegration times of L-ODT and DC-ODT formulations were determined as 1.55 ± 0.344 sn ve 31.50 ± 7.477 sn, respectively, and it was fulfilled a requirement of disintegration time of less than 3 min for ODTs according to the European Pharmacopoeia. The test results of dispersion time, wetting time and water absorption capacity for ODTs were found to be consistent with the literature. There was a significant decrease in the seizure scores for the KBZ+LEV group compared to the KBZ and LEV groups ($p < 0.05$). KBZ+LEV-PLGA-NPs and DC-ODT formulations showed similar antiepileptic activity with KBZ+LEV group.

Conclusion: Nanoparticles and ODT formulations containing KBZ+LEV were successfully prepared. The use of the formulations containing KBZ+LEV may be useful in the treatment of epilepsy.

Key Words: Carbamazepine, epilepsy, levetiracetam, nanoparticle, orally disintegrating tablet.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADT	: Ağızda Dağılan Tablet
AEİ	: Antiepileptik İlaç
ATADEM	: Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi
BH	: Bağlı Hata
BP	: İngiliz Farmakopesi
BSS	: Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi
DCM	: Diklorometan
DLS	: Dinamik Işık Saçılımı
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EE	: Enkapsülasyon Etkinliği
EP	: Avrupa Farmakopesi
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi
GABA	: Gama Amino Bütirik Asit
HCl	: Hidroklorik Asit
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
HPMC	: Hidroksipropil Metil Selüloz
ILAE	: Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği
i.p.	: İntraperitoneal
JP	: Japon Farmakopesi
KBZ	: Karbamazepin
LEV	: Levetirasetam

LOD	: Saptanabilirlik/Gözlenebilme Sınırı
Log P	: Partisyon Katsayısı
LOQ	: Tayin Edilebilirlik Sınırı
NaCl	: Sodyum Klorür
NaCMC	: Sodyum Karboksimetilselüloz
NP	: Nanopartikül
ODT	: Ağızda Dağılan Tablet
PB	: Fosfat Tamponu
PDI	: Polidispersite İndeksi
PEG 4000	: Polietilen Glikol 4000
PEG 6000	: Polietilen Glikol 6000
PEO	: Poli (Etilen Oksit)
PGA	: Poli (Glikolik Asit)
PLA	: Poli (Laktik Asit)
PLGA	: Poli (D,L-Laktid-ko-Glikolid)
PPO	: Poli (Propilen Oksit)
PTZ	: Pentilentetrazol
PVP-K30	: Polivinil Prolidon-K30
R²	: Tanımlayıcılık Katsayısı
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SLS	: Sodyum Lauril Sülfat
SPSS	: “The Statistical Package for the Social Sciences”
SS	: Standart Sapma
SV2A	: Sinaptik Vezikül Proteini
Tg	: Camsı Geçiş Sıcaklığı

UCB L057 : Etirasetam Karboksilik Asit

UV : Ultra Viole

V_d : Vücutta Dağılım Hacmi

VK : Varyasyon Katsayısı

VPA : Sodyum Valproat

ZP : Zeta Potansiyeli

YK : Yükleme Kapasitesi

λ_{max} : Maksimum Dalga Boyu



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. KBZ'nin kimyasal yapısı.....	9
Şekil 2.2. LEV'in kimyasal yapısı.....	16
Şekil 2.3. PGA, PLA ve PLGA polimerlerinin kimyasal yapıları.....	28
Şekil 3.1. Doğruluk hesabında kullanılan eşitlik.....	39
Şekil 3.2. Kesinlik hesabında kullanılan eşitlik.....	40
Şekil 3.3. Nanopartiküllerin nanopresipitasyon yöntemiyle hazırlanmasında kullanılan prosedürün şematik gösterimi.....	44
Şekil 3.4. % EE hesaplanmasında kullanılan eşitlik.....	46
Şekil 3.5. % YK hesaplanmasında kullanılan eşitlik.....	46
Şekil 3.6. Hazırlama veriminin hesaplanması için kullanılan eşitlik	46
Şekil 3.7. Yığın dansitesinin hesaplanmasında kullanılan eşitlik.....	51
Şekil 3.8. Sıkıştırılmış dansitenin hesaplanmasında kullanılan eşitlik.....	51
Şekil 3.9. Basılabilirlik indisinin hesaplanmasında kullanılan eşitlik	52
Şekil 3.10. Hausner oranının hesaplanmasında kullanılan eşitlik	52
Şekil 3.11. % friyabilite değerini veren eşitlik	54
Şekil 3.12. % su absorplama kapasitesini veren eşitlik	56
Şekil 4.1. KBZ'ye ait UV spektrumu	62
Şekil 4.2. LEV'e ait UV spektrumu	62
Şekil 4.3. KBZ'nin HPLC yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu ve denklemi...	63
Şekil 4.4. LEV'in HPLC yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu ve denklemi.....	63
Şekil 4.5. KBZ ve LEV'e ait (0.5-32 µg/mL) kromatogramlar.....	64
Şekil 4.6. KBZ ve LEV'in standart çözeltisine (16 µg/mL) ait HPLC kromatogramı...	68
Şekil 4.7. Nanopartikül formülasyonuna ait özgüllük çalışması	69

Şekil 4.8. L-ADT formülasyonuna ait özgüllük çalışması	69
Şekil 4.9. DB-ADT formülasyonuna ait özgüllük çalışması	70
Şekil 4.10. KBZ'nin farklı çözünme ortamlarındaki çözünürlük bulguları	74
Şekil 4.11. B-PLGA-NPs'ye ait SEM görüntüsü	75
Şekil 4.12. KBZ+LEV-PLGA-NPs'ye ait SEM görüntüsü.....	75
Şekil 4.13. B-PLGA-NPs formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılımı.....	76
Şekil 4.14. B-PLGA-NPs formülasyonuna ait zeta potansiyeli.....	76
Şekil 4.15. KBZ+LEV-PLGA-NPs ait partikül büyüklüğü dağılımı	77
Şekil 4.16. KBZ+LEV-PLGA-NPs ait zeta potansiyeli	77
Şekil 4.17. KBZ ve LEV'in nanopartikül formülasyonundan salım profilleri.....	78
Şekil 4.18. KBZ'ye ait FT-IR spektrumu	79
Şekil 4.19. LEV'e ait FT-IR spektrumu	79
Şekil 4.20. PLGA (50:50)'ya ait FT-IR spektrumu.....	80
Şekil 4.21. Pluronic F127'ye ait FT-IR spektrumu	80
Şekil 4.22. B-PLGA-NPs'ye ait FT-IR spektrumu.....	81
Şekil 4.23. KBZ+LEV-PLGA-NPs'ye ait FT-IR spektrumu	81
Şekil 4.24. KBZ, LEV ve NP formülasyonlarına ait FT-IR spektrumları.....	82
Şekil 4.25. KBZ'ye ait DSC termogramı	83
Şekil 4.26. LEV'e ait DSC termogramı.....	83
Şekil 4.27. PLGA (50:50)'ya ait DSC termogramı	84
Şekil 4.28. Pluronic F127'ye ait DSC termogramı.....	84
Şekil 4.29. B-PLGA-NPs'ye ait DSC termogramı	85
Şekil 4.30. KBZ+LEV-PLGA-NPs'ye ait DSC termogramı.....	85
Şekil 4.31. KBZ, LEV ve NP formülasyonlarına ait DSC termogramları	86
Şekil 4.32. L-ADT'lerin dijital fotoğrafları.....	87

Şekil 4.33. DB-ADT'lerin dijital fotoğrafları.....	88
Şekil 4.34. L-ADT'lerin çözünme profili.....	90
Şekil 4.35. DB-ADT'lerin çözünme profili.....	91
Şekil 4.36. L-ADT'lerin ıslanma süresi tayini sırasında çekilmiş dijital fotoğrafları	92
Şekil 4.37. DB-ADT'lerin ıslanma süresi tayini sırasında çekilmiş dijital fotoğrafları .	92
Şekil 4.38. L-ADT'lerin dispersiyon süresi tayini sırasında çekilmiş dijital fotoğrafları	93
Şekil 4.39. DB-ADT'lerin dispersiyon süresi tayini sırasında çekilmiş dijital fotoğrafları	93
Şekil 4.40. KBZ'ye ait FT-IR spektrumu	94
Şekil 4.41. LEV'e ait FT-IR spektrumu	94
Şekil 4.42. L-YM'ye ait FT-IR spektrumu.....	95
Şekil 4.43. L-ADT'ye ait FT-IR spektrumu	95
Şekil 4.44. DB-YM'ye ait FT-IR spektrumu.....	96
Şekil 4.45. DB-ADT'ye ait FT-IR spektrumu	96
Şekil 4.46. L-YM, L-ADT, KBZ ve LEV'e ait FT-IR spektrumları	97
Şekil 4.47. DB-YM, DB-ADT, KBZ ve LEV'e ait FT-IR spektrumları.....	98
Şekil 4.48. KBZ'ye ait DSC termogramı	99
Şekil 4.49. LEV'e ait DSC termogramı.....	99
Şekil 4.50. L-YM'ye ait DSC termogramı	100
Şekil 4.51. L-ADT'ye ait DSC termogramı	100
Şekil 4.52. DB-YM'ye ait DSC termogramı	101
Şekil 4.53. DB-ADT'ye ait DSC termogramı	101
Şekil 4.54. L-YM, L-ADT, KBZ ve LEV'e ait DSC termogramları	102
Şekil 4.55. DB-YM, DB-ADT, KBZ ve LEV'e ait DSC termogramları	102

Şekil 4.56. Nöbet geçiren sıçanların dijital fotoğrafları	104
Şekil 4.57. Çözelti veya süspansiyonların i.p. olarak uygulandığı grupların nöbet skorları	105
Şekil 4.58. Çözelti veya süspansiyonların gavaj ile uygulandığı grupların nöbet skorları	109



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Epileptik nöbetlerin basit sınıflandırılması.....	5
Tablo 2.2. Epileptik nöbetlerin ayrıntılı sınıflandırılması.....	6
Tablo 2.3. Bazı AEİ'ler ve etki mekanizmaları	8
Tablo 2.4. İlaç taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında kullanılan polimerler	27
Tablo 3.1. KBZ ve LEV'in etkin madde miktar tayininde kullanılacak HPLC kromatografik şartları	37
Tablo 3.2. ADT formülasyonlarında kullanılan yardımcı maddeler ve fonksiyonları...	48
Tablo 3.3. Hazırlanan ADT formülasyonlarının bileşenleri ve miktarları.....	49
Tablo 3.4. EP 8.0'a ait tozların akış özelliklerini değerlendirmede kullanılan değerler	52
Tablo 3.5. Kaplı olmayan tabletler için ortalama tablet kütlesi ile ilişkili % sapma değerleri	53
Tablo 3.6. PTZ ile nöbet oluşturma evreleri	58
Tablo 3.7. Deney grupları ve gruplara yapılan uygulamalar	59
Tablo 4.1. KBZ'ye ait elde edilen gün içi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri	66
Tablo 4.2. LEV'e ait elde edilen gün içi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri	67
Tablo 4.3. KBZ ve LEV'e ait elde edilen enjeksiyon tekrar edilebilirliği değerleri.....	67
Tablo 4.4. KBZ ve LEV'in -20 °C'deki stabilite sonuçları	71
Tablo 4.5. KBZ ve LEV'in +4 °C'deki stabilite sonuçları	72
Tablo 4.6. KBZ ve LEV'in 25 °C'deki stabilite sonuçları.....	73
Tablo 4.7. Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyeli sonuçları.....	76

Tablo 4.8. Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının % EE, % YK ve hazırlama verimi sonuçları	78
Tablo 4.9. DB-ADT'ler için yapılan toz kontrol testlerinin sonuçları	87
Tablo 4.10. Hazırlanan ADT'lere ait <i>in vitro</i> kontrollerin bulguları	89



1. GİRİŞ

Epilepsi, dünya nüfusunun yaklaşık %1'ini etkileyen, beynin sinirsel olarak aşırı ya da anormal uyarılması ile karakterize nörolojik bir hastalıktır. Her yıl ortalama 2.4 milyon kişiye epilepsi tanısı konurken, gelişmekte olan ülkelerde gelişmiş ülkelere göre görülme yaygınlığı ve sıklığı daha fazladır. Epilepsinin ortaya çıkma durumu orta yaşlarda azalırken, erken veya daha geç yaşlarda artmaktadır. Dünyanın birçok yerinde, epilepsisi olan kişiler ve aileleri ayrımcılığa maruz kalmaktadır. Epilepsi tedavi giderleri, erken ölüm ve kayıp iş verimliliği açısından önemli ekonomik sonuçlar doğurmaktadır. Uzun yıllar boyunca takip ve tedavi ile nöbetlerin kontrol altına alınması hedeflenmektedir. Epilepsili hastalar genellikle antiepileptik ilaçlar (AEİ'ler) sayesinde aktif bir yaşam sürebilmektedir. Ancak, dirençli epilepsili hastalarda AEİ'lerin tek başına kullanımı nöbetlerin kontrol altına alınması açısından etkili olamayabilir. Bu yüzden, bu hastalarda iki ya da daha fazla AEİ'lerin bir arada kullanılmasıyla nöbetlere karşı korunma sağlanabilmektedir. Karbamazepin (KBZ) dibenzazepin türevi antiepileptik ve psikotropik özelliklere sahip bir etkin maddedir. Sodyum kanallarını bloke ederek antiepileptik aktivite gösteren KBZ oral yolla kullanım sonrası yavaş ve düzensiz bir şekilde gastrointestinal sistemden emilir. Oral biyoyararlanımı %85-100 arasında değişir. Karaciğerde (özellikle sitokrom P450 isoenzimleri CYP3A4 ve CYP2C8 tarafından) yoğun bir şekilde metabolize edilir. Parsiyel nöbetlerin, primer jeneralize epileptik nöbetler ve tonik-klonik komponentli sekonder jeneralize epileptik nöbetlerin kontrol altına alınmasını sağlamaktadır. Levetirasetam (LEV) pirasetam analogu, ikinci kuşak antiepileptik bir etkin maddedir. Antiepileptik aktivitesini SV2A (sinaptik vezikül proteini)'ya bağlanarak sinaptik salım mekanizmalarını etkileyerek gösteren LEV oral yolla kullanım sonrası gastrointestinal sistemden hızla emilir, mutlak oral biyoyararlanımı yaklaşık %100'dür. İnsanlarda yaygın bir şekilde metabolize olmayan

LEV'in primer metabolitinin (ucb L057) oluşmasında karaciğer sitokrom P450 rol oynamaz.

Nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemler terapötik etkinliğin artırılması, etkin maddenin salım hızının/yerinin kontrol edilmesi, hidrofilik/hidrofobik etkin maddelerin bu sistemlere hapsedilebilmesi, dozlama sıklığının düşürülmesi, yan ve toksik etkilerin azaltılması, hasta uyuncunun artırılması açısından yararlı sistemlerdir. Ağızda dağılan tablet (ADT) formülasyonları ise, ilacın tükürük sıvısında hızlıca dağılması, etkin madde absorpsiyonunun artırılması, sıvı dozaj şekillerine göre dozlamanın daha doğru yapılabilmesi, pediatrik ve geriatric hastaların uyuncunun sağlanması gibi üstünlüklere sahiptir.

KBZ ve LEV etkin maddelerinin bir arada kullanımı ile alakalı az sayıda çalışma mevcuttur. Farklı etki mekanizmalarına sahip etkin maddelerin bir arada kullanılmasıyla özellikle tedaviye dirençli hastalarda doza bağlı olarak aditif veya sinerjik etkiler elde edilmektedir. Yapılan literatür araştırmasında, KBZ ve LEV'i bir arada içeren nanopartikül (NP) veya ADT formülasyonları ile ilgili bir çalışma bulunamamıştır.

Bu tez çalışması kapsamında, epilepsi tedavisine yönelik KBZ ve LEV'i bir arada içeren poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) nanopartikülleri hazırlanmış ve *in vitro* karakterizasyon çalışmaları (yüzey morfolojisi, partikül büyüklüğü ve dağılımı, zeta potansiyeli, % enkapsülasyon etkinliği, % yükleme kapasitesi, *in vitro* salım çalışması) gerçekleştirilmiştir. ADT formülasyonları ise liyofilizasyon ve direkt basım yöntemleriyle hazırlanmış ve tabletler üzerinde *in vitro* karakterizasyon çalışmaları (kütle ve içerik tekdüzeliği, çap, kalınlık, kırılmaya karşı direnç, friyabilite, dağılma, çözünme, ıslanma süresi ve su absorplama kapasitesi, dispersiyon süresi tayini) gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan formülasyonların antiepileptik aktiviteleri pentilentetrazol (PTZ) ile epilepsi modeli oluşturulmuş sıçanlarda değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsi

Epilepsi, nörobiyolojik, bilişsel, psikolojik ve tekrarlayan nöbetlerle karakterize nörolojik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Epileptik nöbet ise, beynin sinirsel aktivitesinin anormal veya aşırı uyarılmasından kaynaklanan, belirtilerin geçici bir şekilde ortaya çıktığı bir fonksiyon bozukluğudur.¹ Epilepsi kavramı 2005 yılında Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği (“International League Against Epilepsy”; ILAE) tarafından tekrar değerlendirilmiş ve kapsamı genişletilmiştir. Buna göre epilepsi;²

- ✓ 24 sa. arayla en az iki sebebi bilinmeyen veya istemsiz nöbet geçirmek,
- ✓ Bir tane sebebi bilinmeyen veya istemsiz nöbet ve gelecek 10 yılda iki tane sebebi bilinmeyen nöbetten sonra genel tekrarlama riskine benzer başka bir nöbet geçirme olasılığının %60’tan fazla olması,
- ✓ Epilepsi sendromu teşhisi konması olarak tanımlanmaktadır.

Epilepsi, her yaştan insanı etkileyen, kronik ve bulaşıcı olmayan bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)’nün yayınladığı belgeye göre, dünya genelinde en sık görülen nörolojik hastalıkların başında epilepsi gelmektedir. Epilepsinin görülme sıklığı ve yaygınlığı gelişmiş bölgelere (Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa) kıyasla gelişmekte olan bölgelerde daha fazladır.^{3, 4} Epilepsi hastalarının genel nüfusa oranı tahmini 1000 kişi başına 4-10 kişi arasında değişmektedir ve dünyada toplam yaklaşık 50 milyon kişi epilepsi hastasıdır. Epilepsili hastaların yaklaşık %80’i düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşamakta ve bu hastaların yaklaşık dörtte biri ihtiyaç duydukları tedaviyi alamamaktadır. Düşük ve orta gelirli ülkelerde her 1000 kişiden 7-14 kişinin epilepsi hastası olduğu bilinmektedir. Dünyada her yıl ortalama 2.4 milyon kişiye epilepsi tanısı konmaktadır. Yüksek gelirli ülkelerde 100000 kişiden 30-50 kişiye epilepsi tanısı konurken, orta ve düşük gelirli ülkelerde bu oran iki katına çıkmaktadır. Küresel hastalık

yükünün %0.6'sını epilepsi oluşturmaktadır. Epilepsi, sağlık bakım ihtiyaçları, erken ölüm ve iş verimliliği açısından önemli ekonomik etkilere sahiptir. Aynı zamanda, dünyanın birçok bölgesinde epilepsili hastalar ve yakınları toplum içinde ayrımcılığa uğramaktadır.⁵

Epilepsinin erkeklerde ortaya çıkma ihtimali kadınlardan daha fazladır. Ayrıca epilepsinin orta yaşlarda insidansı daha düşük seyrederken, doğumdan sonraki ilk aylarda ve yaşlanma ile ortaya çıkma ihtimali artmaktadır.⁶

Epilepsi ortaya çıkma nedenleri açısından idiyopatik, semptomatik ve kriptojenik olmak üzere üçe ayrılmaktadır. İdiyopatik epilepsi, belirlenebilen bir nedenin olmadığı, genellikle kompleks genetik bozukluklar veya tek gen bozuklukları ile karakterize epilepsi türüdür. Semptomatik epilepsi, ortaya çıkma sebebi belli olup, tümör, travma, metabolik anormallikler gibi yapısal bir neden veya hastalık sonucunda beyin lezyonu ile karakterizedir. Semptomatik olduğu düşünülen fakat tam olarak ortaya çıkış sebebinin belirlenemediği epilepsi kriptojenik epilepsi olarak sınıflandırılmıştır. Ortaya çıkış sebeplerine göre epilepsi hastalarının %65.5'i idiyopatik ve/veya kriptojenik, %10.9'u vasküler, %8'i konjenital, %5.5'i travma, %4.1'i neoplastik, %3.5'i dejeneratif ve %2.5'i enfeksiyon kaynaklı hastalıktan etkilenmektedir.⁷ Epilepsinin ortaya çıkma sebepleri moleküler ve genetik nedenler, kromozom anomalileri, korteksteki gelişim bozuklukları, nörokutanöz hastalıklar (deri ve genetik ile alakalı), beyin felci, enfeksiyon veya travma geçirmiş olma, bağışıklık ve metabolik nedenler olarak özetlenebilmektedir.⁸

Epileptik nöbetler yayılım şekillerine ve kaynaklandıkları bölgelere göre değerlendirilmektedir. Epilepsinin sınıflandırılmasında ilk basamak nöbet tipinin belirlenmesi; ikinci basamak epilepsi tipinin belirlenmesi; üçüncü basamak özel durumların eşlik ettiği epilepsi sendromunun belirlenmesidir.⁹

ILAE, ilk kez 1981 yılında epilepsi nöbetlerini sınıflandırmıştır. Ancak, bu sınıflandırma, bilimsel temel oluşturmak için yetersiz olduğundan, 2010 yılında genişletilmiş ve 2017 yılında son halini almıştır. 2017 yılında ILAE'nin sınıflandırmasında yapılan değişiklikler kısaca şunlardır:¹⁰

- ✓ “Parsiyel” kavramı yerine “fokal (odak)” ifadesi kullanılmıştır.
- ✓ Bilinçli olma durumu fokal nöbetlerin sınıflandırıcısı olmuştur.
- ✓ “Bilişsel, basit parsiyel, kompleks parsiyel, psişik ve sekonder jeneralize” terimleri kaldırılmıştır.
- ✓ Otomatizmalar, davranış tutukluğu, hiperkinetik, otonomik, bilişsel ve duygusal gibi terimler fokal nöbet tipleri arasında yer almıştır.
- ✓ Atonik, klonik, epileptik spazmlar, myoklonik ve tonik nöbetler fokal ya da jeneralize nöbet tipleri arasında yer almıştır.
- ✓ “Sekonder jeneralize nöbet” terimi “ikili tonik klonik nöbete odaklanma” olarak değiştirilmiştir.
- ✓ Göz kapağı myoklonisi, myoklonik-atonik, myoklonik-tonik-klonik jeneralize nöbet tipleri arasında yer almıştır.
- ✓ Bilinmeyen başlangıçlı nöbetler sınıflandırılmıştır.

Epilepsi nöbetleri, 2017 yılında ILAE tarafından basit ve ayrıntılı olarak Tablo 2.1 ve Tablo 2.2’de sınıflandırılmıştır.¹¹

Tablo 2.1. Epileptik nöbetlerin basit sınıflandırılması (ILAE 2017)¹¹

Fokal Başlangıçlı		Jeneralize Başlangıçlı	Bilinmeyen Başlangıçlı
Bilinçli	Bozulmuş Farkındalık	Motor Tonik-klonik Diğer motor Motor Dışı (Absans)	Motor Tonik-klonik Diğer motor Motor Dışı
Motor Başlangıçlı Motor Dışı Başlangıçlı			
İkili Tonik-Klonik Nöbete Odaklanma			
			Sınıflandırılmayan

Tablo 2.2. Epileptik nöbetlerin ayrıntılı sınıflandırılması (ILAE 2017)¹¹

Fokal Başlangıçlı		Jeneralize Başlangıçlı	Bilinmeyen Başlangıçlı
Bilinçli	Bozulmuş Farkındalık	Motor Tonik-klonik Klonik Tonik Myoklonik Myoklonik-tonik-klonik Myoklonik-tonik Atonik Epileptik spamzlar Motor Dışı (Absans) Tipik Atipik Myoklonik Göz kapağı myoklonisi	Motor Tonik-klonik Epileptik spamzlar Motor Dışı Davranış tutuklanma
Motor Başlangıçlı Otomatizmalar Atonik Klonik Epileptik spamzlar Hiperkinetik Myoklonik Tonik Motor Dışı Başlangıçlı Otonomik Davranış tutukluğu Kognitif Duyusal Duyusal			Sınıflandırılmayan
İkili Tonik-Klonik Nöbete Odaklanma			

Fokal başlangıçlı nöbetler beynin lokalize bir bölgesinde başlarken, jeneralize başlangıçlı nöbetler ise beynin her iki lobunda da aynı anda epileptik aktivitenin ortaya çıkmasıyla oluşur. İkili tonik klonik nöbete odaklanmada, epileptik aktivitenin beynin bir bölgesinde (fokal başlangıçlı nöbet) başlaması ve daha sonra beynin her iki lobuna da yayılması söz konusudur. Nöbet başlangıcının fokal ya da jeneralize olduğu tespit edilemeyen nöbetler ise “bilinmeyen başlangıçlı nöbetler” olarak isimlendirilmiştir.¹²

Epilepsi uzun yıllar tedavi gerektiren bir hastalıktır. Hastalığın tedavisinde artan sinirsel uyarının ortadan kaldırılması ile nöbetleri ortadan kaldırmak veya sıklığını azaltmak hedeflenmektedir. Epilepsi tedavisinde uygulanan tedavi seçenekleri şu şekildedir;

✓Ketojenik diyet: İlaçlara dirençli hastalara epileptik nöbetlerin azaltılması amacıyla trigliserit açısından zengin beslenme (genellikle, %9 karbonhidrat, %10 protein, %11 uzun zincirli doymuş yağ asitleri ve %60 orta zincirli trigliseritlerden oluşan) önerilmektedir.¹³

✓Vagal sinir stimülasyonu: İlaçlara dirençli hastalarda uygulanabilen ve vagus sinirinin elektrostimülasyonu esasına dayanan bir yöntemdir.¹³

✓ Cerrahi epilepsi tedavisi: İlaçla tedaviye dirençli olan hastalarda, nöbetlerin kontrol altına alınması amacıyla, beyin dokusundaki epileptik nöbetlere neden olan lezyonun çıkartılması esasına dayanmaktadır. Cerrahi yöntem, epilepsi nöbetlerinin tedavisinde son seçenek olarak tercih edilmektedir.¹⁴

✓ İlaçla tedavi: Epilepsinin ilaçla tedavisinde AEİ'ler kullanılmakta ve nöbet gelişimi engellenerek hastalık kontrol altına alınmaktadır.

AEİ'ler seçilirken doğru nöbet tipi tanısı konması yanında hastanın yaşı, cinsiyeti, kullandığı ilaçlar, sosyolojik ve psikolojik durumu da göz önünde bulundurularak epileptik nöbetlerin engellenmesi hedeflenmektedir. AEİ tedavisine genelde ikinci nöbetten sonra başlanmaktadır. İlk defa nöbet geçiren epilepsi hastalarının ikinci sefer nöbet geçirme ihtimali %23-71 aralığında değişmektedir.¹⁵ Hastanın ikinci nöbet riskini göze almak istememesi veya hastada nörolojik/patolojik hasarın oluşması durumlarında AEİ tedavisine ilk nöbetten sonra da başlanabilmektedir.¹⁶ Epilepsi tanısı konan bir hastada AEİ seçiminde dikkat edilmesi gereken durumlar şunlardır;^{16, 17}

- ✓ Epilepsi tedavisine tek ilaçla başlanmalı,
- ✓ Epilepsi tedavisine düşük dozla başlanmalı, ilaç dozu yeterli gelmiyorsa kademeli olarak doz artışı yapılmalı ve tolere edilebilecek en fazla doza kadar çıkarılmalı,
- ✓ Uzatılmış/sürekli salım yapan ilaçlar tercih edilmeli,
- ✓ Yanıt alınamayan ilaçlarda diğer bir AEİ'ye geçilmeli, ilaç değişikliği yapılan hastalarda, diğer AEİ'ye geçildiğinde de nöbetlerin kontrol altına alınabilirliğinin %20 oranında olduğu unutulmamalı,
- ✓ İkinci AEİ'de etki göstermez ise politerapi seçeneğine geçilmelidir,
- ✓ Hasta başka bir ilaç kullanıyorsa ilaç etkileşimlerine dikkat edilmelidir.

ILAE kriterlerine göre, tek başına veya bir arada AEİ kullanan, ancak uzun süreli nöbetsizlik durumuna ulaşamayan hastalar ilaç tedavisine dirençli olarak kabul

edilmektedir. AEİ tedavisine cevap vermeyen ve nöbeti devam eden hastalarda ilaç dozları, ilaç etkileşimleri ve nöbeti tetikleyen faktörler göz önünde bulundurulmalıdır.¹⁷

2.2. Antiepileptik İlaçlar

Epileptik tedavide kullanılan AEİ'lerin epileptik nöbetleri farklı etki mekanizmalarıyla önlediği bilinmektedir. AEİ'ler özellikle sinir iletiminde frekansı yüksek olan deşarjları bloke edip nöbet oluşumunu engellemektedir. AEİ'ler bu etkiyi uyarı eşiğini yükselterek, cevapsız (refrakter) periyodu uzatarak, presinaptik ve postsinaptik inhibisyonu artırarak yapmaktadır. Uyarıyı azaltarak etki gösteren AEİ'ler glutamat gibi epileptik nöbet sırasında aktif hale gelen aminoasit salımını inhibe ederek antiepileptik aktivite göstermektedir. İnhibisyonu artırarak etki gösteren AEİ'ler sinirsel iletim sırasında sinaptik aralıkta gama-amino bütirik asit (GABA)'ın kalmasını sağlayarak epilepsi tedavisinde kullanılmaktadır. Hücre uyarılabilirliğini değiştiren AEİ'ler sodyum, potasyum ve kalsiyum kanallarının voltaj aktivitesini değiştirerek antiepileptik aktivite göstermektedir.¹⁸ Bazı AEİ'ler etki mekanizmalarına göre Tablo 2.3'te sınıflandırılmıştır.

Tablo 2.3. Bazı AEİ'ler ve etki mekanizmaları¹⁹

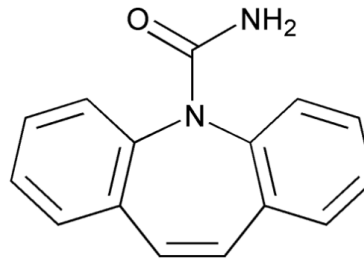
Etki mekanizması	İlaçlar
Sodyum (Na) kanalı inhibitörleri	KBZ, fenitoin, rufinamid
Kalsiyum (Ca) kanal inhibitörleri	Etosüksimid, pregabalin
Potasyum (K) kanal aktivatörü	Ezogabin
Gama-amino bütirik asit (GABA) etkisini güçlendirenler	Benzodiazepinler, fenobarbital
α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionik asit (AMPA) glutamat reseptör antagonisti	Perampanel
Sinaptik vezikül proteini 2A (SV2A) ligandı	LEV
Çoklu mekanizma	Topiramat, sodyum valproat, zonisamid, lamotrijin, felbamat

2.2.1. KBZ

Tez çalışması kapsamında kullanılan KBZ 1953 yılında kimyacı Walter Schindler tarafından keşfedilmiş ve ilk kez 1960 yılında sentez edilmiştir. 1962 yılında trigeminal nevralji hastalığında etkinliği gösterilen KBZ, 1965 yılında epilepsi tedavisinde kullanılmak üzere İngiltere’de ruhsatlandırılmış ve Amerika’da ise 1974 yılından sonra antiepileptik olarak kullanılmıştır.²⁰

2.2.1.1. KBZ’nin Fizikokimyasal Özellikleri

KBZ dibenzazepin türevi ve kimyasal ismi 5H-dibenzo [b,f] azepine-5-karboksamid olan bir antiepileptiktir. KBZ’nin kapalı formülü $C_{15}H_{12}N_2O$ ’dur ve kimyasal yapısı Şekil 2.1’de gösterilmiştir. Molekül ağırlığı 236.27 g/mol olan KBZ beyaz veya beyazımsı kristal toz yapısındadır.^{21(s.897, 1784-1785)}



Şekil 2.1. KBZ’nin kimyasal yapısı^{21(s.1784-1785)}

KBZ’nin erime noktası 189–193 °C aralığında iken, kaynama noktası 411 °C’dir.^{22, 23} Ayrıca yapılan literatür taraması sonucunda, KBZ’nin disosiasyon sabiti pK_{a1} 2.3 ve pK_{a2} 13.9, partisyon katsayısı (log P, log Kow, oktanol/su) 2.25 olarak bulunmuştur.^{23, 24}

KBZ için elde edilen çözünürlük bilgileri şu şekildedir: suda çok az çözünür (0.1-1 mg/mL); alkol ve aseton içinde az çözünür (10-33.3 mg/mL); diklorometan (DCM)’da serbestçe (0.1-1 g/mL) çözünür.^{25(s.512-518)} 1 mL dimetilülfoksit (DMSO) içerisinde 23.63 mg KBZ’nin çözündüğü bildirilmiştir.²⁶ Literatürde, farklı ortamlarda/tamponlarda KBZ

için verilen çözünürlük bilgileri de mevcuttur (hint yağında 23.02 mg/mL, susam yağında 38.2 mg/mL, Tween 80'de 29.05 mg/mL ve 44.4 mg/mL, Kolliphor RH 40'da 46.8 mg/mL, PEG 400'de 120.3 mg/mL, propilen glikolde 54.18 mg/mL ve 98.3 mg/mL, alkolde 51.55 mg/mL, pH 6.8 fosfat tamponunda (PB) 2.18 mg/mL, pH 7.2 PB'de 0.93 mg/mL, pH 7.4 PB'de 0.83 mg/mL, %1 sodyum lauril sülfat (SLS) içerisinde 6.58 mg/mL, %2 SLS'de 5.42 mg/mL ve 0.1 N hidroklorik asit (HCl) içerisinde 0.53 mg/mL).²⁷⁻²⁹

KBZ'nin, dört tane polimorfu ve bir de dihidrat şekli vardır. İlk tespit edilen polimorf 'ilkel monoklinik hücre' olarak da adlandırılan Form III (P-monoklinik)'tür. Form III'ü takiben Form II (trigonal) ve Form IV (C-monoklinik) bulunmuştur. Son olarak ise, yüksek sıcaklık modifikasyonları ile Form I (trisiklik) elde edilmiştir. KBZ'nin polimorfları, iki amid fonksiyonel gruplarındaki hidrojen bağlarının birleşerek dimer oluşturması ile meydana gelmektedir. Gözlemlenen polimorfizmler, bu dimerlerin kristal yapılarının farklı yerleşimlerinden kaynaklanmaktadır. Yapılan modifikasyonlar sayesinde KBZ'yi oluşturan birim hücrelerde dört ile sekiz arasında bağımsız molekül yer almaktadır ve Form I'i diğer üç formdan daha karmaşık hale getirmektedir. Polimorflar arasındaki farklılıklar KBZ'nin fizikokimyasal özelliklerini (partikül boyutu, çözünürlük, erime noktası vb.) etkilemektedir.³⁰⁻³²

2.2.1.2. KBZ'nin Farmakolojik Özellikleri

KBZ, çeşitli etki mekanizmalarına (iyon kanalları, reseptörler üzerinde) sahip ve yapısal olarak trisiklik antidepresanlara benzer olan iminodibenzil türevi bir etkin maddedir. Bu etki mekanizmalarından en belirgin olanı voltaj-kapılı Na kanalları üzerindeki inhibisyon etkisiyle antiepileptik etki göstermektedir. Ayrıca, voltaj-kapılı Ca kanallarının inhibisyonunu sağladığı, K akımını düzenlediği, hücreler arasında serotonin miktarını artırdığı ve adenosin reseptörlerinde antagonistik etki gösterdiği de

bilinmektedir. Bunun yanı sıra, KBZ'nin glutamerjik sistem üzerine etki ederek glutamat salımının inhibisyonu ile epileptik deşarjların baskılanmasına katkıda bulunabileceği de raporlanmıştır. Ayrıca, KBZ'nin dopamin salımını ve döngüsünü artırdığı da belirtilmiştir.³³

KBZ, kompleks veya basit parsiyel nöbetlerin, sekonder jeneralize tonik-klonik nöbetlerin, bazı primer jeneralize nöbetlerin ve karma nöbet durumunun tedavisinde kullanılmakta, ancak miyoklonik ve absans nöbetlerde etkisiz kalmaktadır. Ayrıca, KBZ farklı hastalıkların (nöropati, idiyopatik glossofaringeal nevralji, idiyopatik ve multipl skleroza bağlı trigeminal nevralji ve bipolar bozukluklar vb.) tedavisinde de kullanılmaktadır.^{22, 25(s.512-518), 34}

Erişkinlerin ve çocukların tedavisinde KBZ'nin kullanılmasına bağlı olarak oluşabilecek yan etkilerin görülme sıklığı %33-50 aralığındadır. Gastrointestinal sistem üzerinde görülen yan etkiler arasında bulantı, kusma, karın ağrısı, diyare, iştahsızlık; sinir sistemi ile ilgili yan etkiler arasında sersemlik, çift görme, baş ağrısı, uyuşukluk, ataksi, konuşma bozukluğu; deri ile alakalı yan etkiler arasında eksfoliyatif dermatit, alerjik dermatit, Stevens-Johnson sendromu, Lyell'in sendromu; hematolojik yan etkiler arasında aplastik anemi, agranülositoz, kemik iliği yetmezliği, pansitopeni, lökopeni, trombositopeni yer almaktadır.³⁵

Hayvan çalışmaları ile KBZ metabolitinin (KBZ 10,11-epoksit) teratojeniteye neden olduğu bildirilmiştir.³⁶

2.2.1.3. KBZ'nin Farmakokinetik Özellikleri

KBZ, biyofarmasötik sınıflandırma sistemine (BCS) göre Sınıf 2 (düşük suda çözünürlük ve yüksek permeabilite)'de yer aldığı için yağda yüksek çözünürlüğe sahiptir ve gastrointestinal sıvıda yavaş çözünmektedir. Yetişkinlerde, oral biyoyararlanımı %85-100 aralığında değişmektedir. Ancak, yenidoğanlarda veya bebeklerde biyoyararlanım

verileri çok belirgin değildir ve düzensiz emilim olduğu düşünülmektedir. KBZ, plazmada maksimum konsantrasyona 4-8 sa. içinde ulaşmakta, ancak bazı hastalarda bu süre 24-28 sa.'e kadar uzamaktadır. Yetişkinlere kıyasla çocuklarda süspansiyon dozaj şekli tercih edildiği için maksimum konsantrasyona ulaşma zamanının daha erken olduğu düşünülmektedir. KBZ'nin çocuklarda daha hızlı emilmesi geçici konsantrasyona bağlı merkezi sinir sistemi yan etkilerine neden olabilmektedir. KBZ'nin kararlı durum plazma konsantrasyonu, hastadan hastaya önemli derecede değişmekle beraber genellikle 4-12 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Tedaviye başladıktan sonra, otoindüksiyona, heteroindüksiyona, dozaj ve tedavi süresine bağlı olarak KBZ kararlı durum plazma konsantrasyonuna, 3-5 hafta arasında ulaşmaktadır. Ayrıca, vücutta dağılım hacmi (V_d) 0.8-1.2 L/kg'dır.^{25(s.512-518), 37}

KBZ plazma proteinlerine %70-80 oranında bağlanmaktadır. KBZ'nin plazma yarılanma ömrü 10-20 sa. aralığında değişmektedir, ancak otoindüksiyona bağlı olarak bu süre 4-12 sa. aralığına düşmektedir. KBZ, karaciğerde sitokrom P450 enzimleri (CYP3A4 ve CYP2C8) tarafından yoğun bir şekilde metabolize (epoksidasyon ve hidroksilasyon reaksiyonları ile) edilmekte ve başlıca aktif metaboliti olan KBZ-10,11-epoksit'e dönüşmektedir. KBZ'nin (tek oral doz sonrası) eliminasyon yarılanma ömrü yaklaşık 36 sa. iken, tekrarlayan dozlarda otoindüksiyona bağlı olarak bu süre yaklaşık 15 sa. olarak bildirilmektedir. Yetişkinlere göre çocuklarda eliminasyon daha hızlı gerçekleşmektedir. KBZ, metabolitleri halinde çoğunlukla idrarla atılır. Ancak, KBZ'nin %1'i değişmeden idrar ile atılmaktadır.^{25(s.512-518), 37}

Hepatik mono-oksijenaz enzim sisteminin indüksiyonuna bağlı olarak KBZ karaciğerde metabolize edilen birçok ilacın farmakokinetiğini değiştirmektedir. KBZ bazı ilaçların (oral kontraseptifler; imipramin, klomipramin gibi trisiklik antidepresanlar; varfarin, dikumarol gibi oral antikoagülanlar; klobazam, etosüksimid, klonazepam,

valproik asit, zonisamid gibi antiepileptikler; siklosporin gibi immünosüpresanlar; teofilin gibi bronkodilatörler vb.) plazma konsantrasyonlarını düşürebilir/etkinliğini azaltabilir, bu nedenle, birlikte kullanım durumunda bu ilaçların klinik gereksinimlere göre dozlarının yeniden ayarlanması gerekmektedir.^{38, 39}

2.2.1.4. KBZ'nin Stabilitesi

Karbamazepin ağzı sıkı kapalı kaplarda nemden uzakta, kuru ve serin yerlerde (2-8 °C) saklanmalıdır.^{21(s.1784-1785), 40}

Susuz KBZ kendiliğinden su absorplayarak hidrate şekle dönüşmektedir ve kristal yapısı da farklılaşan bu şeklin biyolojik aktivitesi de azalmaktadır. Oda koşullarında, KBZ'nin bilinen en dayanıklı susuz polimorfu Form III'tür. Ancak, nemli ortamda, susuz form hidrate şekle dönüşmektedir. Ayrıca, 70 °C'nin altındaki sıcaklıklarda Form III en dayanıklı polimorf iken, üstündeki sıcaklıklarda Form I daha dayanıklıdır.⁴¹

KBZ'nin polimorflarının stabilitelerini tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada, polimorfların stabiliteleri yüksekten aza doğru Form III>Form I> Form IV> Form II olarak tespit edilmiştir. Form II'nin hızlı kristal transformasyonu, erime noktasının tayin edilememesine neden olmaktadır.³⁰

KBZ polimorflarının (Form I, II ve III) ışığa hassasiyetleri yakın-UV floresan lamba (ışınım şiddeti: 3 ve 12 J/cm²s) kullanılarak incelenmiş ve polimorfların hepsinde beyaz renkten sarı-turuncu renge doğru değişim gözlenmiştir. Ancak, Form II'deki renk değişiminin diğer formlara (I ve III) göre daha hızlı olduğu ve en dayanıksız polimorfun Form II olduğu bildirilmiştir.⁴²

KBZ içeren ticari tabletler (Tegretol® ve Tegral®) orijinal ambalajlarında, farklı stres koşullarına (%75 bağıl nem; 40 °C'de 6 ay, 50 °C'de 3 ay ve 60 °C'de 1 ay) maruz bırakılarak tabletlerin stabiliteleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, Tegretol®'ün stres koşullarından etkilenmediği ve stabilitesini koruduğu saptanmıştır. Tegral® içinse 50 ve

60 °C’lerde, %75 bağıl nemde sırasıyla 3 ay ve 1 ay bekletme sonrası tabletin dağılma süresinin kısaldığı ve % çözünen KBZ miktarının arttığı tespit edilirken, 40 °C’de (6 ay boyunca, %75 bağıl nemde) bekletme sonrası ise tabletlerin dağılmasında problemler olduğu ve % çözünen KBZ miktarının azaldığı saptanmıştır. Kimyasal açıdan ise belirlenen stres koşullarında bu iki ticari preparatın içerdiği KBZ’nin dayanıklı kaldığı görülmüştür.⁴³

KBZ içeren oral süspansiyonların (%2.5 ve %5) oda sıcaklığında (24-27 °C), renkli (amber) cam şişelerde 2, 4 ve 6 ay bekletilmesi sonrası fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada ise oral süspansiyonların altı ay süresince fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan stabil kaldığı tespit edilmiştir.⁴⁴

Yapılan diğer bir çalışmada ise, kan örnekleri içerisindeki KBZ, valproik asit, fenitoin ve fenobarbitalin 23-25 °C ve 37 °C saklama koşullarında, 24 ve 48 sa. süre ile stabiliteleri incelenmiştir. Sonuç olarak, KBZ, fenobarbital ve valproik asitin 48 sa. boyunca her iki sıcaklık koşulunda da stabil olduğu görülürken, fenitoinin ise 23-25 °C’de 48 sa., 37 °C’de ise 24 sa.’ten fazla saklanmaması gerektiği ifade edilmiştir.⁴⁵

2.2.1.5. KBZ Dozu

KBZ günde 2 ya da 4 kez, 800-1200 mg doz aralığında epilepsi tedavisinde kullanılmaktadır. Çocuklarda ise bu doz aralığı 10-20 mg/kg’dır. KBZ’nin yan etkilerinden sakınmak amacıyla tedaviye 100-200 mg/gün oral doz ile başlanmalı ve her hafta doz yavaş yavaş artırılmalıdır. Genel devam dozu 0.8-1.2 g/gün (2 ve 4 kez/gün)’dür ve gerektiğinde doz 2 g/gün’e çıkarılabilir. Geçici olarak oral KBZ kullanımının kısıtlı olduğu hastalarda KBZ rektal yoldan 250 mg/6 sa. dozda uygulanabilir. Oral formülasyonlardan supozituvaya geçildiğinde doz %25 oranında artırılmalı ve rektal yoldan KBZ uygulanması 7 günden daha uzun süre devam ettirilmemelidir. Ayrıca, tedavi esnasında KBZ uygulananından vazgeçilecekse,

nöbetlerin sıklığında artışa neden olmamak için doz kademeli olarak azaltılmalıdır.^{25(s.512-518), 46}

2.2.1.6. KBZ'nin Piyasa Preparatları

KBZ'nin dünyadaki ilaç piyasasında konvansiyonel tablet (100 mg, 200 mg, 300 mg ve 400 mg), çiğneme tableti (100 mg ve 200 mg), uzatılmış salım tableti (100 mg, 200 mg ve 400 mg), uzatılmış salım kapsülü (100 mg, 200 mg ve 300 mg), intravenöz çözelti (200 mg/20 mL) ve oral süspansiyon (100 mg/5 mL) dozaj şekillerinde müstahzarları bulunmaktadır.⁴⁷

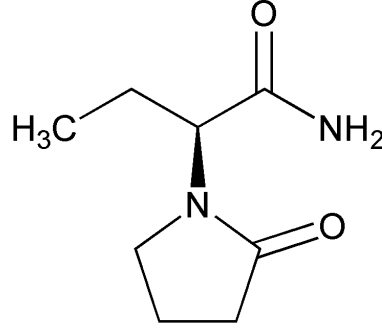
Türkiye'deki ilaç piyasasında KBZ içeren müstahzarlar ise tablet (200 mg ve 400 mg), geciktirilmiş salım tableti (300 mg ve 600 mg), kontrollü salım tableti (200 mg ve 400 mg) ve şurup (%2'lik) dozaj şekilleridir.⁴⁸

2.2.2. LEV

Tez çalışması kapsamında kullanılan LEV 1980'li yılların başında keşfedilmiş ve 1999 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından onaylanarak parsiyel başlangıçlı nöbetlerin tedavisinde antiepileptik olarak kullanılmıştır.⁴⁹

2.2.2.1. LEV'in Fizikokimyasal Özellikleri

Pirasetam analogu ve ikinci kuşak antiepileptik olan LEV ((S)- α -etil-2-okso-1-pirolidin asetamid)'in kapalı formülü $C_8H_{14}N_2O_2$ 'dir ve kimyasal yapısı Şekil 2.2'de gösterilmiştir. Molekül ağırlığı 170.2 g/mol olan LEV tadı acı, kokusu hafif, beyaz veya beyazımsı kristal toz yapısındadır.^{25(s.531-532), 50, 51}



Şekil 2.2. LEV'in kimyasal yapısı⁵²

LEV'in erime noktası 117-121°C aralığında iken, kaynama noktası 396 °C'dir. KBZ'nin partisyon katsayısı (log P, log Kow, oktanol/su) -0.6'dır.^{51, 53, 54}

LEV'in çözünürlük bilgileri araştırıldığında, LEV'in suda çok çözündüğü (>1 g/mL), asetonitrilde çözündüğü (0.03-0.1 g/mL) ve hekzanda hemen hemen hiç çözünmediği bildirilmiştir.^{25(s.531-532)} Ayrıca, diğer kaynaklarda, LEV'in suda çok çözündüğü (1.04 g/mL), kloroformda ve metanolde kolay çözündüğü (sırasıyla, 0.653 g/mL ve 0.536 g/mL), etanolde çözündüğü (0.165 g/mL), asetonitrilde zor çözündüğü (0.057 g/mL), DCM'de 0.22 g/mL, DMSO'da yaklaşık 0.02 g/mL ve yine n-hekzanda hemen hemen hiç çözünmediği bildirilmiştir.^{50, 55, 56}

2.2.2.2. LEV'in Farmakolojik Özellikleri

Sinaptik vezikül proteini SV2A, LEV'in etkinliğinde temel hedef olarak gözükmemektedir. LEV, bu protein aracılığı ile sinaptik salınım mekanizmalarını etkileyerek antiepileptik aktivitesini göstermektedir. Sinaptik vezikül proteini 2 (SV2), farklı izoformları (2A, 2B ve 2C) olan ve sinaptik alanların hepsinde bulunan 12 trans-membran integral proteinidir. SV2A dağılım açısından en yaygın olanıdır. SV2 proteinleri, ATP ve Ca⁺² gibi veziküllerin yaygın bileşenleri için taşıyıcı görevi görmektedir. Ca⁺² iyonları, sinaptik uyarlanabilirlik ve nöronal uyarılabilirlik gibi birçok biyolojik fonksiyonda rol oynamaktadır. Bu iyonun seviyeleri, hücreler arası haberleşmede yüksek sinyal-gürültü oranı elde etmek için sıkı bir şekilde düzenlenir. Sinaptik

veziküllerin Ca^{+2} -bağımlı ekzositozunun düzenlenmesi için SV2A'nın sensörü olarak kabul edilen presinaptik proteini sinaptotagmin ($\text{sinaptotagmin-Ca}^{+2}$ bağlanması ekzositozu hızlandırır) ile etkileştiği gösterilmiştir. Bundan dolayı, LEV gibi SV2A ligandları, sinaptik salım mekanizmaları üzerindeki etkileri yoluyla nöbetlere karşı koruma sağlamaktadırlar. SV2A, beyinde LEV için bağlanma alanıdır ve bu etkileşim LEV'in antiepileptik etkisinin başlıca mekanizmasıdır. LEV'in çeşitli moleküler mekanizmalarla antikonvülsan etki gösterdiğini bildiren çalışmalar da mevcuttur. LEV'in striatumda GABA devrini (turnover) etkilediği ve diğer amino asitleri etkilemeden hipokampusta amino asit taurin ($GABA_A$ reseptörleri için düşük afiniteli agonist) seviyelerini azalttığı gösterilmiştir. LEV, hipokampusun dentat girus bölgesinde glutamat salımını azaltmak için presinaptik P/Q-tip yüksek voltaj-bağımlı Ca^{+2} kanalını etkiler ve böylece nöbet aktivitelerini düzenler. Benzer şekilde, presinaptik Ca^{+2} kanallarının intraselüler inhibisyonu yoluyla nörotransmitter salınımını da inhibe eder. LEV, $GABA_A$ -ve glisin-kapılı akımlar üzerindeki çinkonun ve β -karbolinin inhibitör etkilerini baskılar. Ayrıca, LEV, nöronlarda gecikmiş-doğrultucu K^+ akımını inhibe eder. Ancak, LEV, voltaj-bağımlı Na^+ kanalları üzerinde etkiye sahip değildir.⁵⁷⁻⁶⁰

LEV'in kullanım şeklinde ülkeden ülkeye farklılık görülmesine rağmen, yetişkinlerde ve çocuklarda parsiyel ve sekonder jeneralize nöbetlerin kontrol altına alınmasında hem tek başına hem de tedaviye yardımcı olarak kullanılmaktadır. 12 yaş üzeri çocuklarda ve yetişkinlerde, miyoklonik epilepsi tedavisinde Amerika ve İngiltere'de LEV tedaviye yardımcı olarak eklenmektedir. Bunun yanı sıra, idiyopatik jeneralize epilepsili çocuk (Amerika'da 6 yaş ve üzeri çocuklarda, İngiltere'de 12 yaş ve üzeri çocuklarda) ve yetişkinlerde primer jeneralize tonik klonik nöbetlerin kontrol altına alınmasında yardımcı ajan olarak kullanılmaktadır.^{25(s.531-532)} Ayrıca, LEV'in hareket

bozuklukları, nöropatik ağrı, baş ağrısı ve bazı psikiyatrik durumların tedavisinde de faydalı olduğu belirtilmektedir.⁶¹

Epilepsi tedavisinde LEV'in kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan uyuklama, baş dönmesi, güçsüzlük en sık görülen istenmeyen yan etkiler arasındadır. Bunların dışında, anoreksi, ishal, hazımsızlık, mide bulantısı, kilo kaybı veya alımı, kas ağrısı, ataksi, baş ağrısı, amnezi, depresyon, sinirlilik ve titreme gibi yan etkiler de nadir olarak LEV kullanan hastalarda görülmektedir. Bazı hastalarda ise Stevens-Johnson sendromu, eritema multiforme, toksik epidermal nekroliz gibi ciddi deri reaksiyonlarına rastlanmaktadır.^{25(s.531-532)}

Hamilelik sırasında LEV'in renal klirensi arttığı için serum konsantrasyon düzeyleri yakından izlenmeli ve gerekiyorsa doz artırılmalıdır. Ayrıca, hamile hastalara LEV kullanımı durumunda malformasyon ihtimalinin düşük olduğu, ancak, yine hamile kadınlarda LEV kullanımına yönelik verilerin yetersiz olduğu bilgisi de verilmelidir.⁶²

2.2.2.3. LEV'in Farmakokinetik Özellikleri

Levetirasetam oral yolla uygulandıktan sonra gastrointestinal sistemden hızla ve neredeyse tamamen (%95) emilime uğrar ve mutlak oral biyoyararlanımı yaklaşık %100'dür. Yaklaşık 1 sa. içinde en yüksek plazma konsantrasyonuna ulaşır ve LEV (1000 mg tek doz halinde uygulandığında) için C_{max} :31 µg/mL'dir. Çoklu doz çalışmalarında, LEV tahmin edilebilir, lineer ve doz orantılı kararlı durum farmakokinetiği gösterir. Gıdalarla beraber LEV alındığında emilim hızı yavaşladığı halde emilim derecesinde değişim meydana gelmemektedir. LEV'in vücutta dağılım hacmi (V_d) ise yaklaşık 0.5-0.7 L/kg'dır. Ayrıca, sıçanlarda kan beyin bariyerini kolayca aştığı raporlanmıştır.⁵⁰

LEV'in plazma proteinlerine bağlanma oranı düşüktür (<%10) ve çok az düzeyde (uygulanan LEV dozunun %27'si) metabolize edilir ve sonuç olarak inaktif metabolitlerine (primer metaboliti (%24) olan etirasetam karboksilik asit (UCB L057) ve

yaklaşık %3 oranında da diğer iki inaktif metaboliti) dönüşmektedir. Kandaki beta-esterazlar tarafından LEV inaktif UCB L057'ye dönüştürülmektedir. LEV'in metabolizmasında karaciğer CYP enzimleri rol almadığından karaciğer metabolizasyonuna uğrayan ilaçlarla etkileşime girmemektedir. LEV'in yaklaşık %27'si inaktif metabolitleri halinde, %66'sı ise değişmeden idrarla atılmaktadır. Ayrıca, uygulanan dozun yaklaşık %0.3'ü ise feçesle atılmaktadır. LEV'in renal klirensi 0.6 mL/dk/kg iken, primer metabolitinin renal klirensi yaklaşık 4.2 mL/dk/kg'dır. Eliminasyon yarı ömrü doz, uygulama yolu ve sıklığından bağımsız olarak 6-8 sa. arasında değişmektedir. Ancak, yaşlı hastalarda ve böbrek yetmezliği olan hastalarda LEV'in eliminasyon yarı ömrü 10-11 sa.'e kadar çıkabilmektedir. Tedaviye başlandıktan sonra, LEV, kararlı durum plazma konsantrasyonuna 48 sa. sonra ulaşmaktadır.^{25(s.531-532), 50, 63}

2.2.2.4. LEV'in Stabilitesi

LEV ağzı iyi kapatılmış kaplarda ve oda sıcaklığında saklanmalıdır.²¹

Saravanan ve ark.⁶⁴ farklı stres koşullarında LEV'in stabilitesini incelemişlerdir. Bu amaçla LEV, UV ışını (254 nm) ve yüksek sıcaklığa (60 °C) 10 gün, asit ortama (0.5 N HCl) ve alkali ortama (0.5 N NaOH) 2 gün maruz bırakılmış ve bozunma oranları tespit edilerek dayanıklılığı saptanmıştır. Çalışma sonucunda, UV ışını ve sıcaklığa maruz kalan LEV etkin maddesinin 10 gün boyunca bozunmadığı, ancak asit ortamda 10 sa. sonunda %6 oranında ve alkali ortamda 7 sa. sonunda %4 oranında bozunduğu belirlenmiştir. Ayrıca, hareketli faz (%0.1 fosforik asit içeren ultra saf su: asetonitril, 85:15 (h/h)) içerisinde hazırlanan LEV çözeltisinin oda sıcaklığında 2 gün boyunca dayanıklı kaldığı bildirilmiştir.

Siddiqui ve ark.⁶⁵ LEV içeren tablet ve şurup formülasyonları üzerinde 6 ay boyunca 30 °C (%65 nem) ve 40 °C (%75 nem)'de yaptıkları çalışmada LEV'in çok az bozunarak (<%2) stabilitesini koruduğunu raporlamışlardır.

