

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

**LANTANYUM KARBONAT FORMÜLASYONLARININ
HAZIRLANMASI, IN-VITRO DEĞERLENDİRİLMESİ VE
BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

Uzm. Ecz. Onur PINARBAŞLI

**Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı
DOKTORA TEZİ**

ANKARA

2018

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

**LANTANYUM KARBONAT FORMÜLASYONLARININ
HAZIRLANMASI, IN-VITRO DEĞERLENDİRİLMESİ VE
BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

Uzm. Ecz. Onur PINARBAŞLI

**Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Levent ÖNER**

**ANKARA
2018**

**LANTANYUM KARBONAT FORMÜLASYONLARININ HAZIRLANMASI, IN-VITRO
DEĞERLENDİRİLMESİ VE BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

Uzm. Ecz. Onur Pınarbaşı

Danışman: Prof. Dr. Levent Öner

Bu tez çalışması 11.06.2018 tarihinde jürimiz tarafından “Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı” nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Prof. Dr. Selma Şahin

(Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi)



Üye:

Prof. Dr. Sevgi Takka

(Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi)



Üye:

Prof. Dr. Meltem Çetin

(Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi)



Üye:

Prof. Dr. Hakan Eroğlu

(Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi)



Üye:

Prof. Dr. Sibel Bozdağ Pehlivan

(Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi)

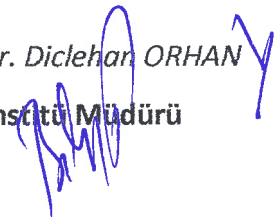


Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

13 Haziran 2018

Prof. Dr. Diclehan ORHAN

Enstitü Müdürü



YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesi'ne verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

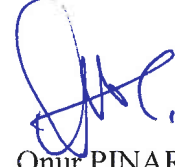
- **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.** (Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir)
- **Tezimin/Raporumun 11.06.2023 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.** (Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir)
- **Tezimin/Raporumun.....tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**
- **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

11 /06/2018

Uzm. Ecz. Onur PINARBAŞLI

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Levent ÖNER danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.



Uzm. Ecz. Onur PINARBAŞLI

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan saygıdeğer hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Levent ÖNER'e ve bilimsel çalışmaları gerçekleştirebilmek için Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı imkanlarını kullanmama olanak sağlayan Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sema ÇALIŞ'a ve Eczacılık Teknolojisi Bölüm Başkanı Prof. Dr. Süeda HEKİMOĞLU'na saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında bana katkı sağlayan başta Prof. Dr. Selma ŞAHİN, Prof. Dr. Hakan EROĞLU ve Dr. Ecz. Yağmur AKDAĞ ÇAYLI olmak üzere Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm değerli hocalarıma, yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İş hayatımla birlikte doktora çalışmalarımın başlamasına öncülük eden ve her aşamasında desteklerini hissettiğim başta İlko İlaç San. ve Tic. A.Ş. Genel Müdürü Hatice ÖNCEL olmak üzere İlko İlaç Ar-Ge ve Ruhsatlandırma Direktörü Prof. Dr. Yılmaz ÇAPAN'a ve tez çalışmalarımındaki bilimsel katkılarından dolayı Uzm. Kim. Müh. Nagehan SARRAÇOĞLU ve Ecz. Sibel YURTOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında daima yanımda olan, sevgi ve desteğini esirgemeyen PINARBAŞLI ve GÜNBEYAZ ailelerine şükranlarımı sunarım.

Son olarak her zaman yanımda olup hayat yükümü hafifleten, bana hayatı güzel kılan ve bu tezi yazabilecek noktaya gelme cesaretini kendimde bulmamı sağlayan eşim Merve PINARBAŞLI'ya ve geleceğe dair umudum olan oğlum Arda PINARBAŞLI'ya teşekkür eder, şükranlarımı sunarım.

ÖZET

Pınarbaşı, O., Lantanyum Karbonat Formülasyonlarının Hazırlanması, In-vitro Değerlendirilmesi ve Biyoaktivite Çalışmaları. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı Doktora Tezi, Ankara, 2018. Bu çalışmada mikronizasyon/nanonizasyon işlemleri uygulayarak; suda çözünürlüğü az olan veya suda çözünmeyen ilaç etkin maddelerinin çözünme hızlarının, buna bağlı olarak biyoaktivitelerinin artırılması hedeflenmiştir. Mikrokristal/nanokristal hazırlanması ile partikül büyüklüğünün küçültülmesi, buna bağlı olarak da partiküllerin yüzey alanındaki artış; çözünme hızı ve biyoaktivitede artışa neden olur. Tez çalışmamızda model ilaç olarak lantan(yum) karbonat etkin maddesi kullanılmış ve hem işlem görmemiş etkin madde üzerinden Lantan Formülasyonu hem de bilyalı değirmen yöntemi ile partikül büyüklüğü submikron düzeye indirgenen etkin madde üzerinden Submikron/Mikron (SM/M) Lantan Formülasyonu hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan bu formülasyonların yapılan deneylerle miktar tayini analizleri, in-vitro çözünme ve biyoaktiviteleri incelenmiştir. Miktar tayini ve in-vitro çözünme analizleri kompleksometrik titrasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Biyoaktivite çalışmaları kapsamındaki fosfat bağlama ve denge bağlama analiz çalışmaları ise iyon kromatografisi yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bu deneyler sonucunda SM/M Lantan Formülasyonu'nun, Lantan Formülasyonu ve referans ürün olan Fosrenol® 1000 mg Saşe'ye göre hem çözünme hızı hem de fosfat bağlama kapasitesi daha yüksek bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Biyoaktivite, fosfat bağlama kapasitesi, in-vitro çözünme, lantan(yum) karbonat, mikrokristal/nanokristal

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (17180) tarafından desteklenmiştir.

ABSTRACT

Pınarbaşı, O., Preparation of Lanthanum Carbonate Formulations, In-vitro Evaluation and Bioactivity Studies. Hacettepe University, Institute of Health Sciences, Doctor of Philosophy Thesis, Biopharmaceutics and Pharmacokinetics Program, Ankara, 2018. The aim of this study is to increase the dissolution rate and therefore the bioactivity of poorly water soluble or insoluble active drug substances by using micronization/nanonization processes. One of the common methods is to prepare drug microcrystals/nanocrystals by decreasing the particle size and thus, increasing the surface area for enhancement of dissolution rate and bioactivity. In our studies, lanthanum carbonate was used as a model drug, and its formulation was prepared with untreated active drug substance. In addition to that, Submicron/Micron (SM/M) Lanthanum Formulation was prepared using lanthanum carbonate having particle size in submicron range after ball milling process. Assay analysis, in-vitro dissolution and bioactivity of the formulations were investigated. Assay and in-vitro dissolution analysis were performed by complexometric titration method. Phosphate binding and equilibrium binding studies within the scope of bioactivity studies were carried out by ion chromatography. As a result of these experiments, the phosphate binding capacity and dissolution rate of SM/M Lanthanum Formulation were found to be higher than both Lanthanum Formulation and the reference product-Fosrenol® 1000 mg Sachet.

Key Words: Bioactivity, phosphate binding capacity, in-vitro dissolution, lanthanum carbonate, microcrystal/nanocrystal

This study was supported by Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit (17180).

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Mikronizasyon/Nanonizasyon ve Uygulama Alanları	2
2.2. Yeni İlaç Taşıyıcı Sistemler	3
2.2.1. Mikropartiküler ve Nanopartiküler Sistemler	3
2.3. Hiperfosfatemi ve Fosfor Bağlayıcı Tedaviler	18
2.4. Lantan(yum) Karbonat	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM	33
3.1. Kullanılan Cihazlar	33
3.2. Kullanılan Madde ve Malzemeler	34
3.3. Etkin Madde Üzerinde Yapılan Fizikokimyasal İncelemeler	35
3.3.1. Lantan Karbonatın FT-IR Analizi	35
3.3.2. Lantan Karbonatın Partikül Büyüklüğü Dağılımı Analizi	35
3.4. Analitik Yöntem ve Validasyon Çalışmaları	36
3.4.1. Bitmiş Üründe Miktar Tayini Test Yöntemi	36
3.4.2. Bitmiş Ürün Miktar Tayini Analitik Yöntem Validasyonu	37
3.4.3. Bitmiş Üründe Çözünme Testi Yöntemi	44
3.4.4. Bitmiş Ürün Çözünme Testi Analitik Yöntem Validasyonu	45
3.5. Lantan Karbonat İçeren Formülasyon Çalışmaları	52
3.6. Stabilité Çalışmaları	59

3.7.	Fosfat Bağlama Çalışmaları	60
3.7.1.	Kinetik Bağlama Çalışmaları	61
3.7.2.	Denge Bağlama Çalışmaları	64
4.	BULGULAR	69
4.1.	Etkin Madde Üzerinde Yapılan Fizikokimyasal İncelemeler	69
4.1.1.	Lantan Karbonatın FT-IR Spektrumu	69
4.1.2.	Lantan Karbonatın Partikül Büyüklüğü Dağılımı Analizi	70
4.2.	Analitik Yöntem ve Validasyon Çalışmaları	71
4.2.1.	Bitmiş Ürün Miktar Tayini Analitik Yöntem Validasyonu	71
4.2.2.	Bitmiş Ürün Çözünme Testi Analitik Yöntem Validasyonu	78
4.3.	Lantan Karbonat İçeren Formülasyon Çalışmaları	86
4.4.	Stabilite Çalışmaları	106
4.5.	Fosfat Bağlama Çalışmaları	109
4.5.1.	Kinetik Bağlama Çalışmaları	109
4.5.2.	Denge Bağlama Çalışmaları	117
5.	TARTIŞMA	127
5.1.	Etkin Madde Üzerinde Yapılan Fizikokimyasal İncelemeler	127
5.1.1.	Lantan Karbonat FT-IR Analizi	127
5.1.2.	Lantan Karbonat Partikül Büyüklüğü Dağılımı Analizleri	127
5.2.	Bitmiş Ürün Miktar Tayini ve Çözünme Testi Analitik Yöntem Validasyonu	127
5.3.	Lantan Karbonat İçeren Formülasyon Çalışmaları	128
5.4.	Stabilite Çalışmaları	132
5.5.	Fosfat Bağlama Çalışmaları	133
5.5.1.	Kinetik Bağlama Çalışmaları	133
5.5.2.	Denge Bağlama Çalışmaları	134
6.	SONUÇ ve ÖNERİLER	136
7.	KAYNAKLAR	138
8.	EKLER	
EK-1:	Tez Kapsamında Yapılan Çalışmalar	
9.	ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER ve KISALTMALAR

Ca	Kalsiyum
CsA	Siklosporin A (<i>Cyclosporine A</i>)
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (<i>Differential Scanning Calorimetry</i>)
EAA	Eğri Altındaki Alan
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
FDA	<i>U.S. Food and Drug Administration</i>
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometresi (<i>Fourier transform infrared spectrophotometer</i>)
GFR	Glomerüler Filtrasyon Hızı
HD	Hemodiyaliz
IC	İyon Kromatografisi (<i>Ion Chromatography</i>)
NHD	Nokturnal Hemodiyaliz
P	Fosfor
PTH	Parathormon
RH	Bağıl Nem (<i>Relative Humidity</i>)
SAPD	Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi
SDBY	Son Dönem Böbrek Yetmezliği
SH	Standart Hata
SM/M	Submikron/Mikron
SS	Standart Sapma
TGA	Termogravimetrik Analiz
VK	Varyasyon Katsayısı
XRD	X-Işını Kırınımı Analizi (<i>X-ray diffraction</i>)

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Bilyalı değirmen.	11
2.2. Bilyalı değirmen çalışma mekanizması.	13
2.3. Mineral metabolizma bozukluğu parametreleri ve mortalite.	19
2.4. Hiperfosfatemide yaklaşım.	21
2.5. Lantan karbonat oktahidrat molekül yapısı.	26
2.6. Formüle edilmiş ve formüle edilmemiş hidrate lantan karbonatın stres koşullarındaki dekarboksilasyon hızları.	28
3.1. Lantan karbonat içeren formülasyonların üretim akış şeması.	56
4.1. Formülasyonlarda kullanılan lantan karbonat (Mylan, 22113469) etkin maddesinin (sample) ve standart lantan karbonat etkin maddesinin (reference) FT-IR spektrumları.	69
4.2. Lantan karbonat etkin maddesi partikül büyüklüğü dağılımı sonuçları (ortalama±SS, n=3).	70
4.3. Bimodal partikül büyüklüğü dağılımı gösteren lantan karbonat etkin maddesinin birinci (a.) ve ikinci (b.) partikül büyüklüğü dağılımı sonuçları (ortalama±SS, n=3).	70
4.4. Miktar tayini yöntemi kapsamında lantan karbonat doğrusallık grafiği.	73
4.5. Çözünme testi yöntemi kapsamında lantan karbonat doğrusallık grafiği.	80
4.6. Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'nin pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki karşılaştırmalı çözünme profili (ortalama±SH, n=12).	89
4.7. Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'nin pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme profili (ortalama±SH, n=12).	91
4.8. Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'nin pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme profili (ortalama±SH, n=12).	93

4.9.	Bilyalı değirmen yöntemiyle partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen lantan karbonat etkin maddesi partikül büyüklüğü dağılımı sonuçları (ortalama $\pm$ SS, n=3).	94
4.10.	Bilyalı değirmen ile öğütme işlemi sonrası bimodal partikül büyüklüğü dağılımı gösteren lantan karbonat etkin maddesinin birinci (a.) ve ikinci (b.) partikül büyüklüğü dağılımı sonuçları (ortalama $\pm$ SS, n=3).	95
4.11.	İşlem görmemiş lantan karbonat etkin maddesinin XRD difraktogramı.	96
4.12.	Partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen lantan karbonat etkin maddesinin XRD difraktogramı.	97
4.13.	Partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen lantan karbonat etkin maddesi ve işlem görmemiş lantan karbonat etkin maddesinin TGA termogramları.	98
4.14.	Partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen lantan karbonat etkin maddesi ve işlem görmemiş lantan karbonat etkin maddesinin DSC termogramları.	99
4.15.	Lantan Formülasyonu, Fosrenol [®] 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'nun pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki karşılaştırmalı çözünme profilleri (ortalama $\pm$ SH, n=12).	102
4.16.	Lantan Formülasyonu, Fosrenol [®] 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'nun pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme profilleri (ortalama $\pm$ SH, n=12).	104
4.17.	Lantan Formülasyonu, Fosrenol [®] 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'nun pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme profilleri (ortalama $\pm$ SH, n=12).	106
4.18.	Fosfat bağlama çalışmalarında kullanılan standart çözeltisine ilişkin kromatogram.	109
4.19.	Fosfat bağlama çalışmalarında kullanılan numune çözeltisine ilişkin kromatogram.	110

- 4.20.** Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'nun pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki farklı mM fosfat konsantrasyonlarındaki karşılaştırmalı bağlanan fosfat miktarları profilleri. 112
- 4.21.** Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'nun pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki farklı mM fosfat konsantrasyonlarındaki karşılaştırmalı bağlanan fosfat miktarları profilleri. 114
- 4.22.** Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'nun pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki farklı mM fosfat konsantrasyonlarındaki karşılaştırmalı bağlanan fosfat miktarları profilleri. 116
- 4.23.** Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki langmuir doğruları. 119
- 4.24.** Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki langmuir doğruları. 122
- 4.25.** Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki langmuir doğruları. 125

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. İlaç mikrokristali/nanokristali içeren ticari preparatlar.	17
2.2. Lantan karbonatın farklı çözücülerdeki çözünürlük değerleri.	26
2.3. Lantan karbonatın farklı tamponlardaki çözünürlük değerleri.	27
3.1. Miktar tayini yöntemi kapsamında doğrusallık çalışması.	39
3.2. Miktar tayini yöntemi kapsamında kesinlik çalışması.	41
3.3. Miktar tayini yöntemi kapsamında doğruluk çalışması.	42
3.4. Çözünme testi yöntemi kapsamında doğrusallık çalışması.	47
3.5. Çözünme testi yöntemi kapsamında kesinlik çalışması.	49
3.6. Çözünme testi yöntemi kapsamında doğruluk çalışması.	50
3.7. Doğrudan karıştırma yöntemiyle hazırlanmış olan lantan karbonat içeren saşe formülasyonları.	55
3.8. Bilyalı değirmen yönteminde farklı hız ve sürelerle tabi tutulan etkin madde deneme çalışmaları.	58
3.9. Stabilite çalışmaları kapsamında değerlendirilecek olan testler ve spesifikasyonları.	60
3.10. Lantan karbonat 1000 mg saşe fosfat bağlama için fosfat çözeltilerinin hazırlanması için gerekli miktarlar.	62
3.11. Lantan karbonat 1000 mg saşe fosfat bağlama için standart fosfat çözeltilerinin hazırlanması için gerekli miktarlar.	63
3.12. Lantan karbonat 1000 mg saşe fosfat bağlama için numune çözeltilerinin hazırlanması için gerekli miktarlar.	63
3.13. Lantan karbonat 1000 mg saşe fosfat bağlama için fosfat çözeltilerinin hazırlanması için gerekli miktarlar.	65
3.14. Numune içerisindeki son fosfat konsantrasyon miktarları.	66
4.1. FT-IR spektrumlarında dalga boyuna karşılık gelen fonksiyonel gruplar.	69
4.2. Miktar tayini yöntemi kapsamında özgülük çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.	71

4.3.	Miktar tayini yöntemi kapsamında doğrusallık çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.	72
4.4.	Miktar tayini yöntemi kapsamında tekrarlanabilirlik çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.	74
4.5.	Miktar tayini yöntemi kapsamında ara kesinlik çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.	75
4.6.	Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçlarının miktar tayini yönünden karşılaştırılması.	76
4.7.	Miktar tayini yöntemi kapsamında doğruluk çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.	77
4.8.	Miktar tayini yöntemi kapsamında çözelti stabilitesi çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.	78
4.9.	Çözünme testi yöntemi kapsamında özgüllük çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.	78
4.10.	Çözünme testi yöntemi kapsamında doğrusallık çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.	79
4.11.	Çözünme testi yöntemi kapsamında tekrarlanabilirlik çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.	81
4.12.	Çözünme testi yöntemi kapsamında ara kesinlik çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.	82
4.13.	Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçlarının çözünme testi yönünden karşılaştırılması.	83
4.14.	Çözünme testi yöntemi kapsamında doğruluk çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.	84
4.15.	Çözünme testi yöntemi kapsamında sağlamlık ve tekrarlanabilirlik testi sonuçlarının karşılaştırılması.	85
4.16.	Çözünme Testi yöntemi kapsamında çözelti stabilitesi çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.	85
4.17.	Çalışılan formülasyonlara ilişkin 3 farklı çözünme ortamındaki f2 değerleri.	86
4.18.	Lantan Formülasyonu'na ilişkin birim formül.	87

4.19.	Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'nin pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri (n=12).	88
4.20.	Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'nin pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri (n=12).	90
4.21.	Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'nin pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri (n=12).	92
4.22.	Bilyalı değirmen yöntemi sonrası elde edilen etkin maddelerin partikül büyüklüğü dağılımı sonuçları (ortalama±SS, n=3).	94
4.23.	Partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen lantan karbonat etkin maddesinin pH 1,2; pH 3,0; pH 5,0 ve su ortamında yapılan çözünürlük testi sonuçları (ortalama±SS, n=3).	100
4.24.	SM/M Lantan Formülasyonu ve Lantan Formülasyonu'nun pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri (n=12).	101
4.25.	SM/M Lantan Formülasyonu ve Lantan Formülasyonu'nun pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri (n=12).	103
4.26.	SM/M Lantan Formülasyonu ve Lantan Formülasyonu'nun pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri (n=12).	105
4.27.	Hızlandırılmış stabilite çalışmaları [40°C±2°C/% 75±% 5 bağıl nem (RH)] kapsamındaki formülasyonlara ilişkin stabilite sonuçları.	107
4.28.	Uzun süreli stabilite çalışmaları [25°C±2°C/% 60±% 5 bağıl nem (RH)] kapsamındaki formülasyonlara ilişkin stabilite sonuçları.	108
4.29.	Lantan Formülasyonu, SM/M Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'ye ilişkin pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki ortalama bağlanan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=6).	111

4.30.	Lantan Formülasyonu, SM/M Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'ye ilişkin pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=6).	113
4.31.	Lantan Formülasyonu, SM/M Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'ye ilişkin pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=6).	115
4.32.	Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=3).	117
4.33.	Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'ye ilişkin pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=3).	117
4.34.	SM/M Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (n=3).	118
4.35.	pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki Lantan Formülasyonu ile Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) arasındaki denge bağlama sonuçları.	120
4.36.	pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki SM/M Lantan Formülasyonu ile Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) arasındaki denge bağlama sonuçları.	120
4.37.	Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=3).	121
4.38.	Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'ye ilişkin pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=3).	121
4.39.	SM/M Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=3).	121

- 4.40.** pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki Lantan Formülasyonu ile Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) arasındaki denge bağlama sonuçları. 123
- 4.41.** pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki SM/M Lantan Formülasyonu ile Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) arasındaki denge bağlama sonuçları. 123
- 4.42.** Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=3). 124
- 4.43.** Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'ye ilişkin pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=3). 124
- 4.44.** SM/M Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (n=3). 124
- 4.45.** pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki Lantan Formülasyonu ile Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) arasındaki denge bağlama sonuçları. 126
- 4.46.** pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki SM/M Lantan Formülasyonu ile Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) arasındaki denge bağlama sonuçları. 126

1. GİRİŞ

İlacın mide-bağırsak kanalından absorpsiyon hızının, çözünme hızı ile kontrol edildiği durumlarda ve etkin maddenin çözünme hızının absorpsiyon hızından yavaş olduğu durumlarda etkin maddenin absorpsiyonu ve biyoyararlanımı çözünme hızının bir fonksiyonu olmaktadır. Biyoyararlanımı düşük olan etkin maddelerin öncelikle çözünürlük sorunlarının ortadan kaldırılması, buna bağlı olarak da çözünme, absorpsiyon ve dolayısıyla in-vivo etkinliğin artırılması hedeflenmektedir. Bu amaçla farmasötik teknoloji alanında yaygın olarak kullanılan yöntemlerden birisi, etkin maddenin mikrokristallerini/nanokristallerini hazırlamaktır. Mikrokristaller/nanokristaller suda çözünürlüğü olmayan veya az olan etkin maddelerin biyoyararlanımlarının/biyoaktivitelerinin artırılması amacıyla hazırlanmaktadır. Son yıllarda suda çözünürlüğü olmayan veya az olan etkin maddelerin mikrokristal/nanokristal formülasyonları hazırlanarak absorpsiyonda hız kısıtlayıcı basamak olan çözünürlüğün artırılması hedeflenmiştir.

Bu tez çalışmasında suda çözünürlüğü olmayan ve hatta pH 7,5'deki çözünürlüğü $< 0,01$ mg/mL olan ve absorpsiyonu oldukça düşük olan (mutlak oral biyoyararlanımı yaklaşık olarak $< \% 0,002$) lantan(yum) karbonat model ilaç olarak seçilmiştir. Lantan karbonat aktivitesini vücutta fosfatı bağlayarak gösterdiği için fosfat bağlama aktivitesi yanıt değişkeni olarak seçilmiştir. Bu bağlamda lantan karbonatın mikrokristal/nanokristalleri hazırlanmış, kuru toz (saşe) formülasyonları geliştirilmiştir. Bu işlemlerin sonucunda fosfat bağlama kapasitesinin artırılması ve buna bağlı olarak da hastalar için terapötik anlamda ilaçtan daha fazla yarar sağlanması hedeflenmektedir. Hazırlanan formülasyonların performansları; in-vitro çözünme deneyleri ve biyoaktivite çalışmaları ile test edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mikronizasyon/Nanonizasyon ve Uygulama Alanları

Nanoteknoloji terimi, ilk defa 1959 yılında fizikçi Richard Feynman'ın malzeme ve cihazların moleküler boyutlarda üretilmesi ile nano yapıların ölçülebileceği ve yeni amaçlar doğrultusunda kullanılabileceğini belirtmesiyle ortaya çıkmıştır. Albert Franks, bilim ve teknoloji alanındaki 0,1 nm ile 100 nm arasındaki büyüklükleri nanoteknoloji olarak tanımlamıştır (1, 2). Elan firması, US 7101576, WO 2006/074218, WO 09/666539 numaralı patentlerinde ise 2000 nm ve altındaki partikül büyüklüğünü nanopartikül olarak tanımlamaktadır.

Farmasötik alanda nanoteknoloji, son yıllarda insan sağlığının moleküler boyutta düzenlenmesinde yaygın kullanılmaktadır. Nanoteknolojinin tıp ve eczacılık alanında kullanımı; ilaç üretimi, teşhis ve tedavide yeni alternatifler sunan bir yaklaşım olmuştur. Nanoteknolojinin ilaç alanında yeni ve potansiyel uygulamaları; diyagnostik cihazların ve ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi, gen tedavisi gibi konuları içermektedir.

Alışıl gelmiş ilaçlara göre mikronizasyon/nanonizasyon kullanılarak üretilen ilaçların üstünlükleri, temelde partikül büyüklüğüne dayanmaktadır. Nano boyuttaki ilaçlar, daha düşük konsantrasyonlarda kullanılmakta, bunun yanı sıra terapötik etkinin de erken başlamasını sağlamaktadır (3).

Özellikle son yıllarda tedaviye sunulan etkin maddelerin büyük çoğunluğunun sudaki çözünürlüğü azdır. Buna bağlı olarak da bu maddelerin uygulamalarında biyoyararlanım sorunları sık karşılaşılan bir durumdur. Suda çözünürlüğü zayıf olan ilaçların partikül büyüklüğünü küçültürerek mikrokristallerini/nanokristallerini hazırlama tekniği son yıllarda hızla gelişen yöntemlerden biridir.

Nanoteknolojiden yararlanılarak birçok yeni ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmiştir, bu sistemlere ilişkin açıklamalar Bölüm 2.2.'de verilmiştir.

2.2. Yeni İlaç Taşıyıcı Sistemler

Bir bileşenin bir başka kimyasal veya ilaç uygulama aygıtı veya süreci ile salım hızını ve dokulara salımını kontrol eden sistemlere “ilaç taşıyıcı sistemler” denir. Yeni geliştirilen moleküllerin güvenlik ve etkililiğini artırması, yan etkilerini azaltması, biyoyararlanımlarını artırması nedeniyle ilaç taşıyıcı sistemlerle yakından ilgilenilmektedir. Son zamanlarda pek çok ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmiştir, bunların başında ise ilaç taşıyıcı olan ve salımı kontrol eden bazı mikro ve nanopartiküler sistemler yer almaktadır (4). Mikropartiküler sistemler; mikrokapsüller, mikroküreler ve mikrosüngerler olarak sınıflandırılmaktadır. Nanopartiküler sistemler ise; nanokapsüller, nanoküreler, nanosüngerler, nanoemülsiyonlar, katı lipit nanopartiküller, nanoveziküler sistemler moleküler sistemler (inklüzyon bileşikler) ve nanokristaller olarak sınıflandırılabilir. Bu bölümde mikropartiküler ve nanopartiküler sistemlere kısaca değinilmiş, mikrokristaller/nanokristaller ise ayrıntılı olarak ele alınmıştır.

2.2.1. Mikropartiküler ve Nanopartiküler Sistemler

Eczacılık alanında nanopartiküller 1976 yılında ilk olarak Speiser ve Brirenbach tarafından antikanser ilaçlar ve aşı taşıyıcı sistemler için geliştirilmiştir (5). Tanımlanmaları çoğunlukla boyut esaslı ve nanoteknolojik uygulama alanına göre (bilgi, inşaat, tekstil, gıda, ilaç, kozmetik vb.) yapılmakla birlikte bu konuda pek çok farklı tanım kabul görmektedir. Uluslararası standardizasyon organizasyonuna (International Organization for Standardization-ISO) göre nanopartikül her üç dekart düzleminde de büyüklüğü 100 nm’nin altında olan nano-nesne olarak tanımlanmaktadır (6). Benzer şekilde Amerikan Ulusal Bilim Kurumu da (National Science Foundation-NSF) nanoboyutu 1-100 nm arası olarak tanımlamakla birlikte (7) halihazırda daha geniş bir aralıkta (< 1000 nm) yapılan çalışmalar nanoteknoloji alanı kapsamında değerlendirilmektedir. Hatta “Nanoyapı” tanımının diğer düzlemlerdeki boyut dikkate alınmaksızın herhangi bir düzlemde büyüklüğü 1 mikronun altında olan küresel olmayan taşıyıcıları işaret ettiği ifade edilmektedir (8, 9). Yasal bir tanım yapılmamakla birlikte U.S. Food and Drug Administration (FDA) tarafından Haziran 2014’de yayınlanan “*Guidance for Industry Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application*

of Nanotechnology” başlıklı kılavuzda ise “Nanoteknoloji ürünleri, nanoboyutta maddeler içeren veya nanoboyutta maddeler kullanılarak üretilen ürünleri ve bunlarla birlikte bu tür maddeleri içeren veya üretiminde bu tür maddeler kullanılan veya bunun dışında boyut-bağımlı özellikler veya fenomenler açısından benzer özellikler sergileyen ürünlerdir” şeklinde tanımlanmaktadır (10).

Farmasötik alanda nanopartiküller etkin madde içerisinde hapsedilmiş, çözündürülmüş, enkapsüle edilmiş ve/veya etkin madde yüzeyine adsorbe ettirilmiş niteliklerde olabilen polimerik kolloidal partiküller olarak tanımlanır. Yapılarında çoğunlukla polimerler bazen de lipidler veya polisakkaridler bulunmaktadır, boyutları 10 ila 1000 nm arasında değişir. Bir başka deyişle nanopartiküller, genellikle doğal ya da sentetik yapıdaki polimerlerle hazırlanan, partikül büyüklükleri 10-1000 nm arasında değişen submikron ($< 1\mu\text{m}$) kolloidal sistemlerdir. Ayrıca, Elan Firması oral yolla uygulanan etkin maddeler için yaptıkları patent başvurularında (US 7101576, WO 2006/074218, WO 09/666539 numaralı patentlerde) 2000 nm ve altındaki büyüklükleri nanopartikül olarak tanımlamıştır (11-14).

Günümüzde nanopartiküller, hidrofilik ve lipofilik özellikte küçük molekül ağırlıklı ilaçların, proteinlerin, peptidlerin veya genler gibi makromoleküllerin hedef dokuya taşınmasını sağlamaları nedeniyle ilaç taşıyıcı sistemler olarak oldukça ilgi çekmektedir (15). Bu sistemler; ilaçların hedeflendirilmesi, kanserli dokularda ilaç birikmesinin sağlanması, oral biyoyararlanımın artırılması, hedef dokudaki ilaç/gen etkisinin uzatılması, intravasküler uygulamalar için ilaçların çözündürülmesi, özellikle peptid, protein ve nükleik asitlerin enzimatik parçalanmadan korunması amacıyla kullanılır. Hücre büyüklüğünden daha küçük olmaları ve nano boyutları sayesinde dokuların derinliklerine, ince kapillerler ve epitelyal fenestrelere daha kolay geçerek penetre olur ve genellikle etkin bir şekilde hücre içine alınır. Bu da istenen bölgeye ilacın etkin bir şekilde taşınmasını sağlarken istenmeyen yan etkileri de en aza indirir (16). Biyolojik olarak aktif makromoleküllerin, virüslerin, membranlar ve protein komplekslerinin çoğu doğal olarak nano-boyutta olduğundan bu yapıların hücre membranları ve proteinlerle etkileşiminin daha iyi olacağı varsayılmaktadır (17).

Nanopartiküller; oral, nazal, topikal, pulmoner, parenteral, oküler ve bukkal yollardan uygulanabilir. Etkin madde taşıyıcı sistemi olarak hazırlanan ve kullanılan polimerik nanopartiküller pek çok üstünlüğü ile diğer kolloidal yapıli taşıyıcı sistemlerden ayrılmaktadır (4, 11, 18). Polimer kullanıldığında, polimerik partiküler yapı etkin maddeyi parçalanmaya karşı korur. Üretim teknikleri genel olarak basit ve kolaydır. Nanopartiküllerin polimerik yapısı, etkin maddenin hücre veya dokulara hedeflendirilmesini ve kontrollü salımını sağlar. Kolaylıkla sterilize edilebilirler ve vücut sıvılarında kolayca parçalanabildikleri için toksik etkileri azdır. Kan düzeyinde oluşabilecek ani yükselmeleri önleyerek etkin maddenin yan etkilerinin azalmasına hatta etkililiğinin artmasına neden olur. Küçük partikül büyüklükleri ve geniş yüzey alanları nedeniyle etkin maddenin çözünürlüğü artacağı için küçük kapillere penetrasyon artar ve dolayısıyla biyoyararlanımları artar (18-24).

İlaç taşıyıcı sistemler üzerindeki çalışmalar önceleri lipozomlar üzerinde ağırlık kazanmışken günümüzde nanopartiküler sistemler üzerinde yoğun olarak çalışılmaktadır. Lipozomların hazırlanma aşamalarından kullanılmalarına kadar geçen sürede, kimyasal ve fiziksel stabilitedeki sorunları ve aynı zamanda yapısında içerdiği yüksek miktarda yağdan dolayı allerjik reaksiyonlara yol açması gibi nedenlerle bu taşıyıcı sistemlerden beklenen etki tam olarak sağlanamamıştır (19, 25, 26). Emülsiyon sistemlerinde ise, etkin maddenin yağ damlacıkları ve kan arasındaki dağılımının yüksek olması nedeniyle salım çok hızlı gerçekleşmektedir.

Buna karşın, polimerik yapıdaki katı partiküllerin birçok üstünlüğü bulunmaktadır (11, 27, 28).

- Saklama ve uygulama sırasında diğer ilaç taşıyıcı sistemlere nazaran stabilite sorunu ile daha az karşılaşmakta ve yavaş bir bozunma gerçekleşmektedir.
- Özellikle mikron boyutun altındaki polimerik etkin madde taşıyıcıları, salım profilinde değişikliklere neden olabilir.
- Plazma ilaç düzeyinde oluşabilecek ani yükselmeleri önleyerek etkin maddenin yan etkilerinin azalmasına ve hatta etkililiğinin artmasına neden olur.
- Etkin maddenin raf ömrünün uzamasına imkan tanır ve etkin madde yükleme etkinliğinin artmasını sağlar.

Hücre içerisine etkin maddeyi yüksek verimde taşıyabilmeleri için nanopartiküllerde istenen bazı özellikler (4, 11);

- Biyolojik olarak vücutta parçalanabilmeli,
- Etkin maddeyi hedef bölgeye taşıyabilmeli ve etkin maddenin salım hızını kontrol edebilmeli,
- Taşıyıcı makromolekül toksik olmamalı ve oluştuğu monomerik yapıda toksik etki göstermemeli,
- Yeterli derecede etkin madde yükleme kapasitesine sahip olmalı,
- Raf ömrü 30° C'nin altında en az bir yıl olmalı,
- Genellikle parenteral yolla uygulandıkları için sterilitesi sağlanmış olmalı ve vücut içerisinde herhangi bir emboli riskine neden olmamalıdır.

Mikrokristaller/Nanokristaller

Oral yoldan alınan katı dozaj şekilleri sistemik etki gösterebilmek için önce mide-bağırsak ortamında çözünmelidir. Bu nedenle, ilaçların mide-bağırsak kanalında çözünme hızları ilaçların emilme hız ve derecelerini etkilemektedir. Bir ilaç etkin maddesinin emilimi, ilacın uygulandığı yerden kan ve lenf dolaşımına geçmesidir. Emilen miktar; etkin maddenin fizikokimyasal özelliklerine, farmasötik dozaj şeklinin özelliklerine ve fizyolojik etkenlere bağlı olarak değişmektedir. İlaç etkin maddesinin mide-bağırsak kanalından tamamen emilmesi için tamamının çözünmesi gerekmektedir. Bir etkin maddenin sudaki ve diğer ortamlardaki çözünürlüğünün bilinmesi formülasyon geliştirme çalışmaları için oldukça önemlidir, zira sadece çözünmüş olan ilaç etkin maddesinin iyonik olmayan kısmı (non-iyonize hali) emilir ve dolaşıma geçerek vücutta etkisini gösterir. Kısaca, ilaç etkin maddesinin biyoyararlanımı çözünürlüğü ile ilişkilidir. Bu nedenle, suda çözünürlüğü az olan veya olmayan ilaç etkin maddelerinin oral biyoyararlanımları düşüktür (29, 30). Suda az çözünen ilaç etkin maddelerinin mide-bağırsak sıvılarında çözünmeleri uzun sürede gerçekleşecek, çözünme hızı düşük olacak, buna bağlı olarak da etkin madde tamamen çözünmeyeceğinden etkisini gösteremeyecektir. Düşük çözünürlükteki ilaçların geleneksel yöntemler ile tasarımı yapılırsa performansları düzensiz ve değişken olabilir. Etkin maddenin düşük çözünürlükte

olması sadece formülasyon tasarımı ve klinik testler için değil, aynı zamanda farmakolojik aktivite için de çok önemlidir. Bu nedenle yeni geliştirilen birçok yöntem ile düşük çözünürlükteki yeni moleküllerin performansı artırılmaya çalışılmaktadır. Etkin maddenin tuzunun oluşturulması, mikronizasyon, nanonizasyon, yardımcı çözücü, yüzey etkin madde eklenmesi veya siklodekstrin ile kompleks oluşturulması bu yöntemler arasında sıralanabilir (31-34). Mikrokristal/nanokristal teknolojisi ile çözünen etkin madde miktarının artırılmasına bağlı olarak biyoyararlanım artar, yan etkiler ilaç konsantrasyonu ile genellikle orantılı olduğundan, etkin madde konsantrasyonunun azalması hasta güvenliğini artırır (35).

İntrinsik çözünürlük, bir maddenin içinde çözündüğü çözücünün litresi başına mol sayısı olarak açıklanabilir. Çözücü ve çözelti arasındaki denge genellikle 25°C'lik özgül sıcaklıkta sürdürülür. Birimler genellikle mol/L, mg/mL veya ppm olarak ifade edilir (23). Çözünürlüğü etkileyen etkenler; pH, yardımcı çözücü, yüzey etkin madde, sıcaklık ve partikül büyüklüğüdür. Bu etkenlerin değiştirilmesi ile etkin maddelerin çözünürlüğü değiştirilebilir.

Çözünme hızı ise, birim zamanda oral katı dozaj şeklinden çözünerek çözünme ortamına geçen etkin madde miktarıdır. Çözünme hızı ilk defa Noyes-Whitney tarafından 1897 yılında tanımlanmıştır. Çözünme hızını etkileyen etkenler ise; karıştırma, sıcaklık, viskozite, yüzey etkin maddeler, kristal şekli, ortamın pH'sı ve partikül büyüklüğüdür (29, 36).

$$\frac{dc}{dt} = A \times D \times \left(\frac{C_s - C_x}{h} \right) \quad (2.1)$$

dc/dt : Birim zamanda çözeltiye geçen katı miktarı (çözünme hızı)

D : Etkin maddenin difüzyon katsayısı

A : Etkin maddenin yüzey alanı

C_s : Katı maddenin çözünme ortamındaki doyum konsantrasyonu

C_x : Başlangıç konsantrasyonu

h : Difüzyon mesafesi

Noyes-Whitney eşitliğine göre çözünme hızı, ortamla temas halinde bulunan etkin maddenin yüzey alanı ile doğru orantılıdır (Eşitlik 2.1). Etkin madde partikül büyüklüğündeki değişime bağlı olarak spesifik yüzey alanı da değişeceğinden, ilacın vücut sıvılarında çözünme hızı değişir (Eşitlik 2.2). Bu temel bilgilerden hareketle, çözünürlüğü az olan veya olmayan etkin maddelerin çözünme hızları ve biyoyararlanımları partikül büyüklüğü küçültülerek yüzey alanındaki artışa bağlı olarak artırılabilir.

$$Sw = \frac{6}{\rho \times d} \quad (2.2)$$

Sw : Spesifik yüzey alanı
 ρ : Partiküllerin gerçek dansitesi
 d : Partikül çapı

Günümüzde tedavide kullanılan birçok ilaç, çok düşük çözünürlüğe ve buna bağlı olarak da düşük oral biyoyararlanıma sahiptir. Yapılan araştırmalara göre kullanımda olan ilaç etkin maddelerinden % 40'ının, araştırma aşamasında olanların ise % 60'ının sudaki çözünürlüğü çok düşüktür (37-39). Sudaki çözünürlüğünün düşük olması da bu etkin maddelerin kullanımlarında sorunlar oluşturmaktadır. Suda çözünürlüğü az olan ilaçlar, bireylerarası ve birey içi değişkenlikler nedeniyle hasta uyuncu ve farklı emilimlerden dolayı ciddi olumsuz klinik etkiler gösterirler. Çözünürlükleri az olan ilaçların çözünme hızları artırıldığında biyoyararlanımları olumlu yönde artacaktır. Düşük çözünürlüğe ve yüksek geçirgenliğe sahip olan ve Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS)'ne göre Sınıf II'de yer alan ilaçlar kolayca çözünmez ve bu nedenle yeterli derecede emilemeyebilir. Mikron boyutundan daha küçük partiküller formüle edilerek yüzey alanı artırılabilir ve böylece çözünme hızı, dolayısıyla biyoyararlanım artırılabilir (40-42).

Bir etkin maddenin geçirgenliği doğrudan insan bağırsak membranından gerçekleşen kütle transferine ya da dolaylı olarak insanlardan etkin maddenin emilme derecesine dayanmaktadır. Bu ölçüt, farmakokinetik çalışmalarla saptanabilir ve verilen dozun absorpsiyon derecesi % 85 ya da fazlası ise o etkin maddenin yüksek

geçirgenlik gösterdiği kabul edilir (43). Yukarıda da belirtildiği gibi sudaki çözünürlüğü az olan veya olmayan moleküllerin alışlagelmiş yöntemler kullanılarak üretilen formülasyonlarında, gerek klinik öncesi çalışmaları gerekse klinik çalışmalarında yüksek değişkenlik gözlenmektedir. Bu tür etkin maddelerle hazırlanan dozaj şekilleri genellikle hastanın açlık ve tokluk durumundan da etkilenir. Bu da, uygun olmayan dozlamaya ve düşük biyoyararlanıma neden olur (24, 44, 45). Bu sorunları ortadan kaldırmak için; pH, yüzey etkin madde (46), yardımcı çözücü, dielektrik sabiti, partikül büyüklüğü (47), kompleks oluşumunun etkileri (48) ve kimyasal olaylar araştırılmalıdır. Çözünürlük, çözünme hızı dolayısı ile oral biyoyararlanımı artırmak için uygulanan tekniklerin büyük bölümü etkin maddelerin belirli fizikokimyasal özelliklere sahip olmasından dolayı sınırlı kullanıma sahiptir (37). Çözünmeyi artırmak için uygulanan yöntemlerden biri de amorf katı dispersiyonların hazırlanmasıdır (49). Teorik olarak bu sistemler, çözünmeyi artırmak için uygulanan uygun yöntemlerden biridir, ancak amorf durumdaki moleküller termodinamik olarak dayanıklı değildir; saklama sırasında kristal şekle dönüşebilirler (50, 51). Ayrıca erime derecesi oldukça yüksek olan veya dekompoze olup tayin edilemeyen etkin maddelerin katı dispersiyonlarının hazırlanması mümkün gözükmemektedir. Bu nedenle, katı dispersiyonun yerine ilaç mikrokristalleri/nanokristalleri hazırlanabilirse kristal fazın dayanıklı olmasına bağlı olarak bir üstünlük sağlanmış olacaktır. Mikrokristal/nanokristal teknolojisi, çözünme hızını katı dispersiyonlardaki gibi amorf yapısından dolayı artırmamakta, kristal yapılı etkin maddenin partikül büyüklüğünü submikron/nano boyuta indirerek yüzey alanının artırılmasına bağlı olarak çözünme hızında artmaya neden olmaktadır (52-54).

Mikrokristaller/nanokristaller çeşitli yöntemlerle partikül boyutu submikron/nano düzeye indirgenmiş, kristal yapıdaki ilaç etkin maddeleri olarak tanımlanır. Bu yapıları ilaç taşıyıcı sistemlerden ayıran en belirgin özellik, neredeyse tamamen ilaç etkin maddesinden oluşmalarıdır. Üstünlükleri oral biyoyararlanımı artırarak hızlı etki göstermeleri, yüksek biyoyararlanımdan dolayı dozun azaltılabilmesi, organik çözücü kullanılmaması, üretim şeklinin ve uygulanmasının kolay olması, suda çözünme sorunu olan ilaçların hazırlanabilmesidir (53, 55-57). Nanokristal formülasyonları ile çözünmeye bağlı olarak yüksek dozlarda azalan

biyoyararlanımda artış sağlanarak doz orantısallığı sağlanabilir, açlık ve tokluk biyoyararlanımları arasındaki değişkenlik azaltılabilir (58-61).

Mikrokristal/Nanokristal Hazırlamak için Kullanılan Yöntemler

Son yıllarda mikronizasyonun/nanonizasyonun öneminin pek çok farklı alanda olduğu gibi farmasötik alanda da artmasından sonra, farklı etkin maddeleri içeren nanoformülasyonların/nanosistemlerin geliştirilmesi ilgi çeken bir konu haline gelmiştir.

Farmasötik endüstride uygulanan işlemlere göre kesme, parçalama, ezme, dağıtma, ufalama ve toz etme ile etkin maddeler istenen partikül büyüklüğüne getirilebilir (62). Partikül büyüklüğü ve dağılımı eczacılık alanında formülasyon geliştirme aşamasında oldukça önemlidir. Partikül büyüklüğü dağılımını saptamak için kullanılan yöntem dinamik ışık saçılımı (DLS) yöntemine dayanır.

