

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Kardiyovasküler Hastalıklar İçin Sabit Doz Kombinasyonunda  
Ağızda Dağılan Dozaj Formlarının Geliştirilmesi ve *In vitro*  
Yöntemlerle Değerlendirilmesi**

Ecz. Şemsi MURATOĞLU

**Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı  
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA**

**2025**



T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Kardiyovasküler Hastalıklar İçin Sabit Doz Kombinasyonunda  
Ağızda Dağılan Dozaj Formlarının Geliştirilmesi ve *In vitro*  
Yöntemlerle Değerlendirilmesi**

Ecz. Şemsi MURATOĞLU

**Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı  
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Selma ŞAHİN**

**ANKARA  
2025**

**KARDİOVASKÜLER HASTALIKLAR İÇİN SABİT DOZ KOMBİNASYONUNDA AĞIZDA  
DAĞILAN DOZAJ FORMLARININ GELİŞTİRİLMESİ VE IN VİTRO YÖNTEMLERLE  
DEĞERLENDİRİLMESİ  
Şemsi MURATOĞLU  
Danışman: Prof. Dr. Selma ŞAHİN**

Bu tez çalışması 16/01/2025 tarihinde jürimiz tarafından "Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı" nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

|                      |                                                               |        |
|----------------------|---------------------------------------------------------------|--------|
| <b>Jüri Başkanı:</b> | <i>Prof. Dr. Levent ÖNER</i><br>(Hacettepe Üniversitesi)      | (imza) |
| <b>Üye:</b>          | <i>Prof. Dr. F. Nevin ÇELEBİ</i><br>(Başkent Üniversitesi)    | (imza) |
| <b>Üye:</b>          | <i>Prof. Dr. İmran VURAL</i><br>(Hacettepe Üniversitesi)      | (imza) |
| <b>Üye:</b>          | <i>Prof. Dr. Tuba İNCEÇAYIR</i><br>(Gazi Üniversitesi)        | (imza) |
| <b>Üye:</b>          | <i>Doç. Dr. Tuğba GÜLSÜN İNAL</i><br>(Hacettepe Üniversitesi) | (imza) |

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

10 Ocak 2025

**Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN**  
**Enstitü Müdürü**

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine 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.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan "**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**" kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- ✗ Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>

16 /01/2015

(İmza)

Şemsi MURATOĞLU

<sup>(1)</sup> "Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge"

(1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılmaması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.

(2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullandığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.

(3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlerle ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.

Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

\* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

## 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, tez danışmanım Prof. Dr., Selma ŞAHİN danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

(İmza)

Ecz. Şemsi MURATOĞLU

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca bana sınırsız desteği, bilgeliği ve yol göstericiliği ile arkamda duran, hayattaki duruşu ve manevi özgül ağırlığı ile her zaman rol modelim olacak sayın hocam Prof. Dr. Selma ŞAHİN'e sonsuz ve içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez izleme komitemde emek veren kıymetli hocalarım Prof. Dr. İmran VURAL ve Prof. Dr. Tuba İNCEÇAYIR'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım esnasında sayısız aşamada koşulsuz destek sunan hocalarım Doç. Dr. Tuğba GÜLSÜN İNAL, Doç. Dr. Murat İNAL ve Dr. Öğr. Üyesi Huriye DEMİR KABAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Lisans hayatımdan bu yana bana mentorluk etmekten geri durmayan hocalarım Prof. Dr. Levent ÖNER ve Prof. Dr. Sibel PEHLİVAN hocalarıma teşekkür ederim.

Deneyisel çalışmalarım dahil pek çok süreçte sınırsız destek alabildiğim Doç. Dr. Yağmur AKDAĞ ÇAYLI, Doç. Dr. Ayşegül DOĞAN ve Dr. Öğr. Üyesi Eren AYTEKİN'e ve anabilim dalımızdaki tüm hocalarıma çok teşekkür ederim. Anabilim dalımızda görev yapan teknik ve idari personele sağladıkları tüm destek için şükranlarımı sunarım.

Ekip arkadaşlarım Dr. Ecz. Fatma KIR ve Ecz. Meryem ERMİŞ başta olmak üzere laboratuvar arkadaşlarım Ecz. Furkan KILINBOZ, Ecz. Yeliz FİDAN, Ecz. Stela MUCAJ, Ecz. Osman DOĞAN, Ecz. Alperen AĞCA ve tüm arkadaşlarıma yardımları ve arkadaşlıkları için teşekkür ederim.

Doktora sürecimde koşulsuz şartsız desteklerini sürekli hissettiğim arkadaşlarım Ecz. Çiğdem EDİZ, Dr. Öğr. Üyesi Emre KARA ve Dr. Ecz. Melda BAHAP KARA'ya çok teşekkür ederim.

Hayata gözümü açtığım ilk andan itibaren yol göstericim ve turnusolüm olan, varlığı ile kendimi her zaman güçlü hissettiğim Anneme, küçük erkek kardeş olma konforunu sağlayan ve destekçim olan Ablama, öteki tekim ve pek çok eksik parçamın tamamlayıcısı İkiz Kardeşim'e çok teşekkür ederim.

Tez sürecimde burs imkânı sağlayan Yüksek Öğretim Kurulu'na (YÖK 100/2000 Doktora Bursu) teşekkür ederim.

## ÖZET

**MURATOĞLU Ş., Kardiyovasküler Hastalıklar İçin Sabit Doz Kombinasyonunda Ağızda Dağılan Dozaj Formlarının Geliştirilmesi ve In vitro Yöntemlerle Değerlendirilmesi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı, Doktora Tezi, Ankara, 2025.** Hipertansiyon ve dislipidemi, yaşamı tehdit eden önemli bir sağlık sorunu olan kardiyovasküler hastalıklar için önemli risk faktörleridir. Amlodipin besilat (AML), hipertansiyon tedavisinde kullanılan acı tada sahip BSS sınıf I etkin maddedir. Rosuvastatin kalsiyum (ROS), dislipidemi tedavisinde kullanılan düşük çözünürlüklü BSS sınıf II etkin maddedir. Bu tez çalışması kapsamında AML ve ROS etkin maddelerinin sabit doz kombinasyonunda ağızda dağılan dozaj formlarının (ADT ve ADF) geliştirilmesi amaçlanmıştır. AML ve ROS etkin maddelerinin tek başına ve kombinasyon halinde doyumluk çözünürlüğü çalışmaları yapılmıştır. AML etkin maddesinin acı tadını maskelemek amacıyla siklodekstrin inklüzyon kompleksi ve katı dispersiyonu hazırlanmıştır. ROS etkin maddesinin çözünürlüğünü artırmak amacıyla siklodekstrin inklüzyon kompleksi ve elektro-eğrilmiş film formülasyonları hazırlanmıştır. ADT formülasyonlarının geliştirilmesinde SeDeM-ODT uzman sistemi kullanılmıştır. Sistemin sunduğu optimum ADT formülasyonundan hareketle 4 ADT formülasyonu (PAÇ, AMLCD, ROSCD ve AMLEUD) hazırlanmış ve *in vitro* karakterizasyonları yapılmıştır. ADF üretimi için yüksek yüzey alanı ve ilaç yükleme kapasitesi nedeniyle elektro-eğirme yöntemi tercih edilmiştir. İki farklı ADF formülasyonu (ADF-1 ve ADF-2) geliştirilmiş ve *in vitro* karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Numunelerin analizi için HPLC yöntemi geliştirilerek valide edilmiştir. İki etkin maddenin de çözünürlüğünün diğer etkin madde varlığında azaldığı tespit edilmiştir. ADT formülasyonlarından AMLCD ve AMLEUD tabletleri AML için pH 1,2 'de 15 dakika içerisinde %90'dan fazla çözünme gösterirken ROS için ise pH 6,8'de 30 dakikada %90 çözünme göstermiştir. Hızlandırılmış stabilite çalışmalarında AMLCD ve AMLEUD tabletlerinde her iki etkin madde içeriği %90'dan fazla korumuş ve *in vitro* karakterizasyon özelliklerinde önemli bir değişiklik olmamıştır. ADF-1 ve ADF-2 formülasyonları çok hızlı dağılma (yaklaşık 1 sn) ve *in vitro* çözünme çalışmalarında üç ortamda da (pH1,2, pH4,5 ve pH 6,8) 5 dakikada %90'dan fazla çözünme göstermiştir. ADF-1 formülasyonu mekanik mukavemet değerlendirmelerinde ADF-2'ye kıyasla daha yüksek Young's modülü değeri göstermiş ve yapılan uzun dönem stabilite çalışmalarında içerik tekdüzeliğini ve *in vitro* karakterizasyon özelliklerini korumuştur. Geliştirilen ADT ve ADF formülasyonlarının, kullanılan yardımcı maddelerin ve etkin maddelerin eş zamanlı kullanımının ilaç permeabilitelerine etkisini değerlendirebilmek amacıyla Caco-2 permeabilite çalışmaları yapılmıştır. Her iki etkin madde de karışım halinde ve formülasyonda iken yüksek permeabilite göstermiştir. Tez çalışmaların elde edilen bulgular AML ve ROS etkin maddelerini sabit doz kombinasyonunda içeren ADT ve ADF formülasyonlarının başarıyla geliştirildiğini göstermiştir.

### Anahtar Kelimeler:

Amlodipin besilat, Rosuvastatin kalsiyum, Ağızda dağılan film, Ağızda dağılan tablet, Elektro-eğirme

**Destekleyen Kurumlar:** Yükseköğretim Kurulu (YÖK) 100/2000 Doktora Bursu

## ABSTRACT

**MURATOĞLU Ş., Formulation Development of Fixed Dose Orally Disintegrating Dosage Forms for Cardiovascular Disease and In vitro Evaluation, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, PhD. Thesis in Biopharmaceutics and Pharmacokinetics, Ankara, 2025.** Hypertension and dyslipidemia are important risk factors for cardiovascular diseases, which are important life-threatening health problems. Amlodipine besylate (AML) is a bitter-tasting BCS class I active substance used in the treatment of hypertension. Rosuvastatin calcium (ROS) is a low-solubility BCS class II active substance used in the treatment of dyslipidemia. Within the scope of this thesis study, it is aimed to develop orally disintegrating dosage forms (ODTs and ODFs) in fixed dose combination of AML and ROS active substances. Saturation solubilities determined for AML and ROS and their combination. Cyclodextrin inclusion complex and solid dispersion of AML were prepared to mask the bitter taste of AML. Cyclodextrin inclusion complex of ROS and electrospun film formulations were prepared to increase the solubility of ROS active substance. SeDeM-ODT expert system was used in the development of ODT formulations. Based on the optimum ODT formulation offered by the system, 4 ODT formulations (PAÇ, AMLCD, ROSCD and AMLEUD) were produced and *in vitro* characterizations were made. The electrospinning method was preferred for ODF preparation due to its high surface area and drug loading capacity. Two different ODF formulations (ODF-1 and ODF-2) were developed, and *in vitro* characterization studies were performed. The HPLC method has been developed and validated for the analysis of samples. The solubilities of each active substance decreased with the presence of the other active substance. Among ODT formulations, AMLCD and AMLEUD tablets showed more than 90% dissolution in 15 minutes at pH 1.2 for AML, while they showed more than 90% dissolution in 30 minutes at pH 6.8 for ROS. In accelerated stability studies, more than 90% of the active substance content was preserved in AMLCD and AMLEUD tablets and no significant change was observed in the *in vitro* characterization properties. ODF-1 and ODF-2 formulations showed very rapid disintegration (approximately 1 s) and more than 90% dissolution in 5 minutes in all three media (pH1.2, pH4.5 and pH 6.8) in *in vitro* dissolution studies. ODF-1 formulation showed higher Young's modulus value compared to ODF-2 in mechanical strength evaluations and its content uniformity and *in vitro* characterization properties were maintained in the long-term stability studies. Caco-2 permeability studies were conducted in order to evaluate the effects of ODT and ODF formulations, excipients used and simultaneous use of active substances on drug permeabilities. Both active substances showed high permeability in mixture and also in formulation. The findings of the thesis studies have shown that ODT and ODF formulations containing AML and ROS active substances in fixed dose combination have been successfully developed.

### Key Words:

Amlodipine besylate, Rosuvastatin calcium, Orally disintegrating tablet, Orally disintegrating film, Electrospinning

**Supporting Organizations:** Council of Higher Education (YÖK) 100/2000 PhD Grant

## İÇİNDEKİLER

|                                                                          |       |
|--------------------------------------------------------------------------|-------|
| ONAY SAYFASI                                                             | iv    |
| YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI                               | v     |
| ETİK BEYAN                                                               | vi    |
| TEŞEKKÜR                                                                 | vii   |
| ÖZET                                                                     | viii  |
| ABSTRACT                                                                 | ix    |
| İÇİNDEKİLER                                                              | x     |
| SİMGELER VE KISALTMALAR                                                  | xiii  |
| ŞEKİLLER                                                                 | xv    |
| TABLOLAR                                                                 | xviii |
| <b>1. GİRİŞ</b>                                                          | 1     |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b>                                                 | 4     |
| 2.1. Kardiyovasküler Hastalıklar                                         | 4     |
| 2.1.1. Hipertansiyon                                                     | 4     |
| 2.1.2. Dislipidemi                                                       | 6     |
| 2.2. Ağızda Dağılan Dozaj Formları                                       | 9     |
| 2.2.1. Ağızda Dağılan Tabletler ( <i>Orally Disintegrating Tablets</i> ) | 10    |
| 2.2.2. SeDeM-ODT Uzman Sistemi ( <i>SeDeM-ODT Expert System</i> )        | 16    |
| 2.2.3. Ağızda Dağılan Tabletlerde Tat Maskeleme Yaklaşımları             | 21    |
| 2.2.4. Ağızda Dağılan Filmler ( <i>Orodispersible Films</i> )            | 23    |
| 2.3. Siklodekstrin İnklüzyon Kompleksleri ve Uygulamaları                | 37    |
| 2.4. Çalışmada Kullanılan Etkin Maddeler                                 | 38    |
| 2.4.1. Amlodipin Besilat                                                 | 38    |
| 2.4.2. Rosuvastatin Kalsiyum                                             | 40    |
| 2.5. Hücre Kültürü Çalışması                                             | 42    |
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>                                                | 44    |
| 3.1. Gereçler                                                            | 44    |
| 3.1.1. Kimyasal ve Biyolojik Maddeler                                    | 44    |
| 3.1.2. Araç ve Gereçler                                                  | 45    |
| 3.2. Yöntemler                                                           | 47    |
| 3.2.1. Analitik Yöntem Geliştirilmesi ve Validasyonu                     | 48    |

|                                                                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.2.2. Etkin Maddelerin Doygunluk Çözünürlüğü Çalışmaları                                                                             | 53  |
| 3.2.3. Siklodekstrin İnküzyon Kompleksleri                                                                                            | 54  |
| 3.2.4. Katı Dispersiyon Hazırlanması ve Karakterizasyonu                                                                              | 55  |
| 3.2.5. SeDeM-ODT Uzman Sistemi ile Tozların Değerlendirilmesi                                                                         | 56  |
| 3.2.6. Direkt Basım Yöntemi ile ADT Formülasyonlarının Üretilmesi ve Karakterizasyonları                                              | 61  |
| 3.2.7. Elektro-eğirme Tekniği ile Ağızda Dağılan Film Formülasyonlarının Geliştirilmesi                                               | 66  |
| 3.2.8. Hücre Kültürü Çalışmaları                                                                                                      | 73  |
| 3.2.9. İstatiksel Analiz                                                                                                              | 75  |
| <b>4. BULGULAR</b>                                                                                                                    | 76  |
| 4.1. Analitik Yöntem Geliştirilmesi ve Validasyonu                                                                                    | 76  |
| 4.1.1. Analitik Yöntem Geliştirilmesi                                                                                                 | 76  |
| 4.1.2. Analitik Yöntem Validasyonu                                                                                                    | 79  |
| 4.2. Etkin Maddelerin Doygunluk Çözünürlüğü Çalışmaları                                                                               | 91  |
| 4.3. Siklodekstrin İnküzyon Kompleksleri                                                                                              | 93  |
| 4.4. Katı Dispersiyonların Hazırlanması ve Karakterizasyonu                                                                           | 99  |
| 4.5. SeDeM-ODT Uzman Sistemi ile Tozların Değerlendirilmesi                                                                           | 102 |
| 4.6. Direkt Basım Yöntemi ile ADT Formülasyonlarının Üretilmesi ve Karakterizasyonları                                                | 120 |
| 4.6.1. SeDeM-ODT Uzman Sistemi ile Optimum ADT Formülasyonu Tespiti                                                                   | 120 |
| 4.6.2. Optimum ADT Formülasyonundan Hareketle Diğer ADT Formülasyonlarının Üretilmesi ve SeDeM-ODT Uzman Sistemi ile Karakterizasyonu | 126 |
| 4.6.3. Ağızda Dağılan Tablet Formülasyonlarında Yapılan Kontroller                                                                    | 130 |
| 4.7. Elektro-eğirme Tekniği ile Ağızda Dağılan Film Formülasyonlarının Geliştirilmesi                                                 | 140 |
| 4.7.1. Ön Formülasyon Çalışmaları                                                                                                     | 140 |
| 4.7.2. Polimer Çözeltilerinin Karakterizasyonları                                                                                     | 144 |
| 4.7.3. Elektro-eğrilmiş ADF Formülasyonlarının Karakterizasyonu                                                                       | 145 |
| 4.8. Hücre Kültürü Çalışmaları                                                                                                        | 156 |
| <b>5. TARTIŞMA</b>                                                                                                                    | 159 |

|                                                         |     |
|---------------------------------------------------------|-----|
| 5.1. Analitik Yöntem                                    | 159 |
| 5.2. Etkin Maddelerin Doygunluk Çözünürlüğü Çalışmaları | 159 |
| 5.3. Siklodekstrin İnklüzyon Kompleksi Çalışmaları      | 161 |
| 5.4. Katı Dispersiyon Çalışmaları                       | 163 |
| 5.5. SeDeM-ODT Uzman Sistemi Çalışmaları                | 165 |
| 5.6. ADT Formülasyonları ve Karakterizasyon Çalışmaları | 169 |
| 5.7. Elektro-eğirme Tekniği ile ADF Üretimleri          | 175 |
| 5.7.1. Polimer Çözeltisi Karakterizasyonları            | 175 |
| 5.7.2. ADF Karakterizasyonları                          | 176 |
| 5.8. Hücre Kültürü Çalışmaları                          | 187 |
| <b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>                             | 190 |
| <b>7. KAYNAKLAR</b>                                     | 193 |
| <b>8. EKLER</b>                                         | 215 |
| EK-1 Dijital Makbuz                                     |     |
| EK-2 Orijinallik Raporu                                 |     |
| <b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>                                      | 217 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

|                |                                           |
|----------------|-------------------------------------------|
| <b>%H</b>      | Higroskop                                 |
| <b>%HR</b>     | Kurutmada kayıp                           |
| <b>%Pf</b>     | < 50 µm partikül oranı                    |
| <b>2-HPβCD</b> | 2-hidroksipropil-β-siklodekstrin          |
| <b>ADF</b>     | Ağızda dağılan film                       |
| <b>ADT</b>     | Ağızda dağılan tablet                     |
| <b>ADx</b>     | Ağızda dağılan dozaj formu                |
| <b>AML</b>     | Amlodipin besilat                         |
| <b>BSS</b>     | Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi      |
| <b>CD</b>      | Siklodekstrin                             |
| <b>Da</b>      | Kütle dansitesi                           |
| <b>Dc</b>      | Sıkıştırılmış dansite                     |
| <b>DCD</b>     | Diskle dağılma süresi                     |
| <b>DE</b>      | Efervesan süresi                          |
| <b>DSC</b>     | Diferansiyel taramalı kalorimetre         |
| <b>DSD</b>     | Disk olmadan dağılma süresi               |
| <b>EAA</b>     | Eğri altındaki alan                       |
| <b>EMA</b>     | Avrupa İlaç Ajansı                        |
| <b>EP</b>      | Avrupa Farmakopesi                        |
| <b>Eud</b>     | Eudragit E100                             |
| <b>FDA</b>     | Amerikan İlaç Dairesi                     |
| <b>FT-IR</b>   | Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopi |
| <b>HPβCD</b>   | Hidroksipropil-beta-siklodekstrin         |
| <b>Ic</b>      | Carr indeks                               |
| <b>Icd</b>     | Kohezyon indeksi                          |
| <b>ICH</b>     | Uluslararası Uyum Konferansı              |
| <b>Ie</b>      | Partikül arası porozite                   |
| <b>IH</b>      | Hausner oranı                             |
| <b>I0</b>      | Homojenlik indeksi                        |
| <b>İBİ</b>     | İyi basım ve bukodispersibilite indeksi   |

|                            |                              |
|----------------------------|------------------------------|
| <b>KKB</b>                 | Kalsiyum kanal blokörü       |
| <b>LOD</b>                 | Saptanabilirlik sınırı       |
| <b>LOQ</b>                 | Tayin edilebilirlik sınırı   |
| <b>PÇ</b>                  | Polimer çözeltisi            |
| <b>PEO</b>                 | Poli (etilen oksit)          |
| <b>Pİ</b>                  | Parametrik indeks            |
| <b>PPI</b>                 | Parametrik profil indeksi    |
| <b>PVA</b>                 | Poli-(vinil alkol)           |
| <b>PVP</b>                 | Poli (N-vinil-2-pirolidon)   |
| <b>ROS</b>                 | Rosuvastatin kalsiyum        |
| <b>S/G</b>                 | Sinyal/Gürültü               |
| <b>SEM</b>                 | Taramalı elektron mikroskobu |
| <b>SS</b>                  | Standart sapma               |
| <b>t“</b>                  | Toz akışı                    |
| <b>XRD</b>                 | X-ışını kırınımı             |
| <b><math>\alpha</math></b> | Yığın açısı                  |

## ŞEKİLLER

| Şekil                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Sayfa |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 2.1. SeDeM-ODT uzman sistemi ile elde edilen boş diyagram.<br>Kısaltmalar Tablo 2.5.'te verilmiştir.                                                                                                                                                                                                                | 18    |
| 2.2. Bir düzeltici ekspiyan ve bir etkin maddenin örnek SeDeM-ODT diyagramı.                                                                                                                                                                                                                                        | 20    |
| 2.3. ADF'ler, etkin madde, süper dağıtıcılar gibi hızlı parçalanın ajanlar ve permeabilite arttırıcılar, tükürük uyarıcıları, pH modülatörleri veya mukolitik ajanlar gibi ek yardımcı maddeler de dahil olmak üzere çeşitli bileşenlerden oluşur (A). Ağızda tükürük penetrasyonu (B) ve filmin, parçalanması (C). | 24    |
| 2.4. Elektro-eğirme tekniğinin şematik gösterimi.                                                                                                                                                                                                                                                                   | 27    |
| 2.5. Sırasıyla $\alpha$ -CD, $\beta$ -CD ve $\gamma$ -CD'nin boyutları (125).                                                                                                                                                                                                                                       | 37    |
| 2.6. Amlodipin besilat'ın moleküler yapısı (129).                                                                                                                                                                                                                                                                   | 39    |
| 2.7. Rosuvastatin kalsiyum'un moleküler yapısı (136).                                                                                                                                                                                                                                                               | 41    |
| 3.1. Kuyruklanma faktörü (T) hesabında kullanılan değerler (h: pik yüksekliği).                                                                                                                                                                                                                                     | 52    |
| 3.2. Elektro-eğirme sürecinin şematik sunumu (a; Polimer çözeltisinin hazırlanması, b; Elektro-eğirme tekniği ile ADF üretimi).                                                                                                                                                                                     | 67    |
| 3.3. ADF formülasyonları gerilme direnci ölçümünde kullanılan <i>texture analyser</i> .                                                                                                                                                                                                                             | 71    |
| 3.4. ADF formülasyonları stabilite ambalajı ve film örneği (A: Alüminyum ambalaj, B: ADF numunesi).                                                                                                                                                                                                                 | 73    |
| 4.1. AML'nin tek başına enjeksiyonu ile elde edilen HPLC kromatogramı. Retansiyon süresi 3,459 dk olarak tespit edilmiştir. (HPLC şartları; Kolon-1, pH 2,5 tamponu: asetonitril 55:45 (h/h), 1 mL/dk akış hızı).                                                                                                   | 76    |
| 4.2. ROS'un tek başına enjeksiyonu ile elde edilen HPLC kromatogramı. Retansiyon süresi 10,99 dk olarak tespit edilmiştir. (HPLC şartları; Kolon-1, pH 2,5 tamponu: asetonitril 55:45 (h/h), 1 mL/dk akış hızı).                                                                                                    | 77    |

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                    |    |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.3.  | AML ve ROS'un birlikte enjeksiyonu ile elde edilen HPLC kromatogramı. Pikler sırasıyla AML ve ROS pikleri olup retansiyon süreleri sırasıyla 3,47 dk ile 11,020 dk olarak tespit edilmiştir. (HPLC şartları; Kolon-1, pH 2,5 tamponu: asetonitril 55:45 (h/h), 1 mL/dk akış hızı). | 77 |
| 4.4.  | Optimum analiz koşullarında mobil faz ile elde edilen AML ve ROS'un HPLC kromatogramları. (AML retansiyon süresi 2,772 dk, ROS retansiyon süresi 8,989 dk).                                                                                                                        | 79 |
| 4.5.  | Mobil faz ortamında elde edilen özgüllük kromatogramları. (1; Mobil faz içerisinde AML+ROS enjeksiyonu, 2; Mobil faz, 3; 2HP $\beta$ CD, 4; Eudragit E100 ve 5; Plasebo PAÇ).                                                                                                      | 80 |
| 4.6.  | Transport ortamında elde edilen özgüllük kromatogramları. (1; Transport ortamı, 2; Transport ortamı içerisinde AML+ROS enjeksiyonu).                                                                                                                                               | 80 |
| 4.7.  | AML ve ROS etkin maddeleri için mobil faz ortamında elde edilen regresyon doğruları (Ort $\pm$ SS, n=6).                                                                                                                                                                           | 82 |
| 4.8.  | AML ve ROS etkin maddeleri için transport ortamında elde edilen regresyon doğruları (Ort $\pm$ SS, n=6).                                                                                                                                                                           | 82 |
| 4.9.  | AML etkin maddesinin farklı ortamlardaki doyumluk çözünürlüğü sonuçları (Ort $\pm$ SS, n=3).                                                                                                                                                                                       | 91 |
| 4.10. | ROS etkin maddesinin doyumluk çözünürlüğü sonuçları (Ort $\pm$ SS, n=3).                                                                                                                                                                                                           | 92 |
| 4.11. | AML ve ROS etkin maddeleri için inklüzyon kompleksleri faz çözünürlük grafikleri (Ort $\pm$ SS, n=3).                                                                                                                                                                              | 94 |
| 4.12. | 2-HP $\beta$ CD; AML; AML:CD Fiziksel karışım ve AML:CD 1:1 Kompleksi DSC termogramları.                                                                                                                                                                                           | 95 |
| 4.13. | 2-HP $\beta$ CD; ROS; ROS:CD Fiziksel karışım; ROS:CD 1:1 Kompleksi ve ROS:CD 1:2 Kompleksi DSC termogramları.                                                                                                                                                                     | 95 |
| 4.14. | 2-HP $\beta$ CD; AML; AML:CD Fiziksel karışım ve AML:CD 1:1 Kompleksi FT-IR spektrumları.                                                                                                                                                                                          | 97 |
| 4.15. | 2-HP $\beta$ CD; ROS; ROS:CD Fiziksel karışım; ROS:CD 1:1 Kompleksi ve ROS:CD 1:2 Kompleksi FT-IR spektrumları.                                                                                                                                                                    | 98 |

|                                                                                                                                                                                            |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>4.16.</b> AML etkin maddesi ve katı dispersiyonun yapay tükürük ortamında ilaç salımı (AML; Amlodipin besilat, AML-EUD-1:1; AML-Eudragit E100 1:1 katı dispersiyon, Ort $\pm$ SS; n=3). | 99  |
| <b>4.17.</b> Katı dispersiyonda kullanılan maddelerin DSC profilleri.                                                                                                                      | 100 |
| <b>4.18.</b> Katı dispersiyon çalışması FT-IR spektrumları.                                                                                                                                | 101 |
| <b>4.19.</b> Etkin madde ve eksipiyanların SeDeM-ODT diyagramları.                                                                                                                         | 103 |
| <b>4.20.</b> Optimum formülasyonu elde etmek için hazırlanan toz karışımlarının SeDeM-ODT diyagramları.                                                                                    | 123 |
| <b>4.21.</b> ADT formülasyonlarının tablet çap değerleri (Ort $\pm$ SS, n=20).                                                                                                             | 131 |
| <b>4.22.</b> ADT formülasyonlarının tablet kalınlık değerleri (Ort $\pm$ SS, n=20).                                                                                                        | 132 |
| <b>4.23.</b> ADT formülasyonlarının tablet sertlik değerleri (Ort $\pm$ SS, n=10).                                                                                                         | 132 |
| <b>4.24.</b> ADT Formülasyonlarının dağılma süreleri (Ort $\pm$ SS, n=6)                                                                                                                   | 133 |
| <b>4.25.</b> ADT Formülasyonlarının tablet ağırlık ortalamaları (Ort $\pm$ SS; n=20)                                                                                                       | 135 |
| <b>4.26.</b> ADT formülasyonlarının çözünme hızı profilleri (Ort $\pm$ SS; n=6).                                                                                                           | 136 |
| <b>4.27.</b> ADT formülasyonlarının ve etkin maddelerin FT-IR spektrumları.                                                                                                                | 139 |
| <b>4.28.</b> İlaçların, yardımcı maddelerin ve ADF'lerin DSC termogramları.                                                                                                                | 145 |
| <b>4.29.</b> ADF formülasyonları (ADF-1, ADF-2), plasebo ADF'ler ve etkin maddelerin (AML ve ROS) FT-IR spektrumu.                                                                         | 146 |
| <b>4.30.</b> ADF formülasyonlarının XRD profilleri.                                                                                                                                        | 147 |
| <b>4.31.</b> İlaç yüklü ADF formülasyonlarının lif çapları histogram grafikleri ve SEM görüntülerinin karşılaştırılması.                                                                   | 148 |
| <b>4.32.</b> ADF-1 ve ADF-2 formülasyonlarının dağılma ve ıslanma süreleri.                                                                                                                | 151 |
| <b>4.33.</b> ADF formülasyonlarının çözünme hızı profilleri (Ort $\pm$ SS; n=6).                                                                                                           | 152 |
| <b>4.34.</b> Permeabilite çalışmalarından elde edilen deney sonuçları (Ort $\pm$ SS; n=3).                                                                                                 | 156 |

## TABLOLAR

| Tablo                                                                                                                        | Sayfa |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 2.1. Hipertansiyon tedavisinde birinci basamak ilaç grupları.                                                                | 5     |
| 2.2. Lipit düşürücü tedavide kullanılan ilaç grupları (33).                                                                  | 7     |
| 2.3. Serum lipit düzeylerine bazı statinlerin etkisi (35).                                                                   | 9     |
| 2.4. Süper dağıtıcı örnekleri ve etki mekanizmaları (50).                                                                    | 14    |
| 2.5. SeDeM-ODT uzman sistemi değerlendirme parametreleri ve formüller (57, 58).                                              | 17    |
| 2.6. Elektro-eğirme yönteminde yaygın olarak kullanılan polimerler.                                                          | 35    |
| 3.1. Optimum HPLC metodu.                                                                                                    | 49    |
| 3.2. Yapay tükürük ortamının bileşenleri (pH 5,7).                                                                           | 56    |
| 3.3. Homojenlik indeksi tespiti için partikül büyüklüğü dağılımı örneği.                                                     | 60    |
| 3.4. SeDeM-ODT uzman sistemince önerilen toz karışımları ve optimum toz karışımı ile basılan ADT formülasyon bileşenleri.    | 62    |
| 3.5. ADF formülasyonlarının üretim parametreleri.                                                                            | 68    |
| 4.1. HPLC metodu optimizasyon çalışmaları ve sonuçları.                                                                      | 78    |
| 4.2. Mobil faz ve transport ortamı ile elde edilen doğrusallık bulgularının AML ve ROS etkin maddeleri için sonuçları (n=6). | 81    |
| 4.3. AML etkin maddesi için mobil faz ortamında elde edilen doğruluk bulguları.                                              | 83    |
| 4.4. ROS etkin maddesi için mobil faz ortamında elde edilen doğruluk bulguları.                                              | 84    |
| 4.5. AML etkin maddesi için transport ortamında elde edilen doğruluk bulguları.                                              | 85    |
| 4.6. ROS etkin maddesi için transport ortamında elde edilen doğruluk bulguları.                                              | 86    |
| 4.7. AML ve ROS etkin maddeleri için mobil faz ortamında gün içi kesinlik bulguları.                                         | 87    |
| 4.8. AML ve ROS etkin maddeleri için transport ortamında gün içi kesinlik bulguları.                                         | 87    |

|              |                                                                                                                                |     |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>4.9.</b>  | AML ve ROS etkin maddeleri için mobil faz ortamında günler arası kesinlik bulguları.                                           | 88  |
| <b>4.10.</b> | AML ve ROS etkin maddeleri için transport ortamında günler arası kesinlik bulguları.                                           | 88  |
| <b>4.11.</b> | AML ve ROS numunelerinin mobil faz ortamında stabilite bulguları.                                                              | 90  |
| <b>4.12.</b> | AML ve ROS numunelerinin transport ortamında stabilite bulguları.                                                              | 90  |
| <b>4.13.</b> | Analitik yöntem sistem uygunluk testi sonuçları.                                                                               | 91  |
| <b>4.14.</b> | Etkin maddelerin tek başına ve beraber doygunluk çözünürlükleri ve sink koşulu korumak için gerekli minimum çözücü miktarları. | 93  |
| <b>4.15.</b> | SeDeM-ODT Uzman Sistemi-karakterizasyon sonuçları.                                                                             | 108 |
| <b>4.16.</b> | SeDeM-ODT Uzman Sistemi-faktör ve parametrik indeks sonuçları.                                                                 | 113 |
| <b>4.17.</b> | Tatlandırıcı adaylarının bazı parametre sonuçları ve indeks değerleri.                                                         | 114 |
| <b>4.18.</b> | Toplam tablet formülasyonuna göre çekirdek toz karışımı bileşenleri ve hesaplanan faktör değerleri.                            | 114 |
| <b>4.19.</b> | AML ve ROS etkin maddeleri için parçalanabilirlik faktörü düzeltici eksipiyen oranları (%).                                    | 115 |
| <b>4.20.</b> | Kollidon CL süper dağıtıcı seçilmesi halinde basılabilirlik faktörünü iyileştirebilecek eksipiyenlerin kullanım oranı (%).     | 117 |
| <b>4.21.</b> | Parteck'in süper dağıtıcı seçilmesi halinde basılabilirlik faktörünü iyileştirebilecek eksipiyenlerin kullanım oranı (%).      | 118 |
| <b>4.22.</b> | Pearlitol süper dağıtıcı seçilmesi halinde basılabilirlik faktörünü iyileştirebilecek eksipiyenlerin kullanım oranı (%).       | 119 |
| <b>4.23.</b> | Parteck'in tek başına kullanıldığı durumda tablet formülasyonu ve teorik faktör yarıçapları.                                   | 120 |
| <b>4.24.</b> | Parteck'in Avicel PH102 ile beraber kullanıldığı durumda tablet formülasyonu ve teorik faktör yarıçapları.                     | 121 |

|       |                                                                                                                                            |     |
|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.25. | Pearlitol'ün tek başına kullanıldığı durumda tablet formülasyonu ve teorik faktör yarıçapları.                                             | 121 |
| 4.26. | Pearlitol'ün Avicel PH102 ile beraber kullanıldığı durumda tablet formülasyonu ve teorik faktör yarıçapları.                               | 122 |
| 4.27. | Aday ADT formülasyonları SeDeM-ODT uzman sistemi karakterizasyon sonuçları.                                                                | 124 |
| 4.28. | P+Ç ve P+A+Ç ADT toz karışımlarının ve düşük sertlikte elde edilen ADT tozlarının SeDeM-ODT karakterizasyon sonuçları.                     | 125 |
| 4.29. | Farklı sertliklerde basılan P+Ç karışımı ile üretilmiş ADT tabletlerinin kırılmalık değerleri.                                             | 125 |
| 4.30. | Farklı sertliklerde basılan P+A+Ç karışımı ile elde edilen ADT tabletlerinin kırılmalık ve dağılma testi sonuçları.                        | 126 |
| 4.31. | ADT karakterizasyonları için üretilen ADT formülasyonları.                                                                                 | 127 |
| 4.32. | Teorik ve Deneysel SeDeM-ODT sonuçlarının yeni ADT varyasyonları için karşılaştırılması.                                                   | 128 |
| 4.33. | Optimum ADT formülasyonundan hareketle üretilen yeni ADT toz karışımlarının SeDeM-ODT karakterizasyonundan tayin edilen yarıçap değerleri. | 129 |
| 4.34. | ADT formülasyonların tablet karakterizasyonları ( $Ort \pm SS$ ).                                                                          | 130 |
| 4.35. | ADF formülasyonları içerik tekdüzeliği sonuçları ( $Ort \pm SS$ ; $n=10$ ).                                                                | 134 |
| 4.36. | PAÇ tabletine kıyasla ADT formülasyonlarının $f_2$ değerleri.                                                                              | 136 |
| 4.37. | AML etkin maddesinin 3 ortamda (pH 1,2, 4,5 ve 6,8) çözünme profilleri ( $Ort \pm SS$ ; $n=6$ ).                                           | 137 |
| 4.38. | ROS etkin maddesinin 3 ortamda (pH 1,2, 4,5 ve 6,8) çözünme profilleri.                                                                    | 138 |
| 4.39. | ADT formülasyonlarının hızlandırılmış stabilite bulguları.                                                                                 | 140 |
| 4.40. | Elektro-eğirme ön formülasyon çalışmalarından elde edilen bulgular.                                                                        | 142 |
| 4.41. | ADF formülasyonları ve plasebo ADF'lerin mekanik özellikleri ( $Ort \pm SS$ , $n=3$ ).                                                     | 149 |

|       |                                                                                                                                            |     |
|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.42. | AML etkin maddesi içeren ADF formülasyonlarının 3 ortamda (pH 1,2, 4,5 ve 6,8) çözünme profilleri (Ort±SS; n=6).                           | 153 |
| 4.43. | ROS etkin maddesi içeren ADF formülasyonlarının 3 ortamda (pH 1,2, 4,5 ve 6,8) çözünme profilleri (Ort±SS; n=6).                           | 154 |
| 4.44. | ADF formülasyonlarının stabilite çalışması boyunca içerik tekdüzeliği sonuçları (Ort±SS; n=10).                                            | 155 |
| 4.45. | ADF numunelerinin stabilite çalışması boyunca mukavemet deneylerinin sonuçları (Ort±SS; n=3).                                              | 155 |
| 4.46. | Permeabilite çalışmalarında kullanılan formülasyonlarının permeabilite sonuçları (n=3) ve AML+ROS grubuna kıyasla elde edilen p değerleri. | 157 |
| 4.47. | Permeabilite çalışmalarında kullanılan formülasyonların permeabilite değerleri (n=3) ve PAÇ grubuna kıyasla elde edilen p değerleri.       | 158 |

## 1. GİRİŞ

Hipertansiyon, felç ve diğer kalp sorunları gibi ciddi komplikasyonlara neden olan kronik ve yaşamı tehdit eden bir halk sağlığı sorunudur (1). Amerikan Kalp Derneği'nin raporunda 2010 ile 2020 yılları arasında hipertansiyona bağlı ölüm oranında %55 oranında bir artış olduğu bildirilmiştir (2). 2023 yılı TÜİK ölüm ve ölüm nedeni istatistikleri raporunda dolaşım sistemi kaynaklı ölümler (%33,4) tüm ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almıştır. Dolaşım sistemi kaynaklı ölümlerin ise %42,4'ü iskemik kalp hastalıkları, %18,6'sı serebro-vasküler hastalıklar ve %9,6'sı hipertansiyon kaynaklı gerçekleşmiştir (3). Hipertansiyon tedavisinde farklı ilaç seçenekleri olmakla birlikte kalsiyum kanal blokörleri birinci basamak tedavi seçeneklerinden biridir (4). Bir kalsiyum kanal blokörü (5) olan amlodipin besilat (AML), yüksek çözünürlük ve yüksek permeabilite özelliklerine sahip Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemine (BSS) göre Sınıf I etkin maddedir (6). Oral uygulamadan sonra %96'lık biyoyararlanım ile iyi tanımlanmış bir farmakokinetik ve farmakodinamik profile sahiptir (7).

Hiperlipidemi ve dislipidemi, koroner kalp hastalığı, miyokard enfarktüsü, ateroskleroz gibi çeşitli dolaşım hastalıklarına neden olmaktadır. Bu lipid fraksiyonları arasında düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K), kardiyovasküler hastalıklarla önemli ilişkisi nedeniyle tedavi için önemli bir hedeftir. Küresel Hastalık Yüğü Çalışmasına göre, LDL-K ile ilişkili ölüm oranı 2020 yılında 100.000'de 56,95 olarak bildirilmiştir (2). Statinler dislipidemi tedavisinde en çok tercih edilen farmakolojik gruptur (8). Bunlardan sentetik bir HMG-CoA inhibitörü olan rosuvastatin kalsiyum (ROS) düşük çözünürlüğe, yüksek permeabiliteye ve %20 mutlak biyoyararlanıma sahip BSS Sınıf II etkin maddedir. Sitokrom enzimleriyle (CYP2C9 ve CYP2C19) etkileşime girmektedir (9, 10). Hipertansiyon ve hiperkolesterolemi kardiyovasküler hastalıklara önemli etkide bulunduğu için, bu hastalıkların tedavisi genel kardiyovasküler riski azaltmak için bir gereklilik haline gelmektedir. Sabit doz formülasyonu olarak AML ve ROS kombinasyon ürünleriyle tedavinin kan basıncında ve LDL-K seviyelerinde verimli azalmalar sağladığı bildirilmektedir (11).

Ağızda dağılan dozaj formları çeşitli rahatsızlıkların neden olduğu yutma bozuklukları gibi sorunları ortadan kaldırmak için tercih edilmektedir. Pediatrik ve geriatric popülasyonlar, artan hasta uyuncu ve tedaviye uyum nedeniyle bu formları seçme eğiliminde olmaktadır (12, 13). Terbutalin (14), ivermektin (15), metformin (16), gliburid (16), aripiprazol (17), trimetobenzamid (18) ve sildenafil (19) dahil olmak üzere farklı etkin madde içeren ağızda dağılan tablet (ADT) formülasyonları geliştirilmiştir. ADT formülasyonu geliştirme yaklaşımlarından biri de “SeDeM-ODT Expert System” ismi ile literatürde yer alan SeDeM-ODT uzman sistemidir. SeDeM, konvansiyonel tablet formülasyonlarının direkt basım tekniği ile üretilmesi amacıyla toz davranışlarının karışım halinde nasıl performans gösterdiğini değerlendirmeye yarayan deneysel bir yaklaşımdır. SeDeM-ODT uzman sistemi ise mevcut SeDeM yaklaşımının ADT formülasyonları açısından değerlendirilmesini sağlayan bir dizi modifikasyonu içermektedir. Bu yenilikçi sistem ADT formülasyonları için elde edilen toz karışımlarının direkt basılabilme ve hızlı dağılabilme davranışını incelemektedir. SeDeM-ODT ile ADT formülasyonları tasarlanırken gereksiz eksipiyen kullanımının önüne geçilmesi hedeflenmektedir. Bu yaklaşım “Tasarımla Kalite” yaklaşımının bir parçası olarak değerlendirilebilmektedir (20).

Hasta merkezli ilaç ürünü yaklaşımı, kolay yutulabilirlik, az miktarda suda hızlı dağılma ve kolay taşıma/saklama kabiliyeti sağlamanın önemini vurgulamaktadır (21, 22). Ağızda dağılan filmler (ADF'ler) de bu tür gereksinimleri karşılamak için oral ilaç uygulamasında bir başka yararlı strateji olarak değerlendirilmektedir. Etkin maddeler ve yardımcı maddelerden oluşan ultra ince dozaj formları olarak tanımlanan ADF'ler ağız boşluğuna uygulanabilir (23). Son yıllarda uygulanmaya başlanan ADF hazırlama yöntemlerinden biri lif teknolojisidir. Çeşitli lif üretim yöntemleri mevcut olup bunlardan elektro-eğirme, sürekli üretim ve göreceli basitlik nedeniyle tercih edilen bir yaklaşımdır (24, 25). Elektro-eğirme, artırılmış yüzey alanı, küçük lif çapı ve yüksek yükleme kapasitesi gibi çeşitli avantajlar nedeniyle ADF'lerin hazırlanmasında uygulanabilmektedir. Bu avantajlar ile geliştirilmiş bir ADF formülasyonu, oral çözelti ürününe biyoeşdeğer olabilecek kadar artan çözünürlük ve ani salınım yetenekleri sunabilmektedir (26-28).

Sabit doz kombinasyonları, birden fazla etkin maddenin tek bir ilaç taşıyıcı sistemde formüle edilmesi ile elde edilen dozaj formlarıdır. Kardiyovasküler hastalıklar gibi sağlık sorunlarında kullanılmak üzere tercih edilen sabit doz kombinasyonları; kolay uygulama, hasta uyuncu ve maliyet açısından üstünlük göstermektedir (29).

Bu tez çalışmasında, halihazırda piyasada ağızda dağılan dozaj formu (ADT ve ADF) bulunmayan AML ve ROS etkin maddeleri için sabit doz kombinasyonu formülasyonlarının geliştirilmesi ve karakterize edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda:

- AML ve ROS etkin maddelerini eş zamanlı tayin edebilmek amacıyla bir HPLC yöntemi geliştirilmiş ve yöntem valide edilecektir.
- Etkin maddelerin (AML ve ROS) tek başına ve diğer etkin maddenin varlığında doygunluk çözünürlüğü tayin edilecektir.
- AML ve ROS etkin maddeleri için siklodekstrin inklüzyon kompleksleri hazırlanmıştır.
- AML etkin maddesi için katı dispersiyon çalışmaları yapılacaktır.
- SeDeM-ODT uzman sistemi yardımı ile eksipiyen ve etkin maddelerin söz konusu sistem bazlı karakterizasyonu sağlanmış ve optimum formülasyon elde edilecektir.
- Optimum formülasyondan hareketle toplam 4 ADT formülasyonu direkt basım tekniği ile basılarak karakterizasyonları yapılacaktır.
- Elektro-eğirme metodu ile ADF formülasyonlarının geliştirilerek in vitro karakterizasyonları yapılacaktır.
- Geliştirilen ADF ve ADT formülasyonları için kullanılan tekniğin ve kullanılan eksipiyenlerin etkin maddelerin intestinal permeabilitesine etkisini değerlendirebilmek amacıyla in vitro permeabilite çalışmaları yapılacaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kardiyovasküler Hastalıklar

Kardiyovasküler hastalıklar hipertansiyon, dislipidemi, koroner kalp hastalıkları, periferik arter hastalığı, romatizmal kalp hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar, konjenital kalp hastalıkları, kalp yetmezliği ve kardiyomiyopatidir. Dislipidemi ve hipertansiyon kalp ve damar hastalıklarının gelişmesinde rol oynamaktadır. Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre dolaşım sistemi kaynaklı ölümler, tüm ölüm nedenleri arasında 2012 ile 2019 yılları arasında her sene ilk sırayı korumuştur. Türkiye Kalp ve Damar Hastalıkları Önleme ve Kontrol Programı Eylem Planı (2021-2026) uyarınca kalp damar hastalıklarının ve risk faktörlerinin azaltılması amaçlanmaktadır. Bu risk faktörleri, tütün kullanımı, yetersiz fiziksel etkinlik, alkol kullanımı, sağlıksız diyet, obezite, hipertansiyon, diyabet, yüksek kan kolesterolü ve diğer faktörler olarak sıralanmaktadır. Hipertansiyon ve dislipidemi kalp ve damar hastalıkları için önemli risk faktörleri olarak ifade edilmektedir (30).