Ensom ve ark.⁶⁶ tatlandırıcı (Oro-Sweet) ve süspansiyon ajanı (Oro-Plus) kullanarak 50 mg/mL konsantrasyonunda LEV içeren süspansiyon hazırlamışlar ve bu formülasyonun stabilitesini amber renkli plastik şişede 25 °C ve 4 °C'de incelemişlerdir. Bu çalışmada, 91 gün boyunca LEV içeren süspansiyonun fiziksel olarak bozunmadığı ve ayrıca, 91 gün sonunda 25 °C'de %91.4 ve 4 °C'de %93.2 oranında LEV'in bozunmayarak stabil kaldığı bulunmuştur.

Prohotsky ve ark.⁶⁷ LEV içeren çözeltiyi (100 mg/mL), amber renkli ve polipropilen oral şırıngalar içerisinde, buzdolabı (2-8 °C) ve oda sıcaklığı (20-25 °C) şartlarında stabilite açısından altı ay süresince değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda, her iki sıcaklıkta da LEV'in (%97'si dayanıklı) stabilitesini koruduğu raporlanmıştır.

Diğer bir çalışmada ise, insan plazmasındaki LEV'in (2.5, 15 ve 35 µg/mL) stabilitesi beş dondurma-çözme döngüsüyle (-80 °C'den oda sıcaklığına getirme) ve ayrıca, -80 °C'de 1 ay boyunca bekletilerek değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, LEV'in beş dondurma-çözme döngüsü sonrasında stabil kaldığı ifade edilmiştir. Ayrıca, -80 °C'de en az 1 ay boyunca insan plazmasındaki LEV'in stabilitesini koruyacak şekilde saklanabileceği raporlanmıştır.⁶⁸

2.2.2.5. LEV'in Kullanım Dozu

LEV'in yan etkilerinden sakınmak amacıyla tedaviye 500 mg/gün doz ile başlanmakta ve iki hafta sonra 1 g/gün (3 g/gün maks. doz) doz ile epilepsinin monoterapisinde kullanılmaktadır. Yetişkinlerde, LEV'in yardımcı olarak tedaviye eklendiği durumlarda ise, 1 g/gün dozunda tedaviye başlanmalı ve antiepileptik etkinlik sağlanana kadar 2-4 haftada doz 1 g/gün artırılarak (3 g/gün maks. doz) uygulanmalıdır.

1-6 ay arası bebeklerde ise günlük 14 mg/kg olacak şekilde doz ayarlaması yapılmakta ve her iki haftada bir doz 14 mg/kg artırılarak (günlük 42 mg/kg maks. doz) tedavi sağlanmaktadır. 6 aydan büyük ve ağırlığı 50 kg'dan az olan bebek/çocuklar için günlük 20 mg/kg olacak şekilde doz ayarlanmalı ve her iki haftada bir 20 mg/kg doz artırılarak (günlük 60 mg/kg maks. doz) epilepsi tedavisi sağlanmalıdır. LEV'in oral konvansiyonel dozaj şekilleri günde iki defa (bölünmüş dozlar halinde), değiştirilmiş salım yapan preparatları ise günde bir defa uygulanmaktadır.^{25(s.531-532)}

2.2.2.6. LEV'in Piyasa Preparatları

LEV'in dünyadaki ilaç piyasasında konvansiyonel tablet (250 mg, 500 mg, 750 mg ve 1000 mg), uzatılmış salım tableti (500 mg, 750 mg ve 1000 mg), oral çözelti (100 mg/mL), intravenöz çözelti (500 mg/5 mL, 500 mg/100 mL, 1000 mg/100 mL ve 1500 mg/100 mL) ve oral süspansiyon (500 mg, 750 mg ve 1000 mg) dozaj şekillerinde müstahzarları bulunmaktadır.⁶⁹

Türkiye'deki ilaç piyasasında LEV içeren müstahzarlar ise film kaplı tablet (250 mg, 500 mg, 750 mg ve 1000 mg), uzatılmış salım tableti (500 mg, 750 mg ve 1000 mg), efervesan tablet (250 mg, 500 mg, 750 mg, 1000 mg ve 1500 mg), intravenöz çözelti (500 mg/5 mL ve oral çözelti (100 mg/mL) dozaj şekilleridir.⁷⁰

2.3. İlaç Taşıyıcı Nanopartiküler Sistemler

Nanoteknoloji fikri “There's plenty of room at the bottom. (Aşağıda oldukça yer var)” söylemiyle 1959 yılında fizikçi Prof. Dr. Richard Feynman tarafından ortaya atılmış, ancak, terimsel olarak ilk kez 1974 senesinde Tokyo Bilim Üniversitesi'nden Norio Tanigguchi tarafından kullanılmıştır. 1979 yılında ise, Eric Drexler Richard Feynman'ın moleküler üretim vizyonunu genişleterek nanoteknolojinin temellerini atmıştır. Ayrıca, 1981 yılında taramalı tünelleme mikroskopunun (STM) ve 1986 yılında

atomik kuvvet mikroskopunun (AFM) keşfi ile nanoteknolojinin gelişmesi hızlanmıştır.^{71, 72}

Nanoboyuta ulaşan materyallerin yüzey alanları arttıkça partiküller arası etkileşimler de artmakta ve bu materyaller önceki durumlarından daha gelişmiş ve farklı özelliklere sahip olmaktadır. Nanoteknoloji günümüzde elektronik, boya, otomotiv, gıda, ilaç, sağlık, elektronik ve tekstil gibi birçok alanda kullanılmaktadır.^{72, 73} İlaç ve tıp sektöründe nanoteknolojinin kullanılmasıyla ilaç taşınımı, görüntüleme teknikleri, hastalıkların tedavisi ve teşhisi, biyosensörler, antimikrobiyal teknikler ve hücre yenileme gibi alanlarda gelişmeler sağlanmıştır.⁷⁴ İlaç pazarına giren ilk nano-boyutlu ürün, 1995 yılında FDA tarafından kanser tedavisi için onaylanan doksurubisin yüklü PEG-lipozom formülasyonu olan “Doxil®” ticari preparatıdır.⁷⁵ Doğal polimerik nanopartiküler taşıyıcı sistem olarak da meme kanseri tedavisinde kullanılmak üzere 2005 yılında FDA tarafından onay alan “Abraxane®” preparatı mevcuttur.⁷⁶

Polimerik nanopartiküler sistemler, etkin maddenin sentetik veya doğal polimere adsorpsiyonuyla/hapsedilmesiyle/yüzeye kimyasal olarak bağlanmasıyla elde edilen, boyutları 10-1000 nm arasında değişen katı kolloidal partiküllerdir.^{77, 78}

Partikül büyüklüğü ve dağılımı nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin çok önemli bir özelliğidir. *In vivo* dağılım, toksisite, hedefleme, etkin madde yükleme etkinliği, etkin madde salımı ve stabilite gibi konular açısından önemli bir rol oynamaktadır.⁷⁹

İlaç taşıyıcı nanopartiküler sistemlerin kullanılmasıdaki üstünlükler kısaca şu şekilde özetlenebilir:⁸⁰⁻⁸³

- ✓ Sterilize edilmelerinin kolay olması,
- ✓ Vücutta fizyolojik olarak parçalanabilmeleri (biyoparçalanır polimer kullanılan sistemler için) ve oluşan ürünlerin toksik olmaması,
- ✓ Oral uygulamada etkin maddenin oral biyoyararlanımının iyileştirilmesi,

- ✓ Etkin madde salım yerinin ve/veya hızının değiştirilmesine olanak sağlaması,
- ✓ Aktif veya pasif hedeflendirme yapılabilmesi,
- ✓ Uygun hedeflendirme ile diğer doku ve organlarda oluşabilecek olan toksisite ve istenmeyen yan etkilerin azaltılması,
- ✓ NP içerisindeki etkin maddenin çevre koşullarından korunarak stabilitesinin artırılması,
- ✓ Nazal, pulmoner, oral ve parenteral gibi farklı uygulama yolları ile uygulanabilmesi,
- ✓ NP'lere hem hidrofilik hem de hidrofobik etkin maddelerin hapsedilebilmesi,
- ✓ Boyutlarının küçük olması sebebiyle hücre içi alımların mikropartiküllere göre daha kolay olması,
- ✓ Uygun nanopartiküler sistemler ile kan beyin bariyerinin aşılmasına olanak sağlanması,
- ✓ Farklı üretim yöntemleri ile hazırlanabilirler.

Nanopartiküler sistemlerin kullanılmasının sakıncaları ise aşağıdaki şekilde ifade edilebilir:⁸⁴⁻⁸⁶

- ✓ NP hazırlanmasında kullanılan polimerlerin veya parçalanma ürünlerinin biyolojik uyumsuzluk ya da toksik etki gösterme ihtimali,
- ✓ NP hazırlama veya polimer maliyetinin fazla olabilmesi,
- ✓ NP'den etkin maddenin salımı sırasında “burst release (ani salım)” olarak adlandırılan olayın gerçekleşmesi ile salımın kontrol edilememesi,
- ✓ Endüstriyel ve laboratuvar süreçlerinin hazırlanan NP örneklerinde değişkenliğe neden olması,
- ✓ NP'ler geniş yüzey alanına ve çok küçük partikül boyutuna sahip olduğundan kolayca agregasyona uğrayıp stabilitesini kaybedebilir.

2.3.1. NP Hazırlama Yöntemleri

İlaç taşıyıcı nanopartiküler sistemler çeşitli hazırlama yöntemleri ile elde edilmektedir. NP hazırlanmasında kullanılacak olan yöntem, polimerin ve etkin maddenin fizikokimyasal özelliğine bakılarak seçilmekte ve nanopartikülün partikül büyüklüğü, yüzey özellikleri gibi özelliklerini etkilemektedir. Nanopartikül hazırlanmasında en sık kullanılan yöntemler şunlardır:^{87, 88}

- ✓ Emülsiyon polimerizasyonu yöntemi
- ✓ Yüzeyler arası polimerizasyon yöntemi
- ✓ Emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemi
- ✓ Emülsiyon oluşturma-çözücü difüzyonu yöntemi
- ✓ Emülsiyon çapraz bağlama yöntemi
- ✓ Tuzla çöktürme yöntemi
- ✓ Nanoçöktürme (nanopresipitasyon) yöntemi
- ✓ Püskürterek kurutma/dondurma yöntemi
- ✓ Süperkritik sıvı teknolojisi yöntemi
- ✓ İyonik jelleşme

2.3.1.1. Nanoçöktürme Yöntemi

Nanoçöktürme yöntemi, “çözücü yer değiştirme” olarak da adlandırılan, Fessi ve çalışma grubu tarafından geliştirilmiş bir nanopartikül hazırlama yöntemidir.⁸⁹ Bu yöntemin temel prensibi, kullanılacak olan polimerin suyla karışabilen organik bir çözücüde çözündürülmesi ve daha sonra bu çözeltinin sulu faza kontrollü bir şekilde (tek seferde, kademeli olarak veya damla damla) ilave edilmesiyle organik çözücünün sulu faza difüzyonu sonucu polimerin ara yüzeyde birikmesi esasına dayanmaktadır. Organik çözücünün su fazına hızlı difüzyonu sonucu nanopartiküllerin oluşum mekanizması Marangoni etkisi ile açıklanmaktadır. Polimer çözeltisinin sulu faza hızlı bir şekilde

kendiliğinden yayılmasıyla, iki faz arasında ara yüzey geriliminde azalma ve yüzey alanında artış küçük organik çözücü damlacıklarının oluşumuna yol açarak nanopartikülleri şekillendirmektedir. Daha sonra, organik çözücü karıştırma, sıcaklık ve alçak basınç altında ortamdan uzaklaştırılmaktadır. Bu yöntemde organik çözücü olarak suyla karışabilmesi açısından aseton, etanol, aseton-az miktarda su karışımı, aseton-etanol/metanol karışımı tercih edilmektedir.⁸⁷

Organik çözücü-polimer etkileşimi, organik faz-su fazı etkileşimi nanoçöktürme yönteminin başarısını ve nanopartikül formülasyonunun fizikokimyasal özelliklerini etkileyen çok önemli parametrelerdir.⁹⁰ Bu yöntemde, nanopartikül oluşumu için yüzey aktif madde kullanımı gerekmemesine rağmen kolloidal nanopartikül süspansiyonunun stabilitesini garanti etmek amacıyla yüzey aktif madde/maddeler kullanılabilir.^{87, 90} Ayrıca, kullanılan polimerin amfifilik karakteri, nanopresipitasyon işlemi sırasında üretilen nanopartiküllerin hazırlama verimine etki edebilmektedir.⁹⁰ Hızlı ve kolay bir hazırlama yöntemi olması, suyla karışabilen organik çözücü kullanılması, yüksek enerji kullanımı gerektirmemesi, tekrarlanabilirliğinin yüksek ve ölçek büyütmenin kolay olması bu hazırlama yönteminin üstünlükleri olarak sıralanabilir.^{89,90} Organik çözücünün ortamdan yetersiz uzaklaştırılmasının nanopartikül agregasyonuna neden olması ve ayrıca, zamanla oluşabilecek agregasyonun fiziksel stabilite problemlerine yol açması ise yöntemin sakıncaları olarak karşımıza çıkmaktadır.⁹¹

2.3.2. NP Hazırlanmasında Kullanılan Polimerler

Polimer, çok sayıda tekrarlayan monomer denilen birimlerin polimerizasyonu ile oluşan makromoleküllerdir. Polimer bilimindeki ilerlemeler farklı yeni ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesine yol açmıştır. Hazırlanacak olan sistemlerde kullanılacak olan polimerin seçimi/tasarımı, polimerin kimyasal, mekanik, ara yüzey ve biyolojik

özelliklerine göre yapılmaktadır.⁹² İlaç taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında kullanılan polimerler doğal ve sentetik olmak üzere iki ana başlık altında Tablo 2.4'te verilmiştir.

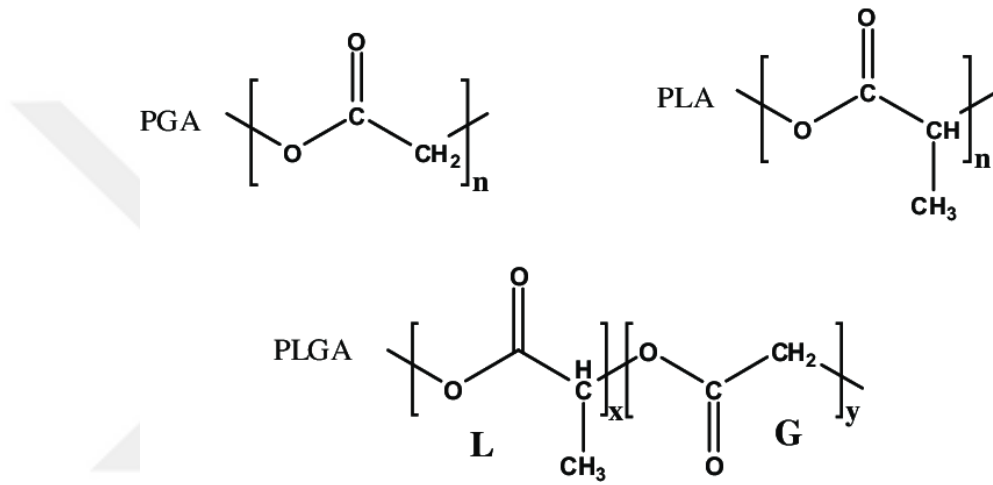
Doğal polimerler, biyouyumlu ve biyoparçalanır polimerlerdir. Ancak, saflaştırma esnasında karşılaşılan zorluklardan dolayı seriden seriye farklılık gösterirler.⁹² Sentetik polimerler, yapıya farklı grupların (anhidr, ester, üre vb.) eklenmesiyle özellikleri ayarlanabilen, biyoparçalanır veya biyoparçalanamayan polimerlerdir. Biyoparçalanabilen polimerler biyolojik sıvılarla temas edince hidrolitik veya enzimatik mekanizmalarla parçalandıkları için normal fizyolojik yollarla vücuttan atılırken, biyoparçalanamayan polimerler biyolojik ortamda parçalanamadıkları için ilaç salımının tamamlanmasının ardından vücuttan uzaklaştırılmalıdır.⁹³

Tablo 2.4. İlaç taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında kullanılan polimerler⁹²

Doğal polimerler	Protein temelli polimerler	Kolajen, jelatin, albumin	
	Polisakkaritler	Agaroz, aljinat, karragenan, hiyaluronik asit, dekstran, kitosan, siklodekstrin	
Sentetik polimerler	Biyoparçalanır polimerler	Poli(esterler)	Poli(glikolik asit) (PGA), poli(laktik asit) (PLA), PLGA, poli(β -malik asit), poli(α -kaprolakton), poli(hidroksi bütirat)
		Polianhidritler	Poli(adipik asit), poli(sebazik asit)
		Poliamidler	Poliaminoasit, poli(iminokarbonat)
		Fosfor bazlı polimerler	Polifosfonatlar, polifosfatlar, polifosfazenler
		Diğerleri	Poli(siyano akrilat), polidihidropiranlar, poliortoesterler, poliüretanlar
	Biyoparçalanamayan polimerler	Silikonlar	Kolloidal silika, polidimetilsiloksan
		Akrilik polimerler	Poli(metil metakrilat), polimetakrilatlar, poli hidro(etilmetakrilat)
		Selüloz türevleri	Hidroksipropil metil selüloz, etil selüloz, karboksimetil selüloz, selüloz asetat, selüloz asetat propiyonat
		Diğerleri	Poloksamerler, polivinil pirolidon, poloksaminler, etil vinil asetat

2.3.2.1. PLGA

Değiştirilmiş salım sistemlerinin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan PLGA, FDA tarafından onaylı, toksik olmayan, biyouyumlu ve biyoparçalanır sentetik bir kopolimerdir. Kopolimeri oluşturan PLA ve PGA oranları değiştirilerek, farklı fizikokimyasal özelliklere ve farklı molekül ağırlıklarına sahip PLGA kopolimerleri üretilmektedir.⁸⁰ PGA, PLA ve PLGA polimerlerinin kimyasal yapıları Şekil 2.3'te verilmiştir.



Şekil 2.3. PGA, PLA ve PLGA polimerlerinin kimyasal yapıları⁹⁴

PLGA'nın kristal yapısı, PLA ve PGA oranlarına göre değişmektedir. %30'dan fazla PLA içeren PLGA kopolimerleri yapısal olarak amorfudur ve kolaylıkla organik çözücülerde çözünmektedir. PGA'nın hidrofilik özelliği hücre içinde kolaylıkla çözünmesini sağlamaktadır. PLA'nın yan zincirinde metil grubu taşımasından kaynaklı hidrofobik özelliği PGA'dan daha uzun sürede parçalanmasına sebep olmaktadır. Bundan dolayı, PLGA'nın vücuttaki parçalanma hızı yapısındaki laktik asit:glolik asit oranına ve polimerin molekül ağırlığına bağlı olarak değişmektedir. PLGA vücutta glolik asit ve laktik asit monomerlerine parçalandıktan sonra, sitrik asit/trikarboksilik asit döngüsüne girerek karbondioksit ve su halinde vücuttan atılır.^{80, 95, 96}

2.4. ADT'ler

Oral yol, birçok etkin madde için sistemik etki elde etmek amacıyla kullanılması, diğer uygulama yolları ile karşılaştırıldığında yüksek hasta uyuncunun sağlanabilmesi ve kolay bir uygulama yolu olması nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir. Konvansiyonel tabletler ve kapsüller oral yolla uygulanan en yaygın katı dozaj şekilleri olmasına rağmen, özellikle çocuklar, zihinsel rahatsızlığı olan hastalar ve geriatric hastalar bu dozaj şekillerini yutmakta problem (disfaji) yaşamaktadır. Bu problemin giderilmesi amacıyla, ağız içinde suya ve çiğnemeye ihtiyaç olmaksızın, tükürük sıvısında çok kısa bir süre içerisinde dağılan veya çözünen katı bir dozaj şekli olarak ADT'ler geliştirilmiştir.⁹⁷⁻⁹⁹

ADT'ler (Orodispersible tablets, orally disintegrating tablets, ODTs) aynı zamanda ağızda çözünen (mouth-dissolving), hızlı çözünen (rapid dissolving, fast dissolving, quick dissolving), hızlı dağılan (fast disintegrating, rapid disintegrating, quick disintegrating), hızlı eriyen (fast melting) ve porlu (porous) tabletler olarak da isimlendirilmektedir.¹⁰⁰⁻¹⁰³ ADT'ler Avrupa Farmakopesi (EP), Amerikan Farmakopesi (USP), İngiliz Farmakopesi (BP) ve Japon Farmakopesi (JP) tarafından kabul edilmiş ve tanımlanmıştır. EP ve BP, ADT'yi "ağız boşluğuna yerleştirildikten sonra yutmadan önce hızlıca disperse olan ve dağılma testinde 3 dakikadan kısa bir zamanda dağılan kaplı olmayan tablet" olarak; USP/FDA'ya göre, ADT'ler "dil üzerine yerleştirildiğinde hızlıca/saniyeler (≤ 30 s) içinde dağılan ve etkin madde içeren katı bir dozaj şekli" olarak; JP'de ise ADT'ler "ağız boşluğunda hızlıca dağılan veya çözünen tabletler" olarak tanımlanmıştır.¹⁰⁴

İdeal bir ADT formülasyonunun sahip olması gereken özellikler şunlardır.^{99, 105}

- ✓ Kullanımı esnasında suya ihtiyaç duyulmamalı ve tükürük sıvısında saniyeler içinde dağılmalı/çözünmeli,
- ✓ Yüksek oranda etkin madde içerebilmeli,

- ✓ Sertliği ve friyabilitesi optimum düzeyde olmalı,
- ✓ Kabul edilebilir tat maskeleye özelliği ile ağızda güzel tat ve hoş bir his bırakmalı,
- ✓ Oral alındıktan sonra ağızda bıraktığı kalıntı çok az olmalı veya hiç kalıntı bırakmamalı,
- ✓ Sıcaklık ve nem gibi çevresel koşullara karşı düşük hassasiyet göstermeli,
- ✓ Düşük maliyetle üretilebilmelidir.

ADT'ler ağızda dağılmak veya çözünmek üzere hazırlandıkları için, ağızda bıraktıkları his hasta uyuncu açısından kritik rol oynamaktadır. ADT formülasyonunda yer alan etkin madde/maddeler kötü bir tada sahipse tatlandırıcıların/lezzet vericilerin (dekstroz, mannitol, sorbitol ve früktoz vb) kullanılması veya ön bir işlemle etkin maddenin kaplanması/mikroenkapsülasyonu veya kompleks oluşturulması gibi çeşitli yaklaşımlarla kötü tat maskelenebilir. ^{98, 106, 107}

ADT'lerin ağızda çok kısa sürede dağılması ya da çözünmesi istendiğinden, formülasyonlarında süper dağıtıcıların kullanılması önemlidir. Kullanılacak olan süper dağıtıcılar intragranüler olarak etkin ve düşük konsantrasyonda daha fazla dağıtma etkinliğine sahip olmalıdır. Süper dağıtıcıların çok fazla miktarda su absorplaması yerine hızlıca şişmeleri tercih edilmektedir, bu şekilde bu maddelerin şişmesiyle dış yönde veya radyal yönde oluşan şişme basıncı sonucu tablet kolaylıkla dağılmaktadır.¹⁰⁸ Süper dağıtıcıların suya olan yüksek ilgileri ve diğersuda çözünen yardımcı maddeler ADT'leri neme karşı hassas hale getirdiği için, ADT'lerin ambalajlanması ve saklanması sırasında bu durumlar göz önünde bulundurulmalıdır.¹⁰⁹

ADT'lerin kullanılmasındaki üstünlükler kısaca şu özetlenebilir:^{110, 111}

- ✓ Yaşlılar, felçli ve yatalak hastalar, böbrek yetmezliği olan hastalar, pediatrik ve geriatrik hastalar ve psikiyatri hastaları gibi yutma güçlüğü çeken kişilerde

ADT'lerin kullanımının kolay ve rahat olması, sonuç olarak da hasta uyuncunun artması,

- ✓ Alınan ADT'nin tükürükle temasından sonra ağızda hemen dağılması/çözünmesi sonrası etkin maddenin ağız, yutak ve yemek borusundan geçerken emiliminin başlamasıyla yüksek biyoyararlanım göstermesi,
- ✓ ADT'nin kısa sürede dağılması/çözünmesi ve etkin madde emiliminin hızlı olması sonucu etkinin daha hızlı ortaya çıkması,
- ✓ Artmış biyoyararlanımın sağlanması ile tedavi etkinliğinin daha düşük dozda etkin madde ile sağlanması sonucu yan etkilerin azaltılması,
- ✓ ADT kullanımı için suya ihtiyaç duyulmaması,
- ✓ İlk geçiş etkisinde ADT kullanımı ile azalma görülmesi,
- ✓ ADT'lerin ağızda daha iyi bir tat bırakması,
- ✓ Sıvı dozaj şekilleri ile kıyaslandığında dozlamının daha doğru yapılabilmesi, uygulama kolaylığı ve nakliye açısından kolaylık sağlamasıdır.

ADT'lerin sakıncaları ise aşağıdaki şekilde özetlenebilir:^{108, 110, 111}

- ✓ ADT'lerin neme karşı hassas olmaları,
- ✓ Yetersiz mekanik özelliklerinden dolayı ADT'lerin özel ambalaj gerektirmeleri,
- ✓ Terapötik dozu yüksek olan etkin maddelerin ADT formülasyonlarının hazırlanmasının zor olması,
- ✓ Tükürük salgısının azalması sonucu ağız kuruluğu çeken hastalarda ADT kullanımının kısıtlı olması,
- ✓ ADT formülasyonlarının geliştirilmesi açısından kısa yarı ömürlü etkin maddelerin, kontrollü ya da sürekli salım gerektiren etkin maddelerin uygun aday olmamaları,
- ✓ ADT formülasyonları uygun şekilde hazırlanmazsa ağızda hoş olmayan tat veya kalıntı bırakabilirler.

2.4.1. ADT Formülasyonlarının Üretim Yöntemleri

ADT formülasyonlarının geliştirilmesi aşamasında uygun yardımcı maddelerin ve hazırlama yönteminin seçilmesiyle tablet matriksinin gözenekli yapısının optimum hale getirilmesi hedeflenmektedir.¹¹⁰

ADT hazırlanmasında kullanılan yöntemler şunlardır:^{106, 112}

- ✓ Liyofilizasyon (dondurarak kurutma) yöntemi
- ✓ Direkt basım yöntemi
- ✓ Kalıba dökme (molding) yöntemi
- ✓ Kristal lif yöntemi
- ✓ Püskürterek kurutma (spray drying) yöntemi
- ✓ Kütle ekstrüzyon yöntemi
- ✓ Eritme granülasyon yöntemi
- ✓ Faz geçiş yöntemi
- ✓ Süblimasyon yöntemi
- ✓ Kuru/yaş granülasyon yöntemi
- ✓ Üç boyutlu baskılama yöntemi

ADT'lerin hazırlanmasında kullanılan patentli üretim teknolojileri ise "ZipDose, Zydis, Durasolv, Ziplets, FlashDose, FlashTab, Novel Hole, Oraquick, Quicksolv, Lyoc, Pharmaburst, Frosta, Nanocrystal, Wowtab"tır.^{112, 113}

2.4.1.1. Liyofilizasyon (Dondurarak Kurutma) Yöntemi

Liyofilizasyon, dondurulmuş olan üründen uygun koşullar altında (düşük sıcaklık ve alçak basınç) süblimasyonla suyun uzaklaştırılması ile ürünün kurutulması işlemidir. Bu yöntemle oldukça gözenekli yapıya sahip ADT'ler elde edilir.⁹⁸ Bu şekilde elde edilen ADT'ler gözenekli yapıları ve yüksek yüzey alanları sayesinde çözünme, emilim ve biyoyararlanım açısından iyileştirilmiş özelliklere sahiptirler.¹⁰⁸

Liyofilizasyon yöntemiyle özellikle ısıya duyarlı olan etkin maddelerin ADT formülasyonları geliştirilmektedir.⁹⁸ Bu yöntemde, genellikle suda az çözünen etkin maddeler 400 mg'dan az dozda ADT formülasyonuna eklenebilirken, suda çözünen etkin maddeler ise yaklaşık 60 mg'a kadar ADT formülasyonuna eklenebilir.¹¹⁴

Liyofilizasyon yöntemiyle hazırlanan ADT'lerin sahip oldukları düşük mekanik dirençleri ve ayrıca, ısıya ve neme duyarlı olmaları saklama ve taşıma esnasında zorluklara neden olmaktadır. Liyofilizasyon işleminin zaman alıcı olması ve pahalı ekipmanlar gerektirmesi de kullanımını sınırlandırmaktadır.¹⁰⁶

2.4.1.2. Direkt (Doğrudan) Basım Yöntemi

Direkt basım, herhangi bir ön işlem olmaksızın, doğrudan etkin madde ve yardımcı maddelerin karıştırıldıktan sonra sıkıştırılmasıyla tabletlerin elde edildiği bir üretim yöntemidir. Üretimde kullanılacak olan toz karışımının uygun akış özelliklerine ve basılabilme yeteneğine sahip olması gerekmektedir.⁹⁷ Toz karışımını oluşturan etkin madde ve yardımcı maddelerin partikül büyüklüğü dağılımının farklılık göstermesi karışım içinde ayrışmaya ve sonuçta elde edilen ADT'lerin özelliklerinde değişime neden olabilmektedir.⁹⁸ Bu yöntemle hazırlanan ADT'lerin dağılması ve çözünmesi, suda çözünen yardımcı maddelerin, dağıtıcıların/süperdağıtıcıların ve efervesan ajanların tek başına veya bir arada kullanımları ile gerçekleşmektedir. Direkt basım yöntemi ile üretilen ADT'lerin dağılmasında, seçilen süper dağıtıcının tipi, miktarı, su absorplama kapasitesi ve şişme özelliği gibi faktörler önemli rol oynamaktadır. Süperdağıtıcıların ADT'lere eklenmesiyle hızlı bir dağılma gerçekleşmektedir.⁹⁸

Direkt basım yönteminde ayrıca, şeker-bazlı yardımcı maddelerin (dekstroz, früktoz, maltoz, mannitol, sorbitol vb.) kullanılmasıyla ADT'ye hem suda yüksek çözünürlük özelliği hem de hoş bir tat kazandırılır.⁹⁸

Az sayıda işlem basamağı içermesi, konvansiyonel ekipman ve üretim prosesi maliyetinin düşük olması, ısıya ve neme hassas maddelerle çalışılabilmesi, dozlamının yüksek oranda yapılabilmesi ve tabletin son ağırlığının diğer üretim yöntemlerine göre daha kolay ayarlanabilmesi direkt basım yönteminin üstünlükleri arasında sayılabilir.⁹⁸

99



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Maddeler	Firma
Aerosil	Santa-Farma İlaç Sanayi A.Ş., Türkiye
Aseton	Sigma-Aldrich, Almanya
Hidroksipropil Metil Selüloz (HPMC)	Santa-Farma İlaç Sanayi A.Ş., Türkiye
Jelatin	Fluka Chemica, İsviçre
Karbamazepin	Jubilant Generics, Hindistan
Krospovidon (Kollidon CL)	Santa-Farma İlaç Sanayi A.Ş., Türkiye
Levetirasetam	Divi's Laboratories, Hindistan
Mannitol	Merck, Almanya
Metanol	Sigma-Aldrich, Almanya
Metanol	VWR, ABD
Mikrokristalin Selüloz (Avicel pH 102)	Santa-Farma İlaç Sanayi A.Ş., Türkiye
PEG 4000	Loba Chemie, Hindistan
Pentilentetrazol (PTZ)	Sigma-Aldrich, Almanya
PLGA (50:50)	Sigma-Aldrich, Almanya
Pluronic F127	BASF, Brenntag Canada Inc., Kanada
Pluronic F68	BASF, Brenntag Canada Inc., Kanada
Polivinil Piroolidon-K30 (PVP-K30)	Santa-Farma İlaç Sanayi A.Ş., Türkiye
Potasyum Dihidrojen Fosfat	Merck, Almanya
Potasyum Klorür	Merck, Almanya
Sodyum hidroksit	Merck, Almanya
Sodyum Karboksimetilselüloz (NaCMC)	Doğa İlaç Hammaddeleri, Türkiye
Sodyum Klorür	Merck, Almanya
Sodyum Monohidrojen Fosfat	Merck, Almanya
Talk	Doğa İlaç Hammaddeleri, Türkiye
Tween 80	Merck, Almanya

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Cihazlar	Firma
Buzdolabı	5223 NHEY, Arçelik, Türkiye
Çok Noktalı Manyetik Karıştırıcı	2mag MIXdrive 15, Almanya
Dansite Tayin Cihazı (Volumetre)	Erweka SVM-122, Almanya
Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)	Perkin Elmer Diamond DSC, Almanya
Evaporatör	Heidolph, 4001, Almanya
Friyabilitör	Pharma Test PTF E/ER, Almanya
Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi (FT-IR)	Bruker VERTEKS 70v, Bruker, Almanya
Hassas Terazı	AND, Japonya
Hassas Terazı	AUW220D, Shimadzu, Japonya
Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	Thermo Finnigan Surveyor, Almanya
Liyofilizatör	Martin Christ, Alpha 1-2 LD Plus, Almanya
Manyetik Karıştırıcı	Wisd Lab Instruments, Almanya
Mikropipet	Eppendorf, Almanya
Mikrosantrifüj	Hettich, Micro 200, Almanya
pH Metre	Thermo Scientific, Orion 3 Star™, ABD
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	Zeiss Sigma 300, Almanya
Soğutmalı Santrifüj	Kubota, 3780, ABD
Tablet Dağılma Cihazı	Pharma Test PTZ E, Almanya
Tablet Dissolüsyon Cihazı	Pharma Test PTWS IIIIE/CE, Almanya
Tablet Sertlik Cihazı	Pharma Test PTB, Almanya
Ultra Saf Su Cihazı	Millipore, Direct-Q 3UV, ABD
Ultrasonik Banyo	Bandelin, Almanya
Ultra-Turrax cihazı	T10, Ultra-Turrax, IKA, Almanya
UV-Vis Spektrofotometresi	Beckman Coulter®, DU 730, ABD
Yatay Çalkalayıcılı Su Banyosu	Memmert, Almanya
Zetasizer	Malvern Zetasizer Nano ZSP, İngiltere

3.2. Metot

3.2.1. KBZ ve LEV'in UV Spektrumu

KBZ ve LEV'in metanol içerisinde 10 µg/mL standart çözeltileri hazırlanarak 200-600 nm dalga boyu aralığında UV spektrumları alınmıştır.

3.2.2. KBZ ve LEV'in HPLC Yöntemiyle Miktar Tayini

Literatür taraması sonucunda KBZ ve LEV etkin maddeleri için ortak dalga boyu 230 nm olarak belirlenmiştir.¹¹⁵ Farklı oranlarda metanol ve ultra saf su karışımları denenerek uygun hareketli faz seçilmiştir. KBZ ve LEV etkin maddelerine ait belirlenen kromatografik koşullar Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. KBZ ve LEV'in etkin madde miktar tayininde kullanılacak HPLC kromatografik şartları

Cihaz	HPLC; Thermo Finnigan Surveyor
Yöntem	Ters Faz Kromatografi /İzokratik Elüsyon
Kolon	Supercosil LC-18-DB, 25 cm x 4.6 mm; 5µm (Supelco)
Hareketli Faz	Metanol:Ultra saf su (45:55 h/h)
Akış Hızı	1 mL/dk.
Dedektör	UV
Dalga Boyu	230 nm
Sıcaklık	25 °C
Enjeksiyon Hacmi	10 µL
Analiz Süresi	15 dk.

3.2.2.1. KBZ ve LEV'e ait Kalibrasyon Doğrusunun Elde Edilmesi

KBZ ve LEV'in kalibrasyon doğrularını elde etmek üzere, etkin maddelerin hareketli faz olan metanol:ultra saf su (45:55 h/h) karışımı içerisinde 100 µg/mL konsantrasyonunda stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözelti hareketli faz ile

seyreltilerek 50 µg/mL konsantrasyonunda ikinci stok çözelti elde edilmiştir. Bu çözeltiden hareketle uygun seyreltmeler hareketli faz ile yapılarak, 0.5-32 µg/mL konsantrasyon aralığında (sekiz farklı konsantrasyon) ve her bir konsantrasyon için 6'şar adet olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmıştır. Standart çözeltilerden hareketle HPLC'de elde edilen pik alanlarına karşı konsantrasyonlar grafiğe geçirilmiş ve regresyon analizi yardımıyla kalibrasyon doğrusu ve yapılan diğer analizlerde kullanılmak üzere doğru denklemi elde edilmiştir.

3.2.2.2. Analitik Yöntemin Geçerliliği

Analitik yöntemin geçerliliği (validasyon), kullanılacak olan analitik yöntemin doğru, özgül ve tekrarlanabilir olduğunu göstermek için uygulanır. Analitik bir yöntemin geçerliliği, onun amaçlanan kullanımı için uygun olduğunu kanıtlamaya yöneliktir.¹¹⁶ Analitik yöntemin geçerliliği için değerlendirilen parametreler şunlardır;

Doğrusallık ve Çalışma Aralığı

Doğrusallık, miktar tayini yapılacak olan etkin maddenin konsantrasyonu ile doğrudan orantılı test sonuçlarının belli bir aralıkta elde edilebilme yeteneği olarak tanımlanmaktadır. Doğrusallık, sekiz farklı konsantrasyonda hazırlanan standart çözeltilerin her birinden hazırlanan 6'şar örneğin analizi ile tespit edilmiştir. Çalışma aralığı ise kabul edilebilir doğruluk, kesinlik ve doğrusallığın elde edildiği konsantrasyon aralığıdır. Bu konsantrasyon aralığında, regresyon analizi yapılarak kalibrasyon eğrisinin doğru denklemi ve tanımlayıcılık (belirleyicilik, belirlilik) katsayısı elde edilmiştir. Ayrıca, doğrusallıktan ayrışım önem kontrolü yapılarak veriler değerlendirilmiştir.

Doğruluk

Doğruluk, deneysel olarak belirlenmiş değerin, kabul edilebilir değere veya gerçek değere olan yakınlığı olarak tanımlanmaktadır. Doğruluk parametresi gün içi ve günler arası olmak üzere iki şekilde çalışılmış ve % bağıl hata (% BH) ile değerlendirilmiştir.

Yöntemin doğruluğunu değerlendirmek amacıyla aşağıda verilen eşitlik kullanılmıştır (Şekil 3.1).

$$\% \text{ BH} = [(a-b)/b] \times 100$$

a = Ortalama tayin edilen konsantrasyon (µg/mL)

b = Hazırlanan konsantrasyon (µg/mL)

Şekil 3.1. Doğruluk hesabında kullanılan eşitlik¹¹⁷

KBZ ve LEV'in hareketli faz içerisinde 50 µg/mL konsantrasyonunda stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltiden hareketle uygun seyreltmeler hareketli faz ile yapılarak 1, 8 ve 24 µg/mL konsantrasyonlarda ve her bir konsantrasyon için 6'şar adet olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmıştır. Analiz sonucunda etkin maddeler için hazırlanan ortalama konsantrasyonlar ve gerçek konsantrasyonlar kullanılarak % BH hesaplanmıştır.

Analitik yöntemin geçerliliği için doğruluk parametresinin kabul edilebilir sınırlar içerisinde olabilmesi için % BH değerlerinin %2'nin altında elde edilmesi gerekmektedir.¹¹⁸

Kesinlik

Kesinlik, analitik yöntemin tekrarlanabilirlik derecesi veya birbirini takip eden test sonuçlarının yakınlığının göstergesi olarak tanımlanmaktadır. Kesinlik parametresi varyasyon katsayısı (VK) ile değerlendirilmektedir. Yöntemin gün içi (tekrarlanabilirlik) ve günler arası kesinliğini değerlendirmek üzere aşağıda verilen eşitlik kullanılmıştır (Şekil 3.2).

$$VK = (a/b) \times 100$$

a = Standart sapma (SS)

b = Ortalama tayin edilen konsantrasyon (µg/mL)

Şekil 3.2. Kesinlik hesabında kullanılan eşitlik¹¹⁹

Gün İçi Kesinlik (Tekrarlanabilirlik): KBZ ve LEV'in hareketli faz içerisinde 50 µg/mL konsantrasyonunda stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltiden hareketle uygun seyreltmeler hareketli faz ile yapılarak 1, 8 ve 24 µg/mL konsantrasyonlarda ve her bir konsantrasyon için 6'şar adet olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmıştır. Aynı gün içinde yapılan analiz sonucunda etkin maddeler için hazırlanan ortalama konsantrasyonlar ve SS değerleri kullanılarak VK değeri hesaplanmıştır.

Günler Arası Kesinlik: KBZ ve LEV'in hareketli faz içerisinde 50 µg/mL konsantrasyonunda stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltiden hareketle uygun seyreltmeler hareketli faz ile yapılarak 1, 8 ve 24 µg/mL konsantrasyonlarda ve her bir konsantrasyon için 6'şar adet olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmıştır. Birbirini takip eden üç gün boyunca yapılan analiz sonucunda etkin maddeler için hazırlanan ortalama konsantrasyonlar ve SS değerleri kullanılarak VK değeri hesaplanmıştır.

Enjeksiyon Tekrar Edilebilirliği: KBZ ve LEV'in 50 µg/mL konsantrasyonundaki stok çözeltisi hareketli faz ile seyreltilerek üç farklı konsantrasyonda çözelti (1, 8 ve 24 µg/mL konsantrasyonlarında) hazırlanmış ve arka arkaya altı kez analiz edilmiştir. Daha sonra, çözeltilere ait pik alanları ve SS değerleri kullanılarak VK değerleri hesaplanmıştır.

Analitik yöntemin geçerliliği için kesinlik parametresinin kabul edilebilir sınırlar içerisinde olabilmesi için VK değerinin %2'nin altında elde edilmesi gerekmektedir.¹²⁰

Saptanabilirlik/Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Edilebilirlik Sınırı (LOQ)

LOD: Belirlenen deney şartlarında saptanabilen en düşük analit konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. LOD değeri sinyal/gürültü oranının 3/1 olduğu konsantrasyondur.¹²⁰

LOQ: Belirlenen deney şartlarında numune içindeki analitin uygun doğruluk ve kesinlik ile tayin edilebildiği en düşük konsantrasyon olarak tanımlanmaktadır. LOQ değeri sinyal/gürültü oranının 10/1 olduğu konsantrasyondur.¹²⁰

Bu tez çalışmasında, LOD değeri kalibrasyon noktalarında elde edilen ($y=mx+n$) “n” değerlerinin standart sapmasının “m” değerine oranının 3.3 katı olarak hesaplanmıştır. LOQ değeri kalibrasyon noktalarında elde edilen ($y=mx+n$) “n” değerlerinin standart sapmasının “m” değerine oranının 10 katı olarak hesaplanmıştır.¹²⁰

121

Özgüllük

Özgüllük, analitik yöntemin sadece amaçlanan bileşeni tayin edebilme yeteneği olarak tanımlanmaktadır ve sayısal değeri yoktur. Özgüllüğün değerlendirilmesi amacıyla etkin madde dışındaki formülasyon bileşenleri kullanılarak nanopartikül ve ADT formülasyonları hazırlanmış ve HPLC ile analiz edilerek etkin maddeler ve yardımcı maddeler arasında herhangi bir etkileşim olup olmadığı tespit edilmiştir.

Stabilite

KBZ ve LEV etkin maddelerinin 50 µg/mL stok çözeltisinden hareketle uygun seyreltmeler hareketli faz ile yapılarak 1, 8 ve 24 µg/mL konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlanmıştır. Daha sonra, standart çözeltiler -20 °C, +4 °C ve 25 °C olmak üzere üç sıcaklıkta 1., 2., 3., 7. ve 14. günlerde değerlendirilmiştir. Stabilite parametresi VK değeri ile değerlendirilmiş ve VK değerleri %2'nin altında elde edilen standart çözeltiler dayanıklı olarak kabul edilmiştir.¹²⁰

3.2.3. KBZ'nin Çözünürlük Tayini Çalışması

Hazırlanan nanopartikül ve ADT formülasyonlarının *in vitro* salım çalışmalarını gerçekleştirmek amacıyla etkin maddeler için Sink koşulun sağlanması gerekmektedir. LEV hidrofilik olup suda yüksek çözünürlüğe sahiptir. KBZ ise hidrofobik özelliğe sahiptir ve suda çok az çözünmektedir.^{21(s.897)} Yapılan literatür araştırması sonucunda, KBZ'nin çözünürlüğünün artırılması ve Sink koşulun sağlanması amacıyla setiltrimetilamonyum bromür, SLS, Tween 80, Kollidon 30, polietilen glikol 4000 (PEG 4000), polietilen glikol 6000 (PEG 6000), Kollifor EL gibi yardımcı maddelerin *in vitro* salım ortamına eklendiği bulunmuştur.¹²²⁻¹²⁵ Bu amaçla, çözünürlük artırıcı olarak Tween 80 yüzey aktif maddesi seçilmiş ve farklı salım ortamlarında (distile su, PB pH 7.4 ve PB pH 6.8) çözünürlük tayin çalışması yapılmıştır.

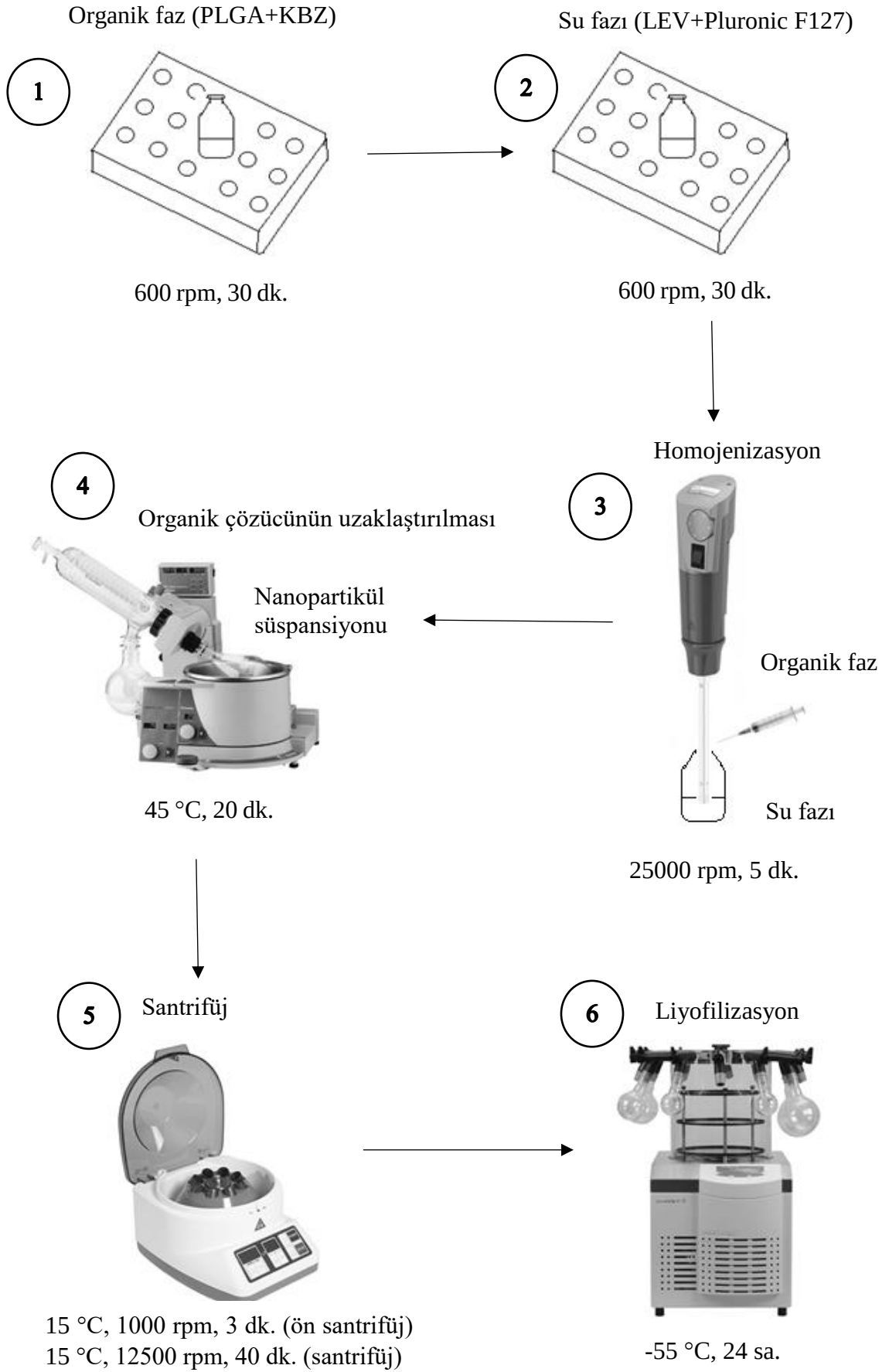
Seçilen salım ortamlarında KBZ'nin çözünürlüğünün belirlenmesi amacıyla KBZ'nin aşırı miktarı (10 mg) flakonlara tartılmış ve üzerlerine Tween 80 (%1, %5 ve %10) içeren salım ortamları (distile su, PB pH 7.4 ve PB pH 6.8) ilave edilerek flakonların ağzı sıkıca kapatılmıştır. Yatay çalkalayıcılı su banyosu içerisine yerleştirilen flakonlar 24 saat çalkalanmış (120 rpm ve 37 °C) ve 12500 rpm'de 15 dk. santrifüj edilmiştir. Daha sonra örnekler (n=3) 0.45 µm'lik membran filtrelerden süzölmüş ve HPLC yöntemi ile etkin madde miktar tayini gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Nanopartiküler Sistemlerin Hazırlanması

Tez çalışmamızda, KBZ ve LEV etkin maddelerini içeren nanopartikül hazırlamak üzere PLGA kopolimeri kullanılmıştır. Kullandığımız PLGA kopolimeri Resomer® RG 502 (50:50)'dir. Molekül ağırlığı 7000-17000 Da ve camsı geçiş sıcaklığı (T_g) 42-46 °C olan ester sonlu bu PLGA amorf bir yapıya sahiptir. Bu polimerin %0.1 (a/h)'lik kloroform içerisindeki çözeltisinin vizkozitesi (Ubbelohde kılcal vizkozimetresi, 25 °C) 0.16-0.24 dl/g'dır.¹²⁶

Tez çalışması kapsamında, etkin madde yüklü PLGA nanopartikülleri nanopresipitasyon yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır.

KBZ ve LEV yüklü PLGA nanopartikülleri (KBZ+LEV-PLGA-NPs)'nin hazırlanması için çok noktalı manyetik karıştırıcı üzerinde, 150 mg PLGA'nın asetondaki çözeltisi (7 mL) 600 rpm'de 30 dk. karıştırılarak hazırlanmıştır. Bu çözelti üzerine KBZ ilave edilerek tekrar karıştırılmış (600 rpm, 30 dk.) ve organik faz hazırlanmıştır. Ultra saf su içerisinde hazırlanan 14 mL %2 (a/h)'lik Pluronic F127 çözeltisine LEV ilave edilerek (600 rpm, 30 dk.) su fazı hazırlanmıştır. Sonra, Ultra-Turrax (IKA, Almanya) altında (25000 rpm, 5 dk.) organik faz su fazına enjektör (26 G) yardımıyla damlatılmış ve bu işlemin ardından organik çözücü alçak basınç altında (evaporatör, 45 °C) ortamdan uzaklaştırılmıştır. Elde edilen nanopartikül süspansiyonuna 15 °C, 1000 rpm'de 3 dk. ön santrifüj işlemi uygulanmıştır. Daha sonra, elde edilen süpernatant için 15 °C, 12500 rpm'de 40 dk. santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan nanopartiküller 24 saat boyunca liyofilize (0.021 mbar, -55 °C) edilmiştir. Önformülasyon çalışmaları sonrasında optimum formülasyon bileşimine karar verilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Nanopartiküllerin nanopresipitasyon yöntemiyle hazırlanmasında kullanılan prosedürün şematik gösterimi

3.2.5. Hazırlanan Nanopartiküler Sistemlerin Karakterizasyonu

Hazırlanan nanopartiküller yüzey özellikleri, partikül boyutu ve dağılımı, zeta potansiyel (ZP) değeri, hazırlama verimi ve nanopartiküllere yüklenen etkin madde miktarı açısından incelenmiştir. Nanopartiküllerin FT-IR spektrumları ve DSC termogramları alınmıştır. Bu formülasyonlar için ayrıca *in vitro* salım çalışması ve *in vivo* çalışma gerçekleştirilmiştir.

3.2.5.1. Yüzey Özellikleri

Hazırlanan KBZ+LEV-PLGA-NPs'lerin ve etkin madde içermeyen PLGA nanopartiküllerinin (B-PLGA-NPs) yüzey özellikleri SEM kullanılarak saptanmıştır. Bu amaçla, metal levhalar üzerine iki taraflı bant ile sabitlenen nanopartiküller 100 Å kalınlığında altın ile kaplanmış ve nanopartiküller görüntülenerek yüzey özellikleri incelenmiştir.

3.2.5.2. Partikül Büyüklüğü, Partikül Büyüklüğü Dağılımı ve Zeta Potansiyel Tayini

Hazırlanan KBZ+LEV-PLGA-NPs ve B-PLGA-NPs formülasyonlarının partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve ZP değerleri Malvern Zetasizer Nano ZSP cihazı (Malvern Ins. Ltd. İngiltere) kullanılarak saptanmıştır. Hem partikül büyüklüğü ve dağılımı hem de zeta potansiyeli ölçümleri 25 °C'de NP süspansiyonlarının ultra saf su ile 30 kat seyreltilmesi ile tespit edilmiş ve sonuçlar ortalama $\pm$ SS olarak verilmiştir.

3.2.5.3. Enkapsülasyon Etkinliği (EE) ve Yükleme Kapasitesi (YK) Tayini

10 mg liyofilize KBZ+LEV-PLGA-NPs ve 1 mL DCM renkli şişeler içerisinde 400 rpm'de 60 dk. karıştırılmıştır. Bu işlem sonrasında, bu karışıma 1 mL metanol eklenmiş ve 0.22 µm por açıklığına sahip membran filtreden süzülerek HPLC'de etkin madde miktarı analiz edilmiştir. Gerekli seyreltmeler metanol ile yapılmıştır. KBZ+LEV-PLGA-NPs için % EE ve % YK değerleri hesaplanmıştır (Şekil 3.4 ve Şekil 3.5).

$$\% EE = (a/b) \times 100$$

a = Nanopartiküllere yüklenen etkin madde miktarı

b = Formülasyona eklenen etkin madde miktarı

Şekil 3.4. % EE hesaplanmasında kullanılan eşitlik¹²⁷

$$\% YK = (a/b) \times 100$$

a = Nanopartiküllere yüklenen etkin madde miktarı

b = Elde edilen toplam nanopartikül miktarı

Şekil 3.5. % YK hesaplanmasında kullanılan eşitlik¹²⁷

3.2.5.4. Hazırlama Verimi

Hazırlama yönteminin etkinliğini değerlendirmek üzere hazırlama verimi hesaplanmaktadır. Bu amaçla, liyofilizasyon sonrasında elde edilen nanopartikül miktarı, formülasyona giren tüm maddelerin (etkin maddeler, polimerler) toplam miktarına bölünmüş ve sonuçlar % cinsinden hesaplanmıştır (Şekil 3.6).

$$\% Verim = (a/b) \times 100$$

a = Elde edilen toplam nanopartikül miktarı

b = Etkin maddeler + Polimerler

Şekil 3.6. Hazırlama veriminin hesaplanması için kullanılan eşitlik¹²⁷

3.2.5.5. *İn Vitro* Salım Çalışması

In vitro salım çalışmasının yapılması amacıyla 20 mg liyofilize edilmiş KBZ+LEV-PLGA-NPs'nin 1 mL salım ortamı içerisindeki nanosüspansiyonu diyaliz torbasına (molekül büyüklüğü geçirgenlik sınırı 14000 Da) konulmuştur (n=6). Hazırlanan diyaliz torbaları renkli şişelere yerleştirilerek üzerlerine 20'şer mL salım

ortamı (PB pH 7.4) ilave edilmiş ve Sink koşul sağlanmıştır (n=6).¹²⁸ Yatay çalkalayıcılı su banyosunda (37±0.5 °C, 50 rpm) gerçekleştirilen salım çalışması belirlenen zaman aralıklarında (0.5., 1., 3., 6., 12., 24. ve 48. sa.) salım ortamlarından birer mL örnek alınması ve alınan örnek hacmi kadar taze ortam ilave edilmesi ile yapılmıştır. Alınan örnekler, 12500 rpm’de 15 dk. santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatantlardaki KBZ ve LEV miktarları HPLC yöntemiyle tayin edilmiş ve % salım değerleri hesaplanmıştır.

3.2.5.6. NP Formülasyonlarına Ait FT-IR Analizi

Analizi yapılacak olan maddelerdeki bağların titreşim frekansları FT-IR spektrometresi ile ölçülerek yapıdaki fonksiyonel gruplar belirlenmektedir.¹²⁹ Bu amaçla, KBZ, LEV, PLGA, Pluronic F127, B-PLGA-NPs ve KBZ+LEV-PLGA-NPs’nin, 4000-400 cm⁻¹ aralığında, KBr diskleri yardımıyla ve vakum altında FT-IR spektrumları alınmıştır.