İlaç mikrokristal/nanokristal formülasyonlarının üretim teknikleri; yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya teknolojileri olmak üzere ikiye ayrılır. Aşağıdan yukarıya teknoloji çöktürme yönteminden, yukarıdan aşağı teknoloji ise öğütme ve homojenizasyon yöntemlerinden oluşmaktadır. Ayrıca püskürterek kurutma, kombine yaklaşımlar ve kimyasal sentezler olmak üzere farklı teknikler de uygulanmaktadır. “Aşağıdan yukarıya” teknoloji molekülle başlar; etkin madde çözücü eklenerek çözündürülür ve çözücü uçurularak çöktürülür. “Yukarıdan aşağıya” teknolojide ise, değişik tipte değirmenlerin kullanıldığı dağıtma yöntemleri uygulanmaktadır. İlaç mikrokristallerini/nanokristallerini oluşturmak için iki ana dağıtma tekniği vardır. Bu tekniklerden biri, değişik homojenizasyon tipleri ile yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi, diğeri ise bilyalı değirmen yöntemidir. Yüksek basınçlı homojenizasyon, nanosüspansiyon elde etmek için sıklıkla kullanılan bir yukarıdan aşağıya mekanik öğütme yöntemidir. Bu yöntemle öğütülmek istenen materyal, çözünmediği bir sıvı içerisinde disperse edilir. Cihazın uyguladığı basınç ile belirli por çaplarına sahip *chamber*’dan geçen dispersiyon içerisindeki partiküllerin küçülmesi sağlanır (63-67). Tez çalışmaları kapsamında ise ağırlıklı olarak bilyalı değirmen ile ilgili formülasyonlar hazırlanmış, bu kısımda ilgili öğütme süreci ayrıntılı olarak verilmiştir.

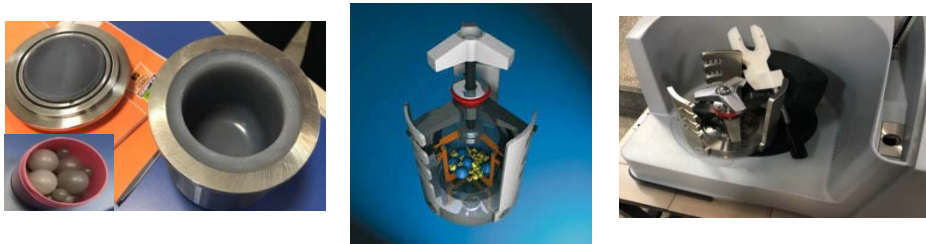
Öğütme ile Mikrokrystal/Nanokrystal Hazırlanması

Öğütme işlemini gerçekleştirebilmek için değişik öğütücüler kullanılabilmektedir. Öğütme işlemi ile partiküller aynı büyüklüğe getirildiğinden karıştırma işlemi daha kolaylaşır, akış özellikleri düzelir, kapsül/saşe dolum veya tablet basımı kolaylaşır (68).

Öğütmede kullanılan alet ve öğütülen materyalin tipine göre, öğütücüler ve partikül büyüklüğü arasındaki ilişki aşağıdaki gibidir (29, 36).

- **Kaba öğütme yapan öğütücüler (Çekiçli eziciler, Dönen eziciler);** Öğütülen partiküllerin partikül büyüklükleri 840 μm (20 mesh)'den daha büyüktür.
- **Orta derecede öğütme yapan öğütücüler (Dönen kesiciler, Çekiçli ve dönen değirmenler, ezici değirmenler);** Öğütülmüş partiküllerin partikül büyüklükleri 74 – 840 μm (200 – 20 mesh) arasındadır.
- **İnce derecede öğütme yapan öğütücüler (Çekiçli değirmenler, bilyalı değirmenler, dağıtıcı değirmenler, dövücü değirmenler, jet değirmenleri ve kolloit değirmenler);** Öğütülmüş partiküllerin partikül büyüklükleri 74 μm (200 mesh)'den daha küçüktür (29, 36).

Tez çalışmalarında öğütme amacıyla kullanılan bilyalı değirmen Şekil 2.1'de gösterilmiştir.

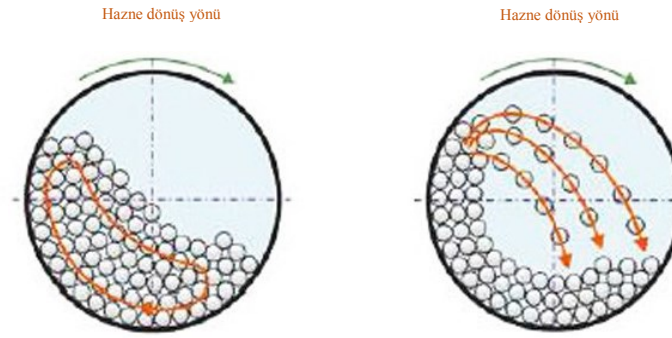


Şekil 2.1. Bilyalı değirmen. (69).

Bilyalı değirmen, partiküllerin kuru olarak veya süspansiyon içindeyken öğütülmesini ve homojen partiküller elde edilmesini sağlayan mekanik bir mikronizasyon yöntemidir. Bu yöntemde çeşitli malzemelerden yapılmış farklı

boyutlarda bilyalar kullanılmaktadır. Öğütücü hazne paslanmaz çelik, porselen veya sert malzemeden, içindeki bilyalar ise porselen, cam, zirkon oksit, paslanmaz çelik, krom, agat veya özel polimerlerden üretilmiş malzemelerden yapılmıştır. Bu bilyaların yapıldığı malzemenin cinsi oldukça önemlidir. İlaç etkin maddeleriyle etkileşimi en az düzeyde olan agat olduğu için, çalışmamızda da farklı boyutlarda agat bilyalar kullanılmıştır. Seçilen bilyalar öğütülecek kuru toz veya süspansiyon ile birlikte cihazın haznesine yerleştirilmektedir. Cihaz çalıştırıldığında hazne, istenen hızda (rpm) ve sürede dönmekte, buna bağlı olarak da hazne içindeki bilyalar hareket etmektedir. Hazne duvarı ile bilyalar arasında veya iki bilya arasında sıkışan partiküller öğütülmektedir ve bu işlemin sonucunda tozların partikül büyüklükleri mekanik enerji uygulanması ile küçülmektedir. Dönüş hızı ve işlem süresi başta olmak üzere; bilyaların sayısı, büyüklüğü, öğütülen toz miktarı veya süspansiyon miktarı, süspansiyonun katı içeriği gibi parametreler elde edilecek partikül özelliklerini etkilemektedir. Bilyalı değirmenlerde öğütme üzerinde en önemli etkenlerden biri de bilyaların büyüklüğüdür. Küçük çaptaki bilyalarla öğütme süresi uzarken daha küçük partiküller elde edilir. Bu değirmenlerin çalışmasında öğütme haznesinin dönüş hızı da oldukça önemlidir. Eğer dönüş hızı çok düşük olursa, bilyalar tam dönemeyeceğinden tam öğütme yapılamaz. Dönüş hızı çok yüksek olursa merkezkaç kuvvetinden dolayı bilyalar silindirin kenarında kalacağından ve tozların üzerine düşmeyeceğinden öğütme gerçekleşemez. Ayrıca, öğütme haznesine konulacak bilyaların hacminin, öğütme haznesi hacminin % 30 – 50'si arasında olmasına dikkat edilmelidir. Bilyalı değirmen yöntemi, sürtünme ile öğütme esasına dayandığı için işlem sırasında ısı açığa çıkabilmekte; bu durum, öğütülen maddelerin stabilitesi üzerinde olumsuz etkilere yol açabilmektedir (36, 70).

Bilyalı değirmenin çalışma mekanizmasının şematik gösterimi Şekil 2.2.'de verilmiştir (71).



Şekil 2.2. Bilyalı değirmen çalışma mekanizması. (71).

G. Liversidge ve arkadaşlarının geliştirdiği ve Elan firması tarafından kullanılan bilyalı değirmen yöntemi ile hazırlanan piyasadaki ilk ilaçlar Rapamune® tablet ve Emend® kapsüldür. Bu yöntemdeki başlıca sorun; bilyaların ya da haznenin aşınması sonucu ürünün kontamine olabilmesidir. Bu nedenle, bu çalışmada öğütme süresi ve öğütme materyali çok dikkatli seçilmiştir. Yüzey etkin madde veya polimer kullanarak bu etkileşme en az düzeye indirilmiştir.

Bilyalı değirmenin kullanıldığı Nimesulid etkin maddesinin Pluronic F127 ile nanokristallerinin hazırlanmasını takiben uygulanan liyofilizasyon işlemi ile partikül büyüklüğünün anlamlı bir şekilde küçüldüğü ve buna bağlı olarak etkin madde çözünürlüğünün arttığı, geçirgenliğinin ise değişmediği bulunmuştur (53).

Jinno ve ark. (72) çalışmalarında, silostazol süspansiyonu çekiçli değirmen ve jet değirmen kullanılarak öğütülmüş, silostazolün köpeklerdeki biyoyararlanımına partikül büyüklüğünün etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda aç ya da tok durumda ilaç alınmasının çözünme hızını etkilediği ve oral biyoyararlanımı değiştirdiği bulunmuştur. Ayrıca, standart yüksek yağlı bir kahvaltı etkin maddenin emilimini artırmış, bu artış maksimum plazma konsantrasyonunda yaklaşık % 91, eğri altındaki alanda ise (EAA) yaklaşık % 24 olmuştur. X-ışını analizleri, silostazolün kristal şeklinin değirmen kullanıldığında bozulmadığını göstermiş, değirmenle işlem sonucu hiçbir kimyasal değişim bulunmamıştır. In-vitro çözünme hızında ise partikül büyüklüğünün azalmasına bağlı olarak artış saptanmıştır.

Oral Yolla Uygulanan Mikrokristal/Nanokristal Formülasyonlarının Üstünlükleri ve Uygulama Alanları

Oral yolla alınan mikrokristal/nanokristal formülasyonlarının birçok üstünlüğü vardır.

- Oral biyoyararlanımı artırır,
- Hızlı etki gösterir,
- Doz orantısallığını iyileştirir,
- Yüksek biyoyararlanımdan dolayı doz azaltılabilir,
- Su bazlı olabilir, organik çözücü kullanılmayabilir,
- Tüm dozaj şekillerine uygulanabilir,
- Üretim şekli ve uygulaması kolaydır,
- Ölçek büyütme işleminin uygulanabilirliği kolaydır,
- Suda çözünürlüğü az olan lipofilik ilaçlarda gözlenen açlık ve tokluk durumlarındaki biyoyararlanım farklılığı mikrokristal/nanokristal teknolojisi ile azaltılabilir (48, 73-75).

Mikrokristal/nanokristal formülasyonlarının üstünlüklerine ilişkin araştırmalardan örnekler aşağıda sunulmuştur.

Suda çözünürlüğü az olan ilaçların nanoformülasyonları geliştirilerek çözünme hızı ve biyoyararlanımları artırılmasının (76) yanısıra öğütme yöntemi ile hazırlanan formülasyonlarda ilaç etkin maddelerinin partikül büyüklüğünün azaldığı ve yüzey alanı arttığı için, çözünme hızı ve biyoyararlanımlarının arttığı belirlenmiştir (24, 42, 77-79).

Siklosporin A (CsA) ile yapılan bir çalışmada; stabilizan olarak Poloksamer 407, öğütme ortamı olarak zirkonyum oksit bilyaları ve distile su kullanılarak öğütme tekniği ile CsA nanosüspansiyonları hazırlanmıştır. Formülasyonu optimize etmek amacıyla partikül büyüklüğü dağılımı, yüzey morfolojisi, ilaç-sürfaktan etkileşimi, ilaç içeriği, doyunluk çözünürlüğü, osmolarite ve stabilite araştırmaları yapılmıştır. Sonuç olarak; 213 nm boyutunda küresel, doyunluk çözünürlüğü 5,69 kat artmış olan, 2-8°C'de stabil nanokristaller elde edilmiştir. Albino sıçanlarda

yapılan in-vivo çalışmalarda ise; ticari ürüne göre daha uygun farmakokinetik parametreler bulunmuştur (80).

Sardorood ve ark. (81) yapmış olduğu bir çalışmada ise; transplantasyonda yaygın kullanılan ilaçlardan biri olan CsA'nın sudaki ve vücut sıvılarındaki çözünürlüğünü artırmak amacıyla nanosüspansiyonu hazırlanmıştır. Stabilizan olarak polivinil prolidon (PVP) kullanılarak hazırlanan nanosüspansiyonlar püskürterek kurutulmuştur. Karakterizasyon çalışmalarının ardından, intestinal sıvılarda çözünme çalışması yapılmıştır. % 100 verim ile elde edilen nanosüspansiyonların ortalama partikül büyüklüğü 250 ± 15 nm, polidispersite indeksi 0,1'den az bulunmuştur, çözünme bulguları ise uygun sonuç vermiştir.

Gönüllü hastalar üzerinde paklitaksel nanokristali ve piyasa preparatı Taxol® uygulanmış ve zamana bağlı olarak tümör ağırlığındaki azalma izlenmiştir. Bu çalışma sonucunda, paklitaksel nanokristalinin uygulandığı hastalarda akciğer tümör ağırlığının kontrol grubuna (hiç tedavi görmeyen) ve Taxol® alanlara göre çok daha az olduğu belirlenmiştir (82).

Budenosidin ticari preparatı ile nanokristal formülasyonunun bronşlara ve akciğerlere ulaşmasına yönelik yapılan bir çalışmada nanokristal teknolojisi ile üretilen formülasyonda solunan fraksiyon % 60 iken piyasa preparatında % 27 olarak bulunmuştur (73).

Bir başka çalışmada ise, naproksenin ticari preparatlarının maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşmaları 3–4 saat alırken, naproksen nanokristal formülasyonu ile 20 dakikada maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşıldığı görülmüştür. (24, 73).

Aprepitant (EMEND®) güçlü bir P/nörokinin 1 (NK1) reseptör antagonistidir; bu madde ile yapılan klinik öncesi tablet formülasyonu çalışmalarında, besinlerin emilime etkisi araştırılmıştır. Nanokristal formülasyonu ile hem besinlerin ilaç emilimi üzerindeki etkisi ortadan kaldırılmış, hem de biyoyararlanım önemli ölçüde artırılmıştır. İlaç partiküllerinin büyüklüğünün, mikrondan mikron altına veya nanometreye azaltılmasının biyoyararlanımı önemli derecede artırdığı belirtilmiştir (83).

Mikrokristal/nanokristal halde ticari olarak piyasada yer alan ürünler ve özellikleri Tablo 2.1.'de verilmiştir. Piyasayadaki ilk ürünler arasında yer alan Rapamune[®], Emend[®], Tricor[®] ve Megace ES[®], Elan Nanosystems tarafından geliştirilmiş olan NanoCrystal[®] teknolojisi ile hazırlanmıştır (84-86). Son yıllarda ise Iroko Pharmaceuticals firması tarafından “SoluMatrix™ Fine Particle Technology” olarak adlandırılan teknoloji (iCeutica firması tarafından geliştirilmiştir.) kullanılarak Zorvolex[®], Tivorbex[®] ve Vivlodex[®] ürünleri, FDA tarafından onay alınarak ruhsatlandırılmıştır. Aynı teknoloji kullanılarak geliştirilen osteoartrit ilişkili kas-iskelet ağrılarına yönelik naproksen etkin maddeli ürün ile kas gevşetici özellikte metaksalon etkin maddeli ürünlerin Faz III klinik çalışmaları ise devam etmektedir. “Solumatrix Technology”, ilaç etkin maddelerinin partikül büyüklüklerinin orijinal boyutlarından yaklaşık 10 ila 200 kat daha küçük olan mikron altı partiküllerin (submikron düzeyinde) elde edilmesine yöneliktir. Partikül büyüklüğünün submikron düzeyine indirilmesi için kombine öğütme işlemleri uygulanmaktadır. Partikül büyüklüğündeki bu azalma, daha hızlı çözünmeye yol açan daha yüksek bir yüzey alanı sağlamaktadır. Böylece biyoyararlanımın artırılması, plazma ilaç düzeyinde oluşabilecek ani yükselmelerin önüne geçilerek yan etki ve etkililiğin artırılması ve emilim üzerine yiyecek etkisinin ortadan kaldırılması sağlanmaktadır (87,88).

Tablo 2.1. İlaç mikrokristali/nanokristali içeren ticari preparatlar (86, 89-91).

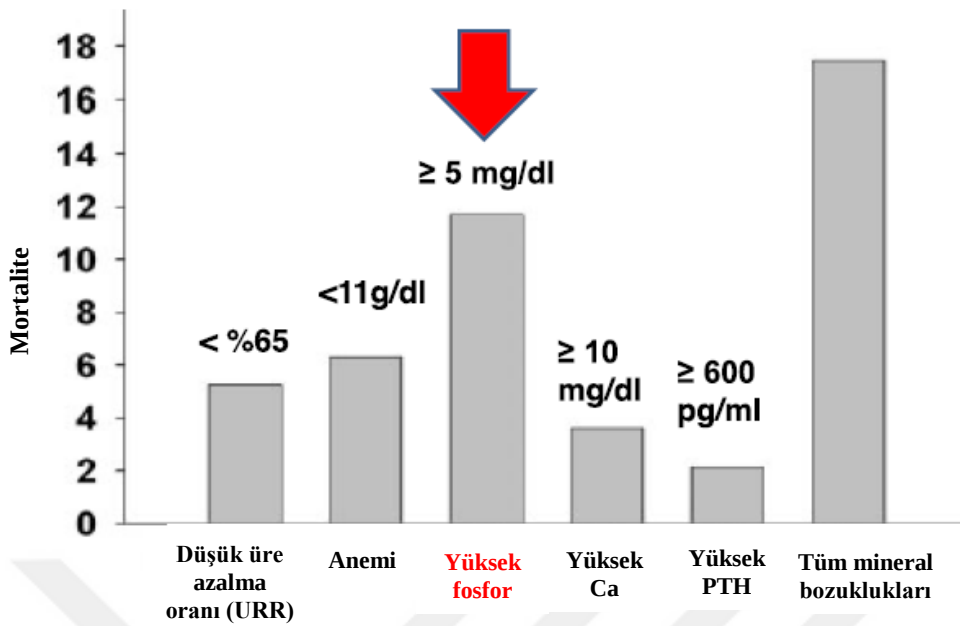
Etkin Madde	Dozaj Formu	Endikasyon	Ticari İsim	Onay Tarihi (FDA)	Firma
Siklosporin	Yumuşak jelatin kapsül	İmmün baskılayıcı ajan	Sandimmune Neoral®	1995	Novartis
Siklosporin	Sert jelatin kapsül	İmmün baskılayıcı ajan	Gengraf®	2000	Abbvie
Sirolimus	Tablet	İmmün baskılayıcı ajan	Rapamune®	2000	Pfizer (Wyeth)
Apprepitant	Kapsül	Antiemetik	Emend®	2003	Merck
Fenofibrat	Tablet	Hiperkolestrolemi, dislipidemi tedavisi	Tricor®	2004	Fournier Pharma, Abbott Labs
Fenofibrat	Tablet	Hiperkolestrolemi, dislipidemi tedavisi	Triglide®	2005	Sciele, Shionogi Pharma Inc.
Megestrol asetat	Nanosüspansiyon	Kanser/AIDS hastalarında kilo kaybını önleyici etki	Megace ES®	2005	PAR Pharmaceuticals
Paliperidon palmitat	Tablet	Şizofreni tedavisi	Invega®	2009	Janssen
	Tablet		Sustenna®		
	Süspansiyon içeren kullanıma hazır şırınga		Xeplion®		
Ritonavir	Yumuşak jelatin kapsül	Anti-retroviral (anti-HIV)	Norvir®	2010	Abbvie
Diklofenak	Kapsül	Osteoartrit ağrıları ve hafif ila orta akut ağrıların tedavisinde	Zorvolex®	2013	Iroko Pharmaceuticals
Indometasin	Kapsül	Yetişkinlerde hafif ila orta akut ağrıların tedavisinde	Tivorbex®	2014	Iroko Pharmaceuticals
Dantrolen sodyum	Enjektabl süspansiyon	Malignant hipertermi	Ryanodex®	2014	Eagle Pharmaceuticals
Meloksikam	Kapsül	Osteoartrit ağrılarının tedavisinde	Vivlodex®	2015	Iroko Pharmaceuticals
Aripiprazol lauroksil	Kontrollü salım enjektabl süspansiyon	Şizofreni tedavisi	Aristada®	2015, 2017	Alkermes Inc.

2.3. Hiperfosfatemi ve Fosfor Bağlayıcı Tedaviler

Fosfat birçok hücre işlemlerinde kritik bir öneme sahiptir, ayrıca kemiği güçlendirmek için iskeletin en önemli bileşenlerinden biridir. Fosfat, DNA ve RNA yapımı için nükleik asitlerin önemli bir bileşenidir. Fosfatın bağlı bulunduğu ATP bütün hücrelerin görevleri için gerekli olan enerjiyi taşır. Fosfat kemikte, serumda ve ürede tampon olarak görev alır. Enzimler ve proteinlere eklenen veya çıkarılan fosfat grupları bunların aktivitelerini düzenler. Bütün bu geniş etkilerinin yanında, fosfat dengesinin sağlanması zor bir işlemdir. Bütün vücuttaki fosfatın çoğunluğu (% 85) kemikte, ekstraselüler matriste mineral olarak bulunur. Fosfat hücre içi anyondur, kabaca 100 mmol/L konsantrasyonundadır. Çoğu hücre içi fosfat protein ve lipidlerle ya kompleks kurmuştur ya da onlara bağlıdır. Ayrıca hücre içi fosfat kaynağı hepsinde değilse bile çoğu hücre işlevinde esastır, hücre içi fosfat konsantrasyonu hücre dışındakinden daha fazladır. Fosfat hücre içine kolaylaştırılmış transportla girer (92, 93).

Normalde kanda iyonize kalsiyumun düşmesi durumunda parathormon (PTH) salgılanması artar ve bu hormon renal tübüler kalsiyum reabsorbsiyonunu artırır, fosfor reabsorbsiyonunu azaltır, böylece kalsiyumu arttırıcı, fosforu azaltıcı yönde etki eder. Tüm bu etkilerle artmış olan kalsiyum ise PTH salgılanmasını baskılayarak sistemin kontrolünü sağlar. Normal insanda tüm bu etkilerin toplamı kan kalsiyumunun (Ca) ve fosforun (P) istenen fizyolojik düzeylerde kalabilmesini sağlar. Glomerüler filtrasyon hızı (GFR) 25-30 mL/dk civarına indiğinde ya da kalsiyum-fosfor-PTH ekseninde sorunlar ortaya çıkmaya başladığında diyetteki fosfordan zengin gıdaların günlük alım değeri yarıya düşerek 650-1000 mg'a kadar inecektir (94).

Hiperfosfatemi diyaliz hastalarının % 50'sinden fazlasında görülen ciddi bir sorundur. Şekil 2.3.'de de görüldüğü üzere Hiperkalsemi ile mortalite riski artmazken, fosforun iyi kontrol edilememesi ile son dönem böbrek yetmezliğindeki (SDBY) morbidite ve mortalite arasında belirgin bir ilişki ortaya çıkmaktadır (95, 96).



Şekil 2.3. Mineral metabolizma bozukluğu parametreleri ve mortalite (95, 96).

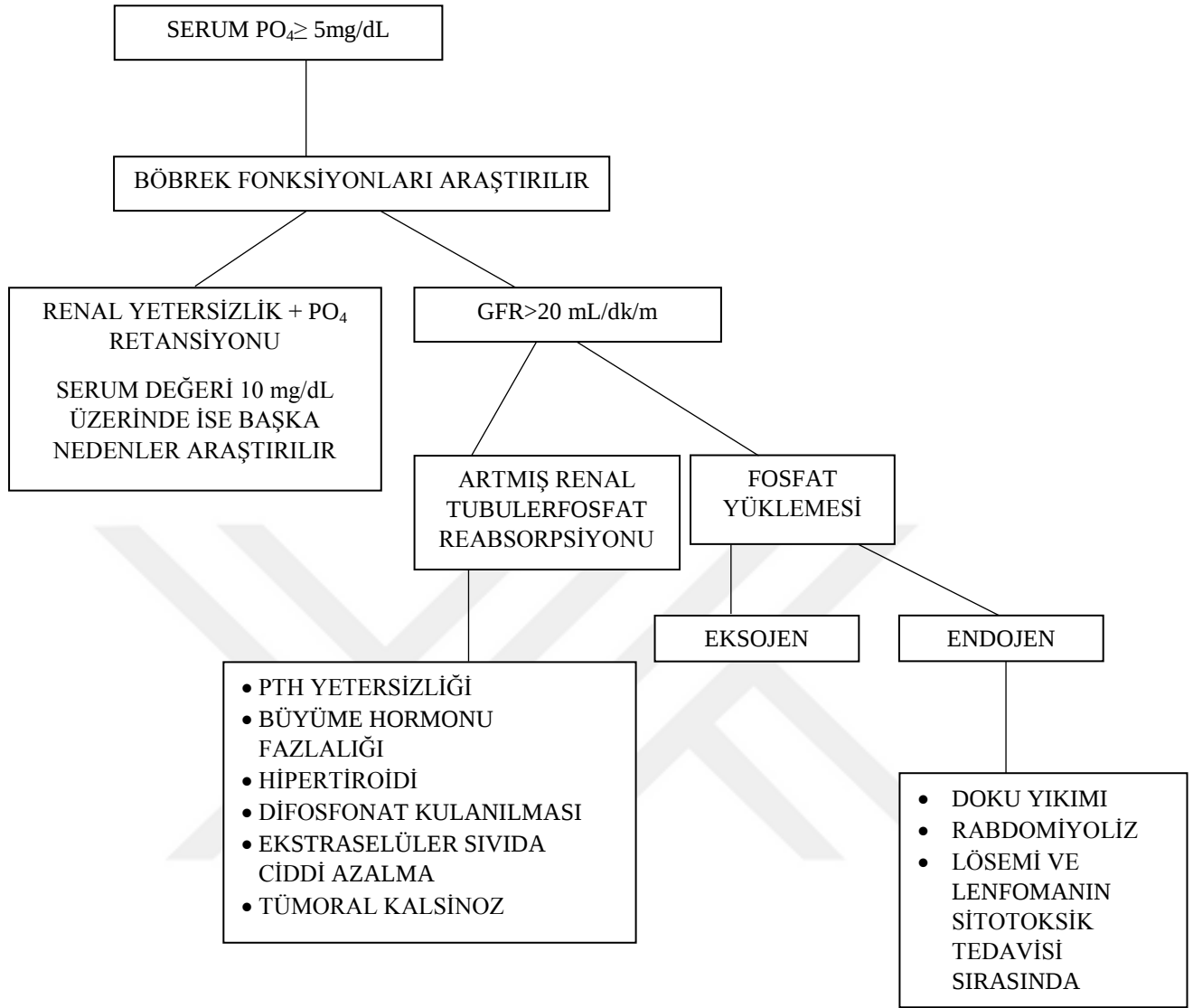
Hiperfosfatemi varlığında hastaneye yatış ve erken ölüm oranı artarken, yaşam kalitesinin düştüğü ve tedavi maliyetinin arttığı gösterilmiştir (97-99). Fosfor düzeyinin 6,5 mg/dL'nin üstünde olması durumunda risk artmaktadır, 7,9 mg/dL'nin üzerinde bu oran belirgin bir hal almaktadır ($p < 0,0001$). Kalsiyum ve fosfor çarpımının ($\text{Ca} \times \text{P}$) > 70 mg/dL olması ile ölüm riski % 34 oranında artış göstermiştir (99). Ölüm riskindeki bu artışın nedeni açık değildir. Hiperfosfateminin sekonder hiperparatiroidiye neden olması veya onu ağırlaştırması bir neden olabilir. Hiperfosfatemi, Ca ve P çarpımını artırarak kalp dokusunda kalsiyum fosfat depolanması oluşturmakta, bunun sonucunda miyokardial hasar, koroner arter hastalığı ve kardiyak ölüm meydana gelmektedir (100). Sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD) hastalarında daha düşük $\text{Ca} \times \text{P}$ değerlerinde (55 mg/dL) bile kardiyak kalsifikasyonlar görülebilmektedir (101).

Bunlara ek olarak, hiperfosfatemi PTH sentez ve sekresyonunu artırır (98). Bunu paratiroid bezleri üzerine olan doğrudan ve dolaylı etkileri ile gerçekleştirir. Fosfordan düşük diyetle beslenen sıçanlarda PTH mesajcı RNA (mRNA) düzeylerinde post transkripsiyonel bir azalma gözlenmiştir (102). Böbrek hastalığı ilerledikçe gelişen hiperfosfatemi, hipokalsemi ve kalsitriol eksikliği; PTH sekresyonunu uyarır ve paratiroid hücrelerinin çoğalmasına neden olur (103). Llach,

hiperfosfateminin PTH-kalsiyum eğrisini, kalsiyumun eşik noktasında (set point) olduğu gibi, sağa çevirdiğini göstermiştir (104). Eşik noktası, PTH sekresyonunu % 50 oranında baskılamak için gerekli olan kalsiyum iyonu konsantrasyonudur. Fosfor seviyesindeki yükselme PTH seviyesinde yükselmeye neden olacak, böylece baskılamak için gerekli kalsiyum konsantrasyonu yükselecektir. Hiperfosfatemi, muhtemelen paratiroid hücrelerde Vitamin D reseptör downregulasyonu ile kalsitriolün PTH'u baskılayıcı etkisine karşı bir direnç oluşturur ve bu yüzden daha yüksek dozlardaki vitamin D'ye bile yanıt alınamayabilir. Serum fosfor seviyesi 7-7,5 mg/dL'nin üzerine çıkınca oral veya i.v. kalsitriol ile PTH sentezi inhibe edilememektedir (104-106). Yani hiperfosfateminin paratiroid bezleri üzerine etkili olmasının 2 klinik önemi vardır:

1. Sekonder hiperparatiroidiye kötüleştirir.
2. Paratiroid bezleri üzerinde kalsitriol direncine neden olarak kalsitriol tedavisinin başarılı olmasını engeller. Kalsitriol direnci de genellikle paratiroidektomi ile sonuçlanmaktadır.

Bu hastalarda P'un kontrolü PTH seviyelerini düşürmekte, kalsitriol cevabını artırmaktadır. Sonuç olarak, hiperfosfateminin renal osteodistrofinin oluşmasında çok önemli bir rolü olduğu açıktır ve bütün diyaliz hastalarında serum fosfat düzeyini normal aralığa (4,5-5 mg/dL) getirmek gerekmektedir. Hiperfosfateminin en sık gözlenen nedeni renal yetersizliktir. Az bir bölümü ise patogeneze göre sınıflandırılır. Hiperfosfatemiye yaklaşım Şekil 2.4.'de özetlenmiştir.



Şekil 2.4. Hiperfosfatemide yaklaşım (104, 107-111).

Hiperfosfatemi 3 patojenik mekanizma ile ortaya çıkabilir.

1. Aşırı fosfat alımı:

Normal böbrek fonksiyonları varken aşırı fosfat alımı nadir hiperfosfatemiye neden olur. Renal atılım mekanizması normal fosfat mekanizması olan insanlara sınırsız miktarlarda fosfat alabilmesini sağlar. Çoğunlukla hiperfosfatemi; bozulmuş renal fosfat atılımı ve yüksek miktarda fosfat alımı olan kişilerde görülür (örneğin; böbrek yetmezliği, süt alkali sendromu). D vitamini toksikasyonu sindirim sisteminden aşırı fosfat Emilimi ve böbrek geri Emilimini arttırarak hiperfosfatemiye

neden olabilir. Kısa dönemli yüksek miktarlarda fosfatın parenteral kullanılması da hiperfosfatemiye neden olabilir (107-111).

2. Azalmış fosfat atılımı:

Azalmış fosfat atılımı özellikle hiperfosfatemiye geliştirecek olan aşırı alımla ilgili birçok ortak mekanizma ile birlikte ele alınır. Böbrek fosfat atılımını azaltan nedenlerin başında akut veya kronik böbrek yetmezliği gelmektedir. Böbrek yetmezliği böbreğin fonksiyonlarının % 40-50' sini kaybetmesiyle gelişmeye başlar. Böbrek hücrelerinin fonksiyonlarının azalması fosfat dengesini sağlayacak olan alınmış fosfatın atılımını sağlayamaz. Böylece hiperfosfatemi gelişir. Hipoparatiroidizm, böbrek proksimal tübülünden geri emilimi inhibe etmedeki sorundan kaynaklanan hiperfosfatemi geliştirir. PTH'a olan tübül direnci sendromları aynı mekanizmalarla hiperfosfatemi yapar. Bu sendromlar PTH salgılanmasını bozan ve periferik PTH direnci yaratan, çeşitli psödohipoparatiroidizm tipleri (1a, 1b, 1c ve 2) ve şiddetli hipomagnezemiye de kapsar. D vitamini intoksikasyonu, mide-bağırsak emilimi ve böbrek geri emilimini arttırarak, hiperfosfatemiye geliştirir (107-111).

3. Hücre içi ve hücre dışı fosfat değişimi:

Tek başına bu patolojik mekanizma nadiren hiperfosfatemi yapar ancak bozulmuş renal atılda hiperfosfatemiye şiddetlendirebilir. Rabdomiyolizis ve tümör lizis sendromunun da içinde bulunduğu bu klinik durumlar hiperfosfatemiye neden olan önde gelen mekanizmalardır. Nadiren hücre dışı fosfat değişimleri insülin eksikliği ve akut asidoz sonucu gelişir. Hiperfosfatemi genel popülasyonda nadirdir; buna rağmen böbrek hastalığı ve böbrek yetmezliği olan hastalarda en az % 70 oranında görülür. Hemen hemen böbrek yetmezliği olan bütün hastalar hastalıklarının gidişi sırasında bir dönem mutlaka hiperfosfatemi olurlar. Bu hem akut hem de kronik böbrek yetmezliğinde geçerlidir. Dünyada genel popülasyonda ve böbrek yetmezliği olan insanlarda hiperfosfatemi yaygınlığı hemen hemen eşittir.

Hiperfosfateminin kısa dönemde komplikasyonları muhtemel tetani ile giden akut hipokalsemi ve ender olarak eklemlerde, deri altı dokuda veya diğer yumuşak dokularda kalsiyum/fosfat komplekslerinin çökmesi şeklindedir. Hiperfosfateminin

uzun dönem komplikasyonları daha yıkıcı olabilir, organ sistemlerine etki edebilir. Organlar genellikle etkilenirler, bunlar içerisinde vasküler sistem, kemikler, deri, eklemler ve kalp bulunmaktadır. “*Böbrek hastalığı sonuçları kalite girişimi (KDOQI- Kidney Disease Outcome Quality Initiative)*” «hedef fosfor değerlerindeki sınır değişiklikler yüksek ölüm riskinin habercisidir» görüşündedir (108-111).

Fosfat kemiğin en önemli komponentlerinden birisidir. Kronik yüksek fosfat bulgularında rol oynayan mekanizmalar (112-114);

- Hiperfosfatemide komplekslerdeki serum kalsiyumu, iyonize kalsiyumun normalden daha düşük değerlerde olmasına neden olur. İyonize kalsiyum düşmesi PTH salımını tetikler. Bu ikincil hiperparatiroidizme yol açar. Tek başına yüksek fosfat düzeyleri de ayrıca PTH salımını uyarır. Yükselmiş PTH düzeyleri serum kalsiyum düzeyini normale getirmek için kemiklerden kana kalsiyum salımını sağlar.
- Yüksek fosfat düzeyleri bir böbrek enzimi olan ve 25-hidroksikolekalsiferole 1 hidroksil grubu ekleyerek D vitamini yapan 1-alfa hidroksilazın inhibisyonuna neden olur. Aktif D vitamini düzeyinin düşmesi kalsiyumun mide-bağırsak kanalından emiliminin azalması, böbrek kalsiyum ve fosfatın geri emiliminin azalması ve kemiğin mineralizasyonunun bozulmasına neden olur. Aylar, yıllar içinde kemik yoğunluğu düşer. Bunlara ek olarak, düzensiz PTH ve D vitamini bulguları anormal kemik kırıklarına neden olur. Klinik olarak, hiperfosfatemide iskelette kemik ağrıları ve kırıklarına neden olur. Kronik kontrolsüz hiperfosfatemisi olan ve böbrek yetmezliği olan hastalarda ilerleyen geniş kapsamlı yumuşak doku kalsifikasyonları gelişir.
- Yapılan son çalışmalar 1,25 dihidroksi D vitamini ve yükselmiş kalsiyum fosfat düzeylerinin de etkilendiğini göstermiştir.
- Deri içine çöken kalsiyum/fosfat papüller kızarıklıklar, üremik kaşıntılar ve iskemik ülserlere neden olabilir.
- Eklem içine yüksek düzeyde çökmeler, ağrıya ve hareket kısıtlılığına neden olur.

- Tendon ve ligamentlere çöken kalsiyum ise yüksek riskli spontan rüptürlere neden olabilir.
- Göz içine olan çökmeler keratopati ve kırmızı göz veya konjunktivit sendromlarına neden olur.

Serum fosfor düzeyini kontrol altına almak için çeşitli yollar vardır.

1. Diyetle Fosfor Kısıtlaması: Diyaliz hastalarında nötral azot dengesini sağlayabilmek için yaklaşık 1,0-1,2 g/kg/gün protein alınması gerektiğinden diyetle fosfor kısıtlaması belli bir miktarın altında olmamalıdır. Daha fazla fosfor kısıtlaması ile malnütrisyon ve tedaviye uyumsuzluk ortaya çıkabilir.

2. Diyaliz ile Fosforun Uzaklaştırılması: Hou ve arkadaşları 300 mL/dk kan ve 500 mL/dk diyalizat akım hızında fosfor klerensini değerlendirmişlerdir. 4 saatlik hemodiyaliz ile yaklaşık 700-1000 mg fosfor temizlenmekte, klerens oranı diyalizin başında en yüksek düzeydedir, zamana bağlı olarak azalmaktadır (115). Benzer sonuçlar SAPD'de de alınmış ve 4 saatlik bir değişim sonrası fosfor klerensi 4,7 mL/dk olarak hesaplanmıştır. Bu hastalarda diyetle alınan yaklaşık 1000 mg fosforun sadece 300 mg'ı temizlenebilmektedir (116). Bu yüzden fosforun yeterince kontrolü için fosfor bağlayıcı ajanlar gerekmektedir. Son zamanlarda nokturnal hemodiyaliz (NHD) ile fosfor kontrolünde başarı sağlanmıştır. Bu çalışmada, haftada 6 gün yapılan NHD ile konvansiyonel hemodiyaliz (HD) karşılaştırılmış, 6 ay sonra NHD hastalarında ortalama fosfor seviyesi 4,0 mg/dL iken konvansiyonel HD hastalarında 6,5 mg/dL olarak bulunmuştur. Daha da önemlisi NHD hastalarının hem diyetle fosfor alımının % 50 daha fazla olması, hem de hiçbirinin fosfor bağlayıcı ilaç kullanma gereksinimi duymamış olmasıdır (117). Dolayısıyla, hiperfosfateminin yetersiz diyalizi yansıttığı açıkça ortaya çıkmaktadır.

3. Fosfor Bağlayıcı Ajanlar: Kalsiyum-fosfor-PTH ekseninde sorunlar çıkmaya başladığında diyetteki fosfordan zengin gıdaların kısıtlanması günlük alımı 650-1000 mg'a düşürecektir. Ancak bu kısıtlama çoğu kez yeterli olmayacağından fosforu mide-bağırsak kanalında bağlayan ve emilimini engelleyen fosfor bağlayıcı adı verilen ilaç grubunun desteğine gereksinim duyulur.

Kalsiyum karbonat ve kalsiyum asetat bu grubun en yaygın kullanılan ucuz ve hiperkalsemi yaratma riski dışında yan etkileri nisbeten az üyeleridir. Alüminyum intoksikasyonu riski nedeni ile 1 aylık kısa kullanımlar dışında alüminyum hidroksit ve sukralfat gibi alüminyum kapsayan fosfor bağlayıcıların kullanımı sınırlandırılmıştır. Hiperkalsemi riski taşımayan ve kullanımına ülkemizde yeni başlanan bir fosfor bağlayıcı olan Sevelamer (Renagel® Film Tablet, Sanofi) de grubun yeni bir üyesidir. Magnezyum ve demir tuzları ise yan etkileri ve tolerans sorunları nedeniyle yaygın bir kullanım alanı bulamamıştır. Hiperfosfateminin tedavisinin bir fosfor bağlayıcı seçimi sorununa indirgenmesi doğru bir yaklaşım değildir. Hiperfosfateminin nedeninin tedaviye en fazla dirençli olgularda diyaliz yetersizliği, damarsal erişim sorunları, diyalizör seçimindeki eksik ve yanlışlar olabileceği durumları göz önünde bulundurulmalıdır (118-127).

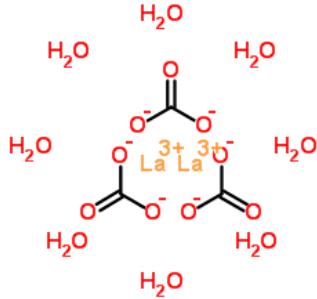
Yeni kullanıma sunulan diğer fosfor bağlayıcı ajan olarak lantan(yum) karbonat ise tez çalışmamızda model ilaç olarak kullanılmış ve Bölüm 2.4.'de ayrıntılı olarak özelliklerinden bahsedilmiştir.

2.4. Lantan(yum) Karbonat

Atomik numarası 57 olan 3 değerlikli nadir bir element olan lantanyum (lantan olarak da ifade edilmektedir.) trivalent katyon olarak fosfat bağlama özelliğine sahip, asidik ortamda pH 3-7 aralığında iyonlaşmaktadır. Lantan karbonat suda ve standart organik çözücülerde çözünmezken asidik çözeltilerde çözünmektedir, fakat bu tür çözeltilerde lantan katyonu ile kullanılan çözücünün anyonu arasında kompleks yapma ve çözünmeyen tuzlar oluşturma riskleri vardır. Lantan karbonat ticari olarak oktahidrat şeklinde piyasaya sunulmuş, referans ürün olan Fosrenol® Saşe'de ise lantan karbonat 4-5 hidrat şeklinde bulunmaktadır. 4-5 hidrat türevi, oktahidrat (standart ticari şekli) türevinin 80°C de çeşitli sürelerde kurutulmasıyla elde edilmektedir.

Lantan karbonat etkin maddesi model ilaç olarak tez çalışmamızda seçilmiştir. Bu etkin madde beyaza yakın renktedir. Molekül ağırlığı susuz halde

457,84 g/mol'dür. Molekül formülü $\text{La}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ şeklindedir, molekül yapısı Şekil 2.5.'de verilmiştir.



Şekil 2.5. Lantan karbonat oktahidrat molekül yapısı.

Fizikokimyasal özellikleri yönünden incelendiği zaman pKa değeri 10,33 olan Lantan karbonat bazik yapıda bir maddedir, dekompoze olduğu için erime noktası tespit edilememektedir ($> 400^\circ\text{C}$). Lantan karbonatın farklı çözücü ve tamponlarda çözünürlük değerleri Tablo 2.2. ve Tablo 2.3.'de verilmiştir.

Tablo 2.2. Lantan karbonatın farklı çözücülerdeki çözünürlük değerleri (128).

Çözücü	Çözünürlük (mg/mL)
Metanol	Pratik olarak çözünmez
Etanol	Pratik olarak çözünmez
Su	Pratik olarak çözünmez
Kloroform	Pratik olarak çözünmez
Metilen diklorid	Pratik olarak çözünmez
Aseton	Pratik olarak çözünmez
Etil Asetat	Pratik olarak çözünmez
Dimetil formamid	Pratik olarak çözünmez
Dimetil Sülfoksit	Pratik olarak çözünmez

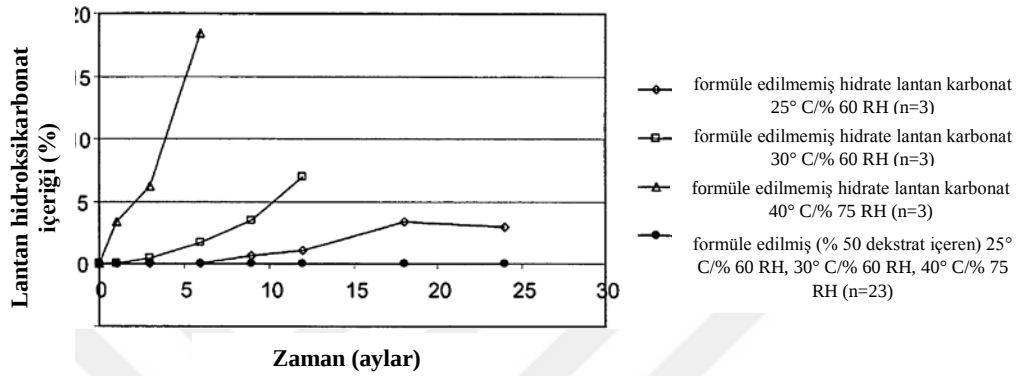
Tablo 2.3. Lantan karbonatın farklı tamponlardaki çözünürlük değerleri (128).

Tampon pH	Çözünürlük (mg/mL)
pH 1,2	5,0 mg/mL
pH 3,0	2,0 mg/mL
pH 5,0	0,8 mg/mL
pH 6,0	Pratik olarak çözünmez
pH 8,0	Pratik olarak çözünmez

Lantan karbonat 2004 yılında FDA tarafından onaylanmıştır. Lantan karbonat etkin maddesinin kuru toz ve çiğneme tableti olmak üzere 2 farklı dozaj şekli ticari olarak piyasada bulunmaktadır. Fosrenol® 1000 mg ve 750 mg yitiliklerde Kuru Toz ve Fosrenol® 1000 mg, 750 mg ve 500 mg yitiliklerde Çiğneme Tablet FDA'deki referans ürünlerdir (129). “FDA Dissolution Database'de” çiğneme tableti için çözünme yöntemi Aparey 3 olarak verilmiştir. Kuru toz şekli için herhangi bir yöntem bu veri tabanında bulunmamaktadır. Ancak hem kuru toz hem de çiğneme tableti için “FDA Draft Guidance on Lanthanum Carbonate” ürüne özgü spesifik dokümanlarında Aparey 2 (pedal) çözünme yöntemi olarak verilmiştir. Bu yöntem kapsamında da 24 saatlik bir çözünme çalışmasının pH 1,2 (0,1 N HCl), pH 3,0 ve pH 5,0 tamponlarında yapılması önerilmektedir (130, 131).