#### 2.1.1. Hipertansiyon

Hipertansiyon önemli bir halk sağlığı sorunudur. 18 yaşın üzerindeki erişkinlerde, hekim tarafından gerçekleştirilmiş tekrarlı kan basıncı ölçümleri sonucunda sistolik kan basıncı  $\geq 140$  mmHg ve diastolik kan basıncı  $\geq 90$  mmHg çıkması halinde hipertansiyon tanısı koyulmaktadır. Hipertansiyon için birinci basamak farmakolojik tedavi tiazid diüretikler, kalsiyum kanal blokörleri ve anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri veya anjiyotensin reseptör blokörlerinden oluşur (Tablo 2.1.). Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri ve anjiyotensin reseptör blokörlerinin etki mekanizmalarının benzerliği nedeniyle aynı anda uygulanmamaktadır. Hastada iskemik kalp hastalığı veya kalp yetmezliği öyküsü yoksa,  $\beta$ -blokörler genellikle inme önlemedeki faydaları birinci basamak ajanlara göre daha az olduğu için birinci basamak ajanlar olarak önerilmemektedir (31). Kalsiyum kanal blokörleri (KKB) monoterapi seçeneği olarak veya kombinasyon tedavilerinde başka antihipertansiflere ek olarak kullanılabilinen ilaçlardır. Birinci basamak ilaçların beraber kullanılabildiği ülkemizde mevcut olan bazı etkin madde seçenekleri Tablo 2.1.'de verilmiştir (32). KKB ilaç gruplarından dihidropiridin türevlerinin kesin

kontrendikasyonu bildirilmemişken göreceli kontrendikasyonu taşiaritmi ve kalp yetmezliği olup klinisyen tercihinine göre kullanılmaktadır (33).

**Tablo 2.1.** Hipertansiyon tedavisinde birinci basamak ilaç grupları.

| İlaç Sınıfı                                         | Etkin Madde       | Doz aralığı (mg) | Etki Mekanizması                                                                               | Ülkemizde Kombine Kullanıldığı Bazı İlaçlar                                                                           |
|-----------------------------------------------------|-------------------|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Diüretikler</b>                                  | Hidroklorotiazid  | 12,5-50          | Soyum transportunu inhibe ederek renal distal tübülde sodyum re-absorpsiyonunu bloke etmek     | Spronolakton<br>Silazapril<br>İrbesartan                                                                              |
|                                                     | İndapamid         | 1,25-2,5         |                                                                                                | Perindopril<br>Amlodipin besilat                                                                                      |
| <b>Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörleri</b> | Enalapril         | 5-40             | Anjiyotensin dönüştürücü enzimin aktivitesini inhibe ederek anjiyotensin II oluşumunu azaltmak | Hidroklorotiazid                                                                                                      |
|                                                     | Lisinopril        | 10-40            |                                                                                                | Hidroklorotiazid<br>Amlodipin besilat                                                                                 |
|                                                     | Ramipril          | 2,5-20           |                                                                                                | Hidroklorotiazid<br>Amlodipin besilat                                                                                 |
|                                                     | Trandopril        | 1-4              |                                                                                                | Verapamil                                                                                                             |
| <b>Anjiyotensin Reseptör Blokörleri</b>             | Kandesartan       | 8-12             | Anjiyotensin II'nin anjiyotensin tip 1 reseptörüne bağlanmasını inhibe etmek                   | Hidroklorotiazid<br>Amlodipin besilat                                                                                 |
|                                                     | Losartan          | 50-100           |                                                                                                | Hidroklorotiazid                                                                                                      |
|                                                     | Olmesartan        | 20-40            |                                                                                                | Hidroklorotiazid<br>Amlodipin besilat                                                                                 |
|                                                     | Valsartan         | 80-320           |                                                                                                | Hidroklorotiazid<br>Amlodipin besilat<br>Sakubitril                                                                   |
| <b>Kalsiyum Kanal Blokörleri</b>                    | Amlodipin besilat | 2,5-10           | Hücrel kalsiyum girişini engelleyen voltaj kapılı (L tipi) kalsiyum kanallarını bloke etmek    | Kandesartan<br>Perindopril<br>Atorvastatin<br>Hidroklorotiazid<br>İrbesartan<br>İndapamid<br>Rosuvastatin<br>kalsiyum |
|                                                     | Nifedipin         | 30-90            |                                                                                                | -                                                                                                                     |
|                                                     | Diltiazem         | 120-360          |                                                                                                | -                                                                                                                     |
|                                                     | Verapamil         | 100-300          |                                                                                                | Trandolapril                                                                                                          |

### 2.1.2. Dislipidemi

Kardiyovasküler hastalık risk faktörlerinden biri olan dislipidemi tanısı, kanda LDL-K seviyesinin  $>130$  mg/dL veya yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K) seviyesinin  $>40$  mg/dL veya trigliserit seviyesinin  $>200$  mg/dL olması halinde koyulmaktadır. Lipid düşürücü ilaçlar arasında statinler, kolesterol emilimini inhibe edenler, safra asidi bağlayıcıları, lipid modifiye edici ajanlar ve fibratlar gibi seçenekler yer almaktadır. Söz konusu grupların kullanım doz, etki mekanizması ve ana endikasyonları Tablo 2.2.'de verilmiştir (34). Dislipidemi tedavisinde ilk tercih ilaç gruplarından biri olan statinler hidroksimetilglutaril-CoA (HMG-CoA) redüktaz inhibitörleri olarak da bilinmektedir. Lipid düşürücü ilaçlar olarak ilk kez 1976 yılında keşfedilen statinlerden pravastatin, simvastatin ve fluvastatin grubun ilk üyeleridir. 2003 yılında kullanılmaya başlayan rosuvastatin, grubun diğer üyelerine kıyasla LDL-K seviyelerinde daha fazla düşüş sağlarken HDL-K seviyelerinde daha fazla artış sağlamaktadır (Tablo 2.3.) (35).

**Tablo 2.2.** Lipit düşürücü tedavide kullanılan ilaç grupları (34).

| İlaç Grubu       | Etkin Madde  | Doz (mg) | Etki Mekanizması    | Ana Endikasyon                                   | Ülkemizde Kombine Kullanıldığı Bazı İlaçlar                    |
|------------------|--------------|----------|---------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| <b>Statinler</b> | Simvastatin  | 20-80    | HMG-CoA inhibisyonu | Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı önlemek | Ezetimib                                                       |
|                  | Pravastatin  | 20-80    | HMG-CoA inhibisyonu | Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı önlemek | -                                                              |
|                  | Fluvastatin  | 20-80    | HMG-CoA inhibisyonu | Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı önlemek | -                                                              |
|                  | Atorvastatin | 10-80    | HMG-CoA inhibisyonu | Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı önlemek | Amlodipin<br>Asetil salisilik asit<br>Ezetimib<br>Perindopiril |
|                  | Rosuvastatin | 5-40     | HMG-CoA inhibisyonu | Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı önlemek | Amlodipin<br>Asetil salisilik asit<br>Ezetimib                 |
|                  | Pitavastatin | 1-4      | HMG-CoA inhibisyonu | LDL-K seviyelerini düşürmek                      | -                                                              |

Tablo 2.2. Devam.

| İlaç Grubu                                 | Etkin Madde  | Doz (mg) | Etki Mekanizması                                                                        | Ana Endikasyon                                   | Ülkemizde Kombine Kullanıldığı Bazı İlaçlar |
|--------------------------------------------|--------------|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| <b>Kolesterol Emilimini İnhibe Edenler</b> | Ezetimib     | 10       | Bağırsaktan kolesterol emilimini azaltmak                                               | Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı önlemek | Rosuvastatin<br>Atorvastatin<br>Simvastatin |
| <b>Safra Asidi Bağlayıcılar</b>            | Kolestiramin | 8-24 (g) | Safra asitlerini bağlayarak dolaylı olarak LDL-K klirensinde artış sağlamak             | Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı önlemek | -                                           |
|                                            | Kolesevelam  | 625-3750 | Safra asitlerini bağlayarak dolaylı olarak LDL-K klirensinde artış sağlamak             | LDL-K seviyelerini düşürmek                      | -                                           |
| <b>Lipid Modifiye Edici Ajanlar</b>        | Evolokumab   | 140-420  | Düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörüne bağlanarak serumda LDL-K azalmalara neden olur | Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı önlemek | -                                           |
|                                            | Alirokumab   | 75-150   | Düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörüne bağlanarak serumda LDL-K azalmalara neden olur | Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı önlemek | -                                           |
| <b>Fibratlar</b>                           | Gemfibrozil  | 600      | Peroksisom proliferatör-aktifleştirilmiş reseptör-alfa agonisti                         | Trigliserit seviyesini düşürmek                  | -                                           |
|                                            | Fenofibrat   | 145-200  | Peroksisom proliferatör-aktifleştirilmiş reseptör-alfa agonisti                         | Trigliserit seviyesini düşürmek                  | -                                           |

**Tablo 2.3.** Serum lipit düzeylerine bazı statinlerin etkisi (36).

| Statin              | LDL-K | HDL-K | Total Kolesterol | Trigliserit (TG) |
|---------------------|-------|-------|------------------|------------------|
|                     | (-)%  | (+)%  | (-)%             | (-)%             |
| <b>Atorvastatin</b> | 26-60 | 5-13  | 25-45            | 17-53            |
| <b>Fluvastatin</b>  | 22-36 | 3-11  | 16-27            | 12-25            |
| <b>Lovastatin</b>   | 21-42 | 2-10  | 16-34            | 6-27             |
| <b>Pravastatin</b>  | 22-34 | 2-12  | 16-25            | 15-24            |
| <b>Rosuvastatin</b> | 45-63 | 8-14  | 33-46            | 10-36            |
| <b>Simvastatin</b>  | 26-47 | 8-16  | 19-36            | 12-34            |

## 2.2. Ağızda Dağılan Dozaj Formları

Etkin maddelerin terapötik kullanımını artırmak ve hastalara erişimini kolaylaştırmak için farklı dozaj formları önerilmektedir. Sıvı dozaj formları (şuruplar, süspansiyonlar ve solüsyonlar) kolayca yutulabilmektedir ve çoğu durumda en yüksek biyoyararlanımı sağlamaktadır. Ancak bu dozaj formlarında doz doğruluğu uygulanacak hacmi ölçmek için kaşık veya şırınga kullanımıyla sınırlıdır. Bu nedenle, bu sınırlamanın üstesinden gelmek için, toz, granül veya suda çözünen veya dağılan efervesan tabletler piyasaya sürülmüştür. Fakat en yaygın dozaj formu tabletler ve kapsüllerdir. Tablet veya kapsüllerin uygulanması genellikle yutma sorunları veya boğulma korkusuyla ilişkilendirildiği için hasta uyuncu ile alakalı sorunlar ortaya çıkmaktadır. Literatüre göre nüfusun %20'sinin tablet veya kapsül yutmasını engelleyen psikolojik veya fizyolojik bozukluklara sahip olduğu tahmin edilmektedir. Bu bozukluklar özellikle çocuklar, yaşlılar ve disfaji hastalarına atfedilmektedir. Geleneksel oral dozaj formlarını kullanırken sorun yaşayabilecek diğer gruplar arasında mental hastalığı olanlar, mide bulantısı yaşayan veya sıvı alım kısıtlaması olan hastalar yer almaktadır. Bu tür sorunları azaltmak amacıyla ağızda dağılan dozaj formlarının (ADx) geliştirilmesi önem arz etmektedir (13).

Bir ADx formülasyonu, ağıza yerleştirildikten sonra tükürük sayesinde hızlıca bir çözelti veya süspansiyon formunu alan dozaj formu olarak tanımlanmaktadır. Sıvı formda dozaj formlarına kıyasla daha kesin dozlama sağlayan bu formülasyonlarda

çığneme veya su ile yutma gibi gereksinimler olmadığı için hasta uyuncu da artmaktadır. ADx formülasyonu seçenekleri olarak piyasada ağızda dağılan tabletler (ADT) ve ağızda dağılan filmler (ADF) olmak üzere iki ana grup yer almaktadır (13).

### 2.2.1. Ağızda Dağılan Tabletler (*Orally Disintegrating Tablets*)

Ağızda dağılan tabletler (ADT), konvansiyonel tabletlerle benzer görünümde olan ve yutmadan önce çok hızlı dağılma özelliği gösteren oral dozaj formlarıdır. Amerikan İlaç Dairesi'ne (FDA) göre 30 sn'den kısa, Avrupa Farmakopesi (EP) standartlarına göre ise 3 dakikadan kısa sürede dağılma özelliği göstermelidirler (37, 38). Ağızda dağılan tabletlerin su gereksinimi olmadan hızlı dağılması, bu tabletlerin hareket hastalığı olan, su kısıtlaması olan veya acil alerjik reaksiyon riski olan hastalar gibi geniş hasta popülasyonlarında tercih edilebileceğini göstermektedir (39).

- ***Ağızda Dağılan Tabletlerin Temel Gereksinimleri***

Ağızda dağılan tabletler tükürük sıvısının tablet matrisine girmesini sağlar ve böylece tableti hızla çözer. Bu amaçla, ADT formülasyonu geliştirirken aşağıdaki gereksinimlerin sağlanması önemlidir (40, 41):

- Formülasyona uygun bir dağıtıcı/süper dağıtıcı veya suda çözünen maddeler eklenmelidir
- Tablet kolayca dağılması için yüksek şişebilme, deformasyon kabiliyeti, kılcallık gibi çeşitli mekanizmalar sağlanmalıdır
- Tablet, suya ihtiyaç duymadan tükürük ile temas ettiğinde birkaç saniye içinde çözülmeli veya dağılmalıdır
- Paketleme, dağıtım ve depolama için yeterli sertliğe ve dayanıklılığa sahip olmalıdır
- Tablet ağızda hoş bir his ve tat bırakabilmelidir
- Tablet ağızda bir kalıntı bırakmamalıdır
- Geliştirilen formülasyon neme ve sıcaklığa karşı dayanıklı olmalıdır
- Düşük maliyetle üretilmelidir
- Tablet yüksek dozda etkin madde taşıyabilmelidir
- Tablet boyutu çok büyük olmamalıdır
- İyi paketlenmiş olmalıdır

- Tat maskeleye teknolojisine uygun olmalıdır
- Formülasyon yardımcı maddelerin özelliklerinden etkilenmemelidir

Optimum ADT formülasyonu geliştirmek için aday etkin maddelerin sahip olması tercih edilecek özellikler şunlardır (42):

- Tadının acı olmaması
- Yitiliğinin 20 mg'dan düşük olması
- Düşük veya orta molekül ağırlığına sahip olması
- Su ve tükürükte iyi çözünürlüğe sahip olması
- Ağız boşluğu pH ortamında kısmen non-iyonize olması
- Üst sindirim sistem epiteline difüzyon veya partiyon kabiliyetinin olması
- Ağız mukozal dokusuna permeabilite özelliğinin olması
- Düşük yarılanma ömrüne sahip olmaması
- Uzatılmış salım profiline gereksinim olmaması
- Antikolinerjiklerle kombine edilmemesi (tükürük salgısında azalmaya neden olacağı için)

#### • *Ağızda Dağılan Tabletlerin Avantajları ve Dezavantajları*

Ağızda dağılan tabletler, katı dozaj formu olan tabletlerin sağladığı üretim kolaylığı, doz kesinliği ve stabilite gibi avantajları barındırırken aynı zamanda sıvı dozaj formlarında olduğu gibi kolay yutma kolaylığını da bir arada sağlamaktadır (43). ADT'ler yutma ve ruh sağlığı sorunları olan hastalar, seyahat eden hastalar, pediatrik ve geriatrik hastalar için uygundur. Yüksek hasta uyuncu, su ve çiğneme ihtiyacının olmaması, yüksek stabilite ve doz kapasitesi, ucuz üretim imkânı, yüksek biyoyararlanım kapasitesi, hızlı etki gibi önemli avantajlar bir arada sunulmaktadır.

ADT'lerin formülasyonunda yüksek dozda etkin madde kullanımı kısıtlıdır. Bazı örnekler haricinde genellikle yüksek dozda ilaç yüklemek mümkün değildir (16). Bir başka dezavantaj ise antikolinerjik ilaç kullanan hastalarda olduğu gibi tükürük salgısının yetersiz olduğu hastalarda ADT uygulanması kısıtlanmaktadır. Aynı

zamanda acı tada sahip etkin maddelerin uygun tat maskeleye yaklaşımı uygulanmadan ADT formülasyonu geliştirilmesi mümkün olmamaktadır (44).

- ***Ağızda Dağılan Tablet Formülasyonlarının Geliştirilmesi***

ADT formülasyonlarında temel olarak etkin maddeler ve süper dağıtıcı özellik gösteren yardımcı maddeler (eksipiyenler) olmak üzere iki ana bileşen yer almaktadır.

***Etkin madde:*** Etkin maddelerin ADT formülasyonu için uygun aday olması gerekmektedir. Bir etkin maddenin konvansiyonel dozaj formuna kıyasla ADT formülasyonunun geliştirilmesi her zaman biyoeşdeğer ürün elde edilmesine imkân tanımayabilmektedir. Pre-gastrik emilim imkânı olabilen etkin maddeler için farmakokinetik profil değişebilmektedir. Bu sebeple ilaç etkin maddesinin iyi tanınması ve seçilmesi önemlidir. İdeal bir ADT formülasyonu için etkin madde; acı tadı olmayan, düşük molekül ağırlıklı, su ve tükürükte iyi stabilite gösteren, oral pH değerinde non-iyonize formda olan, üst gastrointestinal sistemde kolay emilim ve düşük doz özelliklerine sahip olan maddeler arasından tercih edilmektedir. Tat maskeleyenin mümkün olamayacağı, kısa yarılanma ömrüne sahip, uzatılmış salım gibi alternatif formlara ihtiyaç duyabilecek etkin maddeler için ADT formülasyonu geliştirilmesi uygun görülmemektedir (45).

***Yardımcı madde:*** ADT formülasyonunun diğer önemli bileşenleri arasında süper dağıtıcılar, tatlandırıcılar ve kaydırıcılar gibi tablet eksipiyenleri yer almaktadır. Bir ADT formülasyonu için süper dağıtıcı seçimi en kritik basamaklardan biri olarak değerlendirilebilir (46).

### **Süper dağıtıcılar**

Dağıtıcılar, tablet ve kapsüllerin sıvı ortamda daha küçük parçalara ayrılmalarını sağlayan eksipiyenlerdir. Süper dağıtıcılar ise ADT formülasyonlarında kullanılan ve ağız boşluğunda hızlı dağılma sağlayan eksipiyenlerdir. Geleneksel dağıtıcıların tablet formülasyonunda yaklaşık %20 konsantrasyonda kullanılmasına karşın süper-dağıtıcılar %2 ile %10 arasında kullanılarak etki gösterebilmektedir. Süper dağıtıcıların ilk sınıfı olarak modifiye nişasta türleri bilinmektedir (47). Süper dağıtıcıların 4 ana mekanizması vardır (48-50):

- *Şişme mekanizması ile dağılma*

Tablet dağılması için en yaygın kabul gören etki mekanizması şişmedir. Yüksek gözenekliliğe sahip tabletler yeterli şişme kuvvetinin olmaması nedeniyle zayıf parçalanma gösterir (Örn. Sodyum nişasta glikolat). Öte yandan, düşük gözenekliliğe sahip tabletlerde yeterli şişme kuvveti uygulanmaktadır.

- *Porozite ve kapiller etki ile dağılma*

Kılcal etkiyle parçalanma her zaman ilk adım olarak bildirilmektedir (Örn. Krosopovidon, kroskarmelloz sodyum). Tablet uygun sulu ortama koyulduğunda, sıvı tabletin içine nüfuz eder ve parçacıklara adsorbe edilen havayla yer değiştirir, bu da moleküller arası bağı zayıflatır ve tableti ince parçacıklara ayırır. Tablet su alımı, ilacın/yardımcı maddenin hidrofilikliğine ve tabletleme koşullarına bağlıdır. Bu tür dağıtıcılar için, ilaç parçacıklarının etrafında hidrofilik bir ağ oluşturarak parçalanmaya yardımcı olan gözenekli yapının ve sulu ortama karşı düşük arayüz geriliminin korunması gerekmektedir.

- *Dağılan parçacık/parçacık itici kuvvetleri nedeniyle dağılma*

Bir başka dağılma mekanizması, 'şişmeyen' dağıtıcılarla yapılan tabletlerin şişmesini açıklamaya çalışır. Şişmeyen parçacığın da tabletlerin dağılmasına neden olduğu gözlemine dayalı bir parçacık itme teorisi söz konusudur. Parçacıklar arasındaki elektriksel itici kuvvetler parçalanma mekanizmasıdır ve bunun için su gereklidir.

- *Deformasyon nedeniyle dağılma*

Tablet sıkıştırma sırasında parçacıklar deforme olur ve bu deforme olmuş parçacıklar sulu ortam veya suyla temas ettiğinde normal yapılarına dönerler (Örn; Nişasta). Bazen, granüller sıkıştırma sırasında kapsamlı bir şekilde deforme edildiğinde nişastanın şişme kapasitesi iyileşir. Deforme olmuş parçacıkların boyutundaki bu artış tabletin parçalanmasına neden olur.

Piyasada çeşitli süper dağıtıcı türleri farklı ticari isimlerle bulunmaktadır. Aşağıdaki tabloda bu dağıtıcıların bazı örnekleri listelenmiştir (Tablo 2.4.).

**Tablo 2.4.** Süper dağıtıcı örnekleri ve etki mekanizmaları (51).

| Süper Dağıtıcı                   | Ticari Ürünler                                                                            | Etki Mekanizması                                                                                   |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Çapraz Bağlı Selüloz</b>      | Kroskarmelloz®<br>Ac-Di-Sol®<br>Nymce ZSX®<br>Primelloz®<br>Solutab®<br>Vivasol®<br>L-HPC | < 10 saniyede 4-8 kat şişer                                                                        |
| <b>Çapraz Bağlı PVP</b>          | Krospovidon M®<br>Kollidon®<br>Polyplasdone®                                              | Çok az şişer ve sıkıştırıldıktan sonra orijinal boyutuna döner, ancak kılcal etki ile hareket eder |
| <b>Çapraz Bağlı Nişasta</b>      | Sodyum Nişasta Glikolat<br>Explotab®<br>Primojel®                                         | < 30 saniyede 7-12 kat şişer                                                                       |
| <b>Çapraz Bağlı Aljinik Asit</b> | Aljinik Asit NF                                                                           | Sulu ortamda hızlı şişme özelliği                                                                  |

**Hazırlama yöntemleri:** ADT üretim teknolojileri arasında dondurarak kurutma, direkt basım, *cotton-candy* tekniği, tablet şekillendirme (*molding*), püskürterek kurutma, süblimasyon, kütle ekstrüzyonu ve nanonizasyon gibi teknikler dikkat çekmektedir (52). Bunlardan geleneksel yaklaşım olan direkt basım tekniği için eksipiyanların seçimi son derecede önemlidir.

Direkt basım tekniği ADT üretim teknikleri arasında bilinen geleneksel yöntemlerden biridir. Direkt basım, kısa üretim süresi, ekipman, çözücü ve hatta kalıntılar için düşük gereksinimler nedeniyle tablet geliştirmenin en cazip yoludur. İnsan kullanımına yönelik ilaçların başvurusu için teknik gerekliliklerin uyumlaştırılmasına ilişkin uluslararası konferans (ICH) Q8 İlaç Geliştirme üzerine, Tasarımla Kalite (QbD) yaklaşımını bildirmiştir. QbD, kalite risk yönetimi ve sağlam

bilim temelinde yeni ürün geliştirmek için kullanılan sistematik bir yaklaşımdır (53, 54). QbD tabanlı formülasyon tasarımının kritik noktası, ilaç geliştirme sürecinde deneme yanılma yöntemine değil, bilimsel deneysel tasarıma ve bilgiye dayalı yöntemlere dayanmaktır. FDA ayrıca 2007'deki kendi resmi raporunda yardımcı maddelerin hızlı seçimine ve formülasyonun verimli optimizasyonuna yardımcı olmak için bir uzman sistemi kurmayı önermiştir (55). Tasarımla kalite yaklaşımının bir parçası olabilecek olan ve ekspiyanların direkt basılabilirliğini değerlendiren SeDeM uzman sistemi 2005 yılında literatüre sunulmuştur (56). SeDeM uzman sistemi, ekspiyanların direkt basım için uygunluğunu değerlendiren bir ön formülasyon aracı olarak ifade edilmiştir. Geleneksel formülasyon tasarım yönteminin geliştirilmiş hali olup, sadece toz halindeki ilaçların ve yardımcı maddelerin fiziksel karakterizasyonunu değil, aynı zamanda toz halindeki maddenin doğrudan basıma uygunluğu hakkındaki bilgileri de içermektedir. Söz konusu sistemin tüm toz ve granüllerin karakterizasyonu için kullanılabileceğinin anlaşılmasından sonra bu sistemin ADT formülasyonu için kullanılabiliirliği değerlendirilmiş ve SeDeM-ODT uzman sistemi geliştirilmiştir (20, 57).

- ***Sabit Doz Kombinasyonları***

Birden çok etkin maddeyi bir arada içeren sabit doz kombinasyonları uygulama kolaylığı, hasta uyuncunda artış, uygun maliyet ve artırılmış etkinlik gibi avantajlar sunar (29). Klinik çalışmalar monoterapiye kıyasla kombinasyon terapisinin daha etkin ve güvenilir sonuçlar sağlayabildiğini göstermiştir (58). Kombinasyon tedavisi iki veya daha fazla ilacın farklı dozaj formları ile verilmesi ile yapılabilirken sabit doz kombinasyonları ile de yapılabilmektedir. Birden fazla ilacı içmenin hasta için getirdiği kısıtlamaların sabit doz kombinasyonu ile aşılması mümkün olmaktadır (59). Amlodipin besilat ve rosuvastatin kalsiyum klinik pratikte kombinasyon tedavisi olarak hipertansiyon ve dislipidemi tedavilerinde beraber kullanılmaktadır. Atorvastatin ve amlodipinin ikili ilaç kombinasyonu ile elde edilen tedavi etkinliği ile rosuvastatin ve amlodipinin ikili ilaç kombinasyonunun etkinliğini karşılaştıran bir çalışmada yan etki potansiyelinde anlamlı bir değişiklik olmazken rosuvastatin grubunda kan LDL-K seviyelerinde daha yüksek düşüş elde edilmiştir (60). Kore'de gerçekleştirilen; AML ve ROS'un eş zamanlı verilmesi ile sabit doz tablet

formülasyonunun farmakokinetik profillerinin karşılaştırıldığı biyoeşdeğerlik çalışmasında ikili uygulama ile sabit doz kombinasyonunun biyoeşdeğer olduğu gösterilmiştir (142). Etkin maddelerin farmakokinetik etkileşimini değerlendiren bir başka çalışmada amlodipin, valsartan ve rosuvastatinin beraber uygulanması halinde valsartan maruziyeti azalırken amlodipin ve rosuvastatin maruziyetinde anlamlı bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir (143). Mevcut veriler ışığında AML ve ROS içeren sabit doz kombinasyonunda ürün geliştirilmesi uygun bir yaklaşımdır.

### 2.2.2. SeDeM-ODT Uzman Sistemi (*SeDeM-ODT Expert System*)

SeDeM (*Sediment Delivery Model*) uzman sistemi, tozların sadece direkt basıma uygunluğunu değerlendiren bir yöntemdir ve temel gereksinimi basılabilirliktir (61). ADT formülasyonu geliştirmek için temel gereksinim dağılma yani parçalanabilme özelliğidir. SeDeM uzman sistemi, tozların fiziksel özelliklerini değerlendirmek üzere 12 temel parametreyi içeren ve 5 faktör elde edilmesini sağlayan bir sistemdir. SeDeM-ODT uzman sistemi ise bu 12 parametreye ek olarak; efervesan süresi, diskle dağılma süresi ve disksiz dağılma süresi olmak üzere üç yeni parametreyi içeren 15 parametre/6 faktör elde eden bir sistem olarak önerilmiştir (20). Bu yeni sistemde “Parçalanabilirlik” faktörü de değerlendirmeye alınmaktadır. Bu sayede kullanılan tozların ADT formülasyonu için uygun dağılma özellikleri gösterip gösteremeyeceği değerlendirilmektedir. Tablo 2.5.’de SeDeM-ODT uzman sisteminde yer alan 15 parametre ve bu parametrelerden elde edilen 6 faktör sunulmuştur.

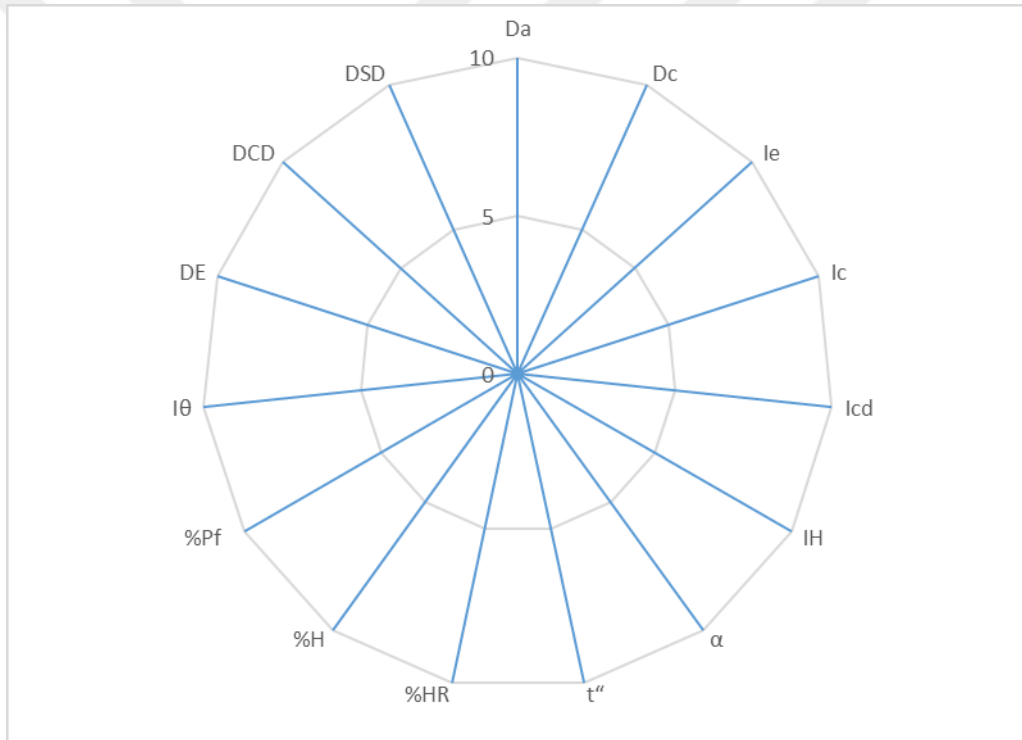
**Tablo 2.5.** SeDeM-ODT uzman sistemi değerlendirme parametreleri ve formüller (62, 63).

| Faktör                            | Parametre                                     | Sembol     | Birim  | Formül                    | Olması gereken yarıçap | Limitler (V) | Yarıçap için düzeltme faktörü |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------|------------|--------|---------------------------|------------------------|--------------|-------------------------------|
| <b>Boyut</b>                      | Kütle dansitesi                               | Da         | g/mL   | $Da=M/Va$                 | 1-10                   | 0-1          | 10V                           |
|                                   | Sıkıştırılmış dansite                         | Dc         | g/mL   | $Dc=M/Vc$                 | 1-10                   | 0-1          | 10V                           |
| <b>Basılabilirlik</b>             | Partikül arası porozite                       | Ie         | -      | $(Dc-Da)/(Dc \times Da)$  | 1-10                   | 0-1,2        | 10V/1,2                       |
|                                   | Carr indeks                                   | Ic         | %      | $100 \times (Dc - Da)/Dc$ | 1-10                   | 0-50         | V/5                           |
|                                   | Kohezyon indeksi                              | Icd        | N      | Deneysel                  | 1-10                   | 0-200        | V/20                          |
| <b>Akışkanlık/<br/>Toz akışı</b>  | Hausner oranı                                 | IH         | -      | $Dc/Da$                   | 1-10                   | 3-1          | $(30-10 V)/2$                 |
|                                   | Yığın açısı                                   | $\alpha$   | o      | $\tan^{-1}(h/r)$          | 1-10                   | 0-50         | $10-(V/5)$                    |
|                                   | Toz akışı                                     | t''        | S      | Deneysel                  | 1-10                   | 0-20         | $10-(V/2)$                    |
| <b>Kayganlık/<br/>Stabilite</b>   | Kurutmada kayıp                               | %HR        | %      | Deneysel                  | 1-10                   | 0-10         | 10-V                          |
|                                   | Higroskopisi                                  | %H         | %      | Deneysel                  | 1-10                   | 0-20         | $10-(V/2)$                    |
| <b>Kayganlık/<br/>Dozaj formu</b> | < 50 $\mu$ m partikül oranı                   | %Pf        | %      | Deneysel                  | 1-10                   | 0-50         | $10-(V/5)$                    |
|                                   | Homojenlik indeksi                            | I $\theta$ | -      | $Fm/100 + \Delta Fmn$     | 1-10                   | 0-2x10-2     | 500V                          |
| <b>Parçalanabilirlik</b>          | Efervesan süresi ( <i>effervesence time</i> ) | DE         | Dakika | Deneysel                  | 1-10                   | 0-5          | $(5 - V) \times 2$            |
|                                   | Diskle dağılma süresi                         | DCD        | Dakika | Deneysel                  | 1-10                   | 0-3          | $(3 - V) \times 3.33$         |
|                                   | Disk olmadan dağılma süresi                   | DSD        | Dakika | Deneysel                  | 1-10                   | 0-3          | $(3 - V) \times 3.33$         |

M: Tozun kütlesi (g); Va: Tozun ilk hacmi (mL); Vc: Tozun sıkıştırılmış hacmi (mL); h: Tozun yığın yüksekliği; r: Toz yığının taban yarıçapı; Fm: Dağılımda en sık görülen partikül boyutunun yüzdesi

Tablo 2.5.'te görüldüğü üzere 15 parametre için deneysel sonuçların elde edilmesi ve bu sonuçların 0 ile 10 arasına denk gelen yarıçap değerlerine dönüştürülmesi gerekmektedir. 0'ın altındaki değerler 0'a, 10'un üzerindeki değerler ise 10'a sabitlenecek şekilde her parametre için yarıçap düzeltme faktörü uygulanmaktadır. Elde edilen yarıçap değerinin 5'in üzerinde olması ilgili parametre için kabul edilebilir olup tüm değerlerin 10'a yakın olması ideal olarak değerlendirilmektedir (64).

Elde edilen yarıçap değerleri sayesinde 15 kenarlı bir poligon diyagramının elde edilmesi sağlanmaktadır. SeDeM-ODT uzman sisteminin sunduğu diyagramın boş hali Şekil 2.1.'de verilmiştir.



**Şekil 2.1.** SeDeM-ODT uzman sistemi ile elde edilen boş diyagram. Kısaltmalar Tablo 2.5.'te verilmiştir.

SeDeM-ODT uzman sisteminden hareketle 3 farklı indeksin hesaplanması gerekmektedir.

- *Parametrik İndeks*

Parametrik indeks (Pİ), çalışma için belirlenen toplam parametre sayısına göre “r” değeri 5 ve üzeri olan parametre sayısının oranıdır. Parametrik indeks değerinin

0,5 veya üzerinde bir değer olması beklenmektedir ve Eşitlik 2.1. yardımıyla hesaplanır;

$$P\dot{I} = \frac{S.P \geq 5}{S.P_t} \quad (2.1.)$$

$S.P \geq 5$ : Yarıçap değeri 5'e eşit ve büyük olan parametrelerin sayısı

$S.P_t$ : Toplam parametre sayısı

- *Parametrik Profil İndeksi*

Parametrik profil indeksi (PPI), tüm parametrelerin “r” değerlerinin ortalaması olarak hesaplanmaktadır ve 5'ten büyük veya eşit olması beklenmektedir.

- *İyi Basılabilirlik ve Bukodispersibilite İndeksi*

İyi Basılabilirlik ve Bukodispersibilite indeksi (İBİ), PPI değerinin güvenilirlik faktörü ile çarpılmasıyla hesaplanmaktadır. Güvenirlik faktörünün (f) mümkün olabilen en yüksek değeri “1” olup bir daireyi temsil etmektedir. Çalışılan parametre sayısı azaldıkça f değeri küçülmektedir (15 parametre için  $f=0,971$ ; 12 parametre için  $f=0,952$ ; 8 parametre için  $f=0,9$ ). İBİ değeri Eşitlik 2.2. yardımıyla hesaplanır ve kabul edilebilir değeri 5 ve 5'ten büyük olmasıdır.

$$İBİ = PPI \times f \quad (2.2.)$$

SeDeM-ODT uzman sistemi, toz halindeki maddenin fiziksel özelliklerinin ideal karıştırma kuralını izlediğini veya başka bir deyişle fiziksel parametrelerin doğrusal olarak eklenebileceğini varsaymaktadır. Uygun olmayan etkin maddeyi düzeltmek için en iyi eksipiyani ve optimum miktarını seçmek için bir matematiksel denklem oluşturulmasını sağlamaktadır (Eşitlik 2.3.).

$$DO = 100 - \left( \frac{DE_r - R}{DE_r - EM_r} \times 100 \right) \quad (2.3.)$$

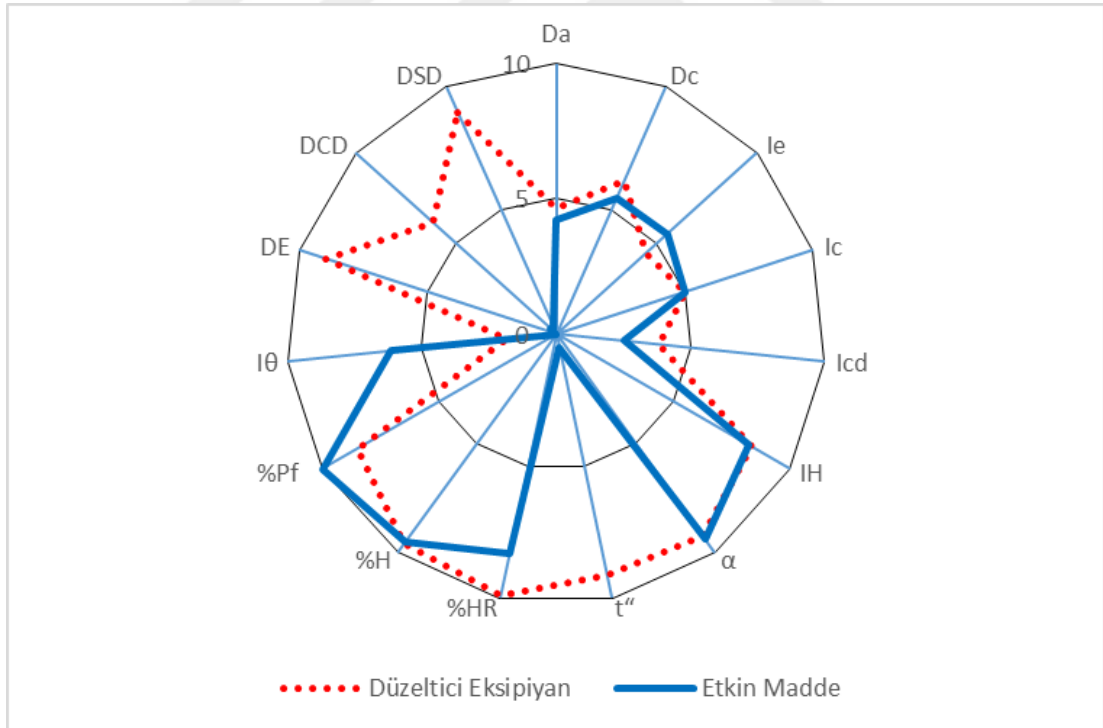
DO: Düzeltici eksipiyani oranı (%)

$DE_r$ : Düzeltici eksipiyani “r” değeri

R: Düzeltici eksipiyani ve etkin maddenin karıştırılması halinde elde edilmesi beklenen “r” değeri

EM<sub>r</sub>: Etkin madde “r” değeri

Düzeltilici eksipiyan oranına parametre veya faktör bazlı karar verilmektedir. Düzeltilici eksipiyanın en düşük oranda kullanılması için R değeri için kabul edilebilir değer olan “5” değeri seçilmektedir. Etkin maddenin herhangi bir parametresinin yarıçap değerinin 5’ten küçük olması halinde bu değeri düzeltebilecek eksipiyan verilen eşitlik yardımı ile tespit edilmektedir (Eşitlik 2.3). Düzeltilici eksipiyanın karşılık gelen parametresinin 5’ten büyük olması gerekmektedir. Böylece etkin maddenin fiziksel özellikleri iyileştirilebilmektedir. Teorik olarak sunulan örnekte de görüldüğü üzere “Parçalanabilirlik” özellikleri (DE, DCD ve DSD) ile toz akışı özelliği ( $t''$ ) kötü olan bir etkin madde için bu özellikleri daha iyi olan bir düzeltilici eksipiyan kullanmak gerekmektedir (Şekil 2.2.). SeDeM-ODT uzman sistemi tarafından sağlanan bilgiler, formülasyon tasarımcısının potansiyel yardımcı maddeyi hızlı bir şekilde seçmesini ve böylece formülasyonun geliştirme süresini kısaltmasını sağlar.



**Şekil 2.2.** Bir düzeltilici eksipiyan ve bir etkin maddenin örnek SeDeM-ODT diyagramı.

### 2.2.3. Ağızda Dağılan Tabletlerde Tat Maskeleme Yaklaşımları

Ağızda dağılan dozaj formlarının ağızda tükürük etkisiyle hızlı çözünmesi ile ağız boşluğunda kötü bir tada neden olur. Bu durum da hastaların uyuncunu büyük ölçüde azaltarak ilaçların kullanımını etkilemektedir (65). Bu nedenle, ağızda dağılan dozaj formlarındaki ilaçların istenmeyen tadını maskelemek, ürün geliştirme süreçlerinin önemli bir parçası haline gelmiştir. Acı tat mekanizmalarının üç gerekli koşulu (yeterli zaman, tat sinyali ve acılığın eşik konsantrasyonu) için üç tat maskeleme stratejisi önerilmiştir. Bunlar zaman güdümlü tat maskeleme, algı güdümündeki tat maskeleme ve konsantrasyon güdümlü tat maskelemesidir (66).

*Zaman güdümlü tat maskeleme*, ağızda dağılan dozaj formlarının tadını maskelemede zaman kritik bir faktör olarak değerlendirilir. Sıradan oral dozaj formlarından farklı olarak, ağızda dağılan dozaj formlarındaki ilaçlar ve çeşitli yardımcı maddeler ağızda dağılır veya çözünür, acılık algısı ilaç biriktikçe kademeli olarak artar ve acı moleküller fiziksel olarak yayılır. Acılığın ağız boşluğunda kalma süresini kısaltmak için ilaç içeriğinin hızlı sıvılaştırılması, ilacın ağızdan uzaklaştırılmasını kolaylaştırabilmektedir.

*Algı güdümünde tat maskeleme*, acı tadı azaltmak için tat reseptörü algısına müdahale etmeyi amaçlar. Tatlandırıcılar, acı tat engelleyiciler, tatlandırıcı maddeler ilacın ağız boşluğundaki acı eşiğini iyileştirmeyi amaçlar. Algı güdümündeki tat maskelemesi ile tat reseptörlerinin algısını etkileyerek, yeterli zaman ve acılık eşiklerinin üzerinde konsantrasyon koşulları altında bile tat reseptörlerinin nispeten düşük yoğunlukta acılık sinyali iletmesine neden olunmaktadır. Tatlandırıcılar, çeşitli tipleri ve belirgin tat engelleme etkileri nedeniyle genellikle tat maskelemesi için ilk tercihtir.

*Konsantrasyon güdümlü tat maskeleme*, ilaçların ağız boşluğunda saldığı acılığı azaltabilir. Yardımcı maddeler ve ilaçlar arasındaki etkileşime göre, fiziksel kapsülleme, kimyasal maskeleme ve her ikisinin bir kombinasyonu olarak uygulamak mümkündür. Fiziksel kapsülleme yöntemi ilacı izole etmek veya ağız boşluğunda çözünmeyi daha da önlemek için çözünmeyen malzemeyle kaplamak için, jelleştirici-şişen tabaka kaplaması, tuz sistemi (*salting out*) kaplaması, partikül kaplaması, çok katmanlı polimer kaplaması, siklodekstrin inklüzyonu, katı dispersiyon ve

mikroküreler gibi uygun teknikleri kapsamaktadır. İlaç kaplamaları tat maskelemede ne kadar etkili olsa da ilacın biyoyararlanımını etkileyebilirler; inklüzyon kompleksleri ve katı dispersiyon yaklaşımları bu dezavantajın üstesinden gelebilmektedir.

- **Katı Dispersiyon**

İlacın bir polimer matris içerisinde dağıtılarak bir karışım oluşturduğu katı dispersiyonlar (KD), suda çözünürlüğü, çözünme hızını, oral biyoyararlanımı artırmak gibi avantajlar sunmaktadır. Katı dispersiyonların hazırlanması aynı zamanda tat maskeleme yaklaşımı olarak kullanılabilir. Etkin maddenin bir polimer ortamında dağıtılması ile ağız boşluğunda ilacın salımının kısıtlanması sağlanmaktadır. Katı dispersiyon hazırlama yöntemleri olarak çözücü uçurma temelli yöntemler (sprey kurutma, elektro-sprey, akışkan yatak teknolojisi, süper kritik akışkan teknolojisi, sprey-dondurarak kurutma ve diğer çözücü uçurma yöntemleri), eritme temelli yöntemler (sıcak eriyik ekstrüzyon, KinetiSol®, 3B basım, mikrodalga ısıtma, ve diğer eritme yöntemleri) ve diğer yöntemler (granülasyon, birlikte çöktürme ve öğütme temelli yaklaşımlar) (67). Basit çözücü uçurma tekniği, polimer ve etkin maddenin bir çözücü içerisinde çözündürülmesi ve çözücünün sıcaklık, basınç gibi dış etkenler yardımı ile uçurulması ile gerçekleştirilir (68-70).

Katı dispersiyon hazırlamak için uygun polimer adayını seçmek gerekmektedir. Eudragit polimer ailesi çeşitli kullanım amaçları ile seçenekler sunmaktadır. Eudragit RS, Eudragit S100, Eudragit L 100-55, Eudragit E100 gibi türleri çeşitli teknolojiler yardımı ile katı dispersiyon üretiminde kullanılabilir (71-73). Eudragit E100 pH bağımlı çözünme özelliği göstermektedir. Eudragit E100, dimetilaminoetil metakrilat (DMAEMA) ve diğer nötr metakrilik asit esterlerine dayalı katyonik bir polimerdir. Yaygın olarak oral ve topikal formülasyonlarda kullanılır ve genel olarak toksik olmayan, tahriş etmeyen ve insanlarda esasen güvenli olduğu kabul edilen bir polimerdir (74). Eudragit E100 pH 5,0 değerinin altında çözünürken pH 5,0 değeri üzerinde şişme özelliği göstermektedir. Bu spesifik davranış sayesinde ilaç etkin maddesinin tükürük ortamında ( $pH > 5$ ) polimerin şişmesi nedeniyle salımının kısıtlanması ile tat maskeleme yaklaşımı benimsenmiştir. Mide ortamında ( $pH < 5$ ) polimerin çözünerek ilaç etkin maddesini salması sağlanmaktadır.

- **Siklodekstrin İnküzyonu**

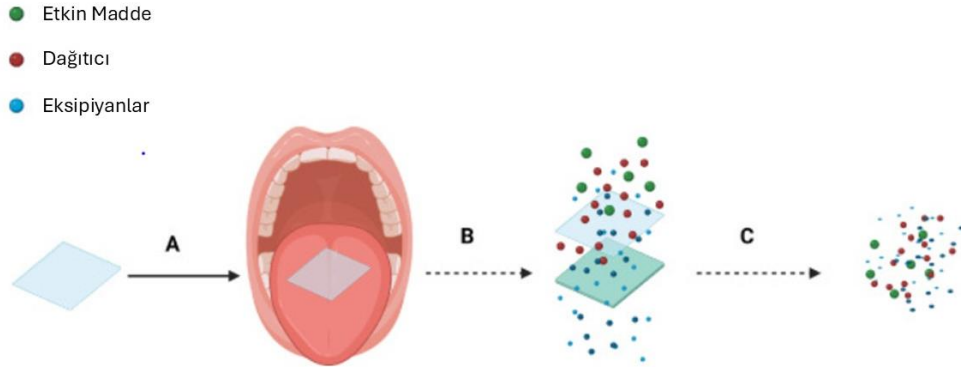
Fiziksel enkapsülasyon tekniği olarak siklodekstrin kompleksleri kullanılabilmektedir. Bölüm 2.3'te inküzyon komplekslerine dair ayrıntılı bilgi verilmiştir.