3.2.5.7. NP Formülasyonlarına Ait DSC Analizi

DSC, kontrollü bir sıcaklık programı uygulanması ile numune ve referans maddenin kıyaslanmasını sağlayan termal bir yöntemdir. Bu amaçla KBZ, LEV, PLGA, Pluronic F127, B-PLGA-NPs ve KBZ+LEV-PLGA-NPs’nin DSC kullanılarak DSC termogramları alınmıştır. DSC analizi azot atmosferinde, 20-250 °C sıcaklık aralığında (10 °C/dk. ısıtma hızı), 50 mL/dk. gaz akış hızında, bir dizi standart yardımıyla (In, Sn, Pb, Al, Pd, Ni, Au, Zn) ve alumina referans maddesi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.6. ADT Formülasyonlarının Hazırlanması

KBZ+LEV-ADT formülasyonları liyofilizasyon ve direkt basım yöntemleri kullanılarak hazırlanmıştır. Liyofilizasyon yöntemi ile geliştirilen ADT formülasyonu L-ADT, direkt basım yöntemi ile hazırlanan ADT formülasyonu DB-ADT olarak kodlanmıştır. Ayrıca, liyofilizasyon yöntemi ile elde edilen ADT’lerin yardımcı

maddeleri L-YM, direkt basım yöntemi ile elde edilen ADT’lerin yardımcı maddeleri DB-YM olarak kodlanmıştır. L-ADT ve DB-ADT formülasyonlarına katılan yardımcı maddeler ve madde fonksiyonları Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2. ADT formülasyonlarında kullanılan yardımcı maddeler ve fonksiyonları

	Yardımcı Maddeler	Madde Fonksiyonları
L-ADT	Hidroksipropil metil selüloz (HPMC, Hipromelloz)	Bağlayıcı, vizkozite artırıcı ¹³⁰
	Jelatin	Matriks oluşturucu ^{131, 132}
	Mannitol	Dolgu maddesi ¹³¹
	Tween 80 (Polioksietilen (20) sorbitan monooleat, polisorbat 80)	Yüzey aktif madde, ıslatıcı, çözünürlük artırıcı ¹³²
	Pluronic F68 (Polioksietilen-polioksipropilen kopolimeri, Lutrol F68, Poloxamer 188)	Yüzey aktif madde, ıslatıcı, çözünürlük artırıcı ¹³³
	Polietilen glikol 4000 (PEG 4000, Macrogol 4000)	Dağıtıcı ^{132, 133}
DB-ADT	Polivinil prolidon-K30 (Kollidon 30, Povidon K30, PVP-K30)	Bağlayıcı ¹³²
	Mikrokristalin selüloz PH 102 (Avicel PH 102)	Dağıtıcı, dolgu maddesi ¹³⁴
	Sodyum karboksimetilselüloz (Karmeloz sodyum, NaCMC)	Dağıtıcı ¹³⁵
	Mannitol	Dolgu maddesi ¹³⁶
	Krospovidon (Kollidon CL, Poliplasdon XL, çapraz bağlı PVP)	Süperdağıtıcı ¹³⁶
	Polivinil prolidon-K30 (Kollidon 30, Povidon K30, PVP-K30)	Bağlayıcı ¹³⁴
	Aerosil (Cab-O-Sil, kolloidal silikon dioksit)	Kaydırıcı, Anti-adherent ¹³⁶
	Talk (Sulu magnezyum silikat)	Kaydırıcı, akış düzenleyici ¹³⁴

Hazırlanan ADT'lere ait formülasyon bileşenleri ve miktarları Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.3. Hazırlanan ADT formülasyonlarının bileşenleri ve miktarları

L-ADT		DB-ADT	
Formülasyon Bileşenleri	Miktar (mg)	Formülasyon Bileşenleri	Miktar (mg)
KBZ	160	KBZ	160
LEV	40	LEV	40
HPMC	15	Avicel PH 102	135
Jelatin	45	Na CMC	53
PEG 4000	11	Mannitol	70
PVP-K30	12	Krospovidon	50
Tween 80	23	PVP-K30	80
Pluronic F68	30	Aerosil	6
Mannitol	35	Talk	6
Distile Su	750		

3.2.6.1. Liyofilizasyon Yöntemiyle ADT Formülasyonu Hazırlanması

Liyofilizasyon yöntemiyle ADT hazırlamak amacıyla, HPMC çok noktalı manyetik karıştırıcıda ultra saf su (70 °C) içerisinde karıştırılarak (750 rpm, 30 dk.) çözünmesi sağlandıktan sonra jelatin ilave edilerek homojen bir karışım elde edilmiştir. Bunu takiben, Tween 80, mannitol, PEG 4000, PVP-K30 ve Pluronic F68 sırasıyla ilave edilerek karıştırılmıştır (1200 rpm, 30 dk.). Sonra oluşan bu karışıma LEV eklenerek çözünmesi sağlanmıştır. Elde edilen çözelti 17 mm çapındaki blisterlere pipetlenmiş ve

KBZ ilavesinden sonra 10x3 mm boyutundaki manyetik bar ile karıştırılarak (1200 rpm, 10 dk.) süspansiyon elde edilmiştir. Blisterler -20 °C’de buzdolabına alınarak bir gece dondurulmuştur. Daha sonra, donmuş örnekler liyofilize (-55 °C’de, 0.021 mbar, 24 sa.) edilmiştir.

3.2.6.2. Direkt Basım Yöntemiyle ADT Formülasyonu Hazırlanması

Direkt basım yöntemiyle ADT hazırlamak amacıyla, kaydırıcılar (Aerosil ve talk) haricindeki tüm tozlar (KBZ, LEV, Avicel PH 102, Na CMC, mannitol, krospovidon, PVP-K30) tartılmış ve homojen olarak karıştırılmıştır. Elde edilen toz karışımına Aerosil ve talk ilave edilerek 5 dk. daha karıştırılmış ve tek zımbalı tablet makinesi ile tabletler basılmıştır.

3.2.7. Direkt Basım Yöntemiyle Hazırlanan ADT’ler İçin Toz Kontrolleri

DB-ADT’ler için hazırlanan toz karışımının akış özelliklerinin tespit edilmesi amacıyla yığın açısı, akış süresi, basılabilirlik indisi ve Hausner oranı değerleri EP 8.0’a göre hesaplanmıştır.¹³⁷

3.2.7.1. Yığın Açısı ve Akış Süresi Kontrolü

Yığın açısı ve akış süresi kontrolü 100 g toz karışımı üzerinde standart huni kullanılarak yapılmıştır. Huninin yüksekliği akıtılan toz kümesinin üst noktasından yaklaşık 3 cm yukarıda olacak şekilde ayarlanmıştır. Toz karışımı huniden milimetrik kâğıt üzerine akıtılmış ve yüzeye serbestçe akan toz yığını bir koni oluşturmuştur. Toz yığının yüzey ile yaptığı açı (yığın açısı), toz yığının yüksekliği (h) ve yarıçapı (r) tespit edilerek hesaplanmıştır (n=10). Yığın açısı EP 8.0 standartlarına göre değerlendirilmiştir (Tablo 3.4). Ayrıca huniden toz akışı sırasında tozun akış süresi de tespit edilmiş ve EP 8.0 standartlarına göre değerlendirilmiştir.¹³⁷

3.2.7.2. Basılabilirlik İndisi ve Hausner Oranı Tespiti

Basılabilirlik indisi ve Hausner oranı tozların akış özelliklerinin tespit edilmesi amacıyla kullanılan, küme (yığın) dansitesi ve sıkıştırılmış dansiteden hareketle tespit edilen denklemlerdir. Küme dansitesi ve sıkıştırılmış dansite, EP 8.0'a göre 100 g toz karışımı üzerinden, dansite tayin cihazı kullanılarak tayin edilmiştir (n=6). Yığın dansitesi, sıkıştırılmış dansite, basılabilirlik indisi ve Hausner oranı aşağıdaki eşitlikler (sırasıyla Şekil 3.7, Şekil 3.8, Şekil 3.9 ve Şekil 3.10) kullanılarak hesaplanmıştır. Basılabilirlik indisi ve Hausner oranı EP 8.0'a göre değerlendirilmiştir (Tablo 3.4).

$$\rho_k = m/v$$

ρ_k = Küme dansitesi (g/mL)

m = Toz miktarının ağırlığı (g)

v = Yerleşmemiş tozun görünen hacmi (mL)

Şekil 3.7. Yığın dansitesinin hesaplanmasında kullanılan eşitlik¹³⁷

$$\rho_v = m/v$$

ρ_v = Sıkıştırılmış dansite (g/mL)

m = Toz miktarının ağırlığı (g)

v = Vuruş yapılmış toz hacmi (mL, hacim değişikliği olmayıncaya kadar devam ettirilen vuruş sonrası tespit edilen hacim)

Şekil 3.8. Sıkıştırılmış dansitenin hesaplanmasında kullanılan eşitlik¹³⁷

$$\text{Basılabilirlik indisi} = [(\rho_v - \rho_k) / \rho_v] \times 100$$

ρ_v = Sıkıştırılmış dansite (g/mL)

ρ_k = Küme dansitesi (g/mL)

Şekil 3.9. Basılabilirlik indisinin hesaplanmasında kullanılan eşitlik¹³⁷

$$\text{Hausner oranı} = \rho_v / \rho_k$$

ρ_v = Sıkıştırılmış dansite (g/mL)

ρ_k = Küme dansitesi (g/mL)

Şekil 3.10. Hausner oranının hesaplanmasında kullanılan eşitlik¹³⁷

Tablo 3.4. EP 8.0'a ait tozların akış özelliklerini değerlendirmede kullanılan değerler¹³⁷

Akış Özelliği	Yığın Açısı (°)	Basılabilirlik İndisi (%)	Hausner Oranı
Mükemmel	25-30	1-10	1.00-1.11
İyi	31-35	11-15	1.12-1.18
Makul, Uygun	36-40	16-20	1.19-1.25
Orta	41-45	21-25	1.26-1.34
Zayıf	46-55	26-31	1.35-1.45
Çok zayıf	56-65	32-37	1.46-1.59
Çok çok zayıf	>66	>38	>1.60

3.2.8. Hazırlanan ADT'ler Üzerinde Yapılan *İn Vitro* Kontroller

Liyofilizasyon ve direkt basım yöntemi ile hazırlanan ADT'ler üzerinde kütle tekdüzeliği, içerik tekdüzeliği, çap, kalınlık, kırılmaya karşı direnç, friyabilite, dağılma,

çözünme hızı, ıslanma, su absorplama kapasitesi ve dispersiyon süresi tayinleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, ADT'lerin FT-IR spektrumları ve DSC termogramları alınmıştır.

3.2.8.1. ADT'lerin Kütle Tekdüzeliliği Tayini

Kütle tekdüzeliliği testi, EP 8.0'a göre yapılmıştır.¹³⁸ Buna göre, rastgele seçilmiş 20 tablet tartılıp ortalama kütle ve her tablet için % sapma değeri bulunmuştur. Sadece iki ADT Tablo 3.5'te verilen % sapma sınırını geçebilir ve hiçbir ADT % sapma sınırının iki katını geçemez.

Tablo 3.5. Kaplı olmayan tabletler için ortalama tablet kütlesi ile ilişkili % sapma değerleri¹³⁸

Ortalama Kütle	% Sapma
80 mg veya daha az	10
80 mg'dan fazla ve 250 mg'dan az	7.5
250 mg veya daha fazla	5

3.2.8.2. ADT'lerin İçerik Tekdüzeliliği Tayini

İçerik tekdüzeliliği testi, EP 8.0'a göre yapılmıştır.¹³⁹ İçerik tekdüzeliliği tayini amacıyla rastgele seçilen ADT'ler (n=10) tartılarak alınmış ve toz edilmiştir. Sonra, 30 mg tartılan toz üzerine 100 mL metanol:ultra saf su (50:50, h/h) ilave edilmiş ve 30 dk. karıştırılmıştır (700 rpm). Daha sonra, alınan örnekler 12500 rpm'de 15 dk. santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatantlardaki KBZ ve LEV etkin maddelerinin miktar tayinleri HPLC yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Her bir ADT'nin etkin madde içeriği ortalama etkin madde içeriği ile kıyaslanarak, sonuçların %85-115 aralığında olup olmadığı değerlendirilmiştir.

3.2.8.3. ADT'lerin Çap ve Kalınlığı Tayini

Tablet çapı ve kalınlığı 20 ADT üzerinden kumpas yardımıyla ölçülerek saptanmıştır. Sonuçlar mm cinsinden ortalama $\pm$ SS olarak ifade edilmiştir.

3.2.8.4. ADT'lerin Kırılmaya Karşı Direncinin Tayini

Bu test EP 8.0'a göre yapılmıştır.¹⁴⁰ Söz konusu testle, belirli koşullar altında ADT'lerin kırılabilirliği tespit edilmiş olur. Buna göre, 10 ADT üzerinde çalışılmış ve sonuçlar Newton (N) cinsinden ortalama±SS şeklinde ifade edilmiştir.

3.2.8.5. ADT'ler İçin Ufalanabilirlik (Friyabilite) Tayini

Bu test, EP 8.0'a göre yapılmıştır.¹⁴¹ Ağırlığı 650 mg'ı geçen tabletler için 10, ağırlığı 650 mg ve daha düşük tabletler için 20 tablet üzerinden çalışılmaktadır. Bu amaçla iç çapı 283-291 mm ve derinliği 36-40 mm olan friyabilitör cihazı kullanılmıştır. Friyabilite testi için 20 ADT tozlarından arındırılarak tartılmıştır. Cihaz içerisine yerleştirilen ADT'ler dakikada 25±1 devir olacak şekilde toplamda 100 devir/4 dk. süresince teste maruz bırakılmıştır. Her bir devirde cihaz içerisindeki ADT'ler belli yükseklikten düşerek birbirleriyle ve cihazın iç çeperiyle çarpışmaktadır. Cihazdan çıkarılan ADT'ler tozlarından arındırılarak tekrar tartılmış ve % friyabilite değeri hesaplanmıştır (Şekil 3.11). Kabul edilebilir bir formülasyon için hesaplanan değer (kütle kaybı) %1'den büyük olmamalıdır.

$$\% \text{ friyabilite} = [(a-b)/a] \times 100$$

a = İlk ağırlık

b = Son ağırlık

Şekil 3.11. % friyabilite değerini veren eşitlik¹⁴²

3.2.8.6. ADT'lerin Dağılma Testi

Dağılma testi, EP 8.0'a göre yapılmıştır.¹⁴³ Bu test, tabletlerin uygun ortam sıvısı içerisinde belirlenen sürede dağılıp dağılmadığını tayin etmek üzere kullanılmaktadır. Dağılma testi, 6 ADT'nin 6 tüpü bulunan sepet aparatı içerisine yerleştirilmesi ve aparatın 37±0.5 °C'de 900 mL distile su içeren behere dikey olarak girip çıkmasıyla yapılmıştır.

Farmakopeye göre, belirlenen sürede 1 veya 2 tablet dağılmamışsa test 12 tablet üzerinden tekrar edilmelidir. Sonuçta 18 tabletin en az 16 tanesi dağılma testinden geçmelidir.

3.2.8.7. ADT'lerin Çözünme Testi

Hazırlanan ADT'lerin çözünme testi %5 Tween 80 içeren PB pH 6.8 ortamı (37 ± 2 °C) içerisinde gerçekleştirilmiş ve 900 mL ortam hacmiyle Sink koşul sağlanmıştır ($n=6$)¹⁴⁴. Çözünme testi, 50 rpm'de, Cihaz 2 (palet) kullanılarak, belirlenen zaman aralıklarında (2.5, 5, 7.5, 10, 15, 30, 45 ve 60. dk.) ortamdan 5'er mL örnek alınması ve alınan örnek hacmi kadar taze ortam ilave edilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Alınan örnekler, 12500 rpm'de 15 dk. santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatantlardaki KBZ ve LEV miktarları HPLC yöntemiyle tespit edilmiş ve % çözünen etkin madde miktarları hesaplanmıştır.

3.2.8.8. ADT'lerin Islanma Süresi ve Su Absorplama Kapasitesi Tayini

Islanma süresi ve su absorplama kapasitesi tayini farmakopeye kayıtlı olmayan, ancak, ADT'ler için uygulanan tayinlerdir. Islanma süresi ve su absorplama kapasitesi tayini distile su^{145,146} ve yapay tükürük sıvısı (pH 6.8)^{147,148} olmak üzere iki farklı ortamda tayin edilmiştir. 6.5 cm iç çapa sahip petri kutusu içerisine yerleştirilen süzgeç kağıdı metilen mavisi içeren 6 mL ortam ile ıslatılmıştır. Daha sonra, ADT'ler petri kutusunun tam ortasına gelecek şekilde yerleştirilmiş ($n=6$) ve ADT'nin üst yüzeyinin tamamen ıslanması için geçen süre ıslanma süresi olarak tespit edilmiştir. Islanma süresinin kısa olması ADT'lerin hızlı dağılılabirliği açısından önemlidir.¹⁰² Su absorplama kapasitesi, ADT'lerin test öncesindeki ve sonrasındaki ağırlıkları tespit edilerek aşağıdaki eşitliğin (Şekil 3.12) kullanımıyla hesaplanmıştır.¹⁴⁵

$$\% \text{ su absorplama kapasitesi} = [(a-b)/b] \times 100$$

a = Yaş tablet ağırlığı

b = Kuru tablet ağırlığı

Şekil 3.12. % su absorplama kapasitesini veren eşitlik¹⁴⁵

3.2.8.9. ADT’lerin Dispersiyon Süresinin Tayini

Dispersiyon süresi tayini farmakopeye kayıtlı olmayan, ancak, ADT’ler için uygulanan bir testtir. Dispersiyon süresi tayini, 6 şeffaf cam şişe içerisinde 6’şar mL distile su^{149,150} ve yapay tükürük sıvısı (pH 6.8)^{147,151} olmak üzere iki farklı dispersiyon ortamında (37±2 °C) gerçekleştirilmiş ve ADT’lerin disperse oldukları süreler tespit edilmiştir.

3.2.8.10. ADT Formülasyonlarına Ait FT-IR Analizleri

KBZ, LEV, her iki hazırlama yönteminde kullanılan yardımcı maddeler, L-ADT ve DB-ADT formülasyonlarının 4000-400 cm⁻¹ aralığında, KBr diskleri yardımıyla ve vakum altında FT-IR spektrumları alınmıştır.

3.2.8.11. ADT Formülasyonlarına Ait DSC Analizleri

KBZ, LEV, her iki hazırlama yönteminde kullanılan yardımcı maddeler, L-ADT ve DB-ADT formülasyonlarının DSC analizleri azot atmosferinde, 20-250 °C sıcaklık aralığında (10 °C/dk. ısıtma hızı), 50 mL/dk. gaz akış hızında, bir dizi standart yardımıyla (In, Sn, Pb, Al, Pd, Ni, Au, Zn) ve alumina referans maddesi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.9. *In Vivo* Çalışmalar

In vitro karakterizasyon çalışma sonuçlarına göre *in vivo* olarak değerlendirilmek üzere DB-ADT ve nanopartikül formülasyonları seçilmiştir.

Çalışmada, ağırlıkları 160 ± 20 g olan, 5 haftalık, 102 adet albino Wistar cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar Atatürk Üniversitesi Tıbbi DeneySEL Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM)’nden temin edilmiş ve tüm çalışma Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı’nda (Prof. Dr. Ahmet Hacımüftüoğlu ve ekibi ile birlikte) yürütülmüştür. *In vivo* çalışmanın yürütülmesi için gerekli etik kurul onayı Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’ndan (Tarih: 16.11.2016 tarih ve Karar No:93722986-000-E.1600272786) alınmıştır. Deney öncesi ve deney sonlanıncaya kadar sıçanlar 12/12 sa. karanlık/aydınlık periyodunda ve oda sıcaklığında (24 ± 2 °C) barındırılmıştır. Çalışmada, deney hayvanlarının kullanımına ilişkin Avrupa Birliği Konseyi’nin direktiflerine (86/609/EEC ve 2003/65/EC) uyulmuştur.¹⁵²

3.2.9.1. PTZ ile Tutuşma Modelinin Oluşturulması

Tutuşmanın oluşturulması amacıyla haftada 3 kez (Pazartesi, Çarşamba ve Cuma), 13:00-17:00 saatleri arasında, 35 mg/kg dozunda ve %0.9 sodyum klorür (NaCl) içeren izotonik çözelti içinde (1 mL/kg) PTZ, intraperitoneal (i.p.) yolla sıçanlar tutuşana kadar uygulanmıştır.¹⁵³ Enjeksiyonu takiben gözlem kafeslerinde sıçanlar 30 dk. boyunca gözlemlenmiştir. Sıçanlarda izlenen nöbet davranışları Fisher ve Kittner’in yaptığı skorlamaya göre değerlendirilmiştir (Tablo 3.6).^{153, 154}

Sonuçta, Evre 3 ve daha şiddetli 5 sefer nöbet geçiren sıçanlar tutuşmuş olarak kabul edilmiş ve deneye alınmıştır. Tutuşmayan sıçanlar dirençli kabul edilmiş ve deney gruplarından çıkarılmıştır.

Tablo 3.6. PTZ ile nöbet oluşturma evreleri^{153,154}

Evre 0	Nöbet aktivitesi yok
Evre 0.5	Zayıf baş sallama
Evre 1	Kulak, yüz ve göz kapağı seğirmeleri
Evre 1.5	Ön ekstremitelerde hafif klonik aktivite
Evre 2	Miyoklonik vücut jerkleri, yükselme olmaksızın klonik ön ekstremitte konvülsiyonları
Evre 2.5	Sık klonik ön ekstremitte konvülsiyonları, kısa süreli (tam olmayan) yükselme
Evre 3	Tam yükselme ile birlikte ciddi bilateral ön ekstremitte klonusu (≥ 10 sn) (Kanguru pozisyonu)
Evre 3.5	Ciddi bilateral ön ekstremitte klonusuna ek olarak yükselme ve düşme
Evre 4	Yükselme-düşme epizotları veya sıçramalarla birlikte jeneralize klonik konvülsiyonlar
Evre 4.5	Düzelme refleksinin kaybı ile birlikte jeneralize klonik-tonik nöbetler (ön ekstremitenin tonik ekstensiyonu)
Evre 5	Jeneralize klonik-tonik nöbetler ve status epileptikus (≥ 2 dk.)

3.2.9.2. PTZ ile Sıçanlarda Oluşturulan Epilepsi Modelinde KBZ+LEV-PLGA-NPs ve DB-ADT'lerin Etkilerinin İncelenmesi

KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonu, 13:00-17:00 saatleri arasında, toplamda beş uygulama (bir gün arayla) olacak şekilde epilepsi modeli oluşturulmuş sıçanlara i.p. uygulandıktan 30 dk. sonra PTZ (35mg/kg) uygulanmış, gözlem kafeslerinde 30 dk. boyunca gözlemlenmiş ve nöbet davranışları skorlanmıştır.^{155, 156} İ.p. olarak verilen çözeltiler ve süspansiyonlar %1 Tween 80 içeren %0.9 NaCl izotonik çözeltisi içinde, 5 mL/kg hacminde ve 30 mg/kg KBZ dozuna eşdeğer olacak şekilde epilepsi modeli oluşturulmuş sıçanlara uygulanmıştır.¹⁵⁶⁻¹⁵⁹

DB-ADT formülasyonu, 13:00-17:00 saatleri arasında, toplamda beş uygulama (bir gün arayla) olacak şekilde epilepsi modeli oluşturulmuş sıçanlara gavaj ile uygulandıktan 60 dk. sonra PTZ (35 mg/kg) uygulanmış ve gözlem kafeslerinde 30 dk. boyunca gözlemlenmiş ve nöbet davranışları skorlanmıştır.¹⁶⁰⁻¹⁶² 5 mL/kg hacminde, %1 Tween 80 içeren %0.9 NaCl izotonik çözeltisi içinde 200 mg/kg KBZ ve 50 mg/kg LEV dozuna eşdeğer olacak şekilde verilen çözeltiler ve süspansiyonlar gavaj ile epilepsi modeli oluşturulmuş sıçanlara uygulanmıştır.¹⁶³⁻¹⁶⁶

Çalışmadaki deney grupları ve gruplara yapılan uygulamalar Tablo 3.7’de verilmiştir.

Tablo 3.7. Deney grupları ve gruplara yapılan uygulamalar

Grup	Uygulama
Kontrol 1 (K1)	Uygulama yapılan günlerde i.p. olarak PTZ (35 mg/kg) verildikten sonra 30 dk. süresince gözlem kafeslerinde gözlemlenmiştir (n=4).
Kontrol 2 (K2)	Uygulama yapılan günlerde %1 Tween 80 içeren %0.9 NaCl izotonik çözeltisi, 5 mL/kg hacminde i.p. olarak verildikten 30 dk. sonra PTZ (35 mg/kg) i.p. olarak uygulanmış ve 30 dk. süresince gözlem kafeslerinde gözlemlenmiştir (n=4).
LEV (i.p.)	Uygulama yapılan günlerde LEV 1.2 mg/kg dozda (nanopartikül içerisindeki LEV dozuna eşdeğer dozda), 5 mL/kg hacminde, %1 Tween 80 içeren %0.9 NaCl izotonik çözeltisi içinde i.p. olarak verildikten 30 dk. sonra PTZ (35 mg/kg) i.p. olarak uygulanmış ve 30 dk. süresince gözlem kafeslerinde gözlemlenmiştir (n=4).
KBZ (i.p.)	Uygulama yapılan günlerde KBZ 30 mg/kg dozda (nanopartikül içerisindeki KBZ dozuna eşdeğer dozda), 5 mL/kg hacminde, %1 Tween 80 içeren %0.9 NaCl izotonik çözeltisi içinde i.p. olarak verildikten 30 dk. sonra PTZ (35 mg/kg) i.p. olarak uygulanmış ve 30 dk. süresince gözlem kafeslerinde gözlemlenmiştir (n=4).
KBZ+LEV (i.p.)	Uygulama yapılan günlerde nanopartikül içerisindeki doza eşdeğer dozda KBZ (30 mg/kg) ve LEV (1.2 mg/kg), 5 mL/kg hacminde, %1 Tween 80 içeren %0.9 NaCl izotonik çözeltisi içinde i.p. olarak verildikten 30 dk. sonra PTZ (35 mg/kg) i.p. olarak uygulanmış ve 30 dk. süresince gözlem kafeslerinde gözlemlenmiştir (n=4).

Tablo 3.7. (Devamı)

Grup	Uygulama
B-PLGA-NPs (i.p.)	Uygulama yapılan günlerde etkin madde içermeyen nanopartikül (B-PLGA-NPs) formülasyonu, 5 mL/kg hacminde, %1 Tween 80 içeren %0.9 NaCl izotonik çözeltisi içinde i.p. olarak verildikten 30 dk. sonra PTZ (35 mg/kg) i.p. olarak uygulanmış ve 30 dk. süresince gözlem kafeslerinde gözlemlenmiştir (n=4).
KBZ+LEV- PLGA-NPs (i.p.)	Uygulama yapılan günlerde 30 mg/kg dozuna eşdeğer miktarda KBZ içeren KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonu, 5 mL/kg hacminde, %1 Tween 80 içeren %0.9 NaCl izotonik çözeltisi içinde i.p. olarak verildikten 30 dk. sonra PTZ (35 mg/kg) i.p. olarak uygulanmış ve 30 dk. süresince gözlem kafeslerinde gözlemlenmiştir (n=5).
LEV (oral)	Uygulama yapılan günlerde LEV 50 mg/kg (DB-ADT içerisindeki LEV dozuna eşdeğer dozda), 5 mL/kg hacminde, %1 Tween 80 içeren %0.9 NaCl izotonik çözeltisi içinde gavaj ile intragastrik olarak verildikten 60 dk. sonra PTZ (35 mg/kg) i.p. olarak uygulanmış ve 30 dk. süresince gözlem kafeslerinde gözlemlenmiştir (n=4).
KBZ (oral)	Uygulama yapılan günlerde KBZ 200 mg/kg (DB-ADT içerisindeki KBZ dozuna eşdeğer dozda), 5 mL/kg hacminde, %1 Tween 80 içeren %0.9 NaCl izotonik çözeltisi içinde gavaj ile intragastrik olarak verildikten 60 dk. sonra PTZ (35 mg/kg) i.p. olarak uygulanmış ve 30 dk. süresince gözlem kafeslerinde gözlemlenmiştir (n=4).
KBZ+LEV (oral)	Uygulama yapılan günlerde DB-ADT içerisindeki doza eşdeğer dozda KBZ (200 mg/kg) ve LEV (50 mg/kg), 5 mL/kg hacminde, %1 Tween 80 içeren %0.9 NaCl izotonik çözeltisi içinde gavaj ile intragastrik olarak verildikten 60 dk. sonra PTZ (35 mg/kg) i.p. olarak uygulanmış ve 30 dk. süresince gözlem kafeslerinde gözlemlenmiştir (n=4).
DB-YM (oral)	Uygulama yapılan günlerde DB-ADT içerisindeki yardımcı maddeler, 5 mL/kg hacminde, %1 Tween 80 içeren %0.9 NaCl izotonik çözeltisi içinde gavaj ile intragastrik olarak verildikten 60 dk. sonra PTZ (35 mg/kg) i.p. olarak uygulanmış ve 30 dk. süresince gözlem kafeslerinde gözlemlenmiştir (n=4).
DB-ADT (oral)	Uygulama yapılan günlerde KBZ (200 mg/kg) ve LEV (50 mg/kg) etkin maddelerine eşdeğer dozda DB-ADT formülasyonu, 5 mL/kg hacminde, %1 Tween 80 içeren %0.9 NaCl izotonik çözeltisi içinde gavaj ile intragastrik olarak verildikten 60 dk. sonra PTZ (35 mg/kg) i.p. olarak uygulanmış ve 30 dk. süresince gözlem kafeslerinde gözlemlenmiştir (n=4).

3.2.10. İstatistiksel Yöntem

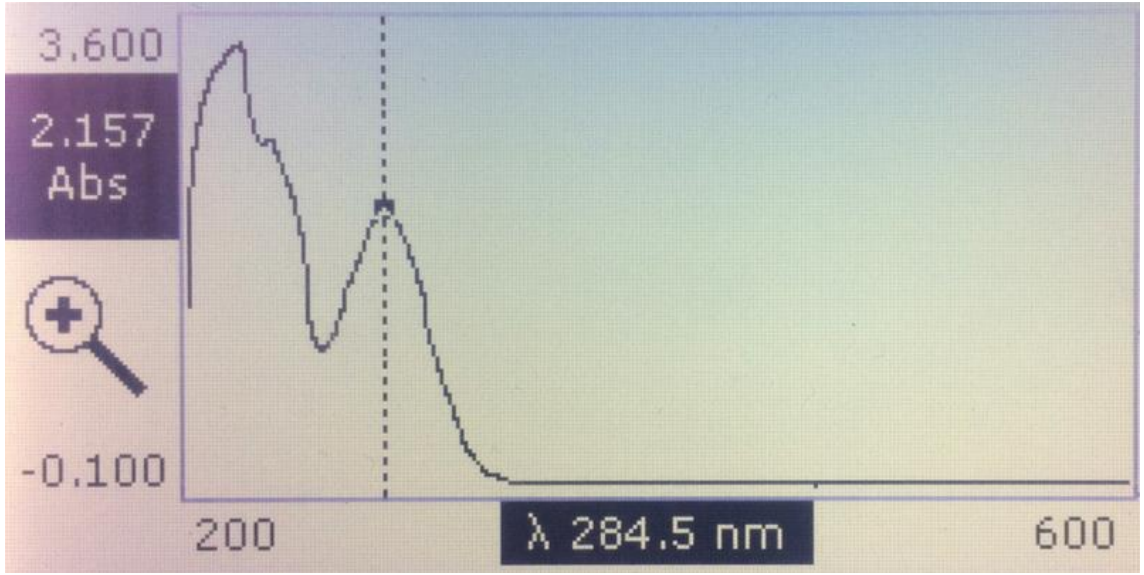
Elde edilen deneysel sonuçlar ortalama $\pm$ SS olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel analizler “The Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) Statistics Version 20.0 (SPSS Inc., Chicago, ABD)” programı kullanılarak yapılmıştır. Bağımsız ikili grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, bağımlı ikili grupların eşleştirildiği durumlarda ise Wilcoxon testi kullanılmıştır ($p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir).



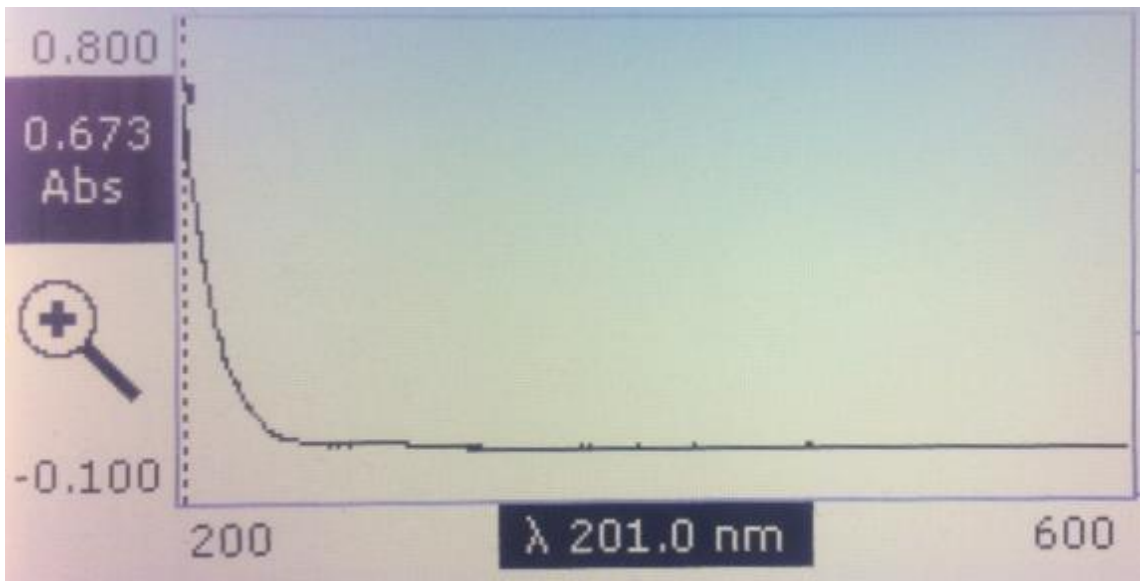
4. BULGULAR

4.1. KBZ ve LEV'in UV Spektrumu

KBZ ve LEV'in UV spektrumlarını almak amacıyla Bölüm 3.2.1'de anlatıldığı şekilde çalışılmış ve etkin maddelerin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyları (λ_{max}) KBZ için ~225 nm ve ~285 nm, LEV için 201 nm olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2).



Şekil 4.1. KBZ'ye ait UV spektrumu

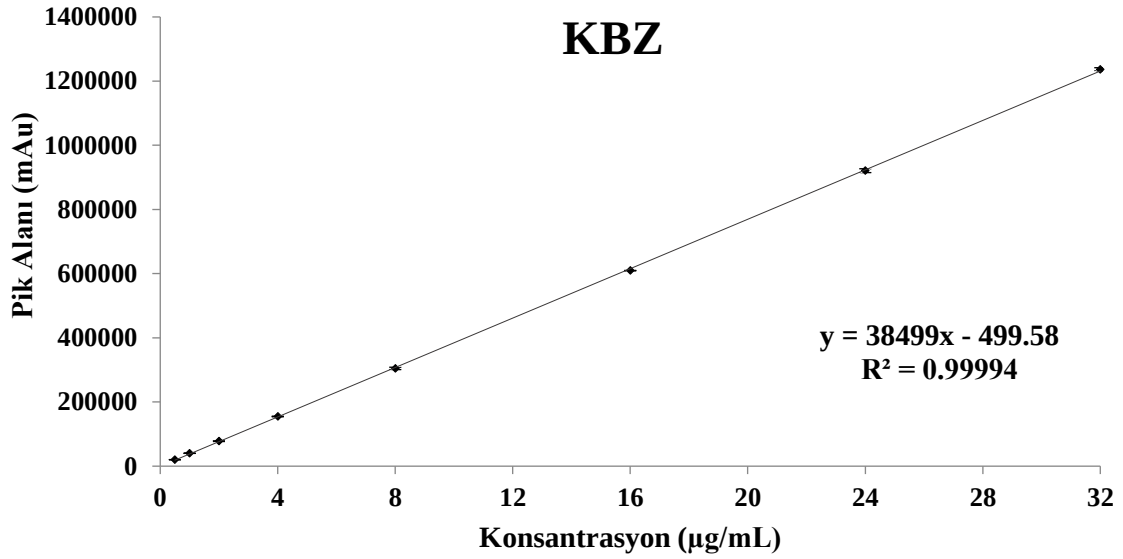


Şekil 4.2. LEV'e ait UV spektrumu

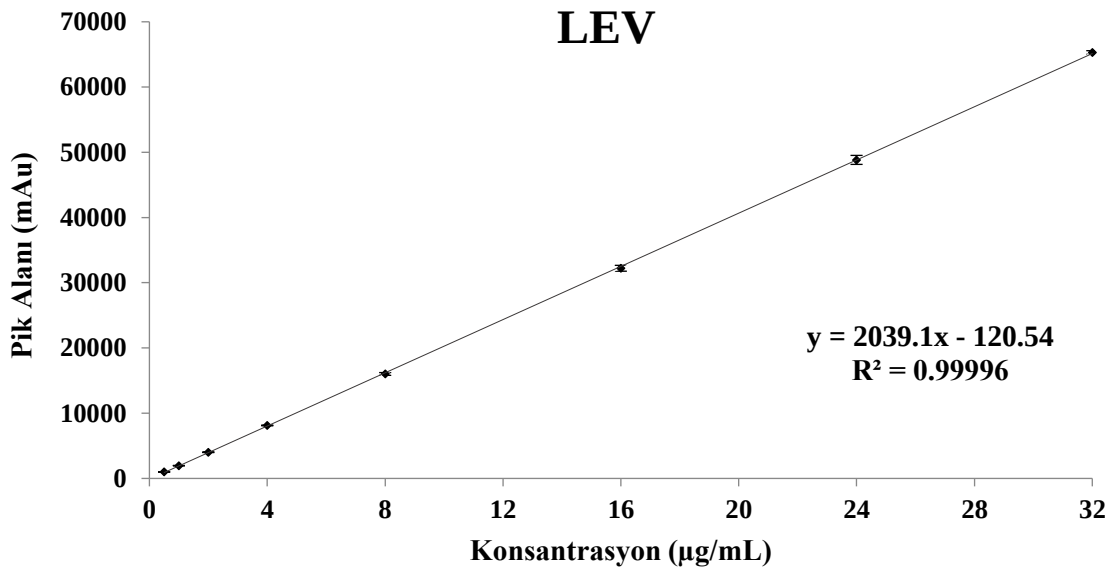
4.2. KBZ ve LEV'in HPLC Yöntemiyle Miktar Tayini

4.2.1. KBZ ve LEV'e ait Kalibrasyon Doğrusunun Elde Edilmesi

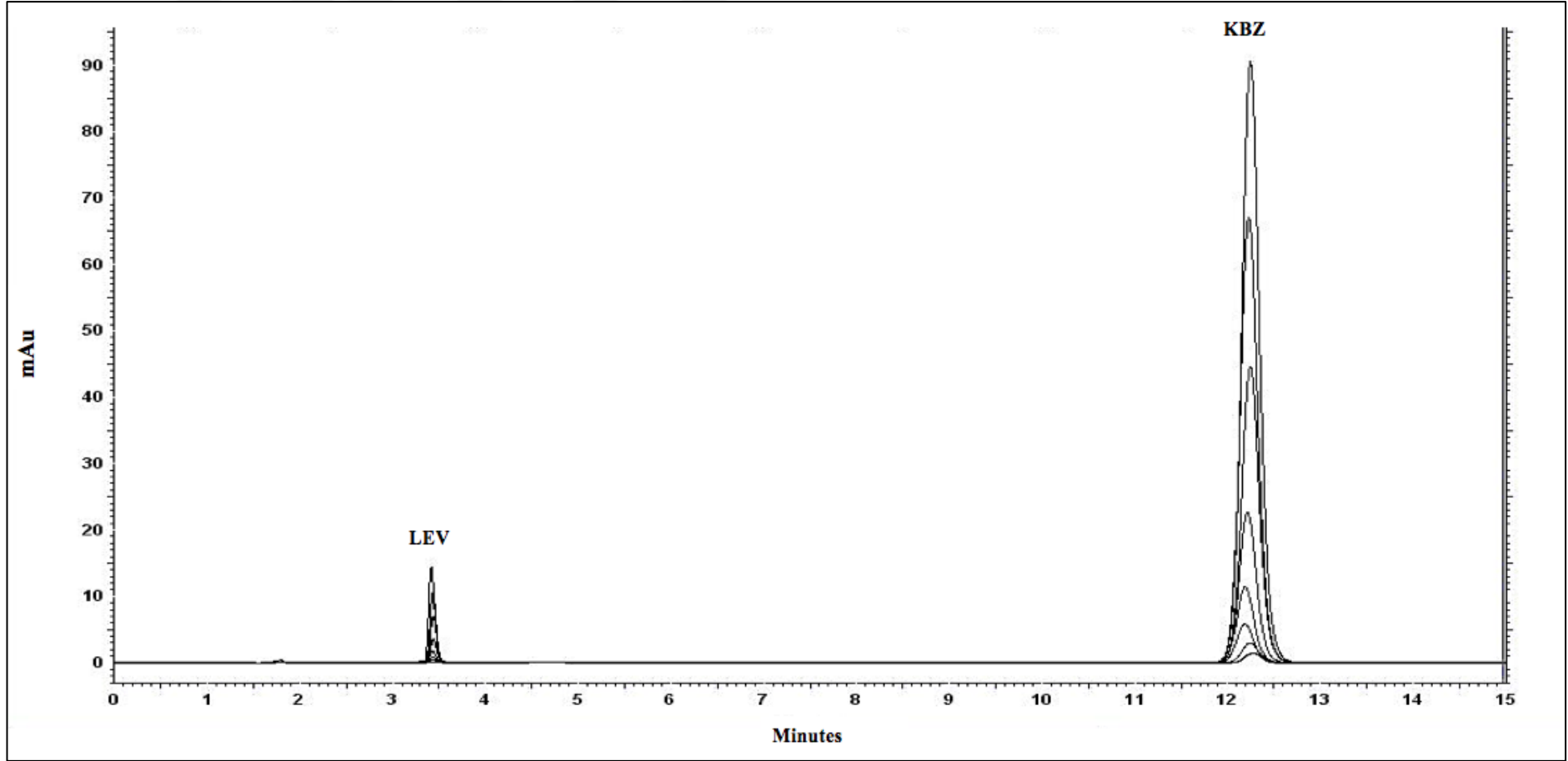
KBZ ve LEV etkin maddelerine ait kalibrasyon doğruları 8 farklı konsantrasyonda 6 seri üzerinden çalışılarak elde edilmiştir. Kalibrasyon doğruları ve denklemleri Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3. KBZ'nin HPLC yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu ve denklemi



Şekil 4.4. LEV'in HPLC yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu ve denklemi



Şekil 4.5. KBZ ve LEV'e ait (0.5-32 µg/mL) kromatogramlar

4.2.2. Analitik Yöntemin Geçerlilik Bulguları

4.2.2.1. Doğrusallık ve Çalışma Aralığı

KBZ ve LEV'in 50 µg/mL konsantrasyonunda stok çözeltisinden hareketle uygun seyreltmeler hareketli faz ile yapılarak, 0.5-32 µg/mL konsantrasyon aralığında (sekiz farklı konsantrasyon) ve her bir konsantrasyon için 6'şar adet olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmıştır. Standart çözeltilerin HPLC'de analizi sonucunda elde edilen pik alanları ve konsantrasyonlar grafiğe geçirilmiş ve kalibrasyon doğruları ve doğru denklemlerine ulaşılmıştır (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4). Tanımlayıcılık katsayısı KBZ ve LEV için sırasıyla 0.99994 ve 0.99996 olarak bulunmuştur. Ayrıca, alıkonma zamanları KBZ ve LEV için sırasıyla 12.4 dk. ve 3.4 dk. olarak saptanmıştır (Şekil 4.5). Standart çözeltilerin kalibrasyon doğrularına ait eğimler karşılaştırıldığında ise, VK değerleri <%1 olarak tespit edilmiş ve analitik yöntemin 0.5-32 µg/mL çalışma aralığında doğrusal olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

4.2.2.2. Doğruluk

Analitik yöntemin geçerliliği için doğruluk parametresi gün içi ve günler arası olmak üzere incelenmiştir. Bu amaçla, 1, 8 ve 24 µg/mL konsantrasyonlarda ve her bir konsantrasyon için 6'şar adet olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmıştır. Elde edilen sonuçların gerçek değerlerine yakınlık derecesi % BH hesaplanarak değerlendirilmiştir. Gün içi ve günler arası olmak üzere her iki etkin maddenin her konsantrasyonu için hesaplanan % BH değerlerinin %2'den küçük olduğu saptanmıştır (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2).

4.2.2.3. Kesinlik

Analitik yöntemin geçerliliği için kesinlik parametresi incelenmiştir. Gün içi ve günler arası kesinlik parametrelerini değerlendirmek amacıyla, 1, 8 ve 24 µg/mL konsantrasyonlarda ve her bir konsantrasyon için 6'şar adet olacak şekilde standart

çözeltiler hazırlanmıştır. Enjeksiyon tekrar edilebilirliği parametresini değerlendirmek amacıyla ise üç konsantrasyonda (1, 8 ve 24 µg/mL) standart çözeltiler hazırlanmış ve aynı standart çözeltiler arka arkaya analiz edilmiştir. Analizler sonucunda her iki etkin maddenin her bir konsantrasyonu için hesaplanan VK değerlerinin %2'nin altında olduğu ve analitik yöntemin kesinlik parametresini sağladığı tespit edilmiştir (Tablo 4.1, Tablo 4.2 ve Tablo 4.3).

Tablo 4.1. KBZ'ye ait elde edilen gün içi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri

	Konsantrasyon (µg/mL)	Tayin Edilen Ortalama Konsantrasyon (µg/mL; $\bar{X} \pm SS$; n=6)	% BH	VK (%)
Gün içi	1	1.018 ± 0.014	1.774	1.341
	8	8.061 ± 0.021	0.757	0.261
	24	24.004 ± 0.071	0.015	0.297
Günler arası	1	1.011 ± 0.005	1.061	0.466
	8	8.035 ± 0.083	0.436	1.032
	24	24.038 ± 0.140	0.156	0.580

X=Ortalama; SS=Standart sapma; BH=Bağıl hata; VK=Varyasyon katsayısı

Tablo 4.2. LEV'e ait elde edilen gün içi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri

	Konsantrasyon (µg/mL)	Tayin Edilen Ortalama Konsantrasyon (µg/mL; $\bar{X} \pm SS$; n=6)	% BH	VK (%)
Gün içi	1	1.015 ± 0.015	1.518	1.491
	8	8.097 ± 0.138	1.192	1.704
	24	24.100 ± 0.198	0.415	0.822
Günler arası	1	1.018 ± 0.001	1.785	0.135
	8	7.991 ± 0.073	-0.109	0.910
	24	24.086 ± 0.209	0.359	0.868

X=Ortalama; SS=Standart sapma; BH=Bağıl hata; VK=Varyasyon katsayısı

Tablo 4.3. KBZ ve LEV'e ait elde edilen enjeksiyon tekrar edilebilirliği değerleri

	Konsantrasyon (µg/mL)	Tayin Edilen Ortalama Konsantrasyon (µg/mL; $\bar{X} \pm SS$; n=6)	VK (%)
KBZ	1	1.006 ± 0.004	0.420
	8	7.991 ± 0.013	0.158
	24	24.018 ± 0.018	0.076
LEV	1	1.009 ± 0.009	0.887
	8	8.007 ± 0.062	0.779
	24	24.107 ± 0.089	0.368

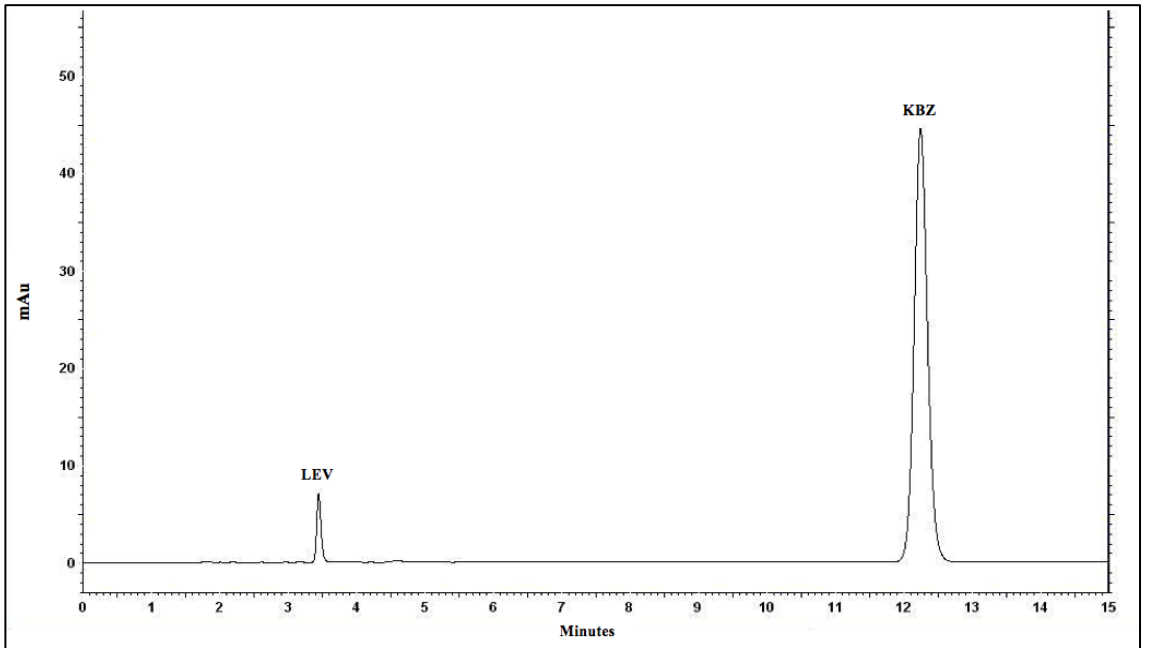
X=Ortalama; SS=Standart sapma; VK=Varyasyon katsayısı

4.2.2.4. LOD ve LOQ Değerleri

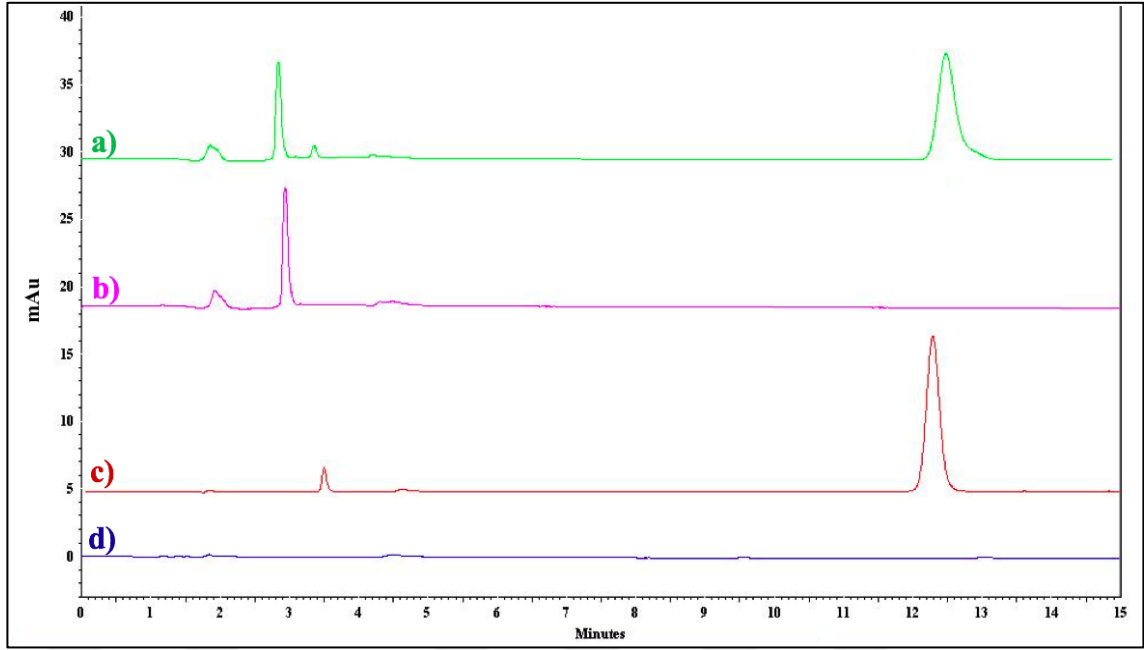
Analitik yöntemin geçerliliği için LOD ve LOQ değerleri KBZ için sırasıyla 0.026 µg/mL ve 0.078 µg/mL; LEV için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0.036 µg/mL ve 0.110 µg/mL olarak tespit edilmiştir.

4.2.2.5. Özgüllük

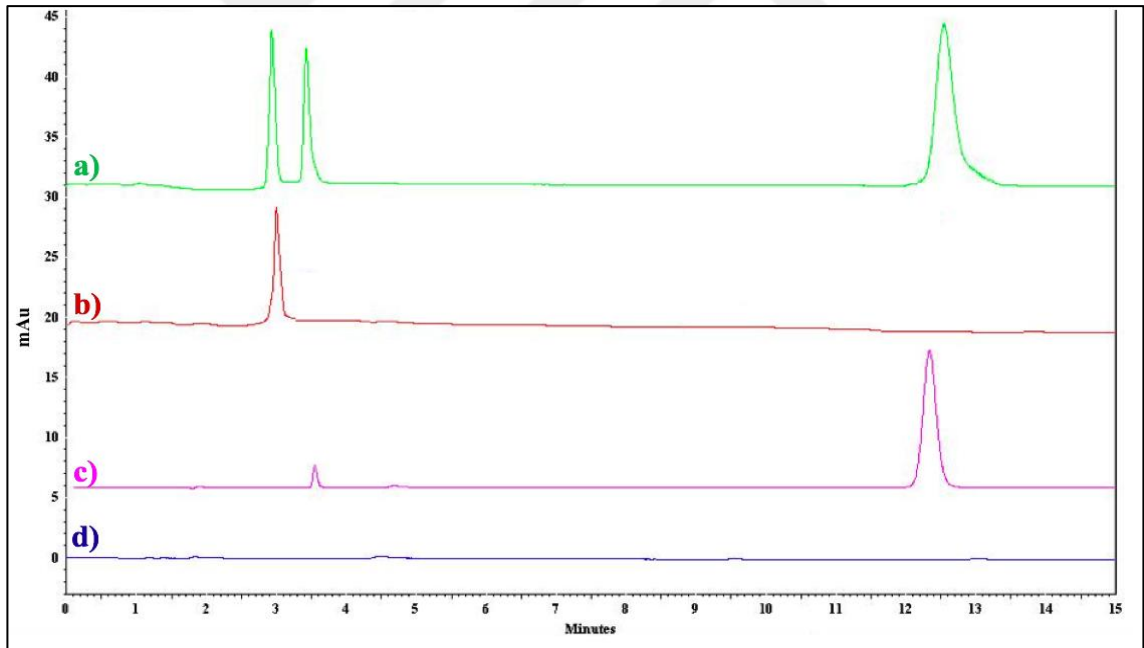
Özgüllüğün değerlendirilmesi amacıyla etkin madde haricindeki formülasyon bileşenleri ile nanopartikül ve ADT formülasyonları hazırlanarak HPLC’de analiz edilmiş ve etkin maddeler ile yardımcı maddeler arasında herhangi bir etkileşim olup olmadığı tespit edilmiştir. Sonuçta, KBZ ve LEV etkin maddelerinin formülasyonlara giren yardımcı maddelerle aynı koşullarda pik vermediği ve analitik yöntemin KBZ ve LEV için özgül olduğu bulunmuştur (Şekil 4.6-Şekil 4.9).



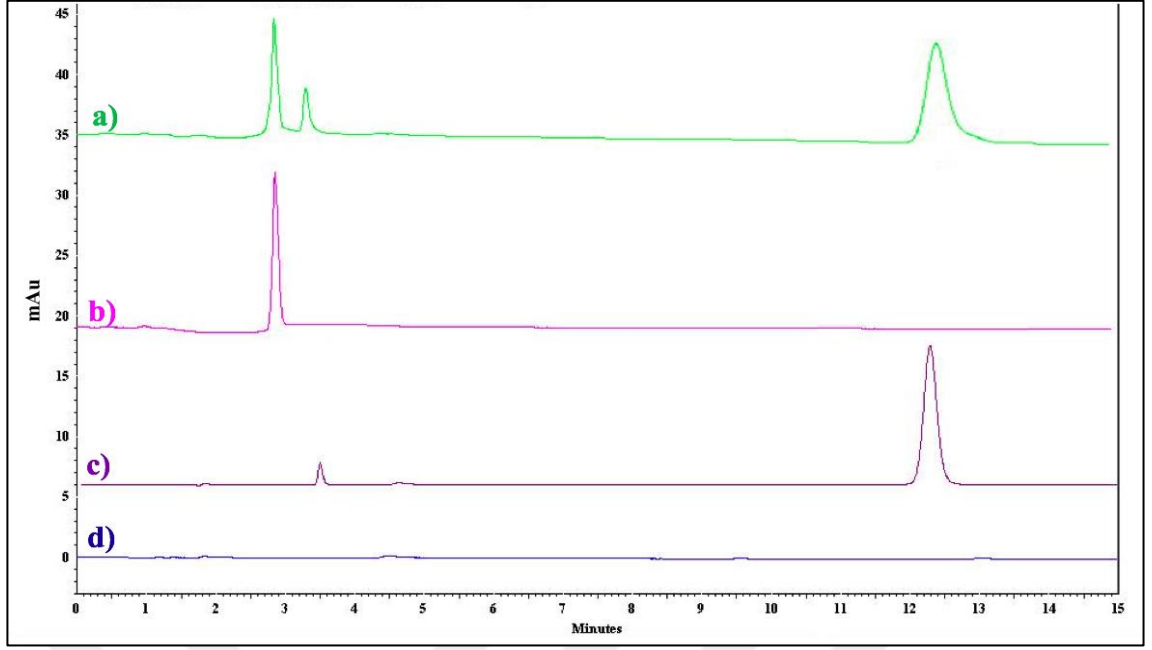
Şekil 4.6. KBZ ve LEV’in standart çözeltisine (16 µg/mL) ait HPLC kromatogramı



Şekil 4.7. Nanopartikül formülasyonuna ait özgüllük çalışması (a=KBZ+LEV-PLGA-NPs, b=B-PLGA-NPs, c=KBZ ve LEV'e ait standart çözelti (4 µg/mL), d=hareketli faz)



Şekil 4.8. L-ADT formülasyonuna ait özgüllük çalışması (a=L-ADT, b=L-YM, c=KBZ ve LEV'e ait standart çözelti (4 µg/mL), d=hareketli faz)



Şekil 4.9. DB-ADT formülasyonuna ait özgüllük çalışması (a=DB-ADT, b=DB-YM, c=KBZ ve LEV'e ait standart çözelti (4 µg/mL), d= hareketli faz)

4.2.2.6. Stabilité

KBZ ve LEV'in farklı konsantrasyonlarda (1, 8 ve 24 µg/mL) standart çözeltileri hazırlandıktan sonra farklı sıcaklıklarda (-20, +4 ve 25 °C'lerde) ve farklı zaman aralıklarında (1.,2.,3.,7. ve 14. günlerde) analiz edilerek dayanıklılıkları VK hesaplanarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.4, Tablo 4.5 ve Tablo 4.6). Sonuçta, VK değerlerindeki en fazla %2'lik değişim KBZ ve LEV etkin maddeleri için dayanıklı olarak kabul edilmiştir.¹²⁰ Sonuçlar değerlendirildiğinde; standart çözelti içerisindeki KBZ'nin -20 °C'de en az 14 gün, +4 °C'de en az 7 gün ve 25 °C'de 2 gün stabil kaldığı; LEV'in -20 °C'de en az 14 gün, +4 °C'de en az 3 gün ve 25 °C'de 2 gün stabil kaldığı tespit edilmiştir. Bu nedenle, söz konusu etkin maddelerin standart çözeltileri her gün taze hazırlanarak HPLC miktar tayin yöntemi geliştirilmiş ve geçerliliği gösterilmiştir.