Lantan karbonat hidrat yüksek sıcaklık ve nem koşullarında dekarboksilasyon reaksiyonunu gerçekleştirmeye yatkındır. Bu reaksiyon etkin maddenin/bitmiş ürünün üretimi ya da saklama koşullarında gerçekleşebilir. Dekarboksilasyon reaksiyonunu azaltmak ya da engellemek için lantan karbonat formülasyonu içerisine monosakkarit ya da disakkaritler [mannitol, sorbitol, laktoz, dekstratlar, (anhidroz ve hidrate)] stabilizatör olarak ilave edilmektedir. Formülasyon içerisine polisakkarit (mısır nişastası, beta siklodekstrin, mikrokristalin selüloz) ilavesinde ise dekarboksilasyon reaksiyonunun gerçekleşmesi önlenememektedir. Stabilize edilmiş lantan karbonat (tüm hidrat ve susuz formunu kapsamaktadır) kompozisyonu tek başına lantan karbonattan daha yavaş bozunmaya uğramaktadır (132). Şekil 2.6.'da

da görüldüğü üzere formüle edilmiş (% 50 dekstrat içeren) ve formüle edilmemiş hidrate lantan karbonat iki yıl boyunca 25° C/% 60 bağıl nem (RH), 30° C/% 60 RH ve 40° C/% 75 RH stres koşullarına maruz bırakıldığında formüle edilmemiş hidrate lantan karbonat üç koşulda da bozunmaya uğramaktadır, formüle edilmiş hidrate lantan karbonatta ise bozunma gözlenmemiştir (133).



Şekil 2.6. Formüle edilmiş ve formüle edilmemiş hidrate lantan karbonatın stres koşullarındaki dekarboksilasyon hızları (133).

Farmakolojik Özellikleri :

Hemodiyaliz veya sürekli ayaktan periton diyalizi uygulanan kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda hiperfosfateminin kontrolü için fosfat bağlama ajanı olarak endikedir. Ayrıca, tek başına düşük fosfat diyetinin serum fosfat düzeylerini kontrol etmek için yetersiz olduğu yetişkin hastalar ile, serum fosfat düzeyi 1,78 mmol/L' den fazla veya eşit olan ve diyaliz uygulanmayan kronik böbrek hastalığı olan yetişkin hastalarda endikedir (134).

Son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) olan hastalarda hiperfosfateminin tedavisinde oral yoldan kullanımı onaylanmış alüminyum ve kalsiyum içermeyen fosfat bağlayıcı bir ajandır. Lantan karbonat SDBY diyaliz hastalarında yapılan iki büyük randomize klinik çalışmada; serum fosfat konsantrasyonlarının düşürülmesi ve sürdürülmesinde kalsiyum karbonat ve geleneksel fosfat bağlayıcı ajanlar kadar etkili bulunmuştur (135, 136). Bu nedenle, lantan karbonat hiperfosfatemili SDBY hastalarında bu tedavilerin etkili bir alternatifidir. Lantan karbonat alüminyum içermediğinden alüminyum zehirlenmesine neden olmaz. Lantan karbonat kalsiyum

içermez ve doğrudan hiperkalsemiye de neden olmaz. Ancak bunun aksine, lantan karbonat ile kalsiyum karbonatın karşılaştırıldığı 6 ay ve 1 yıl süreli klinik çalışmalarda, lantan karbonat alan hastalarda düşük bir hiperkalsemi insidansı bildirilmiştir (135, 136).

Etki Mekanizması:

Lantan karbonat oral uygulamayı takiben mide-bağırsak kanalının üst bölümünün asidik ortamında lantan iyonlarına ayrışır. Lantan iyonları sindirim sırasında diyetle bulunan gıdalardan açığa çıkan fosfata bağlanır. Lantanın fosfata bağlanmasıyla oluşan suda çözünmeyen lantan fosfat kompleksi bağırsak duvarı boyunca çok az emilime uğrar ve sonunda feçesle vücuttan atılır. Bu duruma bağlı olarak, lantan karbonat tekrarlanan dozlarda kullanıldığında serum fosfat konsantrasyonları düşer.

Farmakodinamik Özellikleri:

Lantan karbonat oral yoldan kullanılır. Plazma proteinlerine in-vitro bağlanma oranı % 99'dur. Hayvan çalışmaları, birçok dokuda, özellikle de mide-bağırsak sistemi, kemik ve karaciğerde lantan konsantrasyonlarının plazma konsantrasyonlarına göre birkaç kat daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur ve lantan uygulamasının kesilmesinden sonra 6 aydan daha uzun süre bu dokularda kaldığı saptanmıştır (137). 4,5 yıl boyunca lantan karbonat alan hastalardan alınan kemik biyopsilerinde lantan düzeylerinin zamanla yükseldiği görülmüştür ve bunun etkisi bilinmemektedir. Lantanın yarı ömrü yaklaşık 53 saattir. Safra yoluyla atılım dolaşımında bulunan lantanın başlıca eliminasyon yolu olduğundan, neredeyse oral uygulanan dozun tamamı (% 94-99) feçesle vücuttan atılır.

3 gün boyunca, günde 3 kez oral toz veya çiğneme tableti şeklinde lantan uygulanan sağlıklı gönüllülerde yapılan farmakodinamik endpoint çalışmaları sonucunda, oral toz ve çiğneme tableti formları için, idrar fosfat atılımındaki değişimler eşit bulunmuştur (134).

Farmakokinetik Özellikler ve Fosfat Bağlama Kapasitesi:

Lantan ve besinlerden alınan fosfor, mide lümeninde ve ince bağırsağın üst kısmında birbirine bağlandığı için lantanın terapötik etkililiği plazmadaki lantan düzeylerine bağlı değildir.

Faz III klinik çalışmalar sırasında lantan olmayan karbonat tedavisi almış kronik böbrek yetmezliği olan hastalar daha önce lantan karbonat tedavisi almamış olmalarına rağmen, hastaların plazma lantan konsantrasyonları $< 0,05-0,90$ ng/mL ve kemik biyopsi örneklerindeki lantan konsantrasyonları $< 0,006-1,0$ mcg /g olarak gözlenmiştir (134).

Lantan karbonatın suda çözünürlüğü azdır (pH 7,5'de $< 0,01$ mg/mL) ve oral uygulamayı takiben az miktarda emilir. İnsanlarda mutlak biyoyararlanımı $< \% 0,002$ olarak belirlenmiştir. Sağlıklı gönüllülerde 250-1000 mg oral tek doz lantan uygulandıktan sonra, çözünürlüğe bağlı emilim ile uyumlu bir şekilde plazma EAA ve C_{maks} değerleri dozun bir fonksiyonu olarak orantısaldan daha düşük bir artış göstermiştir. Sağlıklı gönüllülerde plazma eliminasyon yarılanma ömrü 53 saat olarak belirtilmiştir (134).

Dewwberry ve arkadaşları 10 SAPD hastasında yemekle birlikte verilen günlük 375-2250 mg lantan karbonatın serum fosfor düzeyinde belirgin düşme sağladığını göstermiştir (138).

10 gün boyunca günde 3 defa 1000 mg lantan verilen ve diyaliz uygulanan hastalarda ortalama ($\pm$ SS) doruk plazma konsantrasyonunun $1,06 (\pm 1,04)$ ng/mL, ve ortalama $EAA_{son\ nokta}$ 'nın $31,1 (\pm 40,5)$ ng.saat/mL olduğu gözlenmiştir. 2 yıla yakın süre lantan karbonat alan 1707 diyaliz hastasının kan düzeyleri düzenli takip edilmiş, bu süre içerisinde lantan konsantrasyonlarında artış olmadığı görülmüştür (137).

Lantan, tekrarlanan oral uygulamadan sonra insanlarda veya hayvanlarda plazmada birikmemiştir. Az miktarda emilen lantan plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır ($> \% 99,7$) ve hayvan çalışmalarında mezenterik lenf nodları dahil kemik, karaciğer ve mide-bağırsak kanalı gibi sistemik dokulara yaygın olarak dağılır. Uzun süreli hayvan çalışmalarında mide-bağırsak kanalı, kemik ve karaciğer

dahil çeşitli dokulardaki lantan konsantrasyonlarının zamanla plazma konsantrasyonundan birkaç kat daha fazla olduğu görülmüştür. Lantan bazı dokularda kararlı durum düzeyine ulaşmıştır (örn., karaciğer). Mide-bağırsak kanalındaki düzeyleri tedavi süresince artmıştır. Tedavinin kesilmesinden sonra dokulardaki lantan düzeylerinin değişimi dokular arasında değişiklik göstermiştir. Dozlamanın kesilmesinden sonra 6 aydan daha uzun bir süre boyunca dokularda yüksek oranda lantan kalmıştır [% tutulan (medyan) olarak büyükten küçüğe sırası ile kemikte < % 100 (sıçan) ve < % 87 (köpek), karaciğerde < % 82 (köpek) ve < % 6 (sıçan)]. Lantan karbonat'ın yüksek oral dozları ile uzun-sürelili hayvan çalışmalarında lantanın dokularda birikimi ile ilişkili istenmeyen etki görülmemiştir (134).

Lantan metabolize olmaz, karaciğer yetmezliği ile kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda çalışma yürütülmemiştir. Faz III klinik çalışmaya katıldığında daha önceden karaciğer yetmezliği mevcut olan hastalar 2 yıla kadar lantan tedavisi gördükten sonra, hastalarda plazma lantan maruziyetinde artışa veya karaciğer fonksiyonunun kötüleşmesine dair herhangi bir bulguya rastlanmamıştır.

Lantan başlıca feçes yoluyla atılır, böbreklerle atılım minör atılım yoludur. Sağlıklı gönüllülerde dozun sadece yaklaşık % 0,000031'i idrar ile atılmıştır (renal klerens yaklaşık 1 mL/dk). Hayvanlara intravenöz lantan uygulaması sonrasında, hem safra ile hem de bağırsak duvarı boyunca doğrudan geçiş ile başlıca feçes yoluyla atılmıştır (dozun % 74'ü). (134, 139-142).

Fosrenol® kuru toz ve çiğneme tabletinin absorpsiyonunun oldukça düşük olması ve insanlardaki mutlak biyoyararlanımının < % 0,002 olması nedeniyle FDA, farmakodinamik endpoint çalışmaları veya biyoaktivite çalışmaları şeklinde belirtilen in-vitro fosfat bağlama çalışmaları üzerinden ilerlenerek referans ürüne biyoeşdeğer ürün geliştirilebileceğini belirtmektedir. Farmakodinamik endpoint çalışmalarında idrar fosfat atılımındaki değişim incelenmektedir. Tez çalışmamız kapsamında gerçekleştirilen in-vitro fosfat bağlama çalışmaları ise FDA tarafından pivotal biyoeşdeğerlik çalışmalarına eşdeğer nitelikte kabul edilen denge bağlama çalışması ve bu çalışmaları destekleyici nitelikte olan kinetik bağlama çalışmasından oluşmaktadır. Kinetik bağlama çalışmasının amacı, maksimum fosfat bağlama denge

tepkimesi için gereken zamanı ve optimum bağlanma hızını tespit etmektir. Kinetik bağlama çalışmasından sonra gerçekleştirilecek olan ve karşılaştırmalı biyoeşdeğerlik çalışması için gereklilik olan denge bağlama çalışmasının amacı ise afinite ve bağlanma katsayılarını tespit etmektir (131, 143).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Cihazlar

Cihaz	Marka
Bilyalı değirmen	Retsch, Almanya
Çözünme cihazı	Distek, A.B.D
Degazör	Advantage-Lab., Belçika
Diferansiyel taramalı kalorimetre	Q600 SDT-TA Instruments, A.B.D
Etüv	Advantage-Lab., Belçika
FT-IR cihazı	Bruker, Alpha FT-IR, Almanya
Hassas terazi	Mettler Toledo, İsviçre
HPLC (İyon Kromatografisi)	Shimadzu, Japonya
Homojenizatör	Microfluidics M-110P, A.B.D
Isıtcılı manyetik karıştırıcı	Heidolph, Almanya
Karl Fischer	Mettler Toledo, İsviçre
Kübik karıştırıcı	Erweka, Almanya
Mikropipetler	Brand, Almanya
Otomatik titratör	Brand, Almanya
Partikül büyüklüğü ölçüm cihazı	Malvern Instruments, İngiltere
Püskürterek kurutma cihazı	Buchi B-290, İsviçre
Santrifüj	Eppendorf, Almanya
Termogravimetrik analiz	Q600 SDT-TA Instruments, A.B.D
Ultra saf su sistemi	ELGA, İngiltere
X-Işını difraktometre	Rigaku D/MAX 2200, Japonya
Yatay çalkalayıcılı su banyosu	Memmert, Almanya

3.2. Kullanılan Madde ve Malzemeler

Madde ve Malzeme	Marka
Dietiletanolamin	Merck
EDTA	Merck
Emdex (Hidrate dekstrat)	JRS Pharma
Glasiyel asetik asit	Merck
Gliseril distearat (Precirol Ato 5)	Gattefosse
Hidroklorik asit % 37	Merck
Hidroksi benzoik asit	Merck
Kolloidal silikon dioksit (Aerosil 200)	Evonik
Ksilenol oranj tetrasodyum tuzu	Sigma Aldrich
Lantan karbonat	Mylan
Magnezyum stearat	Nitika
Metenamin	Merck
Sodyum asetat trihidrat	Merck
Sodyum hidroksit	Merck
Sodyum monobazik fosfat monohidrat	Merck

3.3. Etkin Madde Üzerinde Yapılan Fizikokimyasal İncelemeler

3.3.1. Lantan Karbonatın FT-IR Analizi

Lantan karbonatın fizikokimyasal özelliklerini tayin etmek amacıyla hem formülasyon çalışmalarında kullanılan hem de standart olarak mevcut olan etkin maddelerin $400-4000\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında Bruker Alpha Fourier Transform Infrared Spektrofotometre (Almanya) ile FT-IR spektrumu alınmıştır. Elde edilen spektrumlar literatür bulguları ile karşılaştırılmıştır.

3.3.2. Lantan Karbonatın Partikül Büyüklüğü Dağılımı Analizi

Lantan karbonat etkin maddesinin partikül büyüklüğü dağılımının tayini için Malvern Mastersizer 2000 cihazı kullanılmıştır.

Partikül Büyüklüğü Tayini Test Yöntemi

Cihaz	Malvern Mastersizer 2000
Numune hücresi	Scirocco 'A'
Aralık	0.020-2000 μm
Analiz modeli	Genel amaçlı
Ölçüm süresi	6 saniye
Partikül şekli	Düzenli
Ölçüm Hassasiyeti	Normal
Numune refraktif indeks	1,5
Numune absorpsiyonu	0
Background süresi	6 saniye
Hava basıncı	0 bar
Titreşim hızı	% 50
Obscuration	% 1-% 5

3.4. Analitik Yöntem ve Validasyon Çalışmaları

Analitik yöntem geliştirme ve validasyon çalışmalarında manual ve otomatik titratör yardımıyla kompleksometrik titrasyon yöntemi kullanılmıştır.

3.4.1. Bitmiş Üründe Miktar Tayini Test Yöntemi

Çözeltilerin Hazırlanması

Titrasyon Çözeltilerinin Hazırlanması

- **Ksilenol Oranj İndikatör Çözeltisi:** 0,5 g Ksilenol Oranj 10 mL su ve 0,1 mL konsantre (% 37'lik) hidroklorik asit çözeltisi içinde çözündürülür. 25 mL'ye su ile tamamlanır.
- **0.1 M EDTA Çözeltisi:** 37,5 g disodyum EDTA dihidrat; 500 mL su ve 100 mL 1M sodyum hidroksit içerisinde çözündürülür. 1000 mL'ye su ile tamamlanır (Hazırlanan çözelti polietilen kap içerisinde saklanmalıdır).
- **1 M Sodyum Hidroksit:** 40 g sodyum hidroksit; 500 mL suda çözündürülür, 1000 mL'ye deiyonize su ile tamamlanır.
- **1 N HCl Hazırlanışı:** 82,7 mL % 37'lik HCl çözeltisi 500 mL suya eklenir, çözelti su ile 1000 mL'ye tamamlanır.

Numune Çözeltilerinin Hazırlanması (6 adet hazırlanır)

3 adet saşe numunesi karıştırılır. 300 mg lantan karbonat içeren saşe numunesi 250 mL' lik behere tartılır. 10 mL 1N HCl ve 10 mL su eklenir. Ağzı kapatılarak, manyetik karıştırıcı üzerinde, 105°C'de 5 dakika kaynatılır (kaynama sırasında tüm suyun buharlaşmadığından emin olunmalıdır, gerekirse su eklenir). Üzerine 40 mL su, 100 µL ksilenol oranj indikatör çözeltisinden ve 6 g metenamin eklenir. Renk mordan sarıya dönene kadar 0,1 M EDTA çözeltisi ile titrasyon işlemi gerçekleştirilir. Harcanan EDTA miktarı not edilir (128).

Kabul Kriteri

6 numuneden elde edilen % VK değeri 2,0'den fazla olmamalıdır.

Hesaplama

İlgili hesaplama aşağıda belirtilen eşitliğe göre yapılır (128).

$$\% \text{ Lantan Miktarı} = \frac{V_{\text{EDTA}} \times 22,891 \times M_{\text{EDTA}}}{0,1 \times W_{\text{Num}}} \times 0,607 \frac{T}{L} \times 100 \quad (3.1)$$

V_{EDTA} : Numune çözeltisi için harcanan EDTA miktarı, mL

M_{EDTA} : EDTA çözeltisinin molaritesi

22,891 : 1 mL 0,1 M EDTA 22,891 mg Lantan karbonata eşdeğerdir.

W_{Num} : Numune tartımı, mg

0,607 : Lantan karbonattan lantana çevirme faktörü

T : 1000 mg lantan içeren 1 saşenin teorik ağırlığı, 3000 mg

L : 1 saşe içerisindeki teorik lantan miktarı, 1000 mg

Miktar Tayini Limiti

% Lantan : % 95,0- % 105,0

3.4.2. Bitmiş Ürün Miktar Tayini Analitik Yöntem Validasyonu

Miktar tayini yönteminin istenen amaca uygun olduğunu, doğruluğunu ve geçerliliğini göstermek için test edilecek analitik parametreler şunlardır:

1. Özgüllük (Specificity)
2. Doğrusallık ve Aralık (Linearity & Range)
3. Kesinlik (Precision)
 - Tekrarlanabilirlik (Repeatability)
 - Ara kesinlik (Intermediate precision)
4. Doğruluk (Accuracy) ve Geri Kazanım (Recovery)
5. Sağlamlık (Robustness)
 - Çözelti stabilitesi (144, 145)

Özgüllük

Yöntemin analiz edilen örnek içerisinde sadece ölçümü amaçlanan maddelerin (lantan) ölçme yeteneğinin tespiti için özgüllük testi yapılmaktadır.

Yöntem

Özgüllük testi için plasebo ve numune 0,1 M EDTA ile titre edilir.

Çözeltili Hazırlanışı

Numune hazırlığı “*Bitmiş Üründe Miktar Tayini Test Yöntemi*” kısmında anlatıldığı gibidir.

Lantan 1000 mg Saşe Plasebo Çözeltisi Hazırlanışı

Yaklaşık 250 mg saşe plasebosu (plasebo içeriğinde; emdex (hidrate dekstrat), kolloidal silikon dioksit, gliseril distearat ve magnezyum stearat yer almaktadır.) 250 mL’lik behere tartılır. 10 mL 1N HCl ve 10 mL su eklenir. Ağzı kapatılarak, manyetik karıştırıcı üzerinde, 105°C’de 5 dakika kaynatılır. (Kaynama sırasında tüm suyun buharlaşmadığından emin olunmalıdır, gerekirse su eklenir.) Üzerine 40 mL su, 100 µL ksilenol oranj indikatör çözeltisi ve 6 g metenamin eklenir.

Kabul Kriteri

Plasebo çözeltisine indikatör eklendiğinde mor renk oluşmamalıdır. Bu şekilde plasebo içinde lantan karbonat olmadığı kanıtlanmalıdır.

Doğrusallık ve Aralık

Lantan karbonatın miktar tayini için geliştirilen bu yöntemde seçilen konsantrasyon aralığında artan konsantrasyon ile doğru orantılı olarak artan lantan karbonat miktarı arasındaki ilişkinin doğrusal olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Yöntem

Doğrusal yanıt ilişkisini kanıtlamak için 5 farklı konsantrasyonda (% 80, % 90, % 100, % 110, % 120) hazırlanan çözeltiler titre edilir.

Çözelti Hazırlığı

Her bir düzey için Tablo 3.1.'de belirtilen miktarlarda lantan karbonat tartılır ve Bölüm 3.4.1'de belirtildiği şekilde hazırlanarak 0,1 M EDTA ile titre edilir. (Çözeltinin rengi sarıya döndüğü noktada titrasyon durdurulur.)

Tablo 3.1. Miktar tayini yöntemi kapsamında doğrusallık çalışması.

	Doğrusallık düzeyi	Tartılan miktar, mg
		Lantan karbonat
1	% 80	240
2	% 90	270
3	% 100	300
4	% 110	330
5	% 120	360

Çözelti hazırlığı kısmında hazırlanması gereken tüm çözeltilerden ikişer adet hazırlanır. 0,1 M EDTA ile titre edilir. Harcanan EDTA miktarı not edilir.

Tüm titrasyonlardan sonra elde edilen bulgulardan regresyon analizi yapılarak $y = a + bx$ eşitliği bulunur.

y : Çözeltinin titrasyonunda harcanan EDTA miktarı, mL

b : Eğim

a : y eksenini kesme değeri (intersept)

x : Lantan karbonat miktarı, mg

Kabul Kriteri

Lantan karbonat miktarı ve titrasyonda harcanan EDTA miktarı arasındaki korelasyon katsayısı 0,99'dan küçük olmamalıdır.

Doğrusallık parametresinin tayininde yapılan doğrusal regresyon hesabında " $x=0$ " değeri, a değerinin (y eksenini kesme değeri, intercept) güven aralığı (en alt % 95 ve en üst % 105 değerleri) "0" değerini içermelidir.

Kesinlik

Kesinlik ölçütü, bir analitik yöntemin birbirini takip eden ölçümler arasındaki yakınlığın derecesini ifade etmektedir. Kesinlik; tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik parametrelerinden oluşmaktadır.

Tekrarlanabilirlik

Yöntem

Bölüm 3.4.1’de anlatıldığı şekilde lantan 1000 mg saşe bitmiş ürüne ilişkin 6 adet numune hazırlanarak lantan miktar tayini analizi yapılır.

Numune çözeltileri miktar tayini analizi için 0,1 M EDTA ile titre edilir. Sonuçlar arasındaki varyasyon katsayısı (VK), standart sapma (SS) ve güven aralığı (% 95) hesaplanarak kaydedilir.

Kabul Kriteri

Çalışılan numunelerin her birinin sonucu spesifikasyon limitleri içinde olmalıdır.

Miktar tayini için 6 numuneden elde edilen sonuçlar arasındaki % VK değeri 2,0’dan fazla olmamalıdır.

Ara kesinlik

Yöntem

Farklı bir günde, Bölüm 3.4.1’de anlatıldığı şekilde 6 adet numune hazırlanarak farklı bir analist tarafından miktar tayini analizi yapılır (Tablo 3.2.).

Numune çözeltileri miktar tayini analizi için 0,1 M EDTA ile titre edilir. Sonuçlar arasındaki varyasyon katsayısı (VK), standart sapma (SS) ve güven aralığı (% 95) hesaplanarak kaydedilir.

Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik testlerinden elde edilen toplam 12 sonuç arasındaki standart sapma (SS), varyasyon katsayısı (VK) ve güven aralığı (% 95) değerleri hesaplanır.

Tablo 3.2. Miktar tayini yöntemi kapsamında kesinlik çalışması.

Değiştirilen parametre	Tekrarlanabilirlik	Ara kesinlik
Analiz Günü	1.Gün	2.Gün
Analist	1.Analist	2.Analist

Kabul Kriteri

Çalışılan numunelerin her birinin sonucu spesifikasyon limitleri içinde olmalıdır.

Miktar tayini için 6 numunedan elde edilen sonuçlar arasındaki % VK değeri 2,0'den fazla olmamalıdır.

Miktar tayini için tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik testlerinden elde edilen 12 sonuç arasındaki % VK değeri 2,0' den fazla olmamalıdır.

Doğruluk

Kullanılan analitik yöntem ile elde edilen bulguların gerçek değerlere yakınlığının gösterilmesi amacıyla yapılmaktadır.

Yöntem

Yöntemin doğruluğu; lantan karbonat içermeyen saşe plaseboya lantan karbonat ilave edilerek % 80, % 100 ve % 120 düzeylerinde çözeltiler hazırlanır. Her bir düzey için 3'er adet olmak üzere toplam 9 adet numune hazırlanır.

Numune Çözeltisi Hazırlanması

Lantan karbonat içermeyen saşe plasebosundan her bir düzey için Tablo 3.3.'de belirtilen miktarlarda tartılıp 250 mL behere aktarılır ve üzerlerine yine her bir düzey

için belirtilen miktarda lantan karbonat ilave edilir. 10 mL 1N HCl ve 10 mL su eklenir. Ağzı kapatılarak, manyetik karıştırıcı üzerinde, 105°C’de 5 dakika kaynatılır. (Kaynama sırasında tüm suyun buharlaşmadığından emin olunmalıdır, gerekirse su eklenir.) Üzerine 40 mL su, 100 µL ksilenol oranj indikatör çözeltisinden ve 6 g metenamin eklenir. Renk mordan sarıya dönene kadar 0,1 M EDTA çözeltisi ile titrasyon işlemi gerçekleştirilir. Harcanan EDTA miktarı not edilir.

Tablo 3.3. Miktar tayini yöntemi kapsamında doğruluk çalışması.

Düzy	Plasebo miktarı (mg)	Lantan karbonat tartımı (mg)
% 80	250,0	240,0
% 100	250,0	300,0
% 120	250,0	360,0

Numune çözeltileri miktar tayini analizi için 0,1 M EDTA ile titre edilir. Sonuçlar arasındaki varyasyon katsayısı (VK), standart sapma (SS) ve güven aralığı (% 95) hesaplanarak kaydedilir.

Hesaplama

İlgili hesaplama aşağıda belirtilen eşitliğe göre yapılır (128).

$$\% \text{ Geri Kazanım} = \frac{V_{\text{EDTA}} \times M_{\text{EDTA}} \times 22,891}{0,1 \times W_{\text{Hmm}} \times P_{\text{Hmm}}} \times 100 \quad (3.2)$$

V_{EDTA} : Numune çözeltisinin titrasyonunda harcanan 0,1 M EDTA miktarı, mL

M_{EDTA} : EDTA çözeltisinin molaritesi

W_{Hmm} : Tartılan lantan karbonat hammmadde miktarı, mg

P_{Hmm} : Lantan karbonat hammadde potensi

22,891 : 1 mL 0,1 M EDTA 22,891 mg lantan karbonata eşdeğerdir.

Kabul Kriteri

Çalışılan her numunenin % geri kazanımı % 95,0 ile % 105,0 arasında olmalıdır.

Numunelerin % geri kazanım değerleri arasındaki % VK değeri 2,0'den büyük olmamalıdır.

3.4.2.5. Sağlamlık

Çözelti stabilitesi

Yöntem

Bölüm 3.4.1'de anlatıldığı şekilde 4. saat sonunda çözelti stabilitesi için numune çözeltileri hazırlanır ve belirli zaman aralıkları boyunca saklama koşulları sabit tutularak analiz edilir.

Lantan 1000 mg saşe için hazırlanan numune çözeltileri (her analiz için önceden ayrı ayrı hazırlanır) belirli zaman aralıklarında saklama koşulları sabit tutularak titre edilir, harcanan EDTA miktarı kaydedilerek % uyum hesaplanır.

Hesaplama

$$\% \text{ Uyum} = (\text{Harcanan EDTA miktarı } T_1) / \text{Harcanan EDTA miktarı } T_0 \times 100 \quad (3.3)$$

Harcanan EDTA miktarı T_0 : T_0 zamanında titrasyon sonucu harcanan EDTA miktarı

Harcanan EDTA miktarı T_1 : T_1 zamanında titrasyon sonucu harcanan EDTA miktarı

Kabul Kriteri

Çözeltiler arasındaki uyum % 98,0 - % 102,0 olan değerler için çözelti stabil sayılır.

3.4.3. Bitmiş Üründe Çözünme Testi Yöntemi

Cihaz	: Çözünme Cihazı
Aparat	: Pedal
Çözünme Ortamı	: 0,1N HCl
Çözünme Hacmi	: 900 mL
Dönme Hızı	: 50 rpm
Sıcaklık	: 37°C
Süre	: 4 saat (çözünme spesifikasyon zamanı olarak bu zaman noktası belirlenmiştir.)

Çözünme Ortamlarının Hazırlanışı

0.1 N HCl Hazırlanması : 8,27 mL % 37'lik HCl çözeltisi 500 mL suya eklenir ve karıştırılır. Çözelti su ile 1000 mL' ye tamamlanır ve karıştırılır.

Analiz Yöntemi : Kompleksometrik Titrasyon

Çözeltilerin Hazırlanması

Titrasyon Çözeltilerinin Hazırlanması

Bölüm 3.4.1'de anlatıldığı şekli ile ksilenol oranj indikatör çözeltisi, 1 M sodyum hidroksit ve 1 M HCl çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilere ilave olarak 0.005 M EDTA Çözeltisi de hazırlanmıştır.

- **0.005 M EDTA Çözeltisi:** Miktar tayini analizi için hazırlanan 0.1 M EDTA çözeltisinden (37,5 g disodyum EDTA dihidrat 500 mL su ve 100 mL 1M sodyum hidroksit içerisinde çözündürülür. 1000 mL'ye su ile tamamlanır) 50 mL alınır ve 1000 mL'ye su ile seyreltilir (hazırlanan çözelti polietilen kap içerisinde saklanmalıdır).

Çözünme Testi için Numune Çözeltilerinin Hazırlanması (6 adet hazırlanır)

6 adet çözünme beherine 900'er mL çözünme ortamı aktarılır ve ortam $37\pm0,5^{\circ}\text{C}$ 'ye getirildikten sonra her çözünme beheri içine birer adet lantan 1000 mg saşe atılır. Çözünme cihazı 50 rpm dönme hızında karıştırılır. Çözünme spesifikasyon zamanı olan 4. saat sonunda her bir beherden 4 mL numune çekilerek behere aktarılır. Üzerine 10 mL su, 25 μL ksilenol oranj indikatör çözeltisinden ve 150 mg metenamin eklenir. Renk mordan sarıya dönene kadar 0,005 M EDTA çözeltisi ile titrasyon işlemi gerçekleştirilir. Harcanan EDTA miktarı not edilir. ($C_{\text{lantan}}=1,11 \text{ mg/mL}$)

Kabul Kriteri

6 numuneden elde edilen % VK değeri 10,0'dan fazla olmamalıdır (144, 146)

Hesaplama

İlgili hesaplama aşağıda belirtilen eşitliğe göre yapılır (128).

$$\% \text{ Lantan} = \frac{V_{\text{EDTA}} \times M_{\text{EDTA}} \times 22,891}{0,1} \times \frac{900}{4} \times 0,607 \times \frac{1}{L} \times 100 \quad (3.4)$$

V_{EDTA} : Numune çözeltisi için harcanan 0,005 M EDTA miktarı, mL

M_{EDTA} : EDTA çözeltisinin molaritesi

22,891 : 1 mL 0,1 M EDTA 22,891 mg lantan karbonata eşdeğerdir.

0,607 : Lantan karbonattan lantana çevirme faktörü

L : 1 saşe içerisindeki teorik lantan miktarı, 1000 mg

3.4.4. Bitmiş Ürün Çözünme Testi Analitik Yöntem Validasyonu

Çözünme testi yönteminin istenen amaca uygun olduğunu, doğruluğunu ve geçerliliğini göstermek için test edilen analitik parametreler;

1. Özgüllük (Specificity)
2. Doğrusallık ve Aralık (Linearity & Range)
3. Kesinlik (Precision)

- Tekrarlanabilirlik (Repeatability)
- Ara kesinlik (Intermediate precision)
- 4. Doğruluk (Accuracy) ve Geri Kazanım (Recovery)
- 5. Sağlamlık (Robustness)
 - Analiz koşullarında değişiklik
 - Çözelti stabilitesi

Özgüllük

Yöntemin analiz edilen örnek içerisinde sadece ölçümü amaçlanan maddelerin (lantan) ölçme yeteneğinin tespiti için özgüllük testi yapılmaktadır.

Yöntem

Özgüllük testi için plasebo ve numune 0,005 M EDTA ile titre edilir.

Lantan 1000 mg Saşe Plasebo Çözeltisi Hazırlanışı

900 mL çözünme ortamı içeren çözünme beherinin ortamı $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 'ye getirildikten sonra beher içine 1 saşeye eşdeğer yaklaşık 1085 mg lantan saşe plasebosu eklenir. Çözünme cihazı 50 rpm dönme hızında çalıştırılır. Çözünme spesifikasyon zamanı olan 4. saat sonunda bölüm 3.4.1 her bir beherden 4 mL numune çekilerek behere aktarılır. Üzerine 10 mL su, 25 μL ksilenol oranj indikatör çözeltisinden ve 150 mg metenamin eklenir. Renk mordan sarıya dönene kadar 0,005 M EDTA çözeltisi ile titrasyon işlemi gerçekleştirilir. Harcanan EDTA miktarı not edilir.

Kabul Kriteri

Plasebo çözeltisine indikatör eklendiğinde mor renk oluşmamalıdır. Bu şekilde plasebo içinde lantan karbonat olmadığı kanıtlanmalıdır..

Doğrusallık ve Aralık

Yöntem

Doğrusal yanıt ilişkisini kanıtlamak için 5 farklı konsantrasyonda (% 80, % 90, % 100, % 110, % 120) hazırlanan çözeltiler titre edilir.

Çözelti Hazırlığı

Her bir düzey için Tablo 3.4.'de belirtilen miktarlarda lantan karbonat tartılır ve 900 mL çözünme ortamında 1 saat degazörde bekletilir. Soğutulan numune 1 saat manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra her bir düzeyden 4 mL numune alınır, üzerine 10 mL su, 25 µL ksilenol oranj indikatör çözeltisinden ve 150 mg metenamin eklenir. Renk mordan sarıya dönene kadar 0,005 M EDTA çözeltisi ile titrasyon işlemi gerçekleştirilir. Harcanan EDTA miktarı not edilir, çözeltinin rengi sarıya döndüğü noktada titrasyon durdurulur.

Tablo 3.4. Çözünme testi yöntemi kapsamında doğrusallık çalışması.

	Doğrusallık düzeyi	Tartılan miktar, mg
		Lantan karbonat
1	% 80	1504
2	% 90	1692
3	% 100	1880
4	% 110	2068
5	% 120	2256

Çözelti hazırlığı kısmında belirtildiği gibi hazırlanması gereken tüm çözeltilerden ikişer adet hazırlanır. 0,005 M EDTA ile titre edilir. Harcanan EDTA miktarı not edilir.

Tüm titrasyonlardan sonra elde edilen bulgulardan regresyon analizi yapılarak $y = a + bx$ eşitliği bulunur.

y : Çözeltinin titrasyonunda harcanan EDTA miktarı, mL

b : Eğim

a : y eksenini kesme değeri (intersept)

x : Lantan karbonat miktarı, mg

Kabul Kriteri

Lantan karbonat miktarı ve titrasyonda harcanan EDTA miktarı arasındaki korelasyon katsayısı 0,99'dan küçük olmamalıdır.

Doğrusallık parametresinin tayininde yapılan doğrusal regresyon hesabında " $x=0$ " değeri, a değerinin (y eksenini kesme değeri, intercept) güven aralığı (en alt % 95 ve en üst % 105 değerleri) "0" değerini içermelidir.

Kesinlik**Tekrarlanabilirlik****Yöntem**

Bölüm 3.4.1'de anlatıldığı şekilde lantan 1000 mg saşe bitmiş ürüne ilişkin 6 adet numune hazırlanarak çözünme testi yapılır.

Numune çözeltileri çözünme analizi için 0,005 M EDTA ile titre edilir. Sonuçlar arasındaki varyasyon katsayısı (VK), standart sapma (SS) ve güven aralığı (% 95) hesaplanarak kaydedilir.

Kabul Kriteri

Çalışılan numunelerin her birinin sonucu spesifikasyon limitleri içinde olmalıdır.

6 numuneden elde edilen sonuçlar arasındaki % VK değeri 10,0'dan fazla olmamalıdır (142, 144).

Ara kesinlik**Yöntem**

Farklı bir günde, Bölüm 3.4.1'de anlatıldığı şekilde 6 adet numune hazırlanarak farklı bir analist tarafından çözünme testi yapılır (Tablo 3.5.).

Numune çözeltileri çözünme testi için 0,005 M EDTA ile titre edilir. Sonuçlar arasındaki varyasyon katsayısı (VK), standart sapma (SS) ve güven aralığı (% 95) hesaplanarak kaydedilir.

Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik testlerinden elde edilen toplam 12 sonuç arasındaki standart sapma (SS), varyasyon katsayısı (VK) ve güven aralığı (% 95) değerleri hesaplanır.

Tablo 3.5. Çözünme testi yöntemi kapsamında kesinlik çalışması.

Değiştirilen parametre	Tekrarlanabilirlik	Ara kesinlik
Analiz Günü	1.Gün	2.Gün
Analist	1.Analist	2.Analist

Kabul Kriteri

Çalışılan numunelerin her birinin sonucu spesifikasyon limitleri içinde olmalıdır.

Çözünme tayini için 6 numuneden elde edilen sonuçlar arasındaki % VK değeri 10,0'dan fazla olmamalıdır.

Çözünme tayini için tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik testlerinden elde edilen 12 sonuç arasındaki % VK değeri 10,0'dan fazla olmamalıdır (144, 146).

Doğruluk

Yöntem

Yöntemin doğruluğu; lantan karbonat içermeyen saşe plaseboya lantan karbonat ilave edilerek % 80, % 100 ve % 120 düzeylerinde çözeltiler hazırlanır. Her bir düzey için 3'er adet olmak üzere toplam 9 adet numune hazırlanır.

Numune Çözeltisi Hazırlanması

900'er mL çözünme ortamı içeren 9 adet çözünme beherinin ortamı $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 'ye getirildikten sonra, her çözünme beheri içine lantan karbonat içermeyen saşe plasebosundan her bir düzey için Tablo 3.6.'da belirtilen miktarlarda tartılıp ve üzerine yine her bir düzey için belirtilen miktarda lantan karbonat eklenir. Çözünme cihazı 50 rpm dönme hızında karıştırılır. Süre sonunda her bir beherden 4 mL numune çekilerek behere aktarılır. Üzerine 10 mL su, 25 μL ksilenol oranj indikatör çözeltisinden ve 150 mg metenamin eklenir. Renk mordan sarıya dönene kadar 0,005 M EDTA çözeltisi ile titrasyon işlemi gerçekleştirilir. Harcanan EDTA miktarı not edilir.

Tablo 3.6. Çözünme testi yöntemi kapsamında doğruluk çalışması.

Düzy	Plasebo miktarı (mg)	Lantan karbonat tartımı (mg)
% 80	1086,0	1504
% 100	1086,0	1880
% 120	1086,0	2256

Numune çözeltileri geri kazanım analizi için 0,005 M EDTA ile titre edilir. Sonuçlar arasındaki varyasyon katsayısı (VK), standart sapma (SS) ve güven aralığı (% 95) hesaplanarak kaydedilir.

Hesaplama

İlgili hesaplama aşağıda belirtilen eşitliğe göre yapılır (128).

$$\% \text{ Geri Kazanım} = \frac{V_{\text{EDTA}} \times M_{\text{EDTA}} \times 22,891}{0,1 \times W_{\text{Hmm}} \times P_{\text{Hmm}}} \times \frac{900}{4} \times 100 \quad (3.5)$$

V_{EDTA} : Numune çözeltisinin titrasyonunda harcanan EDTA miktarı, mL

M_{EDTA} : EDTA çözeltisinin molaritesi

W_{Hmm} : Tartılan lantan karbonat hammadde miktarı, mg

P_{Hmm} : Lantan karbonat hammadde potensi,

22,891 : 1 mL 0,1 M EDTA 22,891 mg lantan karbonata eşdeğerdir.

Kabul Kriteri

Çalışılan her numunenin % geri kazanımı % 95,0 ile % 105,0 arasında olmalıdır.

Numunelerin % geri kazanım değerleri arasındaki % VK değeri 2,0'den büyük olmamalıdır.

Sağlamlık**Analiz koşullarında değişiklik****Yöntem**

Bölüm 3.4.1'de anlatılan analiz koşulları değiştirilerek her iki doz için çözünme analizleri yapılır ve yöntemin yapılan değişikliklere karşı sağlamlığı test edilir.

Her bir değiştirilen parametre için Bölüm 3.4.1'de anlatıldığı şekilde 6 adet numune hazırlanarak analiz edilir. % çözünme, sonuçlar arasındaki varyasyon katsayısı (% VK) hesaplanır. Elde edilen sonuçlar tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılır.

Uygulanacak değişiklikler;

Pedal hızı: 50 rpm $\pm$ 10 rpm (40 rpm – 60 rpm)

Kabul Kriteri

Çalışılan numunelerin her birinin % çözünme sonucu spesifikasyon limitleri içinde olmalıdır.

Tekrarlanabilirlik ve analiz koşullarındaki değişiklikler sonucu elde edilen % çözünme sonuçları karşılaştırılır.

Çözelti stabilitesi

Yöntem

Bölüm 3.4.1’de anlatıldığı şekilde 4. saat sonunda çözelti stabilitesi için numune çözeltileri hazırlanır ve belirli zaman aralıkları boyunca saklama koşulları sabit tutularak analiz edilir.

Lantan 1000 mg saşe için hazırlanan numune çözeltileri (her analiz için önceden ayrı ayrı hazırlanır) belirli zaman aralıklarında saklama koşulları sabit tutularak titre edilir, harcanan EDTA miktarı kaydedilerek % uyum hesaplanır.

Hesaplama

$$\% \text{ Uyum} = (\text{Harcanan EDTA miktarı } T_1) / \text{Harcanan EDTA miktarı } T_0 \times 100 \quad (3.3)$$

Harcanan EDTA miktarı T_0 : T_0 zamanında titrasyon sonucu harcanan EDTA miktarı

Harcanan EDTA miktarı T_1 : T_1 zamanında titrasyon sonucu harcanan EDTA miktarı

Kabul Kriteri

Çözeltiler arasındaki uyum % 98,0 - % 102,0 olan değerler için çözelti stabil sayılır.

3.5. Lantan Karbonat İçeren Formülasyon Çalışmaları

Shire Dev LLC. (Almanya) firması tarafından üretilen Avrupa Birliği ülkelerinde Fosrenol® 1000 mg Saşe (Kuru Toz) ismi ile bulunan referans ürün ile kıyaslanabilir performansta lantan karbonat içeren saşe’nin sağlam, stabil ve eşdeğer formülasyonunu geliştirilmesi öncelikli çalışmalar arasında yer almıştır.

Lantan karbonat saşe, etkin madde olan lantan karbonatın yanı sıra, emdex (hidrate dekstrat), kolloidal silikon dioksit, gliseril distearat ve magnezyum stearat yardımcı maddeleri ile formüle edilmiştir. Formülde bulunan tüm yardımcı maddeler farmasötik teknolojide kullanılan, Avrupa Farmakopesi ve USP monograflarında yer alan yardımcı maddelerdir. Yardımcı madde seçiminde referans ürün Fosrenol® 1000

mg Saşe örnek alınmıştır. İlgili yardımcı maddelere ilişkin özellikler aşağıda yer almaktadır.

- **Emdex**

USP-NF : Dekstratlar

Tanım : Dekstratlar, nişastanın kontrollü enzimatik hidrolizinden elde edilen sakkarid karışımıdır. Susuz veya hidrate haldedir. Dekstrozlara ek olarak, dekstratlar % 3-5 a/a oranında maltoz ve polisakkaritler içerir. Dekstratlar, beyaz kristalize olan serbest akış gösteren küreler içerir. Kokusuzdur, şekerin yaklaşık yarısı kadar tatlıdır.

Çözünürlük : Suda çözünür.

CAS No : Dextrates [39404-33-6]

Saşe formülasyonunda seyreltici-doldurucu ve stabilize edici ajan olarak kullanılmıştır.

- **Kolloidal Silikon Dioksit (Aerosil 200)**

Tanım : Hafif, ince, beyaz renkli, kokusuz, higroskopik özellikte amorf bir tozdur.

Çözünürlük : Su, alkol, mineral asitler (hidroflorik asit hariç) ve diğer organik çözücülerde pratik olarak çözünmez; sıcak alkali hidroksit çözeltilerinde çözünür.

CAS No : [7631-86-9]

Saşe formülasyonunda glidan olarak kullanılmıştır.

- **Gliseril Distearat (Precirol Ato 5)**

Molekül Formülü : C₁₆ ve C₁₈ yağ asitlerinin mono-, di- ve trigliseritlerinin karışımıdır.

Tanım : Hafif kokulu ince bir tozdur.

Çözünürlük : Kloroform ve diklorometanda kolay çözünür, etanol (% 95), mineral yağ ve suda pratik olarak çözünmez.

CAS No : [8067-32-1]

Saşe formülasyonunda kaydırıcı olarak kullanılmıştır.

- **Magnezyum Stearat**

Molekül Ağırlığı : 591,24

Molekül Formülü : C₃₆H₇₀MgO₄

Tanım : Kokusuz ya da hafif stearik asit kokulu, ince, beyaz, dokununca kayganlık hissi veren hafif bir tozdur.

Çözünürlük : Su, susuz alkol, alkol ve eterde pratik olarak çözünmez; sıcak benzen ve sıcak etanolde güç çözünür.

CAS No : [557-04-0]

Saşe formülasyonunda kaydırıcı olarak kullanılmıştır.