#### **2.2.4. Ağızda Dağılan Filmler (*Orodispersible Films*)**

Ağızda dağılan dozaj formlarından bir diğeri de ağızda dağılan filmlerdir (ADF). Ağızda dağılan filmler etkin maddeler ve yardımcı maddelerden oluşan ultra ince dozaj formları olarak tanımlanmaktadır (23). Ağızda dağılan filmler dil üzerine yerleştirildiğinde, dağılma ve/veya çözünme öncesinde tükürüğü emerek hemen nemlenmektedir ve dozaj formundan etkin maddeyi serbest bırakmaktadır (75). ADF'ler genel olarak hidrofilik polimerleri içeren ve tükürükle temas halinde hızlıca dağılma sağlayan sistemlerdir. Tipik bir ADF formülasyonu genellikle bir posta pulu boyutuna eşittir. ADF'lerin ADT'lerde olduğu gibi çok sayıda avantajı vardır ve bunlardan bazıları şunlardır; kolay taşıma, geriatrik ve pediatrik hastalarda yutma kolaylığı, rahat ve doğru dozlama, uygulama için suya gerek olmaması, tablet ve kapsül yutmada zorluk çeken disfazik hastalar için uygunluk, hepatik ilk geçiş etkisini atlayarak artan biyoyararlanımla hızlı etki başlangıcı ve stabilite (76). ADF'ler için tanımlanan kritik kalite özelliklerinden önemli ikisi mekanik mukavemet kabiliyeti ve hızlı dağılma yeteneği olarak bildirilmektedir. Yüksek sıcaklıkta çalışılan üretim yöntemleri ve nem hassasiyeti, pahalı paketleme gerektirmesi ve yüksek doz yükleme yapılamaması ADF'lerin dezavantajları olarak sıralanabilmektedir (77).

ADF'ler, etkin maddeler ve işlevi optimize etmek için yapıştırıcılar gibi uygun yardımcı maddeler içeren bir veya birden fazla katmandan oluşabilir. Esas olarak kitosan veya selüloz gibi doğal polimerlerden veya polivinil alkol (PVA) ve polivinil piroolidon (PVP) gibi sentetik polimerlerden oluşurlar. ADF'lerin başlıca sınırlamalarından biri, film başına yaklaşık 50 mg olduğu tahmin edilen maksimum ilaç yüklemesi potansiyelidir. Şekil 2.3., tipik bir ADF'nin parçalanıp etkin maddeyi serbest bırakma mekanizmasını göstermektedir. Ağızdaki tükürük, parçalanan filmin şişmesine neden olarak tükürüğün penetrasyonu için kanallar oluşturmaktadır ve film, etkin maddelerin serbest bırakıldığı ve kolayca yutulabildiği, bukkal ve dil altı

mukozası yoluyla emilebildiği veya ağız boşluğu içinde lokal bir etki gösterebildiği dil ile temastan itibaren 30 saniye içinde hızla parçalanarak bir yapı oluşturmaktadır.



**Şekil 2.3.** ADF'ler, etkin madde, süper dağıtıcılar gibi hızlı parçalanarak ajanlar ve permeabilite arttırıcılar, tükürük uyarıcıları, pH modülatörleri veya mukolitik ajanlar gibi ek yardımcı maddeler de dahil olmak üzere çeşitli bileşenlerden oluşur (A). Ağızda tükürük penetrasyonu (B) ve filmin, parçalanması (C).

#### • *Ağızda Dağılan Film Üretim Yöntemleri*

ADF üretim yöntemleri çözücü dökme (*solvent casting*), 3-boyutlu (3B) yazıcı tekniği, sıcak eriyik ekstrüzyon tekniği ve elektro-eğirme tekniği olarak sıralanabilmektedir.

*Çözücü dökme tekniği (solvent casting)* fotoğraf endüstrisinin ihtiyaçları tarafından yönlendirilen köklü bir teknoloji olarak ifade edilmektedir. İlaç üretimi alanında, ADF üretmek için en geleneksel yöntem haline gelmiştir. Yöntem, polimerleri, etkin maddeleri ve diğer yardımcı maddeleri uygun bir çözücüde çözmeyi ve ardından karışımı kurutmayı esas almaktadır. Karışım genellikle bir fırın gibi bir kurutma cihazında kurutulmaktadır. Elde edilen kurutulmuş film daha sonra önceden belirlenmiş boyutlarda şeritler halinde kesilir ve özel ambalajlarda ayrı ayrı kapatılır. Homojen bir film oluşmasını sağlamak için çözeltinin hapsedilmiş hava kabarcıkları olmadan ayarlanması gereklidir. Kabarcıklar hapsedilirse, bu, farmasötik olarak kabul edilebilir olmayan partiden partiye değişime neden olabilmektedir. Bu yöntem oral boşluğun bukkal ve sublingual bölgesine uygulanmak üzere ADF formülasyonu için en yaygın üretim yöntemi olarak bildirilmektedir (78).

*3B yazıcı ile baskı tekniği* son zamanlarda ADF'lerin üretiminde kullanılmaya başlanmıştır. ADF'leri hazırlamak için çeşitli 3B baskı teknikleri kullanılmıştır. Mürekkep püskürtmeli baskı, ilaç kombinasyonlarının aynı anda kullanılmasını sağlayan basit ve kolayca özelleştirilebilir bir tekniktir. Mürekkep, motor kontrollü bir baskı kafasından geçer, baskı yatağına ulaştığında katılaşarak ince bir tabaka oluşturur (79). Füzyonlu depozisyon modellemesi, ADF'leri hazırlamak için kullanılan bir başka 3B baskı tekniğidir. Ancak, filamentin çıkarmak için gereken yüksek sıcaklık, biyolojik malzemelerle uygulamasını kısıtlayabilmektedir.

*Sıcak eriyik ekstrüzyonu (Hot melt extrusion, HME)* polimerik matrislerde etkin maddelerin moleküler dispersiyonunu üretmek için kullanılan bir yöntemdir. Genel olarak, HME ham maddelerin yüksek basınçta sıcaklık kontrollü kalıptan beslenmesine dayanır. Ekstrüdat, ürün ekstrüde edilene ve ardından katılaşana kadar bir kalıptan akar. HME, tabletler, implantlar, filmler ve pelletler gibi çeşitli farmasötik dozaj formlarının üretiminde yaygın olarak kullanılır (80, 81). Filmlerin hazırlanmasında, polimerik eriyik ince bir yarıktan ekstrüde edilir ve daha sonra soğutma haddeleme silindirlerinden geçirilir ve son olarak daha küçük parçalara kesilir.

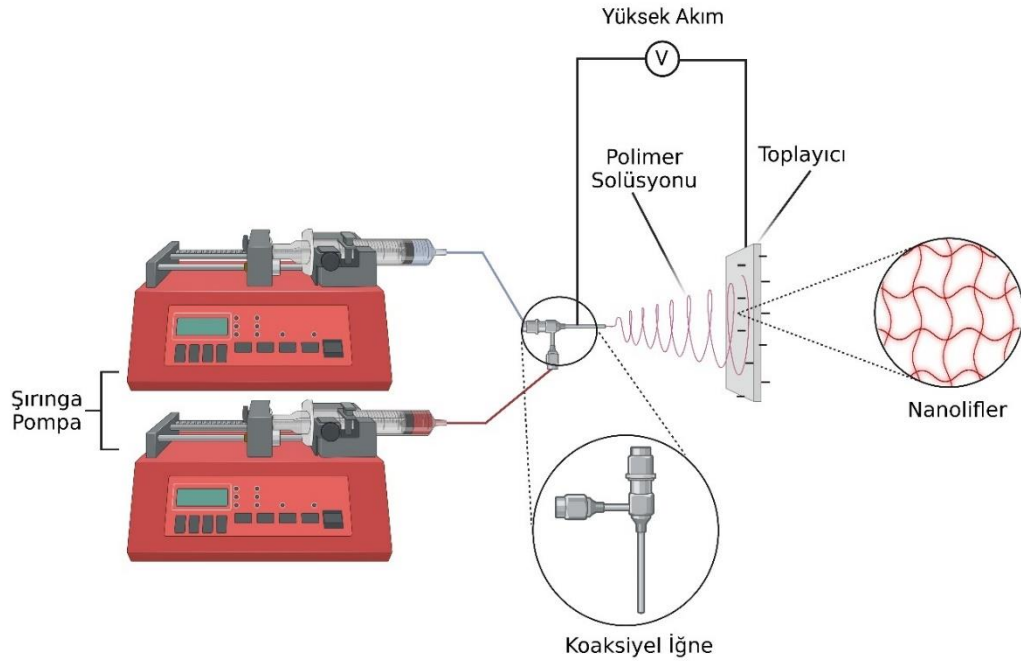
*Elektro-eğirme* polimer bazlı çözeltilerden yüksek voltaj altında çözücülerin ultra hızlı bir şekilde uzaklaştırılması ve nanofiber ağ katı yapısının oluşturulması esasına dayanır ve tek adımlı sürekli üretim yoluyla ADF'lerin üretiminde kullanılabilir veya diğer dozaj formlarına işlenebilir.

- ***Elektro-Eğirme Teknolojisi***

2000'li yılların başında, karbon bazlı nanofiberlerin geliştirilmesi üzerine bu alanda çeşitli araştırmalar yürütülmeye başlanmıştır. Polimerler nanofiber/nanolif üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Nanofiber uygulamaları, tekstil endüstrisinde (82), enerji depolama ve enerji hasadı gibi enerji uygulamalarında (83), malzeme bilimi ve mühendisliğinde (84, 85), atık su arıtımı (86), yara örtüsü ve ilaç ürünü geliştirilmesi (87) gibi uygulamalarda kullanılmaktadır. Nanoteknoloji araştırmalarının değerlendirilmesinde, elektro-eğirme yöntemi nanoliflerin sürekli ve etkili üretimini sağladığı için önemli ilgi görmektedir. Çeşitli nanofiber üretim teknikleri arasında elektro-eğirme yöntemi üretim kolaylığı, maliyet etkinliği, ölçek

büyütme üretimine uygunluk ve lifli yapının nihai özelliklerinin modifiye edilebilmesi gibi çok sayıda avantajı nedeniyle en çok tercih edilen yöntem olarak öne çıkmaktadır (88).

1934 yılında Anton Formhals, literatürdeki ilk elektro-eğirme işlemini "Yapay iplikler hazırlama süreci ve aparatı" adlı çalışması ile bildirmiştir (89). Sonraki yıllarda Formhals, ilk buluşun sınırlamalarını ele almak için ek patentler sunmuştur (90, 91). 1960'larda Taylor, elektrik alanındaki sıvı jeti üzerindeki çalışmalarıyla elektro-eğirme işleminin temellerini atmaya devam etmiştir (92, 93). Elektro-eğirme yöntemi, yüklü polimer çözeltisi akışı oluşturmak için bir elektrik alanı kullanarak çalışmaktadır ve bu akış sıvı jeti olarak bilinmektedir. Polimer çözeltisi bu akışta havada hareket ettikçe, çözücü buharlaşır ve geride elektriksel olarak saptırılabilen veya iletken bir toplayıcıda toplanabilen yüklü bir lif bırakır (94). Bu işlem sırasında belirli voltaj seviyelerinde, polimer pompa ucunda "Taylor Konisi" olarak adlandırılan bir koni şeklini alır (93). Elektro-eğirme işlemini oluşturan ana bileşenler arasında yüksek voltajlı bir güç kaynağı, bir şırınga pompası, bir nozul ve bir iletken toplayıcı bulunur (Şekil 2.4.). Elektro-eğirme işlemi dört ardışık aşamaya ayrılabilir: sıvı damlacığının yüklenmesi ve bir Taylor konisi veya koni biçimli jet oluşumu; yüklü jetin düz bir çizgi boyunca uzaması; jetin incilmesi ve elektrik alanından dolayı kırbaçlama kararsızlığı olarak bilinen elektriksel bükülme kararsızlığının gelişmesi ve son olarak jetin toplayıcı üzerinde katı elyaf(lar) olarak katılaşması ve toplanması. Elektro-eğirme elyaflarının oluşumu ve lif çapı genellikle uygulanan voltaj, pompa akış hızı ve nozul ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe gibi işlem parametreleri tarafından kontrol edilebilmektedir (88).



**Şekil 2.4.** Elektro-eğirme tekniğinin şematik gösterimi.

Nanofiber teknolojisi, özellikle az çözünen ilaçların çözünürlüğünü iyileştirmeyi ve hızlı etki başlangıcını sağlamayı amaçlayan ADF formülasyonlarının geliştirilmesinde oral ilaç uygulaması için umut verici fırsatlar sunmaktadır. Örneğin, bir çalışmada, antiemetik endikasyonu olan ondansetronun ADF formülasyonu geliştirilmiştir. Çalışmada, inklüzyon kompleksi oluşumu bir oligosakkarit olan hidroksipropil-beta-siklodekstrin (HP $\beta$ CD) kullanılarak elde edilmiştir. Ayrıca, HP $\beta$ CD elektro-eğirme polimeri olarak kullanılmış olup başka bir polimer kullanılmamıştır. Tüm sonuçlar, nanofiber tasarımının ADF formülasyonu olarak geleneksel dozaj formlarına iyi bir alternatif olabileceğini göstermiştir (95). Başka bir çalışmada düşük çözünürlüğe sahip metronidazol etkin maddesi için ADF geliştirilmiştir. Benzer şekilde, sadece hidroksipropil- $\beta$ -siklodekstrin kullanılarak geliştirilen film formülasyonlarının çok hızlı çözünme özelliklerine sahip olduğu gösterilmiştir (96). Başka bir örnekte ise bir antibiyotik olan izoniazid yüklü hızlı çözünen bir nanofiber film geliştirilmiştir (97). PVP ile emülsiyon-elektro-eğirme ile hazırlanan nanofiber ADF formülasyonlarının kurkuminin ıslanabilirliğini ve

hidrofilikliğini artırdığı gösterilmiştir (98). Bir başka çalışmada ise hidroksipropil metil selüloz ve polietilen oksit polimerleri ile hazırlanan kurkumin nanofiberleri ile kurkuminin çözünürlüğü anlamlı derecede artırılmıştır (99). Acı bir tada ve zayıf çözünürlüğe sahip olan meloksikamın ADF formülasyonunu üretmek için PVP/HP $\beta$ CD karışımı kullanılmış ve nanofiber matların geleneksel forma kıyasla artan yüzey alanı nedeniyle daha yüksek ilaç salımı sağladığı gösterilmiştir (100). Nanofiber tasarımlarının elektro-eğrilmiş formları, Alzheimer hastalığında kullanılan donepezil için de araştırılmıştır. Çalışmada geliştirilen nanofiber formülasyonları hızlı ilaç salımına imkân vermiş ve yaşlı hastalarda Alzheimer hastalığının tedavisinde konvansiyonel dozaj formuna alternatif olabileceği bildirilmiştir (101). Bu çalışmalar toplu olarak, çözünürlük ve tat maskeleyme gibi konuları ele alarak çeşitli terapötik endikasyonlar için etkili ve yenilikçi ilaç sistemleri tasarlamada nanofiber teknolojisinin potansiyelini ortaya koymuştur.

- ***Elektro-eğrilmiş Elyafların Kritik Kalite Özelliklerini Etkileyen Parametreler***

Elektro-eğrilmiş nanofiberlerin kritik kalite özelliklerini etkileyecek bazı işlem içi ve işlem dışı parametreler vardır. İşlem parametreleri elektro-eğirme işlemini yönetmede önemli bir rol oynamaktadır. Bu parametreler uygulanan voltaj, akım türü, pompa hızı, iğne/nozul boyutu, nozul ile toplayıcı arasındaki mesafe (çalışma uzaklığı), toplayıcı türü, nem ve sıcaklıktır. Bu parametrelerin kapsamlı bir şekilde anlaşılması ve değerlendirilmesi, ortaya çıkan nanofiberlerin özelliklerini kontrol etmek ve yönetmek için önemlidir. Bu işlem parametrelerinin uygun şekilde yönetilmesi, elektro-eğirme işleminde istenen sonuçlara ulaşmak, lif morfolojisi, çapı ve diğer önemli özellikler üzerinde hassas kontrol sağlamak için önemlidir. Elektro-eğrilmiş elyafların kritik kalite özelliklerini etkileyen parametreler aşağıdaki şekilde verilmiştir.

İşlem içi parametreler;

- *Uygulanan Voltaj*

Elektro-eğirme işlemini başlatmak için bir elektrik alanı oluşturulması gerekmektedir. Bu elektrik alanını oluşturmak için, genellikle kesintisiz bir güç kaynağı kullanılarak farklı voltajlarda güç sağlanır. Literatürdeki çalışmaların çoğunda, tek bir çalışma için uygulanabilecek etkili voltaj değerini bulmak amacıyla farklı aralıklarla çalışmalar yürütülmüştür. Bu çalışmalar, polimerin eğrilebilirliğinden liflerin morfolojik özelliklerine kadar birçok değişkenin etkilenebileceğini göstermiştir. Elektro-eğirme işlemi sırasında, polimer jetinin davranışı, uygulanan voltajdaki değişikliklerle belirgin değişikliklere uğrar. Başlangıçta belirli bir voltaj eşiğine ulaşılan kadar hiçbir lif oluşumu gözlenmezken bu eşğin üzerinde voltajdaki artış, boncuklu liflerin daha sık oluşmasına yol açar. Ancak, optimum voltaj değerine ulaşıldığında, düzgün ve boncuksuz lifler başarıyla oluşturulabilir. Voltajdaki daha fazla artış, iğne ucundaki damlacık boyutunun azalmasına neden olur. Voltaj artmaya devam ettikçe, iğne ucunda gözlemlenen polimer çözeltisinin damlası kaybolur ve iğnenin içinde jet oluşumu meydana gelir. Bu olgunun, artan elektrik alanının polimer çözeltisini toplayıcıya daha hızlı çekmesi ve iğne ucunda damla oluşumunu olanaksız hale getirmesi nedeniyle meydana geldiğine inanılmaktadır. Sonuç olarak, düzensiz boncuksuz yapılar elyaf morfolojisinde ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, istenen elyaf özelliklerine ulaşmak için optimum eğirme voltajı değerinin belirlenmesi temeldir (102).

- *Akım Tipi*

Elektro-eğirme işleminde doğru akım yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, bu elektrik alanı oluşturmak için alternatif akım kullanmak da mümkündür. Alternatif akımın kullanımı, kare, sinüs veya üçgen gibi dalga biçimine ve alternatif akımın frekans özelliklerine bağlı olarak elektro-eğirme işleminde değişikliklere neden olur. Dalga biçimi ve uygulanan frekans, akışkanın elektrifikasyonunu değiştirir ve bu, jet başlangıcını ve sonlanmasını, yüklü segmentlerin uzunluğunu, kırbaçlama kararsızlığını ve sanal toplayıcı oluşumunu etkileyebilir. Dahası, liflerin morfolojik özelliklerini etkilerler. Alternatif akımın ve ilişkili parametrelerin seçimi, elektro-

eğirme işleminde esneklik sağlayarak, lif özelliklerinin daha fazla kontrol edilmesine ve özelleştirilmesine olanak tanıyabilmektedir (103).

- *Pompa Hızı*

Pompa hızı/besleme hızı, elektro-eğirme sırasında transfer edilen jet miktarını etkiler. Jet akarken, çözücünün elektrik alanında buharlaşması beklenir. Ancak, aşırı yüksek bir akış hızında çalıştırıldığında, jet toplayıcıya ulaşmadan önce kurumak için yeterli zamana sahip olamaz. Bu durum elde edilen elyaflarda boncuk oluşumuyla sonuçlanır. Yüksek akış hızında çapın doyma noktasına kadar hız arttıkça liflerin çapının kalınlaştığı bildirilmiştir (102, 104). Elektro-eğirme sırasında pompa hızının yönetilmesi, istenen lif morfolojisi ve çapının elde edilmesi için kritik öneme sahiptir. Bu parametrenin dikkatli bir şekilde ayarlanması, tutarlı özelliklere sahip düzgün ve boncuksuz liflerin üretilmesini sağlayarak çeşitli uygulamalar için nanofiberlerin başarılı bir şekilde üretilmesine katkıda bulunmaktadır.

- *Çalışma Uzaklığı*

Nozul ile toplayıcı arasındaki mesafe, nanofiber üretiminde optimize edilmesi gereken bir diğer parametredir. Eğirme sırasında jetin düzgün bir şekilde kurutulması ve toplayıcıda toplanması, başarılı bir elektro-eğirme için esastır. Nozul ile toplayıcı arasındaki mesafe çok kısa olursa, jet tamamen kurumak için yeterli zamana sahip olmayabilir ve bu da liflerde boncuk oluşumuna yol açabilir. Öte yandan, aşırı uzun mesafeler de liflerin morfolojisini etkileyebilir. Nozul ile toplayıcı arasındaki mesafenin hassas bir şekilde kontrol edilmesi, boncuk veya düzensizliklerden arındırılmış, homojen nanofiberlerin başarılı bir şekilde üretilmesini sağlar (105).

- *Nozul Çapı*

Elektro-eğirme tekniğinde kritik bir parametre olarak iğne/nozul boyutunun da önemi vurgulanmaktadır. Örneğin, poli-l-laktit-poli-ε-kaprolakton kopolimerini kullanan bir çalışmada sabit koşullar altında iğne ucu boyutunu değiştirerek elde edilen liflerin özellikleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar iğne çapının artırılmasının lif çapında artışa neden olduğunu göstermiştir (106). Başka bir çalışmada ise polimer karışımının iğne ucunda jelleşmesi nedeniyle daha küçük bir iğne ucuna geçiş gerekli

olmuştur (107). İğne boyutunun seçimi, elektro-eğrilmiş liflerin morfolojisi ve özellikleri üzerinde önemli bir etki yaratabilir.

- *Toplayıcı Tipi*

Elektro-eğirme işlemi sırasında jetin toplandığı toplayıcı tipi temel bir rol oynar. Alüminyum folyo en yaygın kullanılan toplayıcı malzemesi olsa da çeşitli diğer malzemeler de kullanılabilir. Bir çalışmada, alüminyum folyo, tel elek ve alüminyum folyo üzerinde tel elek olmak üzere üç farklı toplayıcının işlem performansı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Nanofiber matın alüminyum folyodan çıkarılmasının zor olabildiği, tel elek ise toplayıcı ile nanofiber mat arasında daha iyi bir ayırma sağladığı belirtilmiştir. Söz konusu çalışmada, teknik hava üfleme destekli çalışılmıştır. Bu yöntemde, tel elek hava akışının geçirgenliğini sağladığı için alüminyum folyo toplayıcıdan üstün olarak değerlendirilmiştir (108). Toplayıcının düz veya tambur olması da nanofiber matların özelliklerini etkileyebilir. Düz toplayıcı çoğunlukla tek dozlu, küçük ölçekli üretim için kullanılabilirken, tambur toplayıcı çok dozlu veya nispeten büyük ölçekli üretim için kullanılabilir (109).

- *Nem ve Sıcaklık*

Nanofiberlerin üretimi, çevresel koşulların değişkenliğinden önemli ölçüde etkilenir. Bu nedenle, önceden belirlenmiş veya sabit bir nem ve sıcaklıkta çalışmak gerekir. Jelatin ile nanofiber iskelelerinin imalatına ilişkin bir çalışmada gösterildiği gibi, çözelti viskozitesi ve yüzey gerilimi artan sıcaklıkla azalır. Benzer şekilde, sıcaklık belirli bir seviyeye ulaşana kadar yeterli iletkenlik gösterilememiştir. Bu bakış açısı ile viskozite, iletkenlik ve yüzey geriliminin doğrudan sıcaklıktan etkilendiği gösterilmiştir (110). Ayrıca, çevre nemi de elektro-eğirme işleminde hayati bir rol oynar. Jet akışı düşük nemli bir ortamda hızla kurur ve elektro-eğirme verimli bir şekilde ilerleyemeyebilir. Yüksek veya düşük nemin lif yapısı üzerindeki etkisi de gösterilmiştir (111). Elektro-eğirme işlemi sırasında bağıl nemi kontrol ederek elde edilen nanofiberlerin çapının değiştirilebileceği gösterilmiştir. Daha düşük bağıl nem değerleri daha kalın nanofiberler ile sonuçlanırken, daha yüksek bağıl nem değerleri daha ince nanofiberler ile sonuçlanmaktadır. Lifin morfolojisini etkileyen bu durum, aynı zamanda elde edilen matın mekanik özelliklerini de etkiler. Bu nedenle, bağıl nemi ayarlayarak elyaf morfolojisi ve matın mekanik özellikleri istenilen düzeyde elde

edilebilir (112). Sonuç olarak, sıcaklık ve nem gibi dış faktörler, proses parametreleri olarak tanımlanmalı ve optimize edilmelidir.

İşlem dışı parametreler (polimer çözeltisinin özellikleri);

- *Viskozite*

Polimer çözeltisinin viskozite ve yüzey gerilimi, elektro-eğirme işlemini önemli ölçüde etkileyen kritik özellikleri temsil etmektedir. Bu nedenle polimer çözeltisinin doğru konsantrasyonda olması elde edilecek liflerin morfolojisi ve özellikle çapı için önemlidir. Düşük viskozite, liflerin morfolojisi üzerinde istenmeyen etkilere yol açabilir. Minimum düzgün lif çapını ve kabul edilebilir morfolojiyi elde etmek için polimer çözeltisinin viskozitesi belirli bir seviyeyi aşmalıdır. Son derece düşük viskozite, lif kesilmelerine yol açabilirken, aşırı yüksek viskozite, polimer çözeltisini eğrilemez hale getirir. Bu nedenle, başarılı elektro-eğirme için uygun bir viskoziteye ulaşmak esastır (113). 100-2000 *centipoise* viskoziteye sahip bir polimerik eğirme çözeltisi, elektro-eğirme için uygun bir çözelti olarak kabul edilir. Genel olarak, 20 poise'dan daha yüksek viskozitelerde elektro-eğirme mümkün değildir. Çözeltinin viskozitesi arttıkça, liflerin çapı artmaktadır. Aynı şekilde polimer viskozitesinin azaltılması, nanofiber çapında bir azalmaya yol açmaktadır. Çözeltinin viskozitesi 1 poise değerinden az olduğunda, sıvı akışının damlacıklara ayrılması nedeniyle elyaf morfolojisinde damlacıklar belirlemektedir. Çözelti konsantrasyonu arttıkça, tespit edilen bu damlacıkların şekli küreselden iğ şekline değişmektedir (114). Polimer çözeltisinin daha yüksek konsantrasyonlarında ve viskozite değerlerinde elektro-eğirme nozulunda tıkanma meydana gelebilmektedir (115).

- *İletkenlik*

Elektro-eğirme işleminin temel gereksinimi bir elektrik alanı oluşturmak ve polimer çözeltisini bu elektrik alanına maruz bırakmaktır. Bu nedenle, polimer çözeltisinin iletken özelliklere sahip olması beklenir. Bu açıdan, polimer çözeltisinin konsantrasyonundaki artış iletkenliği olumsuz etkileyebilmektedir (114). Elektrik alanı oluşturmak için farklı iyonlar eklemek gibi stratejiler kullanılarak çözeltinin iletkenliğini artırmak mümkündür. Elektro-eğirme işlemi için yeterli iletkenliğe sahip bir polimer çözeltisi seçmek önemlidir (113).

- *Yüzey Gerilimi*

Polimer çözeltisinin yüzey gerilimi, çözeltinin eğrilebilmesi için aşılması gereken bir eşik olarak ifade edilmelidir. İletkenlik ve viskozite doğru şekilde ayarlanmış olsa bile, yüzey geriliminin elektrik alanı tarafından aşılması beklenir. Polimer çözeltileri hazırlamada kullanılan çeşitli çözücüler, farklı yüzey gerilimlerine yol açabilir. Bu nedenle, yüzey geriliminin üstesinden gelinebilmesini sağlamak için çözücü seçiminde dikkatli olunmalıdır. Taylor tarafından 1969'da sunulan denkleme göre, uygulanacak kritik voltaj değerinin yüzey gerilimiyle doğru orantılı olduğu gösterilmiştir (92). Genel olarak, 35-55 dyn/cm<sup>2</sup>'lik yüzey gerilimi, elektro-eğirme işlemi için uygun kabul edilir. Bir polimer çözeltisinin yüksek yüzey gerilimi, sıvı jetlerinin kararsızlığı ve püskürtülen damlacıkların oluşumu nedeniyle elektro-eğirme işlemini olumsuz etkilemektedir. Düşük yüzey gerilimli çözeltinin kullanımı, daha düşük bir elektrik alanı gereksinimiyle sonuçlanır. Yüzey gerilimi, uygun koşullar altında yüzey aktif maddelerin dahil edilmesi gibi çeşitli yaklaşımlarla manipüle edilebilir (114). Sabit durum koşulları altında, yüzey geriliminin üst ve alt sınırları, elektro-eğirme işleminin aynı sınırlarını belirlemektedir (111).

- *Elektro-eğirme Tekniğinde Kullanılan Polimerler*

Elektro-eğirme işleminde yaygın olarak iki ana polimer türü olarak doğal ve sentetik polimerler kullanılır. Doğal polimerler, yüksek performansları nedeniyle polimer teknolojisinde yaygın olarak kullanılmıştır. Doğal polimerlerin bu performanslarına örnek olarak iyi mukoadesyon, gerilme mukavemeti, hücre dışı matrisin taklidi, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar etkiler verilebilir. Bununla birlikte, doğal polimerlerin doğada oluşma şekli, sentetik polimerlerin üretimi için bir ilham kaynağı olmuştur (116, 117). Elektro-eğirme işleminde poli-(vinil alkol) (PVA) ve polikaprolakton (PCL) gibi sentetik polimerler ve jelatin ve kitosan gibi doğal polimerler dahil olmak üzere çeşitli polimer türleri kullanılır. Ek olarak, belirli özellikleri birleştiren kopolimerler de kullanılır. Bir ilaç sistemi geliştirirken, biyolojik olarak parçalanabilirlik veya parçalanmama, hidrofilisite, termo-duyarlılık, moleküler ağırlık gibi polimerlerin birçok özelliği dikkate alınmalıdır (118-120). Yaygın olarak kullanılan bazı polimerler Tablo 2.6.'da sunulmuştur.

Elektro-eğirme tekniği ile bir ADF formölasyonu için kullanılabilecek polimer seèenekleri olarak, poli (vinil alkol) (PVA), polietilen oksit (PEO) ve poli (N-vinil-2-pirolidon) (PVP), hızlı parèalanma elde etmek için özellikle ilgi èekici seèeneklerdir (121-124).



**Tablo 2.6.** Elektro-eğirme yönteminde yaygın olarak kullanılan polimerler.

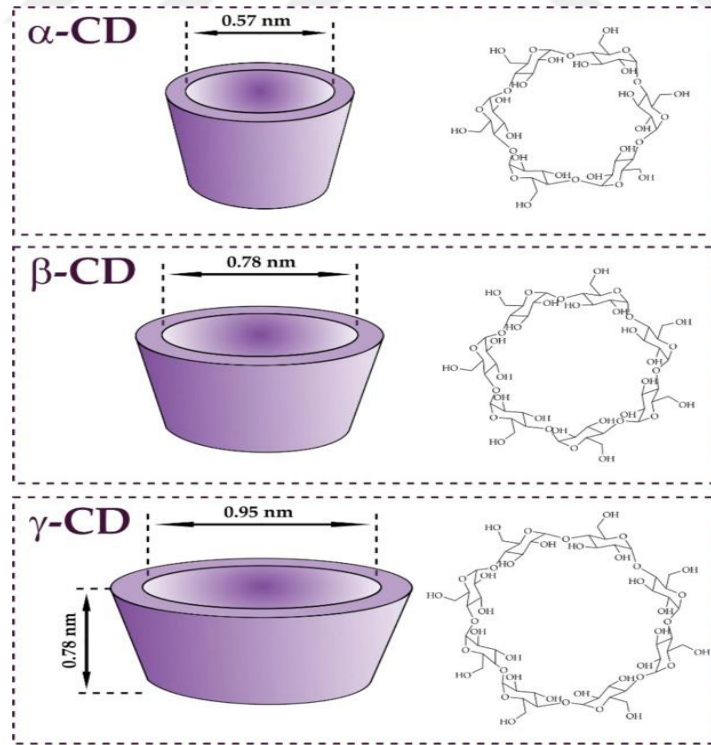
| Polimer Türü | Polimer                               | Özellikler                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Genel Kullanım Alanları                                                                                                                           |
|--------------|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sentetik     | Poli(vinil alkol) (PVA)               | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Biyogeçimli</li> <li>- Suda çözünür</li> <li>- Hücre geçimli</li> <li>- Düşük sitotoksiste</li> </ul>                                                                                                                                                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hemen salım</li> <li>- ADF formülasyonları</li> <li>- Çok katmanlı tasarımlar</li> </ul>                 |
|              | Polikaprolakton (PCL)                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hidrofobik</li> <li>- Yavaş olarak biyo-parçalanabilir</li> <li>- Mekanik dayanıklılık sağlar</li> </ul>                                                                                                                                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kontrollü salımlı ürünler</li> <li>- Yara örtüsü</li> <li>- Transdermal yama</li> </ul>                  |
|              | Polivinilpirolidon (PVP)              | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Zayıf çözünen ilaçların çözünürlüğünü iyileştirir</li> <li>- Hemen salım sağlar</li> </ul>                                                                                                                                                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hemen salım</li> <li>- ADF formülasyonları</li> <li>- Çok katmanlı tasarımlar</li> </ul>                 |
|              | Eudragit S 100                        | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mekanik özellikler sağlar</li> <li>- pH duyarlı ilaç salınımı (asidik ortamda çözünmez)</li> </ul>                                                                                                                                                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kontrollü salım (İç tabakanın infüzyon hızını geciktirme)</li> <li>- pH'a duyarlı ilaç salımı</li> </ul> |
|              | Poli (laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Biyolojik olarak uyumlu</li> <li>- Biyolojik olarak parçalanabilir</li> <li>- Sürekli salıma izin verir</li> </ul>                                                                                                                                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sürekli salım (SR) formülasyonları,</li> <li>- Çok Katmanlı Tasarımlar</li> </ul>                        |
|              | Polilaktik asit (PLA)                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Termoplastik davranış</li> <li>- Biyo-parçalanabilir</li> <li>- Toksik değil</li> <li>- Düşük mekanik mukavemet sağlar</li> <li>- Hidrofobik</li> </ul>                                                                                               | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Beraber elektro-eğirme ile mekanik dayanıklılık iyileştirme,</li> <li>- Yara örtüsü</li> </ul>           |
|              | Polietilen glikol (PEG)               | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Biyoyumlu</li> <li>- Hidrofilik</li> <li>- Biyo-tutunur</li> <li>- Kısa zincirleri nedeniyle elektro-eğirmesi zordur</li> <li>- PLLA/PEG; PCL/PEG polimer karışımları şeklinde eğirilebilir</li> </ul>                                                | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Yara örtüleri ve transdermal yamalar</li> </ul>                                                          |
|              | Poli (etilen oksit) (PEO)             | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ürüne mukoadezyon sağlar</li> <li>- Biyolojik olarak uyumlu</li> <li>- Biyo-parçalanabilir</li> <li>- İmmünojenik</li> <li>- Toksik olmayan</li> <li>- Hidrofilik</li> <li>- Yeni doku gelişimini destekler</li> <li>- Su tutma kapasitesi</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Yara örtüsü</li> <li>- Lokal ilaç taşıyıcı sistemler</li> </ul>                                          |

Tablo 2.6. Devam.

|                      |                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                              |
|----------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Yarı-Sentetik</b> | Hidroksipropil selüloz                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Suda çözünür</li> <li>- Mukoadezif</li> <li>- Düşük elektro-eğrilebilirlik</li> </ul>                                                                                                                                                                                       | - Yara örtüsü                                                                                                                                                |
|                      | Saf Nişasta ve Türevleri                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Saf nişasta ile nem instabilitesi (Çapraz bağlama teknikleriyle azaltılabilir)</li> <li>- Saf nişasta ile nano ölçekli elyaf üretim zorluğu,</li> <li>- Biyolojik olarak parçalanabilirlik</li> <li>- Biyolojik uyumluluk</li> <li>- Biyolojik olarak emilebilme</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Yara örtüsü</li> <li>- Çok katmanlı tasarımlar</li> <li>- Doku mühendisliği</li> </ul>                              |
|                      | Beta-siklodekstrin ( $\beta$ -CD) türleri | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hidrofilik</li> <li>- Biyoyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir</li> <li>- Polimersiz elektro-eğirmeye imkân tanır</li> </ul>                                                                                                                                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>- İnklüzyon kompleksleştirme yaklaşımı</li> <li>- Polimersiz elektro-eğirme</li> <li>- ADF ilaç sistemleri</li> </ul> |
| <b>Doğal</b>         | Aljinat                                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Şişme eğilimi</li> <li>- Biyoyumlu</li> <li>- Jel oluşumu kolay</li> <li>- Tek başına elektro-eğirilemez</li> </ul>                                                                                                                                                         | - Yara örtüsü                                                                                                                                                |
|                      | Selüloz asetat                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Suda çözünmez</li> <li>- Biyolojik olarak parçalanabilir</li> <li>- Mekanik mukavemet sağlar</li> </ul>                                                                                                                                                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sürekli salım (SR) formülasyonları</li> <li>- Çok katmanlı tasarımlar</li> <li>- Yara örtüsü</li> </ul>             |
|                      | Kitosan                                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Biyoyumlu</li> <li>- Biyolojik olarak parçalanabilir</li> <li>- Biyo-tutunur</li> <li>- Antimikrobiyal etkili</li> </ul>                                                                                                                                                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kontrollü salım formülasyonları</li> <li>- Çok katmanlı tasarımlar</li> <li>- Yara örtüsü.</li> </ul>               |
|                      | Jelatin                                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Biyo-parçalanabilir</li> <li>- Biyoyumlu</li> <li>- Hemostatik</li> </ul>                                                                                                                                                                                                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Çok katmanlı tasarımlar</li> <li>- Yara örtüsü</li> <li>- Çok katmanlı tasarımlar</li> </ul>                        |
|                      | Metil Selüloz                             | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Toksik olmayan</li> <li>- Biyoyumlu</li> <li>- Biyo-parçalanabilir</li> <li>- İlaçların kontrollü bir şekilde matristen şişmesine ve yayılmasına yardımcı olur</li> </ul>                                                                                                   | - Yara örtüsü                                                                                                                                                |

### 2.3. Siklodekstrin İnküzyon Kompleksleri ve Uygulamaları

Siklodekstrinlerin (CD), gıda ve ilaç gibi farklı endüstriyel alanlarda uygulamaları mevcuttur (125). Siklodekstrinler ( $\alpha$ -,  $\beta$ - ve  $\gamma$ -CD'ler), Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA, ABD) tarafından "genel olarak güvenli olarak kabul edilir" (GRAS) sınıfında yer almaktadır. Siklodekstrinler içi boş bir halkaya benzer üç boyutlu bir şekil sunar ve iç ve dış yüzeylerinde farklı polariteler gösterir (Şekil 2.5.) (126). Birincil ve ikincil hidroksil grupları sırasıyla dar ve daha geniş kenarlara yerleştirilir. Birincil hidroksiller dönebilir ve siklodekstrin çapını azaltabilirken, ikincil hidroksiller güçlü hidrojen bağları oluşturur ve siklodekstrine sertlik sağlar. Bu özel yapı nedeniyle, CD'ler konuk molekülleri kapsülleyerek/kompleksleşerek inküzyon komplekslerinin oluşumuna yol açabilir. Hidrofobik bileşiklerin inküzyon kompleksleşmesi esas olarak siklodekstrin boşluk duvarları ile konuk moleküller arasındaki hidrofobik etkileşimlerle gerçekleşir. Ek olarak, dipol-dipol etkileşimleri ve van der Waals gibi diğer kuvvetler konuk moleküllerin bağlanmasında rol oynayabilir. Siklodekstrinler yapısı gereği etkin maddelerin suda çözünürlüklerini artırarak uygun boyutta apolar moleküller ile kompleks oluşturmak için kullanılabilir (125).



Şekil 2.5. Sırasıyla  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD ve  $\gamma$ -CD'nin boyutları (125).

Doğal siklodekstrinler  $\alpha$ -,  $\beta$ - ve  $\gamma$ -CD'ler 6, 7 veya 8 glikoz ünitesinden oluşur ve sentetik türevleri üç gruba ayrılır: 2-hidroksipropil- $\beta$ -CD gibi hidrofilik; 2,6-di-O-etil- $\beta$ -CD gibi hidrofobik ve sülfobutil eter  $\beta$ -CD (SBE- $\beta$ -CD) gibi iyonize edilebilir türleri mevcuttur. Siklodekstrindeki substitüsyon türü, ilacın seçiciliğini, disosiyasyon sabiti değerini ve kompleksin fizikokimyasal özelliklerini etkilemektedir. Örneğin; polar bir substitüsyon noktasına sahip 2-hidroksipropil- $\beta$ -siklodekstrin, küçük bir hidrofobik substitüsyon çeşidine sahip metil- $\beta$ -siklodekstrin (M-CD) ve yüklü bir substitüsyon edici türüne sahip  $\beta$ -siklodekstrin sülfobutil eter ile inklüzyon kompleksi oluştururken farklı davranışlar gösterebilir. Siprofloksasin etkin maddesinin bahsedilen siklodekstrin kompleksleri ile yapılan bir çalışmada 2-hidroksipropil- $\beta$ -siklodekstrin türevinin en kararlı kompleks olduğu gösterilmiştir (127).

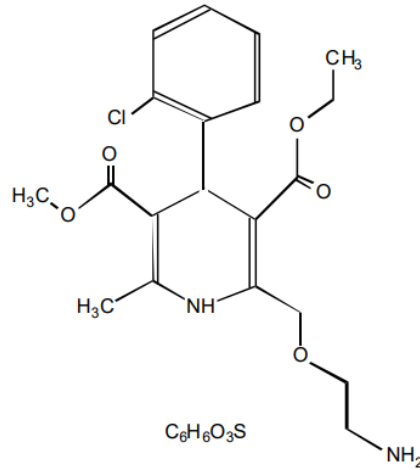
Bir konak-misafir molekülü ile oluşturulan inklüzyon kompleksleri, konak molekülünün tek başına oluşturduğu forma kıyasla gelişmiş kimyasal veya biyolojik özellikler sergileyebilir. Bu tür inklüzyonlar (128):

- Suda çözünürlüğü, çözünmeyi ve biyoyararlanımı iyileştirebilir
- Etkin maddenin fizikokimyasal kararlılığını artırabilir ve ilaçların raf ömrünü iyileştirebilir
- İlaç taşıma hedefini ve/veya zaman profilini değiştirebilir
- Hoş olmayan tat ve kokuyu azaltabilir veya ortadan kaldırabilir
- İlaç-ilaç veya ilaç-yardımcı madde etkileşimlerini önleyebilir
- Sıvı ilaçları mikrokristalin veya amorf tozlara dönüştürebilir.

## 2.4. Çalışmada Kullanılan Etkin Maddeler

### 2.4.1. Amlodipin Besilat

Amlodipin besilat (AML), üçüncü kuşak bir dihidropiridin türevi olan antihipertansif ilaçtır. IUPAC isimlendirmesi benzen sülfonik asit;3-*O*-etil 5-*O*-metil 2-(2-aminoetoksimetil)-4-(2-klorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat olan AML'nin molekül ağırlığı 567,1 g/mol'dür. Moleküler formülü  $C_{26}H_{31}ClN_2O_8S$  olup moleküler yapısı Şekil 2.6.'da verilmiştir (129).



**Şekil 2.6.** Amlodipin besilat'ın moleküler yapısı (129).

Amlodipin bir kalsiyum antagonistidir ve kalsiyum iyonlarının kalp ve düz kaslara akışını engeller. Hipertansiyon ve koroner arter hastalığında endikedir (130). Amlodipin'in piyasada 5 mg ve 10 mg olmak üzere iki yitiliği bulunmaktadır. Klinik kullanımı günde 5 mg veya günde bir defa maksimum 10 mg şeklindedir. Antihipertansif ilacın mekanizması, vasküler düz kas üzerinde doğrudan bir gevşetici etkiye bağlıdır. AML'nin anjinayı hafiflettiği kesin mekanizma tam olarak belirlenmemekle birlikte iki etki rol oynamaktadır (131);

- Amlodipin periferik arteriyolleri genişletir ve böylece kalbin karşı çalıştığı toplam periferik direnci (art yük/sistemik arteriol basınç) azaltır. Kalbin bu şekilde boşaltılması miyokardiyal enerji tüketimini ve oksijen gereksinimlerini azaltır.
- Etki mekanizması muhtemelen ana koroner arterlerin ve koroner arteriyollerin genişlemesini de içermektedir. Bu genişleme, Prinzmetal anjinal (bir anjina pectoris türüdür) atağı olan hastalarda miyokardiyak kaslara oksijen tedarikini artırır.

Amlodipin besilat, suda az çözünür, metanolde serbestçe çözünür, etanolde az çözünür, 2-propanolde az çözünür. Amlodipin'in  $pK_a$  değeri 8,6'dır. Sudaki çözünürlük değeri 37 °C'de  $2.93 \pm 0.03$  mg/mL olarak bildirilmiştir. Amlodipin serbest bazının  $\log P_{\text{oktanol/su}}$  değeri 2,96 ile 3,17 arasındadır AML için  $\log P_{\text{oktanol/su}}$  değeri 0,65 olarak bildirilmiştir (5).

Amlodipin besilat'ın üç polimorfik formu vardır. İlaç ürünündeki amlodipin yalnızca anhidrat olarak bulunur. Uzun süreli depolama koşullarında farklı hidratların dönüşümünün gerçekleşmediği gösterilmiştir. Etkin madde rasemik bir karışım (R ve S izomerleri) olarak kullanılır (132).

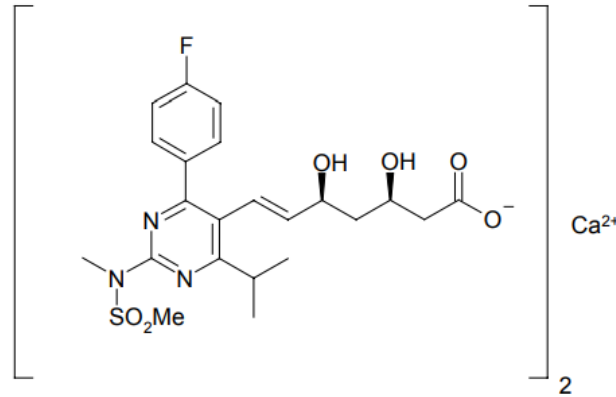
AML'nin terapötik dozlarının oral yoldan uygulanmasından sonra en yüksek plazma konsantrasyonlarına 6 ila 12 saat arasında ulaşır. Mutlak biyoyararlanımın %64 ila %90 arasında olduğu tahmin edilmektedir. AML'nin biyoyararlanımı besin varlığında değişmez. Amlodipin hepatik metabolizma (CYP3A4) yoluyla büyük ölçüde (yaklaşık %90) inaktif metabolitlere dönüştürülür. Ana bileşiğin %10'u ve metabolitlerin %60'ı idrarla atılır. Dağılma hacmi 21 L/kg'dır ve P-glikoprotein substratı olduğu ileri sürülmektedir (133, 134). *Ex vivo* çalışmalar, dolaşımdaki ilacın yaklaşık %93'ünün hipertansif hastalarda plazma proteinlerine (albümin ve  $\alpha_1$ -asit glikoprotein) bağlandığını göstermiştir (135). Plazmadan atılım, yaklaşık 30-50 saatlik bir terminal eliminasyon yarı ömrü ile iki fazlıdır. Amlodipinin kararlı durum plazma seviyelerine ardışık günlük dozlamadan 7 ila 8 günden sonra ulaşılır. Amlodipinin farmakokinetiği böbrek yetmezliğinden önemli ölçüde etkilenmez. Bu nedenle böbrek yetmezliği olan hastalar olağan başlangıç dozunu alabilirler. Yaşlı hastalar ve karaciğer yetmezliği olan hastalarda amlodipinin klirensi azalır ve bunun sonucunda eğri altı alanda (EAA) yaklaşık %40-60'lık bir artış olur ve daha düşük bir başlangıç dozu gerekebilir. Orta ila şiddetli kalp yetmezliği olan hastalarda EAA'da benzer bir artış gözlenmiştir (130).

Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BSS), ilaç etkin maddelerini çözünürlüklerine ve permeabilite özelliklerine göre dört gruba ayırır: Sınıf 1 (yüksek çözünürlük ve yüksek permeabilite), Sınıf 2 (düşük çözünürlük ve yüksek permeabilite), Sınıf 3 (yüksek çözünürlük ve düşük permeabilite) ve Sınıf 4 (düşük çözünürlük ve düşük permeabilite). AML BSS Sınıf 1 bileşiği olarak sınıflandırılmaktadır (7).

#### 2.4.2. Rosuvastatin Kalsiyum

Rosuvastatin Kalsiyum (ROS), lipit düşürücü ilaç grubu olan statin ailesinin bir üyesidir. IUPAC isimlendirmesi kalsiyum;(E,3R,5S)-7-[4-(4-florofenil)-2-[metil(metilsulfonil)amino]-6-propan-2-ilpirimidin-5-il]-3,5-dihidroksihept-6-enoat

olup molekül ağırlığı 1001.1 g/mol'dür. Moleküler formülü  $C_{44}H_{54}CaF_2N_6O_{12}S_2$  olup molekül yapısı Şekil 2.7.'de verilmiştir (136).