Tablo 4.4. KBZ ve LEV'in -20 °C'deki stabilite sonuçları

Zaman	Konsantrasyon	KBZ		LEV	
		Tayin Edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$; $\bar{X} \pm \text{SS}$)	VK (%)	Tayin Edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$; $\bar{X} \pm \text{SS}$)	VK (%)
0. gün	1	0.989 $\pm$ 0.012	1.213	1.000 $\pm$ 0.010	1.008
	8	8.009 $\pm$ 0.052	0.646	7.992 $\pm$ 0.048	0.606
	24	24.085 $\pm$ 0.069	0.286	23.892 $\pm$ 0.050	0.209
1. gün	1	1.003 $\pm$ 0.009	0.953	0.993 $\pm$ 0.017	0.519
	8	8.045 $\pm$ 0.024	0.322	8.011 $\pm$ 0.060	0.163
	24	24.149 $\pm$ 0.053	0.190	24.257 $\pm$ 0.027	1.072
2. gün	1	1.016 $\pm$ 0.004	1.862	1.012 $\pm$ 0.008	0.872
	8	8.031 $\pm$ 0.021	0.199	8.010 $\pm$ 0.022	0.160
	24	24.101 $\pm$ 0.440	0.049	23.298 $\pm$ 0.269	1.781
3. gün	1	0.982 $\pm$ 0.019	0.532	0.982 $\pm$ 0.026	1.294
	8	8.021 $\pm$ 0.002	0.112	7.923 $\pm$ 0.140	0.613
	24	23.864 $\pm$ 0.025	0.652	23.240 $\pm$ 0.059	1.959
7. gün	1	0.994 $\pm$ 0.028	0.377	0.977 $\pm$ 0.005	1.649
	8	8.046 $\pm$ 0.070	0.330	7.838 $\pm$ 0.161	1.375
	24	23.967 $\pm$ 0.152	0.347	23.421 $\pm$ 0.379	1.410
14. gün	1	1.004 $\pm$ 0.010	1.076	0.977 $\pm$ 0.014	1.637
	8	8.030 $\pm$ 0.028	0.189	7.896 $\pm$ 0.075	0.852
	24	23.955 $\pm$ 0.058	0.381	23.445 $\pm$ 0.138	1.338

Her bir konsantrasyon için n=3; $\bar{X}$ =Ortalama; SS=Standart sapma

Tablo 4.5. KBZ ve LEV'in +4 °C'deki stabilite sonuçları

Zaman	Konsantrasyon	KBZ		LEV	
		Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL; X±SS)	VK (%)	Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL; X±SS)	VK (%)
0. gün	1	0.989±0.012	1.213	1.000±0.010	1.008
	8	8.009±0.052	0.646	7.992±0.048	0.606
	24	24.085±0.069	0.286	23.892±0.050	0.209
1. gün	1	0.974±0.009	1.112	0.982±0.020	1.317
	8	7.982±0.052	0.240	8.062±0.053	0.615
	24	24.206±0.109	0.354	24.364±0.106	1.381
2. gün	1	0.988±0.028	0.098	0.973±0.009	1.904
	8	8.017±0.055	0.076	8.038±0.021	0.404
	24	23.886±0.246	0.587	24.187±0.106	0.866
3. gün	1	0.994±0.049	0.367	0.977±0.021	1.661
	8	7.971±0.032	0.335	7.863±0.046	1.153
	24	23.867±0.023	0.642	23.237±0.029	1.967
7. gün	1	0.992±0.004	0.238	0.948±0.046	3.800
	8	8.042±0.081	0.294	7.838±0.099	1.380
	24	24.169±0.123	0.247	23.191±0.194	2.106

Her bir konsantrasyon için n=3; X=Ortalama; SS=Standart sapma

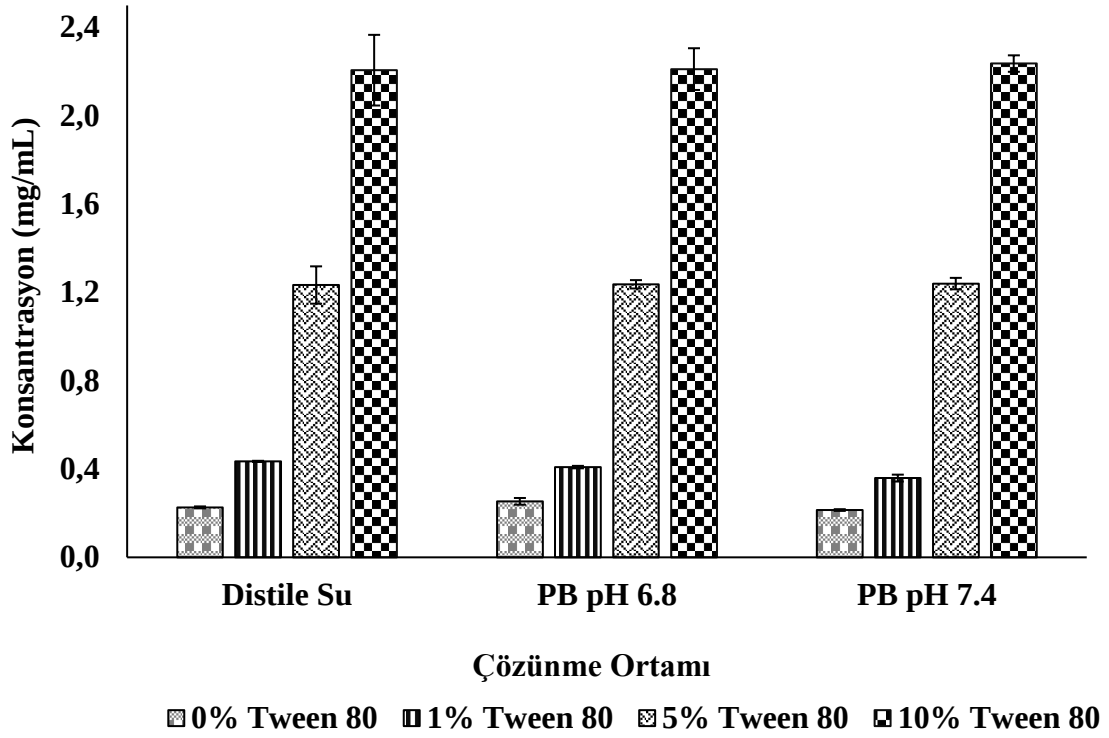
Tablo 4.6. KBZ ve LEV'in 25 °C'deki stabilite sonuçları

Zaman	Konsantrasyon	KBZ		LEV	
		Tayin Edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$; $\bar{X} \pm \text{SS}$)	VK (%)	Tayin Edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$; $\bar{X} \pm \text{SS}$)	VK (%)
0. gün	1	0.989 $\pm$ 0.012	1.213	1.000 $\pm$ 0.010	1.008
	8	8.009 $\pm$ 0.052	0.646	7.992 $\pm$ 0.048	0.606
	24	24.085 $\pm$ 0.069	0.286	23.892 $\pm$ 0.050	0.209
1. gün	1	0.998 $\pm$ 0.040	0.660	0.994 $\pm$ 0.019	0.395
	8	8.074 $\pm$ 0.107	0.573	8.070 $\pm$ 0.159	0.686
	24	24.006 $\pm$ 0.051	0.230	24.088 $\pm$ 0.048	0.575
2. gün	1	0.984 $\pm$ 0.052	0.336	0.989 $\pm$ 0.012	0.746
	8	7.987 $\pm$ 0.048	0.192	7.919 $\pm$ 0.043	0.655
	24	24.074 $\pm$ 0.027	0.030	23.964 $\pm$ 0.042	0.210
3. gün	1	0.951 $\pm$ 0.016	2.808	0.905 $\pm$ 0.054	7.037
	8	7.843 $\pm$ 0.025	1.479	7.229 $\pm$ 0.492	7.091
	24	23.569 $\pm$ 0.460	1.529	22.946 $\pm$ 0.429	2.858

Her bir konsantrasyon için n=3; $\bar{X}$ =Ortalama; SS=Standart sapma

4.2.3. KBZ'nin Çözünürlük Tayini Bulguları

KBZ'nin çözünürlük tayini için elde edilen bulgular Şekil 4.10'da verilmiştir.



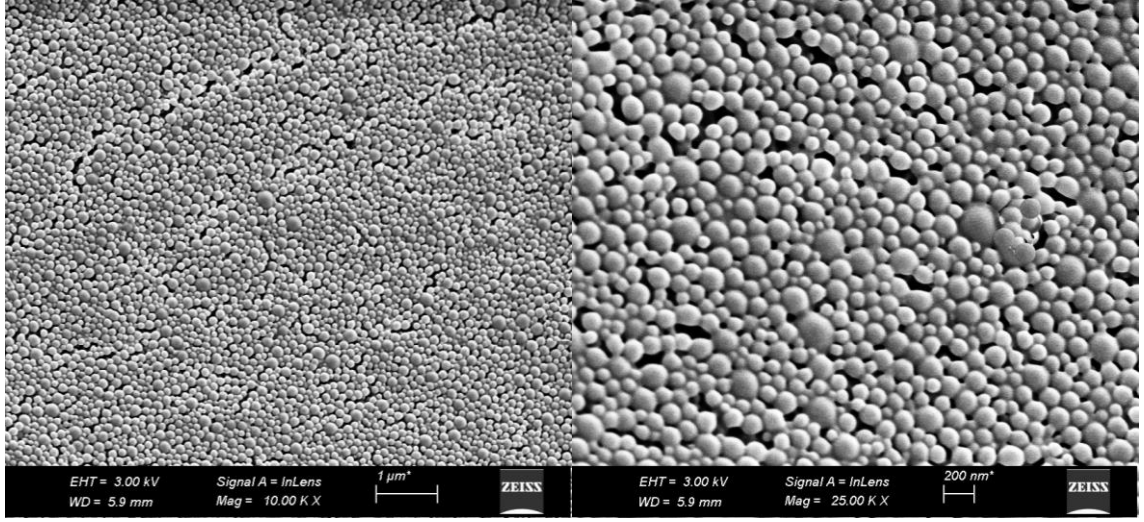
Şekil 4.10. KBZ'nin farklı çözünme ortamlarındaki çözünürlük bulguları (n=3)

4.3. Hazırlanan Nanopartiküler Sistemlerin Karakterizasyon Bulguları

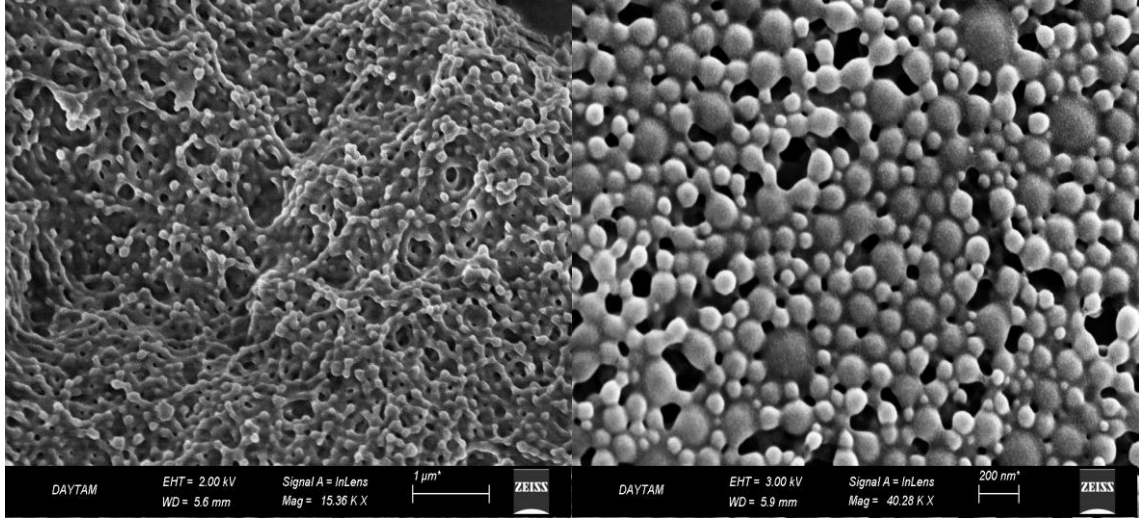
Hazırlanan KBZ+LEV-PLGA-NPs ve B-PLGA-NPs formülasyonlarının Bölüm 3.2.5'te anlatıldığı şekilde karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

4.3.1. Yüzey özellikleri

Hazırlanan KBZ+LEV-PLGA-NPs ve B-PLGA-NPs'nin yüzey özellikleri SEM kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen SEM görüntüleri Şekil 4.11 ve Şekil 4.12'de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. B-PLGA-NPs'ye ait SEM görüntüsü



Şekil 4.12. KBZ+LEV-PLGA-NPs'ye ait SEM görüntüsü

4.3.2. Partikül Büyüklüğü, Partikül Büyüklüğü Dağılımı ve Zeta Potansiyel

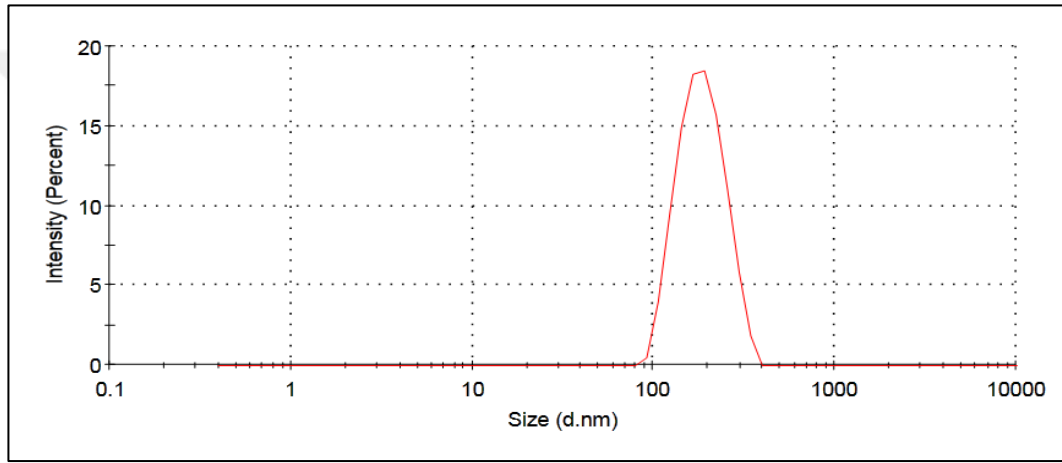
Tayini Sonuçları

Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının ortalama partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyeli tayini yapılmış ve bulunan veriler Tablo 4.7'de gösterilmiştir. Ayrıca, formülasyonların partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyeli eğrileri Şekil 4.13-Şekil 4.16'da verilmiştir.

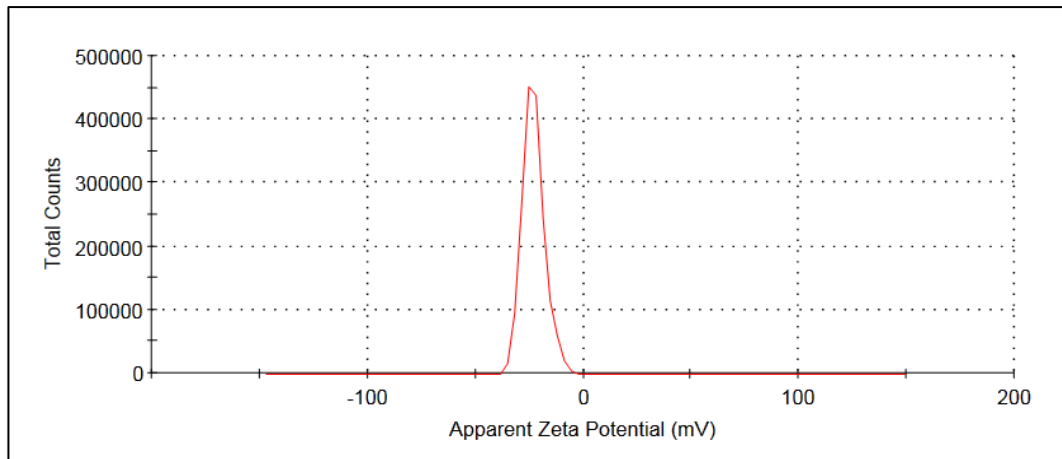
Tablo 4.7. Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyeli sonuçları

	KBZ+LEV-PLGA-NPs (n=6)	B-PLGA-NPs (n=3)
Ortalama partikül büyüklüğü ($\bar{X} \pm SS$; nm)	180.62 $\pm$ 6.260	171.92 $\pm$ 4.637
PDI ($\bar{X} \pm SS$)	0.107 $\pm$ 0.030	0.104 $\pm$ 0.011
Zeta Potansiyeli ($\bar{X} \pm SS$; mV)	-27.08 $\pm$ 3.110	-20.28 $\pm$ 2.992

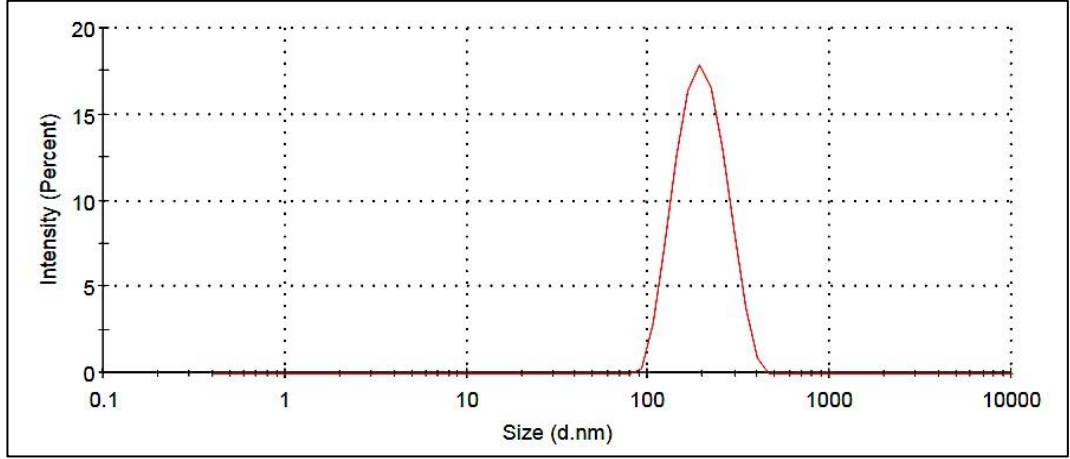
X=Ortalama; SS=Standart sapma



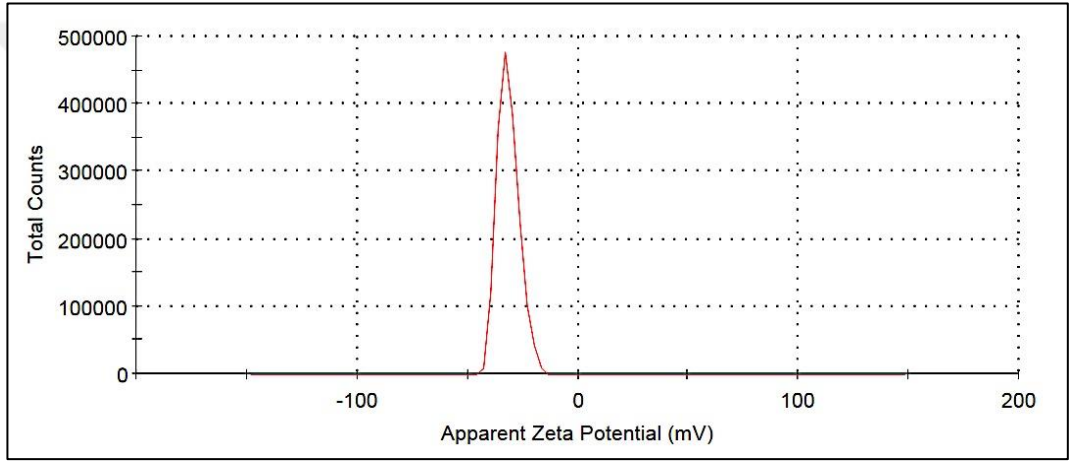
Şekil 4.13. B-PLGA-NPs formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılımı



Şekil 4.14. B-PLGA-NPs formülasyonuna ait zeta potansiyeli



Şekil 4.15. KBZ+LEV-PLGA-NPs ait partikül büyüklüğü dağılımı



Şekil 4.16. KBZ+LEV-PLGA-NPs ait zeta potansiyeli

4.3.3. % EE ve % YK Sonuçları

Hazırlanan KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonundaki KBZ ve LEV etkin maddelerinin EE ve YK tayini sonuçları Tablo 4.8’de verilmiştir.

4.3.4. Hazırlama Verimi

Hazırlanan KBZ+LEV-PLGA-NPs ve B-PLGA-NPs formülasyonlarının hazırlama verimi tayini sonuçları Tablo 4.8’de verilmiştir.

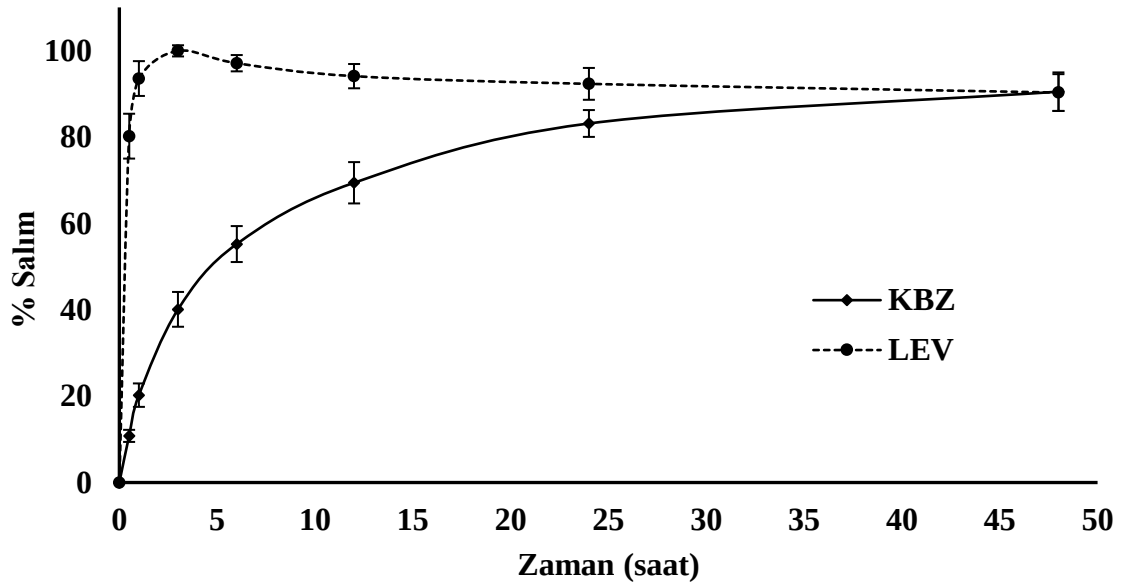
Tablo 4.8. Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının % EE, % YK ve hazırlama verimi sonuçları

	Etkin madde	KBZ+LEV-PLGA-NPs	B-PLGA-NPs
%EE (n=6; X±SS)	KBZ	51.00±5.944	-
	LEV	2.05±0.367	-
%YK (n=6; X±SS)	KBZ	3.89±0.429	-
	LEV	0.16±0.026	-
Hazırlama verimi (n=3; X±SS; %)		77.12±1.597	68.85±2.491

X=Ortalama; SS=Standart sapma

4.3.5. *In Vitro* Salım Çalışması

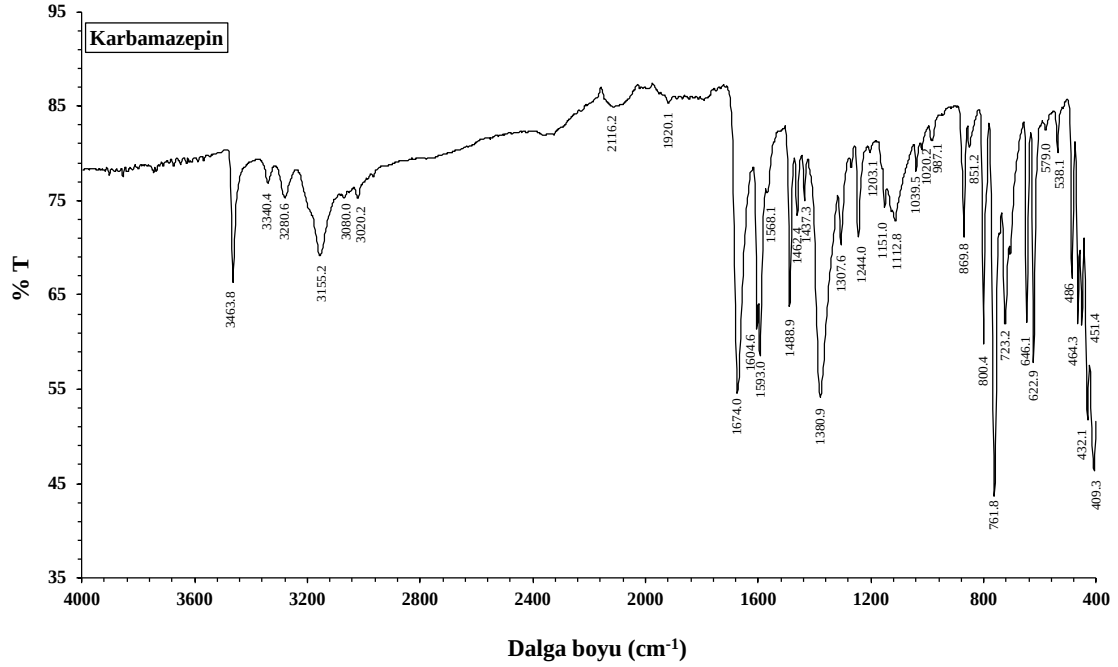
Hazırlanan KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonu için *in vitro* salım çalışması PB pH 7.4'te yapılmış ve salım grafiği Şekil 4.17'de gösterilmiştir. Nanopartikül formülasyonundan yaklaşık 30 dk.'da %80, 1 sa.'te %94, 3 sa.'te de %100 LEV salımı gerçekleşmiştir. KBZ'nin ise yaklaşık %40'ı 3 sa.'te, %69'u 12 sa.'te, %83'ü 1 günde ve %90'ı 2 günde nanopartikül formülasyonundan salımmıştır.



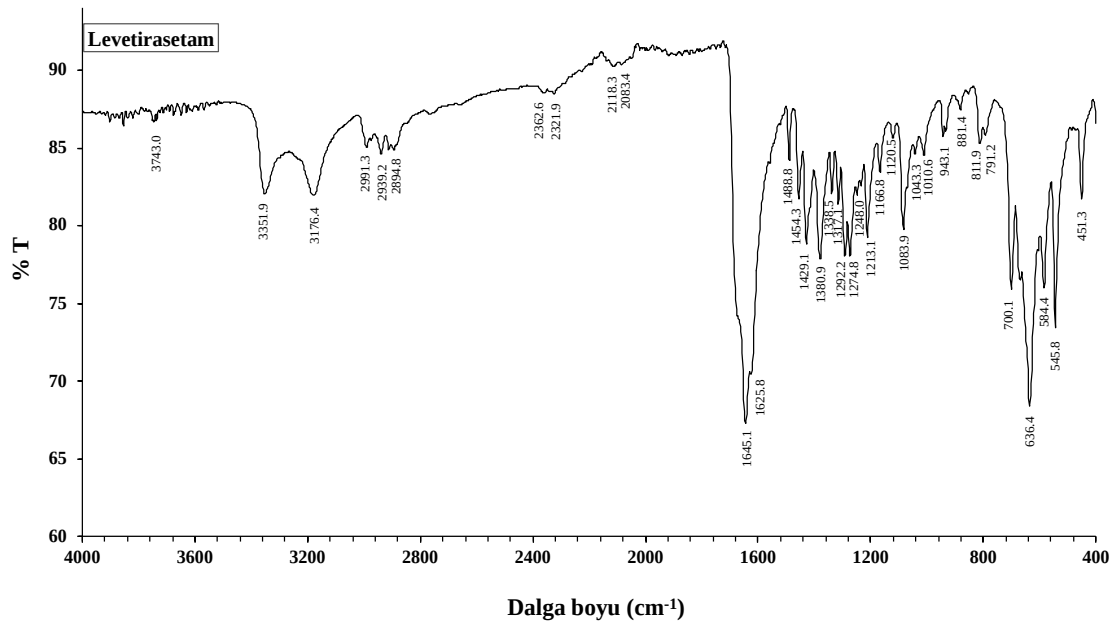
Şekil 4.17. KBZ ve LEV'in nanopartikül formülasyonundan salım profilleri (n=6; X±SS)

4.3.6. NP Formülasyonlarına Ait FT-IR Spektrumları

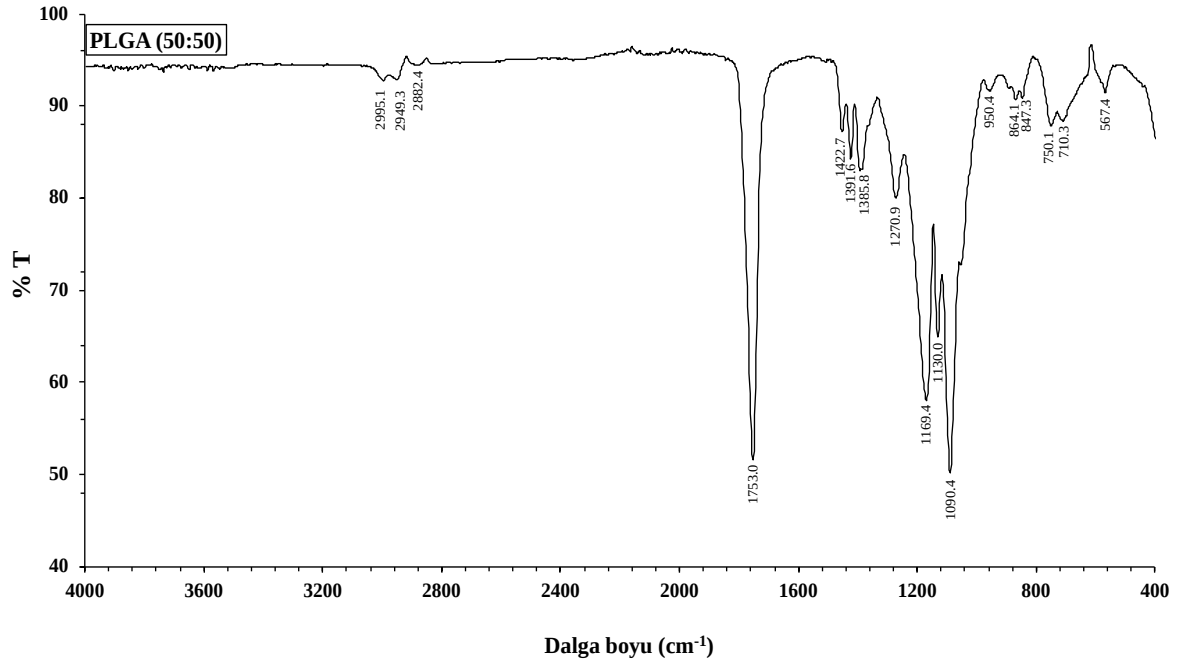
KBZ, LEV, PLGA, Pluronic F127, B-PLGA-NPs ve KBZ+LEV-PLGA-NPs'nin FT-IR analizleri yapılmış ve FT-IR spektrumları Şekil 4.18-Şekil 4.24'te gösterilmiştir.



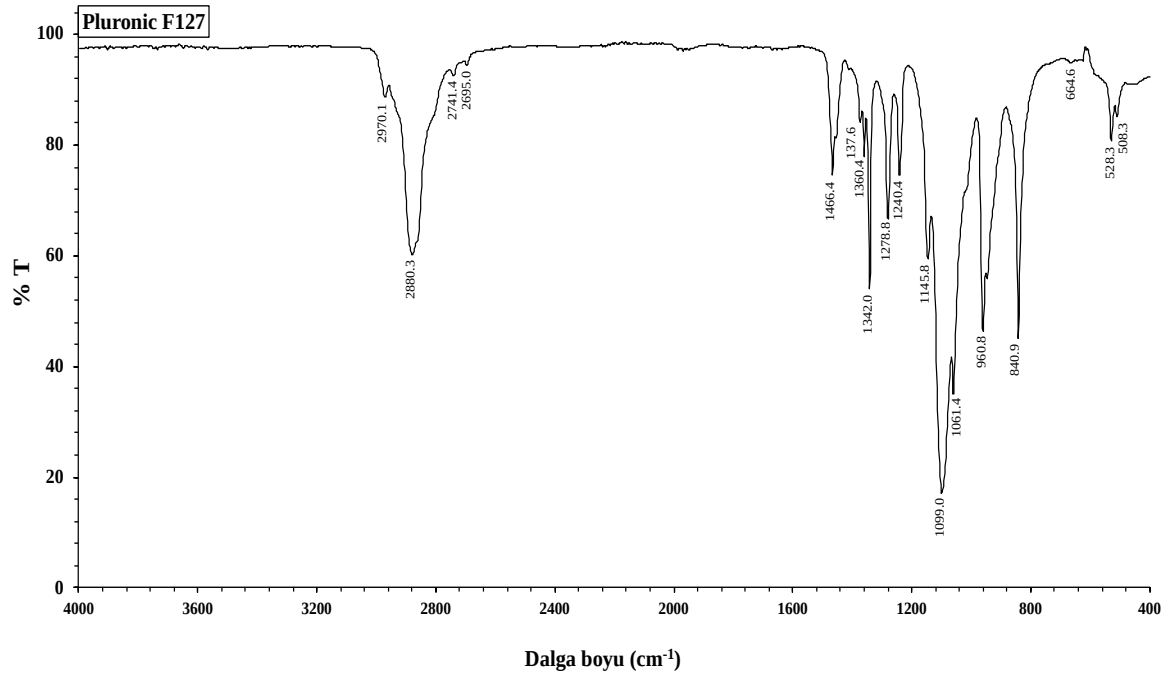
Şekil 4.18. KBZ'ye ait FT-IR spektrumu



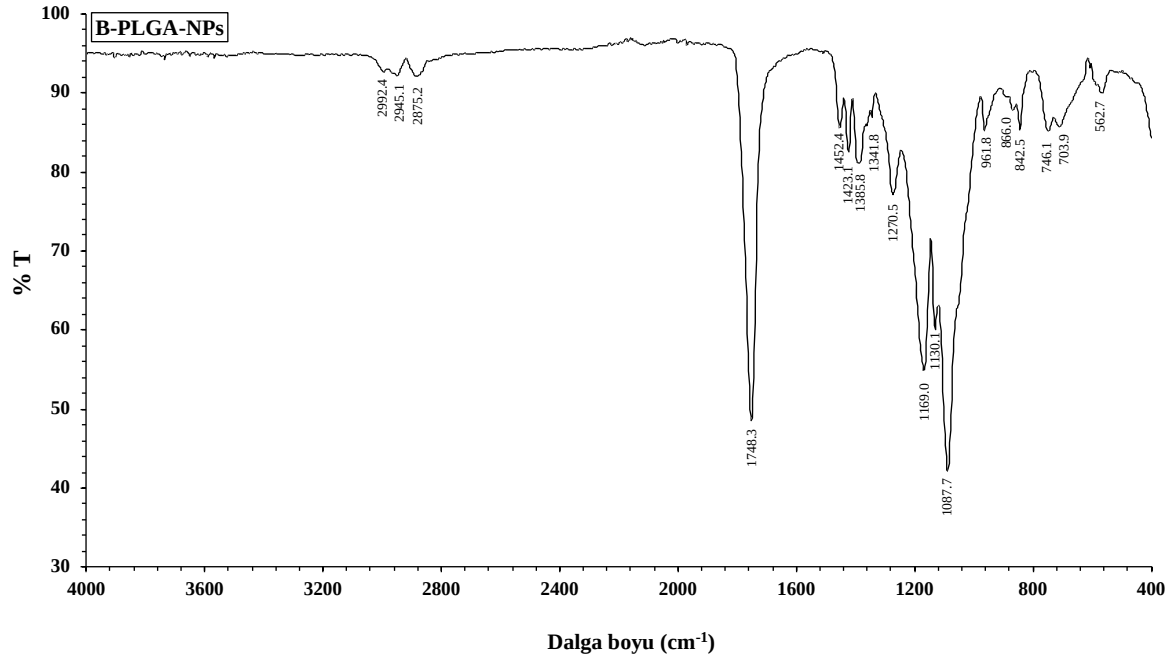
Şekil 4.19. LEV'e ait FT-IR spektrumu



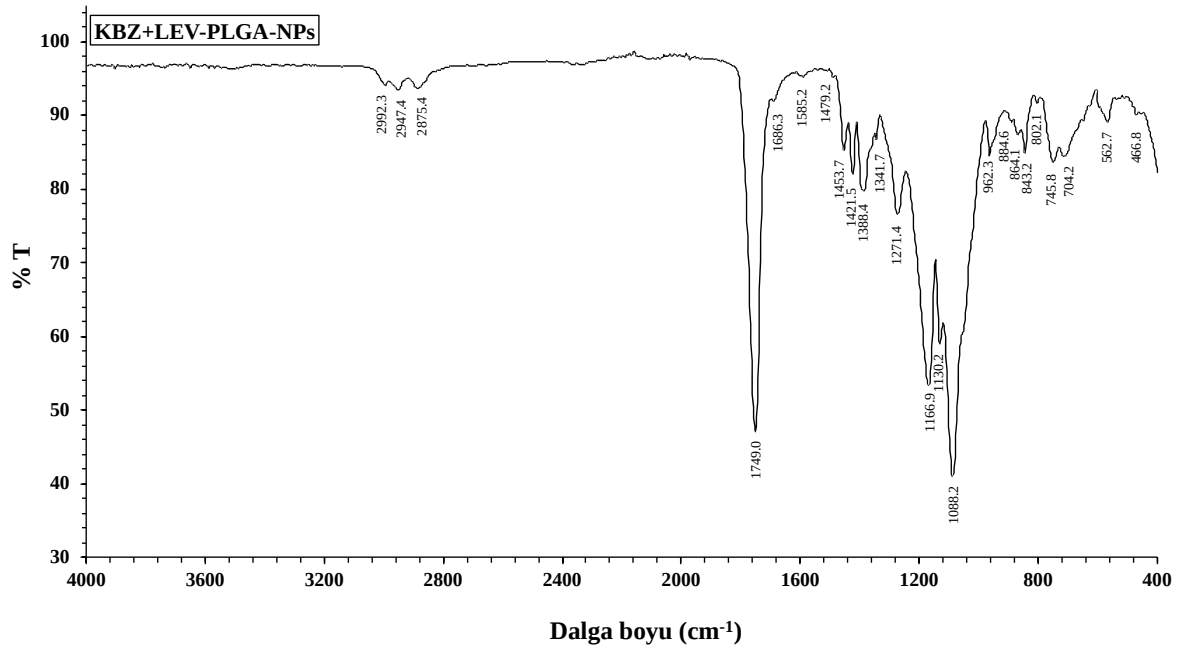
Şekil 4.20. PLGA (50:50)'ya ait FT-IR spektrumu



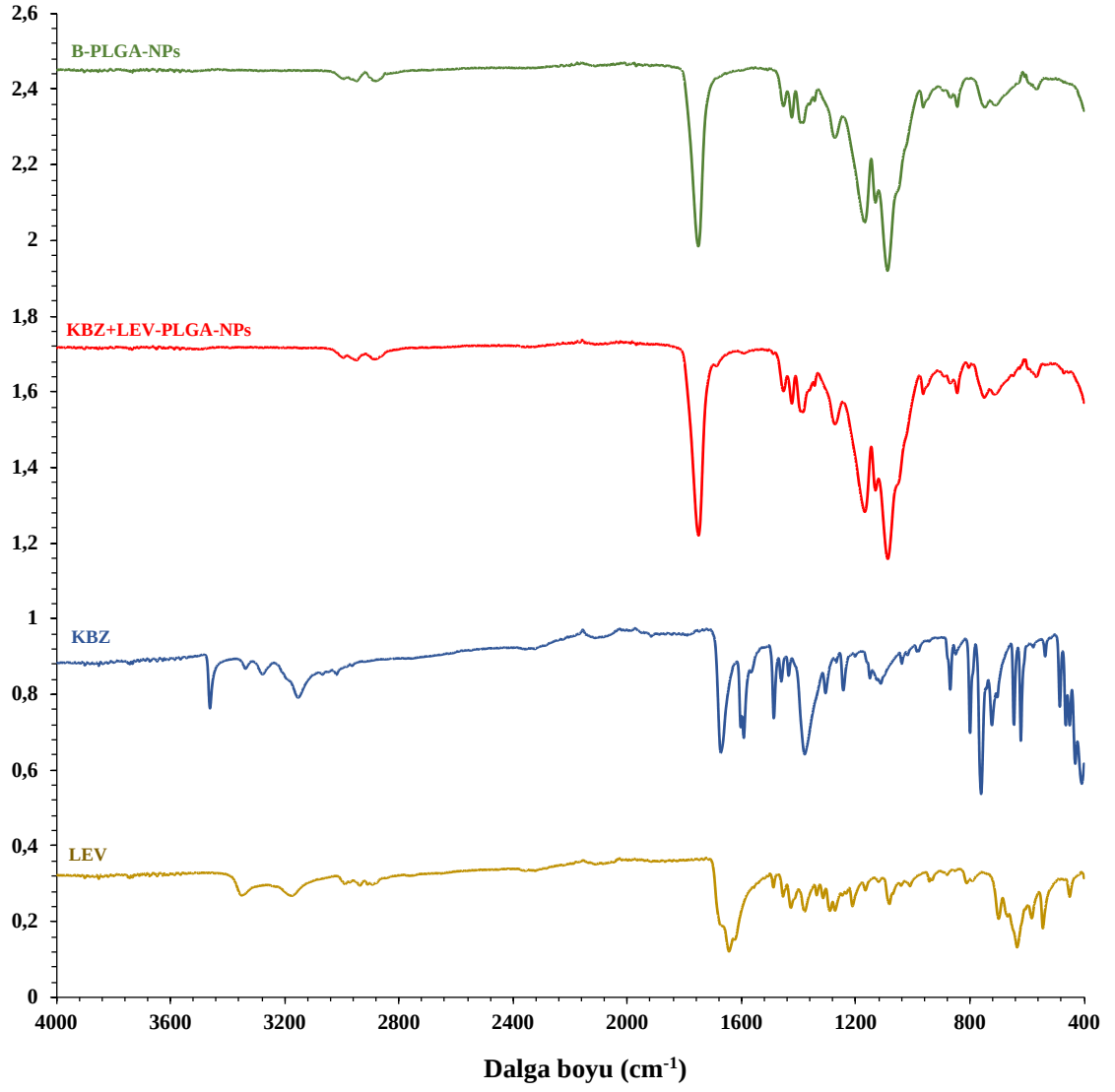
Şekil 4.21. Pluronic F127'ye ait FT-IR spektrumu



Şekil 4.22. B-PLGA-NPs'ye ait FT-IR spektrumu



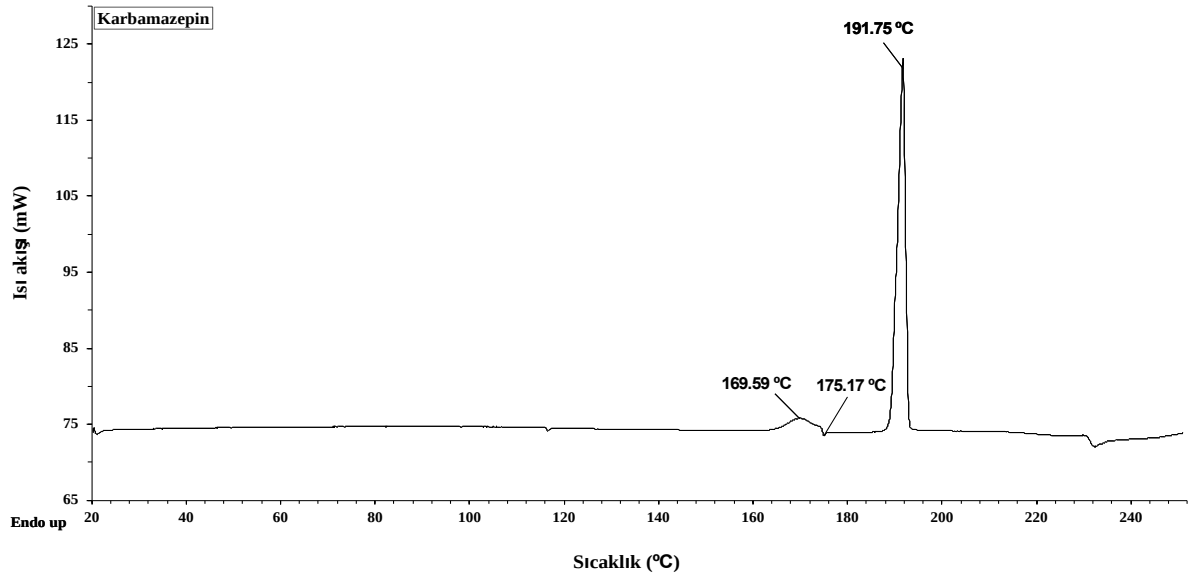
Şekil 4.23. KBZ+LEV-PLGA-NPs'ye ait FT-IR spektrumu



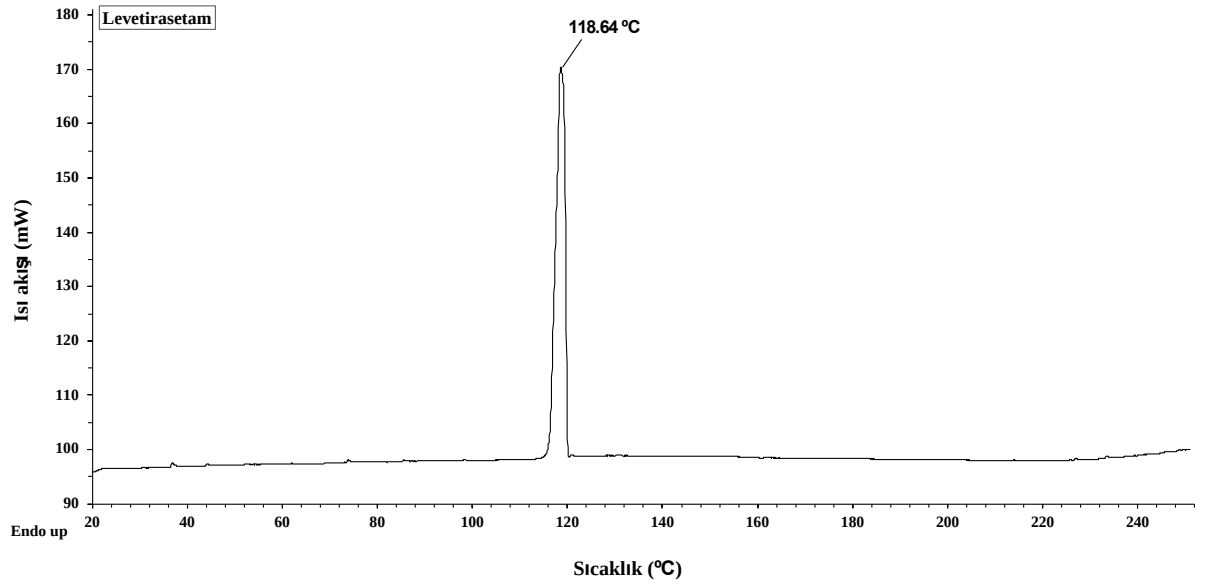
Şekil 4.24. KBZ, LEV ve NP formülasyonlarına ait FT-IR spektrumları

4.3.7. NP Formülasyonlarına Ait DSC Termogramları

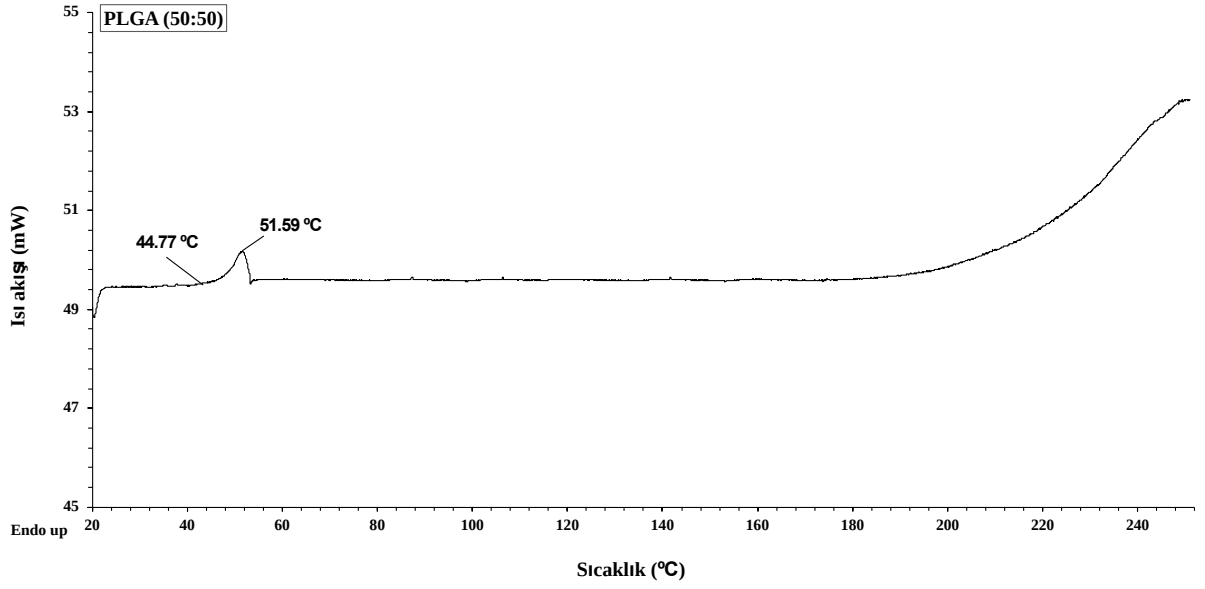
KBZ, LEV, PLGA, Pluronic F127, B-PLGA-NPs ve KBZ+LEV-PLGA-NPs'nin DSC analizleri yapılmış ve DSC termogramları Şekil 4.25-Şekil 4.31'de gösterilmiştir.



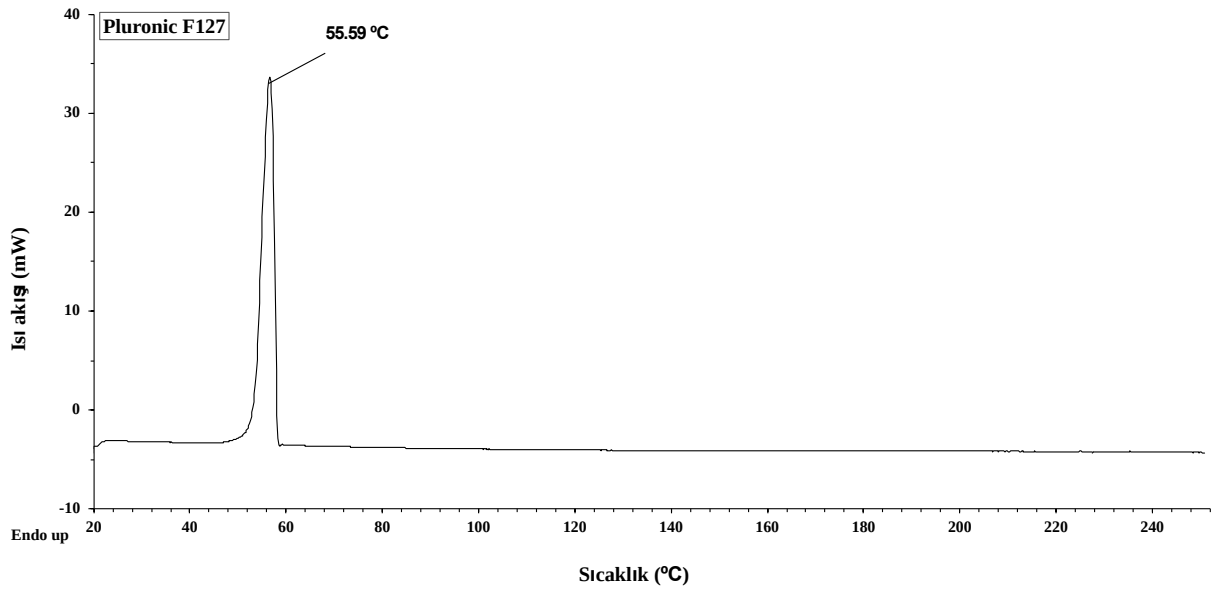
Şekil 4.25. KBZ'ye ait DSC termogramı



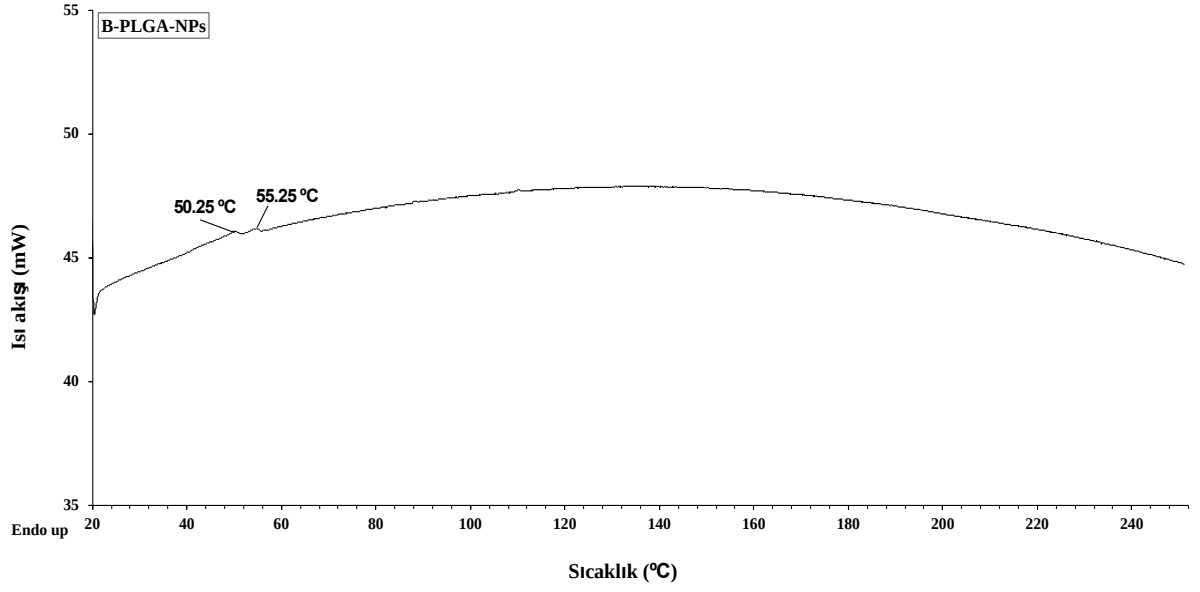
Şekil 4.26. LEV'e ait DSC termogramı



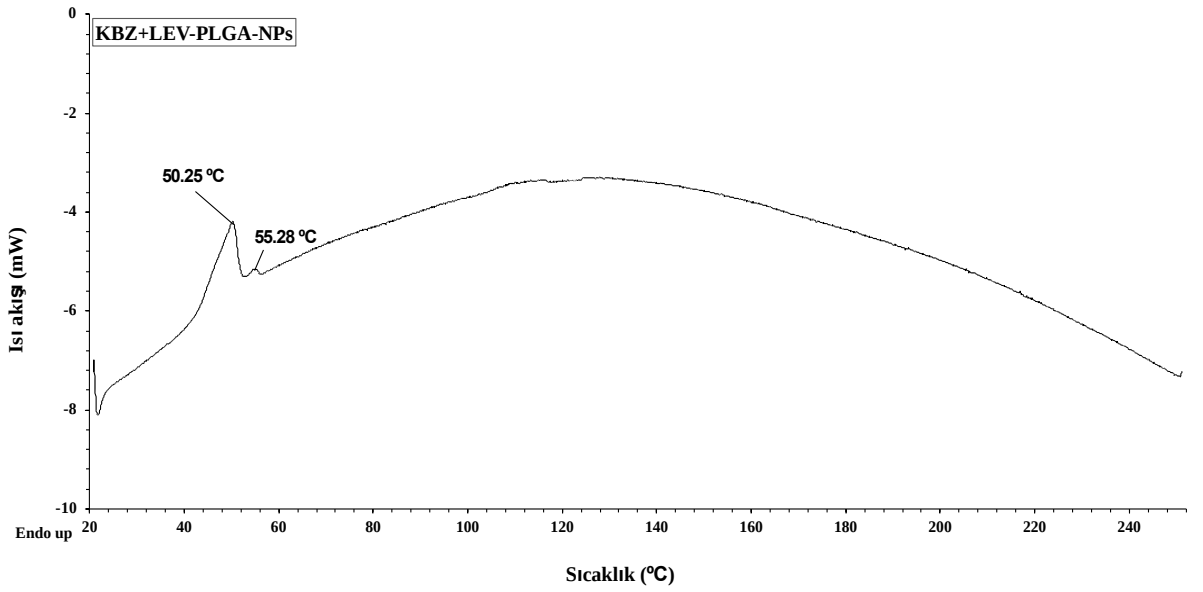
Şekil 4.27. PLGA (50:50)'ya ait DSC termogramı



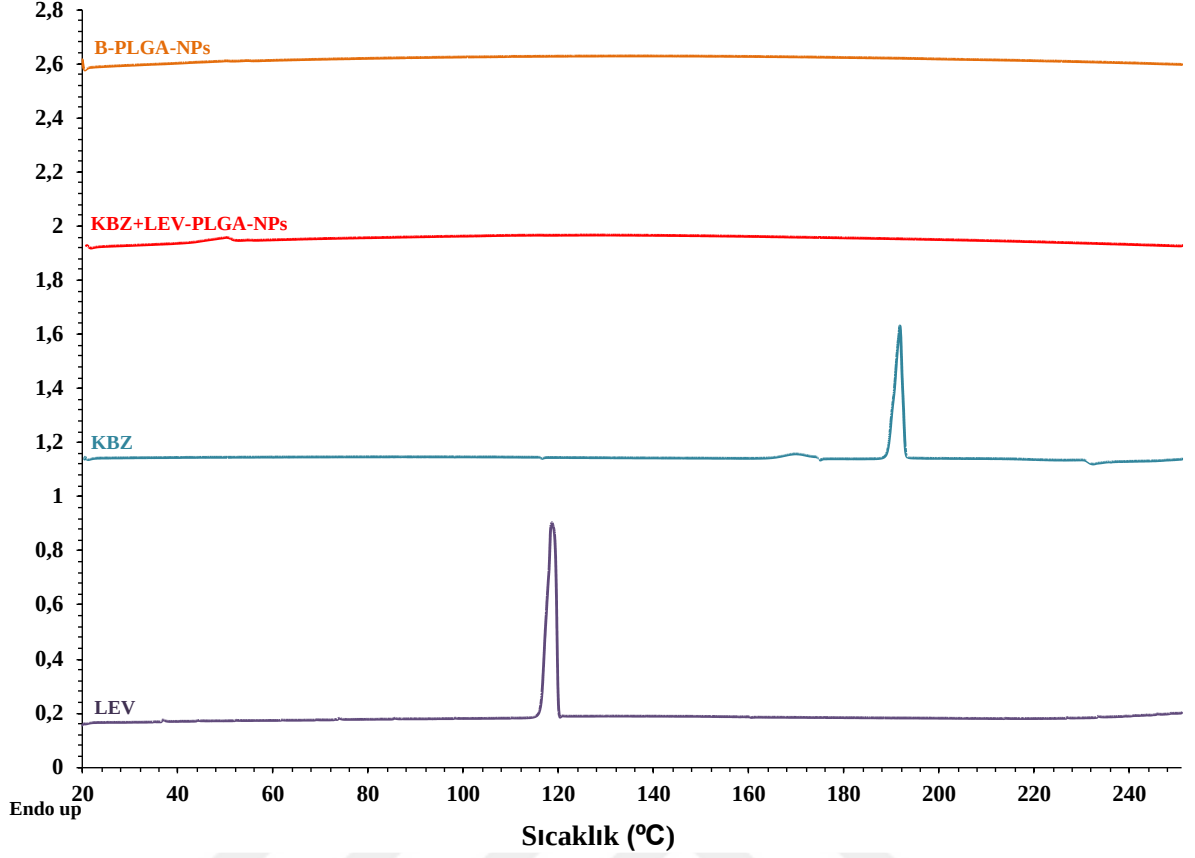
Şekil 4.28. Pluronic F127'ye ait DSC termogramı



Şekil 4.29. B-PLGA-NPs'ye ait DSC termogramı



Şekil 4.30. KBZ+LEV-PLGA-NPs'ye ait DSC termogramı



Şekil 4.31. KBZ, LEV ve NP formülasyonlarına ait DSC termogramları

4.4. DB-ADT'lerin Toz Kontrolü Bulguları

DB-ADT'ler için hazırlanan toz karışımının akış özelliklerinin tespit edilmesi amacıyla toz kontrolleri yapılmıştır.