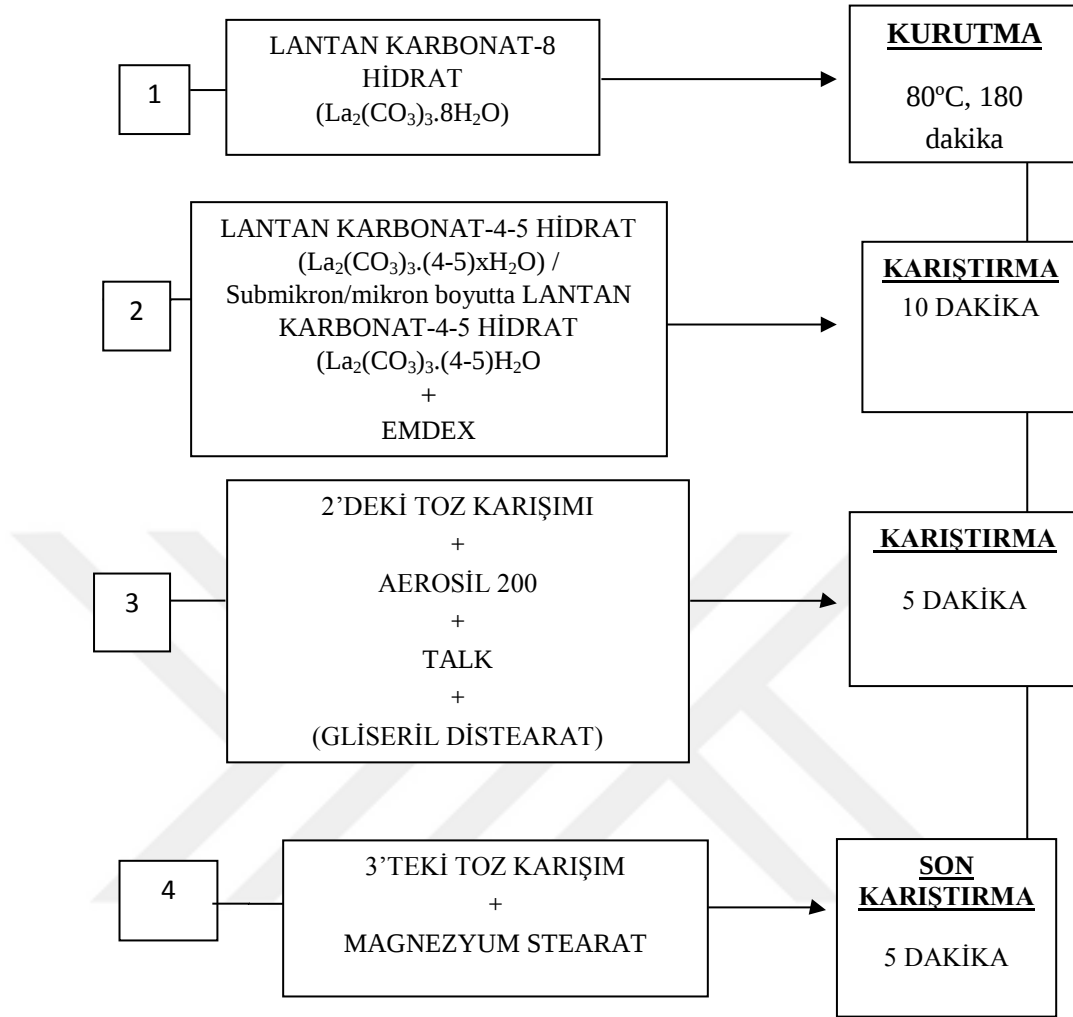
Formülasyon geliştirme çalışmalarına etkin maddenin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin araştırılması ile başlanmıştır. Üretim yöntemi olarak saşe formülasyonlarına özgü olarak farmasötik teknolojide çok yaygın olarak kullanılan doğrudan karıştırma yöntemi uygulanmıştır. Uygun formülasyon belirleme çalışmaları kapsamında ilgili yardımcı maddelerin kullanım miktarları değiştirilerek Tablo 3.7.'de belirtilmiş olan formülasyonlar hazırlanmıştır. İlgili formülasyonlara ilişkin üretim akış şeması da Şekil 3.1.'de gösterilmektedir.

Tablo 3.7. Doğrudan karıştırma yöntemiyle hazırlanmış olan lantan karbonat içeren saşe formülasyonları.

Formülasyon İçeriği	Oran (%)								
	FD1	FD2	FD3	FD4	FD5	FD6	FD7	FD8	FD9
Lantan karbonat (4-5 hidrat) * (1000 mg lantan'a eşdeğer)	65,43								
Emdex (hidrate dekstrat)	33,07	32,57	31,57	31,07	30,57	30,07	29,55	28,55	27,59
Kolloidal silikon dioksit	0,5	1,00	1,00	1,00	1,00	1,50	2,02	2,02	2,02
Gliseril distearat	-	-	-	-	-	-	-	1,00	1,96
Magnezyum stearat	1,00	1,00	2,00	2,50	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00

FD: Formülasyon Denemesi

* Etkin maddenin su içeriği ve miktar tayini hesabına göre gerekli ayarlamalar emdex (hidrate dekstrat) üzerinden yapılır. Ticari olarak bulunmakta olan lantan karbonat 8 hidrat maddesinin etüvde kurutulmasını takiben su içeriği % 14,5 bulunmuştur, etkin maddenin kurutma sonrası formülü etkin madde üzerinden yapılan miktar tayini ve ağırlık kaybından hareketle $\text{La}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot 4,25 \text{ H}_2\text{O}$ 'dur. Bu formül de referans ürün içeriğindeki etkin maddeye[lantan karbonat (4-5 hidrat)] karşılık gelmektedir.



Şekil 3.1. Lantan karbonat içeren formülasyonların üretim akış şeması.

Lantan karbonat saşe ürününe ilişkin FDA'ye kayıtlı 3 ortam olan pH 1,2 (0,1 N HCl), pH 3,0 asetat tamponu ve pH 5,0 asetat tamponu çözünme ortamları olarak kullanılmıştır. Geliştirilen formülasyonlardan hareketle referans ürüne eşdeğer uygun formülasyonun belirlenmesinde referans ürünün 3 farklı çözünme ortamındaki çözünme profilleri esas alınmıştır. Elde edilen çözünme profilleri aşağıdaki eşitlikteki f2 benzerlik faktörü ile karşılaştırılmıştır.

$$f2 = 50 \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right] - 0,5 \times 100 \right\} \quad (3.6)$$

f2 : Benzerlik faktörü

Tt ve Rt : Test ve referans ürün için her bir numune alma zamanında
% çözünen madde miktarları

f2 benzerlik faktörü hesaplamalarında;

- sıfır zaman noktası hariç tutularak minimum 3 nokta alınır.
- her iki formülasyonda (test ve referans ürün) da zaman noktaları aynı olmalıdır.
- her bir formülasyon (test ve referans ürün) için her bir zaman noktasında 12 değer üzerinden değerlendirme yapılır.
- her iki formülasyon (test ve referans ürün) için % çözünen miktarın % 85'i geçtiği noktadan sonraki bir zaman noktası daha hesaba dahil edilir.

Eşdeğer ürün belirlenmesinde 3 farklı çözünme ortamındaki f2 değerlerinin 50 ile 100 arasında olması gerekmektedir (146).

SM/M Formülasyonlarının Hazırlanması ve Karakterizasyon Çalışmaları

Referans ürüne eşdeğer uygun formülasyonun belirlenmesinin ardından SM/M formülasyonlarının hazırlanmasına yönelik olarak püskürterek kurutma, yüksek basınçlı homojenizasyon ve bilyalı değirmen yöntemleri uygulanmıştır.

Püskürterek kurutma yönteminde Büchi Mini Spray Dryer B-290 cihazı kullanılmıştır. Püskürterek kurutma işlemi esnasında, partiküllerin siklon ayırıcının duvarlarına yapışması ve/veya toplama kabına girmeden filtreden geçerek tutulması nedeniyle önemli miktarda madde kaybı meydana gelmiş, bu durum da verimi düşürmüştür. Özellikle saşe formülasyonu içine giren etkin madde miktarının oldukça yüksek olması (% 65,43) nedeniyle verimin düşük olması bu yöntemin kullanılabilirliğini kısıtlamıştır.

Yüksek basınçlı homojenizasyon işleminde de etkin maddenin dispersiyonu sisteme verildiği zaman etkin madde kaynaklı homojenizatörün (Microfluidics M-110P) *chamber* parçası tıkanmıştır. Yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi de bu nedenden dolayı kullanılabilir bulunmamıştır.

Bilyalı değirmen yönteminde ise bilyalı değirmen (Retsch PM100) kullanılarak etkin madde partikül büyüklüğü küçültme çalışmaları

gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda Tablo 3.8.'de görüldüğü üzere bilyalı değirmen yönteminde farklı hızlar (rpm'ler) ve farklı işlem süreleri uygulanmıştır. Bu işlemler sonucunda etkin madde partikül büyüklüğü dağılımları ölçülmüştür.

Tablo 3.8. Bilyalı değirmen yönteminde farklı hız ve sürelere tabi tutulan etkin madde deneme çalışmaları.

Denemeler	İşlem parametreleri	
	Hız (rpm)	Süre (saat)
BDD1	100	3
BDD2	200	3
BDD3	300	3
BDD4	300	6
BDD5	400	3
BDD6	400	6
BDD7	500	3
BDD8	500	6
BDD9	600	3
BDD10	600	6

BDD: Bilyalı Değirmen Denemesi

Bu aşamadan sonra bilyalı değirmen yöntemi ile partikül büyüklüğü SM/M boyutuna indirgenen etkin madde üzerinden ilgili karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda öğütme işlemi sonrası etkin maddenin moleküler yapıyı koruyup korumadığının saptanmasına yönelik XRD, DSC ve TGA analizleri gerçekleştirilmiştir.

XRD analizleri, Rigaku D/MAX 2200 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık olarak 10 mg madde, iyice toz edilip plakalar arasına yerleştirilmiş, 40 kV

voltajda, 2°/dk. tarama hızında, 20:2–50° arası taranarak maddelerin XRD difraktogramları elde edilmiştir.

TGA ve DSC analizleri ise Q600 SDT Sistemi (TA Instruments)'nde 50-600°C sıcaklık aralığında, yaklaşık 1 mg'lık numunelerle platin panlar kullanılarak, azot atmosferi altında (100 mL/dk) ve 10°C/dk'lık ısıtma hızında gerçekleştirilmiştir.

Öğütme işlemi sonrası etkin maddenin çözünürlüğünün değişip değişmediğine yönelik FDA tarafından belirtilmiş olan çözünme ortamlarında (pH 1,2, pH 3,0 ve pH 5,0) ve suda çözünürlük çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar esnasında yatay çalkalayıcının sıcaklığı termostatlara 37±2°C'ye ve devir hızı 80 rpm (devir/dk)'e ayarlanmış ve numuneler yatay çalkalayıcıya yerleştirilmiştir. Belirlenen zaman aralıklarında (6. ve 24. saatlerde) örnek alınmış ve kompleksometrik titrasyon ile analiz edilmiştir.

SM/M boyutuna indirgenen lantan karbonat etkin maddesinden hareketle uygun formülasyon için belirlenmiş olan birim formül ve üretim akış yönteminin aynısı uygulanarak ilgili formülasyon hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan bu formülasyon üzerinden de işlem görmemiş etkin madde kullanılarak belirlenmiş olan uygun formülasyondaki gibi hem çözünme hem de fosfat bağlama çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.6. Stabilite Çalışmaları

Uygun bulunan Lantan Formülasyonu ve SM/M Lantan Formülasyonu stabilite kabinlerine kaldırılarak stabilite profili takip edilmiştir. Bu kapsamda hızlandırılmış saklama koşulları olan 40°C±2°C/% 75±% 5 bağıl nem (RH) ve uzun süreli saklama koşulları olan 25°C±2°C/% 60±% 5 bağıl nem (RH) ortamına ilgili formülasyonlar maruz bırakılmıştır. Başlangıç anında, 1. ay ve 3. ay sonunda ilgili stabilite koşullarında ilgili formülasyonların Tablo 3.9.'da belirlenen spesifikasyonlara uygun olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Tablo 3.9. Stabilite çalışmaları kapsamında değerlendirilecek olan testler ve spesifikasyonları.

Test Tanımı	Spesifikasyonlar
Görünüş	Beyaz-krem renkli toz
% Su içeriği (Karl Fischer)	Maksimum % 5,0
Miktar Tayini - Lantan karbonat	% 95,0-105,0
Çözünme Testi (900 mL, 0,1 N HCl, 50 rpm, Pedal)	4. saat sonunda min. % 50,0 24. saat sonunda min. % 85,0

3.7. Fosfat Bağlama Çalışmaları

In-vitro fosfat bağlama çalışmaları kinetik bağlama çalışması ve denge bağlama çalışması olmak üzere 2 adımdan oluşmaktadır. Kinetik bağlama çalışmasının amacı maksimum fosfat bağlama denge tepkimesi için gereken zamanı ve optimum bağlanma hızını tespit etmektir. Kinetik bağlama çalışmasından sonra gerçekleştirilecek olan ve karşılaştırmalı biyoeşdeğerlik çalışması için bir gereklilik olan denge bağlama çalışmasının amacı ise afinite ve bağlanma katsayılarını tespit etmektir. Her iki çalışma da hem test hem de referans ürün için ayrı ayrı gerçekleştirilir (131, 143, 147-149).

Çalışmalar bağlanmadan çözeltide kalan fosfat miktarlarının tayini üzerinden gerçekleşir ve analizler iyon kromatografisi tekniği ile aşağıda belirtilen kromatografik koşullarda gerçekleştirilir. İyon kromatografisi tekniğinde kullanılacak olan Shim-pack IC-A1 kolonuna ilişkin inorganik anyon (fosfat anyonu- HPO_4^{-2}) ayrımı için verilmiş olan yöntem aynı şekilde uygulanmıştır (150).

Cihaz	: HPLC (İyon kromatografisi-IC)
Kolon	: Shim-pack IC-A1 100 mm x 5,0 mm (İyonik kolon)
Akış hızı	: 1,5 mL/dk
Dalga boyu	: 254 nm
Dedektör Tipi	: İletkenlik dedektörü (Supresörsüz)

Polarity	: Pozitif
Enjeksiyon hacmi	: 10 µL
Kolon Sıcaklığı	: 40°C
Çözücü 1	: Çözünme ortamı
Çözücü 2	: Su
Mobil Faz	: 0,145 g 4-hidroksi benzoik asit, 0,146 mL N,N-dietiletanolamin, 1000 mL su. pH=7,90'a N,N-dietiletanolamin ile ayarlanır.
Analiz Süresi	: 20 dk
Çözeltilerin Hazırlanması	
0,1M Asetik asit	: 14,3 mL % 100'lük glasiyel asetik asit 2500 mL'ye su ile seyreltilir.
0,1M Na asetat trihidrat	: 13,6 g sodyum asetat trihidrat 1000 mL suda çözündürülür.
Çözünme Ortamları	
pH 1,2 Ortamı	: 49,8 mL % 37'lik HCl 6000 mL'ye su ile seyreltilir.
pH 3,0 Ortamı	: 5893,8 mL 0.1M asetik asit, 106,2 mL 0.1 M sodyum asetat trihidrat ile karıştırılır.
pH 5,0 Ortamı	: 2142 mL 0,1M asetik asit, 3858 mL 0,1 M sodyum asetat trihidrat ile karıştırılır.

3.7.1. Kinetik Bağlama Çalışmaları

Kinetik bağlama çalışmaları; fosfat çözeltisinin son konsantrasyonları 14,48 mM, 43,44 mM ve 86,88 mM (350 mg, 1053 mg, 2106 mg fosfata eşdeğer)* olacak şekilde 3 farklı konsantrasyonda, 8 numune alma noktasında, 24 saat boyunca ve farklı pH koşullarında gerçekleştirilir. Deneyler in-vitro koşullar olan pH 1,2, pH 3,0 ve pH 5,0 ortamlarında ayrı ayrı yapılmalıdır. Hem referans ürüne hem de test ürüne ilişkin ürünler ayrı ayrı denenmelidir. Her bir konsantrasyon için 6 adet numune hazırlanır. Aşağıdaki verilen süreler boyunca numuneler çekilir ve her bir

zaman için lantana bağlanan fosfat konsantrasyonları ve denge konsantrasyonuna ulaştığı noktadaki optimum süre belirlenir. Bu süre 2. adımda gerçekleştirilecek olan denge bağlama çalışmaları için gerekli optimum süre olacaktır.

Numune çekme noktaları: 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 6,0, 8,0, 24,0 saatler için yapılır.

**Belirtilen fosfat konsantrasyonları besinlerden alınan günlük normal fosfat miktarları esas alınarak seçilen konsantrasyonlardır.*

Lantan karbonat 1000 mg Saşe Fosfat Bağlama için Stok Fosfat Çözeltilisinin Hazırlanması

137,98 g sodyum monobazik fosfat monohidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 500 mL su içerisinde çözündürülür ($C_{\text{FOSFATstok}}$: 189,94 mg/mL).

Lantan karbonat 1000 mg Saşe Fosfat Bağlama için Fosfat Çözeltilerinin Hazırlanması

Hazırlanan stok fosfat çözeltisinden Tablo 3.10.'da belirtilen miktarlarda alınarak çözücü 1 ile seyreltme yapılır.

Tablo 3.10. Lantan karbonat 1000 mg saşe fosfat bağlama için fosfat çözeltilerinin hazırlanması için gerekli miktarlar.

	Numune İçine Eklenerek Fosfat Konsantrasyonları (mg/mL)	Numune İçine Eklenerek Fosfat Konsantrasyonları (mM)	Seyreltme (mL/mL)
Çözelti 1	17,19	181	4,525 mL/50 mL
Çözelti 2	51,57	543	13,575 mL/50 mL
Çözelti 3	103,14	1086	27,150 mL/50 mL

Lantan karbonat 1000 mg Saşe Fosfat Bağlama için Standart Fosfat Çözeltilerinin Hazırlanması

Tablo 3.10.'daki çözeltilerden 0,2 mL 25 mL'lik balon jöjeye alınarak 25 mL'ye çözücü 2 ile seyreltilir ve Tablo 3.11.'de belirtilen standart çözeltiler hazırlanır.

Tablo 3.11. Lantan karbonat 1000 mg saşe fosfat bağlama için standart fosfat çözeltilerinin hazırlanması için gerekli miktarlar.

	Standart Fosfat Konsantrasyonları (mg/mL)
Çözelti 1 Standardı	0,137
Çözelti 2 Standardı	0,413
Çözelti 3 Standardı	0,825

Lantan karbonat 1000 mg Saşe Fosfat Bağlama için Numune Çözeltilerinin Hazırlanması

500 mL' lik beherlerde 1000 mg lantan içeren saşe içeriklerine 230 mL çalışılacak olan çözünme ortamından (pH 1,2, pH 3,0 veya pH 5,0) eklenir, pH değeri kontrol edilir (hidroklorik asit ya da sodyum hidroksit kullanılarak pH sabitlenir). pH değeri sabitlendikten sonra; Tablo 3.10.'da hazırlanan çözeltilerden numunelere 20 mL eklenir (her bir çözünme ortamı için toplamda 6 adet numune olmalıdır). Son hacim 250 mL olmalıdır. Numune içerisindeki son fosfat konsantrasyon miktarları Tablo 3.12.'de verilmiştir.

Tablo 3.12. Lantan karbonat 1000 mg saşe fosfat bağlama için numune çözeltilerinin hazırlanması için gerekli miktarlar.

Numune İçindeki Fosfat Konsantrasyonları (mg/mL)	Numune İçindeki Fosfat Konsantrasyonları (mM)
1,38	14,48
4,13	43,44
8,25	86,88

- Beherler 37°C’de 75 rpm hızda karıştırılmak suretiyle inkübasyon işlemine tabii tutulur.
- Deney boyunca pH değeri kontrol edilir ve gerekirse ayarlama yapılmalıdır.
- Süre sonunda (0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 6,0, 8,0, 24,0 saatlerde) 1 mL numune alınarak 10 mL’lik balon jojeye çözücü 2 ile seyreltilir.
- 5 dakika 4500 rpm’de numuneler santrifüj edildikten sonra üstte kalan kısım vialerle aktarılır.
- IC tekniği ile bağlanmadan kalan fosfat analiz edilir ve miktarları belirlenir.
- Başlangıçta eklenen fosfat miktarından bağlanmadan kalan fosfat miktarının farkı alınarak lantana bağlanan fosfat miktarı tespit edilir.
- Dengeye ulaştığı saat belirlenir.
- Test ürün ile referans ürün arasındaki istatistiksel farklılıklar SPSS yazılımı ile ANOVA testi kullanılarak araştırılır. Gruplardaki farklılıklar Dunnett’s post-hoc testi ile değerlendirilir. p değerinin 0,05’ten küçük olması durumu istatistiksel olarak anlamlı kabul edilir.

3.7.2. Denge Bağlama Çalışmaları

Denge bağlama çalışmaları; sabit lantan miktarında (1000 mg) ve sabit sürede (8 saat) değişen fosfat konsantrasyonlarına karşı yapılır.

Bu çalışma FDA’da belirtilen pH 1,2, pH 3,0 ve pH 5,0 ortamları için yapılmalıdır.

Lantan karbonat 1000 mg Saşe Fosfat Bağlama için Stok Fosfat Çözeltilisinin Hazırlanması

137,98 g sodyum monobazik fosfat monohidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 500 mL su içerisinde çözündürülür ($C_{\text{FOSFATstok}}$: 189,94 mg/mL).

Lantan karbonat 1000 mg Saşe Fosfat Bağlama için Fosfat Çözeltilerinin Hazırlanması

Hazırlanan stok fosfat çözeltisinden Tablo 3.13.’de belirtilen miktarlarda alınarak seyreltme yapılır.

Tablo 3.13. Lantan karbonat 1000 mg saşe fosfat bağlama için fosfat çözeltilerinin hazırlanması için gerekli miktarlar.

	Numune İçine Eklenecek Fosfat Konsantrasyonları (mg/mL)	Numune İçine Eklenecek Fosfat Konsantrasyonları (mM)	Seyreltme (mL/mL)
Çözelti1	17,19	181	4,525 mL/50 mL
Çözelti 2	25,83	272	6,800 mL/50 mL
Çözelti3	34,38	362	9,050 mL/50 mL
Çözelti 4	43,02	453	11,325 mL/50 mL
Çözelti5	51,57	543	13,575 mL/50 mL
Çözelti 6	68,85	725	18,125 mL/50 mL
Çözelti7	86,04	906	22,650 mL/50 mL
Çözelti 8	103,14	1086	27,150 mL/50 mL

Lantan karbonat 1000 mg Saşe Fosfat Bağlama için Numune Çözeltilerinin Hazırlanması

1000 mg lantan içeren numuneler 500 mL'lik beherlere eklenir, üzerlerine 200 mL pH 1,2 ortamı eklenir. 16 saat 37°C sıcaklıkta inkübasyon işlemi gerçekleştirilir. İnkübasyon işlemi bittikten sonra;

- **pH 1,2 için;**
 - 30 mL pH 1,2 ortamı eklenir. pH değeri kontrol edilmelidir (gerekirse hidroklorik asit ya da sodyum hidroksit kullanılarak pH değeri 1,2'ye ayarlanır.).
 - En az 1 saat beklenir; 20 mL Tablo 3.13.'de hazırlanan konsantrasyonlardaki fosfat çözeltileri numunelere eklenir (gerekirse hidroklorik asit ya da sodyum hidroksit kullanılarak pH değeri 1,2'ye ayarlanır), toplamda 8 adet numune olmalıdır, son hacim 250 mL'dir.

- **pH 3,0 için;**

- 30 mL pH 3,0 ortamı eklenir. pH değeri kontrol edilmelidir. (gerekirse hidroklorik asit ya da sodyum hidroksit kullanılarak pH değeri 3,0'e ayarlanır.)
- En az 1 saat beklenir; 20 mL Tablo 3.13.'de hazırlanan konsantrasyonlardaki fosfat çözeltileri numunelere eklenir (gerekirse hidroklorik asit ya da sodyum hidroksit kullanılarak pH değeri 3,0'e ayarlanır), toplamda 8 adet numune olmalıdır, son hacim 250 mL'dir.

- **pH 5,0 için;**

- 30 mL pH 5,0 ortamı eklenir. pH değeri kontrol edilmelidir. (gerekirse hidroklorik asit ya da sodyum hidroksit kullanılarak pH değeri 5,0'e ayarlanır.)
- En az 1 saat beklenir; 20 mL Tablo 3.13.'de hazırlanan konsantrasyonlardaki fosfat çözeltileri numunelere eklenir (gerekirse hidroklorik asit ya da sodyum hidroksit kullanılarak pH değeri 5,0'e ayarlanır), toplamda 8 adet numune olmalıdır, son hacim 250 mL'dir.

Numune içerisindeki son fosfat konsantrasyonları Tablo 3.14.'de verilmiştir.

Tablo 3.14. Numune içerisindeki son fosfat konsantrasyon miktarları.

Numune İçine Eklenecek Fosfat Konsantrasyonları (mg/mL)	Numune İçindeki Fosfat Konsantrasyonları (mM)
1,38	14,48
2,07	21,76
2,75	28,96
3,44	36,24
4,13	43,44
5,51	58,00
6,88	72,48
8,25	86,88

- Beherler 37°C'de 75 rpm'de çözünme cihazında pedalla 8 saat karıştırılmalıdır (kinetik bağlama çalışmasında dengeye ulaşım zamanı 8 saattir).
- Karıştırma boyunca pH değeri kontrol edilir ve gerekirse ayarlama yapılmalıdır.
- 5 dakika 4500 rpm'de numuneler santrifüj edildikten sonra üstte kalan kısım vialer aktarılır.
- Bağlanan fosfat miktarı belirlenir.
- Langmuir eşitliği kullanılarak benzeşim sabiti ve kapasite sabiti bulunur.
- Lantan Formülasyonu, SM/M Lantan Formülasyonu ve referans ürün Fosrenol® 1000 mg Saşe arasındaki benzerlikler % 90 güven aralığında kapasite sabiti olan k_2 kullanılarak incelenir (131, 143, 147-149).

Benzeşim Sabiti (affinity constant) ; k_1 ve Kapasite Sabiti (capacity constant) ; k_2

Bu sabitelerin hesaplanmasında doğrusal regresyon yöntemi kullanılmıştır.

Sabit sıcaklıktaki bağlanan fosfat miktarı aşağıda yer alan langmuir eşitliği ile ifade edilir.

$$\frac{C_{eq}}{x/m} = \frac{1}{k_1 \cdot k_2} + \frac{1}{k_2} C_{eq} \quad (3.7)$$

C_{eq} : Dengedeki bağlanmamış fosfat konsantrasyonu (mM)

x : Dengede Lantana bağlanan fosfat miktarı (Toplam eklenen fosfat miktarı – C_{eq})

m : Kullanılan ilaç miktarı (g)

k_1 : Benzeşim bağlanma sabiti (Affinity)

k_2 : Langmuir kapasite sabiti

$\frac{C_{eq}}{x/m}$, ye karşı C_{eq} çizilerek langmuir grafiği elde edilir.

Her bir çözünme ortamı için ayrı ayrı k_1 ve k_2 değerleri hesaplanır.

Benzeşim sabiti k_1 , bağlanma sürecine dahil kuvvetlerin büyüklüğü ile ilgilidir. Kapasite sabiti k_2 , birim ağırlık başına adsorbent-lantan karbonat tarafından tutunan (adsorbe edilen) maksimum fosfat miktarını (adsorbat) belirtir.

Önce dengedeki fosfat çözeltisi konsantrasyonundan 1000 mg lantan karbonat içine bağlanan fosfat miktarı bulunur. Sonra buradan birim lantan karbonat ağırlığı (mg) başına bağlanan fosfat eşitliği x/m hesaplanır.

$\frac{C_{eq}}{x/m}$ 'ye karşı C_{eq} grafiği çizilerek doğrusal bir eğri elde edilir. Bu eğrinin eğimi (b) ve y eksenini kesme değeri (a) bulunarak k_1 ve k_2 hesaplanır.

$$k_1 = \frac{b}{a} \quad k_2 = \frac{1}{b} \quad (3.8)$$

k_2 oranının güven aralığını (% 90) hesaplamak için aşağıdaki eşitlikler kullanılır (142).

$$k_2 \text{ oranı} = \frac{k_{2_{test}}}{k_{2_{referans}}} \times 100 \quad (3.9)$$

$$SE_Q = Q \sqrt{\frac{SEM_T^2}{T^2} + \frac{SEM_R^2}{R^2}} \quad (3.10)$$

SE_Q : Ortalama oranın standart sapma değeri

Q : Test ürün ortalamasının referans ürün ortalamasına oranı

SEM_T : Test ürünün standart sapma değeri

SEM_R : Referans ürünün standart sapma değeri

T : Test ürünün ortalama değeri

R : Referans ürünün ortalama değeri

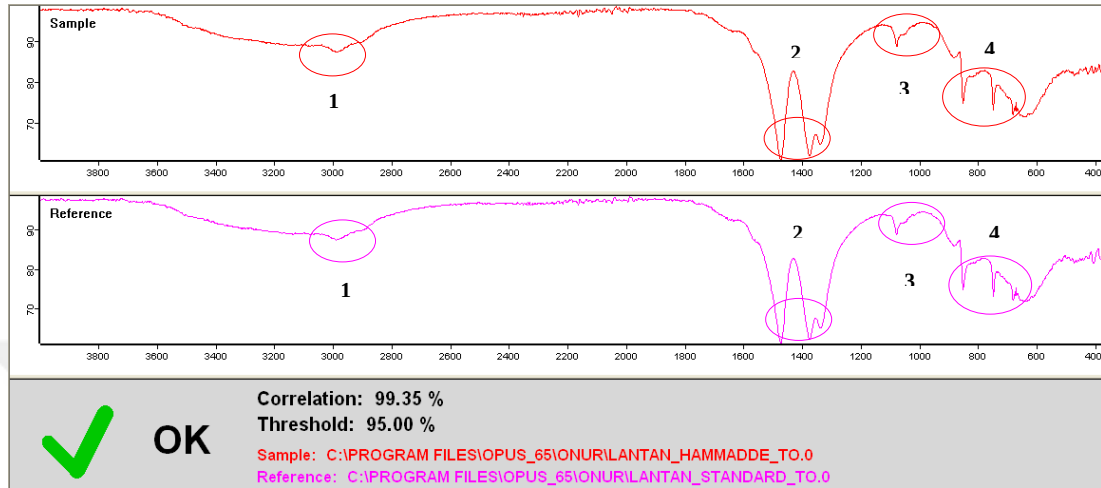
$$\text{Güven aralığı (\% 90)} = k_2 \text{ oranı} \pm t_{0,1} \text{ df} \times SE_Q \quad (3.11)$$

$t_{0,1} \text{ df}$ (serbestlik derecesi): 1,645

4. BULGULAR

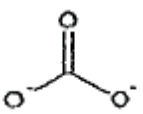
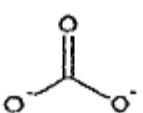
4.1. Etkin Madde Üzerinde Yapılan Fizikokimyasal İncelemeler

4.1.1. Lantan Karbonatın FT-IR Spektrumu

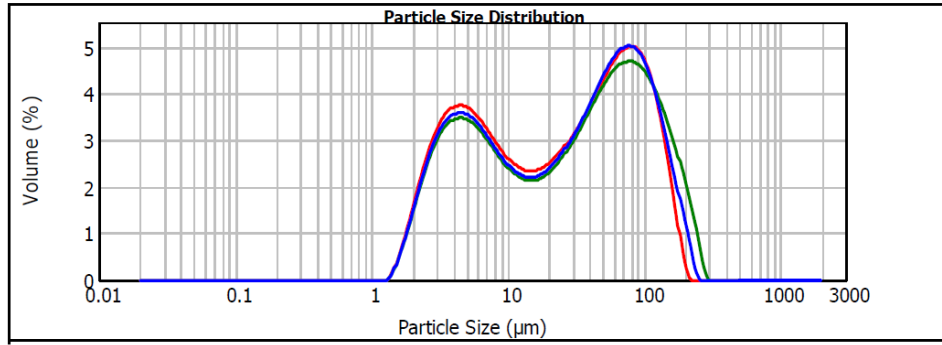


Şekil 4.1. Formülasyonlarda kullanılan lantan karbonat (Mylan, 22113469) etkin maddesinin (sample) ve standart lantan karbonat etkin maddesinin (reference) FT-IR spektrumları.

Tablo 4.1. FT-IR spektrumlarında dalga boyuna karşılık gelen fonksiyonel gruplar.

Bölge / Dalga Boyu (cm ⁻¹)	Titreşim ; Fonksiyonel Gruplar
1 / 3368	Gerilme ; O-H / H ₂ O
2 / 1474	Asimetrik gerilme ; 
2 / 1376	
2 / 1338	
3 / 1076	Simetrik gerilme ; 
4 / 850	
4 / 746	
4 / 678	

4.1.2. Lantan Karbonatın Partikül Büyüklüğü Dağılımı Analizi

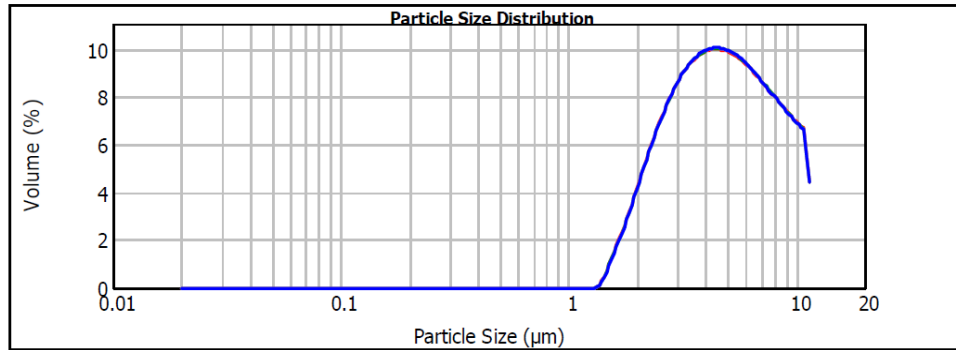


d_{10} : $3,313 \pm 0,044 \mu\text{m}$; d_{50} : $28,875 \pm 1,141 \mu\text{m}$; d_{90} : $118,650 \pm 6,724 \mu\text{m}$

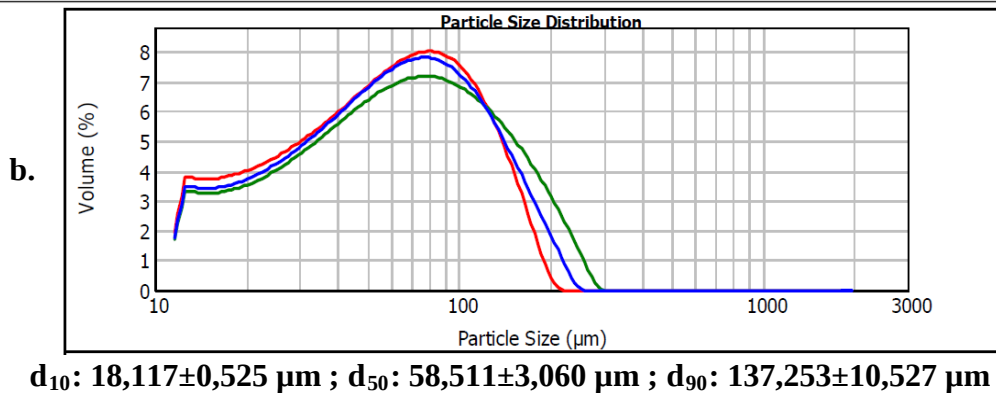
Şekil 4.2. Lantan karbonat etkin maddesi partikül büyüklüğü dağılımı sonuçları (ortalama $\pm$ SS, n=3).

Şekil 4.2.'den de görüldüğü üzere lantan karbonat etkin maddesi bimodal partikül büyüklüğü dağılımı sergilemektedir. Bimodal dağılım kendi içinde incelendiği zaman Şekil 4.3.'deki gibi iki ayrı partikül büyüklüğü dağılımı ortaya çıkmaktadır.

a.



d_{10} : $2,333 \pm 0,004 \mu\text{m}$; d_{50} : $4,662 \pm 0,003 \mu\text{m}$; d_{90} : $9,290 \pm 0,007 \mu\text{m}$



Şekil 4.3. Bimodal partikül büyüklüğü dağılımı gösteren lantan karbonat etkin maddesinin birinci (a.) ve ikinci (b.) partikül büyüklüğü dağılımı sonuçları (ortalama $\pm$ SS, n=3).

4.2. Analitik Yöntem ve Validasyon Çalışmaları

4.2.1. Bitmiş Ürün Miktar Tayini Analitik Yöntem Validasyonu

Özgüllük

Yöntemin analiz edilen örnek içerisinde sadece ölçümü amaçlanan maddeleri ölçme yeteneğinin tespiti için özgüllük testi yapılmıştır.

İlgili test için plasebo ve numune analizi için 0,1 M EDTA ile titre edilmiştir ve Tablo 4.2.'deki sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo 4.2. Miktar tayini yöntemi kapsamında özgüllük çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.

Madde	Harcanan 0.1 M EDTA V_EDTA, mL
Numune	14,5
Plasebo	_*

*İndikatör eklendiğinde mor renk gözlenmediği için titrasyon yapılmamıştır.

Sonuç

Titrasyon yöntemi lantan karbonat için seçicidir.

Plasebo çözeltisine indikatör eklendiğinde titrasyon yapılmadan sarı renk oluşmuştur. Plasebo içinde lantan karbonat olmadığı kanıtlanmıştır.

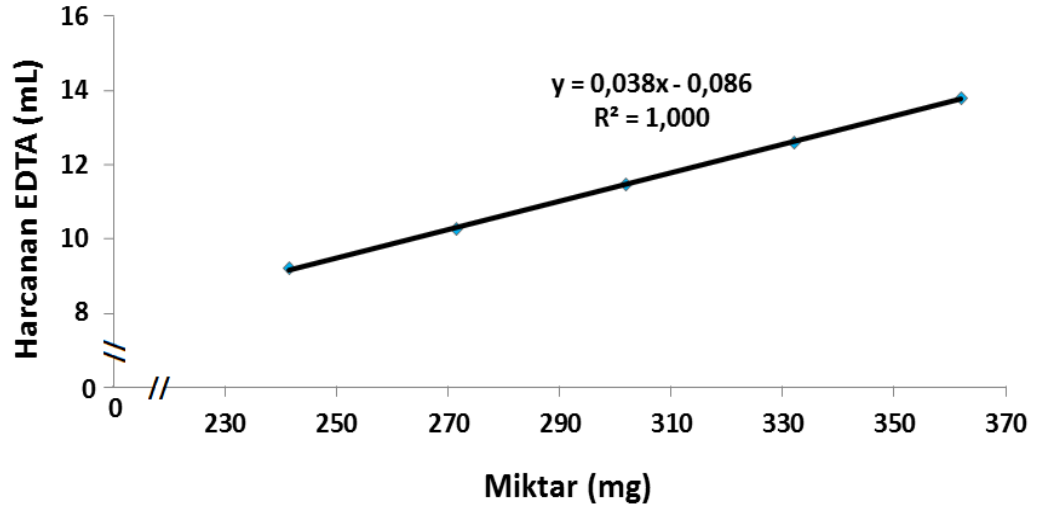
Yöntemin özgüllüğü kanıtlanmıştır.

Doğrusallık ve Aralık

Doğrusal yanıt ilişkisini kanıtlamak için 5 farklı konsantrasyonda (% 80, % 90, % 100, % 110, % 120) hazırlanan çözeltiler 0,1 M EDTA ile titre edilmiş, Tablo 4.3.'deki sonuçlar ve Şekil 4.4.'deki doğrusallık grafiği elde edilmiştir.

Tablo 4.3. Miktar tayini yöntemi kapsamında doğrusallık çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.

Standart Çözelti No	Düzyey	Tartılan lantan karbonat miktarı mg	Harcanan EDTA miktarı V_EDTA, mL
1	% 80	242,36	9,20
		240,36	9,20
2	% 90	270,56	10,20
		272,05	10,30
3	% 100	301,22	11,40
		302,13	11,50
4	% 110	330,35	12,50
		333,52	12,70
5	% 120	360,63	13,70
		363,21	13,90



Şekil 4.4. Miktar tayini yöntemi kapsamında lantan karbonat doğrusallık grafiği.

Sonuç

Elde edilen bulgular kabul kriterlerine uygundur, lantan karbonat miktarına karşı harcanan 0,1 M EDTA miktarının doğrusal ilişkisi saptanmıştır.

Kesinlik

Tekrarlanabilirlik

Miktar tayini yöntemi kapsamında tekrarlanabilirlik çalışmasına ilişkin sonuçlar Tablo 4.4.'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Miktar tayini yöntemi kapsamında tekrarlanabilirlik çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.

Numune No	Tartım mg	Harcanan EDTA V_EDTA, mL	mg Lantan karbonat	% Lantan
1	580,22	14,1	322,8	101,3
2	583,71	14,0	320,5	99,9
3	585,79	14,2	325,1	101,0
4	579,77	13,8	315,9	99,2
5	573,89	13,8	315,9	100,2
6	588,28	14,2	325,1	100,6
ORTALAMA				100,4
SS				0,76
% VK				0,75
Güven Aralığı (% 95)				100,4 ± 0,61

Sonuç

Çalışılan numunelerin her birinin sonucu spesifikasyon limitleri içindedir.

6 numuneden elde edilen miktar tayini sonucunun % VK değeri 0,75'dir.

Yöntemin tekrarlanabilir olduğu saptanmıştır.

Ara kesinlik

Miktar tayini yöntemi kapsamında ara kesinlik çalışmasına ilişkin sonuçlar Tablo 4.5.'de verilmiştir.

Tablo 4.5. Miktar tayini yöntemi kapsamında ara kesinlik çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.

Numune No	Tartım mg	Harcanan EDTA V_EDTA, mL	mg Lantan karbonat	% Lantan
1	574,32	13,90	318,2	100,9
2	580,47	14,00	320,5	100,5
3	586,00	14,30	327,3	101,7
4	579,98	13,80	315,9	99,1
5	592,06	14,40	329,6	101,3
6	585,32	14,30	327,3	101,8
ORTALAMA				100,9
SS				0,99
% VK				0,98
Güven Aralığı (% 95)				100,9 ± 0,79

Miktar tayini yöntemi kapsamında tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçlarının miktar tayini yönünden karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar Tablo 4.6.'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçlarının miktar tayini yönünden karşılaştırılması.

	Numune No	% Lantan
Tekrarlanabilirlik	1	101,3
	2	99,9
	3	101,0
	4	99,2
	5	100,2
	6	100,6
Ara-Kesinlik	1	100,9
	2	100,5
	3	101,7
	4	99,1
	5	101,3
	6	101,8
ORTALAMA		100,6
SS		0,89
% VK		0,89
Güven Aralığı (% 95)		100,6 ± 0,71

Sonuç

Çalışılan numunelerin her birinin sonucu spesifikasyon limitleri içindedir.

6 numuneden elde edilen miktar tayini sonucunun % VK değeri 0,98'dir.

12 numuneden elde edilen miktar tayini sonucunun % VK değeri 0,89'dur.

Yöntemin tekrarlanabilir olduğu saptanmıştır.

Doğruluk

Yöntemin doğruluğu; % 80, % 100 ve % 120 düzeylerindeki etkin madde çözeltilerinde gösterilmiştir. Her bir düzey için 3'er adet olmak üzere toplam 9 adet numune hazırlanmıştır.

Miktar tayini yöntemi kapsamında doğruluk çalışmasına ilişkin sonuçlar Tablo 4.7.'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Miktar tayini yöntemi kapsamında doğruluk çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.

Çözelti Adı	Tartım mg	Harcanan EDTA V_EDTA, mL	% Geri Kazanım – Lantan karbonat
% 80-1	247,06	9,30	99,0
% 80-2	239,06	9,20	101,3
% 80-3	242,07	9,30	101,1
% 100-1	303,14	11,50	99,8
% 100-2	308,29	11,80	100,7
% 100-3	301,44	11,40	99,5
% 120-1	366,02	14,00	100,6
% 120-2	362,42	13,80	100,2
% 120-3	364,48	14,10	101,8
ORTALAMA			100,4
SS			0,89
% VK			0,88
Güven Aralığı (% 95)			100,4±0,71

Sonuç

Çalışılan numunelerin her birinin % geri kazanımı % 95,0 - % 105,0 arasındadır.

Geri kazanım değerleri arasındaki % VK değeri 0,88'dir.

Yöntemin doğruluk parametresi sağlanmıştır.

Sağlamlık

Çözelti stabilitesi

Miktar tayini yöntemi kapsamında çözelti stabilitesi çalışmasına ilişkin sonuçlar Tablo 4.8.'de verilmiştir.

Tablo 4.8. Miktar tayini yöntemi kapsamında çözelti stabilitesi çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.

Saat	Lantan	
	Lantan miktar tayini-%	% Uyum
Başlangıç	101,3	-
24. saat	99,9	98,6
48. saat	98,5	97,2

Sonuç

Numune çözeltisi oda koşulunda 24 saat stabilitesini korumuştur.

4.2.2. Bitmiş Ürün Çözünme Testi Analitik Yöntem Validasyonu

Özgüllük

Yöntemin analiz edilen örnek içerisinde sadece ölçümü amaçlanan maddeleri ölçme yeteneğinin tespiti için özgüllük testi yapılmıştır.

İlgili test için plasebo ve numune analizi için 0,005 M EDTA ile titre edilmiş ve bu çalışmaya ilişkin sonuçlar Tablo 4.9.'da verilmiştir.

Tablo 4.9. Çözünme testi yöntemi kapsamında özgüllük çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.

Madde	Harcanan 0,005 M EDTA V_EDTA, mL
Numune	5,1
Plasebo	_*

*İndikatör eklendiğinde mor renk gözlenmediği için titrasyon yapılmamıştır.

Sonuç

Titrasyon yöntemi lantan karbonat için seçicidir.

Plasebo çözeltisine indikatör eklendiğinde titrasyon yapılmadan sarı renk oluşmuştur. Plasebo içinde lantan karbonat olmadığı kanıtlanmıştır.

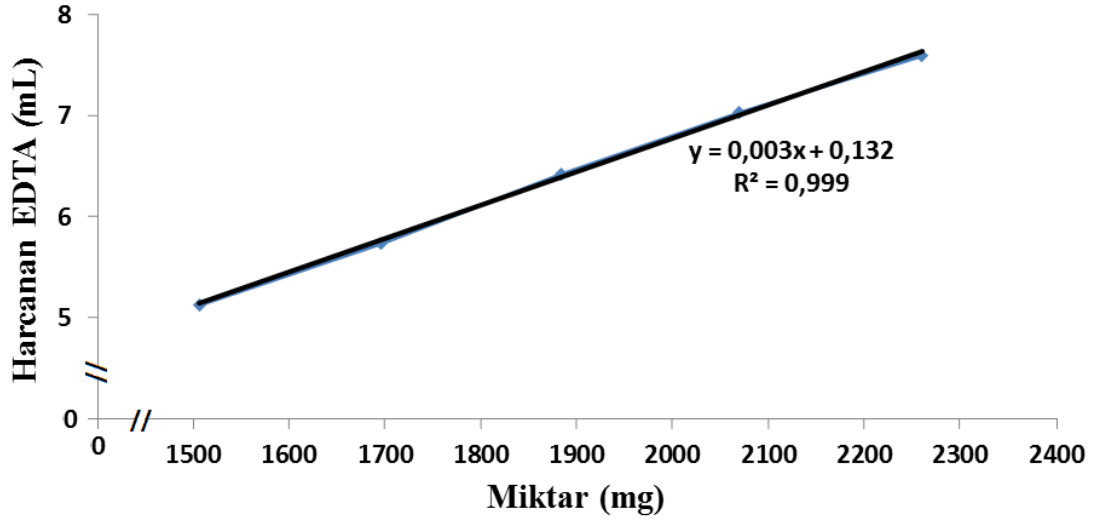
Yöntemin özgüllüğü kanıtlanmıştır.