**Şekil 2.7.** Rosuvastatin kalsiyum'un molekül yapısı (136).

Rosuvastatin kalsiyum, glasiyel asetik asitte serbestçe çözünen, kloroform ve asetonitrilde az çözünen ve suda çok az çözünen ve etil eter ve etil asetatta çözünmeyen beyaz ila neredeyse beyaz bir tozdur. Rosuvastatin kalsiyumun iki kiral merkezi vardır, bu nedenle teorik olarak dört diastereoizomeri söz konusudur (137). Rosuvastatin pH 7,0'da 0,13'lük bir partisyon katsayısına (oktanol/su) sahip hidrofilik bir bileşiktir (138).

Rosuvastatin, 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A (HMG-CoA) redüktazın bir inhibitörüdür. Bu enzim, HMG-CoA'nın kolesterol biyosentezinde erken ve hız sınırlayıcı bir adım olan mevalonata dönüşümünü katalize eder. İlacın piyasada 5 mg, 10 mg, 20 mg ve 40 mg dozları bulunmaktadır.

İnsanlarda yapılan klinik farmakokinetik çalışmalarda, rosuvastatinin pik plazma konsantrasyonlarına oral dozlamadan 3 ila 5 saat sonra ulaşılmıştır. Hem pik konsantrasyonu ( $C_{maks}$ ) hem de plazma konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan (EAA), rosuvastatin dozuna yaklaşık olarak orantılı şekilde artmıştır. Rosuvastatinin mutlak biyoyararlanımı yaklaşık %20'dir. Rosuvastatinin yiyeceklerle birlikte uygulanması  $C_{maks}$ 'ı %20 oranında azaltmıştır, ancak EAA üzerinde bir etki görülmemiştir. Rosuvastatinin plazma konsantrasyonları, akşam veya sabah ilaç uygulamasından sonra farklılık göstermemektedir. Rosuvastatinin ortalama dağılım hacmi yaklaşık 134 litredir. Rosuvastatin çoğunlukla albümin olmak üzere plazma

proteinlerine %88 oranında geri dönüşümlü olarak bağlanır ve bağlanma plazma konsantrasyonundan bağımsızdır. Rosuvastatin kapsamlı bir şekilde metabolize edilmez; radyoaktif olarak işaretlenmiş dozun yaklaşık %10'u metabolit olarak geri kazanılır. Başlıca metabolit, esas olarak CYP 2C9 tarafından oluşturulan N-desmetil rosuvastatin'dir. Genel olarak, aktif plazma HMG-CoA redüktaz inhibitör aktivitesinin %90'ından fazlası rosuvastatin ana molekülüne bağlıdır. Oral uygulamadan sonra, rosuvastatin ve metabolitleri esas olarak dışkıyla atılır (%90). Rosuvastatinin eliminasyon yarı ömrü ( $t_{1/2}$ ) yaklaşık 19 saattir. İntravenöz dozdan sonra, toplam vücut klirensinin yaklaşık %28'i böbrek yoluyla, %72'si ise karaciğer yoluyla gerçekleşmektedir (138).

Rosuvastatin kalsiyumun BSS sınıflandırması sınıf 2'dir. Literatürdeki çalışmalar etkin maddenin kendiliğinden emülsifiye olan sistemler, mikro-partikül teknolojisi gibi boyut küçülten sistemler, nanoveziküler sistemler ve katı dispersiyonlar gibi yöntemlerle çözünürlüğünü artırmaya odaklanmaktadır (139-141).

## 2.5. Hücre Kültürü Çalışması

FDA, EMA ve ICH kılavuzlarına göre, bir etkin maddenin gastrointestinal kanaldan permeabilitesini belirlemek için çeşitli yöntemler kullanılabilir (144-147);

- İnsan farmakokinetik çalışmaları (kütle denge çalışması veya mutlak biyoyararlanım çalışması),
- İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan *in vivo* ya da *in situ* intestinal perfüzyon çalışmaları,
- Caco-2 hücreleri gibi valide edilmiş ve standardize edilmiş *in vitro* yöntemlerle tayin edilebilir.

Bir ilaç etkin maddesinin permeabilite tayini için kabul gören önemli bir *in vitro* yöntem Caco-2 hücreleri ile permeabilite deneyleridir. İnsan kolon adenokarsinomu hücre hattından geliştirilerek kültürlenmiş Caco-2 epitel hücre hatları insanlardaki bağırsaklardan emilimi tahmin etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır.

1970'lerde gastrointestinal tümörlerden birkaç epitel hücre hattı oluşturulmuştur. Hem morfoloji hem de işlev açısından birincil bağırsak epitel

hücrelerinin heterojenliğinden dolayı geliştirilmeye çalışılan hücre hatlarından birkaçı, ortama sentetik veya biyolojik faktörlerin eklenmesiyle kısmen farklılaştırılabilmiştir. Caco-2 (**C**ancer **c**oli-2), Sloan-Kettering Kanser Araştırma Enstitüsü'nde Jorgen Fogh tarafından insan kolorektal adenokarsinomundan oluşturulmuştur. İlk çalışmalar farklılaşmış Caco-2 hücrelerinin ince bağırsak enterositlerine özgü birkaç morfolojik ve işlevsel özellik ifade ettiğini belirtmiştir. Uygun destekler üzerinde büyütülen Caco-2 hücreleri morfolojik ve biyokimyasal enterosit farklılaşmasına uğrayarak apikal fırça kenarlı, hücreler arası sıkı bağlantılara sahip ve ince bağırsakta olduğu gibi birkaç aktif taşıyıcıyı eksprese eder. *Efflux* (örn. P-gp, BCRP, MRP2) ve *uptake* (örn. PepT1, OATP2B1, MCT1) taşıyıcılarının düşük veya hiç eksprese edilmeme potansiyeli nedeniyle, Caco-2 hücre çalışmalarının BSS sınıflandırmasında yüksek permeabiliteyi destekleyen veri olarak kullanılabilmesi için ilacın sadece pasif taşıma ile emilmesi gerekmektedir (145, 148, 149).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereçler

##### 3.1.1. Kimyasal ve Biyolojik Maddeler

|                                                                  |                           |
|------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| %10 fetal bovine serum-FBS                                       | Cegrogen/ Almanya         |
| 2-Hidroksipropil- $\beta$ -Siklodekstrin                         | Sigma-Aldrich/Almanya     |
| Ac-Di-Sol®                                                       | DFE Pharma/Almanya        |
| Aerosil                                                          | Abdi İbrahim / Türkiye    |
| Asesülfam Potasyum                                               | İlko/Türkiye              |
| Asetonitril                                                      | Sigma-Aldrich / Almanya   |
| Aspartam                                                         | İlko/Türkiye              |
| Avicel pH 102                                                    | Abdi İbrahim / Türkiye    |
| Caco-2 hücre hattı                                               | Grenier BioOne/ Avusturya |
| Dedektör (Shimadzu, SPD-M20A DAD)                                | Shimadzu / Japonya        |
| D-glikoz                                                         | Merck-Millipore/Almanya   |
| Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM)                        | Biochrom AG/ Almanya      |
| Duralac H (Laktoz Anhidr)                                        | Meggle Pharma/Almanya     |
| Etanol                                                           | Sigma-Aldrich / Almanya   |
| Eudragit E100                                                    | Evonik/Almanya            |
| HBSS Transport Ortamı (Hanks' Balanced Salt Solution)            | Cegrogen/ Almanya         |
| HEPES Tamponu (4-(2-hidroksietil)-1-piperazineetansulfonik asit) | Cegrogen/ Almanya         |
| Kollidon ® CL                                                    | İlko/Türkiye              |
| Lactopress DOMO (Lactopress Granulated)                          | DOMO Pharma/İngiltere     |
| Laktoz (spray-dried)                                             | Abdi İbrahim / Türkiye    |
| Laktoz SD250 (Lactopress SD250)                                  | DFE Pharma/Almanya        |
| Laktoz-DCL-11                                                    | DFE Pharma/Almanya        |
| Ludiflash®                                                       | BASF/Almanya              |
| Mannitol                                                         | Drogsan/Ankara            |
| Mg Stearat                                                       | Mallinckrodt, A.B.D.      |
| Pardeck ODT®                                                     | Merck                     |

|                                                             |                           |
|-------------------------------------------------------------|---------------------------|
| Pearlitol® 200 SD                                           | Roquette Freres/Fransa    |
| Pharmaburst ® 500                                           | İlko/Türkiye              |
| Portakal Aroması                                            | Aromsa/Türkiye            |
| Potasyum hidrojen fosfat (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) | Isolab Chemicals/ Almanya |
| Potasyum klorür                                             | Isolab Chemicals/ Almanya |
| Prejelatinize Nişasta                                       | Eczacıbaşı/İstanbul       |
| Primojel                                                    | Abdi İbrahim / Türkiye    |
| PVP K30                                                     | Abdi İbrahim / Türkiye    |
| Sodyum klorür                                               | Isolab Chemicals/ Almanya |
| Sodyum Stearil Fumarat                                      | İlko/Türkiye              |
| Sta-Rx (Starch 1500)                                        | Abdi İbrahim / Türkiye    |
| Stearik asit                                                | Abdi İbrahim / Türkiye    |
| Supertab 11SD (Spray-dried lactose)                         | DFE Pharma/Almanya        |
| Talk                                                        | Abdi İbrahim / Türkiye    |
| Tripan mavisi                                               | Sigma/ ABD                |
| Trypsin-EDTA                                                | Biochrom AG/ Almanya      |

### 3.1.2. Araç ve Gereçler

|                                   |                                          |
|-----------------------------------|------------------------------------------|
| A.XT. Plus Texture Analyzer       | Stable Micro<br>Systems/İngiltere        |
| Attension Sigma 701               | Biolin Scientific/İngiltere              |
| Biyogüvenlik kabini               | Faster BHG 2004 / İtalya                 |
| Brookfield Viskozite Ölçüm Cihazı | Brookfield Engineering<br>Labs INC. /ABD |
| Dağılma tayini cihazı             | Pharma Test PTZ-S /<br>Almanya           |
| Dissolüsyon cihazı                | Sotax CH 4123 / İsviçre                  |
| Elek Çalkalayıcı                  | Endecotts/İngiltere                      |
| Etüv                              | Memmert GmbH /Almanya                    |
| Friyabilitör                      | Pharma PTF 10E / Almanya                 |

|                                                   |                                   |
|---------------------------------------------------|-----------------------------------|
| FT-IR spektrofotometresi                          | Perkin-Elmer Spectrum / ABD       |
| Hassas terazi                                     | Shimadzu / Japonya                |
| HPLC                                              | Shimadzu / Japonya                |
| HPLC kolonu, 250 x 4.6 mm, 5 µm                   | Inertsil® ODS-3; 5µm; (4.6x250mm) |
| Hücre kültür kapları (flask, 25 cm <sup>2</sup> ) | Greiner / Avusturya               |
| Hücre kültürü kuyucukları                         | Grenier Bio-one/Almanya           |
| ISOLAB pH metre                                   | Türkiye                           |
| Manyetik karıştırıcı                              | Heidolph / Almanya                |
| Mikropipet                                        | Eppendorf / Almanya               |
| Mikropipet ucu (0,1; 0,2; 1 mL)                   | Greiner Bio-One / Almanya         |
| Mitutoyo Digimatic Micrometer IP65                | Japonya                           |
| Nanofen Electrospinning Cihazı                    | Ankara/Türkiye                    |
| Perkin-Elmer FT-IR Cihazı                         | ABD                               |
| pH metre                                          | Hanna Instruments / ABD           |
| Rigaku Miniflex XRD cihazı                        | Japonya                           |
| Santrifüj                                         | Nüve / Türkiye                    |
| TA Instruments-DSC Cihazı                         | Delaware/ABD                      |
| Tablet basım makinesi                             | Erweka AR 400 / Almanya           |
| Tablet sertlik, çap, kalınlık ölçüm cihazı        | Pharma Test PTB 311E /Almanya     |
| Toz karıştırıcı                                   | Gryphan, Brookmoors Ltd./ İng.    |
| Ultra saf su cihazı                               | Millipore / ABD                   |
| Ultrasonik banyo                                  | AdvantageLab / Almanya            |
| Vial                                              | Allpro / Çin                      |
| Volumünometre                                     | Aymes Company/Türkiye             |
| Vorteks                                           | Biosan / Litvanya                 |
| Yatay çalkalayıcı, dijital                        | Memmert GmbH /Almanya             |

### 3.2. Yöntemler

Bu tez çalışmasında, halihazırda piyasada ağızda dağılan dozaj formu (ADT ve ADF) bulunmayan AML ve ROS etkin maddeleri için sabit doz kombinasyonu formülasyonlarının geliştirilmesi ve karakterize edilmesi amaçlamıştır. Bu amaç doğrultusunda:

- AML ve ROS etkin maddelerini eş zamanlı tayin edebilmek amacıyla bir HPLC yöntemi geliştirilmiş ve yöntem valide edilmiştir,
- AML ve ROS etkin maddelerinin 4 ortamda (distile su, pH 1,2, pH 4,5 ve pH 6,8) doygunluk çözünürlüğü tayin edilmiştir,
- AML etkin maddesinin acı tadını maskelemek, ROS etkin maddesinin ise çözünürlüğünü artırmak amacıyla etkin maddelerin siklodekstrin inklüzyon kompleksleri hazırlanarak karakterizasyonu yapılmıştır,
- AML etkin maddesinin acı tadını maskelemek amacıyla ağızda salımını yavaşlatacak katı dispersiyonu hazırlanarak karakterizasyonu yapılmıştır,
- SeDeM-ODT uzman sistemi ile tozların karakterizasyonları yapılarak optimum toz karışımı adayları belirlenmiştir,
- SeDeM-ODT uzman sistemince önerilen toz karışımları aynı sistemle karakterize edilerek ideal toz karışımı belirlenmiştir ve bu toz karışımından hareketle hazırlanan üç farklı toz karışımının direkt basımla ADT formülasyonları basılarak karakterizasyonları yapılmıştır,
- ADF formülasyonu geliştirmek için elektro-eğirme tekniği ile ön formülasyon çalışmaları yapılarak optimum ADF formülasyonları geliştirilerek karakterizasyonları yapılmıştır,
- Geliştirilen ADT ve ADF formülasyonlarının Caco-2 hücre hattından permeabiliteleri tayin edilmiştir.

### 3.2.1. Analitik Yöntem Geliştirilmesi ve Validasyonu

Tez çalışması için AML ve ROS etkin maddelerini eş zamanlı analiz edebilecek bir HPLC metodu geliştirilmiş ve validasyonu yapılmıştır. Tüm tez çalışmalarında kullanılmak üzere (formülasyonlardaki etkin madde miktar tayini, çözünme hızı çalışmaları ve hücre kültürü çalışmaları) tek bir yöntem geliştirilmiştir.

HPLC yöntemi geliştirilmesi amacıyla literatürde yer alan analitik yöntemlerden uygun olan bir yöntem referans alınmıştır (150). Inertsil® ODS-3 (5µm; 4.6x250mm) kolon ile ön deneme çalışmaları yapılmıştır. Kabul edilebilir sonuçlar elde edildikten sonra Inertsil® ODS-3 (5µm; 4.6x250mm) kolon ile çalışmalara devam edilmiştir. Başlangıç çalışmalarına literatürde yer alan ters faz HPLC metodu (1,5 ml/dk akış hızı, pH 2.5 tamponu:asetonitril (55:45 h/h), 240 nm analiz dalga boyu, AML için 2,7 dk retansiyon süresi, ROS için 6,08 dk retansiyon süresi, Luna 5µ C18 kolon (250 mmx4.60 mm), 10 µL enjeksiyon hacmi) referans alınarak denemeler yapılmıştır (150).

İlk denemeler sonucunda elde edilen kromatogramların iki etkin maddenin eş zamanlı analizi için uygun bulunması sonucunda yöntem optimizasyonu çalışmaları yapılmıştır. Bu kapsamda tampon ve asetonitril oranlarının değiştirilmesi (tampon:asetonitril oranı 60:40'tan 50:50'ye), gradient metotların denenmesi, tampon yerine su veya farklı pH (2,5; 3,5; 6,8) değerinde tampon kullanılması ve asetonitril yerine metanol gibi mobil faz bileşeni alternatiflerinin denenmesi ile metodun optimizasyonu yapılmıştır.

Optimizasyon çalışmalarından elde edilen bulgular ile optimum metot belirlenmiştir. Optimum metot olarak mobil faz bileşimi; pH 2,5 tampon: asetonitril (52,5:47,5 h/h), mobil fazın akış hızı 1 mL/dk ve analiz süresi 11 dk şeklinde kararlaştırılmıştır (Tablo 3.1.). Geliştirilen yöntem ICH Q2 (R1) kılavuzu direktiflerince valide edilmiştir (151, 152). Validasyon sürecinde özgüllük (seçicilik), doğrusallık, doğruluk, kesinlik, saptanabilirlik sınırı (LOD), tayin edilebilirlik sınırı (LOQ) ve stabilite parametreleri çalışılmıştır.

**Tablo 3.1.** Optimum HPLC metodu.

|                     |                                                                                                                          |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kolon               | Inertsil® ODS-3; 5µm; 4.6x250mm                                                                                          |
| Mobil Faz           | pH 2,5 tampon: asetonitril (52,5:47,5 h/h)                                                                               |
| Akış Hızı           | 1 mL/dk                                                                                                                  |
| Dalga Boyu          | 240 nm                                                                                                                   |
| Enjeksiyon Hacmi    | 20 µL                                                                                                                    |
| Dedektör            | Diode array (DAD) dedektör                                                                                               |
| Analiz Süresi       | 11 dk                                                                                                                    |
| Retansiyon Süreleri | AML; 2,77 dk (mobil faz)<br>2,79 dk (hücre kültürü ortamı)<br>ROS; 8,99 dk (mobil faz)<br>8,78 dk (hücre kültürü ortamı) |

- *Özgüllük (Specificity)*

Analitik yöntemin seçici olduğunu göstermek için etkin maddelerin (AML ve ROS), mobil faz çözeltisinin, hücre kültürü çalışmalarında kullanılan ortamın (HBSS tamponu+25 mM Glikoz+ 10 mM HEPES tamponu) ve formülasyonlardaki yardımcı maddelerin HPLC metodu ile analizi sağlanmıştır. Elde edilen kromatogramlar değerlendirilerek etkin madde pikleriyle girişim yapıp yapmadığı tayin edilmiştir (152).

- *Doğrusallık (Linearity)*

Mobil faz bileşimi olarak pH 2,5 tampon: asetonitril (52,5:47,5 h/h) karışımında ve *in vitro* hücre kültürü ortamında (25 mM D-glikoz+10 mM HEPES+HBSS transport tamponu) AML ve ROS etkin maddelerinin ayrı ayrı olarak stok çözeltileri (100 µg/mL) hazırlanmış ve bu stok çözeltisinden hareketle 0.125, 0.75, 3, 6, 9, 15, 25 µg/mL konsantrasyonlarda AML ve ROS standart çözeltileri ortam çözeltisi kullanılarak hazırlanmıştır. Elde edilen standart çözeltiler 6 tekrarlı olacak şekilde hazırlanmış ve 240 nm dalga boyunda HPLC ile analiz edilmiştir.

Etkin madde konsantrasyonları (x ekseni) ve bunlara karşılık gelen HPLC pik alan değerleri (y ekseni) kullanılarak regresyon doğrusu ve denklemi elde edilmiştir.

Elde edilen doğrunun determinasyon katsayısı ( $R^2$ )'nin 1'e yakınlığına göre yöntemin doğrusallığı değerlendirilmiştir.

- *Doğruluk (Accuracy)*

Çalışmada kullanılan analitlerin gerçek konsantrasyon değerleri ile ölçülen değerleri arasındaki yakınlığı değerlendirebilmek amacıyla doğruluk çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla, her bir etkin madde (AML ve ROS) için düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlarda (0,75 µg/mL, 6 µg/mL ve 25 µg/mL) örnekler hazırlanarak üç farklı günde 6 tekrarlı olarak analiz edilmiştir. Elde edilen bulguların gerçek değere yakınlığı bağıl standart sapma (%BSS) parametresi ile değerlendirilmiştir. BSS değerinin %2'den küçük olması gerekmektedir.

- *Keskinlik (Precision)*

Analitik yöntemin tekrar eden ölçümler sonucu elde ettiği sonuçların birbirine yakınlığı yöntemin keskinliğini göstermektedir. Bu amaçla düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlarda (0,75 µg/mL, 6 µg/mL ve 25 µg/mL) hazırlanan örnekler üç farklı günde 6 tekrarlı olarak analiz edilmiş ve sonuçların sunumu için SS ve VK değerleri hesaplanmıştır. Gün içi ve günler arası keskinlik parametreleri yapılan tekrarlı ölçümler sayesinde elde edilmiştir. Gün içi keskinlik parametresi için üç konsantrasyonun gün içinde üç farklı zamanda yapılan enjeksiyonları ile elde edilen bulgularla hesaplanmıştır. Günler arası keskinlik parametresi ise belirtilen üç konsantrasyonda örneğin bağımsız üç günde üç tekrarlı ölçümleri ile hesaplanmıştır.

- *Duyarlılık (Detection Limit and Quantitation Limit)*

Yöntemin duyarlılığını belirleyebilmek için saptanabilirlik sınırı (*limit of detection*, LOD), tayin edilebilirlik sınırı (*limit of quantitation*, LOQ) parametreleri tespit edilmiştir. Bu amaçla HPLC analizi için kullanılan LC Solution yazılım programının sinyal/gürültü oranını hesaplanmasına imkân veren modülü kullanılmıştır. Saptanabilirlik; sinyal/gürültü (S/G) oranının 3 olduğu konsantrasyonu ifade etmektedir. Tayin edilebilirlik sınırı ise, maddenin doğru şekilde tayin edilebileceği en düşük konsantrasyonu ifade eder ve bu değer S/G oranının 10 olduğu değerdir (152).

- *Stabilite (Stability)*

Stabilite, analiz edilecek numunenin analitik yöntem süresince ve saklama koşulları altında stabilitesini koruduğunu göstermek üzere yapılmıştır. Bu amaçla 0,75 µg/mL, 6 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan numunelerin hazırlandıktan hemen sonra, 12 saat sonra ve 24 saat sonra analizleri yapılarak geri kazanım değerleri hesaplanmıştır.

*Sistem Uygunluk Testleri (System Suitability Tests)*

ICH Q14 analitik yöntem geliştirme kılavuzunda bir analitik yöntem geliştirme sürecinde kontrol stratejisi oluşturmak için sistem uygunluk testlerinin uygulanması önerilmektedir. Sistem uygunluk testleri, analitik yöntemi tanımlayan parçalardan biridir. Analitik sistemin ve prosedürle ilişkili analitik süreçlerin amaçlanan analiz için yeterli olduğunu doğrulamak ve olası arızaların tespit edilebilirliğini artırmak için söz konusu testler geliştirilmektedir. Bu testler analitik yöntemin türüne göre değişkenlik göstermektedir (152, 153). Literatürde yer alan çalışmalarda 4 temel sistem uygunluk testinin (ayırıcılık/rezolüsyon, kuyruklanma faktörü, teorik tabaka sayısı ve kapasite faktörü) HPLC metodu için uygulandığı görülmektedir (154, 155).

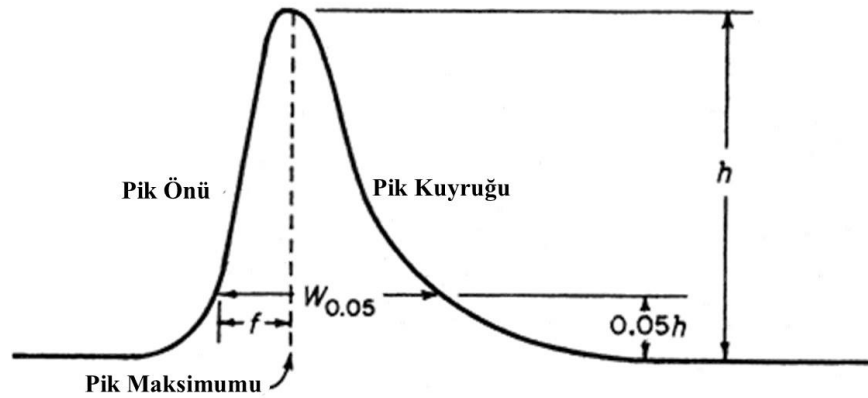
Ayırıcılık/rezolüsyon ( $R_s$ ), analiz edilen maddelerin pikleri arasındaki ayrım derecesinin bir ölçüsüdür. Yöntemin ve kullanılan kolonun ayırıcılık kapasitesini ifade eden bu parametrenin 1,5'ten büyük olması beklenmektedir. Tez çalışmasında geliştirilen metodun AML ve ROS etkin maddeleri için ayırıcılık testi hesaplamaları LC Solution programı yardımıyla hesaplanmıştır.

Kuyruklanma faktörü (*tailing factor*/T) aynı zamanda pik asimetri faktörü olarak da bildirilmektedir (Şekil 3.1.). Eşitlik 3.1'e göre hesaplanan değerin T=1 olması halinde pikin simetrik olduğu değerlendirilmektedir. T>1 pikin kuyruklandığının bir göstergesidir. Valide metotlarda T değerinin 0,75 ile 2,5 arasında değiştiği bildirilirken referans çözeltiler için bu değerin 1,5'dan küçük olması beklenmektedir (156). AML ve ROS etkin maddelerinin elde edilen piklerinin kuyruklanma faktörü LC Solution programı ile hesaplanmıştır.

$$T = \frac{W_{0,05}}{2f} \quad (3.1)$$

$W_{0,05}$ : Pikin %5 yüksekliğindeki (1/20) genişliği

$f$ : Pikin tepe noktasından çizilen dikme ile yüksekliğin %5'inde ön pik kenarı arasındaki mesafe



**Şekil 3.1.** Kuyruklanma faktörü (T) hesabında kullanılan değerler (h: pik yüksekliği).

Teorik tabaka sayısı (N), kolon etkinliğinin teorik bir ölçüsü olup kabul edilebilir değeri  $N > 2000$ 'dir (Eşitlik 3.2) (157). AML ve ROS etkin maddelerinin teorik tabaka sayısı LC Solution programı ile hesaplanmıştır.

$$N = 16 \left( \frac{t_r}{W} \right)^2 \quad (3.2)$$

$t_r$ : Retansiyon süresi

W: Pik genişliği

Kapasite faktörü ( $k'$ ) retansiyon süresinin ölü hacme göre değerlendirildiği bir parametredir (Eşitlik 3.3). Ölü hacim tayini için 100  $\mu\text{g/mL}$  urasil enjeksiyonu yapılmış ve retansiyon süresi 2,40 dk olarak tespit edilmiştir. Kapasite faktörünün 1 ile 10 arasında olması beklenmektedir (155).

$$k' = \frac{t_r - t_0}{t_0} \quad (3.3)$$

$t_r$ : Analitin retansiyon süresi

$t_0$ : Urasilin retansiyon süresi

### 3.2.2. Etkin Maddelerin Doygunluk Çözünürlüğü Çalışmaları

Etkin maddelerin 4 farklı ortamda (distile su, pH 1,2; pH 4,5 ve pH 6,8) tek başına ve karışım halinde doyumluk çözünürlük çalışmaları yapılmıştır (n=3). Bu amaçla etkin maddelerin fazla miktarları çözücü ortamlarına eklenmiş ve  $37 \pm 1$  °C'de 24 saat boyunca yatay çalkalayıcıda (Memmert SV1422) karıştırılmıştır. Bu süre sonunda elde edilen doyum çözeltiler 10 dakika süreyle santrifüjlenmiştir ve üstte kalan çözelti 0,45 µm PTFE filtreden süzümüştür. Gerekli seyreltmeler yapılarak çözeltilerin HPLC metodu yardımıyla analizi yapılmıştır.

Tez çalışmalarında (çözünürlük ve çözünme hızı) kullanılan pH 1,2; pH 4,5 ve pH 6,8 tamponları USP ve Avrupa Farmakopesi monograflarına göre hazırlanmıştır.

pH 1,2 tamponu: 2 g sodyum klorür tartılmış ve 900 mL distile su ile çözündürülmüştür. 7 mL HCL çözeltisi yardımı ile tampon pH değeri 1,2'ye ayarlanmıştır. Son çözelti hacmi 1 L olacak şekilde hacim tamamlaması distile su ile yapılmıştır (158).

pH 4,5 asetat tamponu: 2,99 g sodyum asetat tuzu 900 mL distile su içerisinde çözündürülmüştür. 14 mL asetik asit çözeltisi yardımı ile pH değeri 4,5'e ayarlanmıştır. Son çözelti hacmi 1 L olacak şekilde hacim tamamlaması distile su ile yapılmıştır (159).

pH 6,8 fosfat tamponu: 6,8 g potasyum dihidrojen fosfat tuzu 800 mL distile su içerisinde çözündürülmüştür. 0,8 g NaOH tuzu 100 mL distile su içerisinde çözündürülerek NaOH çözeltisi elde edilmiştir. Potasyum dihidrojen fosfat çözeltisinin pH değeri NaOH çözeltisi ile 6,8'e ayarlanmıştır. Son çözeltinin hacmi 1000 mL'ye tamamlanmıştır (38).

### 3.2.3. Siklodekstrin İnküzyon Kompleksleri

Tez çalışması kapsamında AML etkin maddesinin acı tadını maskelemek ve ROS etkin maddesinin çözünürlük sorununu gidermek amacıyla siklodekstrin inküzyon kompleksleri hazırlanmıştır. Siklodekstrin türevi olarak hidrofilik özellik gösteren 2-hidroksipropil- $\beta$ -siklodekstrin (2-HP $\beta$ CD) kullanılmıştır. İdeal etkin madde: 2-HP $\beta$ CD molar oranını belirlemek için faz çözünürlük çalışmaları yapılmıştır.

- **Faz Çözünürlük Çalışmaları**

2-HP $\beta$ CD için  $10 \times 10^{-3}$  M konsantrasyonda siklodekstrin stok çözeltisi distile su ortamında hazırlanmıştır. Distile su yardımıyla gerekli seyreltmeler yapılarak  $2 \times 10^{-3}$  M,  $4 \times 10^{-3}$  M,  $6 \times 10^{-3}$  M,  $8 \times 10^{-3}$  M ve  $10 \times 10^{-3}$  M konsantrasyonlarda siklodekstrin çözeltileri elde edilmiştir. AML ve ROS etkin maddeleri ayrı gruplar halinde bu çözeltilere fazlası miktarda eklenmiştir. 24 saat boyunca ( $25 \pm 2$  °C) yatay çalkalayıcı (Memmert SV1422) yardımı ile karıştırılarak etkin maddelerin doymuş çözeltileri hazırlanmıştır (n=3). Elde edilen çözeltiler santrifüjlenmiş ve 0,45  $\mu$ m PTFE filtreden süzülerek HPLC yöntemi ile analiz edilmiştir. Analiz sonucu ile elde edilen faz çözünürlük grafikleri ile görünür kararlılık sabiteleri ( $K_{1:1}$ ) hesaplanmıştır (Eşitlik 3.4) (160). Siklodekstrin konsantrasyonuna (x eksen) karşılık elde edilen etkin madde konsantrasyonu (y eksen) grafiklenerek faz çözünürlük grafiği elde edilmiştir. Elde edilen faz çözünürlük grafiğinin doğru denkleminde eğim tayin edilerek görünür kararlılık sabitesi hesaplanmıştır (Eşitlik 3.4.).  $K_{1:1}$  değeri siklodekstrinin ilaç molekülüne afinitesini değerlendirmeyi ve elde edilen kompleksin stabilitesini değerlendirmeyi sağlamaktadır (161). Görünür kararlılık sabite değerinin yükselmesi elde edilen kompleksin daha stabil olduğunu ve siklodekstrinin ilaç molekülü ile daha kararlı kompleks oluşturduğunu ifade etmektedir (162).

$$K_{1:1} = \frac{Eğim}{S_0(1-Eğim)} \quad (3.4.)$$

$S_0$ ; maddenin siklodekstrin olmayan ortamdaki doymuşluk çözünürlüğünü ifade etmektedir.

- **İnklüzyon Komplekslerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu**

AML ve ROS etkin maddeleri tespit edilen molar oranlarda (AML:2-HP $\beta$ CD, 1:1; ROS:2-HP $\beta$ CD 1:1 ve 1:2) siklodekstrin ile kompleksleştirilmiştir. Etkin maddeler ve 2-HP $\beta$ CD ayrı ayrı tartılarak 24 saat boyunca distile su ortamında manyetik karıştırıcı (Memmert SV1422) ile karıştırılmıştır. Elde edilen örnekler -20 °C’de bir gece boyunca dondurulmuştur. Numuneler dondurarak kurutma yöntemi (liyofilizasyon) ile 72 saat boyunca liyofilize edilmiştir (-80 °C; 0,001 mbar). Elde edilen kompleksler diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ve FT-IR analizleri yardımı ile karakterize edilmiştir. DSC ölçümleri DSC Q 100 system (TA Instruments, Delaware, USA) cihazı ile 0 °C’den 300 °C’ye kadar taranarak yapılmıştır. FT-IR analizleri Perkin-Elmer FT-IR (MA, USA) cihazı yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.4. Katı Dispersiyon Hazırlanması ve Karakterizasyonu**

AML etkin maddesinin ağız boşluğunda salımını yavaşlatmak amacıyla Eudragit E100® (Eud) polimeri kullanılarak katı dispersiyonu hazırlanmıştır. AML ve Eud ağırlıkça 1:1 oranda tartılarak yeterli miktarda etanolde çözündürülmüş ve 40 °C’de ısıtıcı manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Etanolün uçurulması ile hamur benzeri yarı-katı dispersiyon ortamı elde edilmiştir. Söz konusu dispersiyon ortamı polipropilen tabakaya aktarılmış ve 24 saat boyunca 40 °C’de etüvde (Memmert Etüv) kurutulmuştur. Elde edilen katı dispersiyon havan ve havan eli yardımıyla toz edilmiştir.

Elde edilen katı dispersiyonun DSC ve FT-IR analizleri yapılmıştır. Toz edilmiş ve toz edilmemiş katı dispersiyon örneklerinin DSC analizleri DSC Q 100 system (TA Instruments, Delaware, USA) cihazı kullanılarak 0 °C’den 300 °C’ye kadar taranarak yapılmıştır. DSC analizleri ile dispersiyon ortamının etkin maddeyi kaplama etkinliği değerlendirilmiştir. Toz edilmiş katı dispersiyon için ayrıca FT-IR analizi (Perkin-Elmer FT-IR (MA, USA) yapılmıştır. FT-IR analizlerinde sıcaklık uygulamasının ve yardımcı madde (etanol; Eudragit E100) kullanımının etkin maddenin kimyasal yapısına etkisi değerlendirilmiştir.

### • Yapay Tükürük Ortamında İlaç Salım Çalışması

Elde edilen katı dispersiyonun ağızda ilaç salımını yavaşlatması beklenmektedir. Bu sebeple, yapay tükürük ortamında etkin maddenin ve katı dispersiyonun ilaç salımı tayin edilmiştir. Birim doz ADT formülasyonunda bulunan AML miktarına (13,86 mg) karşılık gelecek miktarda etkin madde ve katı dispersiyon tartılarak 3 mL yapay tükürük ortamında (pH:5,7;  $37 \pm 1$  °C) yatay çalkalayıcıda karıştırılmıştır (n=3) ve 1., 2., 3., 4. ve 5. dakikalarda örnek alınmıştır. Elde edilen konsantrasyonların zamana karşı grafikleri çizilerek salım profilleri değerlendirilmiştir. Salım profilleri 3. dakikadaki kümülatif ilaç salımına göre değerlendirilmiştir.

Çalışmada kullanılan yapay tükürük ortamının bileşenleri Tablo 3.2.'de verilmiştir. Tabloda verilen miktarlarda tuzlar hassas terazi yardımıyla tartılmış ve distile suda çözündürülmüştür. Elde edilen çözeltinin pH değerini 5,7'ye ayarlamak için 0,1N HCl çözeltisi kullanılmıştır (163).

**Tablo 3.2.** Yapay tükürük ortamının bileşenleri (pH 5,7).

| Tuz                                  | Miktar (g) |
|--------------------------------------|------------|
| NaCl                                 | 0,844      |
| KCl                                  | 1,2        |
| CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O | 0,193      |
| MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O | 0,111      |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>      | 0,342      |
| Distile Su (mL)                      | 1000       |

### 3.2.5. SeDeM-ODT Uzman Sistemi ile Tozların Değerlendirilmesi

SeDeM-ODT uzman sistemi (*SeDeM-ODT expert system*) tozların davranışını değerlendirmek üzere bir dizi deneyin yapılmasını gerektiren bir sistemdir. Bu amaçla hem etkin maddeler (AML ve ROS) ve formülasyonda kullanılabilecek tüm yardımcı maddeler (süper-dağıtıcı, seyreltici doldurucu, tatlandırıcı ve kaydırıcı niteliklerde olan toplam 25 farklı eksipiyen) için kütle dansitesi, sıkıştırılmış dansite, partiküller arası porozite, *Carr* indeksi, kohezyon indeksi, Hausner oranı, yığın açısı, toz akış

süresi, kurutmada kayıp, nem çekme özelliği (higroskopî), partikül boyutu dağılımı ve homojenlik indeksi, efervesan süresi, disk ile dağılma süresi ve disk olmadan dağılma süresi deneyleri yapılmıştır. SeDeM-ODT uzman sisteminde yapılan analizlerin detayı aşağıda verilmiştir.

- *Kütle Dansitesi*

Toz maddenin (50 g) kütle dansitesi, Avrupa Farmakopesinde belirtilen dereceli silindir yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (38). Tartılan toz miktarının hacmi, dereceli silindir kullanılarak belirlenmiş ve kütle dansitesi ( $D_a$ , g/mL) Eşitlik 3.5. kullanılarak hesaplanmıştır:

$$D_a = \frac{m}{V_a} \quad (3.5.)$$

m: Tozun Kütlesi (g)

$V_a$ : Tozun Hacmi (mL)

- *Sıkıştırılmış Dansite*

Sıkıştırılmış dansite ( $D_c$ , g/mL) dereceli silindir sisteminde volümünometre cihazı (Aymes Company, Türkiye) kullanılarak 2500 vuruş yapılmış ve Eşitlik 3.6. kullanılarak hesaplanmıştır (38).

$$D_c = \frac{m}{V_c} \quad (3.6.)$$

m: Tozun Kütlesi (g)

$V_c$ : Tozun Sıkıştırılmış Hacmi (mL)

- *Partiküller Arası Porozite*

Partiküller arası porozite ( $I_e$ ) kütle ve sıkıştırılmış dansite değerleri kullanılarak hesaplanmıştır (Eşitlik 3.7.) (63).

$$I_e = \frac{D_c - D_a}{D_c \times D_a} \quad (3.7.)$$

- *Carr İndeksi*

Carr indeksi (Ic) kütle ve sıkıştırılmış dansite değerleri kullanılarak hesaplanmıştır (Eşitlik 3.8.) (63).

$$Ic = 100 \times \frac{Dc - Da}{Dc} \quad (3.8.)$$

- *Kohezyon İndeksi*

Kohezyon indeksi, tek başına tozun tercihen maksimum basınç altında eksantrik bir zımba ile kapak atma ve laminasyon olmadan basılmış tabletin kırılma kuvvetidir. Kırılma kuvvetini ölçmek için PharmaTEST PTB 311E Tablet Sertlik Cihazı kullanılmıştır. Ortalama kırılma kuvveti en az 10 adet tek başına basılmış tozun tableti için hesaplanmıştır. Ham toz basılabilirlik açısından test edilmiştir, tozun direkt basılamaması halinde SeDeM sistemi için literatürde önerilen kaydırıcı karışımı toza eklenerek (Talk %2,36+ Aerosil® 200 %0,14+ Magnezyum stearat %1,00) tabletler basılmıştır (62, 63).

- *Hausner Oranı*

Hausner oranı (IH) kütle ve sıkıştırılmış dansite değerleri kullanılarak hesaplanmıştır (Eşitlik 3.9.) (63).

$$IH = \frac{Dc}{Da} \quad (3.9.)$$

- *Yığın Açısı*

Yığın açısı huni yöntemi ile belirlenmiştir. Bu amaçla 50 g toz belirli bir yüksekliğe yerleştirilmiş bir cam huniden akıtılmış ve yığın açısı Eşitlik 3.10. kullanılarak hesaplanmıştır (63):

$$\alpha = \tan^{-1} \frac{h}{r} \quad (3.10.)$$

$\alpha$ : Yığın açısı (°)

h: Toz yığının tepe yüksekliği (cm)

r: Toz yığının ortalama yarı çapı (cm)

- *Toz Akış Süresi*

Toz akışı, tozun belirli bir yüksekliğe yerleştirilmiş bir cam huniden tozunu tamamının akması için gereken süre (sn) ölçülerek belirlenmiştir (63).

- *Kurutmada Kayıp*

Tozun nem içeriğini belirlemek amacıyla kurutma ile ağırlık kaybı yöntemi uygulanmıştır. Toz örneği (500 mg) alüminyum plakalara yerleştirilmiş ve 105 °C'deki bir etüvde ağırlık sabit oluncaya dek 1 saat boyunca bekletilmiştir (n=3) (164, 165). Tüm ağırlık ölçümleri kaydedilmiştir. Nem içeriği, başlangıç ağırlığına kıyasla ağırlık kaybı yüzdesi hesaplanarak belirlenmiştir (Eşitlik 3.11.).

$$\frac{W_i - W_s}{W_i} \times 100 \quad (3.11.)$$

W<sub>i</sub>: Toz örneğinin ilk ağırlığı (mg)

W<sub>s</sub>: Toz örneğinin son ağırlığı (mg)

- *Nem Çekme Özelliği (Higroskop)*

Tozun nem çekme kapasitesini belirlemek amacıyla nem çekme deneyi yapılmıştır. Üç toz örneği alüminyum plakalara tartılmış ve 22±2 °C'deki iklim dolabında %76±2 bağıl nemde 24 saat bekletilmiş ve deney sonunda tekrar tartılmıştır (166). Tüm ağırlık ölçümleri kaydedilmiştir. Nem çekme kapasitesi, başlangıç ağırlığına kıyasla ağırlık artış yüzdesi hesaplanarak belirlenmiştir (Eşitlik 3.12.).

$$\frac{W_s - W_i}{W_i} \times 100 \quad (3.12.)$$

W<sub>i</sub>: Toz örneğinin ilk ağırlığı (mg)

W<sub>s</sub>: Toz örneğinin son ağırlığı (mg)

- *Partikül Boyutu Dağılımı ve Homojenlik İndeksi*

Toz örneğinin partikül boyutu dağılımı basit elek analizi yöntemi ile yapılmıştır. 385 µm, 265 µm, 180 µm, 106 µm ve 50 µm elekler kullanılarak toz örneği (50 g) elek çalkalayıcıda 10 dakika boyunca çalkalanmıştır. Her elekte kalan toz

ağırlığı kaydedilmiştir. <50 µm boyuttaki partiküllerin yüzde sıklığı hesaplanmıştır. Homojenlik indeksi Eşitlik 3.13. kullanılarak hesaplanmıştır(62, 63).

$$I\theta = \frac{F_m}{100 + \Delta F_{mn}} \quad (3.13.)$$

Iθ: Homojenlik indeksi

F<sub>m</sub>: Dağılımda en sık görülen partikül boyutunun yüzdesi

$\Delta F_{mn} = (d_m - d_{m-1}) \times F_{m-1} + (d_{m+1} - d_m) \times F_{m+1} + (d_m - d_{m-2}) \times F_{m-2} + (d_{m+2} - d_m) \times F_{m+2} + \dots + (d_m - d_{m-n}) \times F_{m-n} + (d_{m+n} - d_m) \times F_{m+n}$  şeklinde gösterilmektedir. F<sub>m</sub> görülme sıklığı en yüksek olan partikül boyutunun yüzdesini ifade ederken F<sub>m+1</sub>, en sık partikül boyutu yüzdesinin bir üstündeki sıklık yüzdesini ifade etmektedir. F<sub>m-1</sub> ise aynı şekilde dağılımdaki F<sub>m</sub> değerinin bir altındaki yüzde değerini göstermektedir. n değeri çalışılan fraksiyon sayısını ifade etmektedir. d<sub>m</sub> en sık partikül boyutunun ortalama çapını vermekte iken d<sub>m+1</sub> bir üst değeri, d<sub>m-1</sub> ise bir alt değeri göstermektedir. Örnek bir analiz sonucu Tablo 3.3.'te verilmiştir.

**Tablo 3.3.** Homojenlik indeksi tespiti için partikül büyüklüğü dağılımı örneği.

| Elek Boyutu (mm) | Fraksiyon          | Fraksiyonun Ortalama Partikül Çapı | Karşılık Gelen Çap (d <sub>m</sub> ...d <sub>m</sub> ± n) | En Sık Fraksiyon Değeri ile d <sub>m</sub> Değeri Arasındaki Fark |
|------------------|--------------------|------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| 0.265–0.385      | F <sub>m</sub> + 2 | 325                                | d <sub>m</sub> + 2                                        | 182                                                               |
| 0.180–0.265      | F <sub>m</sub> + 1 | 222,5                              | d <sub>m</sub> + 1                                        | 79,5                                                              |
| 0.106–0.180      | F <sub>m</sub>     | 143                                | d <sub>m</sub>                                            | 0                                                                 |
| 0.050–0.106      | F <sub>m</sub> - 1 | 78                                 | d <sub>m</sub> - 1                                        | 65                                                                |
| <0.050           | F <sub>m</sub> - 2 | 25                                 | d <sub>m</sub> - 2                                        | 118                                                               |

- *Efervesan Süresi*

Toz örneği, herhangi bir kapak atma ve laminasyon olmaksızın maksimum basınç altında direkt basım yöntemi ile basılmıştır. Bir tablet, ortam sıcaklığında (25 C°) 200 mL distile su içeren bir behere yerleştirilmiştir. Tabletten tamamen parçalanması/dağılması için geçen süre, efervesan süresi olarak tayin edilmiştir.

Parçacık kümelerinin kalmaması takip edilmiştir. Efervesan süresi; geleneksel asit-baz reaksiyonu anlamına gelmemektedir, aksine tabletin su içinde dağılmasını göz önüne alan bir değerlendirmedir. Efervesan süresinin kabul kriteri 5 dakikadan kısa olmasıdır (20, 62, 167).

- *Disk ile Dağılma Süresi*

Toz örneği, herhangi bir kapak atma ve laminasyon olmaksızın maksimum basınç altında basılmıştır. 6 adet örneğin distile su ortamında (1000 mL,  $37\pm 2$  °C) dağılma cihazında (ParmaTEST PTZ-S, Hainburg, Germany) her bir tablet yuvasına bir adet silindir disk yerleştirilmesi ile yapılmıştır ve dağılma süreleri kaydedilmiştir. Diskin ağızdaki mekanik süreci taklit etmesinden dolayı SeDeM-ODT uzman sisteminde bu yönetime de yer verilmiştir (20, 62, 167).

- *Disk Olmadan Dağılma Süresi*

Toz örneği, herhangi bir kapak atma ve laminasyon olmaksızın maksimum basınç altında basılmıştır. 6 adet örneğin distile su ortamında (1000 mL,  $37\pm 2$  °C) dağılma cihazı (Parma test PTZ-S, Hainburg, Germany) ile dağılma süreleri kaydedilmiştir (20, 62, 167).

### **3.2.6. Direkt Basım Yöntemi ile ADT Formülasyonlarının Üretilmesi ve Karakterizasyonları**

SeDeM-ODT uzman sistemi ile etkin maddeler ve 25 farklı ekşiپیان analiz edilmiştir. Sistemin tozların karışım halindeki davranışlarının hesaplanmasına imkân vermesi sayesinde kullanım oranları Tablo 3.4.'te verilen ana bileşenlerin bir çekirdek toz karışımına (Ç: AML+ ROS+ Aspartam+ Asesülfam Potasyum+ Mg stearat+ Aerosil+ Talk) karar verilmiş ve düzeltici ekşiپیانların tayini bu toz karışımına göre yapılmıştır. Direkt basıma ve bukodispersibilite özelliklerine en uygun formülasyon önerileri SeDeM-ODT uzman sistemi hesaplamaları ile elde edilmiştir (Tablo 3.4.). Elde edilen çıktılar Pearlitol ve Parteck süper dağıtıcılarını ve Avicel PH102 ekşiپیانını karışımına eklemeyi önermiştir. 1, 2, 3 ve 4 numaralı toz karışımları SeDeM-ODT ile karakterize edilmiştir. Elde edilen çıktılar sonucunda 2 numaralı toz karışımı optimum toz karışımı ve optimum ADT formülasyonu olarak seçilmiştir. 2

numaralı toz karışımından hareketle Parteck oranı azaltılarak 5, 6 ve 7 numaralı toz karışımları elde edilmiş ve SeDeM-ODT ile karakterize edilmiştir.