4.4.1. Yığın Açısı ve Akış Süresi

Yığın açısı ve akış süresi kontrolü yapılmış ve bulgular EP 8.0'a¹³⁷ göre değerlendirilmiştir (Tablo 4.9).

4.4.2. Basılabilirlik İndisi ve Hausner Oranı

Basılabilirlik indisi ve Hausner oranı tespiti yapılmış ve bulgular EP 8.0'a¹³⁷ göre değerlendirilmiştir (Tablo 4.9).

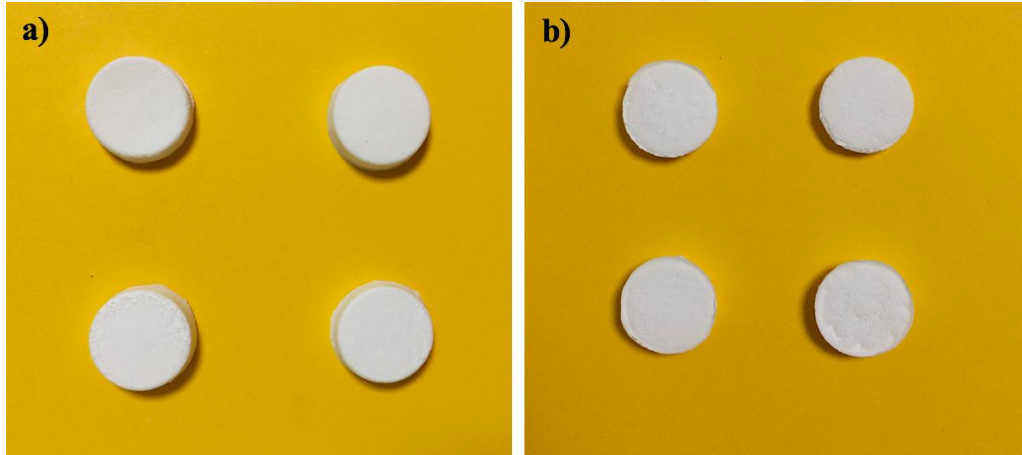
Tablo 4.9. DB-ADT'ler için yapılan toz kontrol testlerinin sonuçları

Toz kontrolleri	Bulgular ($\bar{X} \pm SS$)
Yığın açısı (n=10; °)	26.18 $\pm$ 0.794
Akış süresi (n=10; sn)	4.72 $\pm$ 0.776
Basılabilirlik indisi (n=6; %)	15.24 $\pm$ 0.764
Hausner oranı (n=6)	1.18 $\pm$ 0.011

X=Ortalama; SS=Standart sapma

4.5. Hazırlanan ADT'ler Üzerinde Yapılan *In Vitro* Kontrollerin Bulguları

ADT formülasyonları üzerinde gerçekleştirilen *in vitro* karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. L-ADT ve DB-ADT'lerin örnek dijital fotoğrafları sırasıyla Şekil 4.32 ve Şekil 4.33'te verilmiştir.



Şekil 4.32. L-ADT'lerin dijital fotoğrafları (a=alt, b=üst)



Şekil 4.33. DB-ADT'lerin dijital fotoğrafları

4.5.1. ADT'lerin Kütle Tekdüzeliliği

ADT'ler üzerinde kütle tekdüzeliliği tayini yapılmış ve elde edilen bulgular ortalama $\pm$ SS olarak ifade edilmiştir (Tablo 4.10). Ayrıca, her bir ADT'nin % sapma değerleri hesaplanarak L-ADT ve DB-ADT formülasyonlarının kütle tekdüzeliklerinin EP 8.0'ın belirlediği limitler içerisinde olduğu saptanmıştır.

4.5.2. ADT'lerin İçerik Tekdüzeliliği

ADT'ler üzerinde içerik tekdüzeliliği tayini yapılmış ve elde edilen bulgular ortalama $\pm$ SS cinsinden EP 8.0'a göre değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçlar uygun bulunmuştur (Tablo 4.10).

4.5.3. ADT'lerin Çap ve Kalınlığı

ADT'ler üzerinde çap ve kalınlık tayini yapılmış ve elde edilen bulgular ortalama $\pm$ SS cinsinden değerlendirilmiştir (Tablo 4.10).

4.5.4. ADT'lerin Kırılmaya Karşı Direnci

ADT'ler üzerinde kırılmaya karşı direnç tayini yapılmış ve elde edilen bulgular ortalama $\pm$ SS olarak Tablo 4.10'da verilmiştir. Ayrıca, kırılmaya karşı direnç sonuçları açısından L-ADT ve DB-ADT istatistiksel olarak karşılaştırıldığında iki formülasyon arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.05$).

4.5.5. ADT'lerin Friyabilitesi

ADT'ler üzerinde friyabilite tayini yapılmış ve elde edilen bulgular % friyabilite değeri EP 8.0'a göre değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 4.10'da verilmiştir. Bu değer, DB-ADT ve L-ADT'ler için %1'in altında olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.10. Hazırlanan ADT'lere ait *in vitro* kontrollerin bulguları (X±SS)

Uygulanan Testler	L-ADT	DB-ADT
Kütle Tekdüzeligi (g, n=20)	0.36±0.005	0.60±0.008
İçerik Tekdüzeligi (g, n=6)	38.89±2.574*	41.76±4.292*
	157.04±7.984**	161.40±5.500**
Çap (mm, n=20)	16.87±0.113	16.18±0.044
Kalınlık (mm, n=20)	5.12±0.111	3.04±0.049
Kırılmaya Karşı Direnç (N, n=10)	11.96±2.204	30.11±2.438
Friyabilite (%)	0.77	0.50
Dağılma süresi (sn, n=6)	1.55±0.344	31.50±7.477
Islanma süresi (sn, n=6)	10.58±1.598 ^a	15.04±2.957 ^a
	20.06±2.389 ^b	39.92±4.754 ^b
Su absorplama kapasitesi (% , n=6)	63.72±4.402 ^a	56.59±5.630 ^a
	98.77±11.558 ^b	64.32±5.644 ^b
Dispersiyon süresi (sn, n=6)	7.92±1.569 ^a	9.67±2.015 ^a
	15.68±1.822 ^b	31.83±4.561 ^b

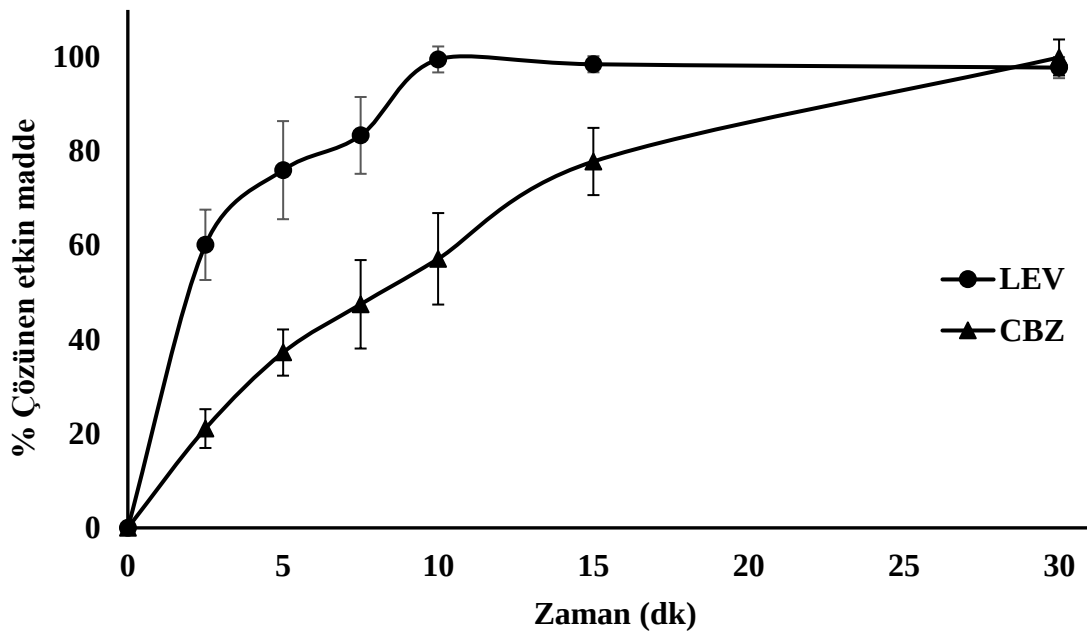
*=LEV; **=KBZ; a=Distile su; b=Yapay tükürük sıvısı; X=Ortalama; SS= Standart sapma

4.5.6. ADT'lerin Dağılma Testi

ADT'ler üzerinde dağılma testi yapılmış ve bulgular tabletlerin tamamen dağılması için geçen süre açısından ortalama $\pm$ SS olarak saptanmış ve sonuçlar Tablo 4.10'da verilmiştir. Ayrıca, dağılma süresi açısından L-ADT ve DB-ADT istatistiksel olarak karşılaştırıldığında iki formülasyon arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.05$).

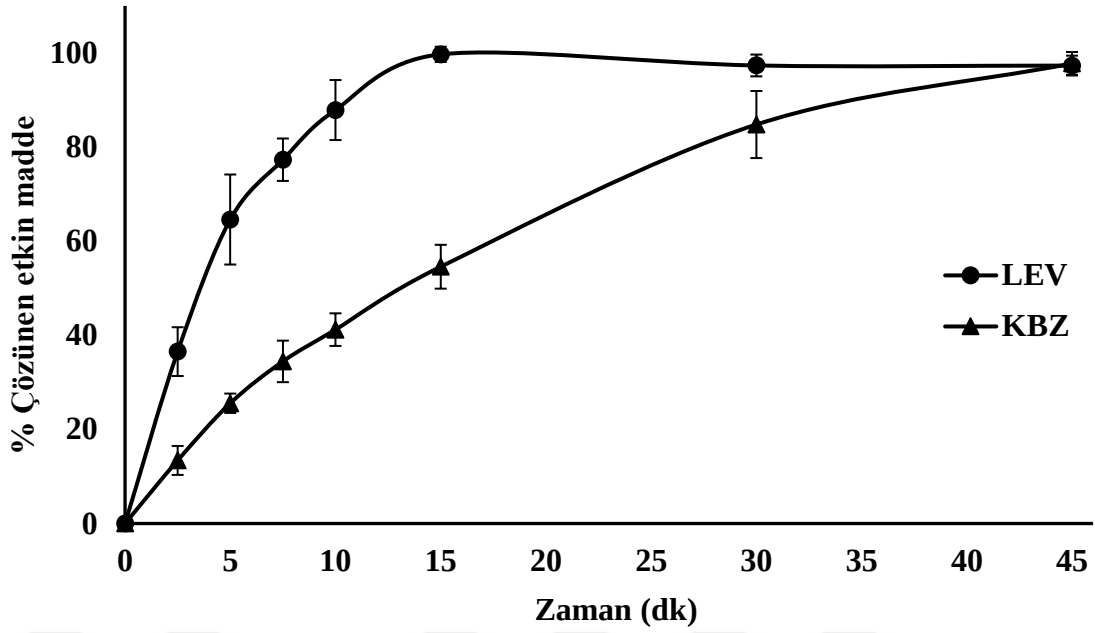
4.5.7. ADT'lerin Çözünme Testi

ADT'ler üzerinde çözünme testi, %5 Tween 80 içeren PB pH 6.8 ortamı içerisinde gerçekleştirilmiş ($n=6$) ve çözünme testi profilleri Şekil 4.34 ve Şekil 4.35'te gösterilmiştir.



Şekil 4.34. L-ADT'lerin çözünme profili ($n=6$)

L-ADT'lerde yapılan çözünme testine göre, LEV 5 dk.'da yaklaşık %76 ve 10 dk.'da yaklaşık %99 oranında çözünmüştür. KBZ ise, 5 dk.'da yaklaşık %37, 10 dk.'da yaklaşık %57 ve 30 dk.'da yaklaşık %100 oranında çözünmüştür.



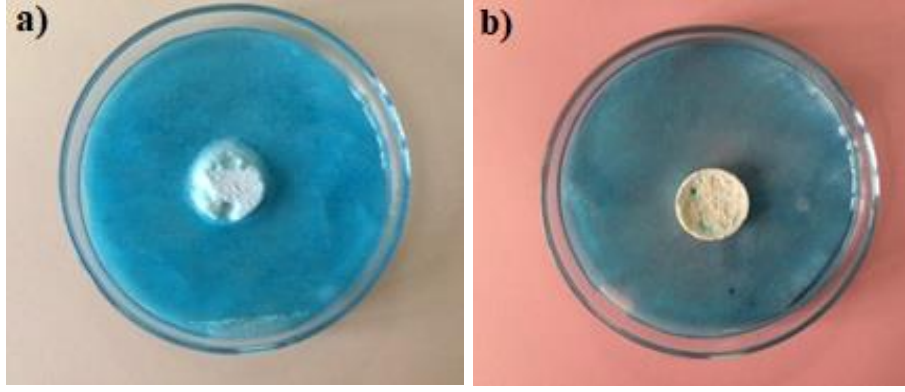
Şekil 4.35. DB-ADT'lerin çözünme profili (n=6)

DB-ADT'lerde yapılan çözünme testine göre, LEV 10 dk.'da yaklaşık %88 ve 15 dk.'da yaklaşık %100 oranında çözünmüştür. KBZ ise, 10 dk.'da yaklaşık %41, 15 dk.'da yaklaşık %55, 30 dk.'da yaklaşık %85 ve 45 dk.'da yaklaşık %98 oranında çözünmüştür.

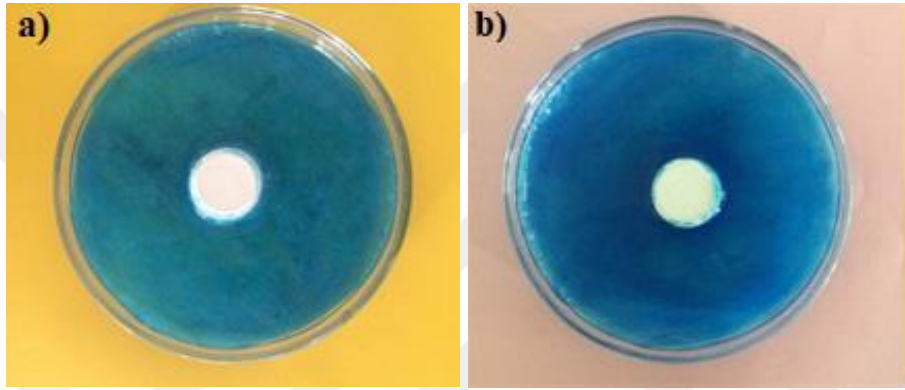
Sonuç olarak, her iki etkin madde açısından da L-ADT formülasyonunda daha yüksek % çözünme oranları daha kısa sürede elde edilmiştir. Ayrıca, L-ADT ve DB-ADT formülasyonları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, LEV salımı açısından 5. dk.'da iki formülasyon arasında anlamlı bir fark saptanmamış ($p>0.05$), ancak 10. dk.'da her iki formülasyon arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). L-ADT ve DB-ADT formülasyonları KBZ salımı açısından istatistiksel olarak karşılaştırıldığında ise, 10. ve 30. dk.'larda % çözünen KBZ miktarları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

4.5.8. ADT'lerin Islanma Süresi ve Su Absorplama Kapasitesi

ADT'ler üzerinde ıslanma süresi ve su absorplama kapasitesi tayini yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.10'da verilmiş ve ayrıca, ıslanma süresi ve su absorplama kapasitesi tayini sırasında çekilen ADT'lerin dijital fotoğrafları Şekil 4.36 ve Şekil 4.37'de gösterilmiştir.



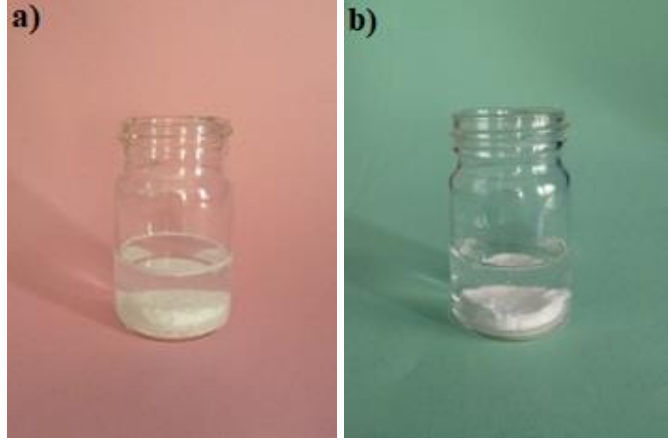
Şekil 4.36. L-ADT'lerin ıslanma süresi tayini sırasında çekilmiş dijital fotoğrafları
(a=distile su, b=yapay tükürük sıvısı)



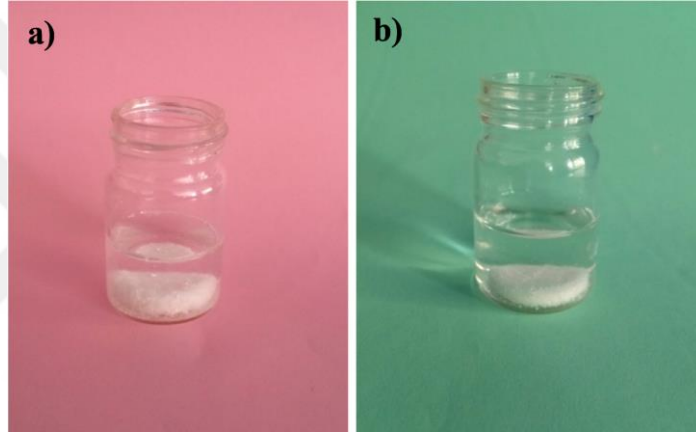
Şekil 4.37. DB-ADT'lerin ıslanma süresi tayini sırasında çekilmiş dijital fotoğrafları
(a=distile su, b=yapay tükürük sıvısı)

4.5.9. ADT'lerin Dispersiyon Süresi

ADT'ler üzerinde dispersiyon süresinin tayini yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.10'da ve ayrıca dispersiyon süresi tayini sırasında çekilen ADT'lerin dijital fotoğrafları Şekil 4.38 ve Şekil 4.39'da gösterilmiştir.



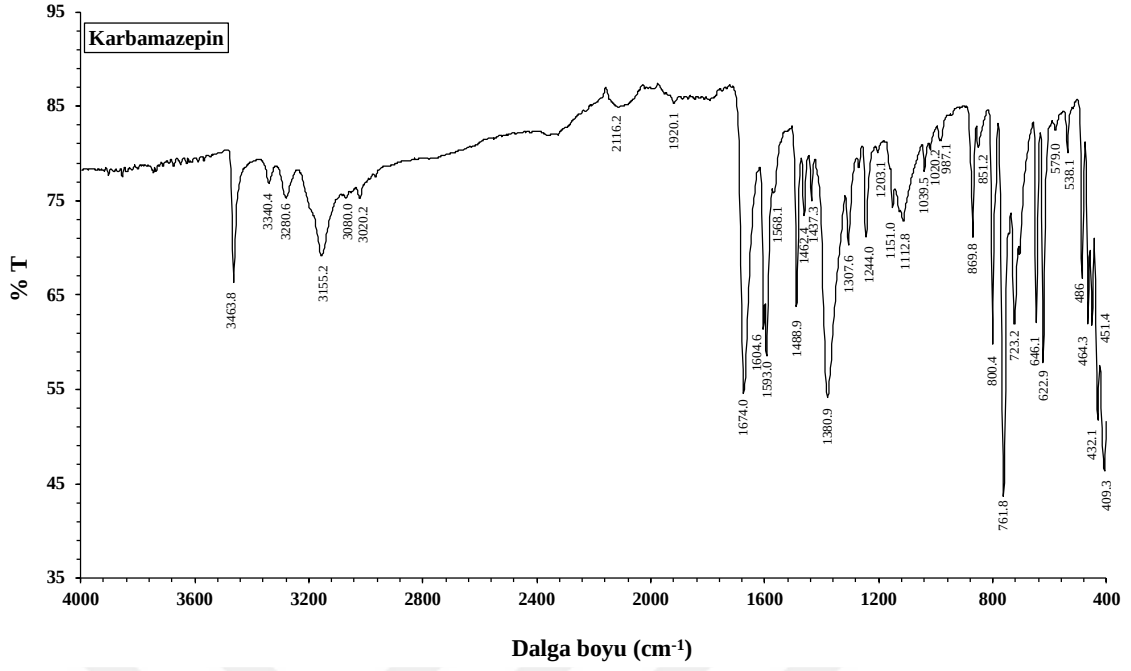
Şekil 4.38. L-ADT'lerin dispersiyon süresi tayini sırasında çekilmiş dijital fotoğrafları
(a=distile su, b=yapay tükürük sıvısı)



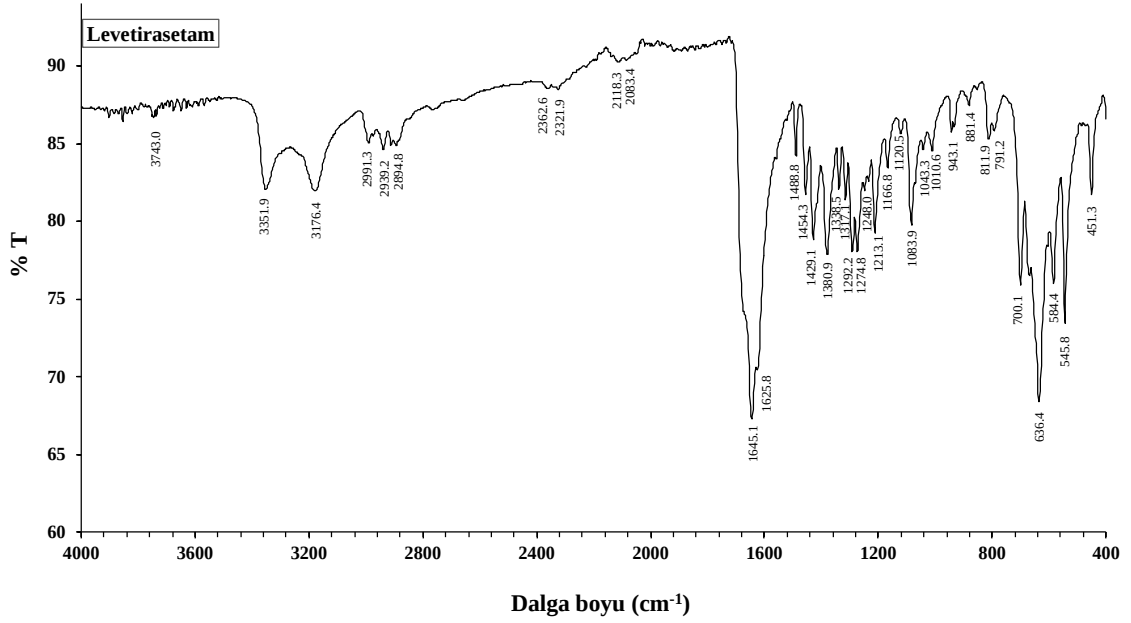
Şekil 4.39. DB-ADT'lerin dispersiyon süresi tayini sırasında çekilmiş dijital fotoğrafları
(a=distile su, b=yapay tükürük sıvısı)

4.5.10. ADT Formülasyonlarına Ait FT-IR Spektrumları

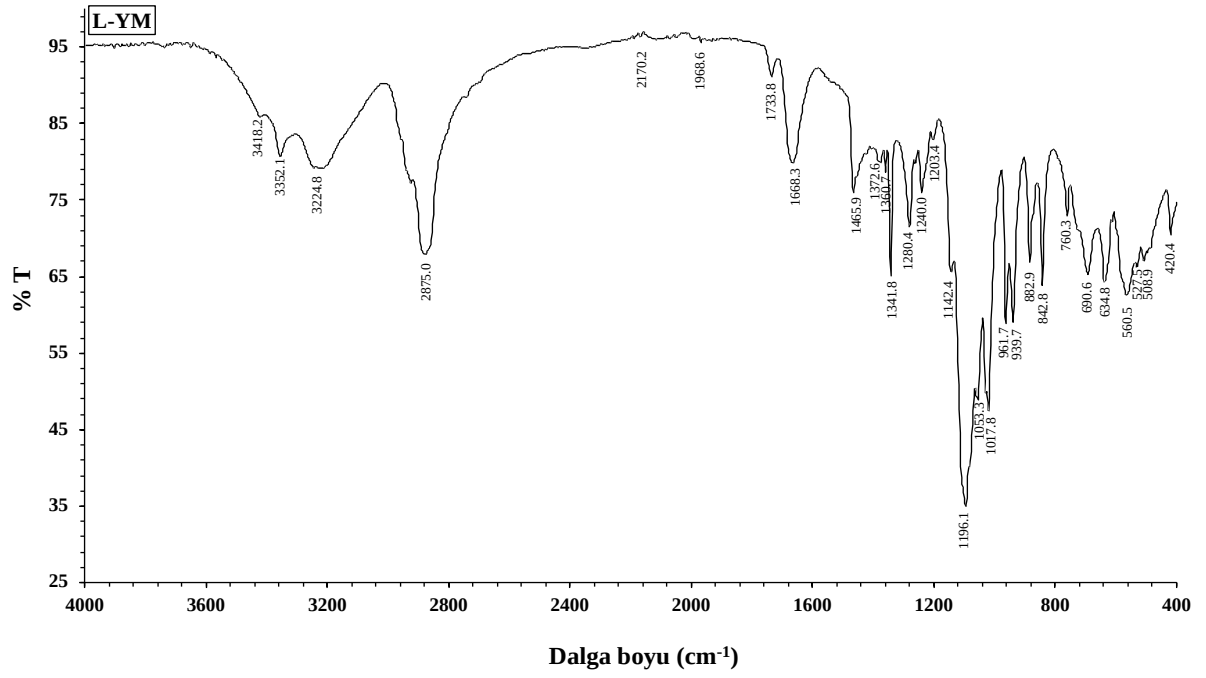
KBZ, LEV, her iki hazırlama yönteminde kullanılan yardımcı maddeler, L-ADT ve DB-ADT formülasyonlarına ait FT-IR analizleri yapılmış ve FT-IR spektrumları Şekil 4.40-Şekil 4.47'de gösterilmiştir.



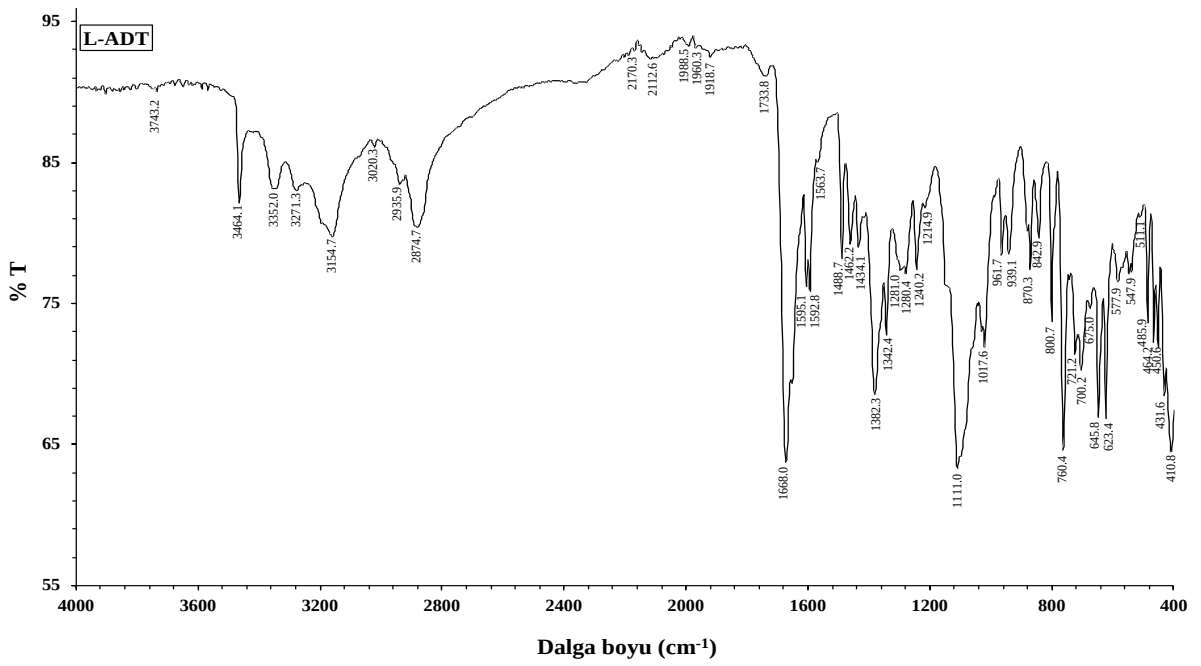
Şekil 4.40. KBZ'ye ait FT-IR spektrumu



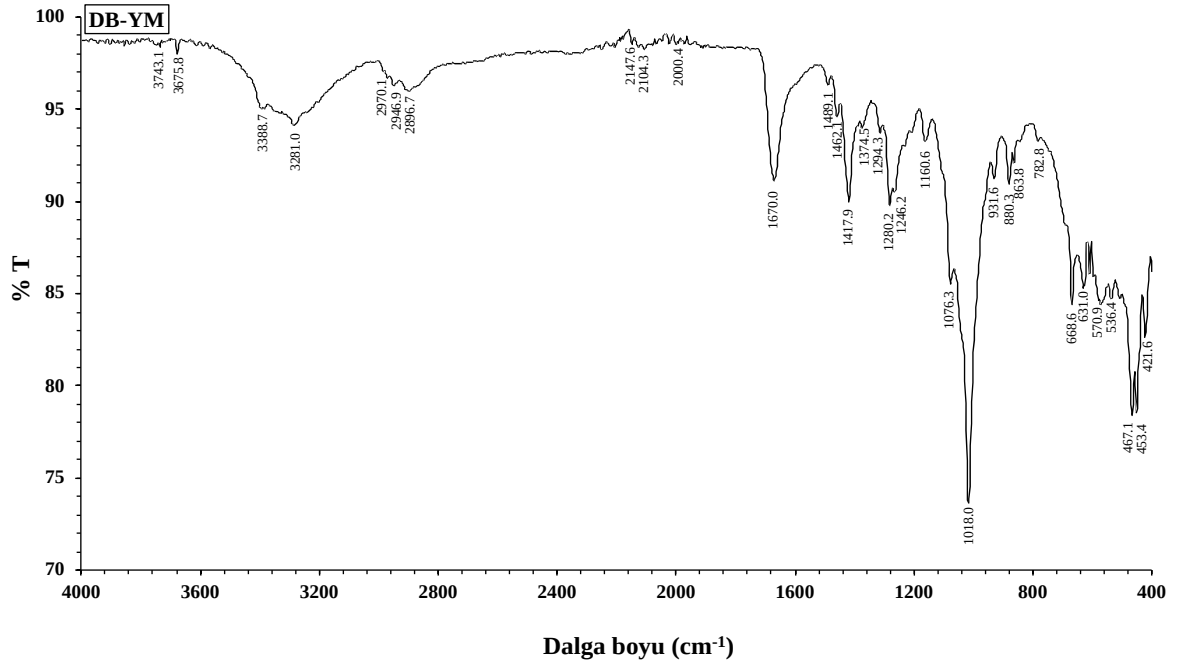
Şekil 4.41. LEV'e ait FT-IR spektrumu



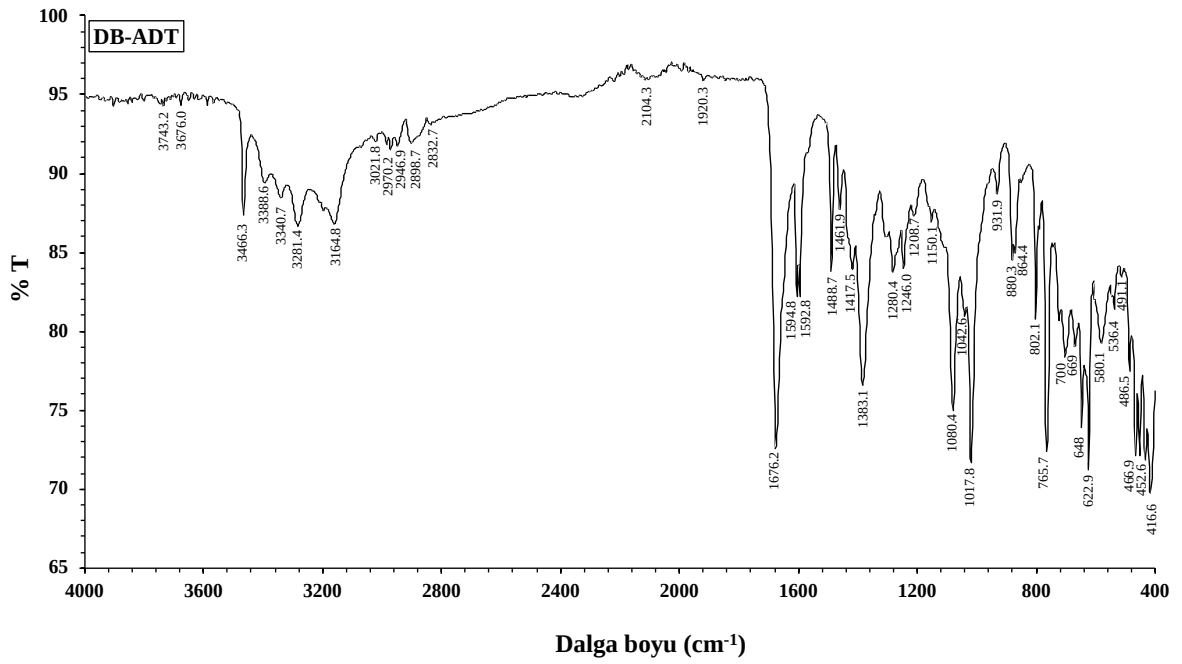
Şekil 4.42. L-YM'ye ait FT-IR spektrumu



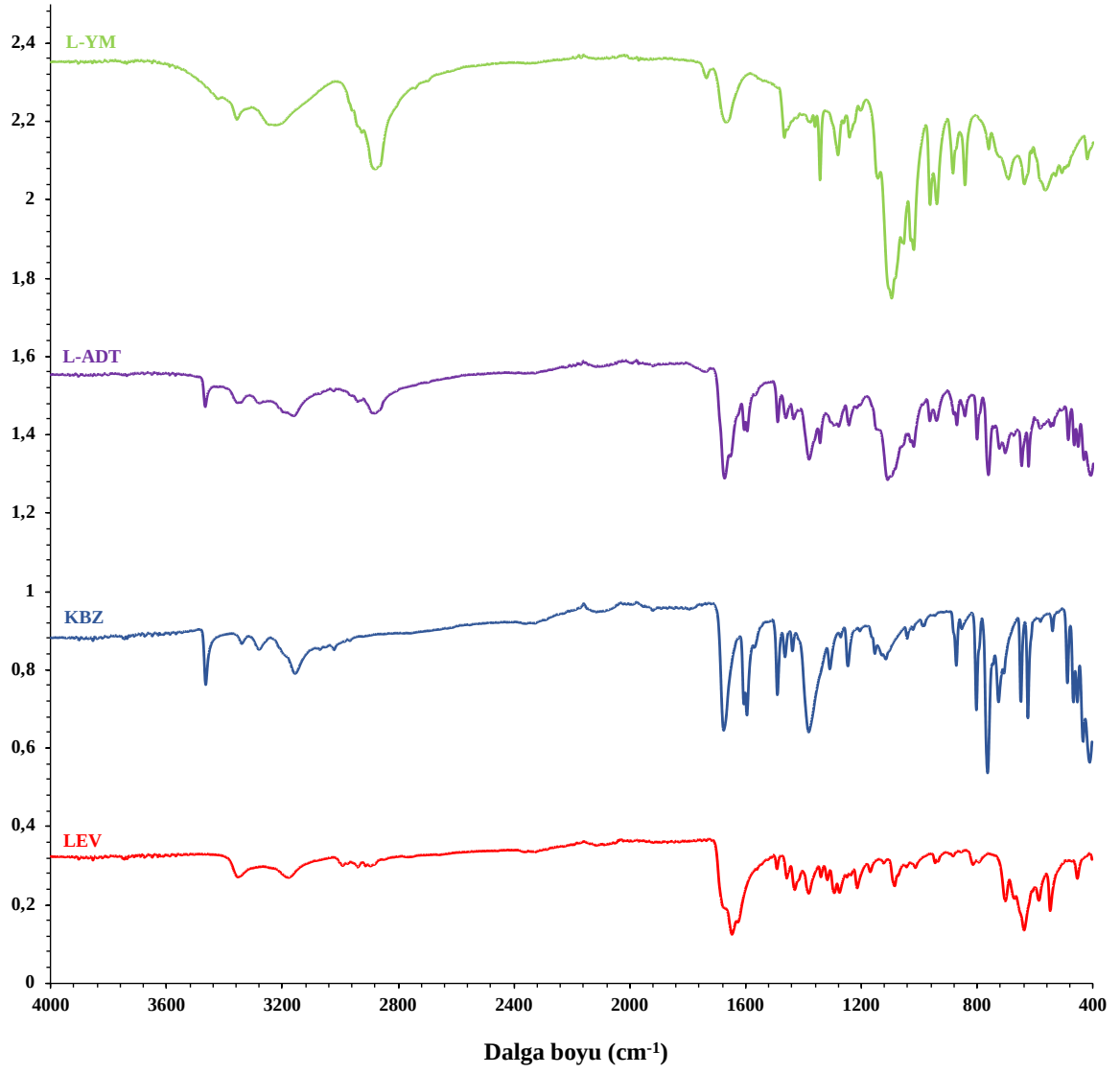
Şekil 4.43. L-ADT'ye ait FT-IR spektrumu



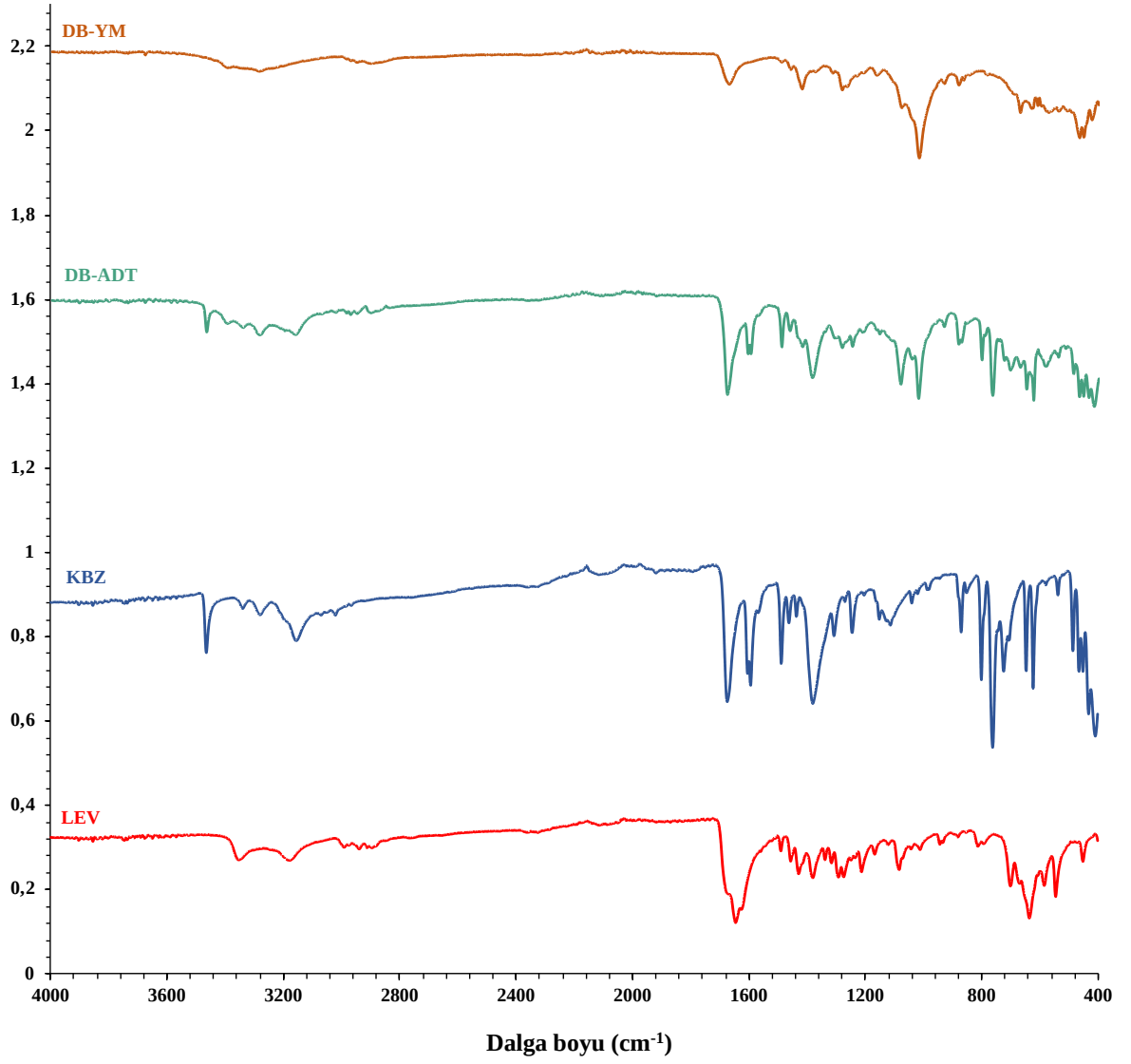
Şekil 4.44. DB-YM'ye ait FT-IR spektrumu



Şekil 4.45. DB-ADT'ye ait FT-IR spektrumu



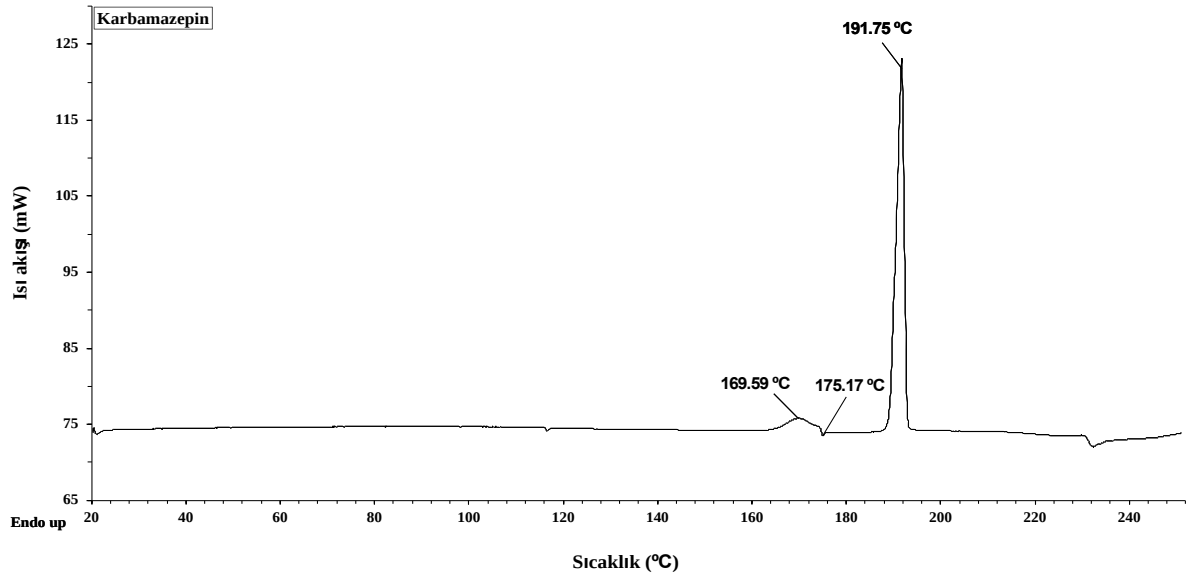
Şekil 4.46. L-YM, L-ADT, KBZ ve LEV'e ait FT-IR spektrumları



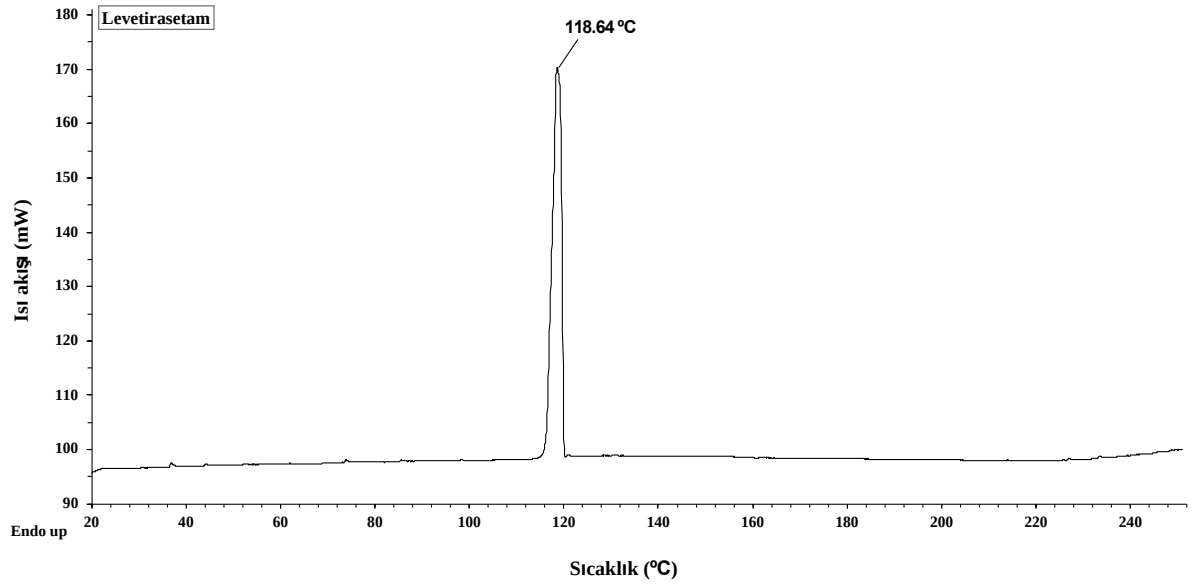
Şekil 4.47. DB-YM, DB-ADT, KBZ ve LEV'e ait FT-IR spektrumları

4.5.11. ADT Formülasyonlarına Ait DSC Termogramları

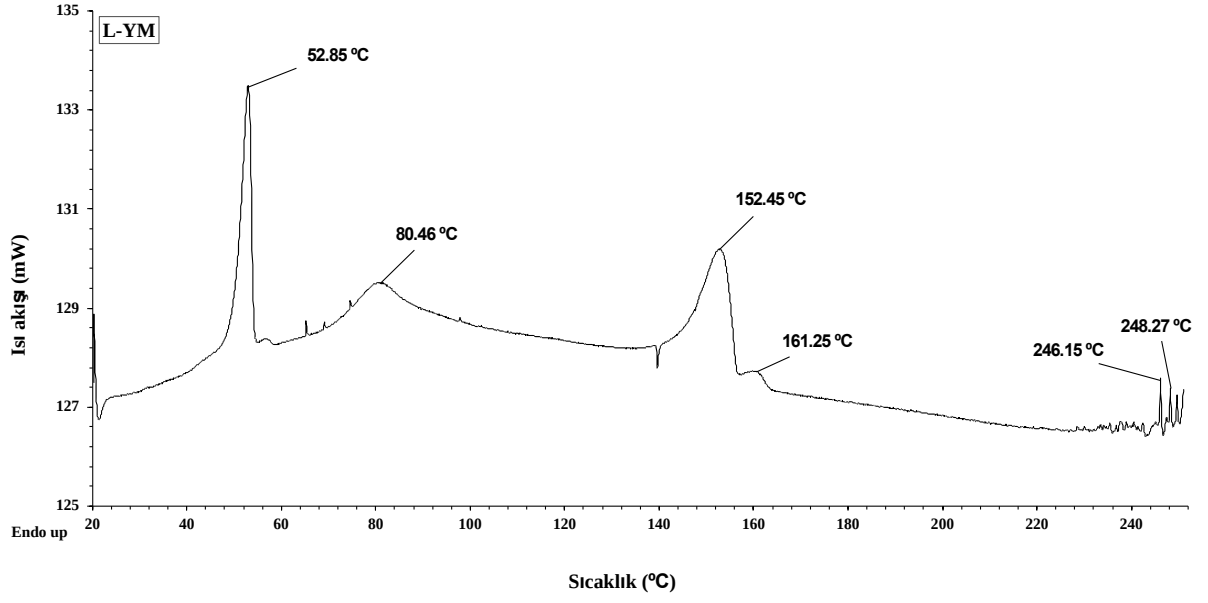
KBZ, LEV, her iki hazırlama yönteminde kullanılan yardımcı maddeler, L-ADT ve DB-ADT formülasyonlarına ait DSC analizleri yapılmış ve DSC termogramları Şekil 4.48-Şekil 4.55'te gösterilmiştir.