Doğrusallık ve Aralık

Doğrusal yanıt ilişkisini kanıtlamak için 5 farklı miktarda (% 80, % 90, % 100, % 110, % 120) hazırlanan çözeltiler 0,005 M EDTA ile titre edilmiş, Tablo 4.10.'deki sonuçlar ve Şekil 4.5.'deki doğrusallık grafiği elde edilmiştir.

Tablo 4.10. Çözünme testi yöntemi kapsamında doğrusallık çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.

Standart Çözelti No	Düzey	Tartılan Lantan karbonat Miktarı, mg	Harcanan EDTA Miktarı V_EDTA, mL
1	% 80	242,36	9,20
		240,36	9,20
2	% 90	270,56	10,20
		272,05	10,30
3	% 100	301,22	11,40
		302,13	11,50
4	% 110	330,35	12,50
		333,52	12,70
5	% 120	360,63	13,70
		363,21	13,90



Şekil 4.5. Çözünme testi yöntemi kapsamında lantan karbonat doğrusallık grafiği.

Sonuç

Elde edilen bulgular kabul kriterlerine uygundur, lantan karbonat miktarına karşı harcanan 0,005 M EDTA miktarının doğrusal ilişkisi saptanmıştır.

Kesinlik

Tekrarlanabilirlik

Çözünme testi yöntemi kapsamında tekrarlanabilirlik çalışmasına ilişkin sonuçlar Tablo 4.11.'de verilmiştir.

Tablo 4.11. Çözünme testi yöntemi kapsamında tekrarlanabilirlik çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.

Numune No	Harcanan EDTA V_EDTA, mL	mg Lantan karbonat	% Çözünme – 4. saat
1	4,8	1236,1	75,0
2	5,5	1416,4	86,0
3	5,8	1493,6	90,7
4	5,1	1313,4	79,7
5	4,9	1261,9	76,6
6	5,3	1364,9	82,8
ORTALAMA			81,8
SS			5,90
% VK			7,22
Güven Aralığı (% 95)			81,8 ± 4,72

Sonuç

Çalışılan numunelerin her birinin sonucu spesifikasyon limitleri içindedir.

6 numuneden elde edilen çözünme testi sonucunun % VK değeri 7,22'dir.

Yöntemin tekrarlanabilir olduğu saptanmıştır.

Ara kesinlik

Çözünme testi yöntemi kapsamında ara kesinlik çalışmasına ilişkin sonuçlar Tablo 4.12.'de verilmiştir.

Tablo 4.12. Çözünme testi yöntemi kapsamında ara kesinlik çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.

Numune No	Harcanan EDTA V_EDTA, mL	mg Lantan karbonat	% Çözünme – 4. saat
1	5,1	1313,4	79,7
2	5,3	1364,9	82,8
3	5,4	1390,6	84,4
4	4,9	1261,9	76,6
5	5,0	1287,6	78,2
6	4,8	1236,1	75,0
ORTALAMA			79,5
SS			3,62
% VK			4,56
Güven Aralığı (% 95)			79,5 ± 2,90

Çözünme testi yöntemi kapsamında tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçlarının çözünme testi yönünden karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar Tablo 4.13.'de verilmiştir.

Tablo 4.13. Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçlarının çözünme testi yönünden karşılaştırılması.

	Numune No	% Çözünme – 4. saat
Tekrarlanabilirlik	1	75,0
	2	86,0
	3	90,7
	4	79,7
	5	76,6
	6	82,8
Ara-Kesinlik	1	79,7
	2	82,8
	3	84,4
	4	76,6
	5	78,2
	6	75,0
ORTALAMA		80,6
SS		4,83
% VK		5,99
Güven Aralığı (% 95)		80,6 ± 3,86

Sonuç

Çalışılan numunelerin her birinin sonucu spesifikasyon limitleri içindedir.

6 numuneden elde edilen çözünme testi sonucunun % VK değeri 4,56'dir.

12 numuneden elde edilen çözünme testi sonucunun % VK değeri 5,99'dur.

Yöntemin tekrarlanabilir olduğu saptanmıştır.

Doğruluk

Yöntemin doğruluğu; % 80, % 100 ve % 120 düzeylerindeki etkin madde çözeltilerinde gösterilmiştir. Her bir düzey için 3'er adet olmak üzere toplam 9 adet numune hazırlanmıştır.

Çözünme testi yöntemi kapsamında doğruluk çalışmasına ilişkin sonuçlar Tablo 4.14.'de verilmiştir.

Tablo 4.14. Çözünme testi yöntemi kapsamında doğruluk çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.

Çözelti Adı	Tartım mg	Harcanan EDTA V_EDTA, mL	% Geri Kazanım – Lantan karbonat
% 80-1	1506,5	5,20	102,2
% 80-2	1500,3	5,10	100,6
% 80-3	1528,7	5,30	102,6
% 100-1	1887,8	6,50	101,9
% 100-2	1881,5	6,30	99,1
% 100-3	1883,5	6,30	99,0
% 120-1	2256,6	7,80	102,3
% 120-2	2250,4	7,60	100,0
% 120-3	2228,4	7,40	98,3
ORTALAMA			100,7
SS			1,65
% VK			1,63
Güven Aralığı (% 95)			100,7±1,32

Sonuç

Çalışılan numunelerin her birinin % geri kazanımı % 95,0 - % 105,0 arasındadır.

Geri kazanım değerleri arasındaki % VK değeri 1,63'tür.

Yöntemin doğruluk parametresi sağlanmıştır.

Sağlamlık

Analiz koşullarında değişiklik

Analiz koşulları değiştirilerek (pedal hızı) ve çözünme bulguları analiz edilerek yöntemin yapılan değişikliklere karşı dayanıklılığı test edilmiş ve bu çalışmaya ilişkin sonuçlar Tablo 4.15.'de verilmiştir.

Tablo 4.15. Çözünme testi yöntemi kapsamında sağlamlık ve tekrarlanabilirlik testi sonuçlarının karşılaştırılması.

Analiz Adı	Harcanan EDTA V_EDTA, mL	% Çözünme – 4. saat
Tekrarlanabilirlik	5,23	81,8
Pedal Hızı 40 rpm	4,95	77,3
Pedal Hızı 60 rpm	5,35	83,6

Sonuç

Çalışılan numunelerin her birinin sonucu spesifikasyon limitleri dahilindedir.

Çözünme yöntemi pedal hızındaki değişikliklere karşı dayanıklıdır.

Çözelti stabilitesi

Çözünme testi yöntemi kapsamında çözelti stabilitesi çalışmasına ilişkin sonuçlar Tablo 4.16.'da verilmiştir.

Tablo 4.16. Çözünme testi yöntemi kapsamında çözelti stabilitesi çalışmasına ilişkin analiz sonuçları.

Saat	Lantan	
	Harcanan EDTA V_EDTA, mL	% Uyum
Başlangıç	5,20	-
24. saat	5,12	98,5
48. saat	5,01	96,3

Sonuç

Numune çözeltisi oda koşulunda 24 saat stabilitesini korumuştur.

4.3. Lantan Karbonat İçeren Formülasyon Çalışmaları

Uygun formülasyon belirleme çalışmaları kapsamında ilgili yardımcı maddelerin kullanım miktarları değiştirilerek hazırlanmış olan formülasyonların 3 farklı çözünme ortamında elde edilen f2 benzerlik faktörleri Tablo 4.17’de verilmiştir.

Tablo 4.17. Çalışılan formülasyonlara ilişkin 3 farklı çözünme ortamındaki f2 değerleri.

Formülasyonlar	f2		
	pH 1,2	pH 3,0	pH 5,0
FD1	30,90	34,50	25,35
FD2	45,85	46,56	32,23
FD3	44,34	45,20	33,68
FD4	46,87	48,12	36,50
FD5	52,12	48,75	33,76
FD6	68,25	66,54	42,21
FD7	69,32	68,72	45,54
FD8	75,54	74,32	56,45
FD9	83,66	76,67	73,98

Tablo 4.17.’den de görüleceği üzere FD8 ve FD9 formülasyonlarının f2 değerleri her 3 çözünme ortamında da 50’nin üzerinde bulunmuştur. Referans ürüne benzerlik açısından en yüksek f2 değerlerine sahip olan FD9 formülasyonu en uygun formülasyon olarak seçilmiştir. FD9 formülasyonu bu aşamadan sonra Lantan Formülasyonu olarak ifade edilecektir. Uygun formülasyon olarak belirlenen Lantan Formülasyonu’na ilişkin birim formül Tablo 4.18.’de verilmiştir.

Tablo 4.18. Lantan Formülasyonu'na ilişkin birim formül.

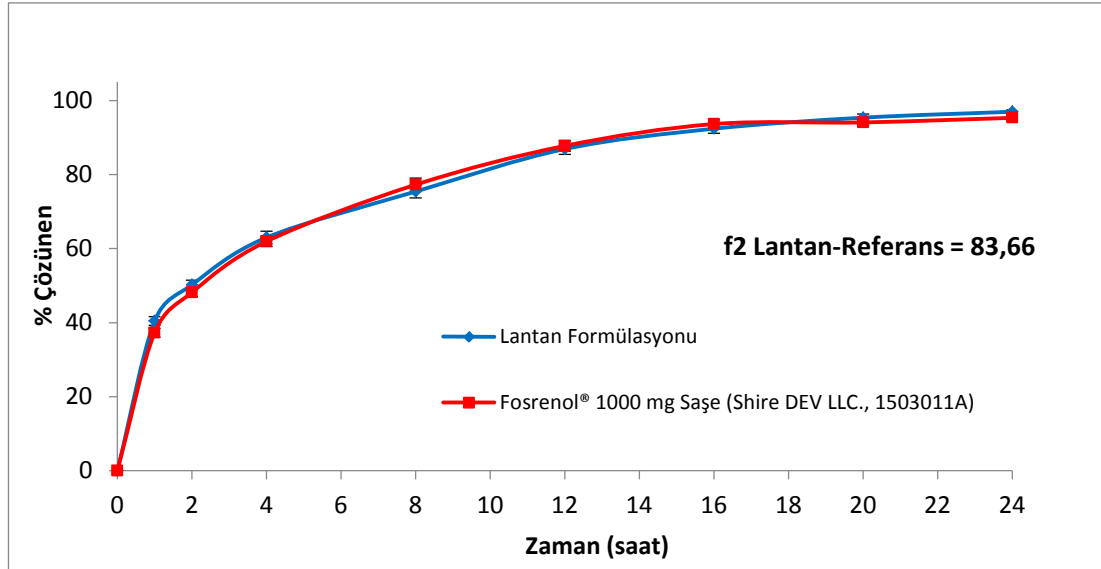
Formülasyon İçeriği (R_x)	g/ Saşe	Oran (%)
Lantan karbonat (4-5 hidrat) *	1,940	65,43
(1000 mg lantan'a eş değer)		
Emdex (Hidrate Dekstrat)	0,818	27,59
Kolloidal silikon dioksit	0,060	2,02
Gliseril distearat	0,058	1,96
Magnezyum stearat	0,089	3,00
Saşe Ağırlığı	2,965	100,00

* Etkin maddenin su içeriği ve miktar tayini hesabına göre gerekli ayarlamalar emdex (hidrate dekstrat) üzerinden yapılır. Ticari olarak bulunmakta olan lantan karbonat 8 hidrat maddesinin etüvde kurutulmasını takiben su içeriği % 14,5 bulunmuştur, etkin maddenin kurutma sonrası formülü etkin madde üzerinden yapılan miktar tayini ve ağırlık kaybından hareketle $La_2(CO_3)_3 \cdot 4,25 H_2O$ 'dur. Bu formül de referans ürün içeriğindeki etkin maddeye[lantan karbonat (4-5 hidrat)] karşılık gelmektedir.

Lantan Formülasyonu'na ilişkin miktar tayini değeri % 98,7±0,49 (n=6) olarak bulunmuştur. Formülasyon tasarımında temel alınmış olan referans ürün Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ile pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri ve çözünme profili Tablo 4.19. ve Şekil 4.6.'da verilmiştir.

Tablo 4.19. Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'nin pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri (n=12).

	Lantan Formülasyonu								Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)							
Saşe	Zamanla % Çözünen								Zamanla % Çözünen							
No	1. sa	2. sa	4. sa	8.sa	12.sa	16.sa	20. sa	24. sa	1. sa	2. sa	4. sa	8.sa	12.sa	16.sa	20. sa	24. sa
1	44,73	54,31	67,09	79,87	89,45	95,84	95,84	99,03	31,95	47,92	63,89	79,87	89,45	95,84	95,84	99,03
2	35,14	47,92	54,31	67,09	79,87	83,06	92,65	99,03	31,95	44,73	60,70	79,87	89,45	95,84	95,84	95,84
3	41,53	51,11	67,09	79,87	89,45	95,84	99,03	95,84	31,95	47,92	60,70	79,87	89,45	95,84	95,84	99,03
4	42,19	46,88	56,25	67,19	82,82	93,76	96,88	97,66	42,19	51,11	73,44	82,82	90,63	92,19	92,98	92,98
5	35,14	47,92	60,70	76,67	92,65	92,65	99,03	95,84	41,53	56,25	67,09	84,38	92,19	92,19	92,19	92,98
6	38,34	47,92	57,50	76,67	89,45	95,84	92,65	99,03	38,34	44,73	60,70	79,87	89,45	99,03	95,84	95,84
7	41,53	51,11	67,09	76,67	79,87	86,26	89,45	95,84	35,14	47,92	60,70	76,67	92,65	92,65	99,03	95,84
8	44,73	54,31	67,09	79,87	89,45	95,84	99,03	95,84	38,34	47,92	57,50	76,67	89,45	95,84	92,65	99,03
9	47,92	60,70	73,48	83,06	89,45	89,45	99,03	99,03	41,16	53,35	64,03	76,22	83,84	91,46	94,51	92,99
10	37,26	48,17	61,95	77,27	87,75	93,64	94,08	95,32	35,06	44,21	57,50	60,98	76,22	85,37	88,42	92,99
11	39,07	48,44	56,25	64,07	79,87	92,65	92,65	95,84	41,16	47,26	56,40	70,12	80,79	88,42	89,94	91,46
12	37,50	43,75	67,09	76,67	92,65	93,76	94,08	95,32	38,34	44,73	60,70	79,87	89,45	99,03	95,84	95,84
ORT	40,42	50,21	62,99	75,41	86,89	92,38	95,37	96,97	37,26	48,17	61,95	77,27	87,75	93,64	94,08	95,32
VK	9,99	8,93	9,5	7,93	5,64	4,46	3,41	1,68	10,56	7,74	7,62	8,12	5,60	4,36	3,14	2,81

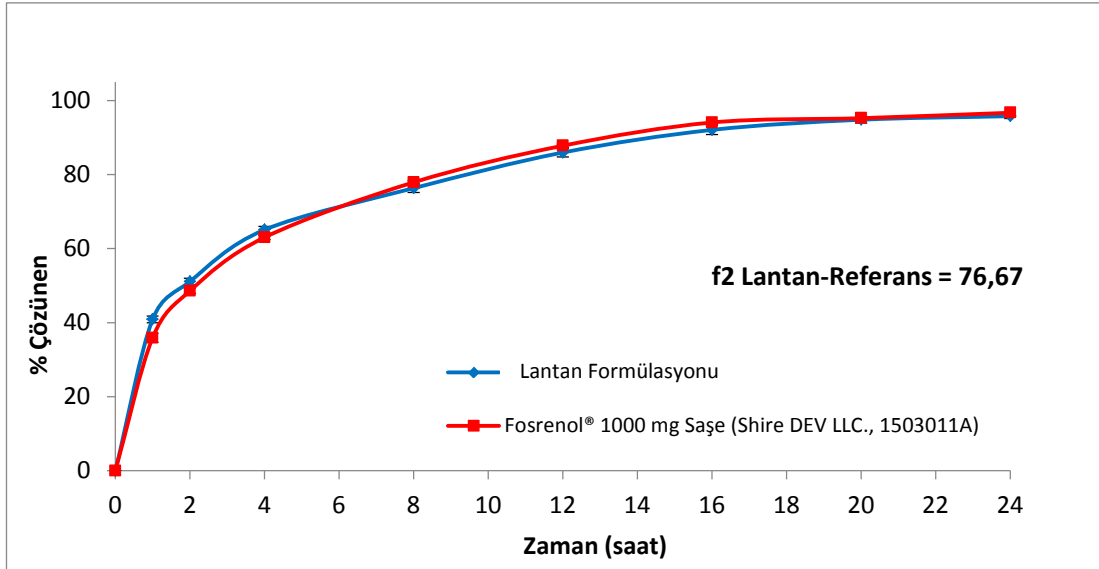


Şekil 4.6. Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'nin pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki karşılaştırmalı çözünme profili (ortalama±SH, n=12).

Lantan Formülasyonu'nun formül tasarımında temel alınmış olan referans ürün Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ile pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri ve çözünme profili Tablo 4.20. ve Şekil 4.7.'de verilmiştir.

Tablo 4.20. Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)‘nin pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri (n=12).

	Lantan Formülasyonu								Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)							
Saşe No	Zamanla % Çözünen								Zamanla % Çözünen							
	1. sa	2. sa	4. sa	8.sa	12.sa	16.sa	20. sa	24. sa	1. sa	2. sa	4. sa	8.sa	12.sa	16.sa	20. sa	24. sa
1	44,73	54,31	67,09	79,87	89,45	95,84	95,84	99,03	31,95	47,92	63,89	79,87	89,45	95,84	95,84	99,03
2	35,06	44,21	61,95	67,09	79,87	83,06	92,65	99,03	31,95	44,73	60,70	79,87	89,45	95,84	95,84	95,84
3	37,26	48,17	61,95	77,27	87,75	93,64	94,08	95,32	37,23	49,53	64,26	78,43	87,98	94,18	95,44	97,00
4	43,66	53,24	67,09	79,87	89,45	95,84	97,97	96,90	31,95	46,86	61,76	79,87	89,45	95,84	95,84	97,97
5	41,16	53,35	64,03	76,22	83,84	91,46	94,51	92,99	37,26	48,17	61,95	77,27	87,75	93,64	94,08	95,32
6	40,47	51,11	66,02	79,87	91,58	95,84	96,90	97,97	40,42	50,21	62,99	75,41	86,89	92,38	95,37	96,97
7	41,53	51,11	67,09	77,27	89,45	95,84	99,03	95,84	29,82	43,66	59,63	75,61	85,19	92,65	93,71	96,97
8	44,73	54,31	67,09	79,87	89,45	95,84	99,03	95,84	41,05	51,86	65,71	77,79	88,29	94,38	96,81	95,60
9	40,85	50,21	68,75	77,35	84,38	90,63	92,19	92,99	38,69	50,46	64,78	77,48	87,13	93,27	94,99	96,08
10	43,25	54,35	66,02	76,22	83,84	91,46	94,51	95,84	37,79	49,87	64,37	77,41	86,56	92,97	94,67	95,81
11	40,85	51,11	66,41	70,32	79,69	85,94	89,07	92,19	31,95	47,92	60,70	79,87	89,45	95,84	95,84	99,03
12	37,26	47,92	57,50	74,63	82,64	89,35	91,92	95,32	40,88	51,86	65,54	76,05	85,85	91,91	94,32	94,69
ORT	40,90	51,12	65,08	76,32	85,95	92,06	94,81	95,77	35,91	48,59	63,02	77,91	87,79	94,06	95,23	96,69
VK	7,51	6,12	4,89	5,26	4,74	4,66	3,25	2,36	11,46	5,31	3,24	2,17	1,70	1,58	0,94	1,46

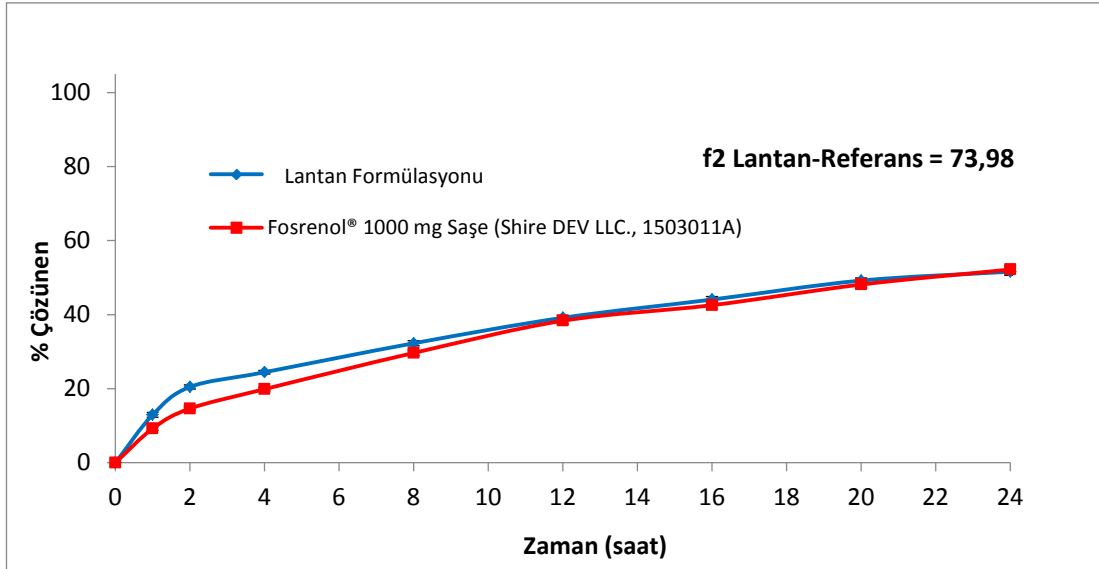


Şekil 4.7. Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'nin pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme profili (ortalama $\pm$ SH, n=12).

Lantan Formülasyonu'nun formül tasarımında temel alınmış olan referans ürün Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ile pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri ve çözünme profili Tablo 4.21. ve Şekil 4.8.'de verilmiştir.

Tablo 4.21. Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'nin pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri (n=12).

Saşe No	Lantan Formülasyonu								Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)							
	Zamanla % Çözünen								Zamanla % Çözünen							
	1. sa	2. sa	4. sa	8.sa	12.sa	16.sa	20. sa	24. sa	1. sa	2. sa	4. sa	8.sa	12.sa	16.sa	20. sa	24. sa
1	12,92	19,39	22,62	29,08	35,54	38,77	45,24	45,24	9,69	14,45	19,39	29,08	38,77	45,24	51,70	54,93
2	16,16	22,62	25,85	35,54	38,77	45,24	51,70	54,93	9,69	14,00	16,16	25,85	38,77	42,01	45,24	45,24
3	12,92	22,62	25,85	32,31	38,77	42,01	48,47	51,70	6,46	12,92	20,04	32,31	38,77	45,24	48,47	51,70
4	14,00	21,54	24,77	32,31	37,70	42,01	48,47	50,62	8,62	13,45	18,85	29,08	38,77	44,16	48,47	50,62
5	8,62	17,65	24,77	29,08	38,77	44,16	48,47	50,62	11,15	16,89	19,86	32,31	37,70	42,01	48,47	50,62
6	10,95	17,65	23,47	35,54	38,77	45,24	51,70	54,93	7,65	13,45	20,18	26,45	37,70	39,07	48,44	56,25
7	14,00	21,54	25,85	34,12	40,14	47,65	50,86	54,93	10,95	14,45	18,28	29,08	44,16	47,65	50,86	54,93
8	16,16	22,62	25,85	32,31	38,77	42,01	48,47	50,62	8,62	12,92	19,39	25,85	34,38	39,85	44,53	50,00
9	12,92	19,39	22,62	32,31	37,70	42,01	48,47	50,62	9,69	15,85	22,12	32,28	39,16	45,24	50,62	55,47
10	9,69	18,28	22,31	29,08	38,77	47,65	51,70	54,93	11,15	16,89	22,62	32,31	34,38	36,98	44,01	50,00
11	13,08	19,84	23,13	31,50	42,11	43,75	45,24	45,24	6,46	14,56	20,25	32,31	43,56	45,84	53,13	57,43
12	14,00	22,62	26,45	34,12	44,16	48,47	51,70	54,93	10,95	15,85	21,54	29,08	34,12	37,50	43,75	49,22
ORT	12,95	20,48	24,46	32,28	39,16	44,08	49,21	51,61	9,26	14,64	19,89	29,67	38,35	42,57	48,14	52,20
VK	17,62	9,79	6,29	7,20	5,60	6,59	4,82	6,92	18,57	9,72	8,77	8,84	8,34	8,31	6,55	6,87



Şekil 4.8. Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'nin pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme profili (ortalama±SH, n=12).

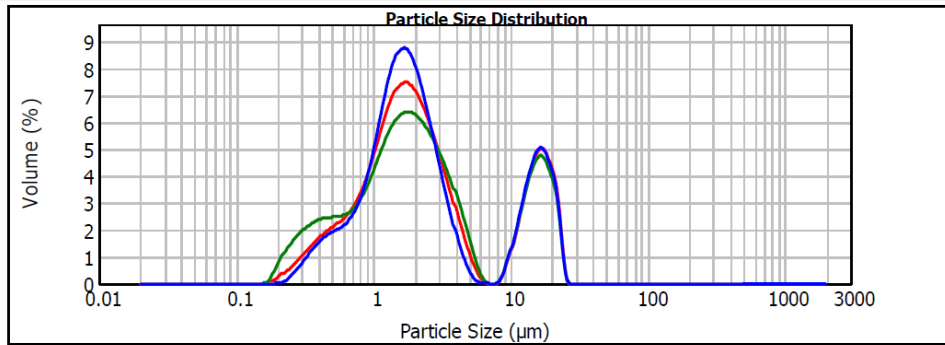
SM/M Formülasyonlarının Hazırlanması ve Karakterizasyon Çalışmaları

Uygun formülasyon olan Lantan Formülasyonu'nun belirlenmesinin ardından bilyalı değirmen yönteminde farklı hızlar (rpm'ler) ve farklı işlem süreleri uygulanarak elde edilen etkin maddeler üzerinden gerçekleştirilen partikül büyüklüğü dağılımları sonuçları Tablo 4.22.'de yer almaktadır.

Tablo 4.22. Bilyalı değirmen yöntemi sonrası elde edilen etkin maddelerin partikül büyüklüğü dağılımı sonuçları (ortalama $\pm$ SS, n=3).

Denemeler	Partikül Büyüklüğü Dağılımı (μ m)		
	d_{10}	d_{50}	d_{90}
BDD1	3,105 $\pm$ 0,045	24,695 $\pm$ 1,220	93,792 $\pm$ 5,203
BDD2	4,897 $\pm$ 0,024	19,623 $\pm$ 0,986	73,965 $\pm$ 3,456
BDD3	4,731 $\pm$ 0,032	14,790 $\pm$ 0,456	47,586 $\pm$ 2,325
BDD4	2,530 $\pm$ 0,025	6,374 $\pm$ 0,189	32,233 $\pm$ 2,454
BDD5	2,538 $\pm$ 0,030	6,883 $\pm$ 0,205	44,491 $\pm$ 1,805
BDD6	0,985 $\pm$ 0,034	4,154 $\pm$ 0,103	22,351 $\pm$ 0,596
BDD7	1,180 $\pm$ 0,027	2,645 $\pm$ 0,075	19,458 $\pm$ 0,364
BDD8	0,692$\pm$0,058	1,890$\pm$0,082	16,563$\pm$0,234
BDD9	Agregasyon sonucu partikül büyüklüğü dağılımı ölçülememiştir.		
BDD10	BDD9 formülasyonunda olduğu gibi agregasyon sonucu partikül büyüklüğü dağılımı ölçülememiştir.		

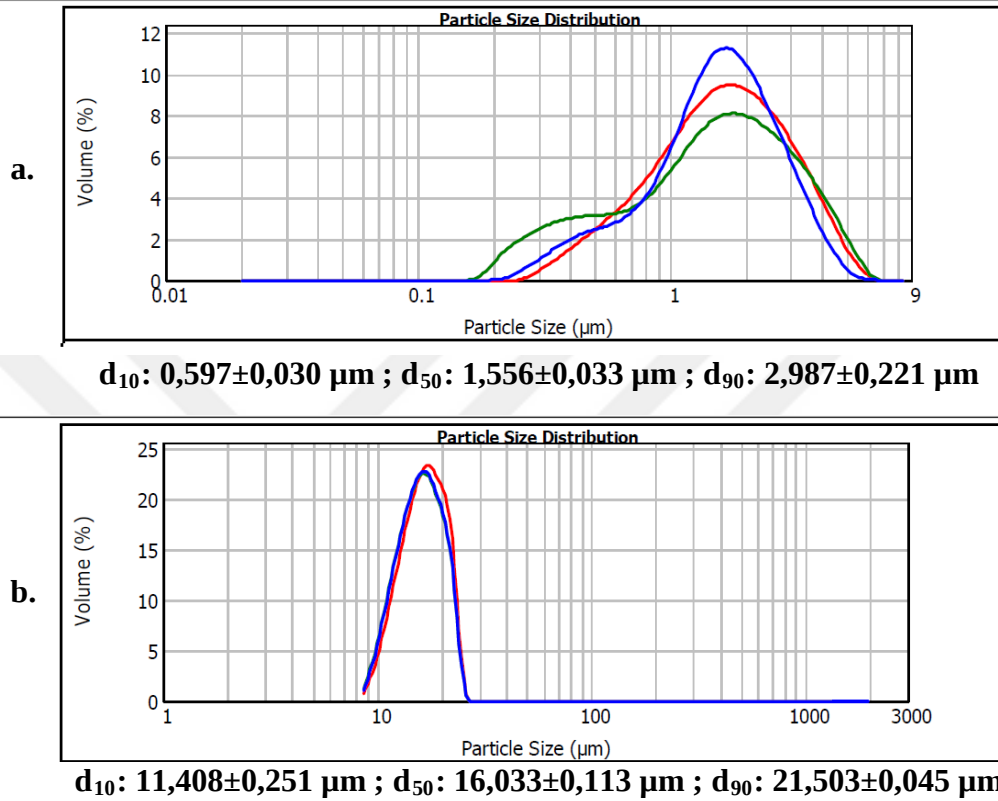
Tablo 4.22.'deki verilere göre BDD8 kodlu deneme çalışması sonucunda lantan karbonat etkin maddesinin partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenmiş olup ilgili partikül büyüklüğü dağılım grafiği Şekil 4.9.'da verilmiştir.



d_{10} : 0,692 $\pm$ 0,058 μ m ; d_{50} : 1,890 $\pm$ 0,082 μ m ; d_{90} : 16,563 $\pm$ 0,234 μ m

Şekil 4.9. Bilyalı değirmen yöntemiyle partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen lantan karbonat etkin maddesi partikül büyüklüğü dağılımı sonuçları (ortalama $\pm$ SS, n=3).

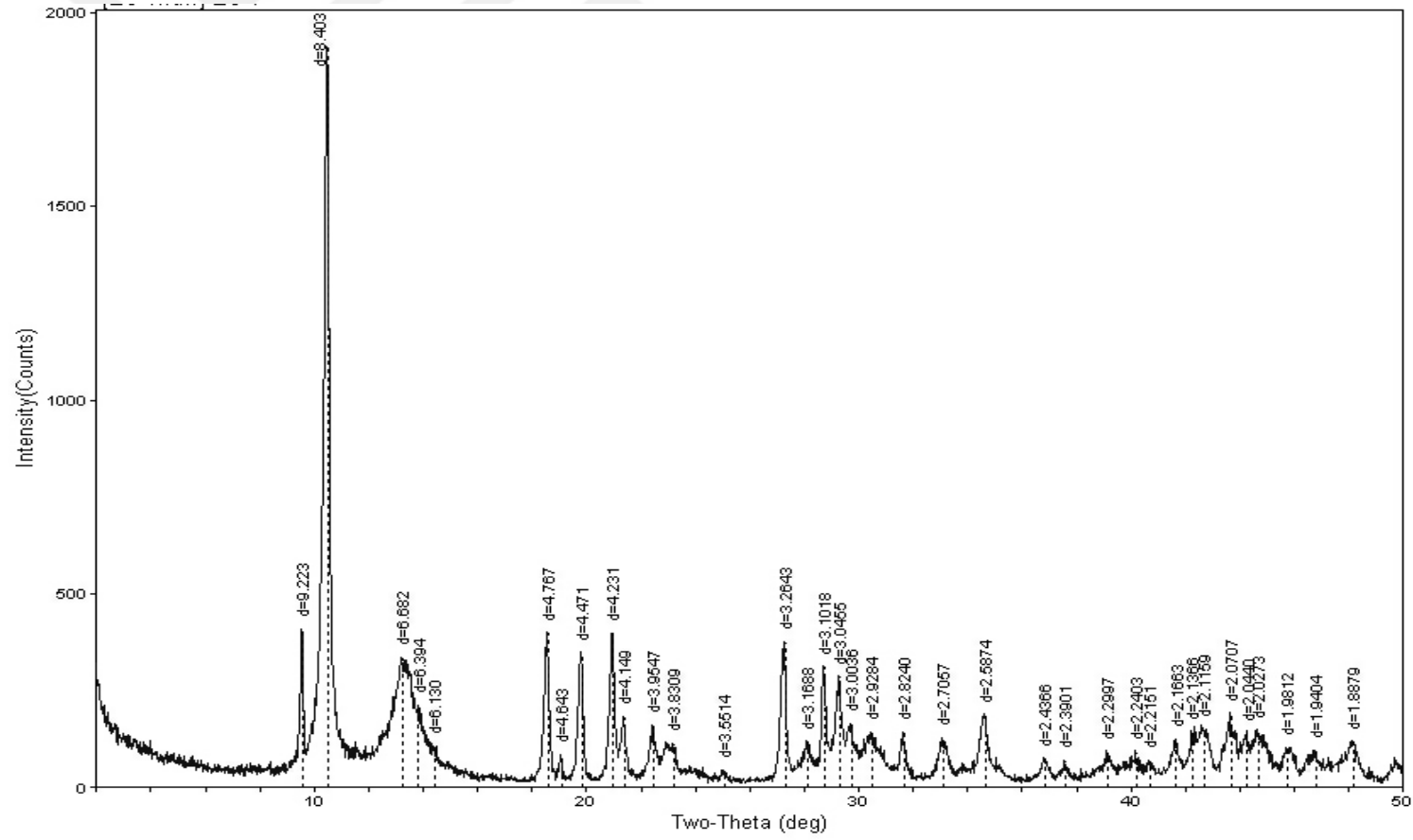
Lantan karbonat etkin maddesi bilyalı değirmen ile öğütme işlemi sonrasında da Şekil 4.9.'dan da görüldüğü üzere benzer şekilde bimodal partikül büyüklüğü dağılımı sergilemiştir. Bimodal dağılım kendi içinde incelendiği zaman Şekil 4.10.'daki gibi iki ayrı partikül büyüklüğü dağılımı ortaya çıkmaktadır.



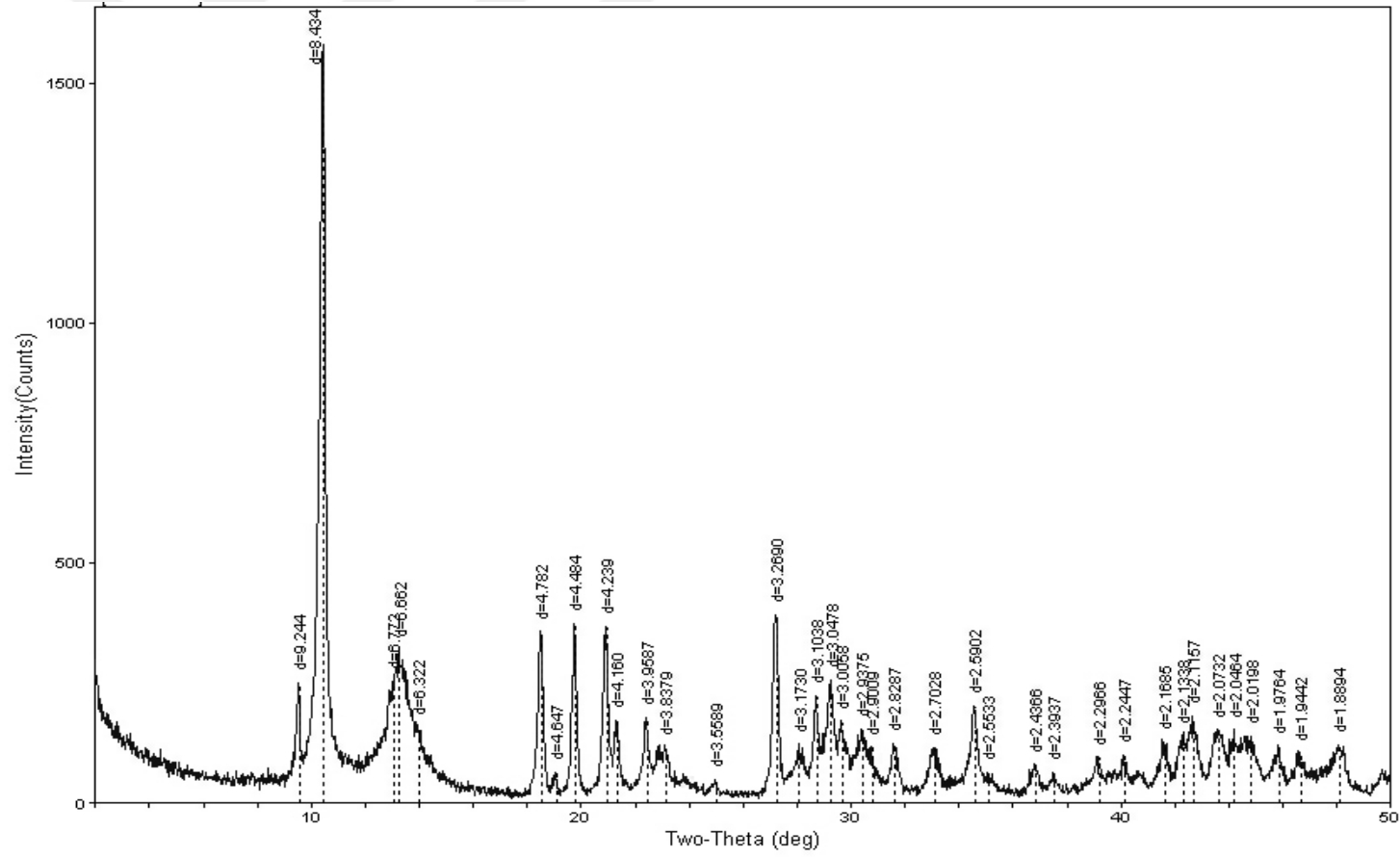
Şekil 4.10. Bilyalı değirmen ile öğütme işlemi sonrası bimodal partikül büyüklüğü dağılımı gösteren lantan karbonat etkin maddesinin birinci (a.) ve ikinci (b.) partikül büyüklüğü dağılımı sonuçları (ortalama±SS, n=3).

Bilyalı değirmen yöntemi ile partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen etkin madde ve işlem görmemiş etkin madde üzerinden ilgili karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar kapsamında;

XRD analizi ile elde edilen difraktogramlar Şekil 4.11. ve Şekil 4.12.'de verilmiştir.

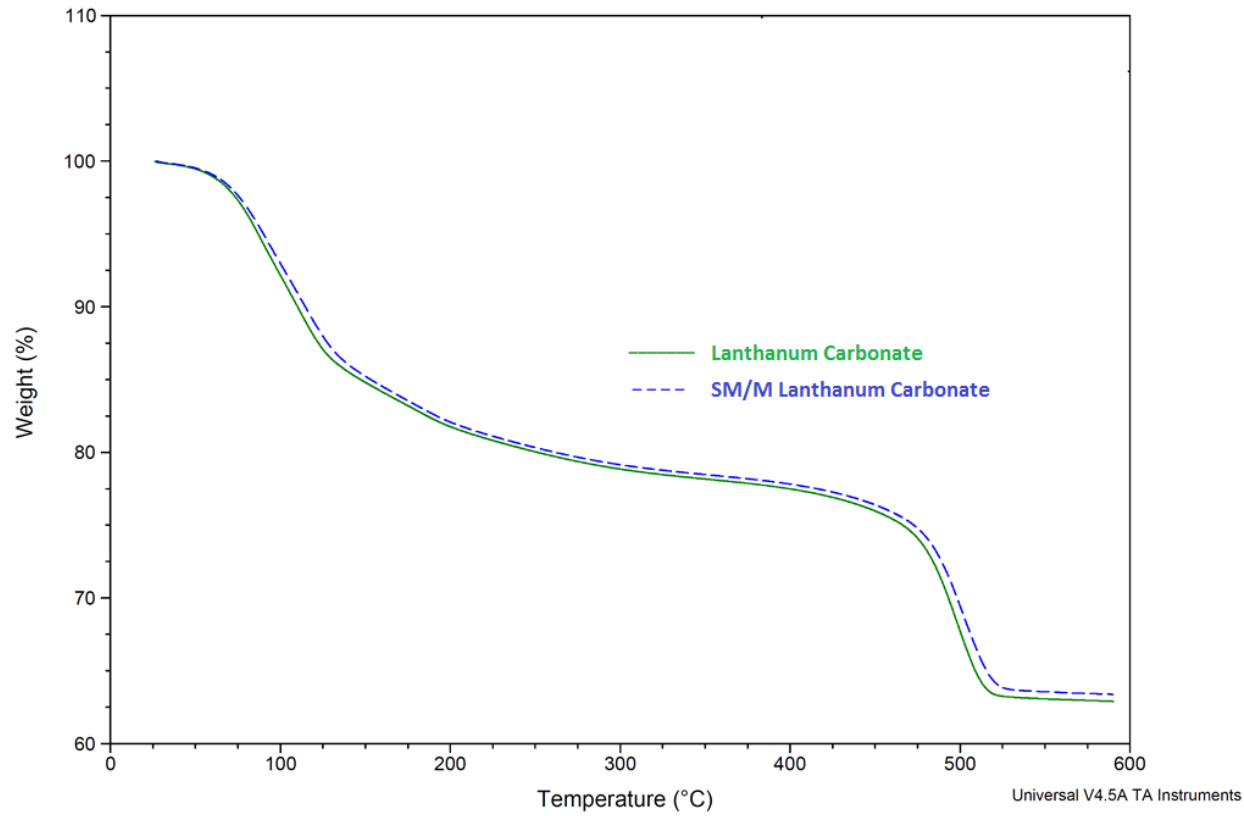


Şekil 4.11. İşlem görmemiş lantan karbonat etkin maddesinin XRD difraktogramı.

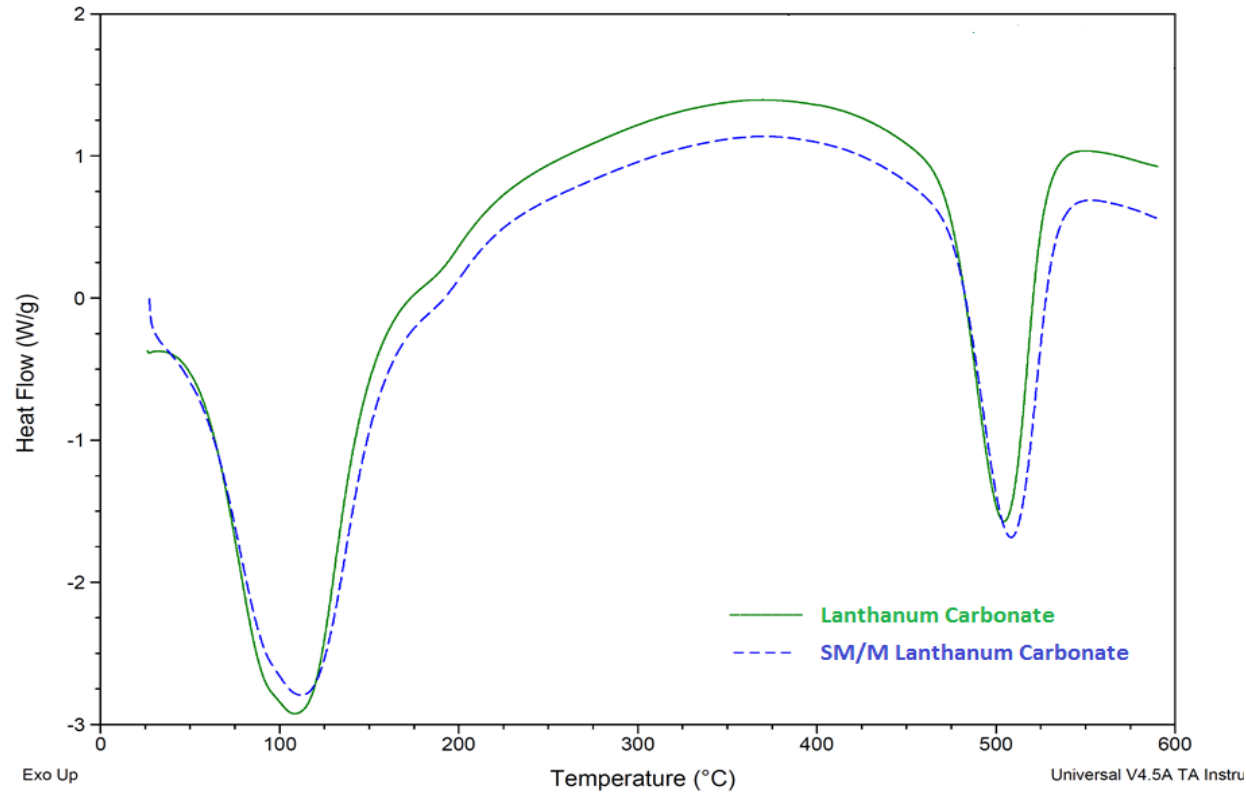


Şekil 4.12. Partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen lantan karbonat etkin maddesinin XRD difraktogramı.