Etkin maddeler ve tüm eksipiyenler, kaydırıcı karışımı (Talk %2,36+ Aerosil® 200 %0,14+ Magnezyum stearat %1,00) hariç, progresif karıştırma yöntemi ile silindir karıştırıcıda sırayla eklenerek 5'er dakika süre ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışım ile kaydırıcı karışımı elektrostatik etkileşimleri önlemek amacıyla 2 dakika boyunca karıştırılmıştır.

**Tablo 3.4.** SeDeM-ODT uzman sistemince önerilen toz karışımları ve optimum toz karışımı ile basılan ADT formülasyon bileşenleri.

| <b>Toz Karışım Numarası</b> | <b>1</b> | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> | <b>5</b> | <b>6</b> | <b>7</b> |
|-----------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| <b>Bileşen</b>              | <b>%</b> | <b>%</b> | <b>%</b> | <b>%</b> | <b>%</b> | <b>%</b> | <b>%</b> |
| AML                         | 5,33     | 5,33     | 5,33     | 5,33     | -        | 5,33     | -        |
| AML:CD 1:1                  | -        | -        | -        | -        | 17,53    | -        | -        |
| AML:EUD 1:1                 | -        | -        | -        | -        | -        | -        | 10,29    |
| ROS                         | 8,01     | 8,01     | 8,01     | 8,01     | 8,01     | -        | 8,01     |
| ROS:CD 1:1                  | -        | -        | -        | -        | -        | 18,79    | -        |
| Parteck                     | 81,16    | 68,43    | -        | -        | 56,23    | 57,65    | 63,47    |
| Pearlitol                   | -        | -        | 81,16    | 58,88    | -        | -        | -        |
| Avicel PH102                | -        | 12,73    | -        | 22,28    | 12,73    | 12,73    | 12,73    |
| Aspartam                    | 1,00     | 1,00     | 1,00     | 1,00     | 1,00     | 1,00     | 1,00     |
| Asesülfam Potasyum          | 1,00     | 1,00     | 1,00     | 1,00     | 1,00     | 1,00     | 1,00     |
| Mg Stearat                  | 1,00     | 1,00     | 1,00     | 1,00     | 1,00     | 1,00     | 1,00     |
| Talk                        | 2,36     | 2,36     | 2,36     | 2,36     | 2,36     | 2,36     | 2,36     |
| Aerosil                     | 0,14     | 0,14     | 0,14     | 0,14     | 0,14     | 0,14     | 0,14     |

Elde edilen toz karışımları SeDeM-ODT uzman sistemi ile analiz edilmiştir. Gerekli toz kontrolleri yapıldıktan sonra Erweka AR 400 (Heusenstamm, Germany) tek zımbalı tablet basım makinesi yardımı ile ADT basımı yapılmıştır. 2, 5, 6 ve 7 numaralı toz karışımından hareketle basılan ADT'ler;

- PAÇ; Parteck + Avicel PH102 + Çekirdek Karışımı (P+A+Ç tozu) ile basılmıştır,
- AMLCD; AML:CD 1:1 kompleksi ile elde edilen 5 numaralı toz karışımı ile basılmıştır,
- ROSCD; ROS:CD 1:1 kompleksi ile elde edilen 6 numaralı toz karışımı ile basılmıştır,
- AMLEUD; AML:EUD 1:1 katı dispersiyonu ile elde edilen 7 numaralı toz karışımı ile basılmıştır.

### **Ağızda Dağılan Tabletlerde Yapılan Kontroller**

- *Çap-Kalınlık-Sertlik Tayini*

Pharma Test PTB 311E (Hainburg, Germany) cihazı yardımıyla rastgele 20 adet ADT örneğinin çap ve kalınlık (mm) ölçümleri yapılmıştır. Sertlik tayini için 10 adet rastgele ADT örneği Pharma Test PTB 311E (Hainburg, Germany) cihazı yardımı ile ölçülmüştür. Sonuçlar N olarak verilmiştir.

- *Kırılabilirlik (Ufalanma/Friability) Tayini*

Optimum tablet ağırlığı 260 mg olarak belirlenen tabletlerin ağırlığı 650 mg'dan az olduğu için ufalanma deneyi Avrupa Farmakopesi 10'uncu baskısında verilen film kaplı olmayan tabletlerin ufalanma deneyi protokolü'ne göre gerçekleştirilmiştir. Toplam ağırlık 6,5 g'a eşit veya yakın olacak şekilde tartılan tabletlerin ağırlığı kaydedilmiştir ( $W_o$ ). Tartılan tabletler Pharma Test PTF 10E Apparatus (Hainburg, Germany) friyabilite tayin cihazında dakikada 25 tur yapacak şekilde 4 dakika devre tabi tutulmuştur. 100 devir sonunda tabletlerin üzerindeki tozlar uzaklaştırılmış ve tekrar tartım yapılmıştır ( $W_s$ ). Ufalanmaya bağlı ağırlık kaybı (%) aşağıdaki formülle hesaplanmıştır. Test sırasında herhangi bir tabletin kırılması deneyin olumsuz sonuçlanmasına sebep olmaktadır (Eşitlik 3.14.) (38, 168).

$$\% \text{ ağırlık kaybı} = \frac{W_o - W_s}{W_s} \times 100 \quad (3.14.)$$

- *Dağılma Süresi Tayini*

ADT örneklerinin (n=6) distile su ortamında ve yapay tükürük (pH 5,7) ortamında ( $37\pm 2$  °C) dağılma cihazı (Parma test PTZ-S, Hainburg, Germany) ile dağılma süreleri tayin edilmiştir. Tabletlerin dağılma süresi Avrupa Farmakopesi'ne göre 3 dakikadan kısa olmalıdır. FDA kılavuzu bu sürenin 30 saniyeye yakın veya daha kısa olmasını bildirmektedir (38, 169).

- *İçerik Tekdüzeliliği*

İçerik tekdüzeliği çalışmaları Avrupa Farmakopesi'nin 10. baskısına göre gerçekleştirilmiştir. Rastgele seçilen 10 ADT numunesi, 50 mL mobil fazda (asetonitril: pH 2,5 tampon; 47,5:52,5 h/h) çözündürülmüş ve 10 dakika ultrasonik banyoda (Advantage-Lab) sonikasyona tabi tutulmuştur. Elde edilen çözeltiler 0,45 µm PTFE filtreden süzölmüş ve gerekli seyreltmeler yapılarak numunelerdeki AML ve ROS miktarları, HPLC yöntemi aracılığıyla tayin edilmiştir. Her bir örneğin içeriği, ortalama içerik miktarının %85 ile %115'i arasında olmalıdır.

- *Kütle Tekdüzeliliği*

Rastgele seçilen 20 ADT numunesinin ağırlığı hassas terazi (Mettler Toledo) yardımıyla ölçölmüştür. Kütle tek düzeliliğinin değerlendirilmesinde Avrupa Farmakopesi 10'uncu baskısına göre ortalama ağırlığı 250 mg ve üzeri olan kaplı olmayan tabletlerin direktiflerine uyulmuştur. Ölçölen tabletlerin en fazla 2 tanesi için ortalama değerdan yüzde sapma değerdinin %5'ten fazla olmaması, hiçbir tabletin ağırlığının yüzde sapma değerdinin %10'dan fazla olmaması gerektiği bildirilmiştir (38).

- *İn vitro Çözünme Hızı Çalışmaları*

FDA dissolüsyon veri tabanına göre, ağızda dağılan tablet (ADT) formunda olan AML tabletine yönelik çözünme hızı çalışmaları, 500 mL 0,01 N HCl ortamında, 50 rpm pedal yöntemiyle (USP Apparatus II) 5, 10, 15 ve 20 dakikalık örnekleme süreleriyle gerçekleştirilmelidir. ROS çözünme hızı profilini değerlendirmek için çeşitli çalışmalarda pH 6,8 ortamı ve 50 rpm'lik pedal yöntemi kullanılmıştır (170, 171). ADT formölasyonlarının (PAÇ, AMLCD, ROSCD ve AMLEUD) çözünme hızı

profillerini değerlendirmek için modifiye edilmiş bir yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla üç çözünme ortamında (pH 1,2, pH 4,5 ve pH 6,8) tüm çözünme hızı çalışmaları (n=6), USP aparratus II (paddle) yöntemi ( $50 \pm 2$  rpm) kullanılarak  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 'de gerçekleştirilmiştir. Numuneler (1,5 mL) önceden belirlenen zaman aralıklarında (1, 2, 3, 5, 10, 15 ve 30 dakika) alınmış ve sink koşulu korumak için taze ortamlarla tamamlama yapılmıştır. Paslanmaz çelik ile AML arasındaki etkileşim nedeniyle cam pedal kullanılmıştır. Tüm numunelerdeki AML ve ROS miktarları valide HPLC yöntemiyle analiz edilmiştir.

Geliştirilen 3 ADT formülasyonundan (AMLCD, ROSCD ve AMLEUD) AML ve ROS için edilen çözünme hızı profillerinin PAÇ tabletine benzerliği f2 benzerlik faktörü hesaplanarak değerlendirilmiştir. Benzerlik faktörünün (f2) 50'den büyük olması profillerin benzer olduğunu göstermektedir. Çözünme hızı 15 dakika içerisinde %85'ten fazla olan ortamlarda f2 benzerlik faktörü hesaplanmamış olup profiller benzer kabul edilmiştir. f2 benzerlik faktörü Eşitlik 3.15. yardımıyla hesaplanmıştır.

$$f2 = 50 \times \log \left[ 100 \div \sqrt{1 + \frac{(\sum_{t=1}^{t=n} R_t - T_t)^2}{n}} \right] \quad (3.15.)$$

n: Zaman noktası sayısı

$R_t$ : Referans formülasyonun t zaman noktasındaki ortalama çözünen yüzdesi

$T_t$ : Test formülasyonun t zaman noktasındaki ortalama çözünen yüzdesi

- *FT-IR Analizleri*

Geliştirilen dört ADT formülasyonunun (PAÇ, AMLCD, ROSCD ve AMLEUD) Perkin-Elmer FT-IR (MA, USA) cihazı ile spektrumları çekilmiştir. Elde edilen spektrumlar ile etkin maddelerin (AML ve ROS) spektrumları karşılaştırılarak etkin maddelerin ekşiyanlar ile geçimliliği değerlendirilmiştir.

- *Stabilite (ADT)*

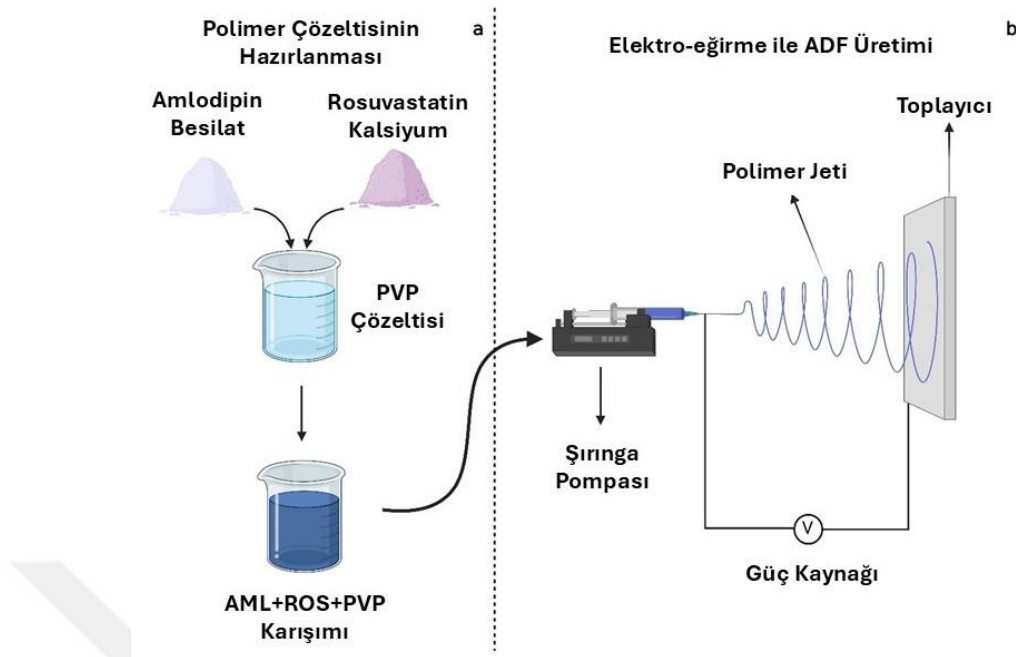
ADT formülasyonlarının (PAÇ, AMLCD, ROSCD ve AMLEUD) hızlandırılmış stabilite çalışmaları  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  sıcaklık ortamında %75 bağıl nem koşullarında 1 ay süre ile yürütülmüştür. Elde edilen verilerin uzun dönem stabilite çalışmaları için bilgi vermesi amaçlanmıştır. Formülasyonların 15. gün ve 30. günlerde

içerik tekdüzeliği ve dağılma süreleri tayin edilerek stabilite değerlendirmeleri yapılmıştır.

### **3.2.7. Elektro-eğirme Tekniği ile Ağızda Dağılan Film Formülasyonlarının Geliştirilmesi**

#### **Polimer Çözeltilerinin Hazırlanması**

Elektro-eğirme tekniği ile ağızda dağılan film formülasyonlarının hazırlanmasında PVP K90 polimer olarak kullanılmıştır. Homojen bir çözelti elde etmek için, PVP K90 (%16,67 a/h) etanol içerisinde çözündürülmüştür. ROS hassas terazide tartılmış ve bir dakika boyunca manyetik karıştırıcıda 2 mL etanol içerisinde dağıtılmıştır. 5 mL'lik son hacme ulaşmak için, 3 mL PVP K90 çözeltisi (%16,67 a/h) çözeltiye yavaşça eklenerek bir dispers sistem elde edilmiştir. Bu dispersiyon, 10 dakika boyunca ultrasonik banyoda sonikasyona tabi tutulmuştur. Bu sayede homojen bir çözelti elde edilmiş ve bu çözeltiye manyetik karıştırıcı üzerinde gerekli miktarda AML eklenmiştir. Yeni karışım 1 dakika boyunca ultrasonik banyoda sonikasyona tabi tutulmuştur. Sonuç olarak, sırasıyla 95 mg amlodipin ve 95 mg rosuvastatine eşdeğer AML ve ROS içeren bir PVP K90 polimer çözeltisi (%10 a/h) elde edilmiştir. Tek başına AML veya tek başına ROS yüklü polimer çözeltisi hazırlamak için sadece ilgili etkin maddeye ait adım yukarıda açıklandığı gibi uygulanmıştır. Daha sonra bu çözeltiler elektro-eğirme cihazını beslemek üzere bir şırıngaya çekilmiştir (Şekil 3.2.).



**Şekil 3.2.** Elektro-eğirme sürecinin şematik sunumu (a; Polimer çözeltisinin hazırlanması, b; Elektro-eğirme tekniği ile ADF üretimi).

### Polimer Çözeltilerinin Karakterizasyonu

Polimer çözeltileri (PÇ1:%10 PVP (a/h); PÇ2:%10 PVP (a/h)+AML+ROS; PÇ3:%10 PVP (a/h)+AML ve PÇ4:%10 PVP (a/h)+ROS) yüzey gerilimi, vizkozite ve iletkenlik özellikleri açısından değerlendirilmiştir.

- *Yüzey gerilimi*

Attension Sigma 701 (Biolin Scientific) cihazı kullanılarak Wilhelmy Plakası yardımıyla dört polimer çözeltisinin de yüzey gerilimi ölçümleri yapılmıştır (n=3).

- *Vizkozite*

Dört farklı polimer çözeltisi için vizkozite ölçümü koni/plak tekniği ile Brookfield Engineering Labs INC. vizkozite cihazı yardımı ile ölçülmüştür (n=3).

- *İletkenlik*

Tüm polimer çözeltilerinin iletkenlik özellikleri ISOLAB pH metre cihazı yardımıyla ölçülmüştür (n=3).

### Elektro-eğirme İşlem Parametreleri

En uygun ağızda dağılan film formülasyonunu elde etmek ve etkili ve yönetilebilir elektro-eğirme işlemini optimize etmek amaçlanmıştır. Bu amaçla ön formülasyon çalışmaları yapılmıştır. Elektro-eğirme sürecinin çeşitli koşulları ve kullanılan çeşitli PVP konsantrasyonları denenmiştir. Çalışmalar öncelikle toplayıcı tipinin seçimine odaklanmış ve tambur tipi toplayıcı ve düz toplayıcı üretim verimliği gibi gözlemsel parametreler ışığında karşılaştırılmıştır. Polimer çözeltileri olarak PVP konsantrasyonu (%6'dan %12'ye, a/h), polimer çözeltisinin eğirilebilirliği ile değerlendirilmiştir ve elde edilen fiber matın dağılma davranışı ile değerlendirilmiştir.

Tüm bu ön formülasyon çalışmalarının ardından nozul ile toplayıcı arasındaki mesafe ve tambur dönüş hızı sabit tutularak uygulanan optimum voltaj ve akış hızı koşulları belirlenmiştir. Nihai deneme ürünleri incelenirken filmin alüminyum folyodan kolay soyulması, son film görünümü ve SEM görüntülerine göre lif özellikleri üzerinde durulmuştur.

Elektro-eğirme cihazı olarak Nanofen Electrospinning Cihazı (Ankara, Türkiye) kullanılmıştır. Elektro-eğrilmiş ADF formülasyonları iki farklı metotla üretilmiştir. Toplayıcı olarak dönen tambur kullanılmıştır. Çalışma uzaklığı 18 cm olup tambur dönüş hızı 1000 rpm'dir. Ön formülasyon çalışmalarından hareketle uygulanan voltajın, akış hızının ve üretim süresinin değiştiği iki üretim metodu geliştirilmiştir (Tablo 3.5.). Tek etkin madde içeren ADF (AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1) formülasyonları ADF-1 üretim yöntemi ile üretilmiştir.

**Tablo 3.5.** ADF formülasyonlarının üretim parametreleri.

| Formülasyon | Uygulanan Voltaj (kV) | Akış Hızı ( $\mu\text{L}/\text{dk}$ ) | Toplayıcı ve Nozul Arası Mesafe (cm) | Tambur Hızı (rpm) | Üretim Zamanı (dk) |
|-------------|-----------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|-------------------|--------------------|
| ADF-1       | 10                    | 25                                    | 18                                   | 1000              | 120                |
| ADF-2       | 15                    | 35                                    | 18                                   | 1000              | 90                 |

## **Elektro-eğrilmiş ADF Formülasyonlarının Karakterizasyonu**

- **Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi**

DSC ölçümleri (AML, ROS, PVPK90, ADF-1, ADF-2 ve ilaçsız/plasebo ADF-1 ve ilaçsız/plasebo ADF-2) DSC Q 100 system (TA Instruments, Delaware, USA) cihazı kullanılarak 0 °C'den 500 °C'ye kadar taranarak yapılmıştır.

- **Fourier Transform Infrared Spektroskopi (FT-IR) Analizi**

FT-IR analizleri Perkin-Elmer FT-IR (MA, USA) cihazı yardımıyla AML, ROS, PVPK90, ADF-1, ADF-2 ve plasebo ADF-1 ve plasebo ADF-2 için gerçekleştirilmiştir.

- **X-Işını Kırınımı (XRD) Analizi**

Plasebo (plasebo ADF-1 ve plasebo ADF-2) ve ilaç yüklü ADF'lerin (ADF-1, ADF-2, AML-ADF-1, ROS-ADF-1) kristal özelliklerini belirlemek için X-ışını kırınımı (XRD) analizi yapılmıştır. XRD analizi 2 teta tarama ekseninde 40 kV ve 30 mA voltajla 0 ila 60° arasında tarama yapılarak gerçekleştirilmiştir (Rigaku Miniflex XRD cihazı, Japonya).

- **Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüleme ve Değerlendirmeleri**

Elde edilen ADF formülasyonları (ADF-1, ADF-2, AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1) ve plasebo üretimleri (plasebo ADF-1 ve plasebo ADF-2) için SEM görüntüleri (20000x büyütmeden 500x büyütmeye kadar) elde edilmiştir. SEM görüntülemeleri sayesinde elde edilen liflerin morfolojik değerlendirmeleri yapılmış ve ortalama lif yarı çapları hesaplanmıştır.

- **ADF Formülasyonlarının Mekanik Özelliklerinin Değerlendirilmesi**

ADF formülasyonlarının mekanik direnci ürünün yaşam siklusunu (ambalajlama, taşıma, saklama) değerlendirebilmek amacıyla ölçülmektedir. Bu amaçla; gerilme direnci, kopma anında uzama ve Young's modülü (elastik modülü) verileri elde edilmiştir. ADF formülasyonlarının mekanik ölçümleri Texture Analyser (A.XT. Plus Texture Analyzer, Stable Micro Systems, UK) cihazı yardımıyla

yapılmıştır. Her bir ADF formülasyonundan rastgele üç ölçüm alınmıştır. Bu amaçla 3x3 cm<sup>2</sup> ölçülere sahip ADF örnekleri Texture Analyser cihazının iki mensesi arasına sıkıştırılmıştır (Şekil 3.3.). Koşullar 0,100 kg tetikleme kuvveti ve 0,10 mm/sn test hızına ayarlanmıştır. Tüm ölçümler, çekme mukavemetini (gerilme direncini), kopma uzamasını ve Young's modülüs değerini hesaplamak üzere Eşitlik 3.16., - 3.18. kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Gerilme Direnci (N/cm}^2\text{)} = \frac{\text{Kopma anında kuvvet (N)}}{\text{Filmin kesit alanı (cm}^2\text{)}} \quad (3.16.)$$

$$\text{Kopma anında uzama (\%)} = \frac{\text{Kopma anında uzunluk artışı}}{\text{Başlangıç film uzunluğu}} \times 100 \quad (3.17.)$$

$$\text{Young's modülüs (MPa)} = \frac{\text{Gerilmeye karşılık gelen kuvvet (N)} \times 10^{-2}}{\text{Filmin kesit alanı (cm}^2\text{)} \times \text{Gerilme}} \quad (3.18.)$$

Katlanma direnci ise ADF formülasyonlarının kırılabilirliğini değerlendirmek için belirlenmiştir. Bu değerlendirme için üç formülasyon numunesi aynı yerden kırılincaya kadar tekrar tekrar katlanmış ve katlanma sayısı kaydedilmiştir.



**Şekil 3.3.** ADF formülasyonları gerilme direnci ölçümünde kullanılan *texture analyser*.

### **Film Kalınlığının Ölçülmesi**

ADF formülasyonlarının kalınlığı bir mikrometre (Mitutoyo Digimatic Micrometer IP65, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Rastgele seçilen on adet ADF örneğinin kalınlığı üç farklı noktadan (rastgele iki köşe ve ADF örneğinin orta noktası) ölçülmüş ve tüm sonuçlar kaydedilmiştir.

### **ADF Formülasyonlarının Yüzey pH Değerinin Ölçümü**

ADF'lerin yüzey pH değeri “Hanna Instruments HI 3220/ABD” cihazı aracılığıyla ölçülmüştür. Doğru pH ölçümünü elde etmek için ADF numunesi az miktarda distile su ile ıslatılarak ölçüm alınmıştır (n=6).

### **Nem İçeriği Tayini**

ADF formülasyonlarının nem içeriğini tayin etmek amacıyla kurutma ile ağırlık kaybı yöntemi uygulanmıştır.  ADF rneği bir alüminyum plakaya yerleştirilmiş ve 105  C'deki bir etüvde 10 dakika ve ilave 20 dakika süreyle bekletilmiştir. 0, 10 ve 30. dakikadaki tüm ağırlık ölçümleri kaydedilmiştir. Nem içeriği, başlangıç ağırlığına kıyasla ağırlık kaybı yüzdesi hesaplanarak belirlenmiştir.

### **Dağılma ve Islanma Sürelerinin llmesi**

Dağılma süresi ve ıslanma süresi iki farklı yöntem kullanılarak tayin edilmiştir. Petri kabı ile dağılma yönteminde 10 cm çapında petri kabına 2 mL distile su ilave edilmiştir. ADF numunesi dikkatlice ortama yerleştirilmiş ve eş zamanlı olarak video kaydı alınmıştır. Altı rastgele numune için tüm dağılma süreleri kaydedilmiştir (23).

Islanma süresi, bir petri kabının (10 cm çapında) ortasına bir sünger (5.0x3.5x0.5 cm) yerleştirilerek yapılmıştır. Sünger 30 mL yapay tükürük çözeltisi (pH 5,7) ile ıslatılmıştır. ADF numuneleri süngerin üzerine yerleştirilerek ıslanma süresi video kaydı ile tespit edilmiştir (172).

### **ADF Formülasyonları İçerik Tekdüzeliği Tayini**

İçerik tekdüzeliği alışmaları Avrupa Farmakopesi'nin 10. baskısına göre yrtlmştr (38). Rastgele seçilen 10 ADF numunesi (10 mg), 10 mL mobil fazda (asetonitril 47,5:52,5 pH 2,5 tampon h/h) zndrlmş ve elde edilen çözeltilerdeki AML ve ROS miktarları, HPLC yöntemi aracılığıyla belirlenmiştir.

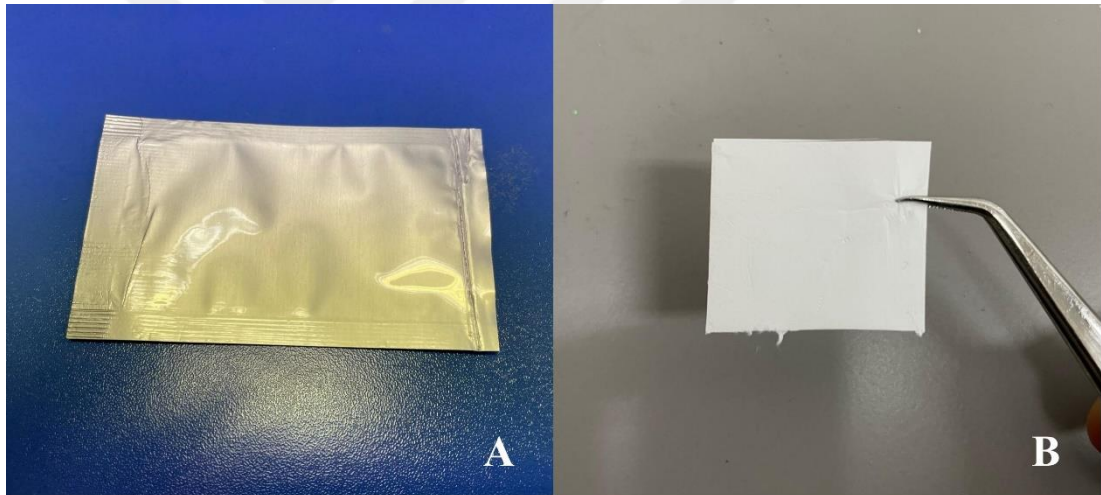
### ***In vitro* znme Hızı alışmaları**

FDA dissolüsyon veri tabanına göre, ağızda dağılan tablet (ADT) formunda olan AML tabletine yönelik çözünme çalışmaları, 500 mL 0,01 N HCl ortamında, 50 rpm pedal yöntemiyle (USP Apparatus II) 5, 10, 15 ve 20 dakikalık örnekleme süreleriyle gerçekleştirilmelidir. ROS znme profilini değerlendirmek için çeşitli çalışmalarda pH 6,8 ortamı ve 50 rpm'lik pedal yöntemi kullanılmıştır. ADF-1, ADF-2, AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1'in çözünme profilini değerlendirmek için çözünme çalışmalarında modifiye edilmiş bir yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla  çözünme ortamında (pH 1,2, pH 4,5 ve pH 6,8) tüm çözünme hızı çalışmaları (n=6), USP

aparratus II (paddle) yöntemi ( $50 \pm 2$  rpm) kullanılarak  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 'de gerçekleştirilmiştir. Numuneler (1,5 mL) önceden belirlenen zaman aralıklarında (1, 2, 3, 5, 10, 15 ve 30 dakika) alınmış ve sink koşulu korumak için taze ortamla tamamlama yapılmıştır. Paslanmaz çelik ile AML arasındaki etkileşim nedeniyle cam pedal kullanılmıştır. Tüm numunelerdeki AML ve ROS miktarları HPLC yöntemiyle analiz edilmiştir.

### Stabilite Çalışmaları (ADF)

Stabilite çalışmaları için her bir ADF numunesi (ADF-1 ve ADF-2) tek doz olarak alüminyum ambalajlar içerisinde hava almayacak şekilde ısı ile kapatarak ambalajlanmıştır (Şekil 3.4.). Stabilite çalışmaları oda sıcaklığı koşullarında 1, 3, 6 ve 12'inci aylarda numune analizi yapılacak şekilde planlanmıştır. ADF-1 ve ADF-2 formülasyonlarının stabilitelerinin değerlendirilmesi için film görünümü, içerik tekdüzeliği, dağılma süresi ve mukavemet deneyleri yapılmıştır.



**Şekil 3.4.** ADF formülasyonları stabilite ambalajı ve film örneği (A: Alüminyum ambalaj, B: ADF numunesi).

### 3.2.8. Hücre Kültürü Çalışmaları

AML ve ROS etkin maddelerinin ve geliştirildikleri formülasyonların (PAÇ-ADT, AMLCD, ROSCD, AMLEUD, ADF-1 ve ADF-2) permeabilitelerinin tayini için Caco-2 hücre hattı kullanılmıştır.

Laminar akış kabini içerisinde sıvılaştırılmış Caco-2 hücre hattı (pasaj sayısı: 22-25) besleme ortamında dağıtılmıştır. Elde edilen hücre süspansiyonu 1000 rpm'de santrifüjlenmiş ve süpernatant kısım uzaklaştırılmıştır. Hücreler taze kültür ortamında tekrar süspande edilmiştir. Kültür ortamı %10 fetal bovin serum (FBS)+50 ünite/mL penisilin ve 50 µg/mL streptomisin içeren *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM)'dur. Süspande hücre ortamı 25 cm<sup>2</sup> hücre kültürü flasklarına eklendikten sonra 3 gün boyunca 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> ve nem altında inkübe edilmiştir. Hücreler mikroskop altında gözlemlenerek flask tabanında tutunmuş hücre yoğunluğunun tayin edilmesi amaçlanmıştır. Tutunmuş hücre yoğunluğu yaklaşık %80 olduğu zamana dek 2 günde bir ortam uzaklaştırılmış ve taze ortam eklenmiştir. Hücre yoğunluğu istenen seviyeye ulaşınca ortam uzaklaştırılarak PBS (fosfat tamponlu salin) çözeltisi ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonrasında 500 mikrolitre %0,025 tripsin-EDTA ile muamele edilen hücreler 4 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Flask tabanından kalktığı mikroskop altında tespit edilen hücreler besleme ortamı ile süspande edilmiştir. Elde edilen süspansiyon iki eşit fraksiyona ayrılarak steril flasklara aktarılmıştır. Yeterli flask sayısına ulaşıncaya permeabilite deneyi için hücre ekimi sürecine geçilmiştir.

Tripan mavisi tekniği ile sayılan hücrelerin her bir kuyucukta 600.000 hücre olacak şekilde gereken süspansiyon hacmi hesaplanmış ve 12 kuyucuklu (0,4 µm) insertlere ekim yapılmıştır. Bazolateral tarafta 1 mL, apikalde ise 500 µL kültür ortamı eklenmiştir. Hücreler 3 gün boyunca inkübe edilmiş ve sonrasında iki günde bir ortam değiştirilmiştir. 21 gün sonunda büyüyen Caco-2 hücre hattının trans-epitel elektrik rezistans (TEER) değerleri Millicell-ERS epitel voltmetre cihazı ölçülmüş ve TEER değerinin 400 Ωxcm<sup>2</sup>'den büyük olduğu kuyucuklarda permeabilite deneyi gerçekleştirilmiştir.

25 mM D-glikoz ve 10 mM HEPES içeren Hanks dengeli tuz çözeltisi (*Hanks Balanced Salt Solution*, HBSS) permeabilite ortamı olarak kullanılmıştır. Kuyucuklardaki besleme ortamları permeabilite ortamı ile değiştirildikten sonra 30 dakika boyunca 37 °C'de %5 CO<sub>2</sub> ortamında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası permeabilite ortamı uzaklaştırılarak bazolateral kompartmana 1000 µL HBSS ortamı eklenmiştir. Apikal kompartmana ise etkin maddelerin ve aday formülasyonların (PAÇ, AMLCD, ROSCD, AMLEUD, ADF-1 ve ADF-2) HBSS'deki süspansiyonu (500 µL) eklenmiştir. Permeabilite deneyi 37 °C'de 50-60 rpm çalkalama koşullarında

2 saat inkübasyon ile yapılmıştır. İnkübasyon sonrası apikal ve bazolateral kompartmanlardan örnekler alınarak HPLC yöntemi ile analiz edilmiştir.

Elde edilen veriler ile görünür permeabilite katsayısı ( $P_{app}$ ) Eşitlik 3.19 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$P_{app} = \frac{V_{bazolateral} \times C_{bazolateral}}{A \times C_0 \times T} \quad (3.19)$$

$P_{app}$ : Görünür permeabilite (cm/sn)

$V_{bazolateral}$ : Bazolateral kompartman hacmi (cm<sup>3</sup>)

$C_{bazolateral}$ : Bazolateral kompartman konsantrasyonu (µg/mL)

A: İnsert yüzey alanı (cm<sup>2</sup>)

$C_0$ : Apikal kompartmandaki başlangıç madde konsantrasyonu (µg/mL)

T: İnkübasyon süresi (sn)

### 3.2.9. İstatiksel Analiz

Tüm sonuçlar ortalama±standart sapma (SS) olarak sunulmuştur. Örneklem büyüklüğü 30'un altında olan gruplar arasındaki farkı belirlemek için Student's t-testi seçilmiştir (173). İstatistiksel değerlendirmeler Microsoft Excel yazılımıyla yapılmıştır ve 0,05'ten küçük bir p değeri anlamlı kabul edilmiştir.

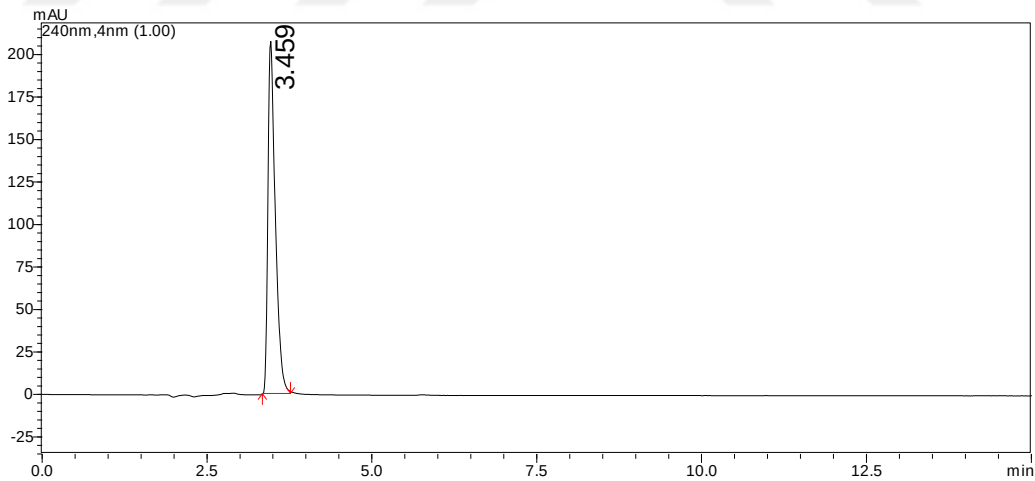
## 4. BULGULAR

### 4.1. Analitik Yöntem Geliştirilmesi ve Validasyonu

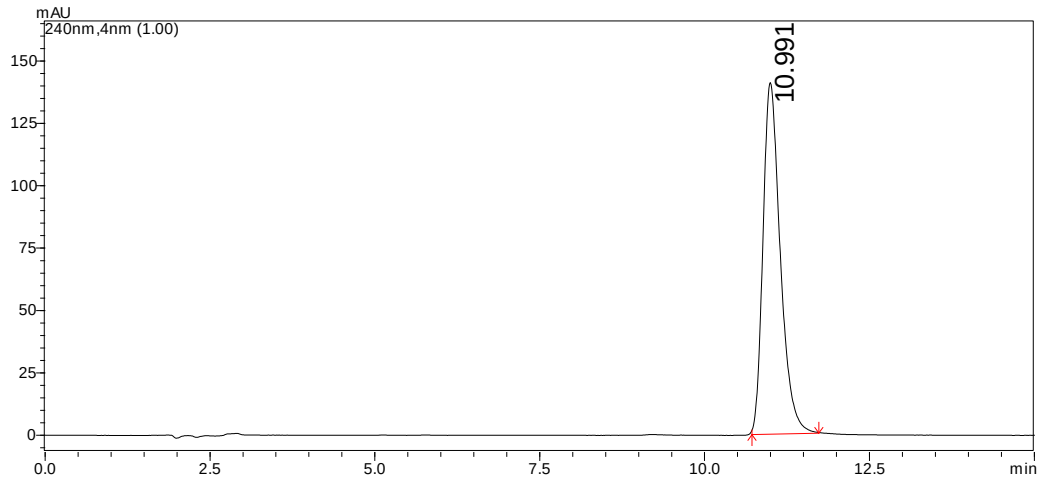
#### 4.1.1. Analitik Yöntem Geliştirilmesi

Tez çalışmaları sırasında elde edilen tüm analiz numunelerinin miktar tayini için literatürde yer alan ters faz HPLC metodu (1,5 ml/dk akış hızı, pH 2.5 tamponu:asetonitril 55:45 h/h, 240 nm analiz dalga boyu, AML için 2.7 dk retansiyon süresi, ROS için 6,08 dk retansiyon süresi, Luna 5l C18 kolon (250 mmx4.60 mm), 10 µL enjeksiyon hacmi) referans alınarak denemeler yapılmıştır (150).

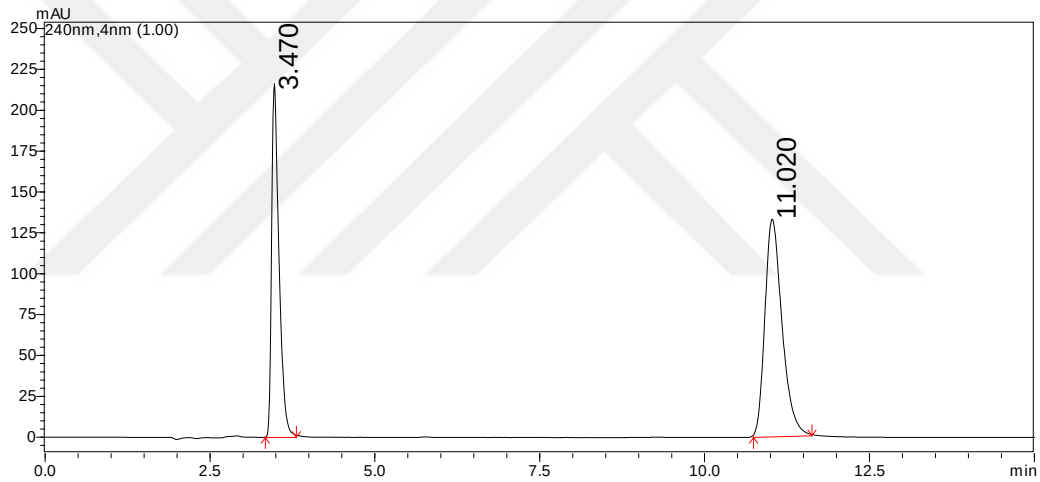
İlk denemelerde AML ve ROS için distile su ile hazırlanan 50 µg/mL stok çözeltilerinin enjeksiyonları yapılmıştır. Kolon-1 (Inertsil® ODS-3 (5µm; 4.6x250mm) ile yapılan ilk denemelerde pH 2,5 tamponu: asetonitril 55:45 (h/h) oranında mobil faz olarak kullanılmış ve izokratik yöntemle 1 mL/dakika akış hızında çalışılmıştır. Kolon-1 ile yapılan bu denemelerde elde edilen AML ve ROS etkin maddelerinin tek tek enjeksiyonu ve birlikte enjeksiyonu ile elde edilen HPLC kromatogramları Şekil 4.1. - 4.3.'de verilmiştir.



**Şekil 4.1.** AML'nin tek başına enjeksiyonu ile elde edilen HPLC kromatogramı. Retansiyon süresi 3,459 dk olarak tespit edilmiştir. (HPLC şartları; Kolon-1, pH 2,5 tamponu: asetonitril 55:45 (h/h), 1 mL/dk akış hızı).



**Şekil 4.2.** ROS'un tek başına enjeksiyonu ile elde edilen HPLC kromatogramı. Retansiyon süresi 10,99 dk olarak tespit edilmiştir. (HPLC şartları; Kolon-1, pH 2,5 tamponu: asetonitril 55:45 (h/h), 1 mL/dk akış hızı).



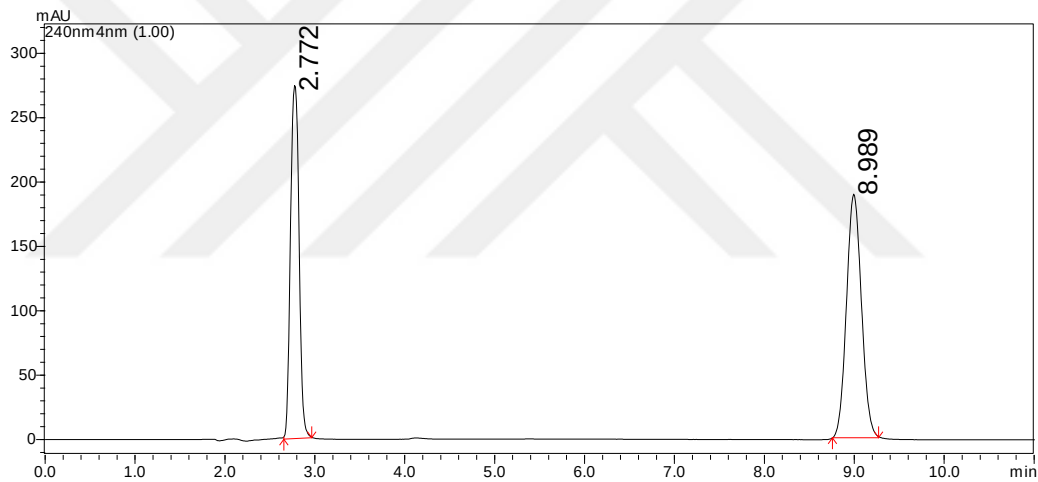
**Şekil 4.3.** AML ve ROS'un birlikte enjeksiyonu ile elde edilen HPLC kromatogramı. Pikler sırasıyla AML ve ROS pikleri olup retansiyon süreleri sırasıyla 3,47 dk ile 11,020 dk olarak tespit edilmiştir. (HPLC şartları; Kolon-1, pH 2,5 tamponu: asetonitril 55:45 (h/h), 1 mL/dk akış hızı).

İlk denemeler sonucunda iki etkin maddenin eş zamanlı analizinin mümkün olduğu gösterilmiştir. Söz konusu analiz yönteminin optimizasyonu çalışmaları sonucunda elde edilen veriler Tablo 4.1.'de özetlenmiştir.

**Tablo 4.1.** HPLC metodu optimizasyon çalışmaları ve sonuçları.

| Kolon                     | Metot<br>(Akış hızı 1 mL/dk)                                    | AML<br>Retansiyon<br>Zamanı<br>(dk) | ROS<br>Retansiyon<br>Zamanı<br>(dk) | Açıklama                                                                                          |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kolon-1 (Inertsil® ODS-3) | İzokratik metot, pH 2.5<br>Tampon: Asetonitril 50:50<br>h/h     | 2,80                                | 7,51                                | Retansiyon süreleri nedeni ile Kolon-2 için tercih edilen ilk deneme metodudur                    |
|                           | İzokratik metot, pH 2,5<br>Tampon: Asetonitril 60:40<br>h/h     | 4,96                                | 17,41                               | Retansiyon süreleri uzundur                                                                       |
|                           | İzokratik metot, pH 2,5<br>Tampon: Asetonitril 55:45<br>h/h     | 3,47                                | 11,02                               | Retansiyon süreleri uzundur                                                                       |
|                           | İzokratik metot, pH 3,5<br>Tampon: Asetonitril 55:45<br>h/h     | 3,71                                | 11,01                               | Retansiyon süreleri uzundur ve ROS piki kuyruklanmıştır                                           |
|                           | Gradient metot, pH 2,5<br>tampon 55'ten 40'a 10 dk              | 3,82                                | 8,53                                | Gradient metotlar şartlama süreleri ile toplam analiz süresini uzatacağı için tercih edilmemiştir |
|                           | Gradient metot, pH 2,5<br>tampon 55'ten 40'a 12 dk              | 3,77                                | 8,77                                |                                                                                                   |
|                           | Gradient metot, pH 3,5<br>tampon 55'ten 40'a 12 dk              | 3,89                                | 8,79                                |                                                                                                   |
|                           | Gradient metot, pH 2,5<br>tampon 60'tan 40'a 10 dk              | 4,70                                | 9,83                                |                                                                                                   |
|                           | Gradient metot, pH 2,5<br>tampon 60'tan 40'a 12 dk              | 4,74                                | 10,35                               |                                                                                                   |
| Kolon-2 (Inertsil® ODS-3) | İzokratik metot, pH 2,5<br>Tampon: Asetonitril 50:50<br>h/h     | 2,60                                | 7,48                                | AML piki yarılmıştır                                                                              |
|                           | İzokratik metot, pH 2,5<br>Tampon: Asetonitril<br>52,5:47,5 h/h | 2,77                                | 8,99                                | <b>Optimum metot olarak seçilmiştir</b>                                                           |
|                           | İzokratik metot, pH 2,5<br>Tampon: Asetonitril 55:45<br>h/h     | 3,06                                | 10,88                               | Analiz süresi uzundur ve pikler arası mesafe fazladır                                             |

Yapılan denemelerde tampon çözeltisi yerine su kullanıldığında piklerin yarıldığı gözlemlenmiştir. Aynı şekilde asetonitril yerine metanol kullanılması halinde 15 dakika analiz süresince herhangi bir pik görülmemiştir. Tampon pH değerinin 6,8 olarak denenmesi ile aynı şekilde pikler yarılmış ve keskin pikler elde edilememiştir. Gradient metot denemelerinde, kolon şartlama gerekliliği nedeniyle toplam analiz süresi uzadığı için gradient metotlar tercih edilmemiştir. İzokratik yöntemde ROS retansiyon süresinin 9 dakika olması nedeniyle analiz süresi 11 dakika olarak belirlenmiştir. Optimizasyon çalışmalarından elde edilen bulgular sonucunda optimum metot; mobil faz pH 2,5 Tampon: Asetonitril (52,5:47,5 h/h), mobil faz akış hızı 1 mL/dk, analiz süresi 11 dk olarak kararlaştırılmıştır. Optimum HPLC koşullarında AML ve ROS'un enjeksiyonu ile elde edilen HPLC kromatogramları Şekil 4.4.'de verilmiştir.



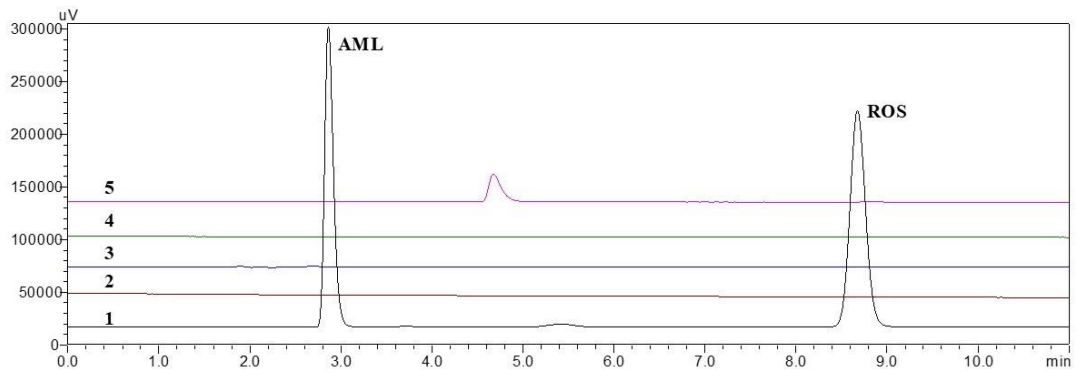
**Şekil 4.4.** Optimum analiz koşullarında mobil faz ile elde edilen AML ve ROS'un HPLC kromatogramları (AML retansiyon süresi 2,772 dk, ROS retansiyon süresi 8,989 dk).