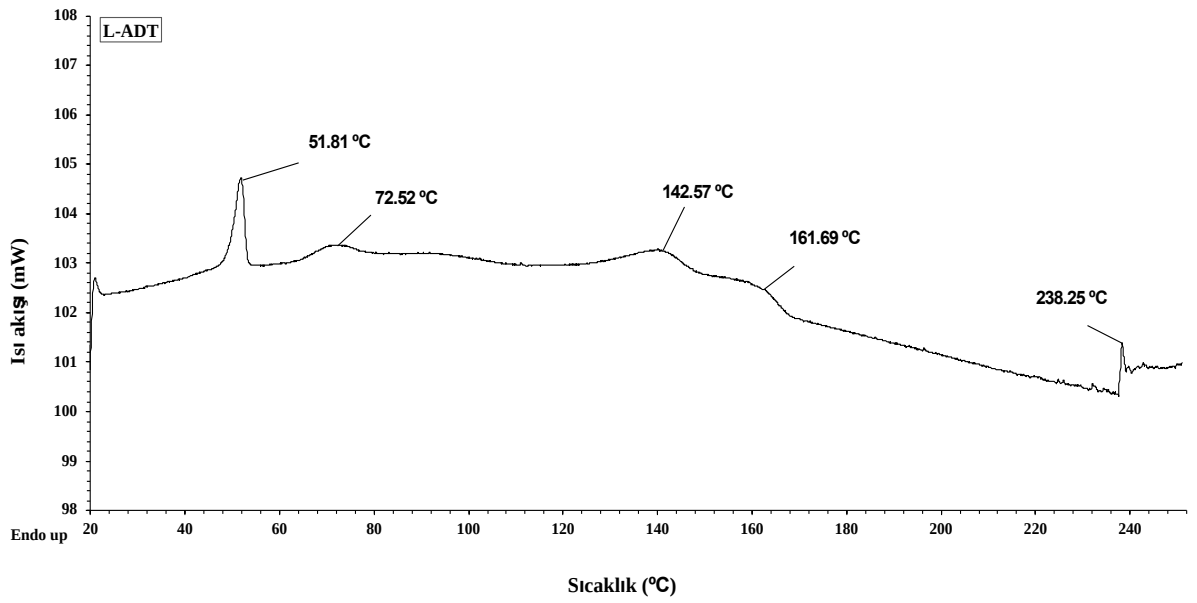
Şekil 4.48. KBZ'ye ait DSC termogramı



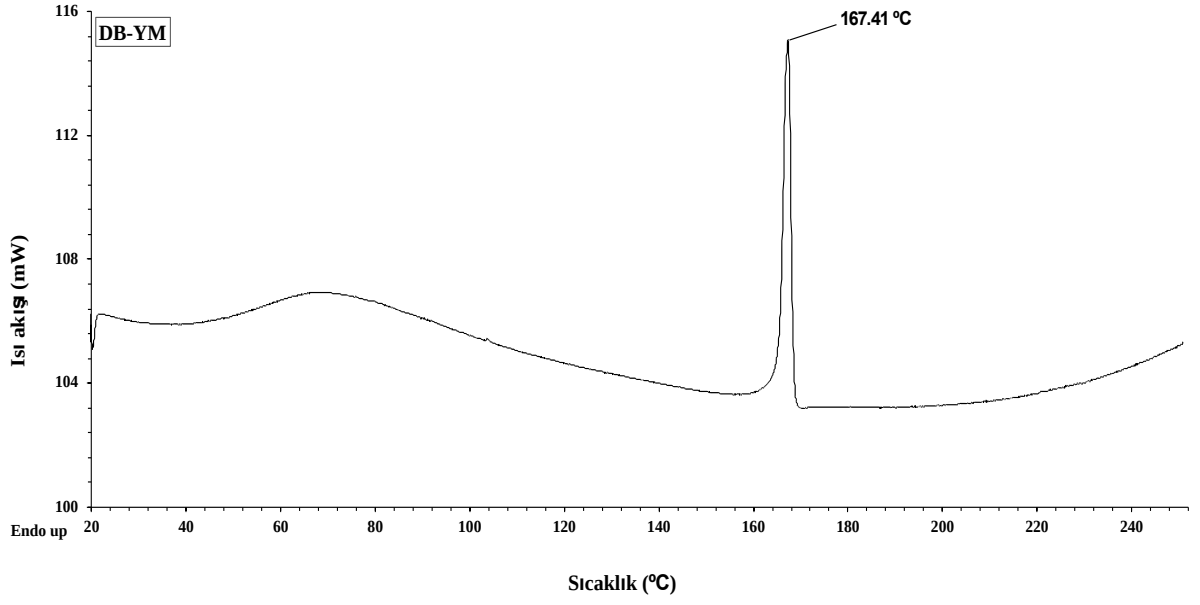
Şekil 4.49. LEV'e ait DSC termogramı



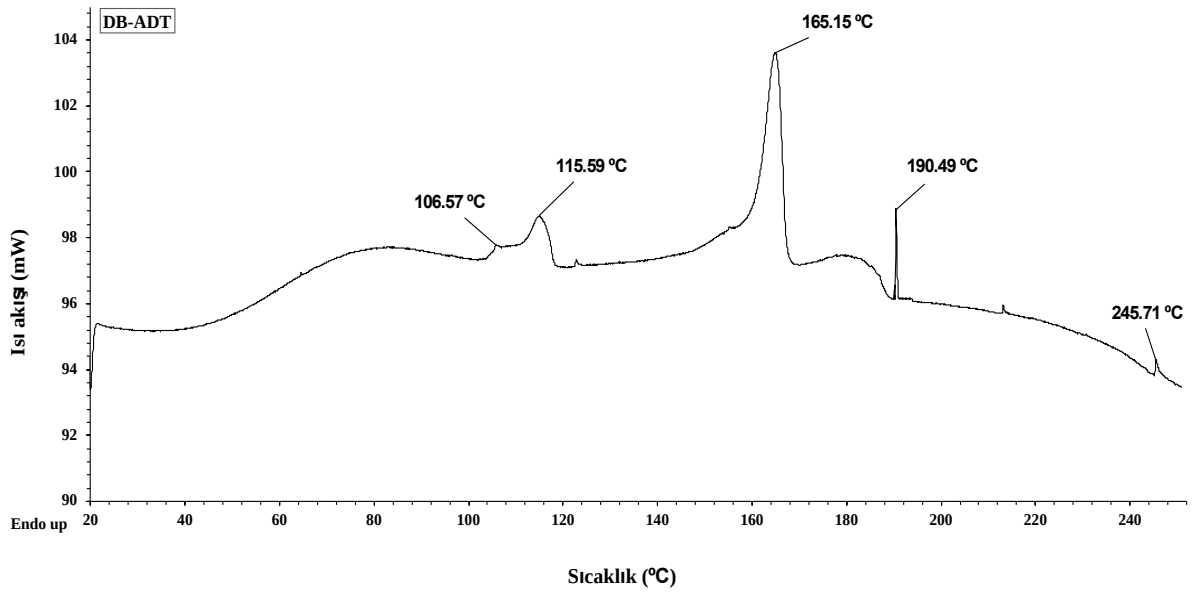
Şekil 4.50. L-YM'ye ait DSC termogramı



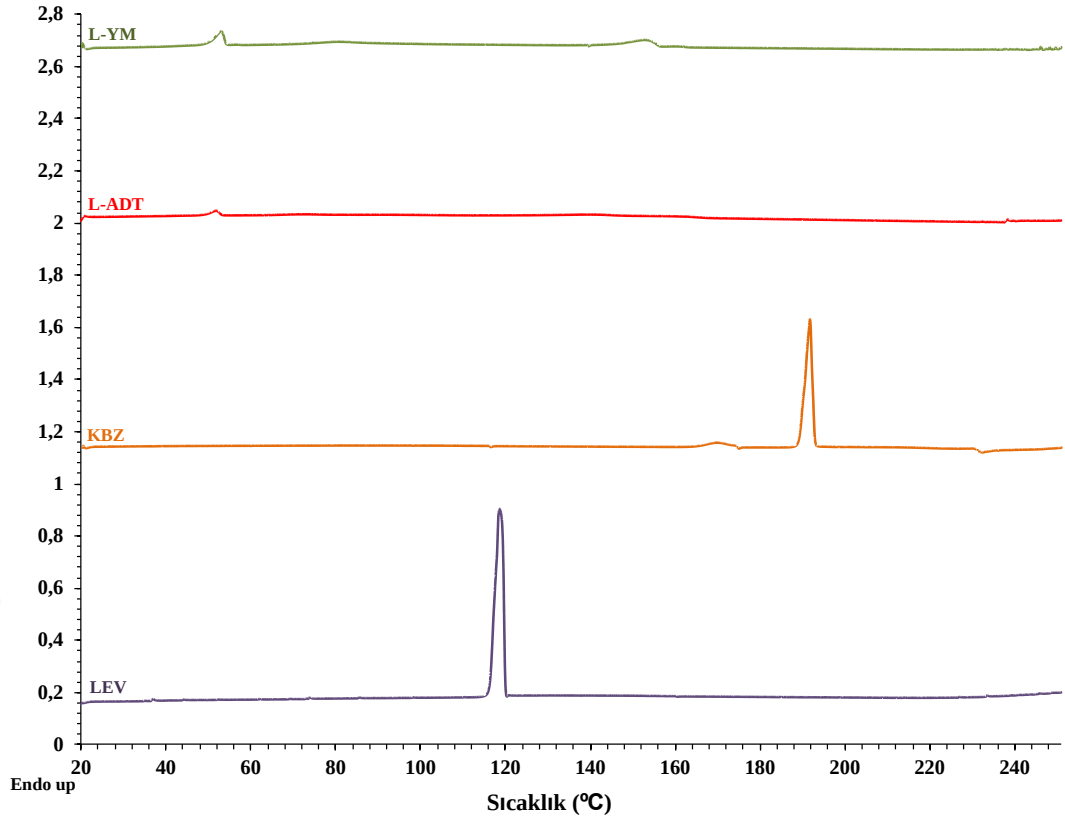
Şekil 4.51. L-ADT'ye ait DSC termogramı



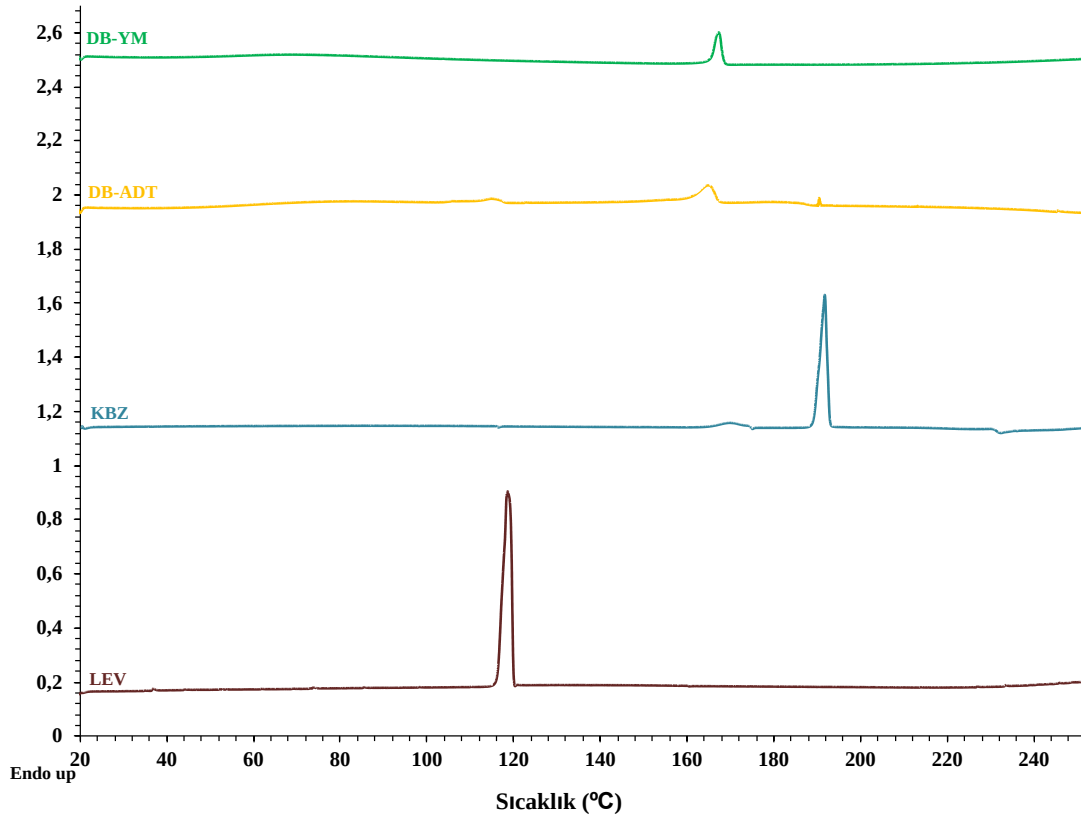
Şekil 4.52. DB-YM'ye ait DSC termogramı



Şekil 4.53. DB-ADT'ye ait DSC termogramı



Şekil 4.54. L-YM, L-ADT, KBZ ve LEV'e ait DSC termogramları

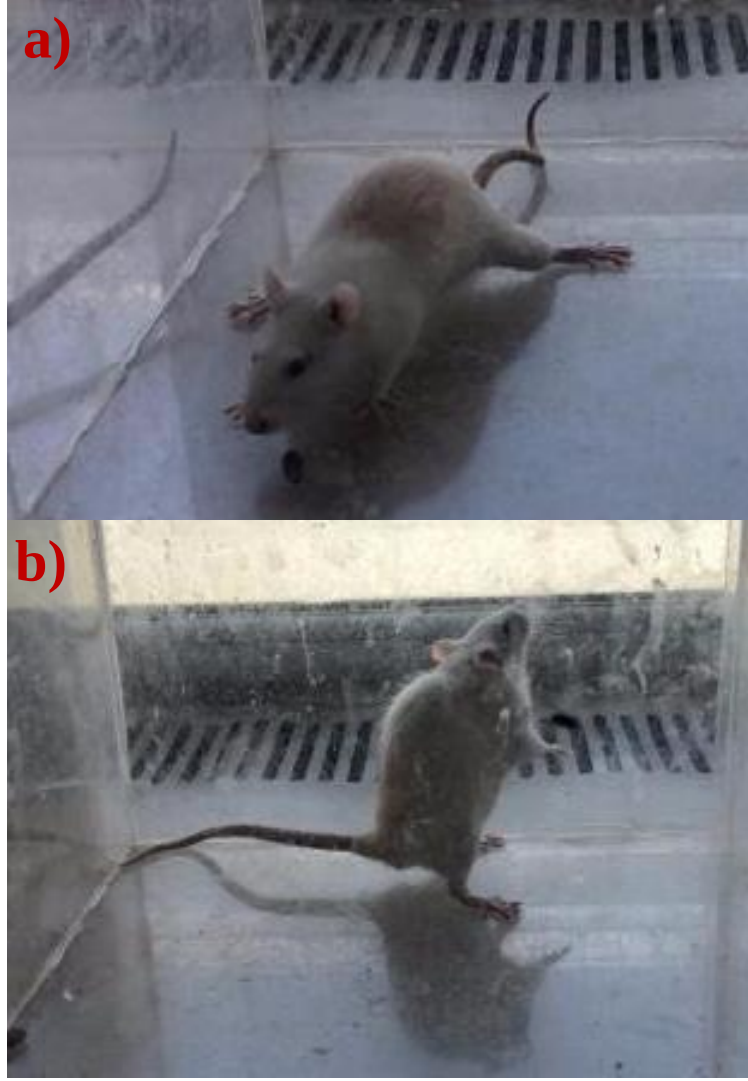


Şekil 4.55. DB-YM, DB-ADT, KBZ ve LEV'e ait DSC termogramları

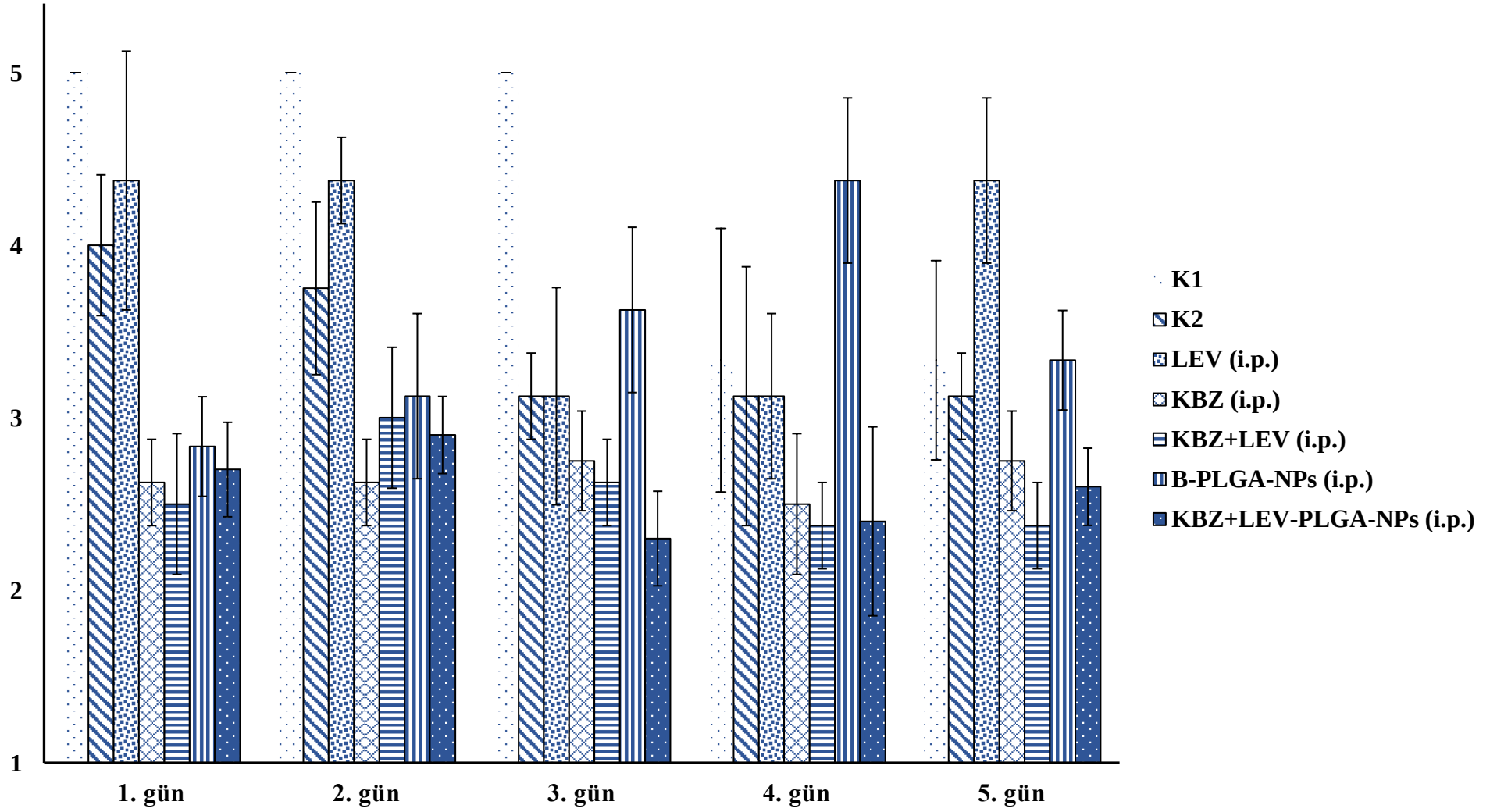
4.6. *İn Vivo* Çalışma Bulguları

4.6.1.1. KBZ+LEV-PLGA-NPs ve DB-ADT Formülasyonlarının Nöbet Skorları ile *İn Vivo* Etkinliklerinin Değerlendirilmesi Sonuçları

Hazırlanan formülasyonların (KBZ+LEV-PLGA-NPs ve DB-ADT) *in vivo* olarak değerlendirilmesi amacıyla, sıçanlarda epilepsi modeli oluşturmak için haftada 3 gün, 35 mg/kg dozunda PTZ i.p. olarak uygulanmış, 30 dk. boyunca gözlemlenmiş ve nöbet davranışları değerlendirilmiştir (Şekil 4.56). Evre 3 ve daha şiddetli 5 kez nöbet geçiren 49 sıçan tutuşmuş olarak kabul edilerek Bölüm 3.2.9.2’de anlatıldığı gibi deney gruplarına alındıktan sonra, i.p. (KBZ+LEV-PLGA-NPs) veya gavaj (DB-ADT) ile uygulandıktan sonra nöbet davranışlarıyla değerlendirilmiştir. KBZ+LEV-PLGA-NPs ve DB-ADT formülasyonlarının *in vivo* olarak değerlendirilmesi sonucu elde edilen bulgular sırasıyla Şekil 4.57 ve Şekil 4.58’de gösterilmiştir.



Şekil 4.56. Nöbet geçiren sıçanların dijital fotoğrafları (a=skor 2.5, b=skor 3)



Şekil 4.57. Çözelti veya süspansiyonların i.p. olarak uygulandığı grupların nöbet skorları

KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonun değerlendirilmesi amacıyla i.p. olarak uygulanan çözelti ve süspansiyonlar 1. günde değerlendirildiğinde (Şekil 4.57), K1 ve K2 grupları ile LEV (i.p.) grubu arasında nöbet skorları açısından istatistiksel anlamlılık tespit edilmemiş ($p>0.05$), LEV (i.p.) haricindeki diğer gruplarda K1 ve K2 gruplarına göre nöbet skorlarında anlamlı düzeyde düşüş saptanmıştır ($p<0.05$). Ayrıca, KBZ (i.p.) ve KBZ+LEV (i.p.) grupları LEV (i.p.) grubuna göre anlamlı düzeyde antiepileptik aktivite göstermiştir ($p<0.05$). Ancak, KBZ (i.p.), KBZ+LEV (i.p.) ve KBZ+LEV-PLGA-NPs (i.p.) grupları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p>0.05$). Aynı şekilde, KBZ+LEV-PLGA-NPs (i.p.) grubu, B-PLGA-NPs (i.p.) ve KBZ+LEV (i.p.) grupları ile kıyaslandığında nöbet skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Çözeltiler ve süspansiyonların i.p. olarak uygulanmasının sonuçları 2. günde değerlendirildiğinde, bütün grupların K1 grubuna kıyasla nöbet skorlarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma saptanmıştır ($p<0.05$). K2 grubu, KBZ (i.p.) ve KBZ+LEV-PLGA-NPs (i.p.) grupları ile kıyaslandığında nöbet skorlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı ($p<0.05$), ancak K2 grubuna kıyasla KBZ+LEV (i.p.) grubunun nöbet skorlarında düşme olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). KBZ (i.p.) ve KBZ+LEV (i.p.) gruplarına uygulanan süspansiyonlar ile antiepileptik aktivitenin LEV (i.p.) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı saptanmıştır ($p<0.05$). KBZ+LEV-PLGA-NPs (i.p.) grubunun antiepileptik aktivitesinin B-PLGA-NPs (i.p.) ve KBZ+LEV (i.p.)'ye göre daha fazla olduğu, ancak bu farklılığın istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptanmıştır ($p>0.05$).

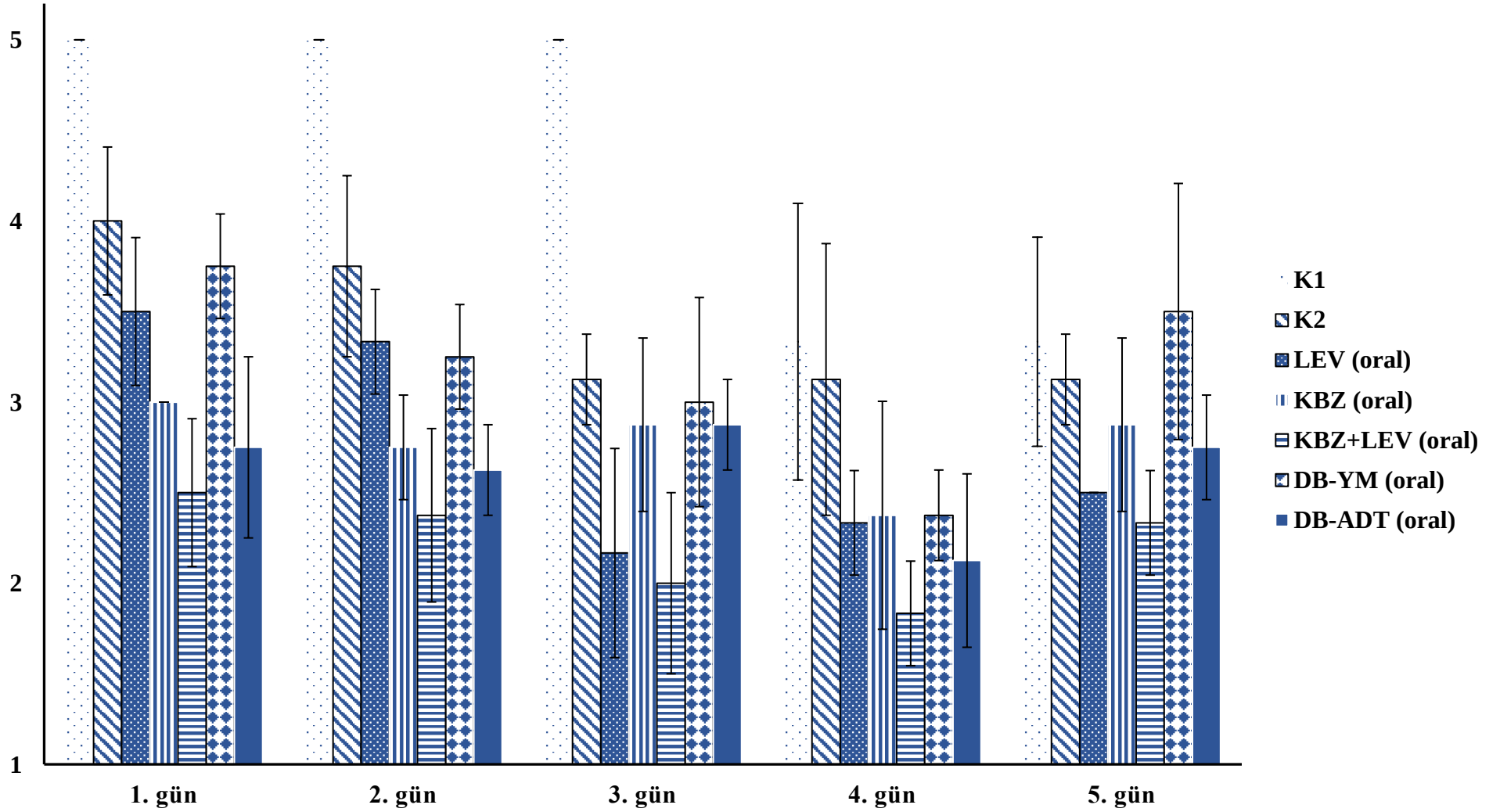
3. günde i.p. uygulanan grupların sonuçları değerlendirildiğinde, tüm grupların K1 grubuna kıyasla nöbet skorlarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüş tespit edilmiştir ($p<0.05$). K2 grubuna kıyasla LEV (i.p.), KBZ (i.p.) ve KBZ+LEV (i.p.)

gruplarında nöbet skorlarında düşüş gözlenmesine rağmen, istatistiksel açıdan bu düşüş sadece KBZ+LEV (i.p.) grubunda anlamlı bulunmuş ($p<0.05$), LEV (i.p.) ve KBZ (i.p.) gruplarının nöbet skorlarının azalması istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). K2 grubuna kıyasla KBZ+LEV-PLGA-NPs (i.p.) formülasyonunun ise antiepileptik aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Ayrıca, KBZ (i.p.) grubunun LEV (i.p.) grubuna göre, KBZ+LEV (i.p.) grubunun ise KBZ (i.p.) ve LEV (i.p.) gruplarına göre antiepileptik aktivitelerinin daha yüksek olduğu, ancak bu farklılığın istatistiksel olarak anlamsız olduğu tespit edilmiştir ($p>0.05$). KBZ+LEV-PLGA-NPs (i.p.)'nin uygulandığı grupta B-PLGA-NPs (i.p.) uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde antiepileptik aktivitenin arttığı saptanmıştır ($p<0.05$). KBZ+LEV-PLGA-NPs (i.p.) grubu KBZ+LEV (i.p.) grubu ile kıyaslandığında antiepileptik aktivitede artma gözlenmesine rağmen, bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

4. günde i.p. uygulanan gruplar değerlendirildiğinde, etkin maddelerin ve etkin madde içeren formülasyonların uygulandığı tüm grupların K1 ve K2 gruplarına göre nöbet skorlarında azalma gözlenmesine rağmen, ancak bu antiepileptik aktivitenin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). Ayrıca, LEV (i.p.) grubuna göre KBZ (i.p.) grubu nöbet skorlarını istatistiksel olarak anlamlı olmayan derecede düşürmesine rağmen ($p>0.05$), KBZ+LEV (i.p.) grubunun anlamlı düzeyde nöbet skorlarını düşürdüğü tespit edilmiştir ($p<0.05$). KBZ+LEV-PLGA-NPs (i.p.) grubu B-PLGA-NPs (i.p.) grubu ile kıyaslandığında antiepileptik aktivitede anlamlı düzeyde artış saptanmıştır ($p<0.05$). Ancak, KBZ+LEV (i.p.) ve KBZ+LEV-PLGA-NPs (i.p.) grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında, nöbet skorlarında benzer düşüşe neden olduğu görülmüştür ($p>0.05$).

5. günde i.p. uygulanan gruplar değerlendirildiğinde, KBZ+LEV (i.p.) ve KBZ+LEV-PLGA-NPs (i.p.) gruplarına uygulanan süspansiyonların K1 ve K2 gruplarına uygulanan çözeltilere kıyasla anlamlı düzeyde nöbet skorlarını düşürerek antiepileptik aktivite gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Aynı şekilde, KBZ (i.p.) ve KBZ+LEV (i.p.) gruplarında LEV (i.p.) grubuna göre nöbet skorlarında istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalma saptanırken ($p<0.05$), KBZ+LEV (i.p.) ve KBZ (i.p.) gruplarının nöbet skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Ayrıca, KBZ+LEV-PLGA-NPs (i.p.) grubu B-PLGA-NPs (i.p.) grubu ile kıyaslandığında antiepileptik aktivitede anlamlı düzeyde artış saptanmıştır ($p<0.05$). Bunun yanında, KBZ+LEV-PLGA-NPs (i.p.) ve KBZ+LEV (i.p.) grupları kıyaslandığında benzer antiepileptik aktivite gösterdikleri bulunmuştur ($p>0.05$).

Mansouri ve ark.¹⁶⁷ sıçanlar üzerinde PTZ ile tekrarlayan nöbet modeli oluşturarak tamoksifenin nöbet skorları ve sinir sistemi üzerine etkilerini altı gün süresince incelemişlerdir. Günler içerisinde ilaç uygulanan gruplarda nöbet skorlarında düşüş meydana geldiği saptanmıştır. Bunun yanında, ilaç uygulanmayan kontrol gruplarında da nöbet skorlarında düşme olduğu tespit edilmiştir. Bizim yaptığımız *in vivo* çalışmada da kontrol (K1 ve K2) gruplarında günler içinde nöbet skorlarında azalma kaydedilmiştir.



Şekil 4.58. Çözelti veya süspansiyonların gavaj ile uygulandığı grupların nöbet skorları

DB-ADT formülasyonunun değerlendirilmesi amacıyla çözelti ve süspansiyonların oral uygulandığı grupların nöbet skorları 1. günde değerlendirildiğinde (Şekil 4.58), etkin maddelerin ve etkin madde içeren formülasyonların uygulandığı bütün gruplarda K1 grubuna kıyasla nöbet skorlarında istatistiksel açıdan anlamlı seviyede düşüş saptanırken, LEV (oral) grubu haricinde etkin maddeleri içeren tüm grupların K2 grubuna göre nöbet skorlarında istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalma tespit edilmiştir ($p<0.05$). Aynı şekilde, KBZ (oral) ve KBZ+LEV (oral) gruplarının LEV (oral) grubuna kıyasla ve KBZ+LEV (oral) grubunun KBZ (oral) grubuna kıyasla istatistiksel açıdan nöbet skorlarında anlamlı düzeyde düşüş saptanmıştır ($p<0.05$). Aynı şekilde, DB-YM (oral) grubuna kıyasla DB-ADT (oral) grubundaki nöbet skorlarındaki düşüş istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir ($p<0.05$). Ancak, saf etkin maddelerin kombine halde uygulandığı KBZ+LEV (oral) grubunda DB-ADT (oral) grubuna göre nöbet skorlarında azalma saptanmıştır, ancak nöbet skorlarındaki bu düşüşün istatistiksel olarak anlamsız olduğu tespit edilmiştir ($p>0.05$). Nöbet skorları 2. günde değerlendirildiğinde, etkin maddelerin ve etkin madde içeren formülasyonların uygulandığı bütün gruplarda K1 grubuna kıyasla nöbet skorlarında istatistiksel açıdan anlamlı seviyede düşüş saptanırken, LEV (oral) grubu haricinde etkin maddeleri içeren tüm grupların K2 grubuna göre nöbet skorlarında istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalma saptanmıştır ($p<0.05$). KBZ (oral) grubunda LEV (oral) grubuna göre ve KBZ+LEV (oral) grubunda KBZ (oral) grubuna kıyasla nöbet skorlarında istatistiksel açıdan anlamlı olmayan düzeyde düşüş ($p>0.05$), KBZ+LEV (oral) grubunda ise LEV (oral) grubuna göre nöbet skorlarında anlamlı seviyede azalma tespit edilmiştir ($p<0.05$). Ayrıca, DB-YM (oral) grubuna göre DB-ADT (oral) grubunda nöbet skorlarında anlamlı düzeyde düşüş saptanırken ($p<0.05$), KBZ+LEV (oral) ve DB-ADT (oral) gruplarındaki nöbet skorlarını düşürmedeki etki farklılıklarının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı

tespit edilmiştir ($p>0.05$). 3. gün sonuçları değerlendirildiğinde, etkin maddelerin ve etkin madde içeren formülasyonların uygulandığı tüm grupların K1 grubuna göre nöbet skorlarında anlamlı seviyede düşüş saptanmıştır ($p<0.05$). LEV (oral) ve KBZ+LEV (oral) gruplarında K2 grubuna göre nöbet skorlarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma ($p<0.05$), ancak KBZ (oral) grubunun nöbet skorlarındaki azalmanın anlamlı seviyede olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). DB-ADT formülasyonunun antiepileptik aktivitesinin DB-YM (oral)’in uygulandığı gruba kıyasla daha fazla olduğu, ancak bu farklılığın istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptanmıştır ($p>0.05$). Ancak, etkin maddelerin saf halde uygulandığı KBZ+LEV (oral) grubu DB-ADT (oral) grubu ile kıyaslandığında, anlamlı düzeyde antiepileptik aktivitenin arttığı saptanmıştır ($p<0.05$).

4. gün sonuçları değerlendirildiğinde, etkin maddelerin ve etkin madde içeren formülasyonların uygulandığı tüm gruplarda K1 ve K2 gruplarına kıyasla nöbet skorlarında düşüş meydana gelmiştir. Ancak, sadece KBZ+LEV (oral) grubunda K1 ve K2 gruplarına göre nöbet skorlarında istatistiksel açıdan anlamlı seviyede düşüş saptanmıştır ($p<0.05$). KBZ+LEV (oral) grubunda LEV (oral) ve KBZ (oral) gruplarına kıyasla antiepileptik aktivitenin arttığı, ancak bu farklılığın istatistiksel olarak anlamsız olduğu görülmüştür ($p>0.05$). Aynı şekilde, DB-YM (oral) ve DB-ADT (oral) grubu ile kıyaslandığında, DB-ADT formülasyonunun nöbet skorlarında düşmeye neden olduğu, ancak bu farklılığın istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptanmıştır ($p>0.05$).

5. günde, K1 ve K2 gruplarına göre etkin maddelerin ve etkin madde içeren formülasyonların uygulandığı tüm grupların nöbet skorlarında düşüş gözlenmiştir. Ancak, sadece LEV (oral) ve KBZ+LEV (oral) gruplarının K1 ve K2 gruplarına göre nöbet skorlarında istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde düşüş tespit edilmiştir ($p<0.05$). KBZ+LEV (oral) grubu LEV (oral) ve KBZ (oral) grubu ile kıyaslandığında, KBZ ve LEV’in bir arada uygulanmasıyla nöbet skorlarının daha çok düştüğü, antiepileptik aktivitenin arttığı,

ancak gruplar arasındaki bu farklılığın istatistiksel açıdan anlamsız olduğu tespit edilmiştir ($p>0.05$). Aynı şekilde, KBZ+LEV (oral) grubu için elde edilen nöbet skorları DB-ADT (oral) grubuna göre düşmesine rağmen bu farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptanmıştır ($p>0.05$).



5. TARTIŞMA

Epilepsi, tekrarlayan nöbetlerle karakterize, uzun süreli tedavi gerektiren ve yaklaşık 50 milyon insanı etkileyen ve dünyada en sık görülen nörolojik hastalıklardan birisidir.⁵ Epilepsi tedavisinde merkezi sinir sistemindeki nöronların anormal veya aşırı uyarılmasının ortadan kaldırılmasıyla nöbetlerin kontrol altına alınarak sıklığının azaltılması veya tamamen yok edilmesi hedeflenmektedir. Bu amaçla en sık kullanılan yöntem AEİ'lerin kullanılmasıdır. AEİ'lerin çoğunluğu, Na⁺ veya Ca⁺² kanalı veya GABAerjik iletim yoluyla antiepileptik etkilerini gerçekleştirirler. Bu ana etki bölgelerinin dışında LEV, perampanel gibi bazı antiepileptik etkin maddeler ise farklı özgün bağlanma alanlarına (SV2A, iyonotropik glutamat reseptörü, alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol-propiyonik asit (AMPA)) ve özgün etki profillerine sahiptirler.^{18, 168}

Sodyum kanallarını bloke ederek antiepileptik aktivite gösteren, 1965 yılında İngiltere'de ruhsatlandırılarak epilepsi tedavisinde kullanılmaya başlanan, BCS'ye göre Sınıf 2'de yer alan yani yüksek permeabiliteye ve suda düşük çözünürlüğe sahip olan KBZ, oral yolla kullanım sonrası yavaş ve düzensiz bir şekilde gastrointestinal sistemden emilir. Oral biyoyararlanımı %85-100 arasında değişir. Karaciğerde (özellikle sitokrom P450 izoenzimleri CYP3A4 ve CYP2C8 tarafından) yoğun bir şekilde metabolize edilir.^{20, 25(s.512-518)}

Antiepileptik aktivitesini SV2A (sinaptik vezikül proteini)'ya bağlanarak sinaptik salım mekanizmalarını etkileyerek gösteren, 1999 senesinde FDA tarafından onaylanan, çözünürlüğü ve permeabilitesi yüksek olan LEV (BCS Sınıf 1) oral yolla kullanım sonrası gastrointestinal sistemden hızla emilir, mutlak oral biyoyararlanımı yaklaşık %100'dür. İnsanlarda yaygın bir şekilde metabolize olmayan LEV'in primer metabolitinin (ucb L057) oluşmasında karaciğer sitokrom P450 rol oynamaz.^{25(s.531-532), 50, 51}

Epilepsinin ilaçla tedavisinde hastaların yaklaşık üçte biri monoterapiye yanıt vermediğinden ilaca dirençli kabul edilmektedir. Farklı mekanizmalarla etki gösteren AEİ'lerin kombinasyonu ile aditif veya sinerjik etki sağlanması sonucu ilaç dozunun ve yan etkilerinin azaltılarak epileptik nöbetlerin kontrol altına alınması hedeflenmektedir.¹⁶⁹

Perry ve ark.¹⁷⁰ parsiyel epilepsi tanısı almış çocuklar (<16 yaş) üzerinde KBZ (n=20) ve LEV (n=66)'in antiepileptik aktivitesini altı ay süresince klinik olarak değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda, KBZ kullanan hastaların %65'inin, LEV kullanan hastaların ise %73'ünün nöbet geçirmediği raporlanmıştır.

Brodie ve ark.¹⁷¹ KBZ (kontrollü salım) ve LEV'in etkinliğini ve tolare edilebilirliğini yeni teşhis konmuş yetişkin hastalar üzerinde altı ay süresince değerlendirmişlerdir. Bu amaçla, gerekiyorsa kademeli olarak KBZ'nin dozu 1200 mg/gün ve LEV'in dozu 3000 mg/gün'e kadar çıkartılarak parsiyel veya jeneralize tonik klonik nöbet teşhisi konmuş hastalara monoterapi olarak uygulanmıştır. Sonuç olarak, KBZ kullanan hastaların %72.8'inin ve LEV kullanan hastaların %73'ünün 6 ay boyunca nöbet geçirmediği saptanmıştır. Yeni epilepsi tanısı konan hastalar üzerinde KBZ'nin (kontrollü salım) ve LEV'in benzer ölçüde nöbetleri engellediği belirtilmiştir.

Suresh ve ark.¹⁷² KBZ ve LEV'in etkinliğini ve güvenilirliğini parsiyel epilepsi tanısı yeni konmuş hastalarda (16-60 yaş) altı ay süresince değerlendirmişlerdir. KBZ 400 mg/gün/oral ve LEV 1000 mg/gün/oral dozunda uygulanmaya başlanmış ve nöbetlerin kontrol altına alınamadığı durumda KBZ 1200 mg/gün/oral ve LEV 3000 mg/gün/oral dozuna çıkartılarak monoterapi olarak uygulanmıştır. Sonuç olarak, KBZ kullanan hastaların %71.42'sinin ve LEV kullanan hastaların %78.57'sinin 6 ay boyunca nöbet geçirmediği saptanmıştır. Ayrıca, her iki ilaç grubunu kullanan hastaların benzer istenmeyen yan etkiler (bulantı, kusma, baş dönmesi, vb.) gösterdiği saptanmıştır.

Yapılan literatür taramasında, KBZ içeren farklı ilaç taşıyıcı sistemlerin (nano-lipit taşıyıcı sistemler¹⁵⁹, katı lipit nanopartikülleri^{159, 173, 174} PLGA nanopartikülleri¹⁷⁵, Gözenekli Eudragit RLPO mikroküreleri¹⁷⁶, nanoemülsiyon¹⁷⁷, nanoemülsiyon-jel¹⁷⁸, kendiliğinden makro/nano-emülsifiye sistem formülasyonları¹⁷⁹, nanokristal¹⁸⁰ ve nanofiber¹⁸¹ vb.) ve farklı tablet formülasyonlarının (ağızda dağılan/hızlı çözünen tablet^{28, 182, 183}, çiğneme tableti¹⁸⁴, sürekli salım tableti¹⁸⁵ vb.) geliştirildiği görülmüştür. LEV'in ise PLGA implant/taşıyıcı formülasyonları¹⁸⁶⁻¹⁸⁸, 3D baskılama tekniği ile hazırlanmış ağızda dağılan tablet¹⁸⁹, uzatılmış/sürekli salım¹⁹⁰ ve hemen salım yapan tabletleri¹⁹¹ geliştirilmiştir.

Literatürde, KBZ ve LEV'in bir arada kullanılmasıyla sinerjik veya aditif antiepileptik etki elde edildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur.^{60, 170, 192-194} Ancak, KBZ ve LEV'i bir arada içeren herhangi bir formülasyonun geliştirilmesine yönelik bir çalışma bulunamamıştır.

Bu tez çalışması ile KBZ ve LEV'i bir arada içeren nanopartikül ve ADT formülasyonlarının geliştirilmesi ve karakterizasyon çalışmalarının gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla, öncelikle, etkin maddelerin UV spektrumları alınmış ve maksimum absorbansın elde edildiği dalga boyları KBZ için ~225 nm ve ~285 nm olarak, LEV içinse 201 nm olarak tespit edilmiştir. LEV ve KBZ için çalışmamızda elde edilen UV spektrumları literatürle uyumludur.¹⁹⁵⁻¹⁹⁷ LEV ve KBZ'nin miktar tayinleri için farklı dalga boylarında (LEV için: 200 nm¹⁹⁸, 205 nm¹⁹⁹, 209 nm¹⁹⁵, 210 nm¹⁹⁶, 230 nm¹¹⁵; KBZ için: 220 nm²⁰⁰, 230 nm¹¹⁵, 284 nm²⁰¹ ve 286 nm²⁰²) çalışıldığı yapılan literatür taramasında görülmüştür. İbrahim ve ark.¹¹⁵ tarafından yayımlanan makale de baz alınarak tez çalışmamızda, KBZ ve LEV'in eş zamanlı analizini gerçekleştirmek için dalga boyu 230 nm olarak seçilmiştir.

Etkin maddelerin miktar tayinini gerçekleştirmek amacıyla HPLC kullanılmış ve geliştirilen analitik yöntemin geçerliliği (doğrusallık ve çalışma aralığı, doğruluk, kesinlik, LOD ve LOQ, özgüllük ve stabilite açısından) değerlendirilmiştir. Geliştirilen analitik yöntemde KBZ ve LEV için tanımlayıcı katsayıları sırasıyla 0.99994 ve 0.99996 olarak tayin edilmiş ve etkin maddelerin standart çözeltilerinin kalibrasyon doğrularına ait eğimler karşılaştırıldığında ise, VK değerleri $<1\%$ olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak geliştirilen analitik yöntemin doğrusallık parametresini sağladığı gösterilmiştir.¹²⁰ Gün içi ve günler arası doğruluk (% BH) ve kesinlik (VK) parametreleri değerlendirilmiş (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2), KBZ için, gün içi ve günler arası % BH değerlerinin sırasıyla %0.015-1.774 ve %0.156-1.061 aralığında olduğu LEV içinse, gün içi ve günler arası % BH değerleri sırasıyla %0.415-1.518 ve %-0.109-1.785 aralığında saptanmıştır. KBZ için, gün içi ve günler arası VK değerleri sırasıyla %0.261-1.341 ve %0.466-1.032 aralığında, LEV için ise, gün içi ve günler arası VK değerleri sırasıyla %0.822-1.704 ve %0.135-0.910 aralığında bulunmuştur. Ayrıca, enjeksiyon tekrar edilebilirliği parametresi VK değeri ile değerlendirilmiş, KBZ ve LEV için sırasıyla %0.076-0.420 ve %0.368-0.887 aralığında bulunmuştur (Tablo 4.3). Sonuçta % BH ve VK değerleri %2'nin altında tespit edilmiş ve geliştirilen analitik yöntemin kesinlik ve doğruluk parametrelerini sağladığı gösterilmiştir.¹²⁰ LOD ve LOQ değerleri KBZ için sırasıyla 0.026 µg/mL ve 0.078 µg/mL; LEV içinse sırasıyla 0.036 µg/mL ve 0.110 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Özgüllük parametresi, analiz edilecek etkin maddeler ile formülasyonlara giren yardımcı maddeler arasında herhangi bir girişim olup olmadığını tespit etmek amacıyla yapılmış ve analitik yöntemin KBZ ve LEV'e özgül olduğu saptanmıştır (Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9). Stabilite tayininde, KBZ ve LEV'in standart çözeltilerindeki miktarları farklı sıcaklıklarda (-20, +4 ve 25 °C'lerde) ve farklı günlerde (1., 2., 3., 7. ve 14. günlerde) tayin edilmiştir. Sonuçta, stabilite parametresi VK değerleri ile

değerlendirilmiş ve VK değeri $<2\%$ ise çözelti dayanıklı kabul edilmiştir (Tablo 4.4, Tablo 4.5 ve Tablo 4.6). $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de, KBZ ve LEV çözeltilerinin en az ondört gün süresince dayanıklı kaldığı bulunmuştur. $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de elde edilen bu sonuçlar KBZ^{203, 204} ve LEV^{205, 206} için literatürle uyum göstermektedir. $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de, KBZ çözeltilerinin yedi gün dayanıklı kaldığı LEV çözeltilerinin ise üç gün dayanıklı kaldığı bulunmuştur. $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de elde edilen bu sonuçlar KBZ^{203, 207, 208} ve LEV^{205, 209} için literatürle uyum göstermektedir. $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de, KBZ ve LEV çözeltilerinin iki gün dayanıklı kaldığı bulunmuştur. $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de elde edilen bu sonuçlar KBZ²¹⁰ ve LEV^{68, 211, 212} için literatürle uyum göstermektedir. Bu nedenle, LEV ve KBZ çözeltileri her defasında taze hazırlanarak kullanılmıştır.

Sonuç olarak, KBZ ve LEV için geliştirilen analitik yöntemin geçerliliği gösterilmiştir.

Bu çalışmada, nanopartikül formülasyonu modifiye edilmiş nanopresipitasyon yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Bu yöntemin esası, polimeri çözecek olan organik çözücünün tamamen suyla karışabilmesi ve iki faz karışıktan sonra çözünmüş olan materyalin nanoboyutta çökmesine (presipitasyonuna) dayanmaktadır. Bu amaçla, PLGA (50:50) polimer olarak, Pluronic F127 stabilize edici ajan olarak ve aseton ise organik faz olarak seçilerek kullanılmıştır. PLGA, FDA tarafından onaylı, toksik olmayan, biyouyumlu ve biyoparçalanabilir, ilaç taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında yaygın bir şekilde kullanılan sentetik bir polimerdir. PLGA (50:50) kopolimeri, %50 oranında PLA ve %50 oranında PGA'dan oluşmaktadır. PLGA hidroliz ile laktik asit ve glikolik asite parçalanmakta, Krebs döngüsü ile CO_2 ve H_2O şeklinde böbreklerden atılmaktadır. PLGA'yı oluşturan PLA oranı azaldıkça hidrofilik özellik artmakta ve daha hızlı hidrolize olmaktadır. PLA:PGA oranı PLGA'nın fizikokimyasal özelliklerini etkileyerek, hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemlerin etkin madde salımını belirlemektedir.^{95, 96,}

Pluronic F127 ticari ismiyle bilinen poloksamer 407, özellikle ilaç salım sistemlerinde stabilizan ve jel yapıcı ajan olarak kullanılan, FDA tarafından onaylı, düşük toksisiteye sahip non-iyonik blok kopolimeridir. Pluronic F127 hidrofilik blok poli (etilen oksit) (PEO) ve hidrofobik poli (propilen oksit) (PPO) monomerlerinden oluşmuş amfifilik yapıya sahip bir yüzey aktif maddedir. Hidrofobik PPO zincirleri partikül yüzeyleri üzerine adsorbe olurken, hidrofilik PEO zincirleri, yüzeyden sulu ortama doğru çekilerek stabilize edici bir tabaka oluşturmaktadır. Nanopartikül formülasyonuna giren Pluronic F127 miktarı, hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemlerin etkin madde salımı, partikül boyutu gibi özelliklerini etkilemektedir.²¹⁴⁻²¹⁶ Menon ve ark.²¹⁷ PVA ve Pluronic F127 stabilizanlarını kullanarak nanopresipitasyon yöntemi ile doksurubisin yüklü PLGA nanopartiküllerini hazırlamışlardır. PVA ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğünün 157 nm, Pluronic F127 kullanılarak hazırlanan nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğünün ise 150 nm olduğunu bulmuşlardır. Aynı zamanda, insan dermal fibroblast hücrelerinde ve insan aortik düz kas hücrelerinde Pluronic L64, Pluronic P65, Pluronic P85, Pluronic F127 ve PVA'nın sitotoksik etkileri incelenmiş ve test edilen Pluronic'ler arasında Pluronic F127'nin en az sitotoksik etkiye sahip olduğu ve bu nedenle nanopartiküllerin hazırlanması için Pluronic F127'nin kullanıldığı ifade edilmiştir. Diğer bir makalede ise, PLGA nanopartiküllerinin hazırlanmasında PVA stabilizan olarak kullanıldığında, PVA kalıntılarının nanopartiküllerin yüzeyinden uzaklaştırılmasının zor olduğu ve bu durumunda nispeten daha düşük bir hücresel alıma neden olduğu belirtilmiştir. Polimerik nanopartiküllerin hazırlanmasında oldukça tercih edilen PVA yerine poloksomerler gibi diğer stabilizanların kullanılmasının alternatif olarak düşünülmesi gerektiği de ifade edilmiştir.²¹⁸

Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının ortalama partikül büyüklüğü ve PDI değerleri tespit edilmiş (Tablo 4.7) ve sırasıyla KBZ+LEV-PLGA-NPs için 180.62 ± 6.260

nm ve 0.107 ± 0.030 ; B-PLGA-NPs içinse 171.92 ± 4.637 nm ve 0.104 ± 0.011 olarak bulunmuştur. KBZ+LEV-yüklü nanopartiküllerin partikül büyüklüğü boş nanopartiküllere göre biraz büyük olarak tespit edilmiş olmasına rağmen, formülasyonların partikül büyüklükleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır ($p > 0.05$). Elde edilen bulgular literatürle uyumludur.²¹⁹

Kolloidal süspansiyonların fiziksel stabiliteilerinin değerlendirilmesi açısından zeta potansiyel ölçümü önemlidir. Hazırlanan formülasyonların zeta potansiyeli değerleri KBZ+LEV-PLGA-NPs için -27.08 ± 3.110 mV ve B-PLGA-NPs için -20.28 ± 2.992 mV olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.7). Hazırlanan formülasyonlar zeta potansiyeli açısından istatistiksel olarak karşılaştırıldığında KBZ+LEV-PLGA-NPs ve B-PLGA-NPs formülasyonları arasında anlamlı bir fark görülmüştür ($p < 0.05$). Ölçülen ZP değerlerinin negatif olması PLGA zincirlerindeki karboksilik gruplardan kaynaklanmaktadır. Bu zayıf asit grupları ve elektrokinetik davranışları partiküllerin kolloidal stabilitesine katkı sağlar.^{220, 221} Negatif ZP değeri ve non-iyonik yüzey aktif madde varlığı partiküller arasında elektrostatik ve sterik engel oluşturmakta ve partiküllerin agregasyonunu önleyerek stabiliteilerini artırmaktadır.²²²

Kumar ve ark.²²³ yaptıkları çalışmada KBZ etkin maddesini 5 mM ve 25 mM olacak şekilde kullanarak iki farklı nanopartikül formülasyonu hazırlamışlar ve formülasyonlardaki KBZ miktarındaki artış ile ZP değerinin negatif yönde arttığı sonucuna ulaşmışlardır. Hazırladığımız KBZ+LEV-PLGA-NPs ve B-PLGA-NPs formülasyonları ZP değerleri açısından kıyaslandığında, KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonundaki negatif yük artışının literatürle uyumlu olduğu görülmektedir.

Şengel Türk ve ark.²²⁴ Pluronic F127 (%2 a/h)'yi kullanarak PLGA nanopartikülleri hazırlamışlar ve ZP değerini -27.1 ± 0.672 mV olarak tespit etmişlerdir.

Alai ve ark.²²⁵ ise lansoprazol-yüklü PLGA ve Eudragit RS100 nanopartiküllerini hazırlamışlar ve ZP değerlerini sırasıyla -27.3 ± 0.672 mV ve $+38.5 \pm 0.3$ mV olarak saptamışlardır.

Hazırlanan KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonunun KBZ ve LEV için % EE ve % YK değerleri tespit edilmiştir (Tablo 4.8). KBZ ve LEV için % EE değerleri sırasıyla 51.00 ± 5.944 ve 2.05 ± 0.367 iken, % YK değerleri sırasıyla 3.89 ± 0.429 ve 0.16 ± 0.026 olarak saptanmıştır.

Hazırlanan KBZ+LEV-PLGA-NPs ve B-PLGA-NPs formülasyonlarının hazırlama verimi bulguları sırasıyla 77.12 ± 1.597 ve 68.85 ± 2.491 olarak bulunmuştur (Tablo 4.8). Etkin madde yüklü ve boş nanopartikül formülasyonlarının hazırlama verimleri birbirleri ile istatistiksel olarak kıyaslandığında formülasyonlar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0.05$).

Yayımlanan bir çalışmada KBZ-yüklü PLGA nanopartikülleri yüksek basınçlı homojenizasyon (emülsiyon oluşturma)-çözücü buharlaştırma yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Etkin madde:polimer oranı 1:10 (a/a) olarak seçilmiş ve %65-70 aralığında % EE değerleri elde edilmiştir.²²⁶

Tummala ve ark.¹⁷⁵ KBZ-yüklü PLGA nanopartiküllerini emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemini kullanarak hazırlamışlardır. Etkin madde:polimer oranında polimer oranı arttıkça (1:1-1:5) % EE düştüğünü belirtmişlerdir (yaklaşık %31-64).

Gupta ve ark.²²⁷ hidrofobik sparfloksazin etkin maddesini ve PLGA (50:50) polimerini farklı oranlarda (1:1, 1:2, 1:5, 1:10, 1:20) kullanarak, nanopresipitasyon yöntemiyle PLGA nanopartikül formülasyonları hazırlamışlar ve % EE değerlerini 25.18 ± 1.2 - 86.60 ± 1.8 aralığında bulmuşlardır. Ayrıca, etkin madde:polimer oranının 1:10 olduğu formülasyonda hazırlama verimi %70 olarak tespit edilmiştir.

Jawahar ve ark.²²⁸ da hidrofobik ramipril etkin maddesi için 125 ve 250 mg PLGA (50:50) ve Pluronic F68 (100 mg ve 200 mg) kullanarak nanopresipitasyon yöntemiyle nanopartikül hazırlamışlardır ve % EE değerini %68.28-77.16 aralığında bulmuşlardır.

Govender ve ark.¹²⁷ hidrofilik prokain HCl etkin maddesini kullanarak nanopresipitasyon yöntemiyle PLGA nanopartiküllerini hazırlamışlar ve etkin madde miktarının % EE, % YK ve hazırlama verimi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Sonuçta, % EE'yi %6.3-14.5 aralığında, % YK'yi %0.2-4.6 aralığında ve hazırlama verimini %13.6-92.3 aralığında bulmuşlardır. Formülasyona ilave edilen etkin madde miktarı arttıkça etkin maddenin sulu faza kaçma eğiliminin arttığı, buna bağlı olarak hazırlama veriminin ve % EE değerinin azaldığı, % YK değerinin ise arttığı saptanmıştır.

KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonunun *in vitro* salım çalışması için öncelikle Sink koşulun sağlanması gerekmektedir. Sink koşul, çözünme ortamındaki bir etkin maddenin doygunluk konsantrasyonunun, bu etkin maddenin çözünme ortamındaki konsantrasyonunun en az üç katı olması durumudur.²²⁹ Bu amaçla, hidrofobik bir etkin madde olan KBZ için çözünürlük çalışması, Tween 80 (%0-10) içeren farklı ortamlarda (distile su, PB pH 6.8 ve PB pH 7.4) gerçekleştirilmiştir. Elde edilen çözünürlük çalışması bulguları (Şekil 4.10) incelendiğinde, %10 Tween 80 kullanıldığında daha yüksek KBZ çözünürlüğünün gerçekleştiği ve ayrıca, %10 Tween 80 içeren üç farklı ortamda da benzer çözünürlük sonuçları elde edilmekle birlikte en yüksek çözünürlüğün PB pH 7.4 ortamında elde edildiği görülmüştür. Sonuç olarak, literatürle^{128, 175} de uyumlu olarak Sink koşulun sağlandığı 20 mL PB (pH 7.4) salım ortamı olarak seçilmiştir.

KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonu için elde edilen *in vitro* salım bulguları değerlendirildiğinde; nanopartikül formülasyonundan yaklaşık 30 dk.'da %11, 48 sa.'te %90 KBZ salımı gerçekleşmiştir. Ayrıca, nanopartiküllerden hidrofilik bir etkin madde olan LEV'in %80'i 30 dk.'da, %100'ü ise 3 sa.'te salınmıştır (Şekil 4.17). Elde edilen

bulgulara bakıldığında nanopartiküllerin yüzeyinde tutunan LEV ve KBZ (LEV'e göre çok daha düşük olmakla birlikte) için ani bir salımın elde edildiği görülmektedir (Şekil 4.17). Bu durum PLGA nanopartiküllerinde sıklıkla görülen bir durumdur. Bu sistemlerin yüzeyinde tutunan ve salım ortamı ile temas eden etkin madde için öncelikle ani bir salımın daha sonra ise nanopartiküle hapsedilen etkin maddenin sürekli salımının gerçekleştiği iki fazlı bir salım grafiği elde edilmektedir.^{96, 230} KBZ için nanopartiküllerden ani bir salımı takiben sürekli bir etkin madde salımının gerçekleştiği görülmüştür (Şekil 4.17).

Barakat ve Radwan²³¹ KBZ-yüklü PLGA mikrokürelerini hazırlamışlar ve gerçekleştirdikleri salım çalışmasında KBZ için iki fazlı bir salım grafiği (ani bir salımı takiben yavaş bir salım) elde etmişlerdir.

Tummala ve ark.¹⁷⁵'in hazırladığı KBZ-yüklü PLGA nanopartiküllerinden KBZ'nin %50'si 4 sa. ve yaklaşık % 90'ı ise 24 sa. içinde salımmıştır. Yüzeyde tutunan KBZ'nin ani bir salıma neden olduğu ve bu salımı sonrası uzatılmış bir salım elde edildiği belirtilmiştir. Diğer bir çalışmada ise, KBZ-yüklü PLGA nanopartiküllerinin hazırlandığı ve nanopartiküllerden hızlı bir KBZ salımı elde edildiği ifade edilmiştir.²²⁶

Hidrofilik prokain HCl-yüklü PLGA (50:50) nanopartiküllerinin nanopresipitasyon yöntemiyle hazırlandığı bir çalışmada ise ilk 15 dk.'da yaklaşık %65 oranında etkin madde salımı gerçekleşmiş ve etkin madde salımı 4-6 sa.'te tamamlanmıştır.¹²⁷ Nano-boyuttaki partiküllerin (209.5 ± 2.7 nm) yüzey alanının fazla olması sonucu nanopartikül yüzeyine hidrofilik etkin maddenin tutunduğu ve bu durumun hızlı bir etkin madde salımına neden olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca, hızlı etkin madde salımının olası nedenlerinden birisinin de prokain HCl'nin sudaki çözünürlüğü olduğu belirtilmiştir.¹²⁷

FT-IR analizi, çeşitli fonksiyonel grupların titreşim frekanslarının ölçülmesi ile bileşiklerin tanımlanması ve yapısal özelliklerinin saptanmasında, ayrıca, etkin madde/maddeler ile diğer formülasyon bileşenleri arasında herhangi bir etkileşimin olup olmadığının tespitinde kullanılmaktadır. Yapılan FT-IR analizi ile KBZ, LEV ve NP formülasyon bileşenleri arasında herhangi bir etkileşim olup olmadığı incelenmiştir. KBZ'nin FT-IR spektrumu (Şekil 4.18) incelendiğinde, 1380.9 cm^{-1} 'de -NH deformasyon titreşimi, 1488.9 cm^{-1} 'de -C=C gerilme titreşimi, 1593.0 cm^{-1} ve 1604.6 cm^{-1} 'de -NH₂ eğilme titreşimi, 1674.0 cm^{-1} 'de -CONH₂ grubuna ait -C=O gerilme titreşimi, 3080.0 cm^{-1} ve 3155.2 cm^{-1} 'de aromatik yapıda -C-H gerilme titreşimi, 3280.6 cm^{-1} ve 3340.4 cm^{-1} 'de -CONH grubuna ait gerilme titreşimleri, 3463.8 cm^{-1} 'de -NH₂ fonksiyonel grubuna ait gerilme titreşimleri tespit edilmiştir. Bu veriler literatür sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.^{28, 232-234}

LEV'in FT-IR spektrumunda (Şekil 4.19), 636.4 cm^{-1} ve 700.1 cm^{-1} 'de düzlem dışı -NH'ye ait sallanma titreşimleri, 1083.9 cm^{-1} ve 1338.5 cm^{-1} 'de -C-N fonksiyonel grubuna ait gerilme titreşimleri, 1429.1 cm^{-1} 'de -C-H'ye ait eğilme titreşimi, 1645.1 cm^{-1} 'de -C=O grubuna ait gerilme titreşimi, 1292.2 cm^{-1} , 2894.8 cm^{-1} , 2939.2 cm^{-1} ve 3176.4 cm^{-1} 'de -C-H grubuna ait gerilme titreşimleri, 3351.9 cm^{-1} 'de -NH₂ fonksiyonel grubuna ait gerilme titreşimi tespit edilmiştir. Bu veriler literatür sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.²³⁵⁻²³⁸

PLGA (50:50)'nın FT-IR spektrumunda (Şekil 4.20), 1753.0 cm^{-1} 'de -C=O'ya ait gerilme titreşimi, 2995.1 cm^{-1} , 2949.3 cm^{-1} ve 2882.4 cm^{-1} 'de -C-H grubuna ait gerilme titreşimleri, 1130.0 cm^{-1} ve 1090.4 cm^{-1} 'de -C-O grubuna ait gerilme titreşimleri, 1422.7 - 847.3 cm^{-1} aralığında -C-H'ye ait eğilme titreşimleri tespit edilmiştir. Bu veriler literatür sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.^{239, 240}

Pluronic F127'nin FT-IR spektrumunda (Şekil 4.21), 2880.3 cm^{-1} 'de -C-H'ye ait alifatik gerilme titreşimi, 1342.0 cm^{-1} 'de -O-H grubuna ait düzlemsel eğilme titreşimi, 1278.8 cm^{-1} 'de -CH₂'ye ait eğilme titreşimi, 1099.0 cm^{-1} 'de -C-O grubuna ait gerilme titreşimi tespit edilmiştir. Bu veriler literatür sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.^{241, 242}

B-PLGA-NPs ve KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonlarına ait FT-IR spektrumları (Şekil 4.22-Şekil 4.23) incelendiğinde, KBZ ve LEV'in nanopartikül formülasyonunda karakteristik pikler vermediği, B-PLGA-NPs ve KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonlarının benzer spektrumlara sahip olduğu ve herhangi bir etkileşimin olmadığı saptanmıştır. Bu veriler literatür sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.^{231, 243}

KBZ, LEV ve NP formülasyon bileşenleri arasında herhangi bir etkileşim olup olmadığını tespit etmek üzere DSC analizleri de gerçekleştirilmiştir. Dört farklı polimorfa (Form I, II, III, IV)³⁰ sahip KBZ'nin DSC termogramı (Şekil 4.25) incelendiğinde, Form III polimorfunun erime noktasına ait endotermik pik 169.59 °C'de Form I polimorfunun erime noktasına ait endotermik pik ise 191.75 °C'de tespit edilmiştir. Bu veriler literatür sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.^{30, 223, 244}

LEV'in DSC termogramı (Şekil 4.26) incelendiğinde, 118.64 °C'de erime noktasına ait endotermik bir pik tespit edilmiş ve elde edilen bu verinin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.^{188, 245}

PLGA (50:50)'nın DSC termogramında (Şekil 4.27), 51.59 °C'de PLGA'nın Tg'sine ait endotermik bir pik tespit edilmiş ve elde edilen bu verinin literatürle uyumlu olduğu görülmüştür.²⁴⁶⁻²⁴⁸

Pluronic F127'nin DSC termogramında (Şekil 4.28) 55.59 °C'de erime noktasından kaynaklanan endotermik bir pik tespit edilmiş ve elde edilen bu verinin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.^{249, 250}

B-PLGA-NPs ve KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonlarına ait DSC termogramları (Şekil 4.29 ve Şekil 4.30) karşılaştırıldığında, etkin maddelerin nanopartikül formülasyonunda karakteristik pikler vermediği, benzer termogramlara sahip oldukları görülmüş ve polimerik matriks içinde KBZ ve LEV'in moleküler seviyede dağıldığı anlaşılmıştır.