TGA ve DSC analizleri ile elde edilen termogramlar Şekil 4.13. ve Şekil 4.14.'de verilmiştir.



Şekil 4.13. Partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen lantan karbonat etkin maddesi ve işlem görmemiş lantan karbonat etkin maddesinin TGA termogramları.



Şekil 4.14. Partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen lantan karbonat etkin maddesi ve işlem görmemiş lantan karbonat etkin maddesinin DSC termogramları.

Öğütme işlemi sonrası etkin maddenin çözünürlüğünün değişip değişmediğine yönelik FDA tarafından belirtilmiş olan çözünme ortamlarında (pH 1,2, pH 3,0 ve pH 5,0) ve suda yapılan çözünürlük testi sonuçları Tablo 4.23.'de görülmektedir.

Tablo 4.23. Partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen lantan karbonat etkin maddesinin pH 1,2; pH 3,0; pH 5,0 ve suda yapılan çözünürlük testi sonuçları (ortalama $\pm$ SS, n=3).

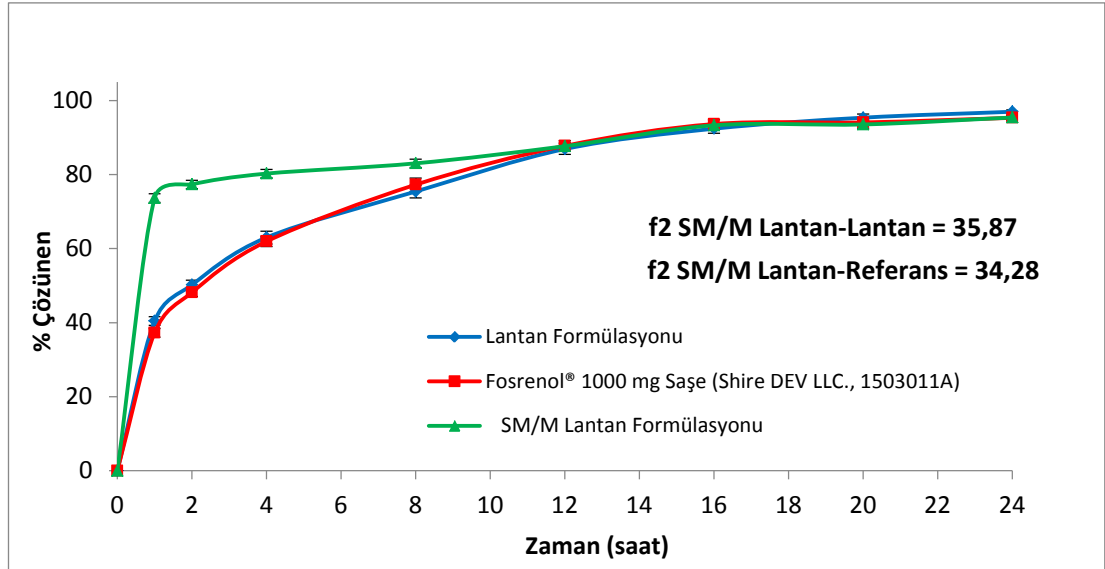
Zaman (saat)	Çözünürlük değerleri (mg/mL)			
	pH 1,2	pH 3,0	pH 5,0	Su
6	5,02 $\pm$ 0,004	1,97 $\pm$ 0,003	0,81 $\pm$ 0,007	Pratik olarak çözünmez.
24	5,03 $\pm$ 0,002	1,98 $\pm$ 0,005	0,78 $\pm$ 0,01	Pratik olarak çözünmez.

Bu aşamadan sonra bilyalı değirmen yöntemi ile partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen BDD8 kodlu lantan karbonat etkin maddesinden hareketle uygun formülasyon için belirlenmiş olan birim formül ve üretim akış yönteminin aynısı uygulanarak SM/M Lantan Formülasyonu hazırlanmıştır.

SM/M Lantan Formülasyonuna ilişkin miktar tayini değeri % 98,2 $\pm$ 0,88 (n=6) bulunmuştur. Lantan Formülasyonu ile SM/M Lantan Formülasyonu'nun pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri ve çözünme profili Tablo 4.24. ve Şekil 4.15.'da verilmiştir.

Tablo 4.24. SM/M Lantan Formülasyonu ve Lantan Formülasyonu'nun pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri (n=12).

Saşe No	SM/M Lantan Formülasyonu								Lantan Formülasyonu							
	Zamanla % Çözünen								Zamanla % Çözünen							
	1. sa	2. sa	4. sa	8.sa	12.sa	16.sa	20. sa	24. sa	1. sa	2. sa	4. sa	8.sa	12.sa	16.sa	20. sa	24. sa
1	79,87	83,06	83,06	86,26	89,45	92,65	92,65	92,65	44,73	54,31	67,09	79,87	89,45	95,84	95,84	99,03
2	74,76	78,59	81,78	84,34	88,81	93,92	94,56	95,20	35,14	47,92	54,31	67,09	79,87	83,06	92,65	99,03
3	67,09	70,28	70,28	73,48	79,87	89,45	86,26	95,84	41,53	51,11	67,09	79,87	89,45	95,84	99,03	95,84
4	73,66	77,36	80,27	83,03	87,66	93,29	93,53	95,41	42,19	46,88	56,25	67,19	82,82	93,76	96,88	97,66
5	73,48	79,87	86,26	89,45	92,65	95,84	99,03	99,03	35,14	47,92	60,70	76,67	92,65	92,65	99,03	95,84
6	73,48	79,87	83,06	83,06	89,45	95,84	95,84	95,84	38,34	47,92	57,50	76,67	89,45	95,84	92,65	99,03
7	73,48	77,21	79,87	82,53	87,32	93,18	93,18	95,31	41,53	51,11	67,09	76,67	79,87	86,26	89,45	95,84
8	77,07	79,67	81,07	84,06	87,86	92,05	92,25	94,05	44,73	54,31	67,09	79,87	89,45	95,84	99,03	95,84
9	73,80	77,15	79,55	82,58	86,90	92,17	92,33	95,68	47,92	60,70	73,48	83,06	89,45	89,45	99,03	99,03
10	67,09	70,28	76,67	79,87	86,26	95,84	95,84	95,84	37,26	48,17	61,95	77,27	87,75	93,64	94,08	95,32
11	79,87	79,87	79,87	83,06	86,26	89,45	89,45	92,65	39,07	48,44	56,25	64,07	79,87	92,65	92,65	95,84
12	70,29	75,08	81,47	84,66	89,46	95,84	97,44	97,44	37,50	43,75	67,09	76,67	92,65	93,76	94,08	95,32
ORT	73,66	77,36	80,27	83,03	87,66	93,29	93,53	95,41	40,42	50,21	62,99	75,41	86,89	92,38	95,37	96,97
VK	5,61	4,99	4,89	4,57	3,46	2,49	3,69	1,87	9,99	8,93	9,53	7,93	5,64	4,46	3,41	1,68

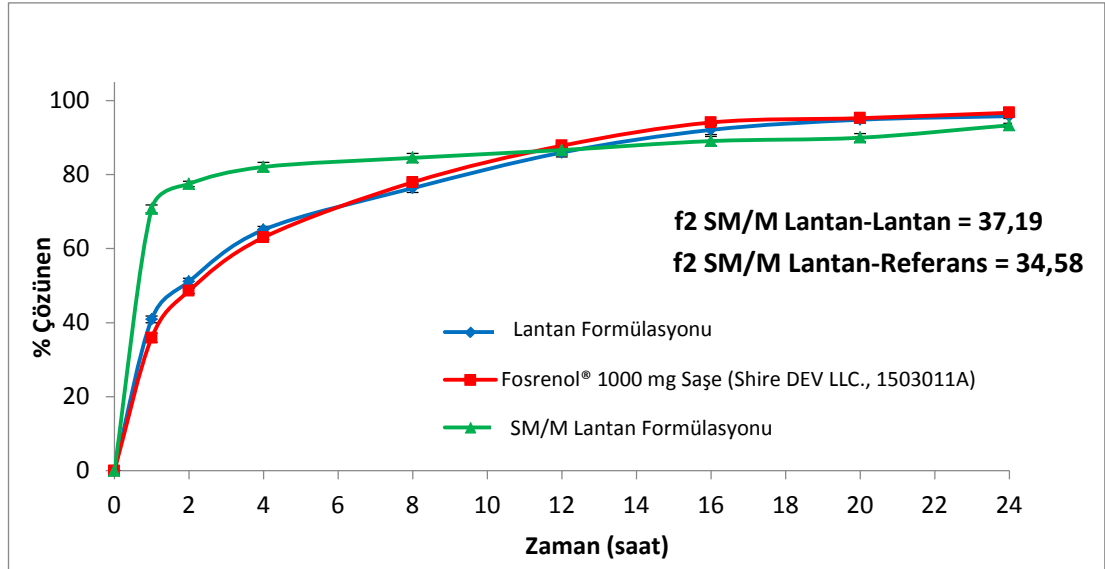


Şekil 4.15. Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu ‘nun pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki karşılaştırmalı çözünme profilleri (ortalama±SH, n=12).

Lantan Formülasyonu ile SM/M Lantan Formülasyonu’nun pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri ve çözünme profili Tablo 4.25. ve Şekil 4.16.’da verilmiştir.

Tablo 4.25. SM/M Lantan Formülasyonu ve Lantan Formülasyonu'nun pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri (n=12).

Saçe No	SM/M Lantan Formülasyonu								Lantan Formülasyonu							
	Zamanla % Çözünen								Zamanla % Çözünen							
	1. sa	2. sa	4. sa	8.sa	12.sa	16.sa	20. sa	24. sa	1. sa	2. sa	4. sa	8.sa	12.sa	16.sa	20. sa	24. sa
1	71,10	78,13	79,69	82,04	82,82	85,16	85,94	88,95	44,73	54,31	67,09	79,87	89,45	95,84	95,84	99,03
2	72,66	78,13	82,82	83,60	85,16	86,73	87,51	92,65	35,06	44,21	61,95	67,09	79,87	83,06	92,65	99,03
3	73,44	78,91	84,38	85,16	85,94	86,73	87,51	94,05	37,26	48,17	61,95	77,27	87,75	93,64	94,08	95,32
4	72,40	78,39	82,30	83,60	84,64	86,20	86,99	92,65	43,66	53,24	67,09	79,87	89,45	95,84	97,97	96,90
5	66,41	70,32	73,44	79,69	85,94	89,07	92,19	95,32	41,16	53,35	64,03	76,22	83,84	91,46	94,51	92,99
6	71,20	76,78	80,53	82,82	84,90	86,78	88,03	92,72	40,47	51,11	66,02	79,87	91,58	95,84	96,90	97,97
7	72,10	77,99	81,85	83,40	84,71	86,35	87,25	92,09	41,53	51,11	67,09	77,27	89,45	95,84	99,03	95,84
8	70,32	75,79	79,17	82,30	84,90	86,99	88,55	92,77	44,73	54,31	67,09	79,87	89,45	95,84	99,03	95,84
9	71,98	77,87	81,67	83,34	84,69	86,36	87,30	92,21	40,85	50,21	68,75	77,35	84,38	90,63	92,19	92,99
10	77,07	79,67	81,07	82,53	87,32	95,84	95,84	95,84	43,25	54,35	66,02	76,22	83,84	91,46	94,51	95,84
11	65,71	77,79	88,29	92,65	93,71	96,97	95,32	95,84	40,85	51,11	66,41	70,32	79,69	85,94	89,07	92,19
12	63,89	79,87	89,45	92,97	94,67	95,37	96,97	94,55	37,26	47,92	57,50	74,63	82,64	89,35	91,92	95,32
ORT	70,69	77,47	82,06	84,51	86,62	89,04	89,95	93,30	40,90	51,12	65,08	76,32	85,95	92,06	94,81	95,77
VK	5,20	3,24	5,08	4,83	4,27	4,87	4,43	2,10	7,51	6,12	4,89	5,26	4,74	4,66	3,25	2,36

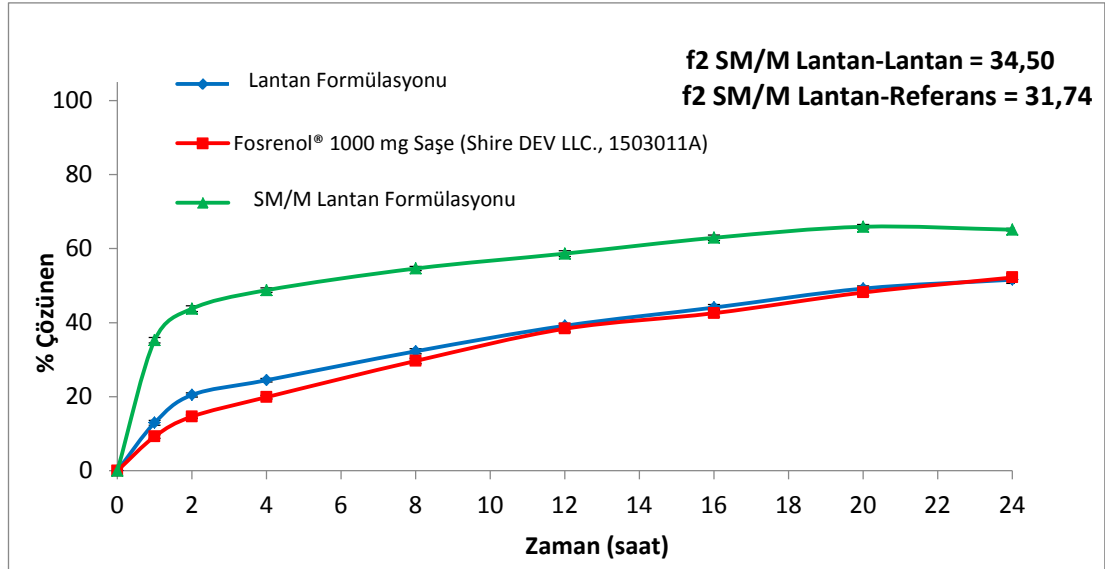


Şekil 4.16. Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu ‘nun pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme profilleri (ortalama $\pm$ SH, n=12).

Lantan Formülasyonu ile SM/M Lantan Formülasyonu’nun pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri ve çözünme profili Tablo 4.26. ve Şekil 4.17.’de verilmiştir.

Tablo 4.26. SM/M Lantan Formülasyonu ve Lantan Formülasyonu'nun pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme verileri (n=12).

Saçe No	SM/M Lantan Formülasyonu								Lantan Formülasyonu							
	Zamanla % Çözünen								Zamanla % Çözünen							
	1. sa	2. sa	4. sa	8.sa	12.sa	16.sa	20. sa	24. sa	1. sa	2. sa	4. sa	8.sa	12.sa	16.sa	20. sa	24. sa
1	37,50	43,75	49,22	55,47	62,50	65,63	67,97	65,71	12,92	19,39	22,62	29,08	35,54	38,77	45,24	45,24
2	35,37	44,18	49,03	55,41	57,66	61,87	65,59	64,93	16,16	22,62	25,85	35,54	38,77	45,24	51,70	54,93
3	36,98	44,01	50,00	56,77	62,76	66,93	69,28	67,09	12,92	22,62	25,85	32,31	38,77	42,01	48,47	51,70
4	32,31	50,00	53,13	53,13	55,45	59,38	62,50	62,50	14,00	21,54	24,77	32,31	37,70	42,01	48,47	50,62
5	28,76	39,56	45,45	55,56	58,56	62,83	65,88	65,10	8,62	17,65	24,77	29,08	38,77	44,16	48,47	50,62
6	36,04	43,00	48,25	54,66	59,36	63,79	66,33	65,49	10,95	17,65	23,47	35,54	38,77	45,24	51,70	54,93
7	38,77	44,16	48,47	50,62	57,49	61,66	64,98	64,57	14,00	21,54	25,85	34,12	40,14	47,65	50,86	54,93
8	35,55	44,16	49,14	55,56	58,23	62,44	66,00	65,17	16,16	22,62	25,85	32,31	38,77	42,01	48,47	50,62
9	36,98	44,01	50,00	56,77	62,76	66,93	69,28	67,09	12,92	19,39	22,62	32,31	37,70	42,01	48,47	50,62
10	34,38	39,85	44,53	50,78	54,69	60,94	62,50	64,26	9,69	18,28	22,31	29,08	38,77	47,65	51,70	54,93
11	35,10	44,20	48,87	55,18	56,81	61,03	64,98	64,57	13,08	19,84	23,13	31,50	42,11	43,75	45,24	45,24
12	35,29	44,40	49,22	55,60	57,49	61,66	65,56	64,89	14,00	22,62	26,45	34,12	44,16	48,47	51,70	54,93
ORT	35,25	43,77	48,78	54,63	58,65	62,92	65,90	65,11	12,95	20,48	24,46	32,28	39,16	44,08	49,21	51,61
VK	7,4	5,91	4,46	3,77	4,67	3,86	3,31	1,88	17,62	9,79	6,29	7,20	5,60	6,59	4,82	6,92



Şekil 4.17. Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu ‘nun pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki karşılaştırmalı çözünme profilleri (ortalama±SH, n=12).

4.4. Stabilite Çalışmaları

Hızlandırılmış saklama koşulları olan 40°C±2°C/% 75±% 5 bağıl nem (RH) ve uzun süreli saklama koşulları olan 25°C±2°C/% 60±% 5 bağıl nem (RH) ortamında Lantan Formülasyonu ve SM/M Lantan Formülasyonu’na ilişkin başlangıç anında, 1. ay ve 3. ay sonunda ilgili stabilite sonuçları Tablo 4.27. ve Tablo 4.28.’de verilmiştir.

Tablo 4.27. Hızlandırılmış stabilite çalışmaları [$40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}/\% 75\pm\% 5$ bağıl nem (RH)] kapsamındaki formülasyonlara ilişkin stabilite sonuçları.

Test Tanımı	Spesifikasyonlar	Lantan Formülasyonu			SM/M Lantan Formülasyonu		
		Başlangıç	1. ay	3. ay	Başlangıç	1. ay	3. ay
Görünüş	Beyaz-krem renkli toz	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
% Su içeriği (ortalama $\pm$ SS, n=3) (Karl Fischer)	Maksimum % 5,00	% 3,51 $\pm$ 0,04	% 3,34 $\pm$ 0,07	% 3,42 $\pm$ 0,05	% 3,04 $\pm$ 0,02	% 3,23 $\pm$ 0,08	% 3,17 $\pm$ 0,06
Miktar Tayini (ortalama $\pm$ SS, n=6) - Lantan karbonat	% 95,0-105,0	% 98,7 $\pm$ 0,49	% 98,3 $\pm$ 0,34	% 98,4 $\pm$ 0,56	% 98,2 $\pm$ 0,88	% 97,6 $\pm$ 0,65	% 95,8 $\pm$ 0,72
Çözünme Testi (ortalama $\pm$ SS, n=6) (900 mL, 0,1 N HCl, 50 rpm, Pedal)	4. saat sonunda min. % 50,0	% 62,99 $\pm$ 6,00	% 61,95 $\pm$ 4,72	% 57,45 $\pm$ 4,80	% 80,27 $\pm$ 3,92	% 82,06 $\pm$ 4,17	% 77,68 $\pm$ 3,85
	24. saat sonunda min.% 85,0	% 96,97 $\pm$ 1,63	% 95,32 $\pm$ 0,89	% 91,98 $\pm$ 2,26	% 95,41 $\pm$ 1,78	% 95,84 $\pm$ 1,12	% 91,24 $\pm$ 1,20

Tablo 4.28. Uzun süreli stabilite çalışmaları [$25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}/\% 60\pm\% 5$ bağıl nem (RH)] kapsamındaki formülasyonlara ilişkin stabilite sonuçları.

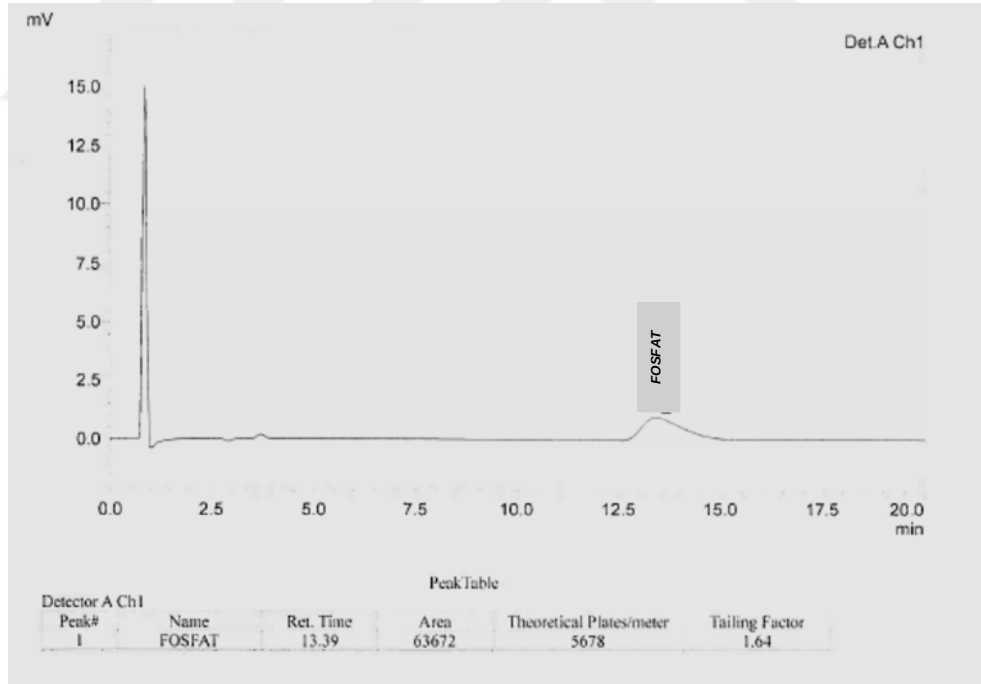
Test Tanımı	Spesifikasyonlar	Lantan Formülasyonu			SM/M Lantan Formülasyonu		
		Başlangıç	1. ay	3. ay	Başlangıç	1. ay	3. ay
Görünüş	Beyaz-krem renkli toz	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
% Su içeriği (ortalama $\pm$ SS, n=3) (Karl Fischer)	Maksimum % 5,00	% 3,51 $\pm$ 0,04	3,32 $\pm$ 0,03	3,37 $\pm$ 0,06	% 3,04 $\pm$ 0,02	3,11 $\pm$ 0,02	3,19 $\pm$ 0,03
Miktar Tayini (ortalama $\pm$ SS, n=6) - Lantan karbonat	% 95,0-105,0	% 98,7 $\pm$ 0,49	% 98,5 $\pm$ 0,27	% 98,1 $\pm$ 0,35	% 98,2 $\pm$ 0,88	% 97,9 $\pm$ 0,60	% 97,8 $\pm$ 0,42
Çözünme Testi (ortalama $\pm$ SS, n=6) (900 mL, 0,1 N HCl, 50 rpm, Pedal)	4. saat sonunda min. % 50,0	% 62,99 $\pm$ 6,00	% 60,55 $\pm$ 3,56	% 59,35 $\pm$ 3,20	% 80,27 $\pm$ 3,92	% 80,66 $\pm$ 3,37	% 80,12 $\pm$ 2,90
	24. saat sonunda min.% 85,0	% 96,97 $\pm$ 1,63	% 97,12 $\pm$ 0,49	% 95,87 $\pm$ 2,21	% 95,41 $\pm$ 1,78	% 96,20 $\pm$ 1,74	% 94,44 $\pm$ 1,40

4.5. Fosfat Bağlama Çalışmaları

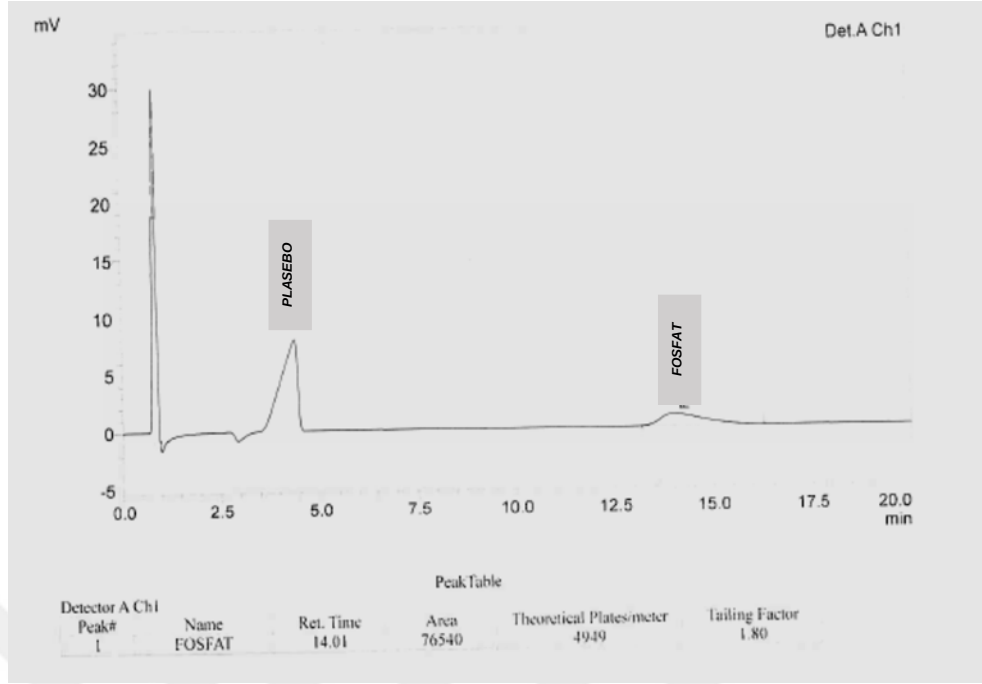
4.5.1. Kinetik Bağlama Çalışmaları

Kinetik bağlama çalışmalarının amacı maksimum fosfat bağlama denge tepkimesi için gereken zamanı ve optimum bağlanma hızını tespit etmektir. Buna yönelik olarak da Lantan Formülasyonu ve referans ürün olan Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) kullanılmıştır. Bilyalı değirmen yöntemiyle partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen Lantan karbonat içeren etkin maddeden hareketle hazırlanan SM/M Lantan Formülasyonu'nda da kinetik bağlama ve denge bağlama çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

İlgili çalışmalar kapsamında bağlanmadan çözeltide kalan fosfat miktarlarının tayini iyon kromatografisi ile analiz edilmiştir. Bölüm 3.7.'de belirtilmiş olan iyon kromatografi analiz koşullarında elde edilen standart ve numune çözeltilerine ilişkin kromatogramlar Şekil 4.18. ve Şekil 4.19.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.18. Fosfat bağlama çalışmalarında kullanılan standart çözeltisine ilişkin kromatogram.

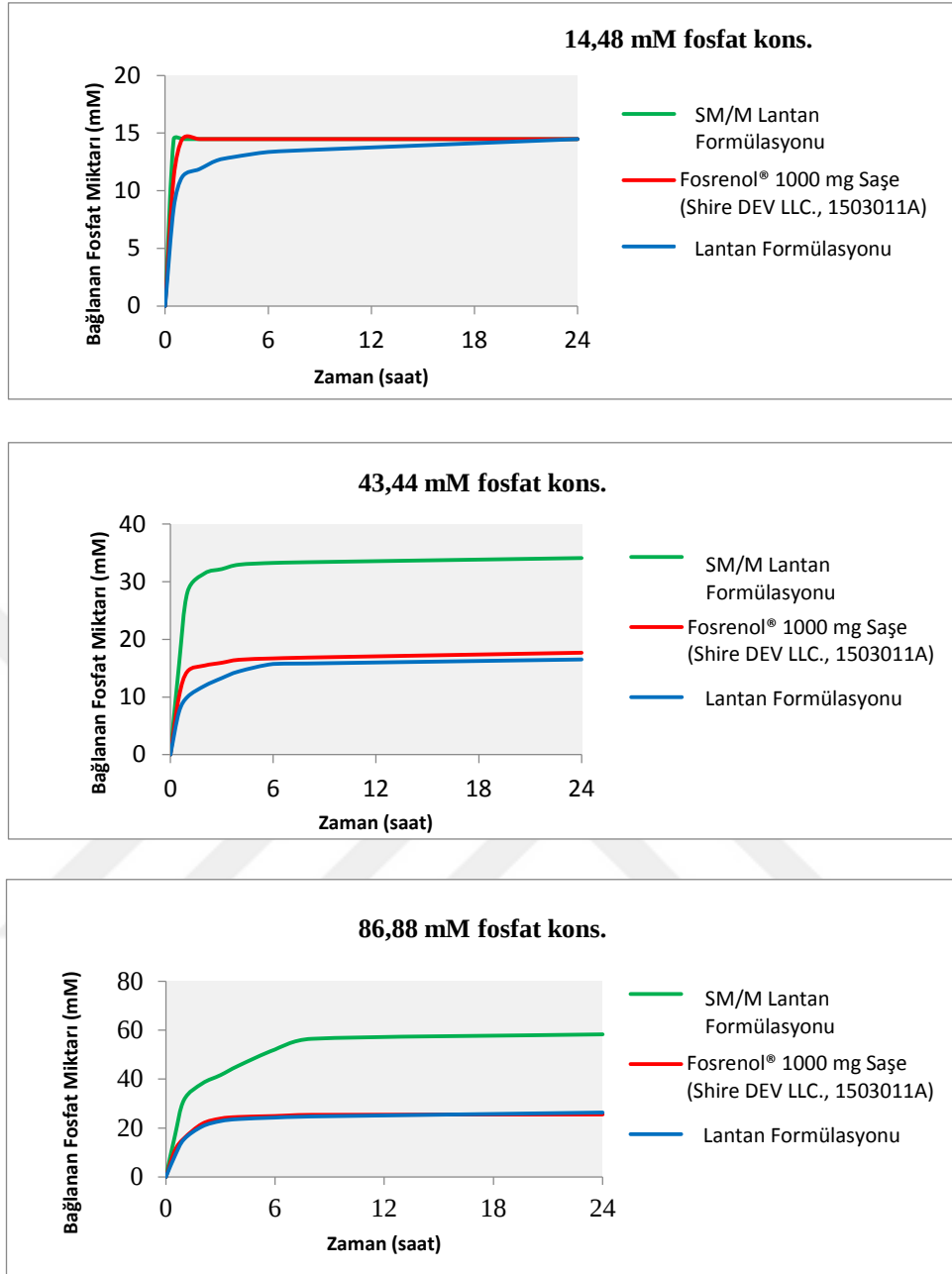


Şekil 4.19. Fosfat bağlama çalışmalarında kullanılan numune çözeltisine ilişkin kromatogram.

Farklı pH'larda ve farklı fosfat konsantrasyonlarında gerçekleştirilen kinetik bağlama çalışmalarına ilişkin sonuçlar ve karşılaştırmalı bağlanan fosfat miktarları profilleri Tablo 4.29.-Tablo 4.31. ve Şekil 4.20-Şekil 4.22.'de verilmiştir.

Tablo 4.29. Lantan Formülasyonu, SM/M Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'ye ilişkin pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki ortalama bağlanan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=6).

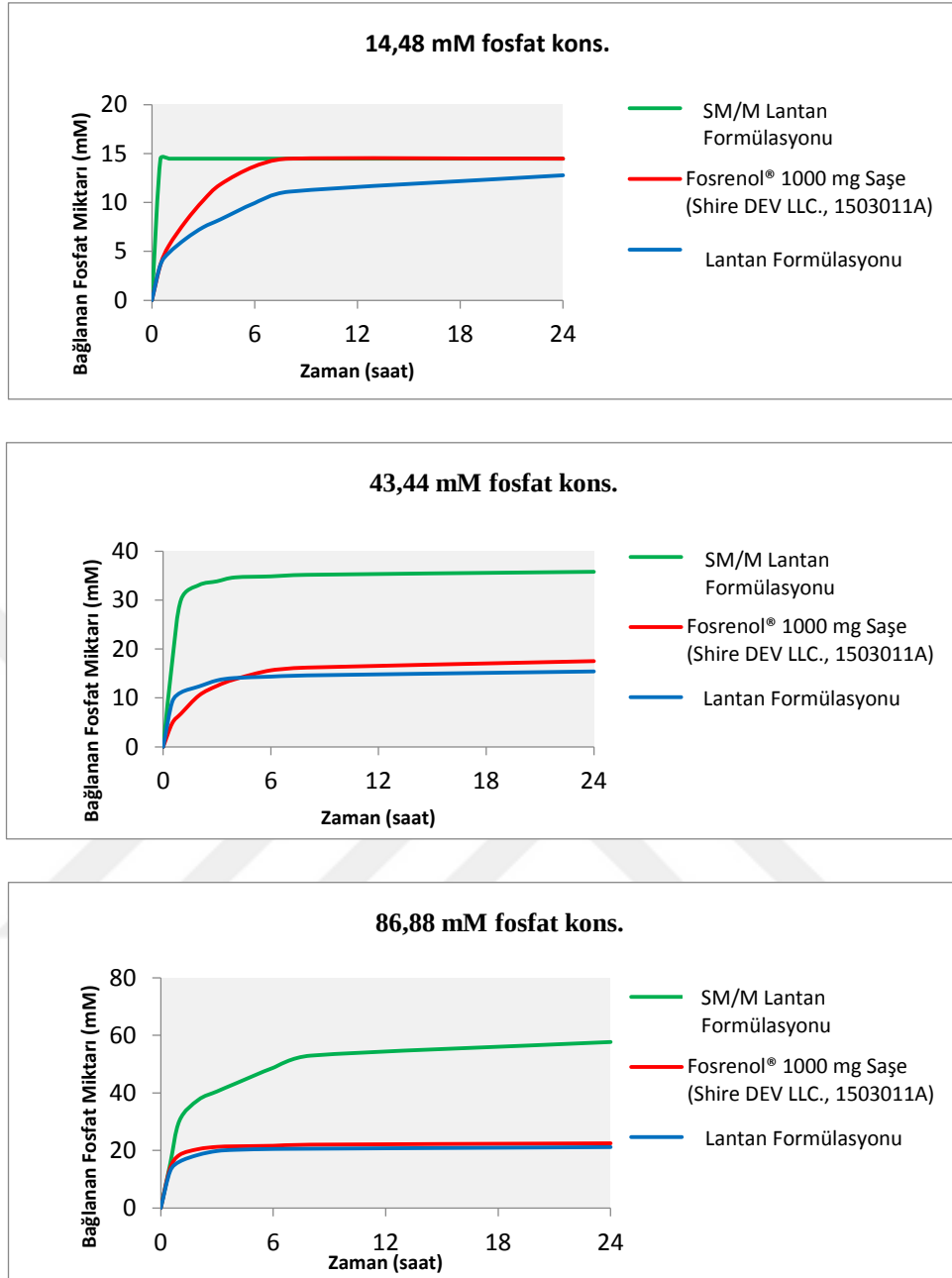
Zaman (Saat)	Bağlanan Miktar (14,48 mM fosfat kons.)			Bağlanan Miktar (43,44 mM fosfat kons.)			Bağlanan Miktar (86,88 mM fosfat kons.)		
	Lantan Formülasyonu	SM/M Lantan Formülasyonu	Fosrenol Saşe	Lantan Formülasyonu	SM/M Lantan Formülasyonu	Fosrenol Saşe	Lantan Formülasyonu	SM/M Lantan Formülasyonu	Fosrenol Saşe
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	8,50±1,06	14,48	11,15±0,86	7,41±1,45	15,44±0,92	10,04±1,35	8,71±2,32	16,88±1,20	10,85±1,86
1	11,21±0,77	14,48	14,48	10,03±1,05	28,22±1,14	14,45±1,10	15,44±2,76	31,54±0,98	15,81±1,42
2	11,88±0,67	14,48	14,48	11,94±1,68	31,44±0,80	15,46±1,48	20,68±2,23	38,22±0,88	21,76±1,74
3	12,62±0,74	14,48	14,48	13,28±1,42	32,18±0,76	15,94±1,42	22,85±2,35	41,63±0,75	23,88±1,56
4	12,93±0,70	14,48	14,48	14,44±1,54	32,94±0,64	16,46±1,66	23,69±1,98	45,52±0,84	24,53±1,45
6	13,36±0,58	14,48	14,48	15,73±1,40	33,25±0,56	16,69±1,25	24,29±1,86	52,11±0,77	24,92±1,62
8	13,51±0,54	14,48	14,48	15,81±1,78	33,37±0,52	16,84±0,95	24,75±2,12	56,47±0,93	25,40±1,28
24	14,48	14,48	14,48	16,51±1,38	34,09±0,45	17,68±1,12	26,35±1,88	58,30±0,65	25,56±1,18



Şekil 4.20. Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'nun pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki farklı mM fosfat konsantrasyonlarındaki karşılaştırmalı bağlanan fosfat miktarları profilleri.

Tablo 4.30. Lantan Formülasyonu, SM/M Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'ye ilişkin pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=6).

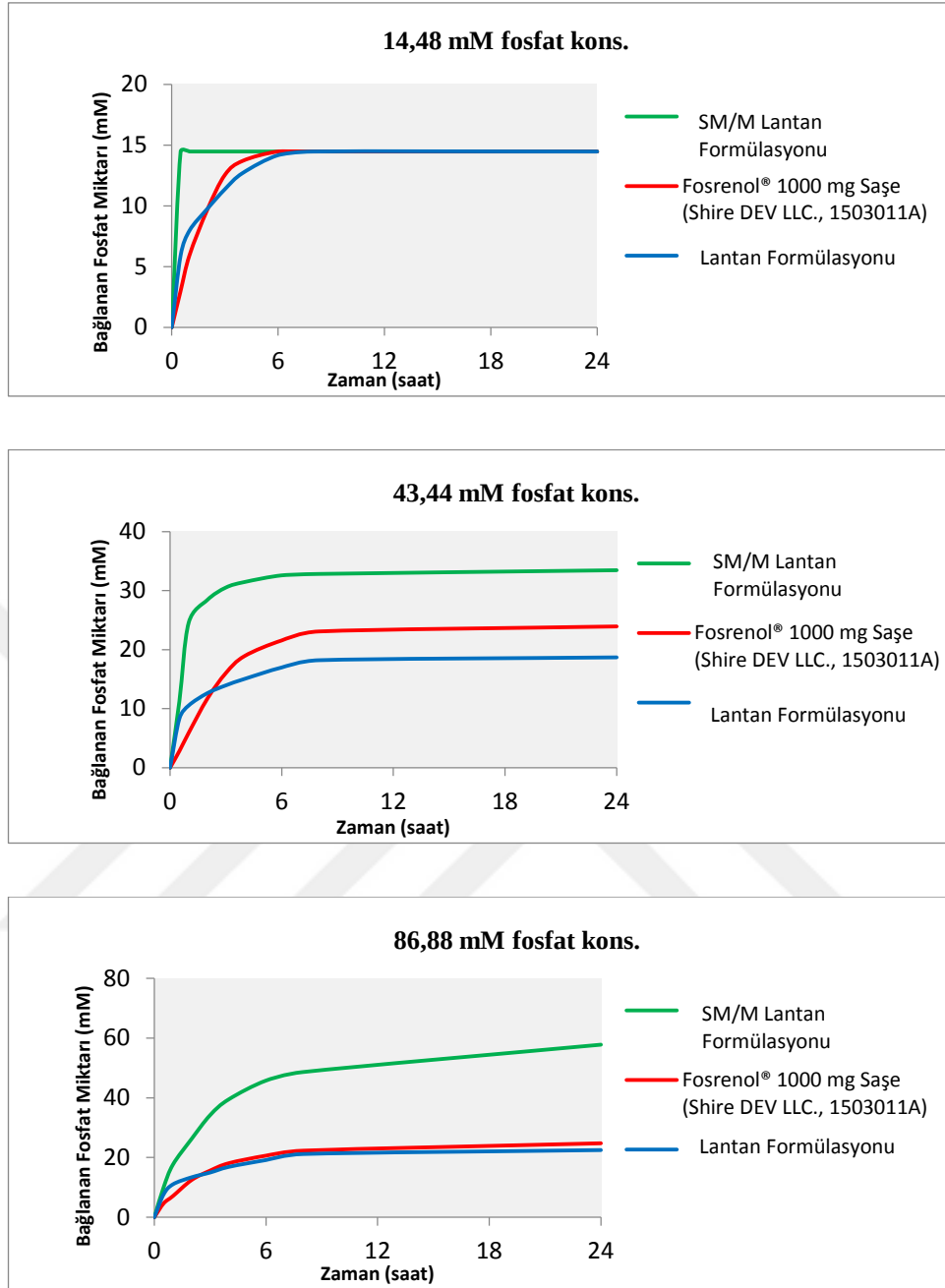
Zaman (Saat)	Bağlanan Miktar (14,48 mM fosfat kons.)			Bağlanan Miktar (43,44 mM fosfat kons.)			Bağlanan Miktar (86,88 mM fosfat kons.)		
	Lantan Formülasyonu	SM/M Lantan Formülasyonu	Fosrenol Saşe	Lantan Formülasyonu	SM/M Lantan Formülasyonu	Fosrenol Saşe	Lantan Formülasyonu	SM/M Lantan Formülasyonu	Fosrenol Saşe
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	3,64±1,83	14,48	3,64±1,48	9,17±2,32	17,34±0,90	4,81±1,46	12,82±2,12	15,23±1,32	13,83±2,01
1	4,86±1,94	14,48	5,61±1,67	11,14±2,11	30,15±1,22	6,82±1,56	16,10±2,18	30,41±0,88	18,44±1,88
2	6,32±1,66	14,48	8,13±1,34	12,36±1,88	33,10±1,12	10,52±1,15	18,47±1,97	37,56±1,17	20,46±1,43
3	7,47±1,82	14,48	10,21±0,95	13,58±1,75	33,85±0,86	12,47±1,18	19,81±1,68	40,52±0,93	21,24±1,56
4	8,27±0,98	14,48	11,85±0,87	14,08±1,80	34,65±0,75	13,83±1,22	20,23±1,83	43,30±0,88	21,44±1,34
6	9,94±0,85	14,48	13,70±0,36	14,36±1,56	34,86±0,83	15,65±1,17	20,52±1,54	48,74±0,75	21,63±1,20
8	11,10±0,77	14,48	14,48	14,61±1,67	35,18±0,76	16,21±1,46	20,61±1,66	52,96±0,53	22,02±1,43
24	12,78±0,68	14,48	14,48	15,42±1,43	35,80±0,72	17,53±1,39	21,17±1,44	57,70±0,48	22,49±1,13



Şekil 4.21. Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'nun pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki farklı mM fosfat konsantrasyonlarındaki karşılaştırmalı bağlanan fosfat miktarları profilleri.

Tablo 4.31. Lantan Formülasyonu, SM/M Lantan Formülasyonu ve Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'ye ilişkin pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=6).

Zaman (Saat)	Bağlanan Miktar (14,48 mM fosfat kons.)			Bağlanan Miktar (43,44 mM fosfat kons.)			Bağlanan Miktar (86,88 mM fosfat kons.)		
	Lantan Formülasyonu	SM/M Lantan Formülasyonu	Fosrenol Saşe	Lantan Formülasyonu	SM/M Lantan Formülasyonu	Fosrenol Saşe	Lantan Formülasyonu	SM/M Lantan Formülasyonu	Fosrenol Saşe
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	5,93±1,74	14,48	3,01±1,45	8,31±2,45	11,26±1,55	2,82±1,16	7,68±2,12	10,05±1,78	4,65±2,12
1	7,97±1,67	14,48	5,94±1,35	10,54±1,88	24,56±1,14	5,91±1,88	11,03±1,67	17,65±1,42	7,10±1,89
2	9,75±1,12	14,48	9,67±1,12	12,62±1,67	28,41±1,43	11,68±1,15	13,38±1,44	26,23±1,16	12,46±1,45
3	11,38±0,67	14,48	12,56±0,46	13,95±1,55	30,52±1,08	16,04±1,35	14,98±1,32	34,22±0,85	15,64±1,18
4	12,71±0,45	14,48	13,71±0,23	15,04±1,32	31,45±0,75	18,91±1,24	16,87±1,12	39,50±0,97	18,10±0,99
6	14,18±0,19	14,48	14,48	16,98±1,28	32,58±0,65	21,56±1,10	19,16±1,36	45,78±0,65	20,63±1,12
8	14,48	14,48	14,48	18,21±1,07	32,82±0,56	23,08±1,09	21,18±1,18	48,65±0,54	22,31±1,14
24	14,48	14,48	14,48	18,69±1,03	33,45±0,62	23,93±1,23	22,50±1,09	57,81±0,45	24,78±1,17



Şekil 4.22. Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'nun pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki farklı mM fosfat konsantrasyonlarındaki karşılaştırmalı bağlanan fosfat miktarları profilleri.

4.5.2. Denge Bağlama Çalışmaları

Denge bağlama çalışmaları kapsamında pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarlarına ilişkin sonuçlar Tablo 4.32-Tablo 4.34.'de verilmiş, langmuir doğruları da Şekil 4.23.'de verilmiştir.

Tablo 4.32. Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=3).