#### 4.1.2. Analitik Yöntem Validasyonu

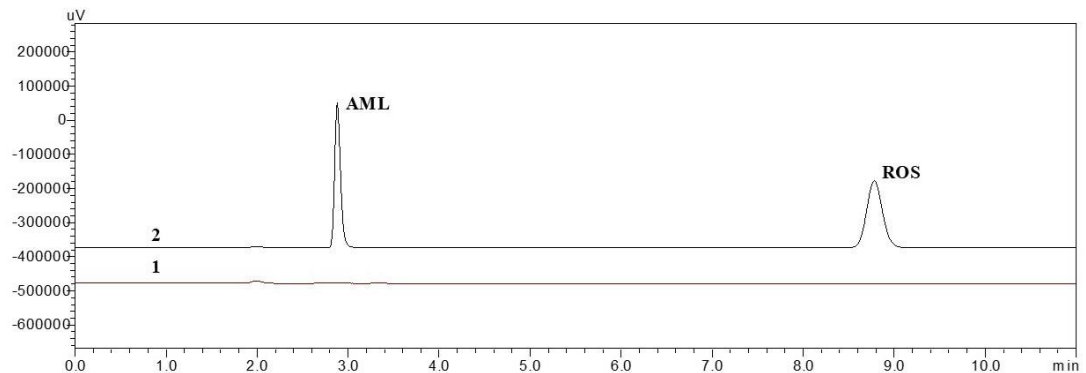
Tez çalışması sırasında elde edilen tüm analiz numunelerinin miktar tayini için geliştirilen HPLC yöntemi ICH Q2 (R1) kılavuzunca valide edilmiştir. Validasyon çalışmaları kapsamında özgüllük (seçicilik), doğrusallık, doğruluk, kesinlik, saptanabilirlik sınırı (LOD), tayin edilebilirlik sınırı (LOQ) ve stabilite parametreleri tayin edilmiştir. Tüm validasyon çalışmaları; mobil faz (pH 2,5 Tampon: Asetonitril 52,5:47,5 h/h) ve transport ortamı (25 mM D-glikoz+10 mM HEPES tamponu+HBSS tamponu) için ayrı olarak çalışılmış ve sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

- *Özgüllük (Specificity)*

Analitik yöntemin seçiciliğini tespit etmek için mobil faz ve *in vitro* hücre kültürü permeabilite ortamı ve tüm formülasyon bileşenlerinin HPLC kolonuna enjeksiyonları yapılmıştır. ADT formülasyonlarında yöntemin seçiciliğini değerlendirmek için plasebo PAÇ ADT, ADF formülasyonları için plasebo ADF-1 çözeltilerinin enjeksiyonu yapılmıştır. AML:EUD katı dispersiyonunun seçiciliği için Eudragit E100 çözeltisi, AML:CD ve ROS:CD inklüzyon komplekslerinin seçiciliği için 2HP $\beta$ CD çözeltisinin enjeksiyonu yapılmıştır. Elde edilen tüm kromatogramlarda 240 nm dalga boyunda etkin madde pikleri ile girişim olup olmadığı incelenmiştir. Yapılan tüm analizlerde AML ve ROS etkin maddeleri ile herhangi bir girişim olmadığı ve yöntemin seçici olduğu gösterilmiştir (Şekil 4.5. ve 4.6.).



**Şekil 4.5.** Mobil faz ortamında elde edilen özgüllük kromatogramları (1; Mobil faz içerisinde AML+ROS enjeksiyonu, 2; Mobil faz, 3; 2HP $\beta$ CD, 4; Eudragit E100 ve 5; Plasebo PAÇ).



**Şekil 4.6.** Transport ortamında elde edilen özgüllük kromatogramları (1; Transport ortamı, 2; Transport ortamı içerisinde AML+ROS enjeksiyonu).

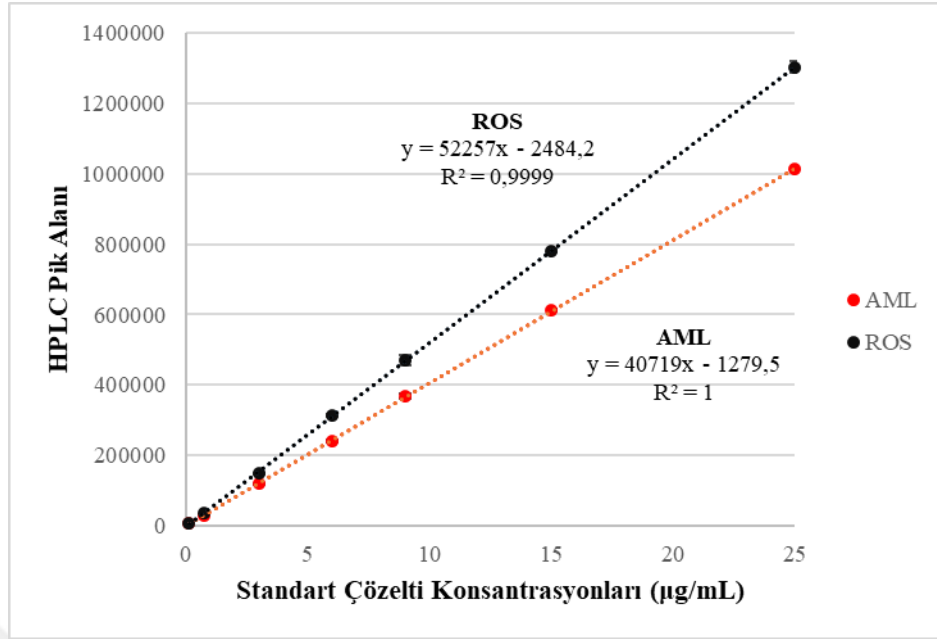
- *Doğrusallık (Linearity)*

Çalışmalardan elde edilen numunelerin analizi için kullanılan yöntemin doğrusallığı mobil faz ortamı ve transport ortamı için determinasyon katsayısının 1'e yakınlığı değerlendirilerek gösterilmiştir. AML ve ROS için elde edilen determinasyon katsayıları mobil faz ve transport ortamı için analitik yöntemin doğrusal olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.7. ve 4.8. ; Tablo 4.2.).

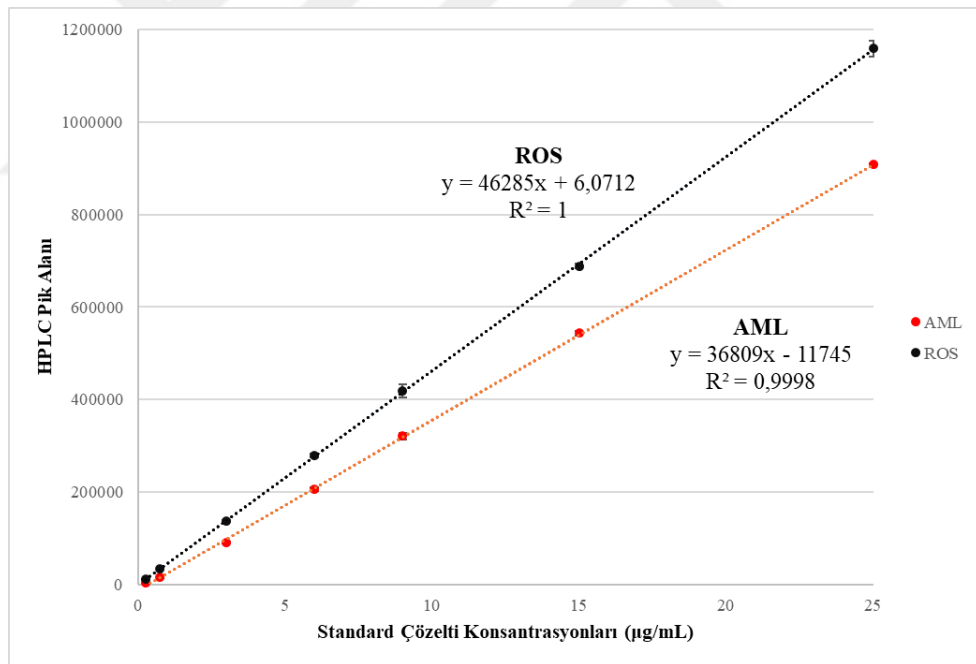
**Tablo 4.2.** Mobil faz ve transport ortamı ile elde edilen doğrusallık bulgularının AML ve ROS etkin maddeleri için sonuçları (n=6).

| Parametre                                        | Mobil Faz         |                   | Transport Ortamı |                   |
|--------------------------------------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|
|                                                  | AML               | ROS               | AML              | ROS               |
| <b>Doğru Denklemleri</b>                         | $y=40719x-1279,5$ | $y=52257x-2484,2$ | $y=36809x-11745$ | $y=46285x+6,0712$ |
| <b>Determinasyon Katsayısı (R<sup>2</sup>)</b>   | 1                 | 0,9999            | 0,9998           | 1                 |
| <b>Doğrusallık Konsantrasyon Aralığı (µg/mL)</b> | 0,125-25          | 0,125-25          | 0,25-25          | 0,25-25           |
| <b>Nokta Sayısı</b>                              | 7                 | 7                 | 7                | 7                 |
| <b>Saptanabilirlik Sınırı (LOD; µg/mL)</b>       | 0,042             | 0,042             | <0,125           | <0,125            |
| <b>Tayin Edilebilirlik Sınırı (LOQ; µg/mL)</b>   | 0,125             | 0,125             | <0,25            | <0,25             |

(x: etkin maddenin konsantrasyonu (µg/mL), y: HPLC pik alanı)



Şekil 4.7. AML ve ROS etkin maddeleri için mobil faz ortamında elde edilen regresyon doğruları (Ort±SS, n=6).



Şekil 4.8. AML ve ROS etkin maddeleri için transport ortamında elde edilen regresyon doğruları (Ort±SS, n=6).

- Doğruluk (Accuracy)

AML ve ROS etkin maddelerinin tayini için geliştirilen analitik yöntemin doğruluğunu göstermek için düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlarda (0,75 µg/mL,

6 µg/mL ve 25 µg/mL) analizleri 6 tekrarlı olarak yapılmış ve elde edilen sonuçların gerçek değere yakınlığı %BSS parametresi ile tüm analizler için %2'den küçük çıkmıştır (Tablo 4.3. - 4.6.).

**Tablo 4.3.** AML etkin maddesi için mobil faz ortamında elde edilen doğruluk bulguları.

| Teorik Konsantrasyon (µg/mL) | Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL) | Ortalama Konsantrasyon | Standart Sapma | Geri Kazanım (%) | BSS (%)     |
|------------------------------|------------------------------------|------------------------|----------------|------------------|-------------|
| 0,75                         | 0,762                              | <b>0,758</b>           | <b>0,005</b>   | 101,6            | <b>0,65</b> |
| 0,75                         | 0,762                              |                        |                | 101,7            |             |
| 0,75                         | 0,763                              |                        |                | 101,7            |             |
| 0,75                         | 0,752                              |                        |                | 100,2            |             |
| 0,75                         | 0,756                              |                        |                | 100,7            |             |
| 0,75                         | 0,754                              |                        |                | 100,5            |             |
| 6,00                         | 5,950                              | <b>6,020</b>           | <b>0,046</b>   | 99,2             | <b>0,77</b> |
| 6,00                         | 6,012                              |                        |                | 100,2            |             |
| 6,00                         | 6,071                              |                        |                | 101,2            |             |
| 6,00                         | 5,997                              |                        |                | 100              |             |
| 6,00                         | 6,021                              |                        |                | 100,4            |             |
| 6,00                         | 6,071                              |                        |                | 101,2            |             |
| 25,00                        | 25,029                             | <b>24,978</b>          | <b>0,079</b>   | 100,1            | <b>0,32</b> |
| 25,00                        | 24,931                             |                        |                | 99,7             |             |
| 25,00                        | 25,025                             |                        |                | 100,1            |             |
| 25,00                        | 24,858                             |                        |                | 99,4             |             |
| 25,00                        | 24,952                             |                        |                | 99,8             |             |
| 25,00                        | 25,073                             |                        |                | 100,3            |             |

**Tablo 4.4.** ROS etkin maddesi için mobil faz ortamında elde edilen doğruluk bulguları.

| <b>Teorik<br/>Konsantrasyon<br/>(µg/mL)</b> | <b>Tayin Edilen<br/>Konsantrasyon<br/>(µg/mL)</b> | <b>Ortalama<br/>Konsantrasyon</b> | <b>Standart<br/>Sapma</b> | <b>Geri<br/>Kazanım<br/>(%)</b> | <b>BSS<br/>(%)</b> |
|---------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------------|--------------------|
| 0,75                                        | 0,757                                             | <b>0,751</b>                      | <b>0,010</b>              | 100,9                           | <b>1,30</b>        |
| 0,75                                        | 0,751                                             |                                   |                           | 100,1                           |                    |
| 0,75                                        | 0,745                                             |                                   |                           | 99,3                            |                    |
| 0,75                                        | 0,736                                             |                                   |                           | 98,1                            |                    |
| 0,75                                        | 0,762                                             |                                   |                           | 101,6                           |                    |
| 0,75                                        | 0,759                                             |                                   |                           | 101,1                           |                    |
| 6,00                                        | 6,080                                             | <b>5,994</b>                      | <b>0,056</b>              | 101,3                           | <b>0,94</b>        |
| 6,00                                        | 6,002                                             |                                   |                           | 100,0                           |                    |
| 6,00                                        | 5,933                                             |                                   |                           | 98,9                            |                    |
| 6,00                                        | 6,026                                             |                                   |                           | 100,4                           |                    |
| 6,00                                        | 5,989                                             |                                   |                           | 99,8                            |                    |
| 6,00                                        | 5,933                                             |                                   |                           | 98,9                            |                    |
| 25,00                                       | 24,598                                            | <b>24,850</b>                     | <b>0,291</b>              | 98,4                            | <b>1,17</b>        |
| 25,00                                       | 24,630                                            |                                   |                           | 98,5                            |                    |
| 25,00                                       | 24,546                                            |                                   |                           | 98,2                            |                    |
| 25,00                                       | 25,189                                            |                                   |                           | 100,8                           |                    |
| 25,00                                       | 25,005                                            |                                   |                           | 100,0                           |                    |
| 25,00                                       | 25,134                                            |                                   |                           | 100,5                           |                    |

**Tablo 4.5.** AML etkin maddesi için transport ortamında elde edilen doğruluk bulguları.

| <b>Teorik<br/>Konsantrasyon<br/>(µg/mL)</b> | <b>Tayin Edilen<br/>Konsantrasyon<br/>(µg/mL)</b> | <b>Ortalama<br/>Konsantrasyon</b> | <b>Standart<br/>Sapma</b> | <b>Geri<br/>Kazanım<br/>(%)</b> | <b>BSS<br/>(%)</b> |
|---------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------------|--------------------|
| 0,75                                        | 0,735                                             | <b>0,753</b>                      | <b>0,011</b>              | 98,0                            | <b>1,40</b>        |
| 0,75                                        | 0,747                                             |                                   |                           | 99,6                            |                    |
| 0,75                                        | 0,760                                             |                                   |                           | 101,3                           |                    |
| 0,75                                        | 0,759                                             |                                   |                           | 101,1                           |                    |
| 0,75                                        | 0,754                                             |                                   |                           | 100,5                           |                    |
| 0,75                                        | 0,764                                             |                                   |                           | 101,9                           |                    |
| 6,00                                        | 5,916                                             | <b>5,994</b>                      | <b>0,050</b>              | 98,6                            | <b>0,84</b>        |
| 6,00                                        | 5,977                                             |                                   |                           | 99,6                            |                    |
| 6,00                                        | 5,966                                             |                                   |                           | 99,4                            |                    |
| 6,00                                        | 6,052                                             |                                   |                           | 100,9                           |                    |
| 6,00                                        | 6,031                                             |                                   |                           | 100,5                           |                    |
| 6,00                                        | 6,021                                             |                                   |                           | 100,4                           |                    |
| 25,00                                       | 25,323                                            | <b>25,068</b>                     | <b>0,332</b>              | 101,3                           | <b>1,33</b>        |
| 25,00                                       | 24,509                                            |                                   |                           | 98,0                            |                    |
| 25,00                                       | 25,337                                            |                                   |                           | 101,4                           |                    |
| 25,00                                       | 25,174                                            |                                   |                           | 100,7                           |                    |
| 25,00                                       | 25,242                                            |                                   |                           | 101,0                           |                    |
| 25,00                                       | 24,820                                            |                                   |                           | 99,3                            |                    |

**Tablo 4.6.** ROS etkin maddesi için transport ortamında elde edilen doğruluk bulguları.

| Teorik Konsantrasyon (µg/mL) | Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL) | Ortalama Konsantrasyon | Standart Sapma | Geri Kazanım (%) | BSS (%) |
|------------------------------|------------------------------------|------------------------|----------------|------------------|---------|
| 0,75                         | 0,763                              | 0,756                  | 0,006          | 101,8            | 0,77    |
| 0,75                         | 0,758                              |                        |                | 101,1            |         |
| 0,75                         | 0,750                              |                        |                | 100,1            |         |
| 0,75                         | 0,762                              |                        |                | 101,5            |         |
| 0,75                         | 0,751                              |                        |                | 100,2            |         |
| 0,75                         | 0,751                              |                        |                | 100,1            |         |
| 6,00                         | 6,005                              | 6,040                  | 0,028          | 100,1            | 0,46    |
| 6,00                         | 6,041                              |                        |                | 100,7            |         |
| 6,00                         | 6,013                              |                        |                | 100,2            |         |
| 6,00                         | 6,080                              |                        |                | 101,3            |         |
| 6,00                         | 6,058                              |                        |                | 101,0            |         |
| 6,00                         | 6,044                              |                        |                | 100,7            |         |
| 25,00                        | 25,011                             | 25,087                 | 0,078          | 100,0            | 0,31    |
| 25,00                        | 25,065                             |                        |                | 100,3            |         |
| 25,00                        | 25,079                             |                        |                | 100,3            |         |
| 25,00                        | 25,087                             |                        |                | 100,4            |         |
| 25,00                        | 25,046                             |                        |                | 100,2            |         |
| 25,00                        | 25,236                             |                        |                | 100,9            |         |

- *Kesinlik (Precision)*

AML ve ROS etkin maddelerin mobil faz ve transport ortamlarında analizlerinin gün içi ve günler arası analizlerinin kesinlik değerlendirilmeleri ile %BSS değerlerinin %2'den küçük çıkması nedeniyle sonuçlar kabul kriterlerine uygun bulunmuştur. Etkin maddelerin kesinlik bulguları aşağıdaki tablolarda sunulmuştur (Tablo 4.7.-4.10.).

**Tablo 4.7.** AML ve ROS etkin maddeleri için mobil faz ortamında gün içi kesinlik bulguları.

| Teorik Konsantrasyon (µg/mL) | AML                                |                  |             | ROS                                |                  |             |
|------------------------------|------------------------------------|------------------|-------------|------------------------------------|------------------|-------------|
|                              | Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL) | Geri Kazanım (%) | BSS (%)     | Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL) | Geri Kazanım (%) | BSS (%)     |
| 0,75                         | 0,752                              | 100,2            | <b>0,43</b> | 0,743                              | 99,1             | <b>0,52</b> |
| 0,75                         | 0,756                              | 100,7            |             | 0,753                              | 100,4            |             |
| 0,75                         | 0,748                              | 99,67            |             | 0,747                              | 99,6             |             |
| 6,00                         | 5,970                              | 99,49            | <b>0,68</b> | 6,057                              | 101,0            | <b>1,04</b> |
| 6,00                         | 5,987                              | 99,78            |             | 5,978                              | 99,6             |             |
| 6,00                         | 6,064                              | 101,06           |             | 5,905                              | 98,4             |             |
| 25,00                        | 25,025                             | 100,1            | <b>0,18</b> | 25,189                             | 100,8            | <b>0,51</b> |
| 25,00                        | 24,931                             | 99,73            |             | 25,005                             | 100,0            |             |
| 25,00                        | 25,029                             | 100,12           |             | 24,878                             | 99,5             |             |

**Tablo 4.8.** AML ve ROS etkin maddeleri için transport ortamında gün içi kesinlik bulguları.

| Teorik Konsantrasyon (µg/mL) | AML                                |                  |             | ROS                                |                  |             |
|------------------------------|------------------------------------|------------------|-------------|------------------------------------|------------------|-------------|
|                              | Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL) | Geri Kazanım (%) | BSS (%)     | Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL) | Geri Kazanım (%) | BSS (%)     |
| 0,75                         | 0,747                              | 100,0            | <b>1,16</b> | 0,763                              | 101,8            | <b>0,69</b> |
| 0,75                         | 0,762                              | 99,9             |             | 0,758                              | 101,1            |             |
| 0,75                         | 0,740                              | 101,6            |             | 0,750                              | 100,1            |             |
| 6,00                         | 5,916                              | 98,6             | <b>1,16</b> | 6,000                              | 100,1            | <b>0,67</b> |
| 6,00                         | 5,977                              | 99,6             |             | 6,040                              | 100,1            |             |
| 6,00                         | 5,944                              | 99,1             |             | 6,010                              | 100,2            |             |
| 25,00                        | 24,509                             | 98,0             | <b>1,26</b> | 25,010                             | 100,0            | <b>0,45</b> |
| 25,00                        | 25,471                             | 101,9            |             | 25,070                             | 100,3            |             |
| 25,00                        | 25,337                             | 101,4            |             | 25,080                             | 100,3            |             |

**Tablo 4.9.** AML ve ROS etkin maddeleri için mobil faz ortamında günler arası kesinlik bulguları.

| Gün | Teorik Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ ) | AML                       |                 |                      | ROS                       |                 |                      |
|-----|-------------------------------------------|---------------------------|-----------------|----------------------|---------------------------|-----------------|----------------------|
|     |                                           | Ortalama Geri Kazanım (%) | Gün İçi BSS (%) | Günler Arası BSS (%) | Ortalama Geri Kazanım (%) | Gün İçi BSS (%) | Günler Arası BSS (%) |
| 1   | 0,75                                      | 100,2                     | 0,43            | 0,81                 | 99,7                      | 0,52            | 0,57                 |
| 2   | 0,75                                      | 100,5                     | 0,20            |                      | 98,9                      | 0,44            |                      |
| 3   | 0,75                                      | 99,9                      | 1,27            |                      | 99,6                      | 0,39            |                      |
| 1   | 6,00                                      | 100,1                     | 0,68            | 0,63                 | 99,7                      | 1,04            | 0,98                 |
| 2   | 6,00                                      | 99,5                      | 0,12            |                      | 99,8                      | 1,22            |                      |
| 3   | 6,00                                      | 100,5                     | 0,51            |                      | 99,7                      | 0,54            |                      |
| 1   | 25,00                                     | 100,0                     | 0,18            | 0,27                 | 100,1                     | 0,51            | 0,69                 |
| 2   | 25,00                                     | 99,8                      | 0,35            |                      | 100,5                     | 0,14            |                      |
| 3   | 25,00                                     | 100,1                     | 0,20            |                      | 99,6                      | 0,87            |                      |

**Tablo 4.10.** AML ve ROS etkin maddeleri için transport ortamında günler arası kesinlik bulguları.

| Gün | Teorik Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ ) | AML                       |                 |                      | ROS                       |                |                      |
|-----|-------------------------------------------|---------------------------|-----------------|----------------------|---------------------------|----------------|----------------------|
|     |                                           | Ortalama Geri Kazanım (%) | Gün İçi BSS (%) | Günler Arası BSS (%) | Ortalama Geri Kazanım (%) | Gün İçi BSS(%) | Günler Arası BSS (%) |
| 1   | 0,75                                      | 100,0                     | 1,25            | 1,16                 | 101,0                     | 0,69           | 1,13                 |
| 2   | 0,75                                      | 99,9                      | 0,71            |                      | 99,2                      | 0,66           |                      |
| 3   | 0,75                                      | 101,6                     | 0,45            |                      | 99,6                      | 1,10           |                      |
| 1   | 6,00                                      | 99,1                      | 0,42            | 1,16                 | 100,3                     | 0,26           | 0,67                 |
| 2   | 6,00                                      | 98,9                      | 0,25            |                      | 100,2                     | 0,32           |                      |
| 3   | 6,00                                      | 101,3                     | 0,34            |                      | 99,7                      | 0,94           |                      |
| 1   | 25,00                                     | 100,4                     | 1,69            | 1,26                 | 100,2                     | 0,12           | 0,45                 |
| 2   | 25,00                                     | 101,4                     | 0,60            |                      | 100,5                     | 0,27           |                      |
| 3   | 25,00                                     | 100,0                     | 0,71            |                      | 100,2                     | 0,68           |                      |

- *Duyarlılık (Detection Limit and Quantitation Limit)*

Analitik yöntemin duyarlılığı Sinyal/Gürültü oranı ile değerlendirilmiştir. Sinyal/Gürültü oranları LCSolution programı yardımı ile hesaplanmıştır. Validasyon çalışmaları 0,125 µg/mL ile 25 µg/mL arasında yapılmıştır. En düşük konsantrasyondaki analizlerin Sinyal/Gürültü oranları ile LOD ve LOQ kestirimleri iki etkin madde için de eş zamanlı olarak yapılmıştır. Mobil faz ortamında yapılan çalışmalarda 0,125 µg/mL konsantrasyonda AML ve ROS için Sinyal/Gürültü oranları 10'dan büyüktür. Tez çalışması boyunca belirlenen bu konsantrasyon aralığının (0,125 µg/mL-25 µg/mL) dışına çıkılmadığı için her iki etkin madde için saptanabilirlik sınırı (LOD) mobil faz ortamında 0,042 µg/mL olarak, tayin edilebilirlik sınırı (LOQ) ise iki etkin madde için de 0,125 µg/mL olarak tayin edilmiştir (Tablo 4.2.). Transport ortamı ile yapılan analizlerde LOD değeri <0,125 µg/mL (S/G oranı AML için ≈6, ROS için ≈9 olarak hesaplanmıştır), LOQ değeri ise <0,25 µg/mL (S/G oranı AML için ≈17, ROS için ≈19 olarak belirlenmiştir). LOD ve LOQ değerlerinin S/G oranlarının 3 ve 10'dan büyük olmasına karşın; transport ortamı için doğrusallık aralığının alt sınırının 0,25 µg/mL olması nedeniyle LOQ değerinin 0,25 µg/mL olması, LOD değerinin de 0,125 µg/mL olarak tespit edilmesi uygun görülmüştür.

- *Stabilite (Stability)*

AML ve ROS etkin maddelerinin mobil faz ortamında ve transport ortamında analiz süresince stabil olduğunu göstermek için 12. saat ve 24. saatte yapılan tekrarlı HPLC analizleri; numunelerin 24 saat boyunca konsantrasyon değişim oranlarının %2'den küçük olduğu görülmüştür. Analizler sonucunda numunelerin oda sıcaklığında 24 saat boyunca stabil kaldığı gösterilmiştir (Tablo 4.11.-4.12.).

**Tablo 4.11.** AML ve ROS numunelerinin mobil faz ortamında stabilite bulguları.

| Konsantrasyon<br>(µg/mL) | Saat | AML<br>(µg/mL) | ROS<br>(µg/mL) |
|--------------------------|------|----------------|----------------|
| 0,75                     | 0    | 0,755          | 0,753          |
|                          | 12   | 0,750          | 0,747          |
|                          | 24   | 0,750          | 0,743          |
| 6                        | 0    | 5,980          | 6,020          |
|                          | 12   | 5,945          | 5,992          |
|                          | 24   | 5,917          | 5,979          |
| 25                       | 0    | 25,070         | 25,200         |
|                          | 12   | 24,900         | 25,054         |
|                          | 24   | 24,835         | 24,940         |

**Tablo 4.12.** AML ve ROS numunelerinin transport ortamında stabilite bulguları.

| Konsantrasyon<br>(µg/mL) | Saat | AML<br>(µg/mL) | ROS<br>(µg/mL) |
|--------------------------|------|----------------|----------------|
| 0,75                     | 0    | 0,752          | 0,752          |
|                          | 12   | 0,752          | 0,747          |
|                          | 24   | 0,746          | 0,743          |
| 6                        | 0    | 6,050          | 6,130          |
|                          | 12   | 6,035          | 6,196          |
|                          | 24   | 6,012          | 6,204          |
| 25                       | 0    | 25,170         | 25,110         |
|                          | 12   | 25,072         | 25,112         |
|                          | 24   | 24,978         | 25,170         |

- *Sistem Uygunluk Testleri (System Suitability Tests)*

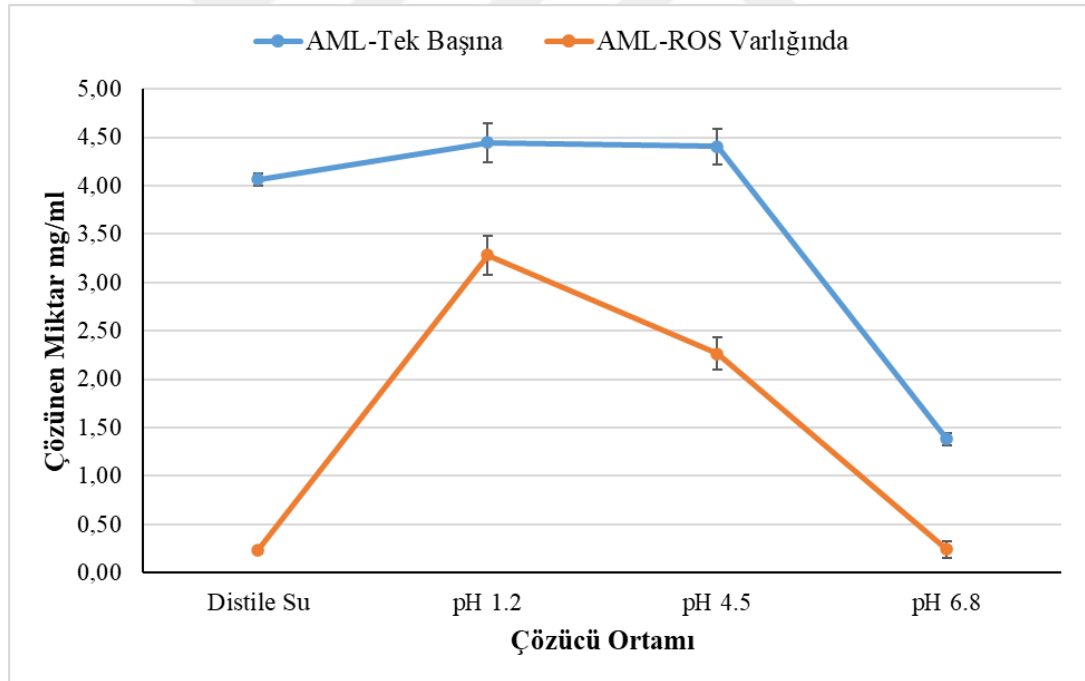
Analitik yöntem geliştirme çalışmalarında AML ve ROS etkin maddesinin eş zamanlı tayini için geliştirilen optimum yöntemin sistem uygunluk test sonuçları Tablo 4.13.'te verilmiştir.

**Tablo 4.13.** Analitik yöntem sistem uygunluk testi sonuçları.

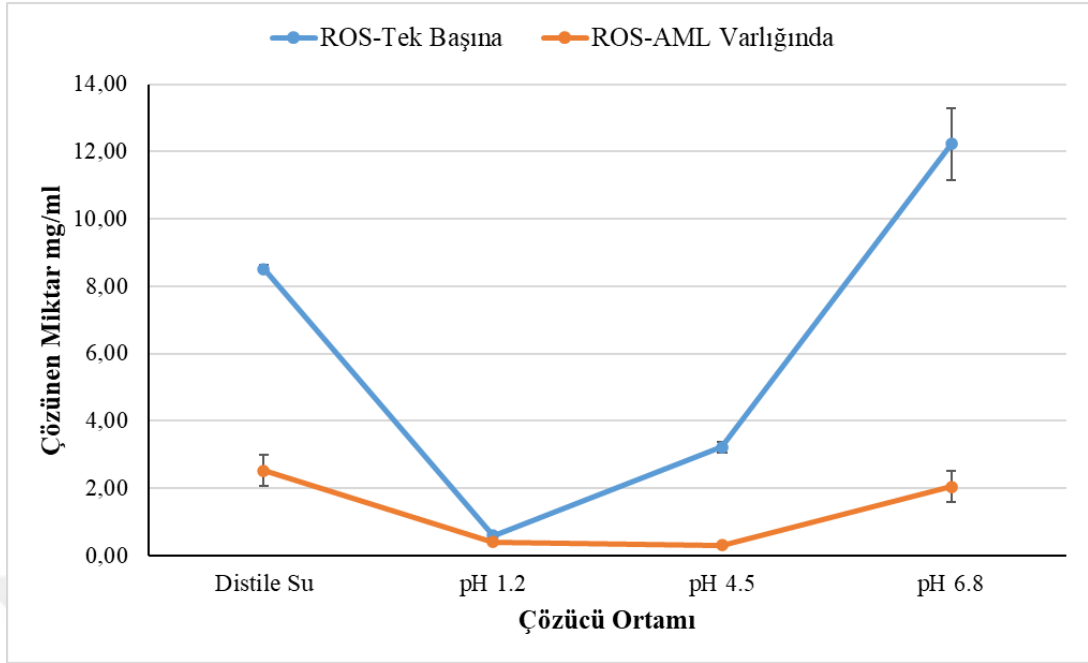
| Sistem Uygunluk Testi     | Kabul Kriteri | AML   | ROS   |
|---------------------------|---------------|-------|-------|
| Ayrıcılık ( $R_s$ )       | $>1,5$        | 4,65  | 4,48  |
| Kuyruklanma Faktörü (T)   | $<1,5$        | 1,174 | 1,103 |
| Teorik Tabaka Sayısı (N)  | $>2000$       | 3544  | 12478 |
| Kapasite Faktörü ( $k'$ ) | $1 < k' < 10$ | 0,15  | 2,75  |

#### 4.2. Etkin Maddelerin Doygunluk Çözünürlüğü Çalışmaları

Etkin maddelerin doyunluk çözünürlüklerini belirlemek amacıyla 4 farklı ortamda (distile su, pH 1,2; pH 4,5 ve pH 6,8) AML ve ROS etkin maddelerinin tek başına ve beraber doyunluk çözünürlüğü çalışmalarından elde edilen sonuçlar Şekil 4.9. ve 4.10.'da verilmiştir. Şekillerden de görüldüğü üzere iki etkin maddenin de doyunluk çözünürlüğü diğer etkin maddenin varlığında düşmüştür.



**Şekil 4.9.** AML etkin maddesinin farklı ortamlardaki doyunluk çözünürlüğü sonuçları (Ort±SS, n=3).



**Şekil 4.10.** ROS etkin maddesinin doygunluk çözünürlüğü sonuçları (Ort±SS, n=3).

- *Sink Koşul Gerekliliklerinin Değerlendirilmesi*

Tez çalışması süresince yapılacak çözünme hızı çalışmalarında etkin maddeler için sink koşulun sağlanması hedeflenmiştir. Bu amaçla sink koşulun korunması için gerekli minimum çözücü miktarı, etkin maddelerin tek başına ve beraber elde edilen doygunluk çözünürlüğü sonuçlarına göre hesaplanmıştır. Sink koşulu sağlamak için etkin maddenin çözücü ortamındaki doygun çözeltisi için gerekecek miktarın yaklaşık 3,3 katı kadar ortam olması hedeflenmektedir. Eşitlik 4.1 yarımıyla yapılan hesaplamalarla birim dozda yer alan etkin madde için gereken minimum çözücü miktarı bulunmuştur. Etkin maddelerin tüm koşullar altında gerekli maksimum çözücü miktarı 230,28 mL olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.14.). Çözünme hızı çalışmalarında kullanılan ortam hacminin 500 mL olması nedeniyle tüm deneylerde sink koşulun korunduğu tespit edilmiştir.

$$V_{min} = L / (C_s \times 0,30) \quad (4.1)$$

$V_{min}$ : Gerekli minimum çözücü miktarı (mL)

L: Etkin maddenin yitiliği (mg)

$C_s$ : Doygunluk Çözünürlüğü (mg/mL)

**Tablo 4.14.** Etkin maddelerin tek başına ve beraber doygunluk çözünürlükleri ve sink koşulu korumak için gerekli minimum çözücü miktarları.

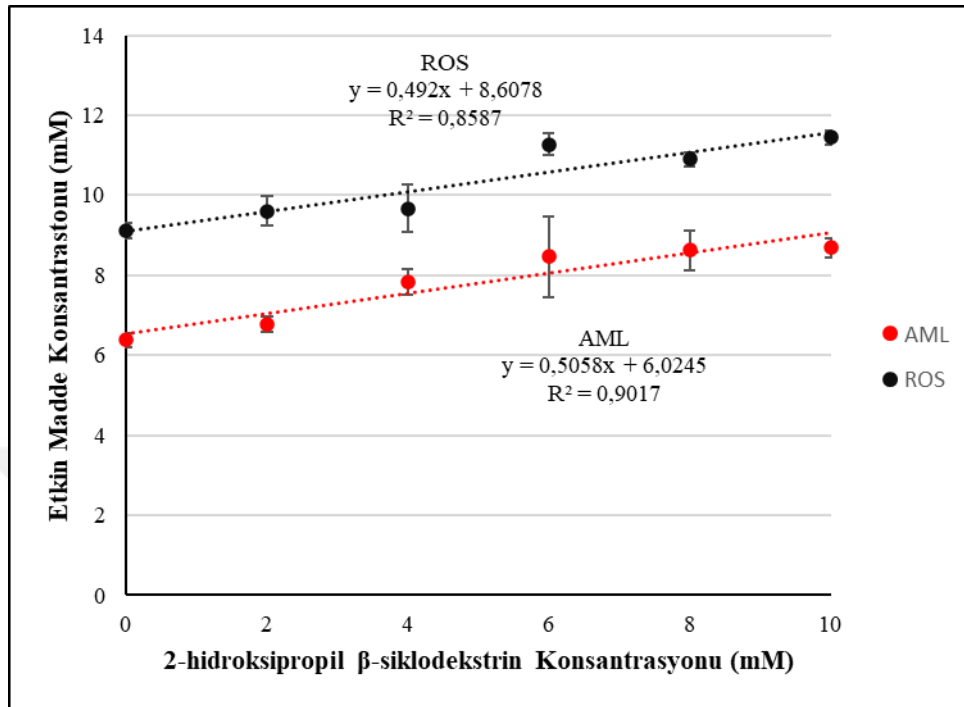
| <b>Çözücü Ortamı</b> | <b>AML<br/>(Tek Başına;<br/>mg/mL)</b> | <b>Minimum<br/>Çözücü Ortamı<br/>(mL)</b> | <b>AML<br/>(ROS Varlığında;<br/>mg/mL)</b> | <b>Minimum<br/>Çözücü<br/>Ortamı (mL)</b> |
|----------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------|
| <b>Distile Su</b>    | 4,07                                   | 11,36                                     | 0,24                                       | 196,07                                    |
| <b>pH 1.2</b>        | 4,44                                   | 10,39                                     | 3,28                                       | 14,08                                     |
| <b>pH 4.5</b>        | 4,40                                   | 10,49                                     | 2,27                                       | 20,38                                     |
| <b>pH 6.8</b>        | 1,38                                   | 33,47                                     | 0,24                                       | 190,48                                    |
| <b>Çözücü Ortamı</b> | <b>ROS<br/>(Tek Başına;<br/>mg/mL)</b> | <b>Minimum<br/>Çözücü Ortamı<br/>(mL)</b> | <b>ROS<br/>(AML Varlığında;<br/>mg/mL)</b> | <b>Minimum<br/>Çözücü<br/>Ortamı (mL)</b> |
| <b>Distile Su</b>    | 8,52                                   | 8,15                                      | 2,53                                       | 27,50                                     |
| <b>pH 1.2</b>        | 0,60                                   | 115,75                                    | 0,41                                       | 169,67                                    |
| <b>pH 4.5</b>        | 3,22                                   | 21,59                                     | 0,30                                       | 230,28                                    |
| <b>pH 6.8</b>        | 12,22                                  | 5,68                                      | 2,04                                       | 33,96                                     |

### 4.3. Siklodekstrin İnküzyon Kompleksleri

#### • Faz Çözünürlük Çalışmaları

Siklodekstrin kompleksleri stokiometrik olarak oluşmaktadır. Etkin madde:siklodekstrin molar oranına faz çözünürlük diyagramları ile karar verilmektedir. Bu diyagramlar iki grupta değerlendirilmektedir; A tipi ve B tipi. A tipi eğriler söz konusu komplekslerin çözünür özellik gösterdiğini ifade etmekte olup  $A_L$ ,  $A_P$  ve  $A_N$  tipi olarak sınıflanmaktadır. 2-HP $\beta$ CD genellikle A tipi grafikler elde edilmesine imkân tanımaktadır. Aşağıdaki grafikte de görüldüğü üzere iki etkin madde de  $A_L$  tipi diyagram göstermiş olup  $K_{1:1}$  sabite değerleri AML ve ROS için sırası ile 39,19  $M^{-1}$  ve 20,38  $M^{-1}$  olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.11.). Bu sonuçlar etkin maddelerin 2-HP $\beta$ CD ile zayıf etkileşimde olduğunu ortaya koymaktadır.  $A_L$  tipi diyagramlar ilaç:siklodekstrin oranının 1:1 şeklinde olabileceğini göstermektedir.

ROS etkin maddesinin büyük bir molekül olması nedeniyle 1:2 oranında komplekslerin de oluşturulması değerlendirilmiştir.

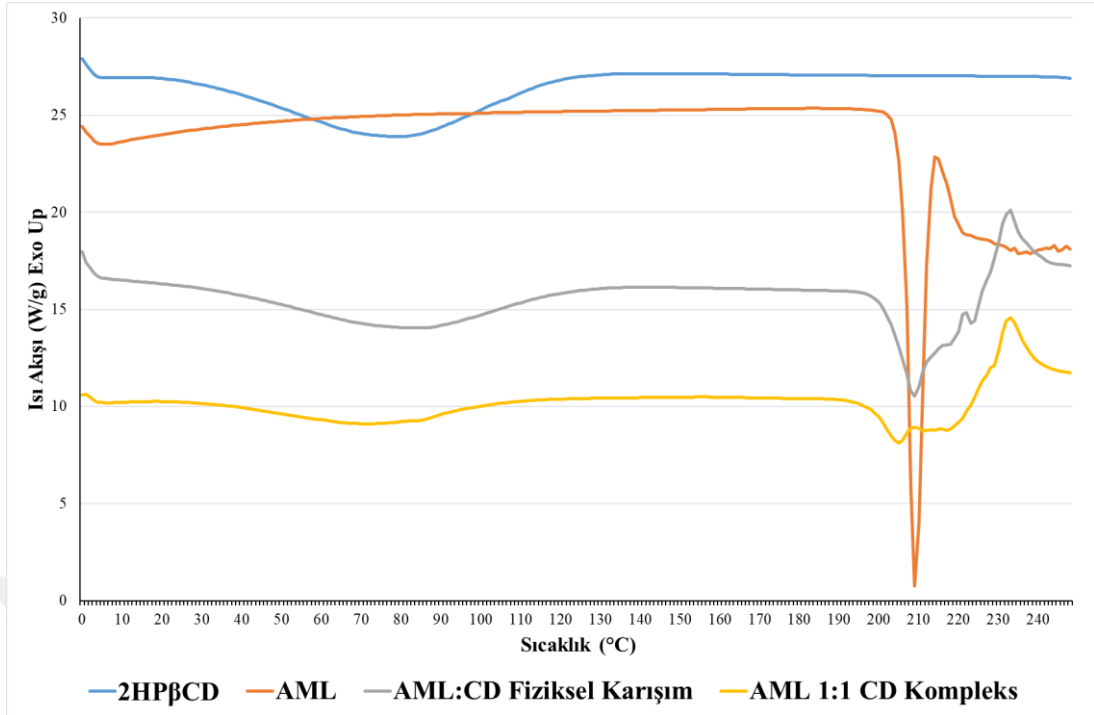


**Şekil 4.11.** AML ve ROS etkin maddeleri için inklüzyon kompleksleri faz çözünürlük grafikleri (Ort±SS, n=3).

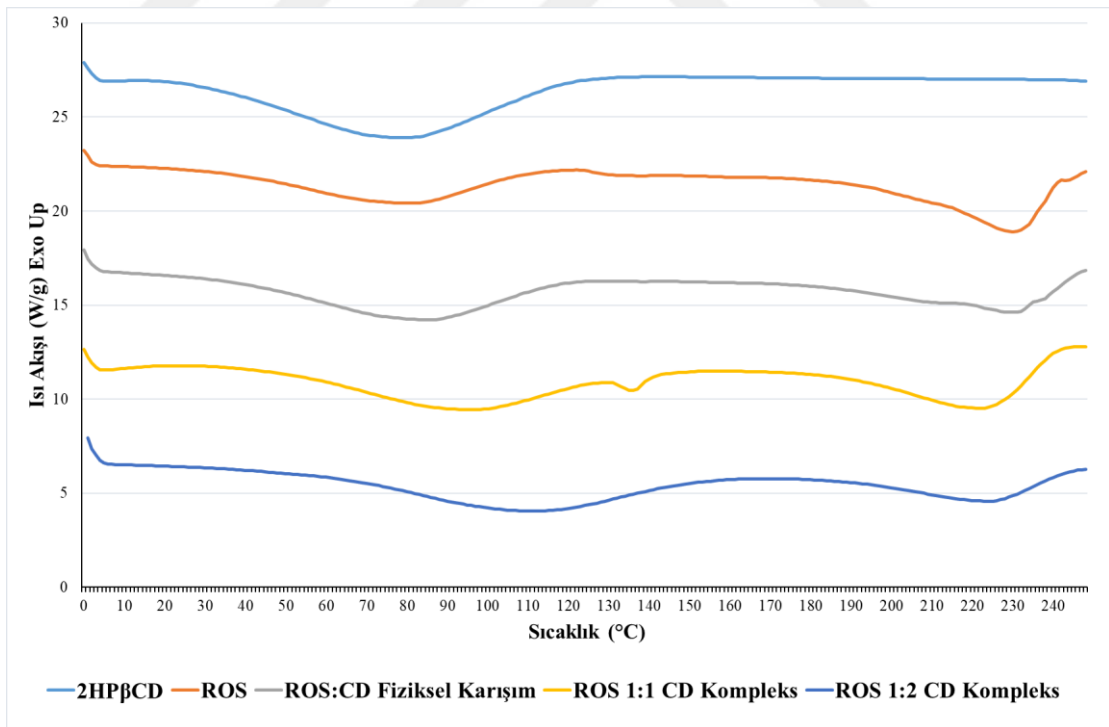
#### • İnküzyon Komplekslerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

##### *DSC Analizleri*

Misafir moleküller (etkin maddeler) siklodekstrin (CD) boşluklarına veya kristal kafeslere hapsedildiğinde, erime, kaynama ve süblimleşme noktaları farklı sıcaklıklara kaymaktadır veya kaybolmaktadır. Şekil 4.12. ve Şekil 4.13.'te etkin maddeler, siklodekstrin, fiziksel karışımlar ve komplekslere ait DSC termogramları verilmiştir.