Mainardes ve ark.²⁵¹ prazikuantel yüklü PLGA nanopartikül ve boş nanopartikül formülasyonlarını hazırlayarak etkin madde ile formülasyon arasında herhangi bir etkileşim olup olmadığını incelemişlerdir. DSC analizi sonucunda, saf prazikuantelin DSC termogramında görülen piklerin etkin madde yüklü nanopartikül formülasyonunda görülmediği, boş ve etkin madde yüklü nanopartikül formülasyonlarının benzer termogramlara sahip olduğu bulunmuştur. Etkin maddenin nanopartikül formülasyonu ile herhangi bir etkileşime girmeyerek formülasyonda moleküler seviyede dağıldığı belirtilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında, KBZ ve LEV etkin maddelerini içeren nanopartikül formülasyonu geliştirilmesinin yanı sıra, ADT formülasyonları da liyofilizasyon ve direkt basım yöntemleri kullanılarak hazırlanmıştır.

KBZ'nin farklı şekillerde hazırlanan ADT formülasyonları literatürde mevcuttur.^{28, 113, 252-260} Bu çalışmalarda, KBZ etkin maddesi yardımcı maddelerle karıştırılıp direkt basım yöntemiyle²⁵²⁻²⁵⁶, yaş granülasyon yöntemiyle²⁵⁷, β -siklodekstrinle kompleks haline getirildikten sonra yardımcı maddelerle karıştırılıp direkt basım yöntemiyle²⁸, Ocimum basilicum (fesleğen)'un tohumlarının kabuklarından elde edilen müsilaajla ve mikrokristalin selüloz ile ön işlemden geçirildikten sonra yardımcı maddelerle karıştırılıp direkt basım yöntemiyle¹⁸², mannitol, PEG 6000 ve PVP ile ayrı ayrı çözücü buharlaştırma yöntemiyle katı dispersiyon haline getirildikten sonra yardımcı maddelerle karıştırılıp direkt basım yöntemiyle²⁵⁸, PVP-K30 ile çözücü buharlaştırma

yöntemiyle katı dispersiyon haline getirildikten sonra yardımcı maddelerle karıştırılıp direkt basım yöntemiyle²⁵⁹, mannitol ve PEG 6000 ile ayrı ayrı buharlaştırma yöntemiyle katı dispersiyon haline getirildikten sonra yardımcı maddelerle karıştırılıp direkt basım yöntemiyle ADT formülasyonları hazırlanmıştır.²⁶⁰ LEV etkin maddesinin ADT formülasyonu 2015 yılında Aprecia İlaç Sanayi tarafından üç boyutlu baskılama yönteminin patentli teknolojisi Zipdose® kullanılarak üretilmiş ve piyasada yerini almıştır.^{113, 261} Ayrıca, LEV'in direkt basım yöntemiyle hazırlanan ADT formülasyonu da literatürde raporlanmıştır.²⁶² Ancak, iki etkin maddeyi bir arada içeren herhangi bir ADT formülasyonuna literatürde rastlanmamıştır.

Tez çalışması kapsamında LEV ve KBZ'yi içeren L-ADT ve DB-ADT formülasyonları hazırlanmış ve tablet kontrol testleri gerçekleştirilmiştir.

Direkt basım, tablet hazırlanmasında kullanılan diğer yöntemlere (yaş ve kuru granülasyon) kıyasla daha hızlı, daha basit ve daha kolay bir yöntemdir. Direkt basım için toz karışımının akış ve basılabilirlik özelliklerinin uygun olması gerekmektedir. Toz akış özelliklerinin kötü olması içerik tekdüzeliği başta olmak üzere hazırlanan tabletin kalite özelliklerini olumsuz şekilde etkileyecektir. Bu nedenle, toz akış özelliklerini incelemek üzere DB-ADT'ler hazırlanmadan önce formülasyon için hazırlanan toz karışımı üzerinde gerekli kontroller yapılmıştır. Tozların akış özellikleri elektrostatik etkileşim, nem, dansite, partikül büyüklüğü ve şekli gibi faktörlerden etkilenmektedir.²⁶³ DB-ADT formülasyonunu oluşturan toz karışımı üzerinde yığın açısı, akış süresi, basılabilirlik indisi ve Hausner oranı değerleri hesaplanmış ve EP 8.0'a göre değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde (Tablo 4.9); yığın açısı $26.18^{\circ} \pm 0.794$, akış süresi 4.72 ± 0.776 sn, basılabilirlik indisi $\%15.24 \pm 0.764$ ve Hausner oranı 1.18 ± 0.011 olarak tespit edilmiştir. Yığın açısı EP 8.0'a göre $25-30^{\circ}$ aralığında olduğunda toz karışımı "çok iyi akış" göstermekte; basılabilirlik indisi ve Hausner oranı sırasıyla $\%11-15$ ve $1.12-1.18$

olduğunda toz karışımı “iyi akış” göstermektedir.¹³⁷ Ayrıca, 10 sn’nin altında tekrarlanabilir bir akış süresi elde edilmiştir. Elde edilen bulguların EP 8.0’da verilen limitlerle uyumlu olduğu görülmüştür.¹³⁷

Tez çalışması kapsamında hazırlanan hem L-ADT hem de DB-ADT formülasyonları için *in vitro* karakterizasyon çalışmaları (kütle tekdüzeliği, içerik tekdüzeliği, çap, kalınlık, kırılmaya karşı direnç, friyabilite, dağılma, çözünme, ıslanma süresi, su absorplama kapasitesi ve dispersiyon süresi tayini) yapılmıştır. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde (Tablo 4.10), kütle tekdüzeliğinin L-ADT ve DB-ADT formülasyonları için sırasıyla 0.36 ± 0.005 g ve 0.60 ± 0.008 g olduğu, hesaplanan % sapma değerlerinin hiçbirinin %5 sınırını geçmediği ve EP 8.0 ile uyumlu olduğu görülmüştür.¹³⁸ Tabletlerin içerik tekdüzeliği tayininde (Tablo 4.10), L-ADT’ler için 157.04 ± 7.984 mg (KBZ) ve 38.89 ± 2.574 mg (LEV); DB-ADT’ler için 161.40 ± 5.500 mg (KBZ) ve 41.76 ± 4.292 mg (LEV) olarak saptanmıştır. Tabletlerin içerik tekdüzeliği tayini EP 8.0’a göre değerlendirilmiş ve her bir içeriğin ortalama içeriğin %85-115 aralığında olması gerektiği bildirilmiştir.¹³⁹ Her iki formülasyon için de elde edilen içerik tekdüzeliği tayini bulguları farmakope limitlerine uymaktadır.¹³⁹

Tabletlerin çap ve kalınlığı, L-ADT’ler için sırasıyla 16.87 ± 0.113 mm ve 5.12 ± 0.111 mm, DB-ADT’ler için sırasıyla 16.18 ± 0.044 mm ve 3.04 ± 0.049 mm olarak (Tablo 4.10) tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular SS verileri açısından değerlendirildiğinde çap ve kalınlığın uygun olduğu görülmektedir. Tablet çap ve kalınlığı tayini farmakopeye kayıtlı olmamasına rağmen, hazırlanan tabletlerin büyüklüğünü tekdüze hale getirmek için önemlidir.²⁶⁴

Ağızda hızla dağılması istenen ADT’ler, çok gözenekli, yumuşak kalıplanmış matrikslerden oluştuğu veya düşük sıkıştırma kuvveti ile basıldığı için kırılgenlikleri yüksektir. Bu yüzden genellikle özel ambalajlama gerektirmektedir.¹⁰⁸ Ambalajlama,

taşıma ve saklama gibi süreçler açısından tabletlerin kırılmaya karşı direnci önemlidir. Bu nedenle, belirli koşullar altında tabletin kırılmaya karşı direnci tayin edilmektedir.²⁶⁵ ADT'lerin kırılmaya karşı direnci dağılma ve çözünme süresi üzerinde etkilidir ve biyoyararlanımı etkileyebilecek bir faktördür. Aynı zamanda, bir ADT'nin sertliği ağıza alındığında dağılma süresinin istenen limitler içinde kalmasını sağlamalıdır. Ağızda daha kısa sürede dağılabilmeleri açısından ADT'lerin sertliğinin 50 N'un altında olması önerilmektedir.²⁶⁶ Yapılan çalışmalarda, direkt basım yöntemiyle geliştirilen ADT formülasyonlarının sertliği yaklaşık 2-4 kg/cm² (19.6-39.23 N/cm²) aralığında bulunmuştur.²⁶⁷⁻²⁶⁹ Bizim çalışmamızda, DB-ADT formülasyonunun sertliği 30.11±2.438 N olarak tespit edilmiş ve literatürle uyumlu olduğu görülmüştür. Liyofilizasyon yöntemiyle elde edilen tabletler yüksek gözenekliliğe sahip olduğundan hazırlanan L-ADT'lerin sertliği DB-ADT'lere göre daha düşük bulunmuş ve 11.96±2.204 N olarak ölçülmüştür. Direkt basım ve liyofilizasyon yöntemiyle hazırlanan ADT formülasyonları kırılmaya karşı direnç sonuçları açısından kıyaslandığında ise, L-ADT'lerin DB-ADT'lere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük sertliğe sahip olduğu tespit edilmiştir (p<0.05). Formülasyondaki mannitol ve jelatin miktarının liyofilizasyon yöntemiyle hazırlanan ADT'ler üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada ADT'lerin sertliğinin 0.1-3 kP (0.981-29.420 N) olması gerektiği ve formülasyondaki mannitol miktarındaki artış ile tablet sertliğinde artış meydana geldiği bildirilmiştir.¹³¹ Gulsun ve ark.¹³³ terbutalin sülfat içeren ADT hazırlamak için direkt basım ve liyofilizasyon yöntemlerini kullanmışlardır. Direkt basım yöntemiyle hazırlanan ADT'lerin sertliği 173.03±7.34 N ve 212.58±5.61 N; liyofilizasyon yöntemiyle hazırlanan ADT'lerin sertliği ise gözenekli yapısından dolayı 18.87±1.376 N olarak saptanmıştır.

Friyabilite, tabletin mekanik dayanıklılığının bir ölçüsüdür ve bir tabletin friyabilitesinin yüksek olması ambalajlama, nakliye veya taşıma esnasında tabletin bütünlüğünü koruyamamasına neden olabilir.⁹⁸ Tabletlerin friyabilite tayini Bölüm 3.2.8.5'te anlatıldığı gibi yapılmış, L-ADT ve DB-ADT formülasyonları için % friyabilite değerleri sırasıyla %0.77 ve %0.50 (Tablo 4.10) olarak hesaplanmıştır. Tabletlerin friyabilite tayini bulguları EP 8.0'a göre değerlendirilmiş ve %1'i geçmemesi gerektiği bildirilmiştir. Her iki formülasyon için de elde edilen bulgular farmakope limitleri ile uyumludur.¹⁴¹

Ağızda dağılan tabletlerin Avrupa Farmakopesi'nde "3 dakikadan daha kısa bir sürede dağılması gerektiği" bildirilmiştir.²⁷⁰ Tabletlerin dağılma tayini Bölüm 3.2.8.6'da anlatıldığı gibi yapılmış, L-ADT ve DB-ADT formülasyonları için dağılma süreleri sırasıyla 1.55 ± 0.344 sn ve 31.50 ± 7.477 sn olarak (Tablo 4.10) tayin edilmiştir. Her iki formülasyon için de elde edilen dağılma süreleri Avrupa Farmakopesi'ne göre uygundur.²⁷⁰ Direkt basım ve liyofilizasyon yöntemiyle hazırlanan ADT formülasyonları dağılma süresi açısından kıyaslandığında ise, L-ADT'lerin DB-ADT'lere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha kısa sürede dağıldığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$). L-ADT'lerin gözenekli yapısının DB-ADT'lere göre daha fazla olması nedeniyle, dağılma ortamı tabletin iç yüzeyine daha hızlı nüfuz etmekte ve böylece dağılma daha kısa sürede gerçekleşmektedir.^{271, 272}

Direkt basım yöntemiyle hazırlanan ADT'lerin liyofilizasyon tekniğiyle hazırlananlara göre friyabilitesinin daha düşük, sertliğinin ve dağılma süresinin daha fazla olduğu saptanmış ve elde edilen bu bulguların literatürle uyum içinde olduğu görülmüştür.^{133, 271-273}

ADT'ler yüksek porozite ve düşük tablet sertliğine sahip oldukları için ağıza alındıktan kısa bir süre sonra dağılırlar. ADT'lerin hızla dağılması, ortam içerisinde etkin

maddenin çözünmesini ve absorpsiyonunu artırmaktadır. KBZ BCS'ye göre Sınıf 2'de yer aldığından KBZ'nin emiliminde hız sınırlayıcı basamak etkin maddenin çözünmesidir. LEV ise yüksek suda çözünürlük ve yüksek permeabilite özelliğine sahiptir. *In vitro* çözünme testi, ilaç geliştirme sürecinde, ilacın kalitesini gösteren ve *in vivo* performansını tahmin etmede kullanılan ucuz ve hızlı bir değerlendirme ölçütüdür.²⁷⁴⁻²⁷⁶

KBZ ve LEV etkin maddelerinin ayrı ayrı tablet formülasyonları farmakopeye kayıtlıdır ve çözünme testi şartları verilmiştir. Çözünme ortamı olarak KBZ için %1 SLS içeren distile su, LEV için ise distile su verilmiştir.^{21(s.1786), 277} Tez çalışmamız kapsamında, bu ortamlar çözünme ortamı olarak seçilememiştir. Çünkü, hidrofobik özellikteki KBZ distile su ortamında Sink koşulu sağlamamıştır. Ayrıca, çözünme ortamı %1 SLS içeren distile su seçildiğinde ise, HPLC'de LEV ile SLS piki çakışmıştır ve bu durum analitik yöntemin özgüllüğü açısından uygun bulunmamıştır. L-ADT ve DB-ADT formülasyonlarının çözünme çalışmalarının yapılabilmesi için Sink koşulun sağlanması gerekmektedir. Bu amaçla, hidrofobik bir etkin madde olan KBZ için çözünürlük çalışması, farklı konsantrasyonlarda (%0, %1, %5 ve %10) Tween 80 içeren PB pH 6.8 ortamında yapılmış ve bulguları Şekil 4.10'da verilmiştir. Elde edilen çözünürlük çalışması bulguları ve literatür^{252, 278} taraması sonucunda salım ortamı olarak 900 mL %5 Tween 80 içeren PB pH 6.8 seçilerek çözünme ortamında Sink koşul sağlanmıştır. %5 Tween 80 içeren PB pH 6.8 ortamında, suda yüksek çözünürlüğe sahip LEV için de Sink koşul sağlanmaktadır. ADT'lerin çözünme çalışması Bölüm 3.2.8.7'de anlatıldığı gibi yapılmış ve sonuçlar L-ADT ve DB-ADT formülasyonları için sırasıyla Şekil 4.34 ve Şekil 4.35'te gösterilmiştir. L-ADT'ler üzerinde yapılan çözünme testine göre, KBZ'nin yaklaşık %100'ü 30 dk.'da, LEV'in ise %99'u 10 dk.'da çözünme ortamına geçmiştir. DB-ADT'ler üzerinde yapılan çözünme testine göre, KBZ'nin yaklaşık %98'i 45 dk.'da,

LEV'in ise yaklaşık %100'ü 15 dk.'da çözünme ortamına geçmiştir. USP'ye göre, KBZ'nin konvansiyonel tabletinin 900 mL %1 SLS içeren distile su ortamında (Palet yöntemi, 75 rpm) çözünme testi gerçekleştirildiğinde, KBZ'nin 60 dk.'da en az %75'inin çözünmesi gerektiği bildirilmiştir.^{21(s.1786)} LEV'in konvansiyonel tabletinin 900 mL su ortamında (Palet yöntemi, 50 rpm) çözünme testi gerçekleştirildiğinde, 250 mg, 500 mg ve 750 mg LEV içeren tabletler için 15 dk.'da LEV'in en az %70'inin, 1000 mg LEV içeren tablet içinse LEV'in 30 dk.'da en az %80'inin çözünmesi gerektiği bildirilmiştir.²⁷⁷ Gulsun ve ark.¹³³ tarafından yapılan çalışmada, liyofilizasyon ve direkt basım yöntemleri ile hazırlanan ADT'lerin çözünme testleri gerçekleştirilmiş ve yüksek gözenekli yapısından dolayı liyofilizasyon yöntemi ile hazırlanan ADT'ler açısından etkin maddenin direkt basım yöntemi ile hazırlanan ADT'lere kıyasla daha hızlı çözündüğü belirtilmiştir.

ADT'lere suyun penetrasyonu ve tabletlerin dağılma süresi açısından ADT'lerin gözenekliliği önemlidir. Gözeneklilik arttıkça daha yüksek su penetrasyonundan dolayı ADT'lerin dağılma süresi kısalmaktadır.^{133, 266} Liyofilizasyon yöntemi ile hazırlanan ADT'ler yüksek gözenekli yapısından dolayı direkt basım yöntemi ile hazırlanan ADT'lere göre daha kısa sürede dağılmaktadır.¹³³

ADT'lerin su absorplama kapasitesi ve ıslanma süresi tayini Bölüm 3.2.8.8'de anlatıldığı gibi gerçekleştirilmiş, L-ADT ve DB-ADT formülasyonlarının distile sudaki ıslanma süreleri sırasıyla 10.58 ± 1.598 sn ve 15.04 ± 2.957 sn, yapay tükürük sıvısındaki ıslanma süreleri ise sırasıyla 20.06 ± 2.389 sn ve 39.92 ± 4.754 sn (Tablo 4.10) olarak bulunmuştur. L-ADT ve DB-ADT formülasyonlarının distile sudaki su absorplama kapasiteleri ise sırasıyla $\%63.72 \pm 4.402$ ve $\%56.59 \pm 5.630$, yapay tükürük sıvısındaki su absorplama kapasiteleri ise sırasıyla $\%98.77 \pm 11.558$ ve $\%64.32 \pm 5.644$ (Tablo 4.10) olarak bulunmuştur.

Ayrıca, L-ADT ve DB-ADT formülasyonlarının distile sudaki dispersiyon süreleri sırasıyla 7.92 ± 1.569 sn ve 9.67 ± 2.015 sn, yapay tükürük sıvısındaki dispersiyon süreleri ise sırasıyla 15.68 ± 1.822 sn ve 31.83 ± 4.561 sn olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak, DB-ADT ile karşılaştırıldığında L-ADT'lerin daha yüksek su absorplama kapasitesine sahip olduğu, daha kısa sürede ıslandığı, dağıldığı ve dispersiyona uğradığı saptanmıştır. Diğer test sonuçları da bu bulguları desteklemektedir.

Rao ve ark.²⁸ KBZ'nin β -siklodekstrinle inklüzyon kompleksini hazırlayarak çözünürlüğünü artırmışlardır. Daha sonra, farklı oranlarda süperdağıtıcıları (kroskarmeloz sodyum, krospovidon, İndion-414, sodyum nişasta glikolat) ve uygun diğer yardımcı maddeleri seçerek direkt basım yöntemiyle KBZ'nin ADT formülasyonlarını hazırlamışlardır. Yaptıkları *in vitro* karakterizasyon çalışmaları sonucunda, tabletlerin kırılmaya karşı dirençlerini $3.1-3.6 \text{ kg/cm}^2$ aralığında, friyabilitelerini $\%0.54-\%0.68$ aralığında, dağılma sürelerini $26.86 \pm 0.5-58.54 \pm 2.3$ sn aralığında, su içerisindeki ıslanma sürelerini $32.18 \pm 1.4-99.19 \pm 1.6$ sn aralığında bulmuşlardır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, krospovidon ve İndion-414'ün kolay şişme özelliğinden dolayı, bu süperdağıtıcıların kullanıldığı formülasyonların dağılma süresinin, sodyum nişasta glikolat ve kroskarmeloz sodyumun kullanıldığı formülasyonlara göre daha kısa olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, formülasyonların ıslanma süreleri kıyaslandığında krospovidon ve İndion-414 içeren formülasyonların yüksek kapiller aktivite ve hidrasyon göstermelerinden dolayı daha kısa sürede ıslandığı belirtilmiştir. Ancak, bu süperdağıtıcıların su çekerek tableti büyük agregatlara böldüğü ve $\%1$ SLS içeren su ortamı içinde KBZ'nin çözünmesinin kroskarmeloz sodyum içeren tabletlere göre daha uzun sürede gerçekleştiği tespit edilmiştir. Rao ve ark.²⁵⁴ yaptıkları diğer bir çalışmada, farklı miktarlarda süperdağıtıcıları (kroskarmeloz sodyum, krospovidon ve sodyum nişasta glikolat) ve uygun diğer yardımcı maddeleri kullanarak

direkt basım yöntemiyle KBZ içeren ADT'ler hazırlamışlar ve *in vitro* karakterizasyon çalışmalarında benzer sonuçları elde etmişlerdir.

Diğer bir çalışmada, KBZ'nin mannitol, PEG 6000 ve PVP ile ayrı ayrı katı dispersiyonları (1:1 oranlarında) hazırlanmış ve daha sonra uygun yardımcı maddeler ile karıştırılarak direkt basım yöntemiyle ADT formülasyonları elde edilmiştir. Hazırlanan ADT'lerin kırılmaya karşı dirençleri 3.1 ± 0.14 - 4.5 ± 0.12 kg/cm² aralığında, friyabiliteleri %0.54-%0.67 aralığında, dağılma süreleri 11.83 ± 0.2 - 240.33 ± 1.5 sn aralığında, su içerisindeki ıslanma süreleri ise 18.54 ± 1.8 - 300.98 ± 1.8 sn aralığında bulunmuştur. Sonuçlar değerlendirildiğinde, katı dispersiyonun mannitol ile hazırlandığı formülasyonlarda kroscarmeloz sodyum miktarı arttıkça ıslanma ve dağılma sürelerinin kısaldığı bildirilmiştir.²⁵⁸

Rao ve ark.²⁶⁰ diğer bir çalışmada, KBZ'yi ayrı ayrı mannitol ve PEG 6000 ile 1:1 oranında katı dispersiyon haline getirdikten sonra uygun yardımcı maddeleri (kroscarmeloz sodyum, mikrokristalin sodyum, DC-mannitol, vb) kullanarak direkt basım yöntemiyle ADT formülasyonunu hazırlamışlardır. Mannitol ile katı dispersiyon haline getirilerek hazırlanan ADT'lerin dağılma ve ıslanma sürelerinin PEG 6000'in kullanıldığı ADT'lere göre daha kısa olduğu, formülasyondaki kroscarmeloz sodyum miktarındaki artış ile dağılma ve ıslanma sürelerinin azaldığı ifade edilmiştir.

Marabathuni ve ark.²⁵⁹ KBZ:PVP-K30'u 1:2 oranında katı dispersiyon haline getirdikten sonra uygun yardımcı maddeler ile karıştırarak direkt basım yöntemiyle ADT formülasyonlarını hazırlamışlardır. Mannitolün kullanıldığı ADT formülasyonlarının, mikrokristalin selüloz ve dikalsiyum fosfat içeren formülasyonlara kıyasla daha kısa sürede dağıldığı (31.6 ± 2.08 - 53.6 ± 4.72 sn) ve ıslandığı (28.0 ± 3.60 - 50.2 ± 1.52 sn) saptanmıştır. Ayrıca, süperdağıtıcı olarak krospovidonun kullanıldığı ADT'lerin kroscarmeloz sodyumun kullanıldığı formülasyonlara göre daha kısa sürede ıslandığı ve

dağıldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, çözünme testi PB pH 6.8’de yapılmış ve katı dispersiyon haline getirilen KBZ’nin ADT formülasyonunun saf KBZ ile basılan ADT formülasyonuna göre daha kısa sürede çözünme ortamına geçtiği saptanmıştır.

Swapna ve ark.²⁵⁶ ayrı ayrı kitosan, kroskarmeloz sodyum ve sodyum nişasta glikolat ile diğer yardımcı maddeleri kullanarak KBZ’nin farklı ADT formülasyonlarını hazırlamışlardır. Kitosanın kullanıldığı ADT formülasyonlarının daha kısa sürede ıslandığı ve dağıldığı, ayrıca, %1 SLS içeren su ortamında gerçekleştirilen çözünme testinde çözünmenin istenen sürede gerçekleştiği raporlanmıştır.

Swamy ve ark.²⁵² KBZ’yi krospovidon (%2-10), mikrokristalin selüloz (%0-30) ve uygun yardımcı maddeler ile karıştırarak 3² faktöriyel dizayn yöntemini kullanarak direkt basım yöntemiyle ADT formülasyonlarını elde etmişlerdir. Yaptıkları *in vitro* karakterizasyon çalışmaları sonucunda, ADT’lerin kırılmaya karşı dirençlerini 1.93±0.115-2.50±0.1 kg/cm² aralığında, friyabilitelerini %0.40-%0.60 aralığında, PB pH 6.8 içindeki dispersiyon sürelerini 10.00±1.06-58.11±0.617 sn aralığında, su absorplama kapasitelerini %52.28-96.07 aralığında bulmuşlardır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, %2 krospovidon ve %30 mikrokristalin selüloz içeren ADT’lerin en ideal formülasyon olduğuna karar vermişlerdir. Çözünme testi 900 mL PB pH 6.8 içerisinde en ideal formülasyon için yapılmış, ADT formülasyonunun KBZ’nin piyasa preparatına ve süperdağıtıcı içermeyen formülasyonuna kıyasla çözünme ortamı içinde daha hızlı çözüldüğü tespit edilmiştir.

Gunda ve ark.²⁵³ farklı oranlarda (%6.25-12.5) krospovidon ve kroskarmeloz sodyum süperdağıtıcılarını ve uygun diğer yardımcı maddeleri seçerek, 3² faktöriyel dizayn ve direkt basım yöntemleriyle KBZ içeren ADT formülasyonlarını hazırlamışlardır. ADT’lerin kırılmaya karşı dirençlerini 3.1±0.16-3.5±1.0 kg/cm² aralığında, friyabilitelerini %0.57-%0.65 aralığında, su içindeki ıslanma sürelerini

12.18±1.3-88.04±1.2 sn aralığında, dağılma sürelerini 9.13±0.5-53.20±2.2 sn aralığında bulmuşlardır. Çözünme testi 900 mL PB pH 6.8 içerisinde tüm formülasyonlar için yapılmış, KBZ'nin 60 dk.'da %95.34-99.24 oranında çözündüğü tespit edilmiştir.

Chonkar ve ark.¹⁸² etkin maddenin çözünürlüğünü artırmak üzere KBZ'yi farklı oranlarda mikrokristalin selüloz ve fesleğenin tohum kabukları ile muamele etmiş ve daha sonra diğer yardımcı maddeler ile karıştırarak direkt basım yöntemiyle ADT formülasyonunu hazırlamışlardır. Yaptıkları *in vitro* karakterizasyon çalışmaları sonucunda içerik tekdüzeliği, ağırlık sapması, dağılma süresi, friyabilite testini farmakopeye uygun bulmuşlardır. *In vitro* dispersiyon süresi tayinini 100 mL su içerisinde yapmışlar ve dispersiyon süresini 79.05±0.09 sn olarak tayin etmişlerdir. Çözünme testi, 900 mL PB pH 6.8 içerisinde (50 rpm; 60 dk.) gerçekleştirilmiş, 60 dk.'da ADT formülasyonundaki KBZ'nin saf etkin maddeye göre 3.6 kat daha fazla çözündüğü saptanmıştır.

Rao ve ark.²⁵⁷ karnıyarık otunun (*Plantago ovata*) tohumunu ve müsilağını süperdağıtıcı olarak seçmiş ve diğer yardımcı maddeler ile karıştırarak yaş granülasyon yöntemiyle KBZ'nin ADT formülasyonunu hazırlamışlardır. Yapılan *in vitro* karakterizasyon bulguları değerlendirildiğinde; formülasyonlarda tohum ve müsilağ miktarı arttıkça tabletlerin kırılmaya karşı direncinin, dağılma ve ıslanma sürelerinin azaldığı ve bu değerlerin tohumların kullanıldığı ADT formülasyonlarında müsilağ ile hazırlanan ADT formülasyonlarına göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Kumar ve ark.²⁶² LEV içeren ADT formülasyonlarını farklı süperdağıtıcılar (krospovidon, sodyum nişasta glikolat, kroskarmeloz sodyum) kullanarak direkt basım yöntemiyle hazırlamışlardır. ADT'lerin kırılmaya karşı dirençlerini 3.98±0.07-4.99±0.57 kg/cm² aralığında ve friyabilitelerini ise %0.43-%0.67 aralığında saptamışlardır. Ayrıca, tüm formülasyonlar için çözünme testini 900 mL PB pH 6.8 ortamında (50 rpm)

yapmışlardır. Optimum sonuçlar sodyum nişasta glikolat ve krospovidonun beraber kullanıldığı ADT’lerde elde edilmiş, bu ADT’lerin dağılma zamanı 29 sn olarak saptanmış ve %99.82 oranında LEV’in 10 dk.’da çözündüğü tespit edilmiştir.

KBZ, LEV, L-YM ve L-ADT formülasyonuna ait FT-IR spektrumları (Şekil 4.40, Şekil 4.41, Şekil 4.42 ve Şekil 4.43) incelendiğinde; L-YM’ye ait spektrumdan farklı olarak L-ADT formülasyonunun spektrumunda KBZ ile ilgili olduğu düşünülen 464.2 cm^{-1} , 485.9 cm^{-1} , 800.7 cm^{-1} , 1592.8 cm^{-1} , 3020.3 cm^{-1} , 3154.7 cm^{-1} ve 3464.1 cm^{-1} ’deki titreşimlerde; LEV ile ilgili olduğu düşünülen 700.2 cm^{-1} ve 2935.9 cm^{-1} ’deki titreşimlerde; 450.6 cm^{-1} , 1382.3 cm^{-1} , 1488.7 cm^{-1} ve 1668.0 cm^{-1} ’de ise hem KBZ hem de LEV ile ilgili olduğu düşünülen titreşimlerde artış olduğu tespit edilmiştir. KBZ, LEV, DB-YM ve DB-ADT formülasyonuna ait FT-IR spektrumları (Şekil 4.40, Şekil 4.41, Şekil 4.44 ve Şekil 4.45) incelendiğinde ise; DB-YM’ye ait spektrumdan farklı olarak DB-ADT formülasyonunun spektrumunda KBZ ile ilgili olduğu düşünülen 1592.8 cm^{-1} , 3021.8 cm^{-1} ve 3466.3 cm^{-1} ’deki titreşimlerde; LEV ile ilgili olduğu düşünülen 1080.4 cm^{-1} ’deki titreşimde; 1042.6 cm^{-1} , 1383.1 cm^{-1} , 1676.2 cm^{-1} , 3340.7 cm^{-1} ’de ise hem KBZ hem de LEV ile ilgili olduğu düşünülen titreşimlerde artış olduğu tespit edilmiştir. Sonuçta, yardımcı maddelere ait spektrumlardan farklı olarak ADT’lere ait formülasyonlarda KBZ ve LEV ile ilgili olduğu düşünülen titreşimlerde artış görülmüş ve bunların haricinde bir titreşime rastlanmamıştır. Dolayısıyla, ADT formülasyonlarında etkin maddeler ile yardımcı maddeler arasında bir etkileşimin olmadığı saptanmıştır.

Gugulothu ve ark.²⁷⁹ liyofilizasyon yöntemiyle sumatriptan süksinat içeren ADT formülasyonu geliştirdikten sonra, saf etkin maddenin, yardımcı maddelerin ve ADT formülasyonunun FT-IR spektrumlarını almışlardır. Saf sumatriptan süksinatın FT-IR spektrumunun karakteristik piklere sahip olduğu görülmüştür. ADT formülasyonuna ait FT-IR spektrumunda sumatriptan süksinat ve ADT formülasyonunu oluşturan yardımcı

maddelere ait titreşimler görülmüş, bunların haricinde titreşime rastlanmamıştır. Sonuçta, sumatriptan süksinatın ADT formülasyondaki yardımcı maddeler ile geçimli olduğu anlaşılmıştır.

Abed ve ark.²⁸⁰ direkt basım yöntemiyle diazepam içeren ADT formülasyonu geliştirdikten sonra, saf etkin maddenin, yardımcı maddelerin ve ADT formülasyonunun FT-IR spektrumlarını almışlardır. Saf diazepamın FT-IR spektrumunun karakteristik piklere sahip olduğu görülmüştür. ADT formülasyonuna ait FT-IR spektrumunda diazepam ve ADT formülasyonunu oluşturan yardımcı maddelere ait titreşimler görülmüş, bunların haricinde titreşime rastlanmamıştır. Sonuçta, diazepamın ADT formülasyondaki yardımcı maddeler ile geçimli olduğu anlaşılmıştır.

L-YM ve L-ADT formülasyonuna ait DSC termogramları (Şekil 4.50 ve Şekil 4.51) karşılaştırıldığında, L-ADT formülasyonunda KBZ ve LEV'e ait endotermik piklere rastlanmamış, L-YM ile L-ADT formülasyonunun benzer termogramlara sahip olduğu görülmüştür. ADT'lerin liyofilizasyon yöntemiyle hazırlanması sonucu KBZ ve LEV'in amorf yapıya dönüştükleri ve etkin maddelere özgü endotermik piklerin bu nedenle görülemediği düşünülmektedir.^{279, 281} DB-YM ve DB-ADT formülasyonuna ait DSC termogramları (Şekil 4.52 ve Şekil 4.53) karşılaştırıldığında ise DB-YM ile DB-ADT formülasyonunun farklı termogramlara sahip olduğu, DB-ADT formülasyonuna ait DSC termogramında KBZ ve LEV'e ait özgün endotermik piklerin (sırasıyla 190.49 °C ve 115.59 °C'de) olduğu görülmüştür. Bu veriler literatür ile uyumlu bulunmuştur.²⁸²

Hazırlanan KBZ+LEV-PLGA-NPs ve DB-ADT formülasyonlarının *in vivo* olarak değerlendirilmesi amacıyla sıçanlarda Bölüm 3.2.9.1'de anlatıldığı gibi PTZ kullanılarak epilepsi modeli oluşturulmuştur. Daha sonra, tutuşan hayvanlar Bölüm 3.2.9.2'de anlatıldığı gibi deney gruplarına ayrılarak çalışmaya alınmıştır. Sıçanların beş gün

boyunca nöbet skorları ortalama $\pm$ SS cinsinden kaydedilmiş (Şekil 4.57 ve Şekil 4.58) ve gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

PTZ, beyin uyarılabilirliğinin değerlendirilmesi ve AEİ'lerin geliştirilmesi amacıyla tutuşma epilepsi modelinin oluşturulmasında yaygın olarak tercih edilen bir kimyasaldır. PTZ ile tutuşma epilepsi modeli oluşturulan hayvanlarda absans epilepsi, myoklonik epilepsi, jeneralize tonik-klonik epilepsi ve ilaca dirençli epilepsi modelleri oluşturulmaktadır.¹⁵³ PTZ uygulanması ile epilepsi modeli oluşturulan hayvanlarda çeşitli davranışsal, nörofizyolojik ve nörokimyasal değişiklikler meydana gelmektedir. Ayrıca, PTZ hipokampusta atrofiye ve seçici nöronal kayba neden olmaktadır. PTZ ile indüklenmiş hayvan modellerinde GABAerjik sistemlerde, glutamerjik sistemlerde ve antioksidan savunma sistemlerinde değişiklikler gözlenmiştir. PTZ, GABA reseptörlerine bağlanarak reseptör blokajı ile tutuşma epilepsi modelinde kalıcı etki göstermektedir.²⁸³

Reddy ve ark.¹⁵⁸ isradipinin KBZ'nin antikonvülsan aktivitesi üzerine etkilerini iki farklı yöntemle (maksimum elektroşok yöntemi ve PTZ uygulaması) epilepsi modeli oluşturulmuş sıçanlarda incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada, KBZ ve isradipin sırasıyla 30 mg/kg ve 2 mg/kg dozlarında i.p. olarak tek başlarına ve bir arada sıçanlara uygulanmış ve 30 dk. sonra maksimum elektroşok veya PTZ i.p. uygulanarak antikonvülsan aktivite değerlendirilmiştir. Sonuçta, her iki epilepsi modelinde de kalsiyum kanal blokeri olan isradipin KBZ ile bir arada kullanıldığında KBZ'nin antikonvülsan aktivitesini artırmıştır.

Ohno ve ark.²⁸⁴ LEV'in antiepileptik etkisini, PTZ-tutuşma modelinde incelemişler ve aynı zamanda bu maddenin etkisini sodyum valproatın (VPA) etkisi ile karşılaştırmışlardır. PTZ-tutuşma modelinde, PTZ 15 gün boyunca hafta içi her gün 40 mg/kg dozda i.p. olarak uygulanmıştır. LEV ve VPA ise 15 gün boyunca PTZ uygulanmasından 30 dakika önce tekrarlayan dozlarda uygulanmış ve nöbetlerin şiddeti

PTZ uygulamasından hemen sonra 15 dakika boyunca takip edilmiş ve skorlanmıştır. LEV'in düşük dozlarda (3–30 mg/kg, i.p.) PTZ nöbetlerini inhibe ettiği (artan dozla artan inhibisyon), 30 mg/kg dozda uygulanması sonrası %50 oranında bir inhibisyon sağladığı raporlanmıştır. PTZ-tutuşma modelinde, SV2A'nın hipokampal seviyesinde (LEV için primer etki alanı) önemli bir artışın olduğunu ve LEV'in nöbet inhibe edici etkisinin bu durumla ilişkili olduğu belirtilmiştir.

LEV'in düşük frekanslı (6Hz) 3 sn süreyle korneal elektriksel uyarı (psikomotor veya limbik nöbet modeli) ile oluşturulmuş akut nöbetlere karşı koruyucu aktivitesi gösterilmiştir.¹⁹² Genellikle, kombine halde antiepileptik maddeler antikonvülsan etkileri bakımından farklı ve tamamlayıcı moleküler mekanizmalara sahiptirler. İlave olarak, yan etki profilleri de farklıdır. Beyinde aynı moleküler hedef veya reseptör (örn: sodyum kanal blokörleri, GABA artırıcılar) üzerinde etki gösteren antiepileptik ilaçların bir arada kullanımından kaçınılmalıdır. Bu nedenle, LEV özgün antikonvülsan moleküler mekanizmalarından dolayı optimum bir antiepileptik etkin madde olarak görülmekte ve diğer antiepileptik etkin maddeler ile bir arada kullanılabilir.^{192, 285}

Tez çalışması kapsamında geliştirilen KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonunun *in vivo* olarak değerlendirilmesi amacıyla KBZ 30 mg/kg¹⁵⁸ ve LEV 1.2 mg/kg dozda sıçanlara i.p. olarak uygulanmıştır. DB-ADT formülasyonunun *in vivo* değerlendirilmesi içinse KBZ'nin dozu 200 mg/kg (oral) ve LEV'in dozu 50 mg/kg (oral) olarak seçilmiştir.

165, 166, 286, 287

KBZ+LEV-PLGA-NPs ve DB-ADT formülasyonlarının değerlendirilmesi amacıyla tutuşan sıçanlar gruplara ayrılmış (Bölüm 3.2.9.2), hazırlanan çözelti ve süspansiyonlar belirlenen dozlarda i.p. veya oral olarak uygulandıktan 30 dk. sonra PTZ verilerek sıçanların nöbet skorları beş gün süresince kaydedilmiştir. Gruplardaki

antiepileptik aktiviteler nöbet skorları ile istatistiksel olarak $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

In vivo çalışmamız sonucunda, DB-ADT formülasyonunun ve i.p. verilmek üzere hazırlanan KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonunun genel olarak saf KBZ ve LEV'in bir arada uygulanması ile benzer antiepileptik aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca, etkin maddelerin ayrı ayrı uygulanmasına kıyasla KBZ ve LEV'in bir arada kullanılmasıyla nöbet skorlarında düşüş ve antiepileptik aktivitede artış tespit edilmiştir.

Florek-Luszczki ve ark.¹⁹² fareler üzerinde 6 Hz psikomotor nöbet modeli oluşturmuş ve LEV'in KBZ, fenitoin, topiramat ve vigabatrin ile bir arada kullanılması durumunda farelerdeki (yetişkin, erkek Swiss fare, 22–26 g) antikonvülsan etkileri incelemişlerdir. KBZ:LEV bir arada 1:1, 2:1, 5:1, 10:1 oranlarında (KBZ 8-30 mg/kg ve LEV 2-25 mg/kg dozunda) i.p. olarak uygulanmıştır. Sonuçta, KBZ tek başına 30 mg/kg dozunda farelere uygulandığında nöbet modeline karşı %25 oranında koruma sağlarken, LEV tek başına uygulandığında %100 antikonvülsan etki göstermiştir. KBZ:LEV 5:1 ve 10:1 oranlarında uygulandığında sinerjik etki, 1:1 ve 2:1 oranlarında kullanıldığında ise aditif etki göstermiştir. KBZ ve LEV'in bir arada kullanılması durumunda sağlanan sinerjik etkinin özellikle dirençli epilepsi hastalarında fayda sağlayacağı belirtilmiştir. Ayrıca, AEİ'lerin bir arada kullanımı ile sinerjik etki oluşmasından dolayı düşük doz AEİ uygulaması ile yan etkilerin önemli ölçüde azaltılabileceği ifade edilmiştir.

Luszczki ve ark.⁶⁰ farelerde maksimum elektroşok ile nöbet modeli oluşturarak LEV'i tek başına ve diğer AEİ'ler ile (KBZ, fenitoin, fenobarbital, sodyum valproat, topiramat, lamotrijin, oksikarbamazepin) bir arada i.p. olarak uygulamışlardır. Sonuçta, KBZ:LEV 1:16 oranında uygulandığında sinerjik etki göstermiştir. Ancak, KBZ:LEV 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 oranlarında uygulandığında ise antiepileptik aktivitenin değişmediği gösterilmiştir. Ayrıca, LEV'in tek başına veya KBZ ile bir arada uygulanması sonrası

beyindeki LEV konsantrasyonunun benzer olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla, LEV ve KBZ etkileşimin farmakodinamik mekanizmalardan kaynaklandığı ifade edilmiştir.

Sisodiya ve ark.²⁸⁸ da KBZ ve LEV arasındaki etkileşimi dirençli epilepsili hastalarda incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, LEV'in tedaviye eklenmesinin KBZ'nin ve metabolitinin kan seviyelerinde değişikliğe neden olmadığı ve KBZ ile LEV arasındaki etkileşimin farmakokinetik ačıdan olmayıp farmakodinamik mekanizmalardan kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Kanemura ve ark.¹⁹³ çocuklarda (1-15 yaş) KBZ ve sodyum valproat kullanımının başarısız olması durumunda tedaviye LEV'in eklenmesi ile antiepileptik aktiviteyi klinik olarak değerlendirmişlerdir. KBZ kullanan ve tedaviye cevap vermeyen 31 hastanın tedavi şemasına LEV eklenmesiyle %90 oranında başarı sağlanarak 28 hastada antiepileptik aktivite görölmüştür. Sonuçta, KBZ ve LEV bir arada kullanıldığında çocuklarda yanıt vermeyen epilepsi tedavisinde fayda sağlanacağı belirtilmiştir.

Farelerde odyojenik nöbet modeli oluşturulmuş farelere LEV (5.5 mg/kg) i.p. olarak çeşitli AEİ'ler ile (KBZ, fenitoin, fenobarbital, klonazepam, diazepam, valproat) bir arada uygulanması sonrası LEV'in valproatın etkinliğini 28 kat, klonazepamın etkinliğini 23 kat, diazepamın etkinliğini 19 kat, fenobarbitalin etkinliğini 16 kat ve fenitoinin etkinliğini 1.9 kat artırdığı ifade edilmiştir. KBZ'nin ise tek başına uygulandığında ED₅₀ dozunun 21.2 mg/kg iken LEV ile bir arada uygulandığında ED₅₀ dozunun 5.9 mg/kg olduğu ve KBZ'nin tedavi etkinliğinin 3.6 kat arttığı raporlanmıştır. Ayrıca, LEV ile bir arada kullanıldığlarında valproat haricindeki AEİ'lerin (KBZ, fenitoin, fenobarbital, klonazepam) beyin ve plazma konsantrasyonlarında bir değerimin olmadığı da vurgulanmıştır.¹⁹⁴ Aynı makalede, amigdala tutuşma modeli kullanılarak epilepsi modeli oluşturulmuş sıçanlarda da valproat, klonazepam, KBZ ve fenobarbitalin doza bağımlı olarak sekonder jeneralize nöbetlere karşı koruyucu olduğu ve tedaviye

düşük dozda LEV'in (17 mg/kg) eklenmesiyle KBZ'nin etkinliğinin 2.5 kat arttığı belirtilmiştir.¹⁹⁴

Nair ve ark.¹⁷⁴ çözücü enjeksiyonu metodu ile KBZ-yüklü kitosan-SLN formülasyonları hazırlamışlar, *in vitro* ve *in vivo* karakterizasyon çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Formülasyonların partikül boyutları 154.0-187.5 nm aralığında, PDI değerleri 0.206-0.309 aralığında, ZP değerleri -32.12 mV ile -27.60 mV aralığında ve % EE değerleri %32.87-66.7 aralığında tespit edilmiştir. Ayrıca, optimum kitosan-SLN formülasyonunun maksimum elektroşok ve isoniazid ile model oluşturulmuş sıçanlar üzerinde antikonvülsan aktivitesini incelemişlerdir. Her iki nöbet modelinde de KBZ-yüklü kitosan-SLN formülasyonunun, KBZ'ye göre daha iyi bir antiepileptik aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Scioli Montoto ve ark.¹⁵⁹ KBZ-yüklü lipit yapılı nanopartiküler sistemleri (SLN ve NLC) hazırlamışlardır. Hazırlanan sistemlerin partikül boyutunu 160 nm civarında, PDI değerini 0.3'ün altında, % EE değerlerini %66.8-96.5 aralığında ve ZP değerlerini ise -2.4 mV ile -6.3 mV aralığında saptamışlardır. *İn vitro* salım çalışmasını 500 mL PB pH 6.8'de (100 rpm) diyaliz membran kullanarak 24 sa. süresince gerçekleştirmişlerdir. KBZ'nin saf halde yaklaşık iki saatte çözündüğü, ancak, nanopartikül formülasyonlarının (SLN ve NLC) 30 dk.'da yaklaşık %20 ve 12 saatte %65-90 oranında KBZ salımının gerçekleştiği ve uzatılmış bir salım elde edildiği vurgulanmıştır. Daha sonra, optimum formülasyonu (NLC) belirleyerek maksimum elektroşok modeli ile epilepsi modeli geliştirilmiş fareleri kullanarak *in vivo* çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bu amaçla, serum fizyolojik, 30 mg/kg dozunda KBZ, etkin madde içermeyen NLC ve 30 mg/kg dozunda KBZ-yüklü NLC formülasyonu farelere i.p. olarak uygulanmış ve antikonvülsan aktivite belirli zaman aralıklarında (0.25, 0.5, 1., 2. ve 4. sa.'ler) değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, KBZ 4. saat dışındaki tüm zaman noktalarında antikonvülsan aktivite gösterirken KBZ-

yüklü nanopartikül formülasyonu tüm zaman noktalarında antikonvülsan etkinlik göstermiştir. Nanopartikül formülasyonu için en yüksek antikonvülsan aktivite 30. dk.'da elde edilmiştir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Tez çalışması kapsamında, KBZ ve LEV içeren nanopartikül ve ADT formülasyonları başarılı bir şekilde hazırlanarak *in vitro* ve *in vivo* karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.
- KBZ ve LEV etkin maddelerinin miktar tayinleri için HPLC-UV yöntemi kullanılmış ve analitik yöntemin geçerliliği gösterilmiştir.
- B-PLGA-NPs ve KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonlarının hazırlama verimleri sırasıyla 68.85 ± 2.491 ve 77.12 ± 1.597 olarak hesaplanmıştır.
- Zeta potansiyel, partikül büyüklüğü ve PDI değerleri B-PLGA-NPs için sırasıyla -20.28 ± 2.992 mV, 171.92 ± 4.637 nm ve 0.104 ± 0.011 olarak, KBZ+LEV-PLGA-NPs içinse sırasıyla -27.08 ± 3.110 mV, 180.62 ± 6.260 nm ve 0.107 ± 0.030 olarak tespit edilmiştir.
- KBZ+LEV-PLGA-NPs formülasyonu için saptanan % EE ve % YK değerleri sırasıyla KBZ için 51.00 ± 5.944 , 3.89 ± 0.429 ; LEV için 2.05 ± 0.367 ve 0.16 ± 0.026 'dır.
- Liyofilizasyon ve direkt basım yöntemleri ile hazırlanan ADT formülasyonlarının ise kütle tekdüzeliği, içerik tekdüzeliği, friyabilite ve çözünme test sonuçları farmakope limitleri içerisinde tespit edilmiştir.
- L-ADT ve DB-ADT formülasyonlarının dağılma süreleri sırasıyla 1.55 ± 0.344 sn ve 31.50 ± 7.477 sn olarak saptanmış ve Avrupa Farmakopesi'ne göre ADT'lerin 3 dk.'dan daha kısa sürede dağılması gerekliliği karşılanmıştır.
- KBZ veya LEV'in sıçanlara uygulanması ile karşılaştırıldığında, KBZ ve LEV'in bir arada (KBZ+LEV) uygulanması sonucu antiepileptik aktivitede artış olduğu ve aditif/sinerjik etkinin ortaya çıktığı gösterilmiştir. KBZ+LEV-PLGA-NPs ve DB-ADT formülasyonları ise KBZ+LEV grubu ile benzer antiepileptik aktivite göstermiştir.

- Söz konusu tez kapsamında geliştirilen formülasyonların antiepileptik aktiviteleri sıçanlarda oluşturulan farklı epilepsi modellerinde de değerlendirilmelidir.
- KBZ ve LEV'i bir arada içeren formülasyonların geliştirilmesi hastaların ilaç alımının kolaylaştırılması, tedavi etkinliği ve hasta uyuncunun artırılması açısından faydalı olabilir.



KAYNAKLAR

1. Falco-Walter JJ, Scheffer IE, Fisher RS. The new definition and classification of seizures and epilepsy. *Epilepsy Res*, 2018, 139:73-79.
2. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, Engel J, Forsgren L, French JA, Glynn M, Hesdorffer DC, Lee BI, Mathern GW, Moshé SL, Perucca E, Scheffer IE, Tomson T, Watanabe M, Wiebe S. ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 2014, 55(4):475-482.
3. Banerjee PN, Filippi D, Hauser WA. The descriptive epidemiology of epilepsy - a review. *Epilepsy Res*, 2009, 85(1):31-45.
4. Shakirullah AN, Khan Aslam NM. The prevalence, incidence and etiology of epilepsy. *International Journal of Clinical and Experimental Neurology*, 2014, 2(2):29-39.
5. World Health Organization. Epilepsy.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/en/#>. 5 Eylül 2018.
6. Arık Yüksel S. Valproik Asit ve Karbamazepin Kullanan Epileptik Kadın Hastalarda Polikistik Over Sendromu Sıklığı, İnsülin Direnci ve Ovaryan Fonksiyonlar. Nöroloji Anabilim Dalı. Tıpta uzmanlık tezi, Kayseri: Erciyes Üniversitesi, 2007.
7. Özkan Yıldız H. Epilepsi Tanısı Alan Olgularda Karotis Media ve Epikardiyal Yağ Dokusu Kalınlığının Değerlendirilmesi ve Bu Hastalarda Artmış Kardiyovasküler Risk Varlığının Araştırılması. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı. Tıpta uzmanlık tezi, Şanlıurfa: Harran Üniversitesi, 2016.
8. Türkben E. Epilepsinin Oluşum Nedenleri ve Tedavisi. Biyokimya Anabilim Dalı. Bitirme Ödevi, Kayseri: Erciyes Üniversitesi, 2012.

9. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, Hirsch E, Jain S, Mathern GW1, Moshé SL, Nordli DR, Perucca E, Tomson T, Wiebe S, Zhang YH, Zuberi SM. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for classification and terminology. *Epilepsia*, 2017, 58(4):512-521.
10. Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, Lagae L, Moshé SL, Peltola J, Roulet Perez E, Scheffer IE, Zuberi SM. Operational classification of seizure types by the international league against epilepsy: position paper of the ILAE commission for classification and terminology. *Epilepsia*, 2017, 58(4):522-530.
11. Fisher RS, Cross JH, D'Souza C, French JA, Haut SR, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, Lagae L, Moshé SL, Peltola J, Roulet Perez E, Scheffer IE, Schulze-Bonhage A, Somerville E, Sperling M, Yacubian EM, Zuberi SM. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*, 2017, 58(4):531-542.
12. Dolgun M. Çocukluk Çağı İlaça Dirençli Epilepsi Cerrahisinin Etkinliğine ve Güvenilirliğine Yönelik Retrospektif Çalışma. Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı. Tıpta uzmanlık tezi, İstanbul: İstanbul Tıp Fakültesi, 2017.
13. Haşlak F. 2011-2014 Yılları Arasında Çocuk Nörolojisi Servisine Yatan Epilepsi Hastalarının Özellikleri. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı. Tıpta uzmanlık tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2016.
14. Uzan M. Epilepside cerrahi tedavi. *Türkiye Klin J Neurol-Special Topics*, 2008, 1(2):81-89.
15. Berg AT, Shinnar S. The risk of seizure recurrence following a first unprovoked seizure: a quantitative review. *Neurology*, 1991, 41:965-972.

16. Akdağ G, İlhan Algin İ, Erdinç OO. Epilepsi. *Osmangazi Tıp Derg*, 2016, 38(1):35-41.
17. Türk Nöroloji Derneği. Epilepsi Çalışma Grubu Tanı ve Tedavi Rehberi, 2015: 31-33.
18. Çalış Ü. Antiepileptik İlaçlar. İçinde: Akgün H(editör). *Farmasötik Kimya*, Ankara, Irmak Matbaası, 2000:326-347.
19. Conway MJ, Henry TR. Antiepilepsy drugs: mechanisms of action and pharmacokinetics. *Epilepsy*, 2012, 1(5):1-11.
20. McCleane G. Antiepileptic drugs. In:Smith HS (ed). *Current Therapy in Pain*, 2nd ed. United States of America, Saunder Elsevier, 2008:460.
21. The United States Convention. United States Pharmacopeia (USP 32-NF 27), 2009.
22. Alrashood ST. Carbamazepine. In: Brittain H (ed). *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*, 1st ed. Academic Press, 2016:133-321.
23. Wei H, Deng S, Huang Q, Nie Y, Wang B, Huang J, Yu G. Regenerable granular carbon nanotubes/alumina hybrid adsorbents for diclofenac sodium and carbamazepine removal from aqueous solution. *Water Res*, 2013, 47(12):4139-4147.
24. Scheytt T, Mersmann P, Lindstädt R, Heberer T. Determination of sorption coefficients of pharmaceutically active substances carbamazepine, diclofenac, and ibuprofen, in sandy sediments. *Chemosphere*, 2005, 60(2):245-253.
25. Brayfield A. Martindale: The Complete Drug Reference, 38th ed. London, The Pharmaceutical Press, 2014.