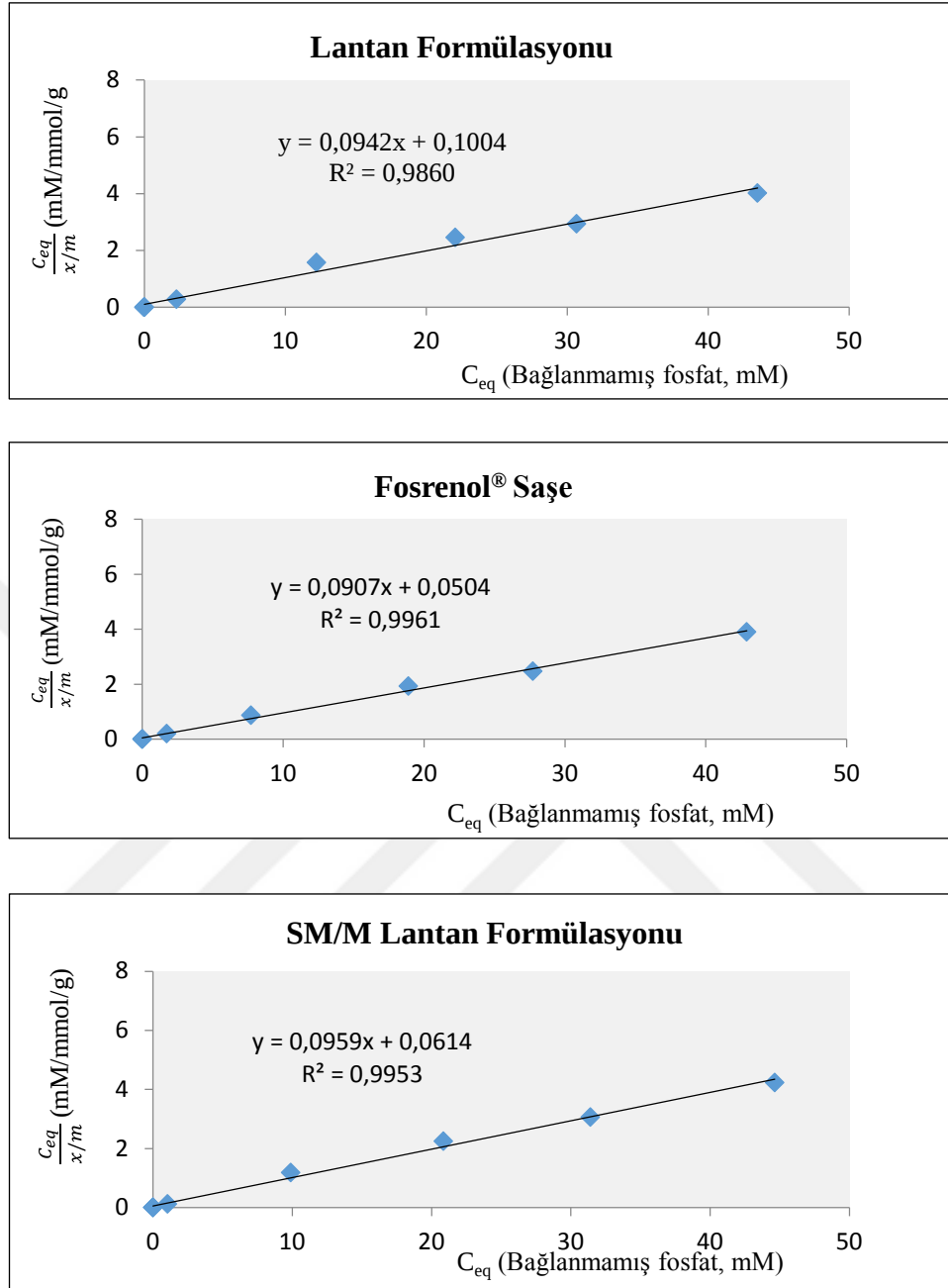
	Bağlanmayan (mM)	Bağlanan (mM)	Bağlanan (mmol/g)	Bağlanmayan(mM)/ Bağlanan(mmol/g)
Çözelti 1	0,00	14,18	3,55	0,00
Çözelti 2	0,00	21,76	5,44	0,00
Çözelti 3	0,00	28,96	7,24	0,00
Çözelti 4	2,28±0,31	33,96±0,31	8,49±0,08	0,27
Çözelti 5	12,22±0,30	31,22±0,30	7,81±0,08	1,56
Çözelti 6	22,06±0,52	35,94±0,52	8,98±0,13	2,46
Çözelti 7	30,68±0,58	41,80±0,58	10,45±0,15	2,94
Çözelti 8	43,51±0,86	43,37±0,86	10,84±0,22	4,01

Tablo 4.33. Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'ye ilişkin pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=3).

	Bağlanmayan (mM)	Bağlanan (mM)	Bağlanan (mmol/g)	Bağlanmayan(mM)/ Bağlanan(mmol/g)
Çözelti 1	0,00	14,18	3,55	0,00
Çözelti 2	0,00	21,76	5,44	0,00
Çözelti 3	0,00	28,96	7,24	0,00
Çözelti 4	1,73±0,24	34,51±0,24	8,63±0,06	0,20
Çözelti 5	7,73±0,18	35,71±0,18	8,93±0,05	0,87
Çözelti 6	18,89±0,45	39,11±0,45	9,78±0,11	1,93
Çözelti 7	27,72±0,65	44,76±0,65	11,19±0,16	2,48
Çözelti 8	42,90±0,98	43,98±0,98	10,99±0,25	3,90

Tablo 4.34. SM/M Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama $\pm$ SS, n=3).

	Bağlanmayan (mM)	Bağlanan (mM)	Bağlanan (mmol/g)	Bağlanmayan(mM)/ Bağlanan(mmol/g)
Çözelti 1	0,00	14,18	3,55	0,00
Çözelti 2	0,00	21,76	5,44	0,00
Çözelti 3	0,00	28,96	7,24	0,00
Çözelti 4	1,04 $\pm$ 0,11	35,20 $\pm$ 0,11	8,80 $\pm$ 0,03	0,12
Çözelti 5	9,89 $\pm$ 0,28	33,55 $\pm$ 0,28	8,39 $\pm$ 0,07	1,18
Çözelti 6	20,85 $\pm$ 0,48	37,15 $\pm$ 0,48	9,29 $\pm$ 0,12	2,24
Çözelti 7	31,41 $\pm$ 0,44	41,07 $\pm$ 0,44	10,27 $\pm$ 0,11	3,06
Çözelti 8	44,65 $\pm$ 0,79	42,23 $\pm$ 0,79	10,56 $\pm$ 0,20	4,23



Şekil 4.23. Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki langmuir doğruları.

Denge bağlama çalışmaları kapsamında pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki denge bağlama sonuçlarına ilişkin veriler Tablo 4.35. ve Tablo 4.36.'da verilmiştir.

Tablo 4.35. pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki Lantan Formülasyonu ile Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) arasındaki denge bağlama sonuçları.

x =Bağlanmayan Fosfat Miktarı (mM),

y =Bağlanmayan Fosfat Miktarı (mM) / Bağlanan Fosfat Miktarı (mmol/g)

	Lantan Formülasyonu	Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)
Eğim	0,0942	0,0907
İntersept	0,1004	0,0504
k₁	0,938	1,800
k₂	10,616	11,025
k₁ oranı (%)	52,14	
k₂ oranı (%)	96,28	
% 90 Güven aralığı	92,97 – 99,59	

Tablo 4.36. pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamındaki SM/M Lantan Formülasyonu ile Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) arasındaki denge bağlama sonuçları.

x =Bağlanmayan Fosfat Miktarı (mM),

y =Bağlanmayan Fosfat Miktarı (mM) / Bağlanan Fosfat Miktarı (mmol/g)

	SM/M Lantan Formülasyonu	Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC.,1503011A)
Eğim	0,0959	0,0907
İntersept	0,0614	0,0504
k₁	1,562	1,800
k₂	10,428	11,025
k₁ oranı (%)	86,79	
k₂ oranı (%)	94,58	
% 90 Güven aralığı	91,27 – 97,89	

Denge bağlama çalışmaları kapsamında pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarlarına ilişkin sonuçlar Tablo 4.37.- Tablo 4.39.'da verilmiş, langmuir doğruları da Şekil 4.24.'de verilmiştir.

Tablo 4.37. Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama $\pm$ SS, n=3).

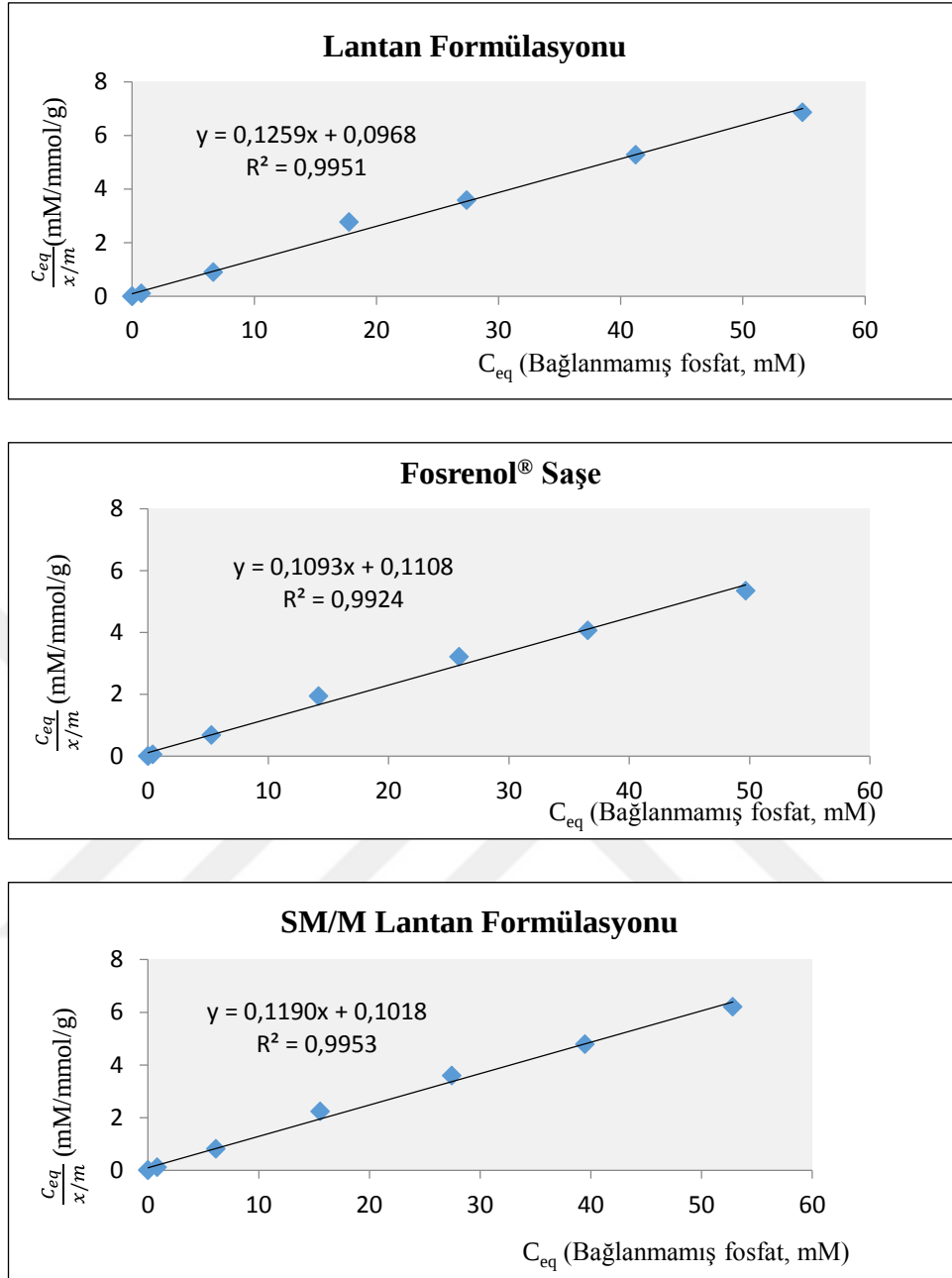
	Bağlanmayan (mM)	Bağlanan (mM)	Bağlanan (mmol/g)	Bağlanmayan(mM)/ Bağlanan(mmol/g)
Çözelti 1	0,00	14,18	3,55	0,00
Çözelti 2	0,00	21,76	5,44	0,00
Çözelti 3	0,76 $\pm$ 0,17	28,20 $\pm$ 0,17	7,05 $\pm$ 0,04	0,11
Çözelti 4	6,66 $\pm$ 0,21	29,58 $\pm$ 0,21	7,40 $\pm$ 0,05	0,90
Çözelti 5	17,76 $\pm$ 0,42	25,68 $\pm$ 0,42	6,42 $\pm$ 0,11	2,77
Çözelti 6	27,38 $\pm$ 0,62	30,62 $\pm$ 0,62	7,65 $\pm$ 0,16	3,58
Çözelti 7	41,22 $\pm$ 1,03	31,26 $\pm$ 1,03	7,82 $\pm$ 0,26	5,27
Çözelti 8	54,88 $\pm$ 1,12	32,00 $\pm$ 1,12	8,00 $\pm$ 0,28	6,86

Tablo 4.38. Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'ye ilişkin pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama $\pm$ SS, n=3).

	Bağlanmayan (mM)	Bağlanan (mM)	Bağlanan (mmol/g)	Bağlanmayan(mM)/ Bağlanan(mmol/g)
Çözelti1	0,00	14,18	3,55	0,00
Çözelti 2	0,00	21,76	5,44	0,00
Çözelti3	0,40 $\pm$ 0,09	28,56 $\pm$ 0,09	7,14 $\pm$ 0,02	0,056
Çözelti 4	5,26 $\pm$ 0,18	30,98 $\pm$ 0,18	7,74 $\pm$ 0,05	0,68
Çözelti5	14,19 $\pm$ 0,37	29,25 $\pm$ 0,37	7,31 $\pm$ 0,09	1,94
Çözelti 6	25,86 $\pm$ 0,74	32,14 $\pm$ 0,74	8,03 $\pm$ 0,19	3,22
Çözelti7	36,55 $\pm$ 0,89	35,93 $\pm$ 0,89	8,98 $\pm$ 0,22	4,07
Çözelti 8	49,68 $\pm$ 1,03	37,20 $\pm$ 1,03	9,30 $\pm$ 0,26	5,34

Tablo 4.39. SM/M Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama $\pm$ SS, n=3).

	Bağlanmayan (mM)	Bağlanan (mM)	Bağlanan (mmol/g)	Bağlanmayan(mM)/ Bağlanan(mmol/g)
Çözelti 1	0,00	14,18	3,55	0,00
Çözelti 2	0,00	21,76	5,44	0,00
Çözelti 3	0,82 $\pm$ 0,07	28,14 $\pm$ 0,07	7,04 $\pm$ 0,02	0,12
Çözelti 4	6,12 $\pm$ 0,27	30,12 $\pm$ 0,27	7,53 $\pm$ 0,07	0,81
Çözelti 5	15,56 $\pm$ 0,32	27,88 $\pm$ 0,32	6,97 $\pm$ 0,08	2,23
Çözelti 6	27,45 $\pm$ 0,69	30,55 $\pm$ 0,69	7,64 $\pm$ 0,17	3,59
Çözelti 7	39,47 $\pm$ 0,92	33,01 $\pm$ 0,92	8,25 $\pm$ 0,23	4,78
Çözelti 8	52,83 $\pm$ 1,04	34,05 $\pm$ 1,04	8,51 $\pm$ 0,26	6,21



Şekil 4.24. Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki langmuir doğruları.

Denge bağlama çalışmaları kapsamında pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki denge bağlama sonuçlarına ilişkin veriler Tablo 4.40. ve Tablo 4.41.'de verilmiştir

Tablo 4.40. pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki Lantan Formülasyonu ile Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) arasındaki denge bağlama sonuçları.

x =Bağlanmayan Fosfat Miktarı (mM),

y =Bağlanmayan Fosfat Miktarı (mM) / Bağlanan Fosfat Miktarı (mmol/g)

	Lantan Formülasyonu	Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)
Eğim	0,1259	0,1093
İntersept	0,0968	0,1108
k_1	1,301	0,986
k_2	7,943	9,149
k_1 oranı (%)	131,85	
k_2 oranı (%)	86,81	
% 90 Güven aralığı	83,59 – 90,03	

Tablo 4.41. pH 3,0 asetat tamponu ortamındaki SM/M Lantan Formülasyonu ile Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) arasındaki denge bağlama sonuçları.

x =Bağlanmayan Fosfat Miktarı (mM),

y =Bağlanmayan Fosfat Miktarı (mM) / Bağlanan Fosfat Miktarı (mmol/g)

	SM/M Lantan Formülasyonu	Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)
Eğim	0,1190	0,1093
İntersept	0,1018	0,1108
k_1	1,169	0,986
k_2	8,403	9,149
k_1 oranı (%)	118,50	
k_2 oranı (%)	91,85	
% 90 Güven aralığı	88,92 – 94,78	

Denge bağlama çalışmaları kapsamında pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarlarına ilişkin sonuçlar Tablo 4.42-Tablo 4.44.'de verilmiş, langmuir doğruları da Şekil 4.25.'de verilmiştir.

Tablo 4.42. Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=3).

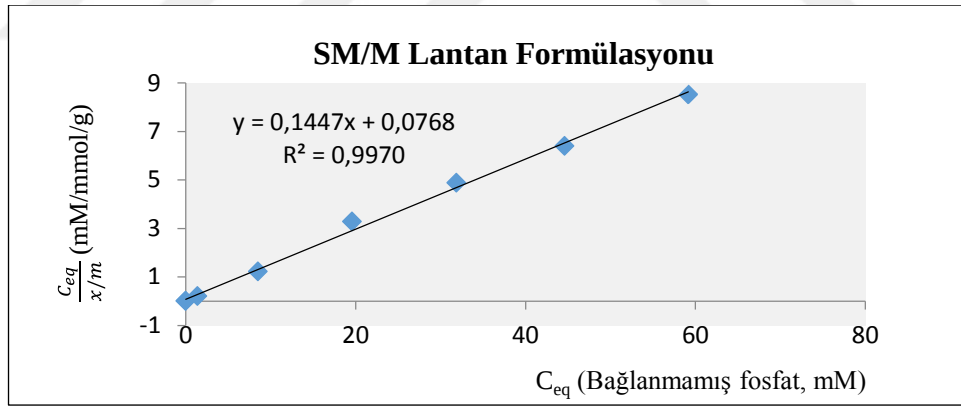
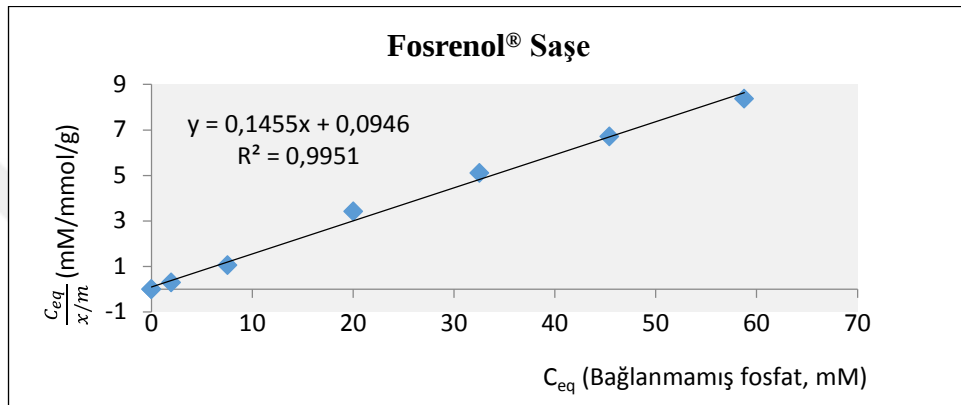
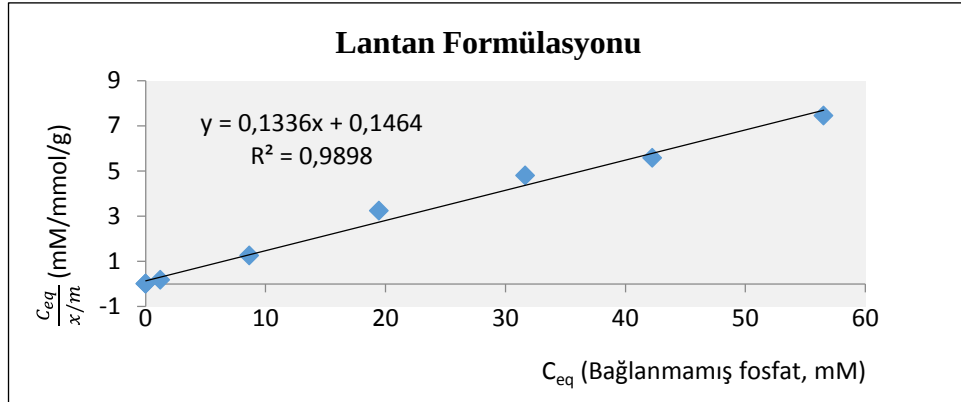
	Bağlanmayan (mM)	Bağlanan (mM)	Bağlanan (mmol/g)	Bağlanmayan(mM)/ Bağlanan(mmol/g)
Çözelti 1	0,00	14,18	3,55	0,00
Çözelti 2	0,00	21,76	5,44	0,00
Çözelti 3	1,23±0,21	27,73±0,21	6,93±0,05	0,18
Çözelti 4	8,64±0,28	27,60±0,28	6,90±0,07	1,25
Çözelti 5	19,45±0,30	23,99±0,30	6,00±0,08	3,24
Çözelti 6	31,64±0,57	26,36±0,57	6,59±0,14	4,80
Çözelti 7	42,23±0,70	30,25±0,70	7,56±0,18	5,58
Çözelti 8	56,52±1,05	30,36±1,05	7,59±0,26	7,45

Tablo 4.43. Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'ye ilişkin pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=3).

	Bağlanmayan (mM)	Bağlanan (mM)	Bağlanan (mmol/g)	Bağlanmayan(mM)/ Bağlanan(mmol/g)
Çözelti 1	0,00	14,18	3,55	0,00
Çözelti 2	0,00	21,76	5,44	0,00
Çözelti 3	1,95±0,11	27,81±0,11	6,75±0,03	0,29
Çözelti 4	7,54±0,22	28,70±0,22	7,18±0,06	1,05
Çözelti 5	20,01±0,18	23,43±0,18	5,86±0,05	3,42
Çözelti 6	32,53±0,36	25,47±0,36	6,37±0,09	5,11
Çözelti 7	45,41±0,45	27,07±0,45	6,77±0,11	7,71
Çözelti 8	58,77±0,78	28,11±0,78	7,03±0,20	8,36

Tablo 4.44. SM/M Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki ortalama bağlanan-bağlanmayan fosfat miktarları (ortalama±SS, n=3).

	Bağlanmayan (mM)	Bağlanan (mM)	Bağlanan (mmol/g)	Bağlanmayan(mM)/ Bağlanan(mmol/g)
Çözelti 1	0,00	14,18	3,55	0,00
Çözelti 2	0,00	21,76	5,44	0,00
Çözelti 3	1,36±0,25	27,60±0,25	6,90±0,06	0,20
Çözelti 4	8,48±0,18	27,76±0,18	6,94±0,05	1,22
Çözelti 5	19,56±0,34	23,88±0,34	5,97±0,09	3,28
Çözelti 6	31,85±0,31	26,15±0,31	6,54±0,08	4,87
Çözelti 7	44,59±0,55	27,89±0,55	6,97±0,14	6,40
Çözelti 8	59,15±0,89	27,73±0,89	6,93±0,22	8,53



Şekil 4.25. Lantan Formülasyonu, Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ve SM/M Lantan Formülasyonu'na ilişkin pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki langmuir doğruları.

Denge bağlama çalışmaları kapsamında pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki denge bağlama sonuçlarına ilişkin veriler Tablo 4.45. ve Tablo 4.46.'da verilmiştir.

Tablo 4.45. pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki Lantan Formülasyonu ile Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) arasındaki denge bağlama sonuçları.

x =Bağlanmayan Fosfat Miktarı (mM),

y =Bağlanmayan Fosfat Miktarı (mM) / Bağlanan Fosfat Miktarı (mmol/g)

	Lantan Formülasyonu	Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)
Eğim	0,1336	0,1455
İntersept	0,1464	0,0946
k₁	0,913	1,538
k₂	7,485	6,873
k₁ oranı (%)	59,33	
k₂ oranı (%)	108,91	
% 90 Güven aralığı	106,72 – 111,10	

Tablo 4.46. pH 5,0 asetat tamponu ortamındaki SM/M Lantan Formülasyonu ile Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) arasındaki denge bağlama sonuçları.

x =Bağlanmayan Fosfat Miktarı (mM),

y =Bağlanmayan Fosfat Miktarı (mM) / Bağlanan Fosfat Miktarı (mmol/g)

	SM/M Lantan Formülasyonu	Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)
Eğim	0,1447	0,1455
İntersept	0,0768	0,0946
k₁	1,884	1,538
k₂	6,911	6,873
k₁ oranı (%)	122,50	
k₂ oranı (%)	100,55	
% 90 Güven aralığı	98,12 – 102,98	

5. TARTIŞMA

Bu bölümde, tez çalışmamız süresince gerçekleştirilen tüm deneysel çalışmaların ve elde edilen bulguların genel bir değerlendirilmesi yapılarak sonuçlar tartışılmıştır. Bu amaçla; işlem görmemiş ve işlem görmüş lantan karbonat etkin maddesinin fizikokimyasal özelliklerinden başlanarak, bitmiş ürün analitik yöntem ve validasyon çalışmaları, işlem görmemiş ve işlem görmüş lantan karbonat etkin maddesi içeren formülasyon çalışmaları, elde edilen formülasyonların etkin madde içeriğinin tayini, in-vitro çözünme çalışmaları ve fosfat bağlama çalışmaları sonuçları değerlendirilmiştir.

5.1. Etkin Madde Üzerinde Yapılan Fizikokimyasal İncelemeler

5.1.1. Lantan Karbonat FT-IR Analizi

Etkin maddenin karakterizasyonu ve saflık kontrolü açısından tez çalışmamızda model ilaç olarak kullanılan lantan karbonat etkin maddesinin FT-IR analizleri (Bkz. Şekil 4.1.) hem standart olarak mevcut olan etkin madde ile hem de literatür ile karşılaştırılmış, elde edilen bulgular uyumlu bulunmuştur (148).

5.1.2. Lantan Karbonat Partikül Büyüklüğü Dağılımı Analizleri

Etkin madde olan lantan karbonat partikül büyüklüğü dağılımı incelenmiş, bimodal partikül büyüklüğü dağılımına sahip lantan karbonat için hacim çapı d_{10} : 3,313 μm ; d_{50} : 28,875 μm ; d_{90} : 118,650 μm olarak bulunmuştur (Bkz. Şekil 4.2.). Şekil 4.3. (a.)’dan da görüleceği üzere bimodal dağılımın birinci dağılımında hacim çapı d_{10} : 2,333 μm ; d_{50} : 4,662 μm ; d_{90} : 9,290 μm olarak bulunmuştur. Bu verilerden de hareketle ilgili etkin maddenin partikül büyüklüğü dağılımının submikron düzeyinde olmadığı görülmektedir.

5.2. Bitmiş Ürün Miktar Tayini ve Çözünme Testi Analitik Yöntem Validasyonu

Etkin madde olan lantan karbonat herhangi bir dalga boyunda absorbands vermediği için ilgili bitmiş ürünlerin etkin madde açısından miktar tayini ve çözünme testi analizlerinde kompleksometrik titrasyon yöntemi kullanılmıştır.

Bitmiş ürün miktar tayini yöntem validasyonunda ele alınmış olan parametrelerin kabul kriterleri ve elde edilen sonuçları hem “Bölüm 3. Gereç ve Yöntem” hem de “Bölüm 4. Bulgular” kısımlarında verilmiştir, tüm bulgular kabul kriterleri olarak belirlenen limitlere uygun bulunmuştur. Sonuç olarak lantan 1000 mg saşe miktar tayini yönteminin validasyonu özgüllük, doğrusallık, kesinlik, doğruluk, geri kazanım ve çözelti stabilitesi parametrelerinin değerlendirilmesi ile tamamlanmıştır.

FDA tarafından belirlenmiş olan pH 1,2 ve PH 3,0 ortamlarında gerçekleştirilen çözünme testi çalışmalarında SM/M Lantan Formülasyonu için 4. saatten itibaren çözünme profilinin platoya yaklaşmış olması, tez çalışmalarımızın başlangıcında referans ürüne uygun formülasyon belirleme aşamasında geliştirilecek olan formülasyonlar içinde 4. saatte çözünme değerinin belirleyici olması sebebiyle çözünme spesifikasyon zamanı olarak 4. saat seçilmiştir. Bu nedenle bitmiş ürün çözünme testi yöntem validasyonunda çözünme spesifikasyon zaman noktası olarak 4. saat kullanılmıştır. Bitmiş ürün çözünme testi yöntem validasyonunda ele alınmış olan parametrelerin kabul kriterleri ve elde edilen sonuçları hem “Bölüm 3. Gereç ve Yöntem” hem de “Bölüm 4. Bulgular” kısımlarında verilmiştir, tüm bulgular kabul kriterleri olarak belirlenen limitlere uygun bulunmuştur. Sonuç olarak lantan 1000 mg saşe çözünme testi yönteminin validasyonu özgüllük, doğrusallık, kesinlik, doğruluk, geri kazanım ve sağlamlık parametrelerinin değerlendirilmesi ile tamamlanmıştır.

5.3. Lantan Karbonat İçeren Formülasyon Çalışmaları

Biyoyararlanımı düşük olan etkin maddelerin çözünürlüğünü ve/veya çözünme hızını arttırmak için etkin maddelerin katı dispersiyonlarının veya mikrokristal ve nanokristallerinin hazırlanması önerilmektedir (151, 153). Katı dispersiyon, çözünürlüğü az olan etkin maddelerin suda çok çözünen inert bir katı taşıyıcıda çözme ve/veya eritme yöntemi kullanılarak dağıtılması ile oluşturulmuş sistemlerdir (153). Katı dispersiyon oluşması halinde etkin madde taşıyıcı içinde moleküler düzeyde dağılmış olduğundan çözünme ortamında çözünmesi daha kolay olmaktadır. Katı dispersiyonlarda ayrıca yapıda bulunan taşıyıcı nedeniyle de partiküller arası topaklanmalar ortadan kalkmaktadır. Bu sistemlerde dağılmış olan

kristal ve amorf haldeki madde, çözünme ortamında taşıyıcının kolaylıkla çözünmesi ile ortamda dağılıp kolayca ıslanabilmektedir. Katı dispersiyonların yukarıda bahsedilen uygulamaları yanında bazı etkin maddelerin stabilitelerinin sağlanması, çözünürlüğü fazla olan maddelerin kontrollü salım sağlayan preparatlarının hazırlanması vb. uygulama alanları da bulunmaktadır (151, 154-156). Tez çalışmamızda model ilaç olarak seçmiş olduğumuz lantan karbonat etkin maddesi dekompoze olduğu için erime noktası tespit edilememektedir ($>400^{\circ}\text{C}$). Katı dispersiyon hazırlama yöntemleri arasında yer alan eritme yöntemi ve eritme-çözme yöntemi de etkin madde erime derecesi 250°C 'nin üzerinde olması halinde uygun olmamaktadır. Katı dispersiyon hazırlama yöntemlerinden biri olan çözme yönteminde de kullanılacak olan organik çözücünün tamamen uzaklaştırılamaması, uygun çözücü seçimindeki güçlükler ve aynı kristal şeklinin elde edilebilme zorlukları nedeniyle çalışmamız kapsamında lantan karbonat etkin maddesi içeren submikron/mikron yapıda formülasyonların hazırlanması gerçekleştirilmiştir. Bu yapıda formülasyonların hazırlanmasına yönelik olarak da öğütme işlemi uygulanmıştır. Submikron/mikron yapıda formülasyon eldesinden önce ilk hedef, işlem görmemiş lantan karbonat etkin maddesi içeren saşe formülasyon çalışmaları ile bitmiş üründe miktar tayini uygun olan ve referans ürüne benzer olan bir çözünme profilini elde etmek olarak belirlenmiştir. Uygun formülasyonun (Lantan Formülasyonu) belirlenmesinin ardından fosfat bağlama çalışmaları ile referans ürüne benzer bir fosfat bağlama kapasitesinin elde edilmesi çalışmanın biyoaktivite ayağının da başarıyla tamamlandığının göstergesi olmuştur.

Lantan Formülasyonuna ilişkin miktar tayini değeri % 95,0-105,0 aralığında [ortalama % $98,7 \pm 0,49$ ($n=6$)] bulunmuştur. Çözünme profilleri üç farklı ortamda biyoaktivite çalışmalarında kullanılan referans ürün Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ile karşılaştırılmış ve f2 benzerlik faktörünün test ürün ile referans ürünün benzer olarak kabul edilebilmesi için gerekli olan 50-100 aralığında olması gereken değerleri sağladığı görülmüştür [pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamında $f2=83,66$; pH 3,0 asetat tamponu ortamında $f2=76,67$ ve pH 5,0 asetat tamponu ortamında $f2=73,98$]. pH 5,0 asetat tamponu ortamında % çözünen değerin % 85'e ulaşmaması nedeniyle regülasyonlar yönünden f2 hesabı yapılması uygun değildir. Ancak regülasyonlar dışında bilimsel araştırma amaçlı olarak f2 hesabı bu ortam için

yapılmıştır. Ayrıca 3 farklı ortamda yapılmış olan çözünme testlerindeki 12 bağımsız numunenin hem test hem de referans ürün için varyasyon katsayısı değerlerinin ilk zaman noktası için % 20'den düşük, diğer zaman noktaları için % 10'dan düşük olması gerekliliği (144) de ilgili çalışmalarla gösterilmiştir.

SM/M Formülasyonlarının Hazırlanması ve Karakterizasyon Çalışmaları

Bilyalı değirmen, partiküllerin kuru olarak veya süspansiyon içindeyken öğütülmesini ve homojen partiküller elde edilmesini sağlayan mekanik bir mikronizasyon yöntemidir. Ön formülasyon çalışmaları kapsamında bilyalı değirmen yöntemini optimize etmek amacıyla, partiküllerin kuru olarak işleme tabi tutulmasının yanısıra bilyalı değirmen ile dönüş hızı (rpm) ve işlem süresi değiştirilmiştir. Yapılan tüm değişiklikler sonucunda partikül büyüklüğü ölçümü gerçekleştirilmiş ve submikron/mikron boyutuna indirgenen noktaya kadar ilgili küçültme işlemi gerçekleştirilerek optimum dönüş hızı 500 rpm ve optimum işlem süresi 6 saat olarak belirlenmiştir. Bu süreden daha kısa sürede ve daha düşük hızda istenilen boyuta partiküller indirgenememiş ve aynı zamanda bilyalı değirmen cihazının en yüksek dönüş hızı olan 600 rpm'de ise merkezkaç kuvvetinden dolayı bilyalar silindirin kenarında kalmış ve öğütme etkili olmamıştır. Bilyalı değirmen ile optimum öğütme sonrası elde edilen bimodal partikül büyüklüğü dağılımı tek dağılım olarak değerlendirildiğinde dağılımın hacim çapı d_{10} : $0,692 \pm 0,058 \mu\text{m}$; d_{50} : $1,890 \pm 0,082 \mu\text{m}$; d_{90} : $16,563 \pm 0,234 \mu\text{m}$ olarak bulunmuştur (Bkz. Şekil 4.9.). Şekil 4.10.(a.)'dan da görüleceği üzere dağılımdaki iki dağılım ayrı ayrı değerlendirildiğinde, bimodal dağılımın birinci dağılımında hacim çapı d_{10} : $0,597 \pm 0,030 \mu\text{m}$; d_{50} : $1,556 \pm 0,033 \mu\text{m}$; d_{90} : $2,987 \pm 0,221 \mu\text{m}$ olarak bulunmuştur. Bu verilerden de hareketle ilgili etkin maddenin partikül büyüklüğü dağılımının submikron düzeyine inmiş olduğu görülmektedir. İlgili partikül büyüklüğü dağılımı sonuçlarına göre bimodal dağılımın birinci dağılımındaki partiküller % 77,83'lük kısmı oluşturmaktadır. Birinci dağılımda submikron düzeyine indirilen partiküller ise % 23,66'lık kısmı oluşturmaktadır. Bununla beraber Elan firması, US 7101576, WO 2006/074218, WO 09/666539 numaralı patenlerinde 2000 nm ve altındaki partikül büyüklüğünü nanopartikül olarak tanımlamakta olduğu

için ilgili öğütme işlemi sonrası ortalama hacim çapı olan d_{50} değerinin 2000 nm'nin altında (bimodal dağılımda d_{50} : $1,890 \pm 0,082 \mu\text{m}$) elde edilmesiyle nano boyutta da etkin maddenin elde edildiği görülmüştür.

Bilyalı değirmen yöntemi ile partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen etkin madde ve işlem görmemiş etkin madde üzerinden moleküler yapının korunup korunmadığına ilişkin ilgili karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. XRD, TGA ve DSC analizleri sonucunda partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenen etkin maddenin moleküler yapıyı koruduğu saptanmıştır (Bkz. Şekil 4.11-Şekil 4.14).

Öğütme işlemi sonrası lantan karbonat etkin maddesinin çözünürlüğünün değişip değişmediğine yönelik FDA tarafından belirtilmiş olan çözünme ortamlarında (pH 1,2, pH 3,0 ve pH 5,0) ve suda yapılan çözünürlük testi sonuçlarına göre işlem görmüş etkin maddenin çözünürlüğünün işlem görmemiş etkin maddenin çözünürlük değerlerine göre değişmediği görülmüştür (işlem görmemiş etkin maddenin teorik çözünürlük değerleri için bkz. Tablo 2.2. ve Tablo 2.3.; işlem görmüş etkin maddenin çözünürlük değerleri için bkz. Tablo 4.23.).

Bilyalı değirmen yönteminden hareketle submikron/mikron boyutuna indirgenmiş etkin madde içeren formülasyon (SM/M Lantan Formülasyonu), biyoaktivitenin artırılmasına yönelik olarak, başka bir deyişle de fosfat bağlama kapasitesinin artırılmasına yönelik olarak hazırlanmıştır.

Etkin maddenin ortam sıvısıyla temasta olan etkin yüzey alanının artırılmasına yönelik olarak gerçekleştirilen öğütme işlemi sonrası partikül büyüklüğü submikron/mikron düzeyinde olan etkin madde ile hazırlanmış olan SM/M Lantan Formülasyonuna ilişkin miktar tayini değeri % 95,0-105,0 aralığında [ortalama % $98,2 \pm 0,88$ ($n=6$)] bulunmuştur. Noyes-Whitney eşitliğine göre çözünme hızı, ortamla temas halinde bulunan etkin maddenin yüzey alanı ile doğru orantılıdır. Etkin madde partikül büyüklüğündeki değişime bağlı olarak spesifik yüzey alanı da değişeceğinden, ilacın vücut sıvılarında çözünme hızı değişir. Bu temel bilgilerden hareketle, SM/M Lantan Formülasyonu'na ilişkin çözünme profilleri üç farklı ortamda Lantan Formülasyonu ile karşılaştırılmıştır. pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamında ilk 2 saat içinde Lantan Formülasyonu % 50 civarında çözünme gösterirken bu değer

SM/M Lantan Formülasyonu'nda % 75-80 civarına ulaşmıştır. pH 3,0 asetat tamponunda yine pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamına benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir. pH 5,0 asetat tamponunda ise ilk 2 saat içinde Lantan Formülasyonu % 20 civarında ve 20. saat sonunda % 50 çözünme gösterirken bu değer SM/M Lantan Formülasyonu'nda ilk 2 saat içinde % 45 civarında ve 20. saat sonunda % 65 çözünme göstermektedir. Tüm bu veriler ışığında etkin madde partikül büyüklüğü küçülmesine bağlı olarak etkin madde yüzey alanının artması sonucu çözünme değerlerinin anlamlı bir şekilde arttığı, etkin maddenin çözünürlüğünün ise değişmediği görülmüştür. Bu bulgu da çalışmamızda nanometre boyutundaki partiküllerin yüzdesinin çok fazla olmamasının göstergesidir. Lantan Formülasyonu ve SM/M Lantan Formülasyonu arasındaki çözünme hızı farklılıkları nedeniyle f2 benzerlik faktörünün 50-100 aralığında benzer olması için gereken değerleri sağlamadığı görülmüştür [pH 1,2 (0,1 N HCl) ortamında f2=35,87; pH 3,0 asetat tamponu ortamında f2=37,19 ve pH 5,0 asetat tamponu ortamında f2=34,50]. pH 5,0 asetat tamponu ortamında % çözünen değer % 85'e ulaşmaması nedeniyle regülasyonlar yönünden f2 hesabı yapılması uygun değildir. Ancak regülasyonlar dışında bilimsel araştırma amaçlı olarak f2 hesabı bu ortam için yapılmıştır. Ayrıca 3 farklı ortamda yapılmış olan çözünme testlerindeki 12 bağımsız numunenin hem test hem de referans ürün için varyasyon katsayısı değerlerinin ilk zaman noktası için % 20'den düşük, diğer zaman noktaları için % 10'dan düşük olması gerekliliği (146) de ilgili çalışmalarla gösterilmiştir.

5.4. Stabilite Çalışmaları

Hızlandırılmış ve uzun süreli saklama koşullarında başlangıç anında, 1. ay ve 3. ay sonunda Lantan Formülasyonu ve SM/M Lantan Formülasyonu için ilgili testler gerçekleştirilmiş ve Tablo 4.27. ve Tablo 4.28.'de verilen tüm stabilite sonuçları referans üründen hareketle belirlenmiş olan spesifikasyon limitleri dahilinde uygun bulunmuştur.

5.5. Fosfat Bağlama Çalışmaları

5.5.1. Kinetik Bağlama Çalışmaları

Bu çalışmada öncelikle fosfat bağlanmasını etkileyen faktörler incelenmiştir. pH ve fosfat iyonları konsantrasyonunun bağlanma hızı ve kapasitesine etkileri araştırılmış ve aşağıdaki etkileri tespit edilmiştir. Bu etkiler tespit edilirken Lantan Formülasyonu, SM/M Lantan Formülasyonu ve referans ürün olan Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'nin kinetik bağlama çalışma verilerinden yararlanılmıştır.

Bu verilere göre;

1. pH etkisi: Fosfat iyonlarının bağlanması ortamdaki serbest halde bulunan La^{+3} iyonlarının varlığına bağlı olduğundan ve çözünen lantan iyonları miktarı da ortamın pH'ı ile değiştiğinden dolayı pH'ın hem bağlanma hızına hem de bağlama kapasitesine etkileri büyüktür. Düşük pH'larda daha yüksek fosfat bağlama hızı görülmektedir. Lantan karbonatın düşük pH'lardaki çözünürlüğünün daha iyi olması nedeniyle ortamda daha fazla miktarda fosfat bağlayıcı bulunduğu; yüksek pH'lara göre hem dengeye gelme süresi daha kısa hem de aynı sürede daha fazla miktarda fosfat lantan iyonlarına bağlanmaktadır.

2. Fosfat konsantrasyonunun etkisi: Fosfat konsantrasyonunun hem bağlama hızına hem de bağlama kapasitesine etkileri bulunmaktadır. Düşük fosfat konsantrasyonunda dengeye ulaşma hızının daha kısa olduğu ve dengeye ulaşıldığında tüm fosfatın bağlandığı görülmüştür. Ortamdaki fosfat konsantrasyonu arttıkça dengeye ulaşma zamanı uzamış fakat bağlama kapasitesi artmıştır.

Çalışmada daha sonra farklı pH ve farklı fosfat konsantrasyonlarında denge zamanları tespit edilmiş ve bu sürenin her pH ve her fosfat konsantrasyonu için değişim gösterdiği görülmüştür. Örneğin düşük pH'da (pH 1,2) ve düşük fosfat konsantrasyonunda 1 saat gibi bir sürede dengeye ulaşılırken bu süre yüksek pH (pH 5,0) ve yüksek fosfat konsantrasyonu varlığında 6-8 saate kadar uzamaktadır. Dolayısıyla denge bağlama çalışmalarında her ortamda bağlanmayı garanti altına almak adına optimum süre olarak 8 saat seçilmiştir (149).

Lantan Formülasyonu, SM/M Lantan Formülasyonu ve referans ürün olan Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'nin kinetik bağlama çalışma sonuçlarına göre çözünme profillerinde olduğu gibi her 3 ortamda (pH 1,2; pH 3,0 ve pH 5,0 ortamlarında) SM/M Lantan Formülasyonu'nun ortalama bağladığı fosfat miktarları hem Lantan Formülasyonu'na hem de Fosrenol® 1000 mg Saşe'ye göre fazla bulunmuştur [istatistiksel olarak aralarındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$), Bkz. Şekil 4.20.- Şekil 4.22.]. SM/M Lantan Formülasyonu'nun fosfat bağlama miktarının fazla olmasının nedeni; etkin madde partikül büyüklüğündeki değişime bağlı olarak ilacın vücut sıvılarında çözünme hızının artması (spesifik yüzey alanının artmasıyla) sonucu kinetik bağlama çalışmaları esnasında ortamda çözünen miktarının daha fazla olması ve daha kısa sürede ortama geçmesi şeklinde değerlendirilmektedir.

5.5.2. Denge Bağlama Çalışmaları

Kinetik bağlama çalışmalarından sonra yapılan ve karşılaştırmalı biyoeşdeğerlik çalışması için gereklilik olan denge bağlama çalışmaları, test ürünler (Lantan Formülasyonu ve SM/M Lantan Formülasyonu) ve referans ürün [Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)] için her ortamda benzeşim (k_1) ve kapasite (k_2) katsayılarını tespit etmek için gerçekleştirilmiştir. Kinetik bağlama çalışmalarında optimum süre olarak belirlenen süre (8 saat) sabit tutularak fosfat konsantrasyonları bu çalışmada değişken tutulmuştur.

Denge bağlama çalışmalarından elde edilen verilere göre;

- Lantan karbonat çözünme hızının bağlanma hızını direk olarak etkilediği tespit edilmiştir.
- pH'ya bağlı olarak bağlanma hızı ve bağlanma kapasiteleri değişmektedir.
- Denge bağlama çalışmalarında etkin madde tamamen çözündükten sonra ilgili ortamlarla muamele edilerek test ürünler ile referans ürün arasındaki benzerlik ilişkisi incelendiği için çözünme hızı ve fosfat bağlama kapasite değerlerinden bağımsız olarak SM/M Lantan Formülasyonu'nun Bağlanmayan(mM)/Bağlanan(mmol/g) değerleri Lantan Formülasyonu ve

referans ürün olan Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A) ile yakın bulunmuştur.