**Şekil 4.12.** 2-HPβCD; AML; AML:CD Fiziksel karışım ve AML:CD 1:1 Kompleksi DSC termogramları.

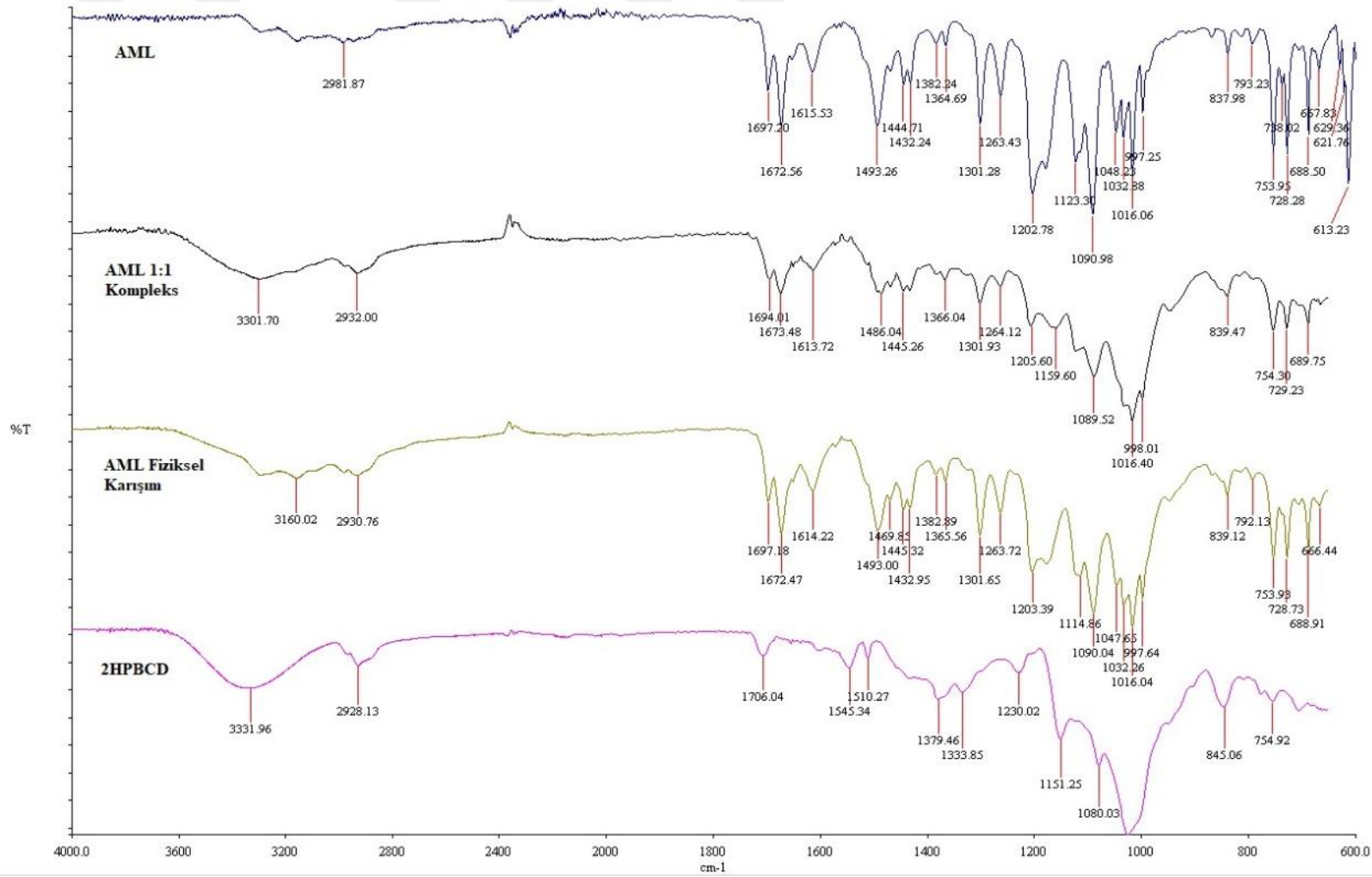


**Şekil 4.13.** 2-HPβCD; ROS; ROS:CD Fiziksel karışım; ROS:CD 1:1 Kompleksi ve ROS:CD 1:2 Kompleksi DSC termogramları.

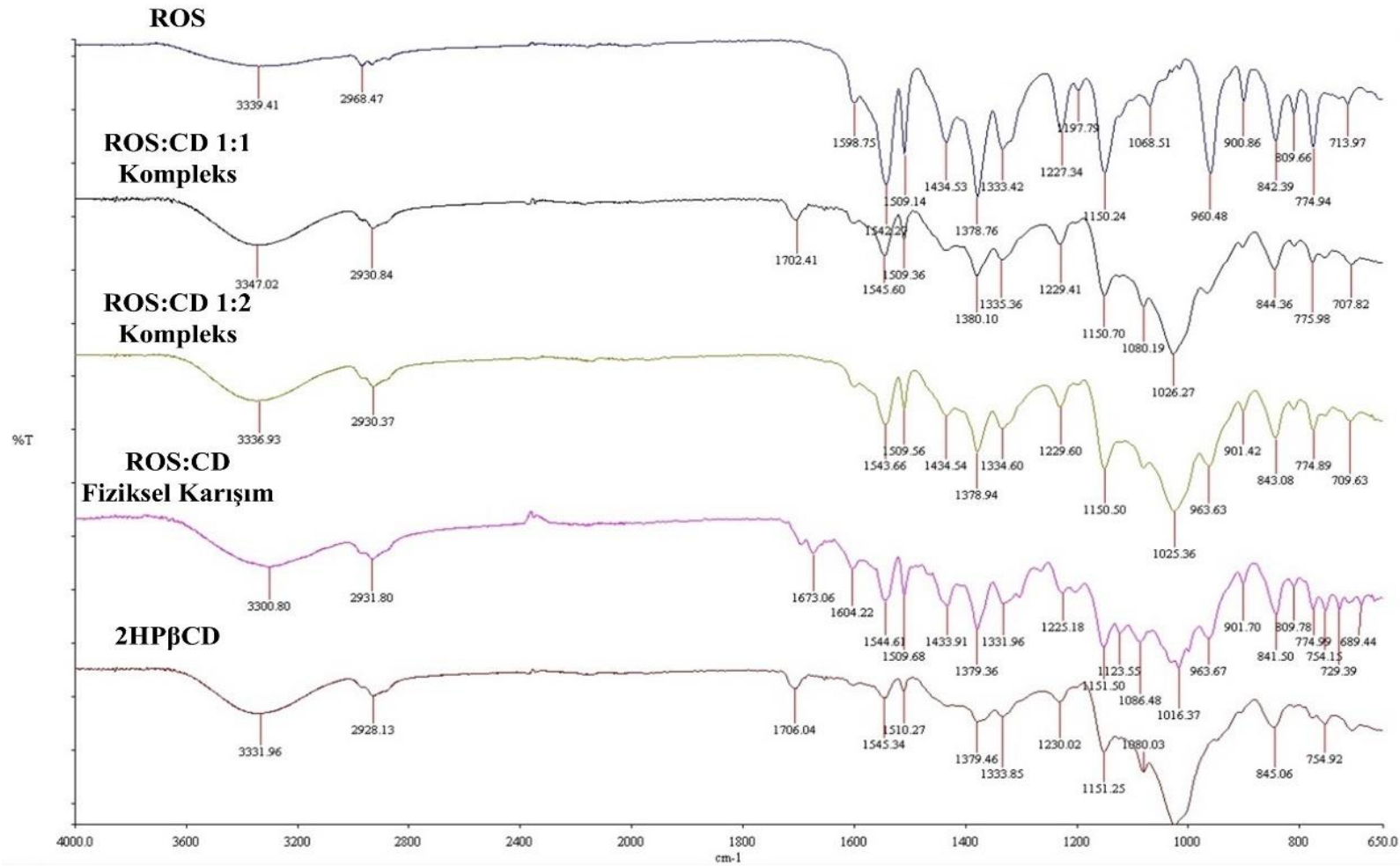
*FT-IR Analizleri*

Siklodekstrin komplekslerinin oluşturduğu zayıf bağlar nedeni ile etkin maddelerin bazı spesifik piklerinin kaybolması, genişlemesi veya yoğunluk ve dalga boylarındaki değişimlerin görülmesi ile komplekslerin oluşup oluşmadığı değerlendirilmektedir. şekil 4.14. ve şekil 4.15.'te etkin maddeler, siklodekstrin, fiziksel karışımlar ve komplekslere ait FT-IR spektrumları verilmiştir.





Şekil 4.14. 2-HPβCD; AML; AML:CD Fiziksel karışım ve AML:CD 1:1 Kompleksi FT-IR spektrumları.



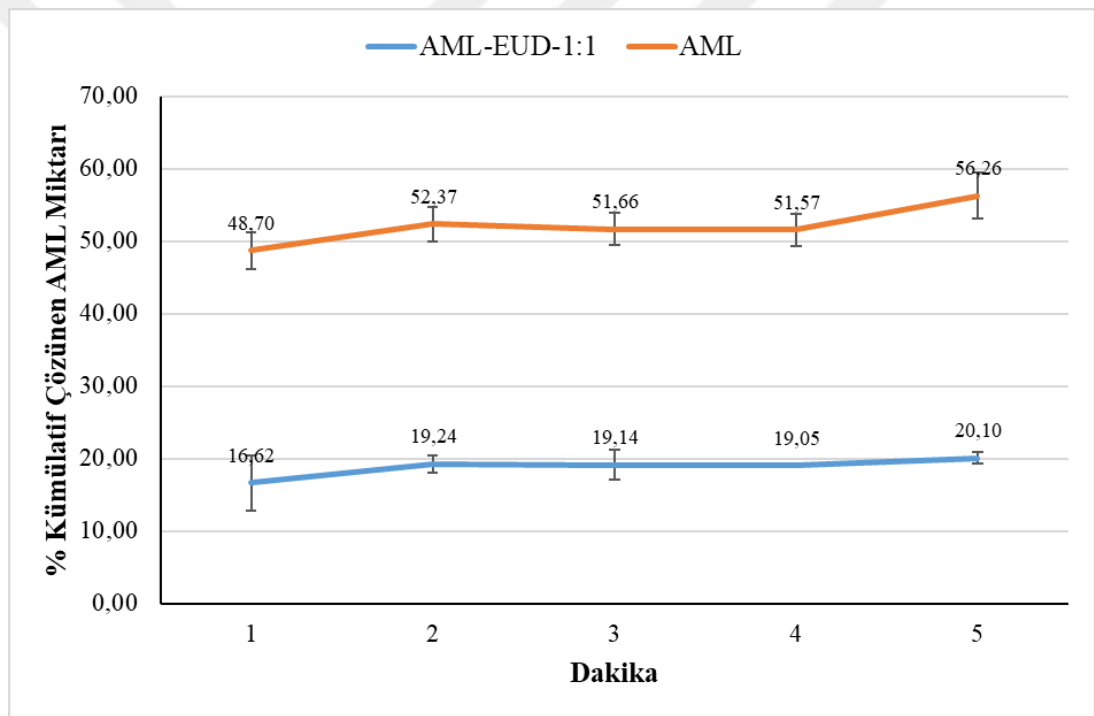
Şekil 4.15. 2-HPβCD; ROS; ROS:CD Fiziksel karışım; ROS:CD 1:1 Kompleksi ve ROS:CD 1:2 Kompleksi FT-IR spektrumları.

Elde edilen bulgular doğrultusunda AML:CD 1:1 molar oranda inklüzyon kompleksi ile ROS:CD 1:1 molar oranda inklüzyon komplekslerinin optimum ADT formülasyonlarında kullanılması uygun görülmüştür.

#### 4.4. Katı Dispersiyonların Hazırlanması ve Karakterizasyonu

- *Yapay Tükürük Ortamında İlaç Salım Çalışması*

Etkin madde AML ve hazırlanan katı dispersiyonlardan AML'nin yapay tükürük ortamındaki salım profilleri Şekil 4.16.'da verilmiştir. Elde edilen bulgular yapay tükürük ortamında etkin madde salım hızının başarıyla kısıtlandığını göstermiş olduğu için elde edilen toz katı dispersiyon ADT formülasyonunda kullanılmıştır.

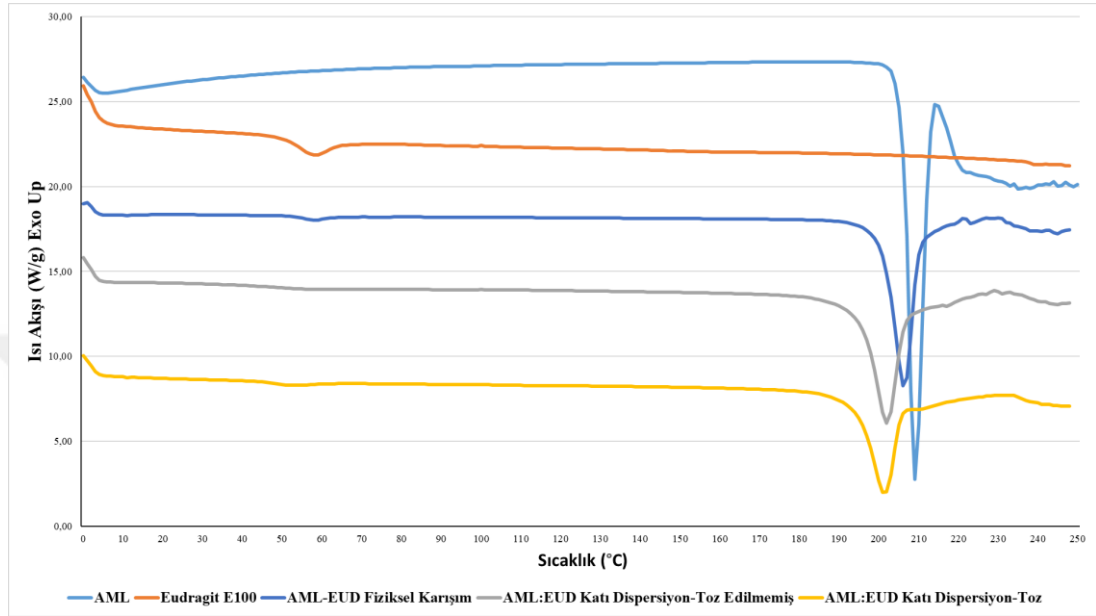


**Şekil 4.16.** AML etkin maddesi ve katı dispersiyonun yapay tükürük ortamında ilaç salımı (AML; Amlodipin besilat, AML-EUD-1:1; AML-Eudragit E100 1:1 katı dispersiyon, Ort±SS; n=3).

- *DSC Analizleri*

AML etkin maddesi için yaklaşık 210 °C'de görülen endotermik pik fiziksel karışımında 208 °C'de görülmekte olup toz edilmemiş AML:EUD katı dispersiyonunda ve toz edilmiş AML:EUD katı dispersiyonunda 204 °C'de endotermik pik göstermiştir.

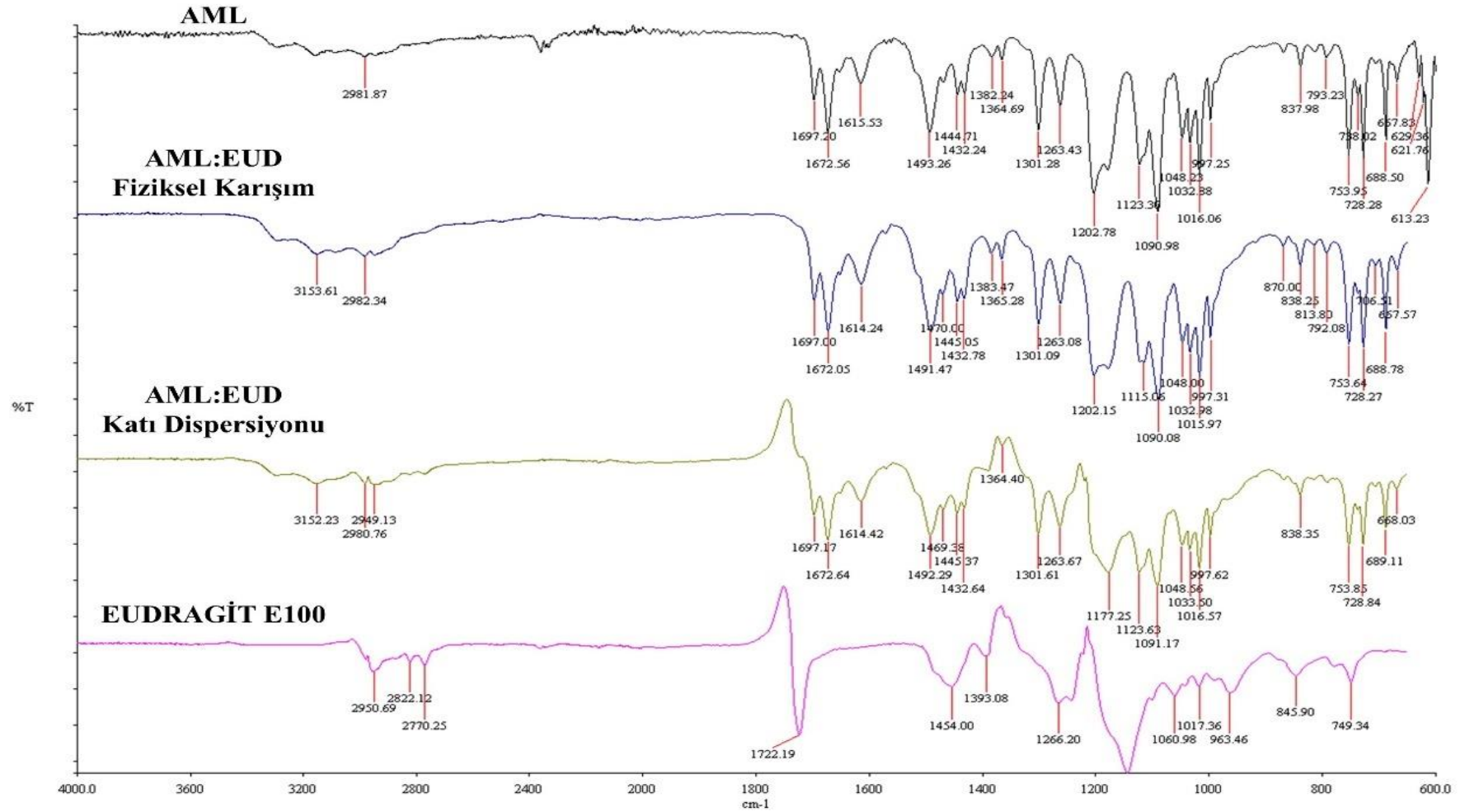
Yapının daha çok amorf özellik gösterdiğini işaret edecek şekilde katı dispersiyon piklerinin yayvanlaştığı görülmüştür. DSC analizleri sonucu AML etkin maddesinin Eudragit E100 ile katı dispersiyonunun başarıyla hazırlandığı değerlendirilmiştir (Şekil 4.17.).



Şekil 4.17. Katı dispersiyonda kullanılan maddelerin DSC profilleri.

- *FT-IR Analizleri*

Katı dispersiyon çalışmasında kullanılmış olan polimer (Eudragit E100), etkin madde (AML), polimer ve etkin madde fiziksel karışımı (AML:EUD fiziksel karışım) ve katı dispersiyonun (AML:EUD katı dispersiyonu) FT-IR spektrumları Şekil 4.18.'de verilmiştir.



Şekil 4.18. Katı dispersiyon çalışması FT-IR spektrumları.

#### 4.5. SeDeM-ODT Uzman Sistemi ile Tozların Değerlendirilmesi

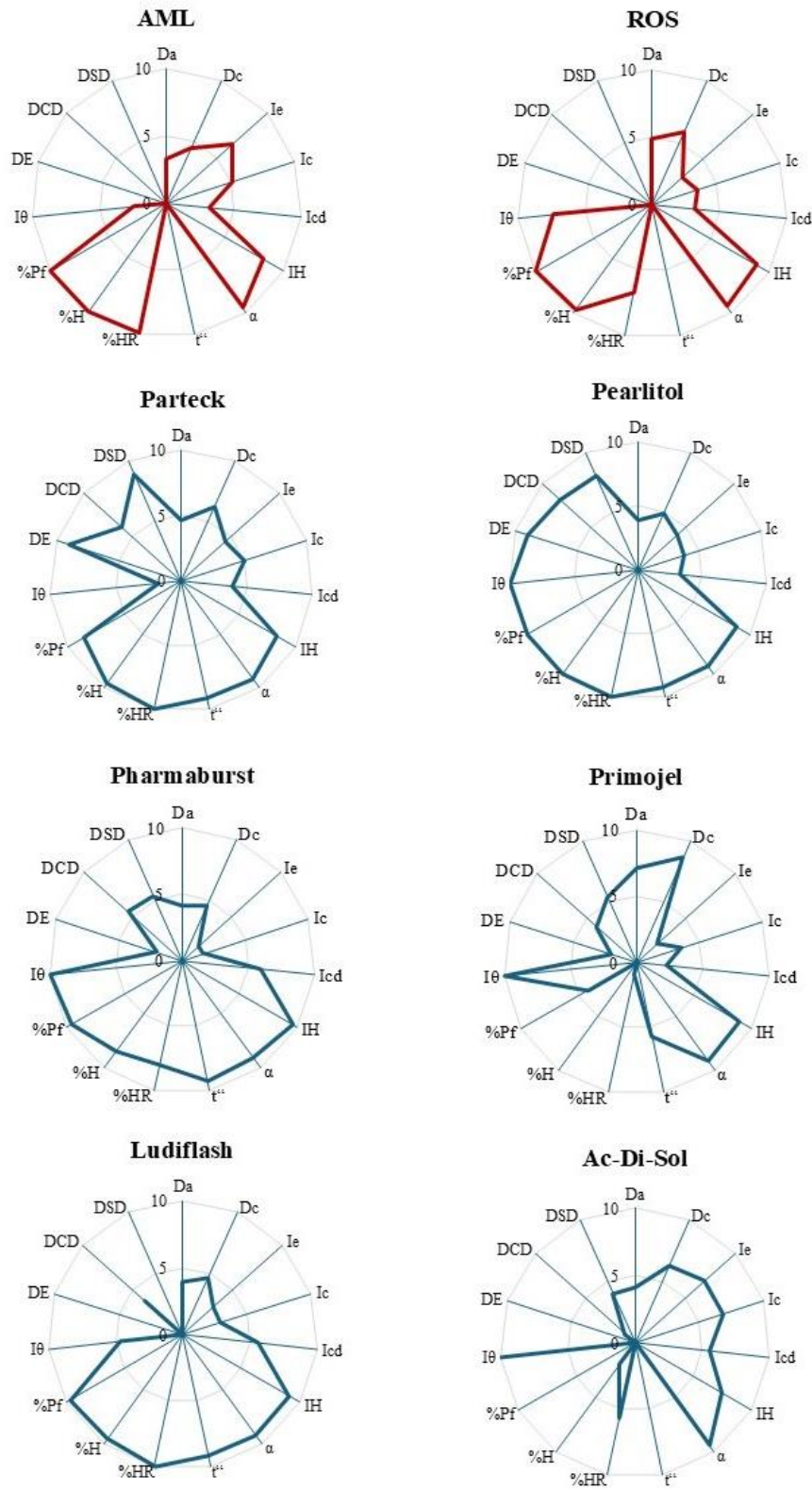
Optimum ADT formülasyonunun geliştirilmesi amacıyla SeDeM-ODT uzman sistemi temelinde AML, ROS ve 25 farklı eksipiyen analiz edilmiş ve SeDeM-ODT profilleri çıkarılmıştır. Hesaplanan faktörler; parametrelerin ortak olarak etki ettiği özellikleri içermekte olup 15 parametre 6 farklı faktör ile özetlenmektedir. 15 parametre 0 ile 10 arasında yarıçap değerlerine dönüştürülerek ifade edilmektedir. 0 en kötü değer iken 5'ten yukarı olan değerler olumlu kabul edilir.

Bir tozun direkt basım özelliği sağlayan bir ADT eksipiyeni olup olamayacağını değerlendirmek için 6 faktör ve 15 parametre ile hesaplanan 3 önemli indeks hesaplanmalıdır. Bunlar

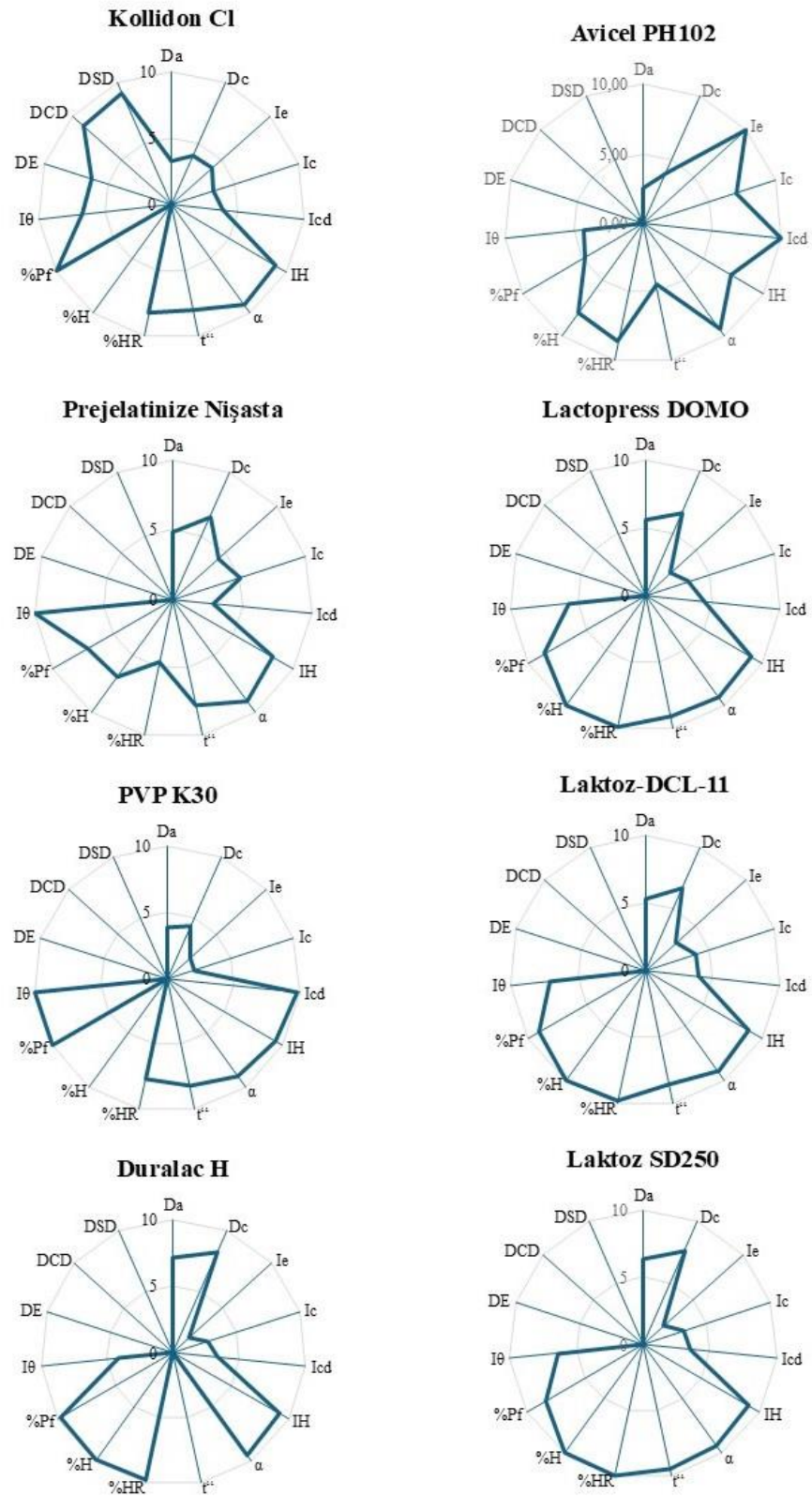
- Parametrik indeks (Pİ): çap değeri 5'ten büyük olan parametrelerin toplam parametre sayısına oranı olup 0,5'ten büyük olması gerekir
- Parametrik profil indeksi (PPI): tüm parametrelerin ortalama çağ değeri olup 5'ten büyük olması gerekmektedir
- İyi basım ve bukodispersibilite indeksi (İBİ): parametrik profil indeksinin SeDeM diyagramının güvenirlilik faktörü ile çarpılması ile elde edilmekte olup 5'ten büyük olmalıdır.

Bu parametrelerin (Pİ, PPI ve İBİ) hesaplanması ile analiz edilen tozun direkt basıma ve ağızda dağılan tablet karakterizasyonuna uygunluğu değerlendirilmiş olur.

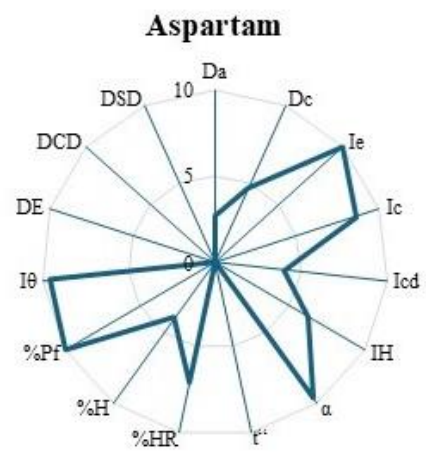
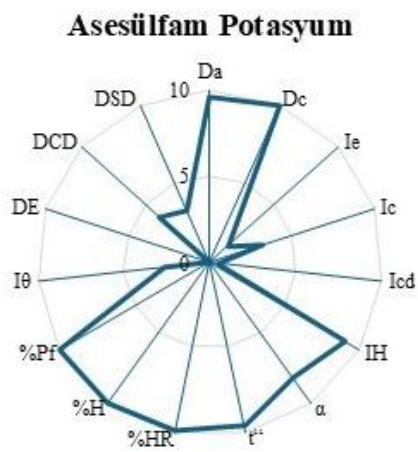
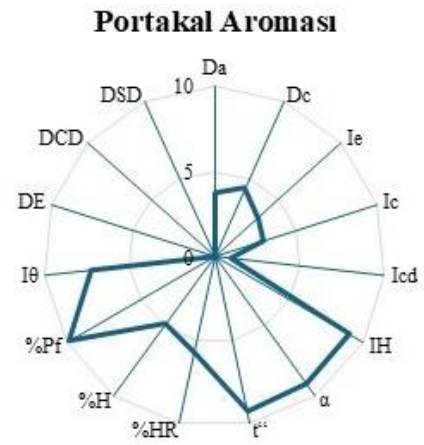
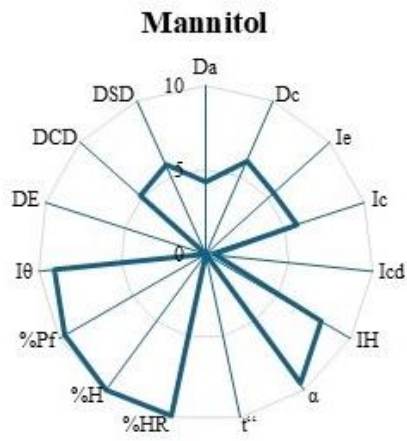
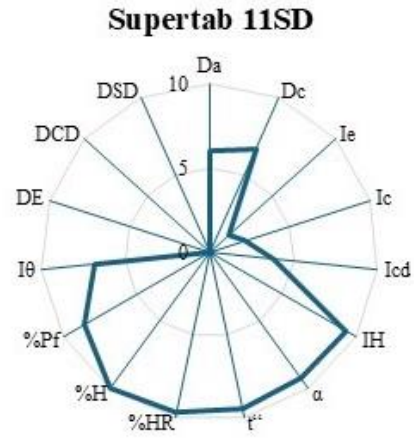
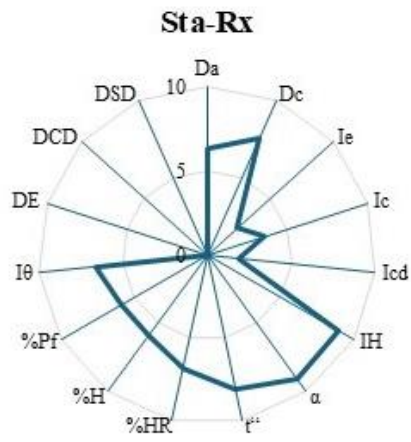
Tablo 4.15.'te etkin maddelere ve eksipiyenlere ait karakterizasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlar verilmiştir. Tablo 4.16., toz karakterizasyonlarının daha kolay değerlendirilmesini sağlayan özet sonuçlar olan faktör sonuçlarını ve indeks sonuçlarını içermektedir. Etkin maddelerin ve eksipiyenlerin SeDeM-ODT diyagramları Şekil 4.19.'da verilmiştir.



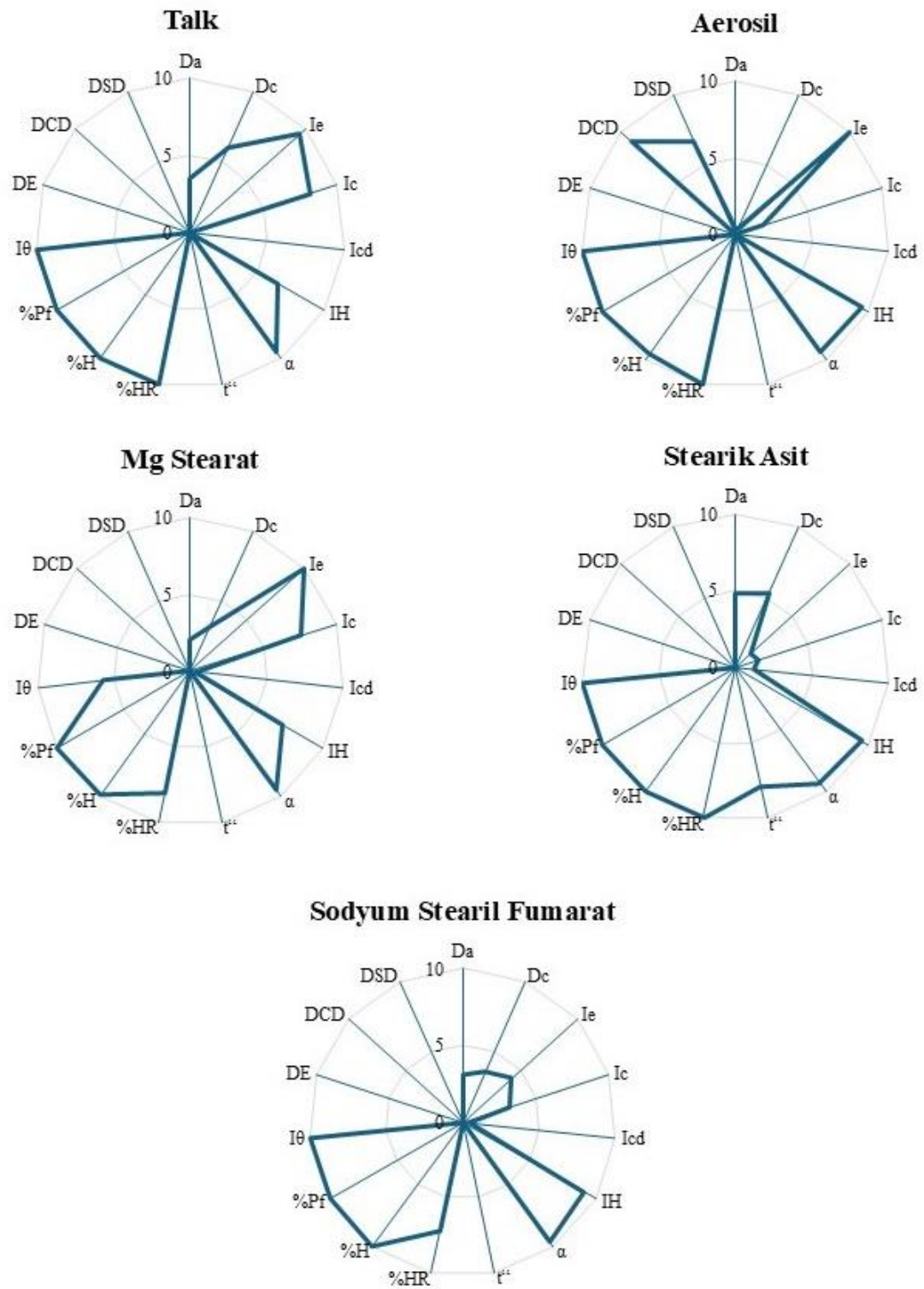
**Şekil 4.19.** Etkin madde ve eksipiyenlerin SeDeM-ODT diyagramları (Diyagram üzerindeki sembollerin karşılıkları Tablo 4.15.'te verilmektedir).



Şekil 4.19. Devam.



Şekil 4.19. Devam.



Şekil 4.19. Devam.

- *Etkin Maddelerin Düzeltilmesi Gereken Özelliklerinin Tespit Edilmesi*

AML ve ROS etkin maddelerinin önemli bir ADT özelliği olan “parçalanabilirlik” faktörü 0 çıkmıştır. Basılabilirlik faktörü AML ve ROS için sırasıyla 4,93 ve 3,23 çıkmıştır. AML etkin maddesi için “boyut” faktörü 3,87 çıkmıştır. İki etkin maddenin diğer tüm faktörleri 5’in üzerinde olup kabul edilebilir değerler olarak ifade edilmektedir. Bu sonuçlar neticesinde; SeDeM-ODT uzman sistemi çalışmalarında aday ADT formülasyonuna karar verebilmek için iki önemli faktör önceliklendirilmiştir. Her iki etkin maddenin de parçalanabilirlik özelliğinin 0 olması nedeniyle iki etkin maddenin de ilk olarak “parçalanabilirlik özelliği”, ikinci aşamada “basılabilirlik faktörü”nü iyileştirmek hedeflenmiştir. Bu amaçla aday formülasyonun ilk olarak parçalanabilir olacağı süper dağıtıcıyı seçmek ve sonrasında basılabilirlik parametresini düzeltmek amaçlanmıştır.

**Tablo 4.15.** SeDeM-ODT Uzman Sistemi-karakterizasyon sonuçları.

| Faktör                | Boyut           |                          | Basılabilirlik             |             |                     | Akışkanlık/<br>Toz akışı |             |           | Kayganlık/<br>Stabilite |           | Kayganlık/<br>Dozaj formu |                       | Parçalanabilirlik   |                          |                                |
|-----------------------|-----------------|--------------------------|----------------------------|-------------|---------------------|--------------------------|-------------|-----------|-------------------------|-----------|---------------------------|-----------------------|---------------------|--------------------------|--------------------------------|
| Parametre             | Kütle Dansitesi | Sıkıştırılmış<br>Dansite | Partikül arası<br>porozite | Carr İndeks | Kohezyon<br>İndeksi | Hausner oranı            | Yığın açısı | Toz akışı | Kurutmada<br>kayıp      | Higroskop | < 50 µm<br>partikül oranı | Homojenlik<br>indeksi | Efervesan<br>süresi | Diskle dağılma<br>süresi | Disk olmadan<br>dağılma süresi |
| Sembol                | Da              | Dc                       | Ie                         | Ic          | Icd                 | IH                       | $\alpha$    | t°        | %HR                     | %H        | %Pf                       | I0                    | DE                  | DCD                      | DSD                            |
| Amlodipin Besilat     | 3,30            | 4,44                     | 6,50                       | 5,11        | 3,18                | 8,26                     | 9,57        | 0,00      | 9,89                    | 9,96      | 10,00                     | 2,50                  | 0,00                | 0,00                     | 0,00                           |
| Rosuvastatin Kalsiyum | 4,86            | 5,89                     | 3,00                       | 3,50        | 3,18                | 8,94                     | 9,38        | 0,00      | 6,69                    | 9,66      | 9,96                      | 7,41                  | 0,00                | 0,00                     | 0,00                           |
| Pardeck ODT®          | 4,67            | 6,22                     | 4,46                       | 5,00        | 3,84                | 8,33                     | 9,24        | 9,12      | 9,92                    | 9,57      | 8,52                      | 1,84                  | 9,00                | 6,14                     | 8,94                           |
| Ludiflash®            | 3,96            | 4,65                     | 3,09                       | 2,94        | 5,58                | 9,14                     | 9,22        | 9,12      | 9,95                    | 9,51      | 9,66                      | 4,61                  | 0,00                | 3,75                     | 0,00                           |
| Pearlitol®            | 3,90            | 4,80                     | 4,05                       | 3,78        | 3,25                | 8,83                     | 9,22        | 9,28      | 10,00                   | 9,96      | 9,92                      | 10,00                 | 9,00                | 8,16                     | 8,02                           |
| Ac-Di-Sol®            | 4,12            | 6,25                     | 6,96                       | 6,84        | 5,58                | 7,40                     | 9,35        | 0,00      | 5,68                    | 1,95      | 0,00                      | 10,00                 | 0,00                | 1,00                     | 4,01                           |
| Pharmaburst           | 4,15            | 4,52                     | 1,68                       | 1,67        | 5,92                | 9,66                     | 9,06        | 9,30      | 7,99                    | 8,44      | 9,58                      | 10,00                 | 2,00                | 5,49                     | 5,33                           |
| Kollidon Cl           | 3,34            | 4,01                     | 4,16                       | 3,33        | 3,92                | 9,00                     | 9,29        | 8,00      | 8,28                    | 0,00      | 9,96                      | 6,70                  | 6,34                | 8,88                     | 9,21                           |
| Primojel              | 7,15            | 8,69                     | 2,06                       | 3,54        | 2,33                | 8,92                     | 9,14        | 5,67      | 0,89                    | 0,00      | 4,17                      | 10,00                 | 2,00                | 3,99                     | 5,39                           |
| Prejelatinize Nişasta | 4,85            | 6,51                     | 4,37                       | 5,09        | 2,88                | 8,29                     | 9,01        | 7,83      | 4,64                    | 6,90      | 7,08                      | 10,00                 | 0,00                | 0,00                     | 0,00                           |
| Sta-Rx                | 6,27            | 7,62                     | 2,35                       | 3,54        | 1,85                | 8,92                     | 9,04        | 8,17      | 6,89                    | 5,90      | 5,86                      | 6,62                  | 0,00                | 0,00                     | 0,00                           |
| PVP K30               | 3,89            | 4,36                     | 2,29                       | 2,13        | 9,83                | 9,40                     | 9,09        | 8,20      | 7,73                    | 0,00      | 9,99                      | 10,00                 | 0,00                | 0,00                     | 0,00                           |

Tablo 4.15. Devam.

| Faktör          | Boyut           |                          | Basılabilirlik             |              |                     | Akışkanlık/<br>Toz akışı |             |                | Kayganlık/<br>Stabilite |              | Kayganlık/<br>Dozaj formu |                       | Parçalanabilirlik |                          |                                |
|-----------------|-----------------|--------------------------|----------------------------|--------------|---------------------|--------------------------|-------------|----------------|-------------------------|--------------|---------------------------|-----------------------|-------------------|--------------------------|--------------------------------|
| Parametre       | Kütle Dansitesi | Sıkıştırılmış<br>Dansite | Partikül arası<br>porozite | Carr İndeksi | Kohezyon<br>İndeksi | Hausner oranı            | Yığın açısı | Toz akışı      | Kurutmada<br>kayıp      | Higroskopisi | < 50 µm<br>partikül oranı | Homojenlik<br>İndeksi | Efervesan süresi  | Diskle dağılma<br>süresi | Disk olmadan<br>dağılma süresi |
| Sembol          | Da              | Dc                       | Ie                         | Ic           | Icd                 | IH                       | $\alpha$    | t <sup>“</sup> | %HR                     | %H           | %Pf                       | I0                    | DE                | DCD                      | DSD                            |
| Avicel PH102    | 2,58            | 3,98                     | 10,00                      | 7,04         | 10,00               | 7,28                     | 9,36        | 4,50           | 8,67                    | 7,96         | 4,85                      | 4,27                  | 0,00              | 0,43                     | 0,00                           |
| Mannitol        | 4,34            | 6,08                     | 5,48                       | 5,71         | 0,53                | 8,00                     | 9,58        | 0,00           | 9,86                    | 10,00        | 9,65                      | 9,04                  | 0,00              | 5,24                     | 5,80                           |
| Lactopress DOMO | 5,52            | 6,63                     | 2,51                       | 3,33         | 4,37                | 9,00                     | 9,28        | 9,12           | 9,95                    | 10,00        | 8,55                      | 5,70                  | 0,00              | 0,00                     | 0,00                           |
| Supertab 11SD   | 5,97            | 6,70                     | 1,54                       | 2,20         | 3,83                | 9,38                     | 9,16        | 9,49           | 9,73                    | 9,98         | 8,56                      | 6,89                  | 0,00              | 0,00                     | 0,00                           |
| Duralac H       | 7,08            | 8,21                     | 1,62                       | 2,76         | 3,35                | 9,20                     | 9,52        | 0,00           | 9,76                    | 9,94         | 9,78                      | 4,13                  | 0,00              | 0,00                     | 0,00                           |
| Lactoz SD250    | 6,38            | 7,57                     | 2,06                       | 3,16         | 3,53                | 9,06                     | 9,27        | 9,47           | 9,95                    | 10,00        | 8,37                      | 6,39                  | 0,00              | 0,00                     | 0,00                           |
| Laktoz-DCL-11   | 5,33            | 6,64                     | 3,08                       | 3,94         | 3,95                | 8,77                     | 9,19        | 8,62           | 9,82                    | 10,00        | 9,01                      | 7,12                  | 0,00              | 0,00                     | 0,00                           |

Tablo 4.15. Devam.

| Faktör                 | Boyut           |                          | Basılabilirlik             |             |                     | Akışkanlık/<br>Toz akışı |             |                | Kayganlık/<br>Stabilite |              | Kayganlık/<br>Dozaj formu |                       | Parçalanabilirlik |                         |                                |
|------------------------|-----------------|--------------------------|----------------------------|-------------|---------------------|--------------------------|-------------|----------------|-------------------------|--------------|---------------------------|-----------------------|-------------------|-------------------------|--------------------------------|
| Parametre              | Kütle Dansitesi | Sıkıştırılmış<br>Dansite | Partikül arası<br>porozite | Carr İndeks | Kohezyon<br>İndeksi | Hausner oranı            | Yığın açısı | Toz akışı      | Kurutmada<br>kayıp      | Higroskopisi | < 50 µm<br>partikül oranı | Homojenlik<br>İndeksi | Efervesan süresi  | Diske dağılma<br>süresi | Disk olmadan<br>dağılma süresi |
| Sembol                 | Da              | Dc                       | Ie                         | Ic          | Icd                 | IH                       | $\alpha$    | t <sup>“</sup> | %HR                     | %H           | %Pf                       | I0                    | DE                | DCD                     | DSD                            |
| Talk                   | 3,56            | 6,05                     | 9,59                       | 8,21        | 0,00                | 6,51                     | 9,48        | 0,00           | 9,99                    | 10,00        | 10,00                     | 10,00                 | 0,00              | 0,00                    | 0,00                           |
| Mg Stearat             | 2,05            | 3,29                     | 10,00                      | 7,56        | 0,36                | 6,96                     | 9,58        | 0,00           | 8,08                    | 9,93         | 10,00                     | 5,69                  | 0,00              | 0,00                    | 0,00                           |
| Aerosil                | 0,48            | 0,53                     | 10,00                      | 1,90        | 0,00                | 9,47                     | 9,43        | 0,00           | 10,00                   | 9,58         | 10,00                     | 10,00                 | 0,00              | 9,07                    | 6,67                           |
| Sodyum Stearil Fumarat | 3,06            | 3,63                     | 4,30                       | 3,16        | 0,46                | 9,06                     | 9,59        | 0,00           | 7,25                    | 10,00        | 10,00                     | 10,00                 | 0,00              | 0,00                    | 0,00                           |
| Stearik Asit           | 4,87            | 5,29                     | 1,38                       | 1,60        | 1,21                | 9,56                     | 9,31        | 7,90           | 9,97                    | 10,00        | 10,00                     | 10,00                 | 0,00              | 0,00                    | 0,00                           |
| Portakal Aroması       | 3,73            | 4,41                     | 3,39                       | 3,04        | 0,98                | 9,10                     | 9,17        | 9,24           | 5,75                    | 4,85         | 9,90                      | 7,25                  | 0,00              | 0,00                    | 0,00                           |
| Asesülfam Potasyum     | 9,55            | 10,00                    | 1,39                       | 3,17        | 0,46                | 9,06                     | 8,22        | 9,67           | 9,99                    | 9,99         | 10,00                     | 2,64                  | 0,00              | 3,89                    | 3,33                           |
| Aspartam               | 2,67            | 4,70                     | 10,00                      | 8,62        | 3,99                | 6,21                     | 9,66        | 0,00           | 7,13                    | 3,93         | 10,00                     | 9,59                  | 0,00              | 0,00                    | 0,00                           |

**Tablo 4.16.** SeDeM-ODT Uzman Sistemi-faktör ve parametrik indeks sonuçları.

| Faktör                | Boyut | Baslabilirlik | Akışkanlık/<br>Toz akışı | Kayganlık/<br>Stabilite | Kayganlık/<br>Dozaj formu | Parçalanabilirlik | Parametrik İndeks | Parametrik Profil<br>İndeksi | İyi Basım ve<br>Bukodispersibilite<br>İndeksi |
|-----------------------|-------|---------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------|-------------------|------------------------------|-----------------------------------------------|
| Amlodipin Besilat     | 3,87  | 4,93          | 5,94                     | 9,92                    | 6,25                      | 0,00              | 0,47              | 4,85                         | 4,71                                          |
| Rosuvastatin Kalsiyum | 5,38  | 3,23          | 6,11                     | 8,17                    | 8,69                      | 0,00              | 0,47              | 4,83                         | 4,69                                          |
| Pardeck ODT®          | 5,44  | 4,43          | 8,90                     | 9,74                    | 5,18                      | 8,03              | <b>0,73</b>       | <b>6,99</b>                  | <b>6,78</b>                                   |
| Ludiflash®            | 4,31  | 3,87          | 9,16                     | 9,73                    | 7,13                      | 1,25              | 0,47              | 5,68                         | 5,51                                          |
| Pearlitol®            | 4,35  | 3,69          | 9,11                     | 9,98                    | 9,96                      | 8,39              | <b>0,67</b>       | <b>7,48</b>                  | <b>7,26</b>                                   |
| Ac-Di-Sol®            | 5,18  | 6,46          | 5,58                     | 3,82                    | 5,00                      | 1,67              | 0,53              | 4,61                         | 4,48                                          |
| Pharmaburst           | 4,33  | 3,09          | 9,34                     | 8,21                    | 9,79                      | 4,27              | <b>0,67</b>       | <b>6,32</b>                  | <b>6,14</b>                                   |
| Kollidon Cl           | 3,67  | 3,80          | 8,76                     | 4,14                    | 8,33                      | 8,14              | <b>0,60</b>       | <b>6,30</b>                  | <b>6,11</b>                                   |
| Primojel              | 7,92  | 2,64          | 7,91                     | 0,45                    | 7,09                      | 3,79              | 0,47              | 4,93                         | 4,79                                          |
| Prejelatinize Nişasta | 5,68  | 4,11          | 8,38                     | 5,77                    | 8,54                      | 0,00              | <b>0,53</b>       | <b>5,16</b>                  | <b>5,01</b>                                   |
| Sta-Rx                | 6,95  | 2,58          | 8,71                     | 6,40                    | 6,24                      | 0,00              | 0,60              | 4,87                         | 4,73                                          |
| PVP K30               | 4,12  | 4,75          | 8,90                     | 3,87                    | 10,00                     | 0,00              | 0,47              | 5,13                         | 4,98                                          |
| Avicel PH102          | 3,28  | 9,01          | 7,05                     | 8,32                    | 4,56                      | 0,14              | 0,40              | 5,39                         | 5,24                                          |
| Mannitol              | 5,21  | 3,91          | 5,86                     | 9,93                    | 9,35                      | 3,68              | <b>0,73</b>       | <b>5,95</b>                  | <b>5,78</b>                                   |

Koyu harflerle yazılan değerler Pİ, PPİ ve İBİ değerlerinin hepsinin kabul kriterlerini karşıladığını göstermektedir.