26. Tocris a biotechne brand. Carbamazepine.
https://www.tocris.com/products/carbamazepine_4098#.WBss7fmLSM8. 2 Eylül 2018.
27. Kokare CR, Kumbhar SA, Patil A. Formulation and evaluation of self-emulsifying drug delivery system of carbamazepine. *Indian J Pharm Educ*, 2013, 47(2):172-177.
28. Rao NGR, Patel T, Gandhi S. Development and evaluation of carbamazepine fast dissolving tablets prepared with a complex by direct compression technique. *Asian J Pharm*, 2009, 3(2):97-103.
29. Acharyaa SP, Pundarikakshudu K, Panchal A, Lalwani A. Preparation and evaluation of transnasal microemulsion of carbamazepine. *Asian J Pharm*, 2013, 8(1):64-70.
30. Grzesiak AL, Lang M, Kim K, Matzger AJ. Comparison of the four anhydrous polymorphs of carbamazepine and the crystal structure of form I. *J Pharm Sci*, 2003, 92(11):2260-2271.
31. Kobayashi Y, Ito S, Itai S, Yamamoto K. Physicochemical properties and bioavailability of carbamazepine polymorphs and dihydrate. *Int J Pharm*, 2000, 193(2):137-146.
32. Day GM, Zeitler JA, Jones W, Rades T, Taday PF. Understanding the influence of polymorphism on phonon spectra: Lattice dynamics calculations and terahertz spectroscopy of carbamazepine. *J Phys Chem B*, 2006, 110(1):447-456.
33. Ambrósio AF, Soares-da-Silva P, Carvalho CM, Carvalho AP. Mechanisms of action of carbamazepine and its derivatives, oxcarbazepine, BIA 2-093, and BIA 2-024. *Neurochem Res*, 2002, 27(1-2):121-130.

34. Arban R, Maraia G, Brackenborough K, Winyard L, Wilson A, Gerrard P, Large C. Evaluation of the effects of lamotrigine, valproate and carbamazepine in a rodent model of mania. *Behav Brain Res*, 2005, 158(1):123-132.
35. Pellock JM. Carbamazepine side effects in children and adults. *Epilepsia*, 1987, 28(3):64-70.
36. Bennett GD, Amore BM, Finnell RH, Wlodarczyk B, Kalhorn TF, Skiles GL, Nelson SD, Slattery JT. Teratogenicity of carbamazepine-10,11-epoxide and oxcarbazepine in the SWV mouse. *J Pharmacol Expl Ther*, 1996, 279(3):1237-1242.
37. Tolou-Ghamari Z, Zare M, Habibabadi JM, Najafi MR. A quick review of carbamazepine pharmacokinetics in epilepsy from 1953 to 2012. *J Res Med Sci*, 2013, 18(1):81-85.
38. Spina E, Pisani F, Perucca E. Clinically significant pharmacokinetic drug interactions with carbamazepine. *Clin Pharmacokinet*, 1996, 31(3):198-214.
39. Pippenger CE. Clinically Significant Carbamazepine Drug Interactions: An Overview. *Epilepsia*, 1987, 28(3):71-76.
40. Chemical book. Carbamazepine.
https://www.chemicalbook.com/ProductMSDSDetailCB1143564_EN.htm. 10
Haziran 2018.
41. Pinto MAL, Ambrozini B, Ferreira APG, Cavalheiro ÉTG. Thermoanalytical studies of carbamazepine: hydration/ dehydration, thermal decomposition, and solid phase transitions. *Braz J Pharm Sci*, 2014, 50(4):877-884.
42. Matsuda Y, Akazawa R, Teraoka R, Otsuka M. Pharmaceutical evaluation of carbamazepine modifications: Comparative study for photostability of carbamazepine polymorphs by using fourier-transformed reflection-absorption

- infrared spectroscopy and colorimetric measurement. *J Pharm Pharmacol*, 1994, 46(3):162-167.
43. Al-Zein H, Riad LE, Abd-Elbary A. Effect of packaging and storage on the stability of carbamazepine tablets. *Drug Dev Ind Pharm*, 1999, 25(2):223-227.
44. Botella JA, Peiró MJF, Loreiro GMD, Poveda PL, Otaolaurruchi SJ. Analysing the stability of two oral carbamazepine suspensions. *Farm Hosp*, 2011, 35(1):28-31.
45. Chetty M. The stability of anticonvulsant drugs in whole blood. *Ther Drug Monit*, 1994, 16(5):491-494.
46. Kayaalp SO, Dalkara T. Antiepileptik İlaçlar. İçinde: Kayaalp SO (editör). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 12. Baskı. Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2009:884-901.
47. Pharmacompass. Carbamazepine, Dossiers, Finished Dosage Formulations, FDA Orange Book. <https://www.pharmacompass.com/fda-orange-book/carbamazepine>. 1 Eylül 2018.
48. Türk İlaç rehberi. Etken maddesi karbamazepin olan ilaçların listesi. <https://www.ilacrehberi.com/s/karbamazepin/2/?sayfa=1>. 10 Haziran 2018.
49. Krishna K, Raut AL, Gohel KH, Dave P. Levetiracetam. *J Assoc Physicians India*, 2011, 59:656-658.
50. Patsalos PN. Pharmacokinetic profile of levetiracetam: toward ideal characteristics. *Pharmacol Ther*, 2000, 85(2):77-85.
51. Pubchem. Levetiracetam. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Levetiracetam#section=Experimental-Properties>. 11 Haziran 2018.

52. Contin M, Mohamed S, Albani F, Riva R, Baruzzi A. Simple and validated HPLC-UV analysis of levetiracetam in deproteinized plasma of patients with epilepsy. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci*, 2008, 873(1):129-132.
53. Sivaneswari S, Karthikeyan E, Veena D, Chandana PJ, Sai Sumana P, Subhashree P, Ramya L, Rajalakshmi R, Ashok Kumar CK. Physiochemical characterization of taste masking levetiracetam ion exchange resins in the solid state and formulation of stable liquid suspension for pediatric use. *Beni-Suef Univ J Apply*, 2016, 5(2):126-133.
54. Chemical book. Levetiracetam.
https://www.chemicalbook.com/ProductMSDSDetailCB4495950_EN.htm. 11 Haziran 2018.
55. Cayman Chemical. Safety data sheet Levetiracetam.
<https://www.caymanchem.com/msdss/9001820m.pdf>. 11 Haziran 2018.
56. Viry L, Moulton SE, Romeo T, Suhr C, Mawad D, Cook M, Wallace GG. Emulsion-coaxial electrospinning: designing novel architectures for sustained release of highly soluble low molecular weight drugs. *J Mater Chem*, 2012, 22(22):11347-11353.
57. Bajjalieh SM, Frantz GD, Weimann JM, McConnell SK, Scheller RH. Differential expression of synaptic vesicle protein 2 (SV2) isoforms. *J Neurosci*, 1994, 14(9):5223-5235.
58. Deshpande LS, DeLorenzo RJ. Mechanisms of levetiracetam in the control of status epilepticus and epilepsy. *Front Neurol*, 2014, 5(11):1-5.
59. Lynch BA, Lambeng N, Nocka K, Kensel-Hammes P, Bajjalieh SM, Matagne A, Fuks B. The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam. *Proc Natl Acad Sci*, 2004, 101(26):9861-9866.

60. Luszczyk JJ, Andres MM, Czuczwar P, Cioczek-Czuczwar A, Ratnaraj N, Patsalos PN, Czuczwar SJ. Pharmacodynamic and pharmacokinetic characterization of interactions between levetiracetam and numerous antiepileptic drugs in the mouse maximal electroshock seizure model: an isobolographic analysis. *Epilepsia*, 2006, 47(1):10-20.
61. Crepeau AZ, Treiman DM. Levetiracetam : a comprehensive review. *Expert Rev Neurother*, 2010, 10(2):159-171.
62. Longo B, Forinash AB, Murphy JA. Levetiracetam use in pregnancy. *Ann Pharmacother*, 2009, 43(10):1692-1695.
63. Yeap LL, Lo YL. Rapid and simultaneous quantification of levetiracetam and its carboxylic metabolite in human plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *PLoS One*, 2014, 9(11):e111544.
64. Saravanan G, Jyothi G, Suresh Y, Annerao A, Ramakrishna M, Yogeshwar Reddy M, Ravibabu B. LC method for the determination of the stability of levetiracetam drug substance under stressing conditions. *Chromatographia*, 2008, 67(1-2):173-177.
65. Siddiqui FA, Sher N, Shafi N, Wafa Sial A, Ahmad M, Mehjebeen, Naseem H. Development of new method for simultaneous analysis of piracetam and levetiracetam in pharmaceuticals and biological fluids: application in stability studies. *Biomed Res Int*, 2014:1-8. DOI:10.1155/2014/758283.
66. Ensom MHH, Decarie D, Rudolph S. Stability of levetiracetam in extemporaneously compounded suspensions. *Can J Hosp Pharm*, 2011, 64(3):207-211.
67. Prohotsky DL, Hughes SE, Zhao F. Stability of levetiracetam oral solution repackaged in oral plastic syringes. *Am J Heal Pharm*, 2014, 71(3):219-222.

68. Matar KM. Quantification of levetiracetam in human plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry: application to therapeutic drug monitoring. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 48(3):822-828.
69. Pharmacompass. Levetiracetam, Dossiers, Finished Dosage Formulations, FDA Orange Book. <https://www.pharmacompass.com/fda-orange-book/levetiracetam>. 1 Eylül 2018.
70. İlaç Prospektüsü. Keppra 100 Mg/ml Oral Çözelti Eşdeğerleri. <https://www.ilacprospektusu.com/ilac/179/keppra-100-mg-ml-oral-cozelti>. 11 Haziran 2018.
71. Fanfair D, Desai S, Kelty C. The early history of nanotechnology. *Nanotechnology*, 2007;1-15.
72. Turgut O, Keskin LH, Avşar FA. Nanoteknoloji nedir?. *Türk Tıp Derg*, 2011, 5(1):45-49.
73. Roco MC. Nanoparticles and nanotechnology research. *J Nanoparticle Res*, 1999, 1(1):1-6.
74. Wanigasekara J, Witharana C. Applications of nanotechnology in drug delivery and drug targeting-an insight. *Curr Trends Biotechnol Pharm*, 2016, 10(1):78-91.
75. Barenholz YC. Doxil®-The first FDA-approved nano-drug: lessons learned. *J Control Release*, 2012, 160(2):117-134.
76. Ventola CL. Progress in nanomedicine: Approved and investigational nanodrugs. *P T*, 2017, 42(12):742-755.
77. Kreuter J. Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 47(1):65-81.

78. Kaş HS. İlaç taşıyıcı partiküler sistemler. İçinde: Zırh-Gürsoy A (editör). *Kontrollü Salım Sistemleri*, 1. Baskı. İstanbul, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını, 2002: 65-102.
79. Singh R, Lillard JW. Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Exp Mol Pathol*, 2009, 86(3):215-223.
80. Derman S, Kızılbey K, Akdeste ZM. Polymeric nanoparticles. *J Eng Nat Sci*, 2013, 31:107-120.
81. Tiwari G, Tiwari R, Sriwastawa B, Bhati L, Pandey S, Pandey P, Bannerjee SK. Drug delivery systems: An updated review. *Int J Pharm Investig*, 2012, 2(1):2-11.
82. Lockman PR, Mumper RJ, Khan MA, Allen DD. Nanoparticle technology for drug delivery across the blood-brain barrier. *Drug Dev Ind Pharm*, 2002, 28(1):1-13.
83. Şenel S. Nanotaşıyıcılarda Kullanılan Polimerler. İçinde:Zırh-Gürsoy A (editör). *Nanofarmasötikler ve Uygulamaları*, 1. Baskı. İstanbul, Kontrollü Salım Derneği Yayını, 2014: 9-22.
84. Zırh-Gürsoy A. Giriş. İçinde: Zırh-Gürsoy A (editör). *Kontrollü Salım Sistemleri*, 1. Baskı. İstanbul, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını, 2002: 3-6.
85. Hasan AS, Socha M, Lamprecht A, Ghazouani FE, Sapin A, Hoffman M, Maincent P, Ubrich N. Effect of the microencapsulation of nanoparticles on the reduction of burst release. *Int J Pharm*, 2007, 344(1-2):53-61.
86. Mülhopt S, Diabaté S, Dilger M, Ghazouani FE, Sapin A, Hoffman M, Maincent P, Ubrich N, Adelhelm C, Anderlohr C, Bergfeldt T, Gómez de la Torre J, Jiang Y, Valsami-Jones E, Langevin D, Lynch I, Mahon E, Nelissen I, Piella J, Puentes V, Ray S, Schneider R, Wilkins T, Weiss C, Paur HR. Characterization of nanoparticle batch-to-batch variability. *Nanomaterials*, 2018, 8(5):1-24.

87. Crucho CIC, Barros MT. Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods. *Mater Sci Eng C*, 2017, 80:771-784.
88. Bilensoy E. Nanopartiküller. İçinde: Zırh-Gürsoy A (editör). *Nanofarmasötikler ve Uygulamaları*, 1. Baskı. İstanbul, Kontrollü Salım Derneği Yayını, 2014: 28.
89. Miladi K, Sfar S, Fessi H, Elaissari A. Nanoprecipitation process: From particle preparation to in vivo applications. In: Vauthier C, Ponchel G (eds). *Polymer Nanoparticles for Nanomedicines*, Cham, Springer, 2016:17-54.
90. Vauthier C, Bouchemal K. Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles. *Pharm Res*, 2009, 26(5):1025-1058.
91. Almoustafa HA, Alshawsh MA, Chik Z. Technical aspects of preparing PEG-PLGA nanoparticles as carrier for chemotherapeutic agents by nanoprecipitation method. *Int J Pharm*, 2017, 533(1):275-284.
92. Pillai O, Panchagnula R. Polymers in drug delivery. *Curr Opin Chem Biol*, 2001, 5:447-451.
93. Brannon-Peppas L, Peppas N. Kontrollü salım sistemlerinde kullanılan polimerler. İçinde: Zırh-Gürsoy A (editör). *Kontrollü Salım Sistemleri*, 1. Baskı. İstanbul, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını, 2002: 21-40.
94. Vey E, Rodger C, Booth J, Claybourn M, Miller AF, Saiani A. Degradation kinetics of poly(lactic-co-glycolic) acid block copolymer cast films in phosphate buffer solution as revealed by infrared and Raman spectroscopies. *Polym Degrad Stab*, 2011, 96(10):1882-1889.
95. Houchin ML, Topp EM. Chemical degradation of peptides and proteins in PLGA: A review of reactions and mechanisms. *J Pharm Sci*, 2008, 97(7):2395-2404.
96. Makadia HK, Siegel SJ. Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. *Polymers (Basel)*, 2011, 3(3):1377-1397.

97. Jain D, Amul M. A review - formulation & development of orodispersible tablet. *Int Pharmaceutical Educ*, 2014, 4(1):21-38.
98. Arora P, Sethi VA. Orodispersible tablets : A comprehensive review. *Int J Res Dev Pharm Life Sci*, 2013, 2(2):270-284.
99. Panchal DM, Tiwari A, Srivastava P. A review on orodispersible tablets – A novel formulation for oral drug delivery system and its future prospective. *Indo Am J Pharm Res*, 2013, 3(2):4149-4168.
100. Balata GF, Zidan AS, Abourehab MAS, Essa EA. Rapid disintegrating tablets of simvastatin dispersions in polyoxyethylene-polypropylene block copolymer for maximized disintegration and dissolution. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10:3211-3223.
101. Dey P, Maiti S. Orodispersible tablets: A new trend in drug delivery. *J Nat Sci Biol Med*, 2010, 1(1):2-5.
102. Velmurugan S, Vinushitha S. Oral disintegrating tablets: An overview. *Int J Chem Pharm Sci*, 2010, 1(2):1-12.
103. Dobetti L. Fast-melting tablets: Developments and technologies. *Pharm Technol Drug Deliv Supply*, 2000, 12(9):32-42.
104. Saharan VA, Singh A, Kharb V. Fast dissolving/disintegrating dosage forms: Introducing through development, market, pharmacopoeial and regulatory status. In:Saharan VA(ed). *Current Advances in Drug Delivery Through Fast Dissolving/Disintegrating Dosage*, 1st ed. UAE, Bentham Science Publishers, 2017:3-18.
105. Çulcu T, Çomoğlu T. Ağızda hızlı dağılan/çözünen tabletler. *Ankara Ecz Fak Derg*, 2010, 39(1):69-90.

106. Bandari S, Mittapalli RK, Gannu R, Rao M. Orodispersible tablets: An overview. *Asian J Pharm*, 2008, 2(1):2-11.
107. Cilurzo F, Musazzi UM, Franzé S, Selmin F, Minghetti P. Orodispersible dosage forms: biopharmaceutical improvements and regulatory requirements. *Drug Discov Today*, 2018, 23(2):251-259.
108. Patil H, Patil G, Jain V, Tadvi S, Pawar S. A Review on mouth dissolving tablet. *J Appl Pharm Res*, 2017, 5(2):9-15.
109. Khairnar DA, Anantwar SP, Chaudhari CS, Shelke PA. Superdisintegrants: An emerging paradigm in orodispersible tablets. *Int J Biopharmaceutics*, 2014, 5(2):119-128.
110. Khan A, Kasturi M, Mohsina S, Jain S, Partani R. Review of orodispersible tablet using novel co-processing method. *World J Pharm Pharm Sci*, 2018, 7(8):270-295.
111. Ragade SM, Jain AA, Barhate S. A review on: mouth dissolving drug delivery system. *World J Pharm Pharm Sci*, 2017, 6(10):467-480.
112. Chauhan V, Kumar K, Teotia D. Fast dissolving tablets: a promising approach for drug delivery. *Univers J Pharm Res*, 2017, 2(4):58-64.
113. Pinho LA, Temer AC, Ribeiro C, Sa-Barreto LL, Cunha-filho MSS. The popularization of orodispersible tablets in the pharmaceutical market. *Infarma Ciencias Farm*. 2018, 30(2), 77-84.
114. Lopez FL, Ernest TB, Tuleu C, Gul MO. Formulation approaches to pediatric oral drug delivery: benefits and limitations of current platforms. *Expert Opin Drug Deliv*, 2015, 12(11):1727-1740.
115. Ibrahim FA, El-Yazbi AF, Barary MA, Wagih MM. Sensitive inexpensive HPLC determination of four antiepileptic drugs in human plasma: application to PK studies. *Bioanalysis*, 2016, 8(21):2219-2234.

116. Chauhan A, Mittu B, Chauhan P. Analytical method development and validation: A concise review. *J Anal Bioanal Tech*, 2015, 6(1):1-5.
117. Tomiyama N, Tsuji H, Watanabe M, Takeda M, Harada T, Kobayashi H. High-performance liquid chromatographic method for determination of DDT and its degradation products in rat plasma, liver and brain: Validation and application to a pharmacokinetic study. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 2000, 748(2):361-368.
118. Mowafy HA, Alanazi FK, El Maghraby GM. Development and validation of an HPLC-UV method for the quantification of carbamazepine in rabbit plasma. *Saudi Pharm J*, 2012, 20(1):29-34.
119. University of Tartu. LC-MS Method Validation.
https://sisu.ut.ee/dev/lcms_method_validation/42-Calc_precision. 13 Aralık 2018.
120. Shabir GA. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis: Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conf. *J Chromatogr A*, 2003, 987(1-2):57-66.
121. Alquadeib BT. Development and validation of a new HPLC analytical method for the determination of diclofenac in tablets. *Saudi Pharm J*, 2018, 27(1):66-70.
122. Park SH, Choi HK. The effects of surfactants on the dissolution profiles of poorly water-soluble acidic drugs. *Int J Pharm*, 2006, 321(1-2):35-41.
123. Nair R, Gonen S, Hoag SW. Influence of polyethylene glycol and povidone on the polymorphic transformation and solubility of carbamazepine. *Int J Pharm*, 2002, 240(1-2):11-22.
124. Lee H, Park SA, Sah H. Surfactant effects upon dissolution patterns of carbamazepine immediate release tablet. *Arch Pharm Res*, 2005, 28(1):120-126.

125. Balakrishnan A, Rege BD, Amidon GL, Polli JE. Surfactant-mediated dissolution: contributions of solubility enhancement and relatively low micelle diffusivity. *J Pharm Sci*, 2004, 93(8):2064-2075.
126. Sigma Aldrich Co. Products, Resomer RG 502.
[https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/719889?lang=en®ion=](https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/719889?lang=en®ion=TR)
TR. 5 Mayıs 2018.
127. Govender T, Stolnik S, Garnett MC, Illum L, Davis SS. PLGA nanoparticles prepared by nanoprecipitation: Drug loading and release studies of a water soluble drug. *J Control Release*, 1999, 57(2):171-185.
128. Sahana DK, Mittal G, Bhardwaj V, Ravi Kumar MNV. PLGA nanoparticles for oral delivery of hydrophobic drugs: Influence of organic solvent on nanoparticle formation and release behavior in vitro and in vivo using estradiol as a model drug. *J Pharm Sci*, 2008, 97(4):1530-1542.
129. Başyigit Kılıç G, Karahan AG. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve laktik asit bakterilerinin tanısında kullanılması. *Gıda*, 2010, 35(6):445-452.
130. Ahmed IS, Shamma RN, Shoukri RA. Development and optimization of lyophilized orally disintegrating tablets using factorial design. *Pharm Dev Technol*, 2013, 18(4):935-943.
131. Juanita TK, Ditya F. Formulation of ibuprofen orally disintegrating tablets (ODTs) by lyophilization method using gelatin and mannitol. *Int J PharmTech Res*, 2014, 6(3):996-1002.
132. Dave V, Yadav RB, Ahuja R, Yadav S. Formulation design and optimization of novel fast dissolving tablet of chlorpheniramine maleate by using lyophilization techniques. *Bull Fac Pharmacy, Cairo Univ*, 2017, 55(1):31-39.

133. Gulsun T, Akdag Cayli Y, Izat N, Cetin M, Oner L, Sahin S. Development and evaluation of terbutaline sulfate orally disintegrating tablets by direct compression and freeze drying methods. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2018, 46:251-258.
134. Elbary A, Ibrahim H, Hazaa B. Understanding the formulation variables of orodispersible tablets containing simvastatin solid dispersion using Box-Behnken design. *Drugs Ther Stud*, 2012, 2(e7):29-35.
135. Hesari Z, Shafiee A, Hooshfar S, Mobarra N, Mortazavic SA. Formulation and taste masking of ranitidine orally disintegrating tablet. *Iran J Pharm Res*, 2016, 15(4):677-686.
136. Deshmukh VN, Zade NH, Sakarkar DM. Development and evaluation of orally disintegrating tablet by direct compression method. *Int J PharmTech Res*, 2012, 4(4):1351-1357.
137. European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). Powder flow. European Pharmacopoeia, 8th ed, 2013:346-349.
138. European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). Uniformity of mass of single dose preparations. European Pharmacopoeia, 8th ed, 2013:297-298.
139. European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). Uniformity of content of single dose preparations. European Pharmacopoeia, 8th ed, 2013:298.
140. European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). Resistance to crushing of tablets. European Pharmacopoeia, 8th ed, 2013:299.
141. European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). Friability of uncoated tablets. European Pharmacopoeia, 8th ed, 2013:298-299.
142. Saleem M, Shahin M, Srinivas B, Begum A. Evaluation of tablets by friability apparatus. *Internatioanal J Res Pharm Chem*, 2014, 4(4):837-840.

143. European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). Disintegration of tablets and capsules. European Pharmacopoeia, 8th ed, 2013:285-287.
144. Ye GJ, Qin LH, Hu QH. Study on dissolution method for gefitinib tablets. *Chinese J Mod Appl Pharm*, 2016, 6.
145. Tekade NP, Bhajipale NS, Ganesan V, Thenge RR, Dewade DR. Orodispersible tablets of lansoprazole: Formulation, characterization and in vitro evaluation. *Int J ChemTech Res*, 2010, 2(1):400-405.
146. Satpute MM, Tour NS. Formulation and in vitro evaluation of fast dissolving tablets of metoprolol tartrate. *Brazilian J Pharm Sci*, 2013, 49(4):783-792.
147. Leela Manasa K, Ramana G, Roy D. Formulation and evaluation of oral disintegrated tablets of alfuzosin hydrochloride using superdisintegrants. *J Appl Pharm Sci*, 2011, 1(9):161-165.
148. Srinivasa DS, Narayana Charyulu R, Satyanarayana DS, Srilakshmi D. Formulation and in vitro comparative evaluation of orodispersible tablets of pantoprazole. *Int J Chem Sci Technol*, 2015, 5(2):399-404.
149. Kshirasagar N, Deepika P, Malvey S, Adukondalu D, Pavani S, Reddy VM. Formulation and evaluation of acyclovir orodispersible tablets using sublimation method. *J Gen Pract*, 2015, 3(4):1-5.
150. Harlalka SS, Chaware VJ, Deshmane SV, Biyan KR. Formulation and evaluation of orodispersible tablet containing amlodipine besylate. *Dhaka Univ J Pharm Sci*, 2014, 6(3):38-41.
151. Metker V, Anuj K, Naveen P, Kumud P, Sangram S. Formulation and evaluation of orodispersible tablets of lornoxicam. *Int J drug Dev Res*, 2011, 3(1):281-285.
152. Aygün Eşitli E. Hukuka aykırı hayvan deneyleri. *Hacettepe Hukuk Fakültesi Derg*, 2012, 2(2):16-24.

153. Ergul Erkec O, Arihan O. Pentylenetetrazol kindling epilepsy model. *Epilepsi*, 2015, 21(1):6-12.
154. Fischer W, Kittner H. Influence of ethanol on the pentylenetetrazol-induced kindling in rats. *J Neural Transm*, 1998, 105(10-12):1129-1142.
155. Ji-Qun C, Ishihara K, Nagayama T, Serikawa T, Sasa M. Long-lasting antiepileptic effects of levetiracetam against epileptic seizures in the spontaneously epileptic rat (SER): differentiation of levetiracetam from conventional antiepileptic drugs. *Epilepsia*, 2005, 46(9):1362-1370.
156. Agrawal R, Saha K, Mohapatra S. Effect of amlodipine on the antiepileptic action of lamotrigine, gabapentin, topiramate&carbamazepine on pentylenetetrazole and maximal electroshock induced seizures in rats. *IOSR J Dent Med Sci*, 2016, 15(7):65-73.
157. Kim J, Kondratyev A, Gale K. Antiepileptic drug-induced neuronal cell death in the immature brain: effects of carbamazepine, topiramate, and levetiracetam as monotherapy versus polytherapy. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 323(1):165-173.
158. Reddy KV, Kumar MA, Kumar GV. Isradipine enhances the anticonvulsant activity of carbamazepine against MES and PTZ induced convulsions in rats. *Int J Pharm Sci Res*, 2015, 6(1):247-250.
159. Scioli Montoto S, Sbaraglini ML, Talevi A, Couyoupetrou M, Di Ianni M, Pesce GO, Alvarez VA, Bruno-Blanch LE, Castro GR, Ruiz ME, Islan GA. Carbamazepine-loaded solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: Physicochemical characterization and in vitro / in vivo evaluation. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 2018, 167:73-81.
160. Esneault E, Peyon G, Virley D, Castagné V. Comparative anticonvulsant activity of carbamazepine, lamotrigine and valproate in the mouse and in the rat.

<https://tr.scribd.com/document/373842468/PORSOLT-Comparative->

Anticonvulsant-Activity-of-Carbamazepine-L. 20 Ekim 2018.

161. Yıldırım H. Pentilentetrazol ile Oluşturulan Nöbet Modelinde Gingko Biloba'nın Ağrı Duyarlılığı ve Nöbetlere Etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı. Yüksek lisans tezi, Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi, 2015.
162. Tawfeek HM, Faisal W, Soliman GM. Enalapril maleate orally disintegrating tablets: tableting and in vivo evaluation in hypertensive rats. *Pharm Dev Technol*, 2018, 23(5):496-503.
163. Pinheiro BG, Silva ASB, Souza GEP, Figueiredo JG, Cunha FQ, Lahlou S, da Silva JK, Maia JG, Sousa PJ. Chemical composition, antinociceptive and anti-inflammatory effects in rodents of the essential oil of *Peperomia serpens* (Sw.) Loud. *J Ethnopharmacol*, 2011, 138(2):479-486.
164. Revel FG, Moreau JL, Pouzet B, Mory R, Bradaia A, Buchy D, Metzler V, Chaboz S, Groebke Zbinden K, Galley G, Norcross RD, Tuerck D, Bruns A, Morairty SR, Kilduff TS, Wallace TL, Risterucci C, Wettstein JG, Hoener MC. A new perspective for schizophrenia: TAAR1 agonists reveal antipsychotic- and antidepressant-like activity, improve cognition and control body weight. *Mol Psychiatry*, 2013, 18(5):543-556.
165. Chi YC, Lin SP, Hou YC. A new herb-drug interaction of *Polygonum cuspidatum*, a resveratrol-rich nutraceutical, with carbamazepine in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 263(3):315-322.
166. Baysal M, Ilgin S, Kilic G, Kilic V, Ucarcan S, Atli O. Reproductive toxicity after levetiracetam administration in male rats: Evidence for role of hormonal status and oxidative stress. *PLoS One*, 2017, 12(4):e0175990.

167. Mansouri S, Ataei ML, Hosseini M, Bideskan ARE. Tamoxifen mimics the effects of endogenous ovarian hormones on repeated seizures induced by pentylenetetrazole in rats. *Exp Neurobiol*, 2013, 22(2):116-123.
168. Hanaya R, Arita K. The new antiepileptic drugs: Their neuropharmacology and clinical indications. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 2016, 56(5):205-220.
169. Bilgin Topçuoğlu Ö, Ağan K, Midi İ, Aykut Bingöl C. Politerapi kullanan epilepsi hastalarının monoterapi kullanan hastalardan farklılıkları. *Marmara Med J*, 2012, 25:123-127.
170. Perry S, Holt P, Benatar M. Levetiracetam versus carbamazepine monotherapy for partial epilepsy in children less than 16 years of age. *J Child Neurol*, 2008, 23(5):515-519.
171. Brodie MJ, Perucca E, Ryvlin P, Ben-Menachem E, Meencke HJ. Comparison of levetiracetam and controlled-release carbamazepine in newly diagnosed epilepsy. *Neurology*, 2007, 68(6):402-408.
172. Suresh SH, Chakraborty A, Virupakshaiah A, Kumar N. Efficacy and safety of levetiracetam and carbamazepine as monotherapy in partial seizures. *Epilepsy Res Treat*, 2015, ID 415082, DOI:10.1155/2015/415082.
173. Khan MW, Ahsan MJ, Gupta SK. Carbamazepine loaded mucoadhesive solid lipid nanoparticle : Formulation and in-vitro characterization. *Int J Adv Pharm Med Bioallied Sci*. 2017; 2017:130.
174. Nair R, Kumar AC, Priya VK, Yadav CM, Raju PY. Formulation and evaluation of chitosan solid lipid nanoparticles of carbamazepine. *Lipids Health Dis*, 2012, 11(72):1-8.

175. Tummala S, Kumar MNS, Prakash A. Formulation and in vitro characterization of carbamazepine polymeric nanoparticles with enhanced solubility and sustained release for the treatment of epilepsy. *J Chem Pharm Res*, 2015, 7(2):70-79.
176. Rajkumar M, Bhise SB. Carbamazepine-loaded porous microspheres for short-term sustained drug delivery. *J Young Pharm*, 2010, 2(1):7-14.
177. Kelmann RG, Kuminek G, Teixeira HF, Koester LS. Carbamazepine parenteral nanoemulsions prepared by spontaneous emulsification process. *Int J Pharm*, 2007, 342(1-2):231-239.
178. Samia O, Hanan R, Kamal ET. Carbamazepine mucoadhesive nanoemulgel (MNEG) as brain targeting delivery system via the olfactory mucosa. *Drug Deliv*, 2012, 19(1):58-67.
179. Kumar GP, Rambhau D, Apte SS. Development of NDDS of carbamazepine in epilepsy for medical discovery of formulation significance. *J Med Discov*, 2017, 2(2):jmd17015.
180. Wang M, Rutledge GC, Myerson AS, Trout BL. Production and characterization of carbamazepine nanocrystals by electrospraying for continuous pharmaceutical manufacturing. *J Pharm Sci*, 2012, 101(3):1178-1188.
181. Laera G, Jin B, Zhu H, Lopez A. Photocatalytic activity of TiO₂ nanofibers in simulated and real municipal effluents. *Catal Today*, 2011, 161(1):147-152.
182. Chonkar A, Hardikar S, Rao JV, Udupa N. Development and evaluation of orodispersible tablet of microwave generated co-processed material of carbamazepine. *Adv Sci Lett*, 2017, 23(3):1899-1903.
183. Bandigari V, Thadkala K, Devara RK, Aukunuru J. Preparation and evaluation of orodispersable tablets of carbamazepine using different superdisintegrating agents. *Int J PharmTech Res*, 2015, 7(3):438-447.

184. Ali W, Badawi A, Mahdy M, El-nahas H. Formulation and evaluation of carbamazepine 200 mg chewable tablets using cyclodextrins. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2012, 4(4):472-480.
185. Saha SS, Nazmi M, Saha N, Reza MS. Preparation and evaluation of carbamazepine sustained release tablets. *Dhaka Univ J Pharm Sci*, 2012, 11(2):173-180.
186. Halliday AJ, Campbell TE, Nelson TS, McLean KJ, Wallace GG, Cook MJ. Levetiracetam-loaded biodegradable polymer implants in the tetanus toxin model of temporal lobe epilepsy in rats. *J Clin Neurosci*, 2013, 20(1):148-152.
187. Halliday AJ, Campbell TE, Razal JM, McLean KJ, Nelson TS, Cook MJ, Wallace GG. In vivo biocompatibility and in vitro characterization of poly-lactide-co-glycolide structures containing levetiracetam, for the treatment of epilepsy. *J Biomed Mater Res A*, 2012, 100(2):424-431.
188. Dangi AA, Ganure AL, Divya J. Formulation and evaluation of colon targeted drug delivery system of levetiracetam using pectin as polymeric carrier. *J Appl Pharm Sci*, 2013, 3(1):78-87.
189. Spritam--a new formulation of levetiracetam for epilepsy. *Med Lett Drugs Ther*, 2016, 58(1497):78-79.
190. Dhandapani NV. Formulation and in vitro evaluation of sustained release matrix tablets of levetiracetam for better epileptic treatment. *Int J Pharmacol Pharm Sci*, 2016, 10(12):573-577.
191. Wang M, Wang M, Zhang Q, Zong S, Lv C. Pharmacokinetics and safety of levetiracetam extended-release tablets and relative bioavailability compared with immediate-release tablets in healthy Chinese subjects. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2018, 43(4):405-413.

192. Florek-Luszczki M, Wlaz A, Luszczki JJ. Interactions of levetiracetam with carbamazepine, phenytoin, topiramate and vigabatrin in the mouse 6Hz psychomotor seizure model – A type II isobolographic analysis. *Eur J Pharmacol*, 2014,723:410-418.
193. Kanemura H, Sano F, Ohyama T, Sugita K, Aihara M. Efficacy of levetiracetam as first add-on therapy to carbamazepine and valproate sodium for children with epilepsy. *J Pediatr Epilepsy*, 2014, 3(2):77-83.
194. Kaminski RM, Matagne A, Patsalos PN, Klitgaard H. Benefit of combination therapy in epilepsy: A review of the preclinical evidence with levetiracetam. *Epilepsia*, 2009, 50(3):387-397.
195. Ravisankar P, Niharika A, Anusha H, Himaja V, Basha SKA. A simple validated UV spectrophotometric method for quantitative analysis of levetiracetam in pharmaceutical dosage form. *Indian J Res Pharm Biotechnol*, 2015, 3(5):380-385.
196. Gandhi SV, Kadam AA, Karad MM. Development and validation of stability-indicating HPTLC method for determination of levetiracetam in pharmaceutical dosage form. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2014, 6(5):121-125.
197. Yuan X, Jun HW, McCall JW. Determination of carbamazepine in uncoated and film-coated tablets by HPLC with UV detection. *Anal Lett*, 2003, 6(6):1197-1210.
198. Can NO, Arli G. Reversed-phase HPLC analysis of levetiracetam in tablets using monolithic and conventional c18 silica column. *J AOAC Int*, 2010, 93(4):1077-1085.
199. Gopalakrishnan S, Jeyashree B, Ramalakshmi A, Chenthilnathan A. Analytical method development and validation for the determination of levetiracetam in pharmaceutical formulations by using RP-HPLC. *Der Pharm Lett*, 2011, 3(3):194-201.

200. Sultana N, Arayne MS, Saeeda NA. Ultra sensitive liquid chromatographic method for the simultaneous determination of carbamazepine with NSAIDs in API, pharmaceutical formulation and human serum by programming the detector: Application to In vitro drug interaction. *J Chromatogr Sep Tech*, 2012, 3(8).
201. Zadbuke N, Shahi S, Jadhav A, Borde S. Development and validation of UV-visible spectroscopic method for estimation of carbamazepine in bulk and tablet dosage form. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2016, 8(2):234-238.
202. Maswal M, Chat OA, Jabeen S, Ashraf U, Masrat R, Shah RA, Dar AA. Solubilization and co-solubilization of carbamazepine and nifedipine in mixed micellar systems: insights from surface tension, electronic absorption, fluorescence and HPLC measurements. *R Soc Chem*, 2014, 5:7697-7712.
203. Džodić P, Živanovic L, Protic A, Ivanović I, Veličković-Radovanović R, Spasić M, Lukić S, Živanović S. Development and validation of a SPE-HPLC method for the determination of carbamazepin and its metabolites, carbamazepin epoxide and carbamazepin trans-diol, in plasma. *J Serbian Chem Soc*, 2012, 77(10):1423-1436.
204. Center For Drug Evaluation and Research. Division of Bioequivalence Review, 2008: 7.
205. Mendu DR, Soldin SJ. Simultaneous determination of levetiracetam and its acid metabolite (ucb L057) in serum/plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Clin Biochem*, 2010, 43(4-5):485-489.
206. Pucci V, Bugamelli F, Mandrioli R, Ferranti A, Kenndler E, Raggi MA. High-performance liquid chromatographic determination of levetiracetam in human plasma: comparison of different sample clean-up procedures. *Biomed Chromatogr*, 2004, 44(1):37-44.

207. Demirkaya F, Kadioğlu Y. Determination of carbamazepine using RP-HPLC method in pharmaceutical preparations. *Fabad J Pharm Sci*, 2005, 30(2):78-82.
208. Tonic-Ribarska J, Sterjev Z, Cvetkovska E, et al. Optimization and validation of bioanalytical SPE–HPLC method for the simultaneous determination of carbamazepine and its main metabolite, carbamazepine-10, 11-epoxide, in plasma. *Maced Pharm Bull*, 2011, 57(1-2):53-61.
209. Raphael CD, Zhao F, Hughes SE, Juba KM. A pilot chemical and physical stability study of extemporaneously compounded levetiracetam intravenous solution. *J Pain Palliat Care Pharmacother*, 2015, 29(4):370-373.
210. Bhatti MM, Hanson GD, Schultz L. Simultaneous determination of phenytoin, carbamazepine, and 10,11-carbamazepine epoxide in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Pharm Biomed Anal*, 1998, 16(7):1233-1240.
211. Jain DS, Subbaiah G, Sanyal M, Pal U, Shrivastav PS. Determination of levetiracetam in human plasma by liquid chromatography / electrospray tandem mass spectrometry and its application to bioequivalence studies. *Rapid Commun mass Spectrom*, 2006, 20(17):2539-2547.
212. Rao BM, Ravi R, Reddy BSS, Sivakumar S, Gopi Chand I, Praveen Kumar K, Acharyulu PV, Om Reddy G, Srinivasu MK. A validated chiral LC method for the enantioselective analysis of levetiracetam and its enantiomer R-alfa-ethyl-2-oxo-pyrrolidine acetamide on amylose-based stationary phase. *J Pharm Biomed Anal*, 2004, 35(5):1017-1026.
213. Tan L, Yu X, Wan P, Yang K. Biodegradable materials for bone repairs: A review. *J Mater Sci Technol*, 2013, 29(6):503-513.

214. Bodratti AM, Alexandridis P. Formulation of poloxamers for drug delivery. *J Funct Biomater*, 2018, 9(11):1-24.
215. Zirak MB, Pezeshki A. Effect of surfactant concentration on the particle size, stability and potential zeta of beta carotene nano lipid carrier. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 2015, 4(9):924-932.
216. Khattak SF, Bhatia SR, Roberts SC. Pluronic F127 as a cell encapsulation material: utilization of membrane-stabilizing agents. *Tissue Eng*, 2005, 11(5-6):974-983.
217. Menon JU, Kona S, Wadajkar AS, Desai F, Vadla A, Nguyen KT. Effects of surfactants on the properties of PLGA nanoparticles. *J Biomed Mater Res - Part A*, 2012, 100(8):1998-2005.
218. Sanna V, Roggio AM, Posadino AM, Cossu A, Marceddu S, Mariani A, Alzari V, Uzzau S, Pintus G, Sechi M. Novel docetaxel-loaded nanoparticles based on poly(lactide-co-caprolactone) and poly(lactide-co-glycolide-co-caprolactone) for prostate cancer treatment: formulation, characterization, and cytotoxicity studies. *Nanoscale Res Lett*, 2011, 6(1):260.
219. Punfa W, Yodkeeree S, Pitchakarn P, Ampasavate C, Limtrakul P. Enhancement of cellular uptake and cytotoxicity of curcumin-loaded PLGA nanoparticles by conjugation with anti-P-glycoprotein in drug resistance cancer cells. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33(6):823-831.
220. Ortega-Vinuesa JL, Santander-Ortega MJ, Jodar-Reyes AB, Csaba N, Bastos-Gonzalez D. Colloidal stability of Pluronic F68-coated PLGA nanoparticles: A variety of stabilisation mechanisms. *J Colloid Interface Sci*, 2006, 302(2):522-529.
221. Mura S, Hillaireau H, Nicolas J, Le Droumaguet B, Gueutin C, Zanna S, Tsapis N, Fattal E. Influence of surface charge on the potential toxicity of PLGA nanoparticles towards Calu-3 cells. *Int J Nanomedicine*, 2011, 6:2591-2605.

222. Shah U, Joshi G, Sawant K. Improvement in antihypertensive and antianginal effects of felodipine by enhanced absorption from PLGA nanoparticles optimized by factorial design. *Mater Sci Eng C*, 2014, 35:153-163.
223. Kumar R, Siril PF. Ultrafine carbamazepine nanoparticles with enhanced water solubility and rate of dissolution. *R Soc Chem*, 2014, 4:48101-48108.
224. Şengel Türk CT, Sezgin Bayindir Z, Badilli U. Preparation of polymeric nanoparticles using different stabilizing agents. *Ankara Ecz Fak Derg*, 2009, 38(4):257-268.
225. Alai M, Lin WJ. Application of nanoparticles for oral delivery of acid-labile lansoprazole in the treatment of gastric ulcer: In vitro and in vivo evaluations. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10:4029-4041.
226. Zybina A, Anshakova A, Malinovskaya J, Melnikov P, Baklaushev V, Chekhonin V, Maksimenko O, Titov S, Balabanyan V, Kreuter J, Gelperina S, Abbasova K. Nanoparticle-based delivery of carbamazepine: A promising approach for the treatment of refractory epilepsy. *Int J Pharm*, 2018, 547(1-2):10-23.
227. Gupta H, Aqil M, Khar RK, Ali A, Bhatnagar A, Mittal G. Sparfloxacin-loaded PLGA nanoparticles for sustained ocular drug delivery. *Nanomedicine*, 2010, 6(2):324-333.
228. Jawahar N, Eagappanath T, Venkatesh N, Jubie S, Samanta MK. Preparation and characterisation of PLGA-nanoparticles containing an anti-hypertensive agent. *Int J PharmTech Res*, 2009, 1(2):390-393.
229. Jassim ZE, Hussein AA. Dissolution method development and enhancement of solubility of clopidogrel bisulfate. *Int Res J Pharm*, 2017, 8(6):25-29.

230. Chourasiya V, Bohrey S, Pandey A. Formulation, optimization, characterization and in-vitro drug release kinetics of atenolol loaded PLGA nanoparticles using 3 3 factorial design for oral delivery. *Mater Discov*, 2016, 5:1-13.
231. Barakat NS, Radwan MA. In vitro performance of carbamazepine loaded to various molecular weights of poly (D, L-lactide-co-glycolide). *Drug Deliv*, 2006, 13(1):9-18.
232. Panchal JG, Patel RV, Menon SK. Preparation and physicochemical characterization of carbamazepine (CBMZ): Para-sulfonated calix[n]arene inclusion complexes. *J Incl Phenom Macrocycl Chem*, 2010, 67(1-2):201-208.
233. Akbari Z, Amanlou M, Karimi-Sabet J, Golestani A, Niasar MS. Characterization of carbamazepine-loaded solid lipid nanoparticles prepared by rapid expansion of supercritical solution. *Trop J Pharm Res*, 2014, 13(12):1955-1961.
234. Samifar S, Akki R, Ramya GM, Naik VV. Development and characterization of carbamazepine loaded nonionic surfactant vesicles. *Acta Chim Pharm Indica*, 2015, 5(1):29-40.
235. Sivaneswari S, Karthikeyan E, Chandana PJ. Novel expandable gastro retentive system by unfolding mechanism of levetiracetam using simple lattice design—Formulation optimization and in vitro evaluation. *Bull Fac Pharmacy, Cairo Univ*, 2017, 55(1):63-72.
236. Karna N, Biswal B, Bhavsar B. Formulation, optimization and evaluation of extended release tablets of levetiracetam. *Int J Pharm Tech Res*, 2014, 6(2):476-486.
237. Vankadaru S. Design and evaluation of levetiracetam extended release pellets. *J Pharm Mol Biol*, 2013, 1:39-50.

238. Mannam AK, Formulation and evaluation of levetiracetam niosomes for improved anti-convulsant activity. Department of Pharmaceutics, KMCH College of Pharmacy. Master Thesis, Coimbatore: The Tamilnadu Dr. M.G.R Medical University, 2014.
239. Singh G, Kaur T, Kaur R, Kaur A. Recent biomedical applications and patents on biodegradable polymer-PLGA. *Int J Pharmacol Pharm Sci*, 2014, 1(2):30-42.
240. Erbetta CDaC, Alves RJ, Resende JM, Sousa Freitas RF, Sousa RG. Synthesis and characterization of poly(D,L-lactide-co-glycolide) copolymer. *J Biomater Nanobiotechnol*, 2012, 3(1):208-225.
241. Karolewicz B, Gajda M, Pluta J, Górniak A. The effect of Pluronic F127 on the physicochemical properties and dissolution profile of lovastatin solid dispersions. *J Therm Anal Calorim*, 2015, 123(3):2283-2290.
242. Górniak A, Karolewicz B, Czapor-Irزابek H, Gładysz O. A physicochemical and dissolution study of ketoconazole-pluronic F127 solid dispersions. *Farmacia*, 2016, 64(2):244-251.
243. Gao Q, Liang Q, Yu F, Xu J, Zhao Q, Sun B. Synthesis and characterization of novel amphiphilic copolymer stearic acid-coupled F127 nanoparticles for nanotechnology based drug delivery system. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 2011, 88(2):741-748.
244. Rustichelli C, Gamberini G, Ferioli V, Gamberini MC, Ficarra R, Tommasini S. Solid-state study of polymorphic drugs: Carbamazepine. *J Pharm Biomed Anal*, 2000, 23(1):41-54.
245. Paliwal H, Goyal S, Rathore KS, Singla S, Daksh S. Formulation and evaluation of levetiracetam extended release tablets. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 2016, 41(1):260-266.

246. Vega E, Egea AM, Calpena AC, Espina M, Luisa García M. Role of hydroxypropyl- β -cyclodextrin on freeze-dried and gamma-irradiated PLGA and PLGA-PEG diblock copolymer nanospheres for ophthalmic flurbiprofen delivery. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7:1357-1371.
247. Joshi SA, Chavhan SS, Sawant KK. Rivastigmine-loaded PLGA and PBCA nanoparticles: Preparation, optimization, characterization, in vitro and pharmacodynamic studies. *Eur J Pharm Biopharm*, 2010, 76(2):189-199.
248. Javadzadeh Y, Ahadi F, Davaran S, Mohammadi G, Sabzevari A, Adibkia K. Preparation and physicochemical characterization of naproxen-PLGA nanoparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2010, 81(2):498-502.
249. Detroja C, Chavhan S, Sawant K. Enhanced antihypertensive activity of candesartan cilexetil nanosuspension: Formulation, characterization and pharmacodynamic study. *Sci Pharm*, 2011, 79(3):635-651.
250. Ei-Badry M, Hassan MA, Ibrahim MA, Elsaghir H. Performance of poloxamer 407 as hydrophilic carrier on the binary mixtures with nimesulide. *Farmacia*, 2013, 61(6):1137-1150.
251. Mainardes RM, Gremiao MPD, Evangelista RC. Thermoanalytical study of praziquantel-loaded PLGA nanoparticles. *Rev Bras Ciencias Farm*, 2006, 42(4):523-530.
252. Swamy PV, Shahidulla SM, Shirsand SB, Hiremath SN, Younus A. Orodispersible tablets of carbamazepine prepared by direct compression method using 3^2 full factorial design. *Dhaka Univ J Pharm Sci*, 2008, 7(1):1-5.
253. Gunda RK, Kumar JNS, Satyanarayana V, Batta S, Harika M. Formulation development and evaluation of carbamazepine fast dissolving tablets. *J Pharm Res*, 2016, 10(5):216-225.

254. Rao NGR, Patel T, Kumar R. Development of fast dissolving carbamazepine tablets : effect of functionality of superdisintegrants. *Int J Pharm Sci Nanotechnol*, 2010, 3(1):824-833.
255. Mistry R, Desai DG, Seth AK. Prospective validation of tablet manufacturing process of orodispersible tablets by direct compression. *Pharma Science Monitor*, 2015, 6(4):69-87.
256. Swapna A, Brahma CK, Harshitha NM, Rama K. Formulation and evaluation of fast dissolving tablets of carbamazepine by using natural and systhetic polymers. *World J Pharm Pharm Sci*, 2014, 3(7):638-647.
257. Rao NGR, Kulkarni U, Rao KD, Suresh DK. Formulation and evaluation of fast dissolving tablets of carbamazepine using natural superdisintegrant Plantago ovata seed powder and mucilage. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2010, 2(2):70-74.
258. Rao NGR, Kulkarni U. Development of carbamazepine fast dissolving tablets : effect of functionality of hydrophilic carriers on solid dispersion technique. *Asian J Pharm Clin Res*, 2010, 3(2):114-117.
259. Marabathuni VJ, Bhavani M, Lavanya M, Padmaja K, Madhavi N, Babu P, Prasaa Rao MM. Formulation and evaluation of mouth dissolving tablets of carbamazepine. *Asian J Pharm Technol*, 2017, 7(3):137-143.
260. Rao NGR, Patel T, Kulkarni U. Formulation and evaluation of fast dissolving tablets of carbamazepine by solid dispersion method. *Int J Pharm Technol*, 2010, 1(2):23-37.
261. Jacob J, Coyle N, West TG, Monkhouse DC, Surprenant HL, Jain NB (inventors). Rapid disperse dosage form containing levetiracetam. US20140271862A1, 2014.
262. Kumar YG, Reddy PG, Kumar VK. Formulation design and development of orodispersible tablets of levetiracetam. *J Pharm Res*, 2017, 11(6):775-779.

263. Takka S, Acartürk F, Ağabeyoğlu İ, Çelebi N, Değim T, Değim Z. Önformülasyon. Modern Farmasötik Teknoloji, 2. baskı. Ankara, Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını, 2009: 119-140.
264. Gul S, Sajid S. Formulation of improved norfloxacin HCl tablets: quality control assessment and comparison study of acidic and basic form of norfloxacin in tablet formulation. *J Dev Drugs*. 2015;5(1): ID716736, DOI:10.4172/2329-6631.1000145.
265. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Yayın Komisyonu. Türk Farmakopesi Genel Monograflar, 1. Baskı, 2018: 353.
266. Ölmez SS. Klozapin İçeren Ağızda Dağılan Tablet Formülasyonu Geliştirilmesi, İn Vitro ve İn Vivo Yöntemlerle Değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı. Doktora tezi, Ankara: Hacettepe Üniversitesi, 2010.
267. Elkhodairy KA, Hassan MA, Afifi SA. Formulation and optimization of orodispersible tablets of flutamide. *Saudi Pharm J*, 2014, 22(1):53-61.
268. Wajid S, Yamsani VV, Alsaleh SS, Babelghaith SD, Alsaleh SS, Al-Arifi MN. Formulation design and in vitro evaluation of orodispersible tablets of orlistat by direct compression method. *Asian J Pharm*, 2017, 11(2):367-373.
269. Kumar Gunda R, Suresh Kumar JN. Formulation development and evaluation of amisulpride fast dissolving tablets. *Fabad J Pharm Sci*, 2018, 43(2):15-25.
270. European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). Orodispersible Tablet. European Pharmacopoeia, 8th ed, 2013:811.
271. Sastry SV, Nyshadham JR, Fix JA. Recent technological advances in oral drug delivery-A review. *Pharm Sci Technol Today*, 2000, 3(4):138-145.

272. Badgujar BP, Mundada AS. The technologies used for developing orally disintegrating tablets: A review. *Acta Pharm*, 2011, 61(2):117-139.
273. Jung SY, Kim DW, Seo YG, Woo JS, Yong CS, Choi HG. Development of sildenafil-loaded orally disintegrating tablet with new lactate salt. *Drug Dev Ind Pharm*, 2012, 38(5):635-641.
274. Klancke J. Dissolution testing of orally disintegrating tablets. *Dissolution Technol*, 2003, 10(2):6-8.
275. Dressman JB, Amidon GL, Reppas C, Shah VP. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: Immediate release dosage forms. *Pharm Res*, 1998, 15(1):11-22.
276. Dressman JB, Reppas C. In vitro–in vivo correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. *Eur J Pharm Sci*, 2000, 11(2):73-80.
277. The United States Convention. United States Pharmacopeia (USP 34-NF 29), 2011.
278. U.S. Food&Administration.
https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_getallData.cfm.
28 May 2019.
279. Gugulothu D, Desai P, Pandharipande P, Patravale V. Freeze drying: Exploring potential in development of orodispersible tablets of sumatriptan succinate. *Drug Dev Ind Pharm*, 2015, 41(3):398-405.
280. Abed KK, Hussein AA, Ghareeb MM, Abdulrasool AA. Formulation and optimization of orodispersible tablets of diazepam. *AAPS PharmSciTech*, 2010, 11(1):356-361.
281. Dixit M, Kini AG, Kulkarni PK. Enhancing the aqueous solubility and dissolution of olanzapine using freeze-drying. *Brazilian J Pharm Sci*, 2011, 7(4):743-749.

282. Swain RP, Nagamani R, Panda S. Formulation, in vitro characterization and stability studies of fast dispersing tablets of diclofenac sodium. *J Appl Pharm Sci*, 2015, 5(7):94-102.
283. Kumar A, Sharma N, Bhardwaj M, Singh S. A review on chemical induced kindling models of epilepsy. *J Vet Med Res*, 2016, 3(3):1050.
284. Ohno Y, Ishihara S, Terada R, Serikawa T, Sasa M. Antiepileptogenic and anticonvulsive actions of levetiracetam in a pentylenetetrazole kindling model. *Epilepsy Res*, 2010, 89(2-3):360-364.
285. Stephen LJ, Forsyth M, Kelly K, Brodie MJ. Antiepileptic drug combinations- Have newer agents altered clinical outcomes?. *Epilepsy Res*, 2012, 98(2-3):194-198.
286. Wu T, Nagaya Y, Hanada T. Pharmacodynamic and pharmacokinetic interactions of perampanel and other antiepileptic drugs in a rat amygdala kindling model. *Seizure*, 2014, 23(9):732-739.
287. Akinsomisoye OS, Owolabi AR, Adeyeye OB, Osuntokun OS, Akintayo CO, Oladele A. Effects of vigabatrin, carbamazepine or its combination on the pituitarygonadal axis in male Wistar rats. *Res J Heal Sci*, 2017, 5(4):194-203.
288. Sisodiya SM, Sander JWAS, Patsalos PN. Carbamazepine toxicity during combination therapy with levetiracetam: A pharmacodynamic interaction. *Epilepsy Res*, 2002, 48(3):217-219.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Büşra KANDİLLİ Doğum Tarihi: 28.09.1989 Doğum Yeri: Aydın Medeni Hali: Evli, 1 çocuk Uyruğu: T.C. Adres: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Tel: 05422495546 E-mail: busra.server@atauni.edu.tr
Eğitim
İlköğretim: Güzelhisar İlköğretim Okulu (Aydın) Lise: Adnan Menderes Anadolu Lisesi (Aydın/2003-2007) Lisans: İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (İstanbul/2007-2012) Doktora: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı (2014-2019)
Yabancı Dil
İngilizce: Orta Derece (YDS 80.0, Ekim 2014)
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
TÜFTAD (Türk Farmasötik Teknoloji Araştırmacıları Derneği)
İlgi Alanları ve Hobiler
.....

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Doktora Tezi olarak Prof. Dr. Meltem ÇETİN danışmanlığında sunulan “Antiepileptik Etkin Madde İçeren İlaç Şekillerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	%2	15
Genel Bilgiler	%3	30
Materyal ve Metod	%6	35
Bulgular	%8	10
Tartışma	%4	15

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz. 31/05/2019


Büşra KANDILLI
Öğrenci Adı-Soyadı
İmza


Prof. Dr. Meltem ÇETİN
Danışman Adı-Soyadı
İmza

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1600297161
Konu : HADYЕК Kararı.

09.12.2016

ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 16.11.2016 tarihli ve 93722986-000-E.1600272786 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 06.12.2016 tarih ve 8 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 163 no'lu kararı ile sözkonusu Doktora tezi çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz ederim.

Toplantı Tarihi: 06.12.2016

Toplantı Sayısı : 8

KARAR N0 163: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Meltem ÇETİN'in yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında ve Atatürk Üniversitesi Merkezi Laboratuvarlarında yürütülecek olan "Antiepileptik Etkin Madde İçeren İlaç Şekillerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu" başlıklı Doktora tezi çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 16.11.2016 tarih ve 93722986-000-E.1600272786 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen Doktora tezi çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#!birim=veteriner-fakultesi>
Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr



Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
www.atauni.edu.tr adresinden doğrulama yapabilirsiniz. Doğrulama Kodu=76E3DCE