Denge bağlama çalışmaları sonunda elde edilen veriler langmuir eşitliği ile analiz edilmiş, ilgili eğrilerin eğim ve kesişim noktaları k_1 ve k_2 değerlerini hesaplamak için kullanılmıştır. pH 1,2, pH 3,0 ve pH 5,0 ortamlarında k_2 oranının güven aralığı (% 90) değerleri; Lantan Formülasyonu'na karşı Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'de ve SM/M Lantan Formülasyonu'na karşı Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'de % 80-125 kabul değerleri arasında bulunmuş olup (Bkz. Tablo 4.35., Tablo 4.36., Tablo 4.40., Tablo 4.41., Tablo 4.45., Tablo 4.46.) test ürünler (Lantan Formülasyonu ve SM/M Lantan Formülasyonu) referans ürün [Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)] ile benzerlik göstermektedir (131, 143, 147-149).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Günümüzde pek çok etkin maddenin suda çözünürlük sorununun olması ve buna bağlı olarak oral biyoyararlanımlarının/biyoaktivitelerinin düşük olması, araştırmacıları bu alanda değişik yöntemler geliştirmeye yönlendirmiştir. Bu yöntemler içerisinde mikrokristal/nanokristal teknolojisi, elde edilen ürünün güvenli olması, üretim teknolojisinin nispeten kolay olması, elde edilen ürünün çeşitli yollardan uygulanabilmesi gibi üstünlükler sağlamaktadır. Çözünürlüğü çok düşük olan etkin maddelerin mikrokristalleri/nanokristalleri hazırlanarak çözünme hızı ve dolayısıyla in-vivo biyoyararlanımlarının artabileceği birçok çalışmada belirtilmiştir. Bu doğrultuda tez çalışması kapsamında model ilaç olarak seçilen lantan karbonat etkin maddesinden hareketle bilyalı değirmen yöntemi ile partikül büyüklüğü submikron/mikron boyutuna indirgenerek uygun formülasyon olan SM/M Lantan Formülasyonu hazırlanmış ve aynı birim formüle sahip olacak şekilde işlem görmemiş etkin madde ile hazırlanmış formülasyon olan Lantan Formülasyonu ile hem çözünme hızı hem de buna bağlı olarak fosfat bağlama çalışmaları gerçekleştirilmiştir. SM/M Lantan Formülasyonu'na ilişkin çözünme hızı pH 1,2, pH 3,0 ve pH 5,0 ortamlarında Lantan Formülasyonu'na ve referans ürün olan Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'ye göre daha yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda yapılan kinetik bağlama çalışmaları sonucunda SM/M Lantan Formülasyonu'nun bağladığı fosfat miktarı hem Lantan Formülasyonu'na hem de referans ürün olan Fosrenol® 1000 mg Saşe (Shire DEV LLC., 1503011A)'ye göre daha fazla olmuştur.

Sonuç olarak; bu çalışma ile hemodiyaliz veya sürekli ayaktan periton diyalizi uygulanan kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda hiperfosfateminin kontrolü için fosfat bağlama ajanı olarak endike olarak kullanılan lantan karbonat etkin maddesinin submikron/mikron düzeyinde kristalleri hazırlanarak biyoaktivitesinin artırılması ve terapötik anlamda ilaçtan daha fazla yarar sağlanması, bu tez kapsamındaki çalışmalarla mümkün olmuştur. Klinik anlamda da 1000 mg doz ile sağlanan klinik yanıtın benzeri submikron/mikron düzeyinde kristalleri hazırlanan ürünün dozu azaltılarak (yan etkileri de doza bağımlı olarak azalacaktır) da sağlanabilecektir.

Çalışmanın bundan sonraki aşamasında özellikle ilaç endüstrisine yönelik üretim teknolojileri arasında çok fazla kullanılmayan bu tip teknolojilerin uygulanabilir hale getirilmesi için ölçek büyütme çalışmaları gerçekleştirilerek bu ve buna benzer diğer üretimlerin Türkiye'de yapılacak olması ile ülke ekonomisine büyük katkı sağlanacağı düşünülmektedir.



7. KAYNAKLAR

1. Zhang L, Webster TJ. Nanotechnology and nanomaterials: promises for improved tissue regeneration. *Nano Today*. 2009;4:66-80.
2. Sahoo SK, Labhasetwar V. Nanotech approaches to drug delivery and imaging. *Drug Discovery Today*. 2003;8(24):1112-1120.
3. Chan VSW. Nanomedicine: an unresolved regulatory issue. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2006;46:218–224.
4. Kas HS. İlaç taşıyıcı partiküler sistemler, “Kontrollü Salım Sistemleri” (Ed. A. Z. Gürsoy)’da, Elma Bilgisayar Basım ve Ambalaj San. Tic. Ltd. Şti., İstanbul, s. 65-102; 2002.
5. Birrenbach G, Speiser PP. Polymerized micelles and their use as adjuvants in immunology. *Journal of Pharmaceutial Sciences*. 1976;65:1763-1766.
6. Dobson P., Jarvie H, King S. Nanoparticle [Internet]. 2014 [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: <http://global.britannica.com/science/nanoparticle>
7. Foundation, NS, Nanoscience [Internet]. 2014 [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: <http://www.nsf.gov/news/overviews/nano/index.jsp>
8. Simone EA, Dziubla TD, Muzykantov VR. Polymeric carriers: role of geometry in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2008;5(12):1283-1300.
9. Oberdorster G, Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J, Ausman K, et al. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Particle and Fibre Toxicology*. 2005;2,8.
10. Guidance for industry considering whether an FDA-regulated product involves the application of nanotechnology. FDA; 2014.
11. Allemann E, Gurny R, Doelker E. Drug-loaded nanoparticles preparation methods and drug targeting issues. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 1993;39(5):173-191.
12. Kreuter J. Nanoparticles-preparation and applications; Microcapsules and nanoparticles in medicine and pharmacy. CRC Press Inc., USA.;s.125-148; 1992.
13. Kingsley JD, Dou H, Morehead J, Rabinow B, Gendelman HE, Destache CJ. Nanotechnology: a focus on nanoparticles as a drug delivery system. *Journal of NeuroImmune Pharmacology*. 2006; 1(3):340-350.
14. Mohanraj VJ, Chen Y. Nanoparticles-a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2006;5(1):561-573.
15. Moghimi SM, Hunter AC, Murray JC. Long-circulating and target specific nanoparticles: theory to practice. *Pharmacological Reviews*. 2001;53(2):283-318.
16. Panyam J, Labhasetwar V. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2003;55(3):329-347.

17. Mahapatro A, Singh DK. Biodegradable nanoparticles are excellent vehicle for site directed in-vivo delivery of drugs and vaccines. *Journal of Nanobiotechnology*. 2011;9,55.
18. Couvreur P, Kante B, Grislain L, Roland M, Speiser P. Toxicity of polyalkylcyanoacrylate nanoparticles II: doxorubicin-loaded nanoparticles. *Journal of Pharmaceutial Sciences*. 1982;71(7):790-792.
19. Lambert G, Fattal E, Couvreur P. Nanoparticulate systems for the delivery of antisense oligonucleotides. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2001;47(1):99-112.
20. Taglietti M, Hawkins CN, Rao J. Novel topical drug delivery systems and their potential use in acne vulgaris. *Skin Therapy Letter*. 2008;13(5):6-8.
21. Sarker DK. Engineering of nanoemulsions for drug delivery. *Current Drug Delivery*. 2005;2(4):297-310.
22. Drug delivery systems-markets and applications for nanotechnology derived drug delivery systems [Internet]. 2014 [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: www.azonano.com/details.asp
23. Leading edge predictors for drug discovery [Internet]. [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: http://www.chemsilico.com/CS_prWS/WSintro.html
24. Merisko-Liversidge E, Liversidge GG, Cooper ER. Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2003;18(2):113-120.
25. Bozkır A, Duman E. Lipozomların kan ve plazmadaki stabiliteleri, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi. 1996;25:1-13.
26. Senior JH, Trimble KR, Maskiewicz R, Interaction of positively-charged liposomes with blood: implications for their application in vivo. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1991;1070:173-179.
27. Couvreur R, Couarraze G, Devissaguet JP, Puisieux F. Nanoparticles: preparation and characterization. microencapsulation methods and industrial applications. Marcel Dekker Inc., New York, s. 183-211; 1996.
28. Demirel M, Yazan Y. Katı lipid nanopartiküller. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2000;25:167-179.
29. Yazan Y, Hekimoğlu S, Çalış S, Öner, L ve ark. *Farmasötik Teknoloji Temel Konular ve Dozaj Şekilleri*. İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği; 2004.
30. Lieberman HA, Lachman, L. *Pharmaceutical Dosage Forms*. New York and Basel:Marcel Dekker, Inc.; 1980.
31. Elder DP, Holm R, Diego HLD. Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. *International Journal of Pharmaceutics*. 2013;453(1):88-100.
32. De Zordi N, Moneghini M, Kikic I, Grassi M, Del Rio Castillo AE, Solinas D, et al. Applications of supercritical fluids to enhance the dissolution behaviors of Furosemide by generation of microparticles and solid dispersions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2012;81(1):131-141.

33. Wong SM, Kellaway IW, Murdan S. Enhancement of the dissolution rate and oral absorption of a poorly water soluble drug by formation of surfactant containing microparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;317(1):61-68.
34. Perrie Y, Rades T. Themed issue: Improve dissolution, solubility and bioavailability of poorly soluble drugs. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2010;62(11):1517-1518.
35. Coppola D. Nanocrystal technology targets poorly water soluble drugs. *Pharmaceutical Technology*. 2003;27(11):20.
36. Acartürk F, Ağabeyoğlu İ, Çelebi N, Değim T. *Modern Farmasötik Teknoloji*. Ankara: Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını.; 2006.
37. Keck CM, Müller RH. Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2006;62:3-16.
38. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1997;23:3-25.
39. Müller RH, Runge S, Ravelli V, Mehnert W, Thünemann AF, Souto EB. Oral bioavailability of cyclosporine: solid lipid nanoparticles (SLN[®]) versus drug nanocrystals. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;317:82-89.
40. Amidon GL, Lennernäs H, Shah VP, Crison JR. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research*. 1995;12(3):413-420.
41. Crisp MT, Tucker CJ, Rogers TL, Williams RO, Johnston KP. Turbidimetric measurement and prediction of dissolution rates of poorly soluble drug nanocrystals. *Journal of Controlled Release*. 2007;117:351-359.
42. Jinno J, Kamada N, Miyake M, Yamada K, Mukai T, Odomi M. Effect of particle size reduction on dissolution and oral absorption of a poorly water-soluble drug, cilostazol, in beagle dogs. *Journal of Controlled Release*. 2006;111: 56-64.
43. Guidance for Industry Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (FDA, CDER); 2017.
44. Venkatesh S, Lipper RA. Role of the development scientist in compound lead selection and optimization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2000; 89(2):145-154.
45. Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2002;45(12):2615-2623.

46. Jamzad S, Fasihi R. Role of surfactant and pH on dissolution properties of fenofibrate and glipizide-a technical note. *AAPS Pharmaceutical Science and Technology*. 2006;7(2):E1-E6.
47. Müller RH, Keck CM. Challenges and solutions for the delivery of biotech drugs: a review of drug nanocrystal technology and lipid nanoparticles. *Journal of Biotechnology*. 2004;113:151-170.
48. Kimura K, Hirayama F, Arima H, Uekama K. Effects of aging on crystallization, dissolution and absorption characteristics of amorphous tolbutamide-2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2000;48(5):646-650.
49. Law D, Wang W, Schmitt AE, Qiu Y, Krill SL, Fort JJ. Properties of rapidly dissolving eutectic mixtures of poly(ethylene glycol) and fenofibrate: the eutectic microstructure. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*. 2003;92(3):505-515.
50. Serajuddin ATM. Solid dispersion of poorly water-soluble drugs: early promises, subsequent problems, and recent breakthroughs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1999;88(10):1058-1066.
51. Pokharkar VB, Mandpe LP, Padamwar MN, Ambike AA, Mahadik KR, Paradkar A. Development, characterization and stabilization of amorphous form of a low tg drug. *Powder Technology*. 2006;167:20-25.
52. Waard H, Hinrichs WLJ, Frijlink HW. A novel bottom-up process to produce drug nanocrystals: controlled crystallization during freeze-drying. *Journal of Controlled Release*. 2008;128:179-183.
53. Gulsun T, Budak C, Vural I, Sahin S, Oner L. Preparation and characterization of nimesulide containing nanocrystal formulations. *Journal Pharmaceutical Development and Technology*. 2013;18(3):653-659.
54. Jens-Uwe AH, Junghanns RHM. Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. *International Journal of Nanomedicine*. 2008;3(3):295-309.
55. Hao L, Wang X, Zhang D, Xu Q, Song S, Wang F, et al. Studies on the preparation, characterization and pharmacokinetics of Amoitone B nanocrystals. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012;433(1-2):157-164.
56. Gulsun T, Gursoy RN, Oner L. Design and characterization of nanocrystal formulations containing ezetimibe. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2011;59(1):41-45.
57. Gulsun T, Gursoy RN, Oner L. Nanocrystal technology for oral delivery of poorly water-soluble drugs. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009;34:55-65.
58. Mauludin R, Müller RH, Keck CM. Development of an oral rutin nanocrystal formulation. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009;370: 202-209.
59. Sawant SV, Kadam DVJ, Jadhav DKR, Sankpal SV. Drug nanocrystals: novel technique for delivery of poorly soluble drugs. *International Journal of Science Innovations and Discoveries*. 2011;1:1-15.

60. Li W, Quan P, Zhang Y, Cheng J, Liu J, Cun D, Xiang R, Fang L. Influence of drug physicochemical properties on absorption of water insoluble drug nanosuspensions. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014;460:13-23.
61. Kocbek P, Baumgartner S, Kristl J. Preparation and evaluation of nanosuspensions for enhancing the dissolution of poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;312:179-186.
62. Blanco E, Shen H, Ferrari M. Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery. *Nature Biotechnology*. 2015;33(9):941-51.
63. Du J, Li X, Zhao H, Zhou Y, Wang L, Tian S, Wang Y. Nanosuspensions of poorly water- soluble drugs prepared by bottom-up technologies. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015; 495:738-49.
64. Chen H, Khemtong C, Yang X, Chang X, Gao J. Nanonization strategies for poorly watersoluble drugs. *Drug Discovery Today*. 2011;16(7-8):354-360.
65. Karakucuk A, Celebi N, Teksin ZS. Preparation of ritonavir nanosuspensions by microfluidization using polymeric stabilizers: I. A Design of Experiment approach. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;1(95):111-121.
66. Pawar VK, Singh Y, Meher JG, Gupta S, Chourasia MK. Engineered nanocrystal technology: in-vivo fate, targeting and applications in drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 2014;183:51-66.
67. Junyaprasert VB, Morakul B. Nanocrystals for enhancement of oral bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015;10:13-23.
68. Bacher C, Olsen PM, Bertelsen P, Sonnergaard JM. Compressibility and compactibility of granules produced by wet and dry granulation. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008;358:69-74.
69. Retsch-solutions in milling & sieving [Internet]. [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: <http://www.retsch.com>
70. Zhang J, Wu L, Chan H-K, Watanabe W. Formation, characterization, and fate of inhaled drug nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2011;63(6):441-55.
71. Khadka P, Ro J, Kim H, Kim I, Kim JT, Kim H, et al. Pharmaceutical particle technologies: an approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2014;9(6):304-16.
72. Jinno J, Kamada N, Miyake M, Yamada K, Mukai T, Odomi M. Effect of particle size reduction on dissolution and oral absorption of a poorly water-soluble drug, cilostazol, in beagle dogs. *Journal of Controlled Release*, 2006;111:56-64.
73. Technology focus helping you bring products to market [Internet]. [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: http://www.elan.com/Images/Elan_Technology_07v1_tcm3-17145.pdf

74. Teeranachaideekul V, Junyaprasert VB, Souto EB, Müller RH. Development of ascorbyl palmitate nanocrystals applying the nanosuspension technology. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008;354:227-334.
75. Möschwitzer JM, Achleitner G, Pomper H, Müller RH. Development of an intravenously injectable chemically stable aqueous omeprazole formulation using nanosuspension technology. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2004;58:615–619.
76. Lee J. Drug nano- and microparticles processed into solid dosage forms: physical properties. *Journal of Pharmaceutical Science*. 2003;92:2057-2068.
77. Yamada T, Siliškino N, Imai T, Otagiri M. Effect of grinding with hydroxypropyl cellulose on the dissolution and particle size of a poorly water soluble drug. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1999;47(9):1311-1313.
78. Liversidge GG, Conzentino P. Drug particle size reduction for decreasing gastric irritancy and enhancing absorption of naproxen in rats. *International Journal of Pharmaceutics*. 1995;125:309-313.
79. Kondo N, Iwao T, Masuda H, Yamanouchi K, Ishihara Y, Yamada N, et al. Improved oral absorption of a poorly water-soluble drug, ho-221, by wet-bead milling producing particles in submicron region. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1993;41(4):737-740.
80. Nakarani M, Patel P, Patel J, Patel P, Murthy RSR, Vaghani SS. Cyclosporine a-nanosuspension: formulation, characterization and in vivo comparison with a marketed formulation. *Scientia Pharmaceutica*. 2010;78:345-361.
81. Sardorood A, Moslehi M, Hamidi M. Preparation, optimization and in vitro characterization of nanosuspension of cyclosporine. *Research in Pharmaceutical Sciences*. 2012;7(5):287.
82. Sharma D, Chelvi TP, Kaur J, Chakravorty K, De TK, Milişkinra A, et al. Novel taxol® formulation: polyvinylpyrrolidone nanoparticle encapsulated taxol® for drug delivery in cancer therapy. *Oncology Research*. 1996;8(7-8):281-286.
83. Wu Y, Loper A, Landis E, Hettrick L, Novak L, Lynn K, Chen C, et al. The role of biopharmaceutics in the development of a clinical nanoparticle formulation of mk-0869: a beagle dog model predicts improved bioavailability and diminished food effect on absorption in human. *International Journal of Pharmaceutics*. 2004;285:135-146.
84. Merisko-Liversidge E. Nanocrystals: resolving pharmaceutical formulation issues associated with poorly water-soluble compounds. *Particles*; 2002.
85. Möschwitzer JP. Drug nanocrystals in the commercial pharmaceutical development process. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.09.034>
86. [No authors listed]. Overcoming poor oral bioavailability using nanoparticle formulations-opportunities and limitations. *Drug Discovery Today: Technologies*. 2012;9:71-174.

87. McCarberg BH, Cryer B. Evolving therapeutic strategies to improve nonsteroidal anti-inflammatory drug safety. *American Journal of Therapeutics*. 2015;22:e167–e178.
88. Solumatrix™ technology [Internet]. [Erişim Tarihi 09 Mayıs 2018]. Erişim adresi: <http://www.iceutica.com/solumatrix-technology/solumatrix-technology.php>.
89. Solumatrix™ technology pipeline [Internet]. [Erişim Tarihi 09 Mayıs 2018]. Erişim adresi: <http://www.iceutica.com/products/products.php>
90. FDA drug approvals and databases, ryanodex (dantrolene sodium) [Internet]. 2016 [Erişim Tarihi 14 Mart 2018]. Erişim adresi: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2014/205579Orig1s000TOC.cfm
91. FDA accepts for filing Alkermes' NDA for schizophrenia treatment [Internet]. 2017 [Erişim Tarihi 14 Mart 2018]. Erişim adresi: <https://www.pharmaceutical-technology.com/news/fda-accepts-filing-alkermes-nda-schizophrenia-treatment/>
92. DiMeglio LA, White KE, Econs MJ. Disorders of phosphate metabolism. *Endocrinology Metabolism Clinics of North America*. 2000;29(3):591-609.
93. Quarles LD. FGF23, PHEX, and MEPE regulation of phosphate homeostasis and skeletal mineralization. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2003;285(1):19.
94. Ersoy F, Diyaliz hastalarında fosfor bağlayıcı tedaviler [Internet]. 2017 [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: <http://www.diyaliz.net/singlepost/2017/08/29/Diyaliz-Hastalar%C4%B1nda-Fosfor-Ba%C4%9Flay%C4%B1c%C4%B1-Tedaviler>
95. Block GA, Klassen PS, Lazarus JM, Ofsthun N, Lowrie EG, Chertow GM. Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2004;1:697-703.
96. Moe SM, Chertow GM, The case against calcium based phosphate binders. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2006;15(8):2208-18.
97. Lowrie EG, Lew NL. Death risk in hemodialysis patients: the predictive value of commonly measured variables and evaluation of death rate differences between facilities. *American Journal of Kidney Diseases*. 1990;15:458-82.
98. Delmez J, Slatopolsky E. Hyperphosphatemia: its consequences and treatment in patients with chronic renal disease. *American Journal of Kidney Diseases*. 1992;4:303-317.
99. Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK. Association of serum phosphorus and calcium x phosphorus product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *American Journal of Kidney Diseases*. 1998;31:607-617.

100. Rostand SG, Sanders C, Kirk K, Rutsky EA, Fraser RG. Myocardial calcification and cardiac dysfunction in chronic renal failure. *The American Journal of Medicine*. 1988;85:6512-657.
101. Huting J. Mitral valve calcification as an index of left ventricular dysfunction in patients with end-stage renal disease on peritoneal dialysis. *Chest*. 1994;105:383-388.
102. Naveh-Many T, Rahamimov R, Livini N, Silver J. Parathyroid cell proliferation in normal and chronic renal failure rats: The effects of calcium, phosphate and vitamin D. *The Journal of Clinical Investigation*. 1995;96:1786-1793.
103. Slatopolsky E, Delmez J. Pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *American Journal of Kidney Diseases*. 1994;23:229-236.
104. Llach F. Secondary hyperparathyroidism in renal failure: the trade-off hypothesis revisited. *American Journal of Kidney Diseases*. 1995;25:663-679.
105. Rodriguez M, felsenfeld AJ, Dunlay R, Williams C, Pederson JA, Llach F. The effect of long-term intravenous calcitriol administration on parathyroid function in hemodialysis patients. *Journal of the American Society of Nephrology*. 1991;2:1014-1020.
106. Slatopolsky E, Finch J, Denda M, et al. Phosphorus restriction prevents parathyroid gland growth: high phosphorus directly stimulates PTH secretion in vitro. *The Journal of Clinical Investigation*. 1996;97:2534-2540.
107. Lerner AJ. Pseudohyperphosphatemia. *Clinical Biochemistry*. 1995;28(4):391-3.
108. London GM, Guerin AP, Marchais SJ, et al. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2003;18(9):1731-40.
109. Malluche HH, Monier-Faugere MC. Hyperphosphatemia: pharmacologic intervention yesterday, today and tomorrow. *Clinical Nephrology*. 2000;54(4):309-17.
110. Marcu CB, Hotchkiss M. Pseudohyperphosphatemia in a patient with multiple myeloma. *Connecticut Medicine*. 2004;68(2):71-2.
111. Narchi H. Hyperostosis with hyperphosphatemia: evidence of familial occurrence and association with tumoral calcinosis. *Pediatrics*. 1997;99(5):745-8.
112. Cozzolino M, Dusso AS, Slatopolsky E. Role of calcium-phosphate product and bone-associated proteins on vascular calcification in renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2001;12(11):2511-6.
113. Ribeiro S, Ramos A, Brandao A, et al. Cardiac valve calcification in haemodialysis patients: role of calcium- phosphate metabolism. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1998;13(8):2037-40.
114. Slatopolsky E, Brown A, Dusso A. Role of phosphorus in the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *American Journal of Kidney Diseases*. 2001;37(1 Suppl 2):S54-7.

115. Hou SH, Zhao J, Ellman CF, et al. Calcium and phosphorus fluxes during hemodialysis with low calcium dialysate. *American Journal of Kidney Diseases*. 1991;18:217-224.
116. Delmez JA, Slatopolsky E, Martin KJ, Gearing B, Harter H. Minerals, vitamin D and parathyroid hormone in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney International*. 1982;21:862-867.
117. Nucsí I, Herez G, Uldall R, Ouwendyk M, Francoeur R, Pierratos A. Control of serum phosphate binders in patients treated with nocturnal hemodialysis. *Kidney International*. 1998;53:1399-1404.
118. Hertz G, Coburn JW. Prevention of phosphate retention and hyperphosphatemia in uremia. *Kidney International*. 1987;22: 215-220.
119. Sheikh MS, Maguire JA, Emmeth M, Santa Ana CA, Nicari MJ, Schiller LR. Reduction of dietary phosphorus by phosphorus binders. A theoretical, in vitro, and in vivo study. *The Journal of Clinical Investigation*. 1989;83:66-73.
120. Schiller LR, Santa Ana CA, Sheikh MS, Emmeth M, Fordtran JS. Effect of the time administration of calcium acetate on phosphorus binding. *The New England Journal of Medicine*. 1989;320:1110-1113.
121. Mai ML, Emmeth M, Sheikh MS, Santa Ana CA, Schiller LR, Fordtran JS. Calcium acetate, an effective phosphorus binder in patients with renal failure. *Kidney International*. 1989;36:690-695.
122. Fournier A, Moriniere P, Sebert JL, Dhissi H, Atik A, Leflon P. Calcium carbonate, an aluminium free agent for control of hyperphosphatemia, hypocalcemia and hyperparathyroidism. *Kidney International*. 1986;29(Suppl):S114-119.
123. Meriç F, Yap B, Bia MJ. Etiology of hypercalcemia in hemodialysis patients on calcium carbonate therapy. *American Journal of Kidney Diseases*. 1990;16:459-464.
124. Armstrong A, Beer J, Noonan K, Cunningham J. Reduced calcium dialysate in CAPD patients: efficacy and limitations. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1997;12:1223-1228.
125. Passlick J, Wilhem M, Busch T, Grabense B, Ohnesorge FK. Calcium alginate, an aluminium-free phosphate binder in patients on CAPD. *Clinical Nephrology*. 1989;32:96-100.
126. Moriniere P, Vinatier I, Westeel PF, Cohemsolal M, Belbrik S, Abdulmassih Z. Magnesium hydroxide as complementary aluminium-free phosphate binder to moderate doses of oral calcium in uraemic patients on chronic haemodialysis: lack of deleterious effect on bone mineralisation. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1988;3:651-656.
127. Bleyer AJ, Burke SK, Dillon M, et al. A comparison of the calcium-free phosphate binder sevelamer hydrochloride with calcium acetate in the treatment of hyperphosphatemia in hemodialysis patients. *American Journal of Kidney Diseases*. 1999;33(4):694-701.

128. Lanthanum carbonate Drug Master File, Mylan Laboratories Limited, India, 2015, Doc. No. : MLL/LNC/DMF/005/01/Nov.2015.
129. FDA, Orange book: Approved drug products with therapeutic equivalence evaluations [Internet]. [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/ob/results_product.cfm?Appl_Type=N&Appl_No=204734.
130. FDA, Dissolution methods [Internet]. [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_SearchResults.cfm
131. FDA, Draft guidance on lanthanum carbonate powder; oral [Internet]. [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM452777.pdf>
132. Works AB, Twist J, Noe O. Disintegrable formulations of lanthanum carbonate, WO2010085520A1. 2010.
133. Ferdinando JC, Davies PN. Stabilized Lanthanum Carbonate Compositions, US7381428B2. 2008.
134. Product Information, Fosrenol[®] (lanthanum carbonate) chewable tablets 500-750-1000 mg oral powder 750-1000 mg [Internet]. [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: https://pi.shirecontent.com/PI/PDFs/Fosrenol_USA_ENG.pdf
135. Hutchison AJ. The novel, non-aluminum, non-calcium phosphate binder, lanthanum carbonate (Fosrenol[™]) , is an effective treatment for hyperphosphatemia and has a good safety profile. Journal of the American Society of Nephrology. 2002;13Suppl:385A-6A.
136. Finn WF, Joy MS, Webster I. Lanthanum carbonate vs standard therapy in hyperphosphatemia: interim findings from a 2-year safety and outcomes study. Journal of the American Society of Nephrology. 2003;14Suppl:764A.
137. RxMediaPharma[®] 2018, İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı, Antax oral toz içeren saşe kısa ürün bilgisi.
138. Dewberry K, Fox JS, Stewart J, Murray JR, Hutchison AJ. Lanthanum carbonate: a novel non-calcium containing phosphate binder. Journal of the American Society of Nephrology. 1997;8:560.
139. Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review, Division of Pharmaceutical Evaluation I, Fosrenol[®] Chewable Tablets, NDA Application; 2002.
140. Medication Guide Fosrenol[®] (foss-wren-all) (lanthanum carbonate) [Internet]. 2014 [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: <https://online.lexi.com/lco/medguides/618875.pdf>
141. Package leaflet: information for the patient fosrenol 750 mg oral powder Fosrenol 1000 mg oral powder lanthanum [Internet]. 2016 [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: <https://www.medicines.org.uk/emc/files/pil.4166.pdf>

142. Public assessment report scientific discussion Fosrenol (lanthanum) SE/H/481/01-04/E01 [Internet]. 2006 [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: <https://db.cbg-meb.nl/Pars/h31929.pdf>
143. Yongsheng Y, Rakhi BS, Lawrence XY, Mansoor A. K. In-vitro bioequivalence approach for a locally acting gastrointestinal drug: lanthanum carbonate. *Molecular Pharmaceutics*. 2013;10:544–550.
144. ICH harmonized tripartite guideline: validation of analytical procedures: text and methodology [Internet]. 2005 [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf
145. United States Pharmacopeia- USP 32: validation of compendial methods-validation <1225> [Internet]. [Erişim Tarihi 05 Mart 2018]. Erişim adresi: https://hmc.usp.org/sites/default/files/documents/HMC/GCsPdfs/c1225_1SUSP40.pdf
146. Guideline on the investigation of bioequivalence, EMEA; London, 20 January 2010, Doc. Ref.: CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1/ Corr.
147. Yongsheng Y, Srikant B, Alan S, Carlin RBS, Lawrence X. Yu & Mansoor AK. Comparative evaluation of the in-vitro efficacy of lanthanum carbonate chewable tablets, *Journal of Pharmaceutical Science*. 2013;102(4):1370-1381.
148. Venkata VV, Gopichand I, Sudhakar RV, Sreeramulu J, Comparison of binding parameter constants between lanthanum carbonate chewable tablets and fosrenol tablets by a validated inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES). *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars*. 2014;3(1):718-731.
149. Anqi H, Fengshan Z, Fang Y, Ying Z, Xiren H, Xin Z, Ran G, Xing Z, Yan S, Ming H, Qin L, Zhanlan Y, Yizhuang X, Jinguang W. Preparation and characterization of lanthanum carbonate octahydrate for the treatment of hyperphosphatemia. *Journal of Spectroscopy*. 2013;1:1-6.
150. Shim-pack IC-A1/A2 high performance packed column for high performance ion chromatography instruction manual.
151. Sinha S, Ali M, Baboota S, et al. Solid dispersion as an approach for bioavailability enhancement of poorly water- soluble drug ritonavir. *AAPS Pharmaceutical Science and Technology*. 2009;11(2):518-527.
152. Sharma D, Soni M, Kumar S, Gupta GD. Solubility enhancement eminent role in poorly soluble drugs. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2009;2:220-224.
153. Van den Mooter G. Solid dispersions as a formulation strategy for poorly soluble compounds. 20th Annual Symposium of the Finish Society of Physical Pharmacy. 2009.
154. AK D, RP S, Stuti S. Solid dispersion-a strategy for improving the solubility of poorly soluble drugs. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2012;3(2):960-966.

155. Aggarwal S, Gupta GD, Chaudhary S. Solid dispersion as an eminent strategic approach in solubility enhancement of poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2010;1:1-13.
156. Leuner C, Dressman J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2000;50:47-60.



8. EKLER

EK-1 : Tez Kapsamında Yapılan Çalışmalar

PATENT

1. Pinarbasli O, Sahin S, Eroglu H, Oner L. Formulations increasing bioactivity of lanthanum carbonate and methods of their preparation, PCT Başvurusu, 2018, (başvuru aşamasında).

YAYIN

1. Pinarbasli O, Sahin S, Eroglu H, Oner L. Formulation, in-vitro evaluation and bioactivity enhancement of lanthanum carbonate. 2018, (gönderildi).

BİLDİRİLER

1. Pinarbasli O, Sahin S, Eroglu H, Oner L. Preparation and in-vitro evaluation of lanthanum carbonate formulations. 19th International Pharmaceutical Technology Symposium. 17-19 Eylül 2018, Antalya-Türkiye.2018, (gönderildi).
2. Pinarbasli O, Sahin S, Eroglu H, Oner L. Evaluation of formulations for enhancing the bioactivity of lanthanum carbonate. 19th International Pharmaceutical Technology Symposium, 17-19 Eylül 2018, Antalya-Türkiye.2018, (gönderildi).

9. ÖZGEÇMİŞ

UZM. ECZ. ONUR PINARBAŞLI



Doğum Tarihi : 21.08.1983
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri : Burdur, Türkiye
Medeni Durumu : Evli
Askerlik Durumu : Terhis / 31 Mart 2009
Sürücü Belgesi : B sınıfı sürücü belgesi /2001
Adres (Ev) : Arinna Park Sitesi, 4. Blok, No: 24/ Kat: 11 Çayyolu/ANKARA
(İş) : Hacettepe Üniversitesi Beytepe Kampüsü Üniversiteler Mahallesi
1596.Cadde İlko Argem Binası, Beytepe / ANKARA
Telefon (İş) : +90 312 248 68 00 / +90 312 248 68 40
(Cep) : +90 533 368 41 90
E-Mail : opinarbasli@ilko.com.tr
onurpinarbasli@hacettepe.edu.tr

EĞİTİM DURUMU

- 2014 – :** Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Bilim Dalı, Sıhhiye, Ankara
Doktora
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Levent ÖNER
- 2005 – 2008 :** Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Sıhhiye, Ankara
Bilim Uzmanlığı / Yüksek Lisans,
Not Ortalaması : 3.94/4.00
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Yılmaz ÇAPAN/
Ortak Tez Danışmanı : Prof. Dr. Turgay DALKARA
- 2001 – 2005 :** Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Eczacı
Mezuniyet / Not Ortalaması : Haziran 2005 / 3.40/4.00 (Dönem 5.liği)
- 1998- 2001 :** Burdur Anadolu Lisesi/Anadolu Liseleri
Lise, Sayısal Bölüm
Mezuniyet / Not Ortalaması : Haziran 2001 / 5.00/5.00 (Dönem 1.liği)

PROFESYONEL TECRÜBE

2016 –	:	İLKO Araştırma ve Geliştirme Merkezi Ar-Ge Müdürü
2014 – 2016	:	İLKO Araştırma ve Geliştirme Merkezi Ar-Ge Yöneticisi
2013 – 2014	:	İLKO Araştırma ve Geliştirme Merkezi Ar-Ge Sorumlu Uzmanı
2009 – 2012	:	İLKO Araştırma ve Geliştirme Merkezi Ar-Ge Uzmanı
2008 – 2009	:	Milli Savunma Bakanlığı (MSB) ilaç Fabrikası Komutanlığı / Ordu İlaç Fabrikası-Ar-Ge ve Üretim Dept.
2004 Yaz Dönemi : (6 Hafta)	:	Pfizer İlaçları LTD.ŞTİ. İstanbul – Türkiye Kalite Kontrol/Üretim – İmalat Stajyeri (İlaç Endüstrisi Stajı)

ÇALIŞMA ALANLARI

- İlaç, Tıbbi Cihaz ve Gıda Takviyesi Grubu Katı, Yarı Katı, Sıvı Dozaj Formları
- İleri Teknolojiye Dayalı Katı Dozaj Formları
 - ✓ Kontrollü Salım / Mikropellet Kapsül ve MUPS Tablet Teknolojisi
 - ✓ Membran difüzyon Kontrollü Salım Teknolojisi
 - ✓ Geciktirilmiş Salım Sağlayan İlaç Teknolojisi
 - ✓ Geciktirilmiş Salım Sağlayan Core-in Tablet Teknolojisi
 - ✓ Bilayer Tablet Teknolojisi
- Nanoteknoloji-Kontrollü Salım Sağlayan Dozaj Formları
 - ✓ Nanopartikül Formülasyonları
 - ✓ Mikroküre Formülasyonları
- Biyofarmasötik-Farmakokinetik
 - ✓ Biyoeşdeğerlik-Biyoyararlanım Çalışmaları
- Biyouyumluluk Çalışmaları
- Fikri Mülkiyet Hakları ve İlaçta Patent
- Yeni İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanılan Doğal ve Sentetik Polimerler
 - ✓ Bovine Serum Albumine (BSA)
 - ✓ Poli(laktit-ko glikolik asit) (PLGA)
 - ✓ Kitosan
- Nörodejeneratif Hastalıklar (Beyin İskemisi)

AKADEMİK ALAN FAALİYETLERİ

ÖDÜLLER VE BURSLAR

1. **“Yurt İçi Yüksek Lisans Bursu”** TÜBİTAK-BİDEB, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Grubu- Bilim İnsanı Destekleme Başkanlığı, 2006-2008.
2. **“Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi 5.'likle Bitirme Ödülü”** Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 2005.
3. **“Farmasötik Kimya En İyi Sözlü Sunum Ödülü”** Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya ABD., 2005.
4. **“Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Üstün Başarı Belgesi”** Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 2004.

DAVETLİ KONUŞMACI

1. Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı Seminerleri – 2007-2008 Bahar Dönemi, **“PBN içeren nanopartiküler taşıyıcı sistemlerin formülasyonu ve in vitro değerlendirilmesi”**, 13 Mart 2008, Ankara.

YAYINLAR

▪ KİTAP BÖLÜMLERİ

1. **Onur Pinarbasli**, Yesim Aktas, Yilmaz Capan, Development and Validation of an Analytical Method for The Determination of PBN from Chitosan Nanoparticles; In: Advances in Chitin Science. S.Senel, K.M. Varum, M.M. Sumnu, A.A. Hincal (Eds), Alp Ofset, Ankara, Vol X, pp: 370-375, 2007.

▪ ULUSLARARASI HAKEMLİ DERGİLER

1. **Pinarbasli O**, Sahin S, Eroglu H, Oner L. Formulation, in-vitro evaluation and bioactivity enhancement of lanthanum carbonate. 2018, (gönderildi).

2. Aslıhan Arslan, Burcu Bulut, **Onur Pınarbaşlı**, Yılmaz Çapan, Hatice Öncel, Bioequivalence Study of Morphine Sulfate Controlled Release Tablets in Healthy Volunteers, Modern Applications of Bioequivalence & Bioavailability (MABB), 3(5):1-8,2018.
3. Karatas, H., Aktas, Y., Gursoy-Ozdemir, Y., Bodur, E., Yemisci, M., Caban, S., Vural, A., **Pınarbasli, O.**, Capan, Y., Fernandez-Megia, E., Novoa Carballal, R., Riguera, R., Andrieux, K., Couvreur, P., Dalkara, T., A nano-medicine transports a peptide caspase-3 inhibitor across the blood-brain barrier and provides neuroprotection, J. Neuroscience 29 (44):13761-9, 2009.
4. **Pınarbasli, O.**, Aktas, Y., Dalkara, T., Andrieux, K., Alonso, M.J., Fernandez-Megia, E., R. Novoa-Carballal, R., Riguera, R., Couvreur, P., Capan, Y. Preparation and 7 Evaluation of PBN-Encapsulated Chitosan and PEGylated Chitosan Nanoparticles, Pharmazie, 64(7):436-9, 2009.

SUNUMLAR

▪ SÖZLÜ SUNUMLAR (ULUSLARARASI)

1. Yesim Aktas, **Onur Pınarbasli**, Hulya Karatas, Yasemin Ozdemir, Muge Yemisci, Yilmaz Capan, Karine Andrieux , Maria Jose Alonso, Patrick Couvreur, Turgay Dalkara, In Vivo Evaluation Of The Efficacy Of Brain Targeted Chitosan Nanoparticles Containing Z-DEVD-FMK On Infarct Volume; 6th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 7-10 April , 2008, Barcelona, SPAIN.

▪ POSTER SUNUMLARI (ULUSLARARASI)

1. **Pınarbasli O**, Sahin S, Eroglu H, Oner L. Preparation and in-vitro evaluation of lanthanum carbonate formulations. 19th International Pharmaceutical Technology Symposium. 17-19 Eylül 2018, Antalya-Türkiye.2018, (gönderildi).

2. **Pinarbasli O**, Sahin S, Eroglu H, Oner L. Evaluation of formulations for enhancing the bioactivity of lanthanum carbonate. 19th International Pharmaceutical Technology Symposium, 17-19 Eylül 2018, Antalya-Türkiye.2018, (gönderildi).
3. H. Karatas, Y. Aktas, Y. Gursoy-Ozdemir, E. Bodur, M. Yemisci, **O. Pinarbasli**, S. Caban, Y. Capan, E. Fernandez-Megia, R. Novoa-Carballal, R. Riguera, K. Andrieux, P. Couvreur, T. Dalkara, A nano-medicine transports a peptide caspase-3 inhibitor across the blood-brain barrier (BBB) and provides neuroprotection; 2009 AAPS Annual Meeting and Exposition, November 8-12, 2009, Los Angeles, CA, USA
4. **Onur Pinarbasli**, Yesim Aktas, Yasemin Ozdemir, Turgay Dalkara, Karine Andrieux, Maria Jose Alonso, Eduardo Fernandez-Megia, Ramon Novoa-Carballal, Ricardo Riguera , Patrick Couvreur, Yilmaz Capan, Formulation Of PEG Functionalized Chitosan Nanoparticles For Brain Delivery Of PBN; 13th International Pharmaceutical Technology Symposium, September 06-10, 2008, Antalya Turkey.
5. Figen Tirnaksiz, Seyda Akkus, **Onur Pinarbasli**, Development Of A Nanoemulsion System Containing Kinetin; Innovation in drug delivery: from biomaterials to devices, 30 September - 3 October, 2007, Naples-ITALY.
6. **Onur Pinarbasli**, Yesim Aktas, Yilmaz Capan, Development and Validation of an Analytical Method for The Determination of PBN from Chitosan Nanoparticles; 8th International Conference of the European Chitin Society- EUCHIS' 07. 8-11 September 2007, Antalya-TURKEY.
7. **Onur Pinarbasli**, Yeşim Aktas, Meltem Cetin, Yilmaz Capan. Preparation of Chitosan Nanoparticles Encapsulating Bovine Serum Albumin; 34th Annual Meeting & Exposition of The Controlled Release Society July 7-11, 2007, Long Beach Convention Center Long Beach, California-U.S.A.
8. **Onur Pinarbasli**, Yeşim Aktas, Meltem Cetin, Yilmaz Capan. Preparation of Chitosan Nanoparticles Encapsulating Bovine Serum Albumin; 34th Annual Meeting & Exposition of The Controlled Release Society July 7-11, 2007, Long Beach Convention Center Long Beach, California-U.S.A.

9. **Onur Pinarbaşlı**, Meltem Cetin, Yesim Aktas , Yılmaz Capan. Preparation and Characterization of BSA-loaded Chitosan Nanoparticles; PSWC 2007 – Pharmaceutical Sciences World Congress, 22-25 April 2007, Amsterdam / THE NETHERLANDS.

BİLİMSEL DERNEKLERE ÜYELİKLER

1. American Association of Pharmaceutical Scientists – AAPS
2. Türk Farmasötik Teknoloji Araştırmacıları Derneği – TÜFTAD
3. Türk Farmakopesi Çalışma Grubu
4. İlaç Endüstrisi İşverenler Sendikası (İEİS) Arge Çalışma Grubu
5. Hacettepe Eczacılık Teknolojisi Derneği (HETEK)

PATENTLER

1. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pinarbaşlı**, Burcu Yılmaz, G. Pelin Gurbetoğlu, Asuman Aybey, Nagehan Sarraçoğlu. Rasekadotril ve Farmasötik Bileşimleri, TR2018/01726 T4; 2018.
2. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pinarbaşlı**, Burcu Yılmaz, G. Pelin Gurbetoğlu, Asuman Aybey, Nagehan Sarraçoğlu. Racecadotril and pharmaceutical compositions thereof, EP2 749 270 B1; 2018.
3. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pinarbaşlı**, Burcu Yılmaz, G. Pelin Gurbetoğlu. Rasekadotril ve Farmasötik Bileşimleri, TR2012/15298 (İncelemesiz Patent); 2014.
4. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pinarbaşlı**, Burcu Yılmaz, Nagehan Sarraçoğlu. Rasekadotril'in iyileştirilmiş farmasötik bileşimleri, TR2017/00936.
5. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pinarbaşlı**, Sibel Akansel, Nagehan Sarraçoğlu. Antiparkinson Tablet Formulation with Improved Dissolution, Profile, PCT/TR2016/050292.

6. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pınarbaşı**, Sibel Akansel, Nagehan Sarraçoğlu. Pharmaceutical Composition of Antidiabetic Tablet, PCT/TR2016/050293.
7. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pınarbaşı**, Sibel Akansel. Time-controlled Prednisone delayed release tablet, WO2016/114726 A1.
8. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pınarbaşı**, Aslıhan Arslan, Nagehan Sarraçoğlu. A stable bilayer pharmaceutical tablet compositions comprising fixed dose of irbesartan and amlodipine, WO2016/114725 A1/ EP 15705399.2; 2017.
9. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pınarbaşı**, Burcu Yılmaz, Nagehan Sarraçoğlu. Spray Formulation Comprising Cholecalciferol (Vitamin D3) with Improved Stability, PCT/TR2017/050101.
10. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pınarbaşı**, Burcu Yılmaz, Nagehan Sarraçoğlu. Stabilitesi İyileştirilmiş Kolekalsiferol (Vitamin D3) İçeren Sprey Formülasyonu, TR2017/16763.
11. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pınarbaşı**, Feriştah Bilgin, Nagehan Sarraçoğlu. Stabilized Pharmaceutical Syrup Composition Comprising Terbutaline Sulphate and Ambroxol Hydrochloride, PCT/TR2017/050118.
12. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pınarbaşı**, Aslıhan Arslan, Nagehan Sarraçoğlu. Formulation and Optimization of Controlled Release Tablets of Morphine Sulphate, PCT/TR2017/050178.
13. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pınarbaşı**, Aslıhan Arslan, Nagehan Sarraçoğlu. Morfin Sülfat Kontrollü Salım Sağlayan Tablet Formülasyonu ve Optimizasyonu, TR2017/07114.
14. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pınarbaşı**, Sibel Akansel, Nagehan Sarraçoğlu. Formulation of Deferasirox Tablet for Oral Suspension Composition with Allowing for Better Processability PCT/TR2017/050180.
15. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pınarbaşı**, Sibel Akansel, Nagehan Sarraçoğlu. Pharmaceutical Composition of Levocloperastine Fendizoate Suspension having Enhanced Dissolution and Resuspendability, PCT/TR2017/050290.

16. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pınarbaşlı**, Sibel Akansel, Nagehan Sarraçoğlu. Renk Stabilitesi Sağlanmış Ibuprofen ve Parasetamol Sabit Doz Tablet Kombinasyonu, TR2017/19166.
17. Hatice Öncel, Yılmaz Çapan, **Onur Pınarbaşlı**, Sibel Akansel, Nagehan Sarraçoğlu. Color Stable Fixed Dose Tablet Combination of Ibuprofen and Paracetamol, PCT/TR2017/050678.
18. **Pınarbasli O**, Sahin S, Eroglu H, Oner L. Formulations increasing bioactivity of lanthanum carbonate and methods of their preparation, PCT Başvurusu, 2018.