Tablo 4.16. Devam.

| Faktör                 | Boyut | Baslabilirlik | Akışkanlık/<br>Toz akışı | Kayganlık/<br>Stabilite | Kayganlık/<br>Dozaj formu | Parçalanabilirlik | Parametrik<br>İndeks | Parametrik<br>Profil İndeksi | İyi Basım ve<br>Bukodispersibilite<br>İndeksi |
|------------------------|-------|---------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------|----------------------|------------------------------|-----------------------------------------------|
| Lactopress DOMO        | 6,08  | 3,40          | 9,13                     | 9,98                    | 7,13                      | 0,00              | 0,53                 | 5,60                         | 5,44                                          |
| Supertab 11SD          | 6,33  | 2,52          | 9,34                     | 9,86                    | 7,72                      | 0,00              | 0,60                 | 5,56                         | 5,40                                          |
| Duralac H              | 7,64  | 2,58          | 6,24                     | 9,85                    | 6,96                      | 0,00              | 0,47                 | 5,02                         | 4,88                                          |
| Lactoz SD250           | 6,98  | 2,92          | 9,27                     | 9,98                    | 7,38                      | 0,00              | 0,60                 | 5,68                         | 5,52                                          |
| Laktoz-DCL-11          | 5,98  | 3,66          | 8,86                     | 9,91                    | 8,07                      | 0,00              | 0,60                 | 5,70                         | 5,53                                          |
| Talk                   | 4,81  | 5,93          | 5,33                     | 10,00                   | 10,00                     | 0,00              | 0,60                 | 5,56                         | 5,40                                          |
| Mg Stearat             | 2,67  | 5,97          | 5,51                     | 9,00                    | 7,85                      | 0,00              | 0,53                 | 4,90                         | 4,76                                          |
| Aerosil                | 0,51  | 3,97          | 6,30                     | 9,79                    | 10,00                     | 5,24              | 0,60                 | 5,81                         | 5,64                                          |
| Sodyum Stearil Fumarat | 3,34  | 2,64          | 6,22                     | 8,62                    | 10,00                     | 0,00              | 0,40                 | 4,70                         | 4,56                                          |
| Stearik Asit           | 5,08  | 1,40          | 8,93                     | 9,98                    | 10,00                     | 0,00              | 0,53                 | 5,41                         | 5,25                                          |
| Portakal Aroması       | 4,07  | 2,47          | 9,17                     | 5,30                    | 8,58                      | 0,00              | 0,40                 | 4,72                         | 4,58                                          |
| Asesülfam Potasyum     | 9,77  | 1,67          | 8,98                     | 9,99                    | 6,32                      | 2,41              | 0,53                 | 6,09                         | 5,91                                          |
| Aspartam               | 3,68  | 7,54          | 5,29                     | 5,53                    | 9,79                      | 0,00              | 0,47                 | 5,10                         | 4,95                                          |

Koyu harflerle yazılan değerler Pİ, PPI ve İBİ değerlerinin hepsinin kabul kriterlerini karşıladığını göstermektedir.

• *Çekirdek Toz Karışımının Tespit Edilmesi*

SeDeM-ODT çalışmalarında eksipiyen oranları ve yarı çap değerleri lineer bağıntılar ile teorik olarak hesaplanmaktadır. Elde edilen çıktıların deneysel olarak uygulanması ile optimum formülasyonun elde edilmesi hedeflenmektedir. Bu amaçla “basılabilirlik” faktörünü iyileştirecek eksipiyenleri seçmeden önce her aday formülasyonda değişmeyecek temel eksipiyenlerin kararlaştırılması gerekmektedir. Etkin maddeler, tatlandırıcılar ve kaydırıcılar çekirdek toz karışımının bileşenleri olarak belirlenmiştir. Karışıma girecek ideal tatlandırıcı adayları SeDeM-ODT profilleri göz önüne alınarak seçilmiştir. Çalışılan 3 tatlandırıcı adayı olan portakal aroması, asesülfam potasyum ve aspartam tozlarının Pİ, PPI ve İBİ değerleri göz önünde tutulmuştur (Tablo 4.17.). Asesülfam potasyum’un tüm indeks değerleri kabul edilebilir olduğu için toz ideal tatlandırıcı adayıdır. AML etkin maddesinin acı tadı olması nedeniyle ikinci bir tatlandırıcı kullanımı kararlaştırılmıştır. Pİ, PPI ve İBİ değerleri kabul edilebilir sınırlara en yakın olan aspartam ikinci tatlandırıcı olarak seçilmiştir. Kaydırıcılar literatürde SeDeM çalışmaları için önerilen karışıma sadık kalınarak seçilmiştir (Talk %2,36+ Aerosil® 200 %0,14+ Magnezyum stearat %1,00) (62, 63).

**Tablo 4.17.** Tatlandırıcı adaylarının bazı parametre sonuçları ve indeks değerleri.

| Parametre/indeks                              | Portakal Aroması | Asesülfam Potasyum | Aspartam |
|-----------------------------------------------|------------------|--------------------|----------|
| Boyut                                         | 4,07             | 9,77               | 3,68     |
| Basılabilirlik                                | 2,47             | 1,67               | 7,54     |
| Parçalanabilirlik                             | 0,00             | 2,41               | 0,00     |
| Parametrik İndeks (Pİ)                        | 0,40             | 0,53               | 0,47     |
| Parametrik Profil İndeksi (PPI)               | 4,72             | 6,09               | 5,10     |
| İyi Basım ve Bukodispersibilite İndeksi (İBİ) | 4,58             | 5,91               | 4,95     |

Türkiye’de yer alan sabit doz kombinasyonlarından hareketle hedef formülasyonun 260 mg olması hedeflenmiştir. Buradan hareketle etkin maddeler ve diğer yardımcı maddelerin toplam tablet karışımına göre ağırlıkça yüzde (%) değer olarak sunulması hedeflenmiştir. AML ve ROS etkin maddelerinin kullanım yüzdeleri için piyasada ruhsatlı bulunan en yüksek yitiliğe sahip konvansiyonel sabit doz kombinasyonları (Amloros film tablet 10 mg/20 mg ve Rosucor plus film tablet 10 mg/20 mg) referans alınmıştır (32). Kullanılacak olan etkin maddeler ile yardımcı maddelerin karışımlarından elde edilecek çekirdek tozun teorik olarak SeDeM-ODT parametreleri hesaplanmıştır. Söz konusu hesaplama sistemin doğrusallık ilkesi ile gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak etkin maddeleri de içeren çekirdek toz karışım bileşimi ve hesaplanan teorik SeDeM-ODT faktör değerleri aşağıdaki şekilde belirlenmiştir (Tablo 4.18.). Buradan hareketle basılabilirlik değeri 4,34, parçalanabilirlik değeri 0,17 olması beklenen ve Pİ, PPI ve İBİ indeks değerleri sırasıyla 0,6; 5,02 ve 4,87 olan teorik toz karışımı çekirdek toz karışımı olarak kabul edilmiştir.

**Tablo 4.18.** Toplam tablet formülasyonuna göre çekirdek toz karışımı bileşenleri ve hesaplanan faktör değerleri.

| Çekirdek toz bileşenleri | %     | Boyut | Basılabirlik | Parçalanabilirlik | Akışkanlık/Toz akışı | Kayganlık/ Stabilite | Kayganlık/Dozaj formu |
|--------------------------|-------|-------|--------------|-------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| AML                      | 5,33  | 4,84  | 4,34         | 0,17              | 6,04                 | 8,91                 | 8,06                  |
| ROS                      | 8,01  |       |              |                   |                      |                      |                       |
| Aspartam                 | 1     |       |              |                   |                      |                      |                       |
| Asesülfam Potasyum       | 1     |       |              |                   |                      |                      |                       |
| Mg Stearat               | 1,00  |       |              |                   |                      |                      |                       |
| Talk                     | 2,36  |       |              |                   |                      |                      |                       |
| Aerosil                  | 0,14  |       |              |                   |                      |                      |                       |
| <b>Toplam</b>            | 18,84 |       |              |                   |                      |                      |                       |

- *Parçalanabilirlik Özelliğini İyileştirecek Süper Dağıtıcı Seçimi*

SeDeM-ODT uzman sistemi lineer bağıntılar ile çalışmaktadır. Bir tozun 5'ten küçük olan bir parametre veya faktör değerini iyileştirmek için bir başka tozun düzeltici eksipiyen olarak kullanım yüzdesi hesaplanabilmektedir. Düzeltici eksipiyen adayının yarıçap değeri 5'ten büyük olmalıdır. Düzeltici eksipiyen oranının yüzde kaç oranında kullanılması gerektiği Bölüm 2.1'de verilen formül ile (%DO) hesaplanmaktadır. Elde edilen sonuç 100'den büyükse eksipiyenin düzeltici olarak kullanılması mümkün değildir. Formül kötü özelliği olan toz ile düzeltici eksipiyen adayının karışımının %100 ettiği senaryo ile bir %DO değeri vermektedir. Örneğin bir düzeltici eksipiyenin %DO değeri %26 ise hazırlanacak toz karışımında %74 kötü özellikli toz ve %26 düzeltici eksipiyen olmalıdır.

AML ve ROS etkin maddelerinin ikisinin de parçalanabilirlik değeri 0 olduğu için seçilecek süper dağıtıcıya ortak karar vermek mümkündür. Tozlar üzerinde yapılan SeDeM-ODT deneyleri sonucunda Pİ, PPİ ve İBİ indeks değerleri kabul edilebilir limitlerin üzerinde olan süper dağıtıcı tozların düzeltici eksipiyen oranları hesaplanmıştır. Bu üç indeksi sağlayan 4 adet süper dağıtıcının (1), etkin maddelerin parçalanabilirlik özelliğini iyileştirebilmek için etkin madde ile karıştırılması gereken düzeltici toz oranları Tablo 4.19.'da verilmiştir. Düzeltici eksipiyen oranının 100'den büyük olması tozun düzeltici olarak uygun olmadığını göstermektedir. Bu sebeple Parteck, Pearlitol ve Kollidon Cl potansiyel süper dağıtıcılar olarak seçilmiştir

**Tablo 4.19.** AML ve ROS etkin maddeleri için parçalanabilirlik faktörü düzeltici eksipiyen oranları (%).

|            | <b>Parteck-ODT®</b> | <b>Pearlitol®</b> | <b>Pharmaburst®</b> | <b>Kollidon Cl®</b> |
|------------|---------------------|-------------------|---------------------|---------------------|
| <b>AML</b> | 62,30               | 59,58             | 116,98              | 61,39               |
| <b>ROS</b> | 62,30               | 59,58             | 116,98              | 61,39               |

- *Basılabilirlik Özelliğini İyileştirecek Eksipiyen Seçimi*

Çekirdek toz karışımı ve aday süper dağıtıcı tozlarının hepsinin basılabilirlik özelliği düzeltilmelidir. Çekirdek toz karışımı ile süper dağıtıcıların ayrı ayrı kullanımı halinde basılabilirlik parametresini iyileştirecek tozun seçilmesi için hesaplamalar

yapılmıştır. Çekirdek tabletten geriye kalan toz yüzdesi %81,16'dır. Yapılan hesaplamalar %81,16'lık dilimin süper dağıtıcı adayı ile düzeltici basılabilir toz adayı arasında paylaştırılmasını sağlamak üzere yapılmıştır. Seçilen tozların parçalanabilirlik parametresini 5'in altına indirmeyecek oranda kullanılması ve basılabilirlik parametresini 5'in üzerine çıkarması gerekmektedir.

Farklı süper dağıtıcı seçimleri için basılabilirlik parametresini iyileştirebilecek ekspiyan oranları Tablo 4.20. - 4.22.'de verilmiştir. Söz konusu tabloların değerlendirilmesi yapılırken;

- Basılabilirlik için düzeltici ekspiyan yüzdesi negatif değerde çıkıyorsa düzeltme için uygun bulunmamıştır,
- Basılabilirlik düzeltici yüzdesi pozitif bir değer ve 81,16'dan küçükse ekspiyan değerlendirmeye alınmıştır,
- Basılabilirlik düzeltme yüzdesi parçalanabilirlik düzeltme yüzdesi sütunundaki değerden yüksekse seçilmemiştir,

Değerlendirilmeye alınan ve pozitif basılabilirlik yüzde değeri olan tüm ekspiyanların parçalanabilirlik parametresi 5'in altındadır. Bu sebeple parçalanabilirlik sütunundaki değer üzerindeki bir yüzde değerinin kullanılması toplam toz karışımının parçalanabilirlik parametresini 5'in altına indirecektir. Örneğin Tablo 4.20.'de görüldüğü üzere Kollidon Cl'nin süper dağıtıcı olduğu senaryoda Avicel PH102 %20,99 oranında kullanılırsa basılabilirlik parametresi 5 olacaktır. Buna karşılık parçalanabilirlik için %20,52'den fazla Avicel PH102 kullanılması toplam parçalanabilirlik parametresini 5'in altına indirecektir. Bu sebeple Kollidon Cl için parçalanabilirlik parametresini 5 ve üzeri bir değerde tutmaya yarayacak bir basılabilirlik düzeltici ekspiyan yoktur (Tablo 4.20.).

Parteck için Tablo 4.21.'de görüldüğü üzere %12,73 Avicel PH102 kullanılması halinde toplam tozun basılabilirlik parametresi 5 olacaktır. %12,73 Avicel PH102 kullanılması halinde Parteck %68,43 oranında kullanılacaktır. Bu durumda toplam tozun parçalanabilirlik parametresinin 5,55 olması hesaplanmaktadır.

Pearlitol için Tablo 4.22.'de görüldüğü üzere %22,28 Avicel PH102 kullanılması halinde toplam tozun basılabilirlik parametresi 5 olacaktır. %22,28 Avicel

PH102 kullanılması halinde Parteck %58,83 oranında kullanılacaktır. Bu durumda toplam tozun parçalanabilirlik parametresinin 5,01 olması hesaplanmaktadır.

**Tablo 4.20.** Kollidon CL süper dağıtıcı seçilmesi halinde basılabilirlik faktörünü iyileştirebilecek eksipiyaların kullanım oranı (%).

| <b>Düzeltilme Eksipiyası</b> | <b>Boyut Düzeltilme Yüzdesi</b> | <b>Basılabilirlik Düzeltilme Yüzdesi</b> | <b>Parçalanabilirlik Düzeltilme Yüzdesi</b> |
|------------------------------|---------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------------|
| <b>Pearlitol</b>             | 163,56                          | -965,78                                  | -660,72                                     |
| <b>Parteck</b>               | 62,47                           | 173,81                                   | 1385,09                                     |
| <b>Ludiflash</b>             | 175,16                          | 1661,25                                  | 23,80                                       |
| <b>Ac-Di-Sol</b>             | 73,25                           | 41,19                                    | 25,36                                       |
| <b>Prejelatinize Nişasta</b> | 55,10                           | 356,24                                   | 20,15                                       |
| <b>Primojel</b>              | 26,02                           | -94,18                                   | 37,72                                       |
| <b>Pharmaburst</b>           | 167,52                          | -152,57                                  | 42,41                                       |
| <b>PVP K30</b>               | 247,06                          | 115,54                                   | 20,15                                       |
| <b>Avicel PH102</b>          | -281,27                         | 20,99                                    | 20,52                                       |
| <b>Duralac H</b>             | 27,86                           | -89,11                                   | 20,15                                       |
| <b>Lactoz SD250</b>          | 33,47                           | -123,06                                  | 20,15                                       |
| <b>Lactopress DOMO</b>       | 46,02                           | -272,98                                  | 20,15                                       |
| <b>Sta-Rx</b>                | 33,78                           | -89,28                                   | 20,15                                       |
| <b>Supertab 11SD</b>         | 41,54                           | -85,22                                   | 20,15                                       |
| <b>Laktoz-DCL-11</b>         | 47,88                           | -730,39                                  | 20,15                                       |
| <b>Mannitol</b>              | 71,88                           | 1068,97                                  | 36,75                                       |

**Tablo 4.21.** Parteck'in süper dağıtıcı seçilmesi halinde basılabilirlik faktörünü iyileştirebilecek ekspiyanların kullanım oranı (%).

| <b>Düzeltilme<br/>Ekspiyanı</b>  | <b>Boyut<br/>Düzeltilme<br/>Yüzdesi</b> | <b>Basılabilirlik<br/>Düzeltilme Yüzdesi</b> | <b>Parçalanabilirlik<br/>Düzeltilme Yüzdesi</b> |
|----------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| <b>Ludiflash</b>                 | 29,06                                   | -103,48                                      | 22,8                                            |
| <b>Pearlitol</b>                 | 30,25                                   | -78,52                                       | -421,12                                         |
| <b>Ac-Di-Sol</b>                 | 127                                     | 28,78                                        | 24,32                                           |
| <b>Prejelatinize<br/>Nişasta</b> | -139,83                                 | -180,94                                      | 19,25                                           |
| <b>Primojel</b>                  | -13,35                                  | -32,56                                       | 36,51                                           |
| <b>Pharmaburst</b>               | 29,81                                   | -43,31                                       | 41,19                                           |
| <b>Kollidon Cl</b>               | 18,69                                   | -92,65                                       | -1303,9                                         |
| <b>PVP K30</b>                   | 25,02                                   | 183,72                                       | 19,25                                           |
| <b>Avicel PH102</b>              | 15,3                                    | 12,73*                                       | 19,61                                           |
| <b>Duralac H</b>                 | -15,05                                  | -31,4                                        | 19,25                                           |
| <b>Lactoz SD250</b>              | -21,58                                  | -38,41                                       | 19,25                                           |
| <b>Lactopress DOMO</b>           | -52,33                                  | -56,61                                       | 19,25                                           |
| <b>Sta-Rx</b>                    | -22,01                                  | -31,44                                       | 19,25                                           |
| <b>Supertab 11SD</b>             | -37,12                                  | -30,48                                       | 19,25                                           |
| <b>Laktoz-DCL-11</b>             | -61,37                                  | -74,84                                       | 19,25                                           |
| <b>Mannitol</b>                  | 142,68                                  | -110,65                                      | 35,54                                           |

\* Çekirdek toz karışımının Parteck varlığında basılabilirlik faktörünü iyileştirebilecek ekspiyan oranı.

**Tablo 4.22.** Pearlitol süper dağıtıcı seçilmesi halinde basılabilirlik faktörünü iyileştirebilecek eksipyanların kullanım oranı (%).

| <b>Düzeltilme Eksipyanı</b>  | <b>Boyut Düzeltilme Yüzdesi</b> | <b>Basılabilirlik Düzeltilme Yüzdesi</b> | <b>Parçalanabilirlik Düzeltilme Yüzdesi</b> |
|------------------------------|---------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------------|
| <b>Pardeck</b>               | 50,91                           | 159,68                                   | 502,28                                      |
| <b>Ludiflash</b>             | -1243,58                        | 662,05                                   | 25,80                                       |
| <b>Ac-Di-Sol</b>             | 66,83                           | 42,83                                    | 27,42                                       |
| <b>Prejelatinize Nişasta</b> | 41,86                           | 282,11                                   | 21,96                                       |
| <b>Primojel</b>              | 15,59                           | -113,13                                  | 40,07                                       |
| <b>Pharmaburst</b>           | -3477,42                        | -196,42                                  | 44,75                                       |
| <b>Kollidon Cl</b>           | -82,40                          | 1046,94                                  | 741,88                                      |
| <b>PVP K30</b>               | -243,77                         | 111,87                                   | 21,96                                       |
| <b>Avicel PH102</b>          | -52,10                          | 22,28*                                   | 22,34                                       |
| <b>Duralac H</b>             | 16,92                           | -106,42                                  | 21,96                                       |
| <b>Lactoz SD250</b>          | 21,20                           | -152,89                                  | 21,96                                       |
| <b>Lactopress DOMO</b>       | 32,26                           | -412,51                                  | 21,96                                       |
| <b>Sta-Rx</b>                | 21,45                           | -106,64                                  | 21,96                                       |
| <b>Supertab 11SD</b>         | 28,05                           | -101,32                                  | 21,96                                       |
| <b>Laktoz-DCL-11</b>         | 34,11                           | -3248,42                                 | 21,96                                       |
| <b>Mannitol</b>              | 64,61                           | 550,02                                   | 39,09                                       |

\* Çekirdek toz karışımının Pearlitol varlığında basılabilirlik faktörünü iyileştirebilecek eksipyan oranı.

Pardeck ve Pearlitol ile geliştirilecek formülasyonlarda basılabilirlik ve parçalanabilirlik parametrelerinin beraber düzeltilmesi için Avicel PH102'nin farklı oranları ile basılmasının mümkün olduğu hesaplanmıştır. SeDeM-ODT uzman sisteminin değerlendirmesini yapmak amacıyla Pardeck ve Pearlitol'ün %81,16 oranında kullanıldığı 2 formülasyon ile basılabilirliği düzeltilmiş Avicel PH102 ile basılmış 2 formülasyon üretilmiştir.

#### 4.6. Direkt Basım Yöntemi ile ADT Formülasyonlarının Üretilmesi ve Karakterizasyonları

##### 4.6.1. SeDeM-ODT Uzman Sitemi ile Optimum ADT Formülasyonu Tespiti

25 farklı eksipiyanın SeDeM-ODT uzman sisteminde analiz edilmesi sonucunda iyi basılabilirlik ve parçalanabilirlik niteliklerine sahip olabilecek 2 farklı formülasyon ortaya çıkmıştır. Avicel PH102'nin etkisini irdelemek ve SeDeM-ODT uzman sisteminin performansını değerlendirmek amacıyla söz konusu formülasyonların sadece süper dağıtıcı ile üretilmesi de sağlanmıştır (Tablo 4.23.-4.26.).

**Tablo 4.23.** Pardeck'in tek başına kullanıldığı durumda tablet formülasyonu ve teorik faktör yarıçapları.

| Bileşen              | Bileşen Yüzdesi (%) | Basılabilirlik | Parçalanabilirlik |
|----------------------|---------------------|----------------|-------------------|
| AML                  | 5,33                | 4,34           | 0,17              |
| ROS                  | 8,01                |                |                   |
| Aspartam             | 1                   |                |                   |
| Asesülfam Potasyum   | 1                   |                |                   |
| Mg Stearat           | 1,00                |                |                   |
| Talk                 | 2,36                |                |                   |
| Aerosil              | 0,14                |                |                   |
| Pardeck              | 81,16               | 4,43           | 8,03              |
| <b>Toplam Tablet</b> | <b>100,00</b>       | <b>4,42</b>    | <b>6,55</b>       |

**Tablo 4.24.** Parateck'in Avicel PH102 ile beraber kullanıldığı durumda tablet formülasyonu ve teorik faktör yarıçapları.

| Bileşen              | Bileşen Yüzdesi (%) | Basılabilirlik | Parçalanabilirlik |
|----------------------|---------------------|----------------|-------------------|
| AML                  | 5,33                | 4,34           | 0,17              |
| ROS                  | 8,01                |                |                   |
| Aspartam             | 1                   |                |                   |
| Asesülfam Potasyum   | 1                   |                |                   |
| Mg Stearat           | 1,00                |                |                   |
| Talk                 | 2,36                |                |                   |
| Aerosil              | 0,14                |                |                   |
| Parateck             | 68,43               | 4,43           | 8,03              |
| Avicel PH102         | 12,73               | 9,01           | 0,14              |
| <b>Toplam Tablet</b> | <b>100,00</b>       | <b>5,00</b>    | <b>5,55</b>       |

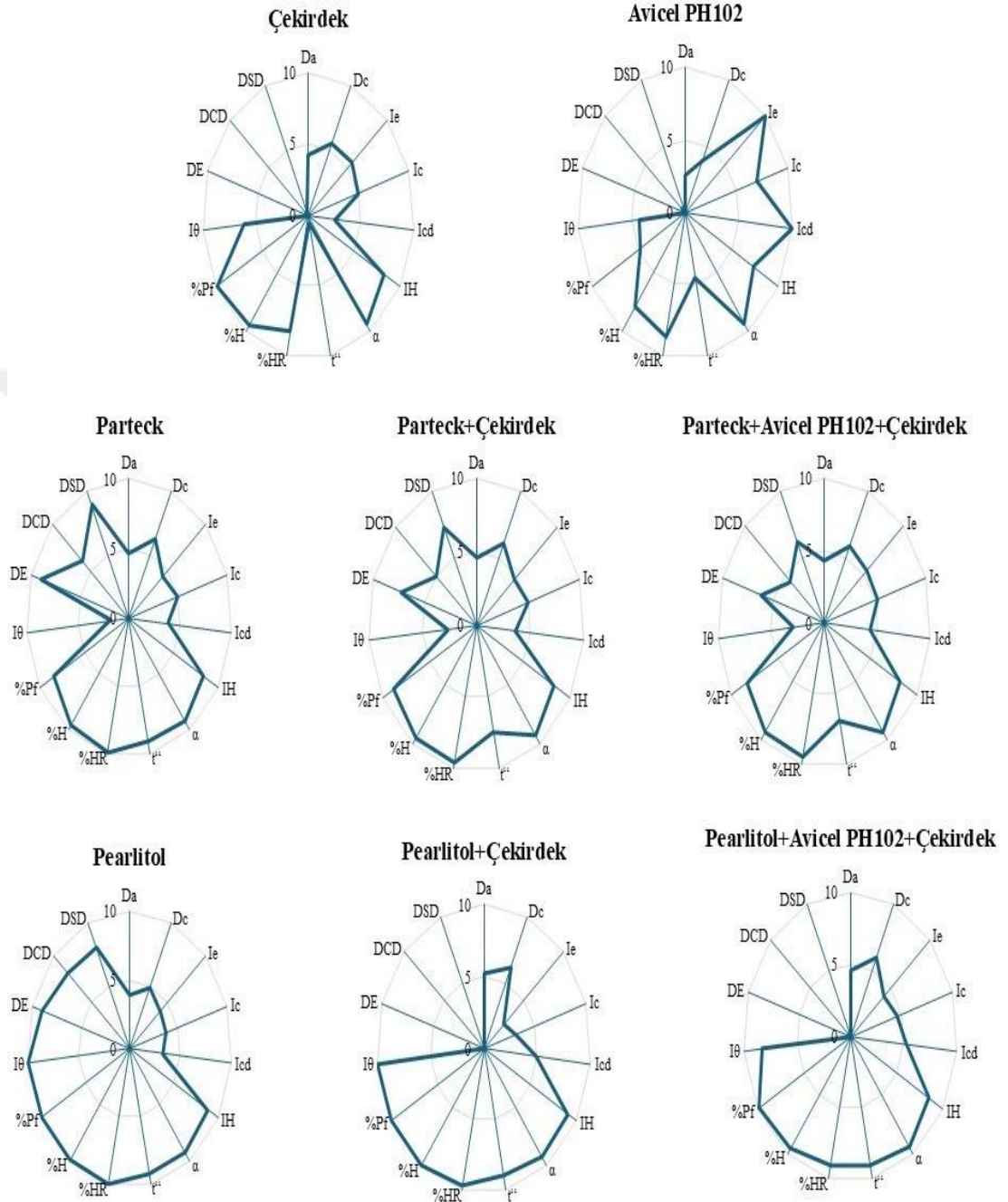
**Tablo 4.25.** Pearlitol'ün tek başına kullanıldığı durumda tablet formülasyonu ve teorik faktör yarıçapları.

| Bileşen              | Bileşen Yüzdesi (%) | Basılabilirlik | Parçalanabilirlik |
|----------------------|---------------------|----------------|-------------------|
| AML                  | 5,33                | 4,34           | 0,17              |
| ROS                  | 8,01                |                |                   |
| Aspartam             | 1                   |                |                   |
| Asesülfam Potasyum   | 1                   |                |                   |
| Mg Stearat           | 1,00                |                |                   |
| Talk                 | 2,36                |                |                   |
| Aerosil              | 0,14                |                |                   |
| Pearlitol            | 81,16               | 3,69           | 8,39              |
| <b>Toplam Tablet</b> | <b>100,00</b>       | <b>3,81</b>    | <b>6,85</b>       |

**Tablo 4.26.** Pearlitol'ün Avicel PH102 ile beraber kullanıldığı durumda tablet formülasyonu ve teorik faktör yarıçapları.

| Bileşen              | Bileşen Yüzdesi (%) | Basılabilirlik | Parçalanabilirlik |
|----------------------|---------------------|----------------|-------------------|
| AML                  | 5,33                | 4,34           | 0,17              |
| ROS                  | 8,01                |                |                   |
| Aspartam             | 1                   |                |                   |
| Asesülfam Potasyum   | 1                   |                |                   |
| Mg Stearat           | 1,00                |                |                   |
| Talk                 | 2,36                |                |                   |
| Aerosil              | 0,14                | 3,69           | 8,39              |
| Pearlitol            | 58,88               |                |                   |
| Avicel PH102         | 22,28               | 9,01           | 0,14              |
| <b>Toplam Tablet</b> | 100,00              | <b>5,00</b>    | <b>5,01</b>       |

Söz konusu 4 toz karışımı SeDeM-ODT uzman sistemince karakterize edilmiştir. Elde edilen SeDeM-ODT diyagramları Şekil 4.20.'de verilmiştir. İndeks değerleri en iyi olan toz karışımı aday formülasyon olarak seçilmiştir. Parateck içeren formülasyonların (P+Ç ve P+A+Ç) Pİ, PPI ve İBİ değerleri daha iyi olduğu için (Tablo 4.27.) bu iki formülasyonun ADT basımları yapılmış ve temel ADT karakterizasyonları (kırılgenlik ve dağılma testi) yapılarak optimum formülasyona karar verilmiştir.



**Şekil 4.20.** Optimum formülasyonu elde etmek için hazırlanan toz karışımlarının SeDeM-ODT diyagramları.

**Tablo 4.27.** Aday ADT formülasyonları SeDeM-ODT uzman sistemi karakterizasyon sonuçları.

| Parametre                                  | Parteck+<br>Çekirdek<br>Karışım<br>(P+Ç) | Parteck+<br>Avicel<br>PH102+<br>Çekirdek<br>Karışım<br>(P+A+Ç) | Pearlitol+<br>Çekirdek<br>Karışım | Pearlitol+ Avicel<br>PH102+ Çekirdek<br>Karışım |
|--------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------|
| Boyut                                      | 5,91                                     | 5,81                                                           | 5,70                              | 5,27                                            |
| Basılabilirlik                             | 4,27                                     | 5,11                                                           | 3,51                              | 4,70                                            |
| Akışkanlık/Toz akışı                       | 8,95                                     | 8,71                                                           | 9,08                              | 8,98                                            |
| Kayganlık/Stabilite                        | 9,37                                     | 9,18                                                           | 9,78                              | 9,36                                            |
| Kayganlık/Dozaj formu                      | 6,19                                     | 6,09                                                           | 10,00                             | 9,12                                            |
| Parçalanabilirlik                          | 3,49                                     | 3,16                                                           | 0,00                              | 0,09                                            |
| Parametrik İndeks                          | 0,60                                     | 0,60                                                           | 0,60                              | 0,60                                            |
| Parametrik Profil İndeksi                  | <b>6,20</b>                              | <b>6,21</b>                                                    | 5,92                              | 5,92                                            |
| İyi Basım ve<br>Bukodispersibilite İndeksi | <b>6,02</b>                              | <b>6,03</b>                                                    | 5,74                              | 5,75                                            |

Koyu harflerle yazılan değerler PPİ ve İBİ değerleri daha iyi olan Parteck karışımlarının göstermektedir.

P+Ç ve P+A+Ç toz karışımlarının SeDeM-ODT uzman sistemi ile elde edilen teorik yarıçap değerleri ile deneysel elde edilen yarıçap değerleri Tablo 4.28.'de karşılaştırılmıştır. Parçalanabilirlik değerlerinin 5'ten küçük çıkması nedeniyle SeDeM-ODT uzman sisteminin performansının irdelenmesi gerekmiştir. Söz konusu sistem olabildiğince maksimum sertlikte basılan tabletlerin dağılma ve efervesan sürelerini ölçmeyi hedeflemektedir. Birden fazla eksipiyan içeren toz karışımlarının yüksek sertlikte sıkıştırılabilme özelliği göstermesi sonucunda kohezyon indeksleri beklenen değerlerin üzerinde çıkmış ve dağılma ve efervesan süreleri uzamıştır. Bu sebeple 2 toz karışımının teorik olarak göstereceği maksimum tablet sertlik değerleri hedeflenerek, daha düşük sertlikte tabletler basılmıştır. SeDeM-ODT-Hedefli sertlik ile basılan tabletlerin SeDeM-ODT uzman sistemi profilleri yeniden çıkarılmıştır. Elde edilen yeni basılabilirlik ve parçalanabilirlik yarıçap değerleri Tablo 4.28.'de

sunulmuştur. Parçalanabilirlik değerlerinin SeDeM-ODT Hedefli sertlik ile teorik yarıçap değerlerine yakın ve yüksek çıktığı görülmüştür.

**Tablo 4.28.** P+Ç ve P+A+Ç ADT toz karışımlarının ve düşük sertlikte elde edilen ADT tozlarının SeDeM-ODT karakterizasyon sonuçları.

| <b>P+Ç Toz Karışımı</b>          | <b>Basılabilirlik</b> | <b>Parçalanabilirlik</b> |
|----------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| Teorik Yarıçap Değeri            | 4,42                  | 6,55                     |
| Gerçekleşen Yarıçap Değeri       | 4,27                  | 3,49                     |
| SeDeM-ODT Hedefli Yarıçap Değeri | 3,72                  | 6,94                     |
| <b>P+A+Ç Toz Karışımı</b>        | <b>Basılabilirlik</b> | <b>Parçalanabilirlik</b> |
| Teorik Yarıçap Değeri            | 5,00                  | 5,55                     |
| Gerçekleşen Yarıçap Değeri       | 5,11                  | 3,16                     |
| SeDeM-ODT Hedefli Yarıçap Değeri | 4,75                  | 5,74                     |

P+Ç ve P+A+Ç toz karışımları ile elde edilen ağızda dağılan tabletlerin ilk olarak kırılma hızı(%) özellikleri değerlendirilmiştir. Aşağıdaki tabloda da gösterildiği üzere P+Ç tabletleri için artan sertliklerde uygun kırılma hızı özellikleri elde edilememiştir (Tablo 4.29.).

**Tablo 4.29.** Farklı sertliklerde basılan P+Ç karışımı ile üretilmiş ADT tabletlerinin kırılma hızı değerleri.

| <b>Parateck+Çekirdek Toz Karışımı (P+Ç)</b> |                      |                      |                      |
|---------------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <b>Sertlik</b>                              | 20 N                 | 35 N                 | 60 N                 |
| <b>Kırılma hızı (%)</b>                     | 4 tablet kırılmıştır | 1 tablet kırılmıştır | 3 tablet kırılmıştır |

P+A+Ç içeren toz karışımı ile elde edilen tabletlerin de sertlik ve kırılma hızı değerleri elde edilmiştir. En uygun sertlikteki tablet formülasyonuna karar vermek için P+A+Ç tozu ile elde edilmiş farklı sertlikteki ADT'lerin distile su ortamında dağılma süreleri tayin edilmiştir (Tablo 4.30.). Dağılma süreleri daha iyi olan ve yaklaşık 50 N sertlikteki tablet formülasyonunun optimum ADT formülasyonu olarak seçilmesine

karar verilmiştir. Optimum formülasyonun (P+A+Ç-ADT; PAÇ) ADT karakterizasyonları için çalışılmasına karar verilmiştir.

**Tablo 4.30.** Farklı sertliklerde basılan P+A+Ç karışımı ile elde edilen ADT tabletlerinin kırılmalık ve dağılma testi sonuçları.

| <b>Parateck+Avicel+Çekirdek</b> |                      |      |      |
|---------------------------------|----------------------|------|------|
| <b>Sertlik (N)</b>              | 20 N                 | 50 N | 85 N |
| <b>Friyabilite %</b>            | 2 tablet kırılmıştır | 0,74 | 0,41 |
| <b>Dağılma-Distile Su (sn)</b>  | 15,6                 | 17   | 46   |

#### 4.6.2. Optimum ADT Formülasyonundan Hareketle Diğer ADT Formülasyonlarının Üretilmesi ve SeDeM-ODT Uzman Sistemi ile Karakterizasyonu

P+A+Ç toz karışımından elde edilen PAÇ tabletinin ADT karakterizasyonları Bölüm 3.2.6'da belirtildiği üzere yapılmıştır. Siklodekstrin kompleksleri ile elde edilen iki farklı etkin madde formunu (AML:CD 1:1 ve ROS:CD 1:1) kullanılarak iki farklı ADT formülasyonu basılmıştır (AMLCD ve ROSCD). Katı dispersiyon çalışmalarından elde edilen AML:Eudragit E100 dispersiyonu kullanılarak bir ADT formülasyonu basılmıştır (AMLEUD). Bu formülasyonlar basılırken optimum P+A+Ç toz karışımındaki süper dağıtıcı oranı azaltılarak yeni karışım oranları elde edilmiştir (Tablo 4.31.).

**Tablo 4.31.** ADT karakterizasyonları için üretilen ADT formülasyonları.

| Bileşen            | Üretilen ADT Formülasyonu |       |       |        |
|--------------------|---------------------------|-------|-------|--------|
|                    | PAÇ                       | AMLCD | ROSCD | AMLEUD |
|                    | %                         | %     | %     | %      |
| AML                | 5,33                      | -     | 5,33  | -      |
| AML:CD 1:1         | -                         | 17,53 | -     | -      |
| AML:EUD 1:1        | -                         |       | -     | 10,29  |
| ROS                | 8,01                      | 8,01  | -     | 8,01   |
| ROS:CD 1:1         | -                         | -     | 18,79 | -      |
| Parateck           | 68,43                     | 56,23 | 57,65 | 63,47  |
| Avicel PH102       | 12,73                     | 12,73 | 12,73 | 12,73  |
| Aspartam           | 1                         | 1     | 1     | 1      |
| Asesülfam Potasyum | 1                         | 1     | 1     | 1      |
| Mg Stearat         | 1                         | 1     | 1     | 1      |
| Talk               | 2,36                      | 2,36  | 2,36  | 2,36   |
| Aerosil            | 0,14                      | 0,14  | 0,14  | 0,14   |
| <b>Toplam</b>      | 100                       | 100   | 100   | 100    |

Yeni toz karışımlarında kullanılan etkin madde varyasyonlarının (AML:CD; ROS:CD ve AML:EUD) toz karışımına etkisini değerlendirebilmek amacıyla SeDeM-ODT profillerinin teorik sonuçları hesaplanmıştır. Madde miktarlarının kısıtlı olması nedeniyle üretilen yeni tozların SeDeM-ODT uzman sistemince karakterize edilmesi için yeterli miktarda toz üretilenmemiştir. Bu amaçla yapılan hesaplamalarda yeni üretilen etkin madde varyasyonunun teorik SeDeM-ODT değerleri “0” olarak kabul edilmiştir. Teorik SeDeM-ODT hesaplamalarının sonuçları ile deneysel sonuçların ve P+A+Ç tozu sonuçlarının karşılaştırılması Tablo 4.32.’de verilmiştir. Teorik olarak tüm etkin madde varyasyonlarının SeDeM-ODT yarıçap değerlerinin “0” olması halinde bile Pİ, PPI ve İBİ değerleri kabul edilebilir değerlerin üzerinde hesaplanmış ve bu tozların direkt basım ADT üretimi için kullanılabileceği değerlendirilmiştir.

**Tablo 4.32.** Teorik ve Deneysel SeDeM-ODT sonuçlarının yeni ADT varyasyonları için karşılaştırılması.

| Parametre                                              | PAÇ      | AMLCD  |          | ROSCD  |          | AMLEUD |          |
|--------------------------------------------------------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|
|                                                        | Deneysel | Teorik | Deneysel | Teorik | Deneysel | Teorik | Deneysel |
| <b>Boyut</b>                                           | 5,81     | 4,19   | 4,46     | 4,04   | 4,11     | 4,58   | 6,17     |
| <b>Basılabilirlik</b>                                  | 5,11     | 4,20   | 6,03     | 4,26   | 6,51     | 4,52   | 4,35     |
| <b>Parçalanabilirlik</b>                               | 3,16     | 4,56   | 0,00     | 4,68   | 0,00     | 5,14   | 1,22     |
| <b>Akışkanlık/<br/>Toz akışı</b>                       | 8,71     | 6,72   | 9,00     | 6,68   | 8,50     | 7,37   | 8,94     |
| <b>Kayganlık/<br/>Stabilite</b>                        | 9,18     | 7,69   | 8,70     | 7,70   | 9,02     | 8,39   | 9,06     |
| <b>Kayganlık/<br/>Dozaj formu</b>                      | 6,09     | 4,68   | 4,82     | 4,39   | 2,37     | 5,05   | 5,33     |
| <b>Parametrik<br/>İndeks</b>                           | 0,60     | 0,53   | 0,60     | 0,53   | 0,53     | 0,60   | 0,60     |
| <b>Parametrik Profil<br/>İndeksi</b>                   | 6,21     | 5,30   | 5,40     | 5,27   | 5,07     | 5,81   | 5,64     |
| <b>İyi Basım ve<br/>Bukodispersibilite<br/>İndeksi</b> | 6,03     | 5,15   | 5,25     | 5,12   | 4,92     | 5,64   | 5,48     |

Üretilen yeni ADT formülasyonlarında kullanılan toz karışımlarının SeDeM-ODT uzman sistemi karakterizasyon sonuçları Tablo 4.33.'te verilmiştir. Elde edilen toz karışımlarından sadece ROSCD formülasyonunda kullanılan toz karışımının iyi basım ve bukodispersibilite indeksi 5'in altında çıkmıştır. Tüm yeni ADT toz karışımlarının Pİ, ve PPI değerleri kabul edilebilir çıkmıştır.

**Tablo 4.33.** Optimum ADT formülasyonundan hareketle üretilen yeni ADT toz karışımlarının SeDeM-ODT karakterizasyonundan tayin edilen yarıçap değerleri.

| <b>Parametre/Faktör/İndeks</b>                 | <b>AMLCD</b> | <b>ROSCD</b> | <b>AMLEUD</b> | <b>PAÇ</b> |
|------------------------------------------------|--------------|--------------|---------------|------------|
| <b>Kütle dansitesi</b>                         | 3,87         | 3,45         | 5,50          | 4,93       |
| <b>Sıkıştırılmış dansite</b>                   | 5,05         | 4,77         | 6,85          | 6,69       |
| <b>Partikül arası porozite</b>                 | 5,02         | 6,71         | 2,99          | 4,45       |
| <b>Carr İndeks</b>                             | 4,67         | 5,56         | 3,94          | 5,26       |
| <b>Kohezyon İndeksi</b>                        | 8,40         | 7,25         | 6,11          | 5,62       |
| <b>Hausner oranı</b>                           | 8,48         | 8,08         | 8,77          | 8,21       |
| <b>Yığın açısı</b>                             | 9,28         | 9,41         | 9,28          | 9,33       |
| <b>Toz akışı</b>                               | 9,24         | 8,00         | 8,75          | 8,58       |
| <b>Kurutmada kayıp</b>                         | 8,71         | 9,04         | 8,95          | 8,99       |
| <b>Higroskopisi</b>                            | 8,70         | 8,99         | 9,17          | 9,37       |
| <b>&lt; 50 µm partikül oranı</b>               | 7,93         | 2,87         | 8,65          | 9,78       |
| <b>Homojenlik indeksi</b>                      | 1,71         | 1,86         | 2,01          | 2,39       |
| <b>Efervesan süresi</b>                        | 0,00         | 0,00         | 2,00          | 4,34       |
| <b>Diskle dağılma süresi</b>                   | 0,00         | 0,00         | 1,06          | 2,49       |
| <b>Disk olmadan dağılma süresi</b>             | 0,00         | 0,00         | 0,60          | 2,66       |
| <b>Boyut</b>                                   | 4,46         | 4,11         | 6,17          | 5,81       |
| <b>Basılabilirlik</b>                          | 6,03         | 6,51         | 4,35          | 5,11       |
| <b>Akışkanlık/Toz akışı</b>                    | 9,00         | 8,50         | 8,94          | 8,71       |
| <b>Kayganlık/Stabilite</b>                     | 8,70         | 9,02         | 9,06          | 9,18       |
| <b>Kayganlık/Dozaj formu</b>                   | 4,82         | 2,37         | 5,33          | 6,09       |
| <b>Parçalanabilirlik</b>                       | 0,00         | 0,00         | 1,22          | 3,16       |
| <b>Parametrik İndeks</b>                       | 0,60         | 0,53         | 0,60          | 0,60       |
| <b>Parametrik Profil İndeksi</b>               | 5,40         | 5,07         | 5,64          | 6,21       |
| <b>İyi Basım ve Bukodispersibilite İndeksi</b> | 5,25         | 4,92         | 5,48          | 6,03       |

#### 4.6.3. Ağızda Dağılan Tablet Formülasyonlarında Yapılan Kontroller

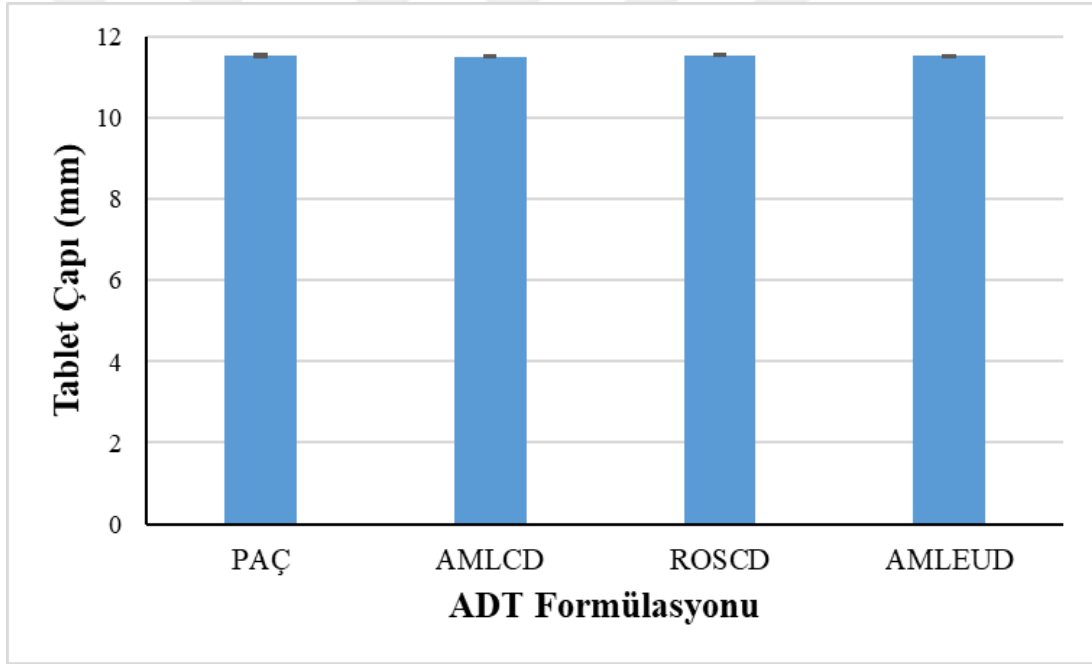
Üretilen 4 ADT formülasyonu (PAÇ, AMLCD, ROSCD ve AMLEUD) Bölüm 3.2.6’da belirtilen yöntemler kullanılarak karakterize edilmiştir. Çap, kalınlık ve sertlik tayini, kırılabilirlik tayini, dağılma süreleri, içerik ve kütle tek düzeligi ve çözünme hızı deneyleri yapılmıştır. Formülasyonların çözünme hızı hariç elde edilen karakterizasyon sonuçları Tablo 4.34.’te özetlenmiştir.

**Tablo 4.34.** ADT formülasyonların tablet karakterizasyonları (Ort±SS).

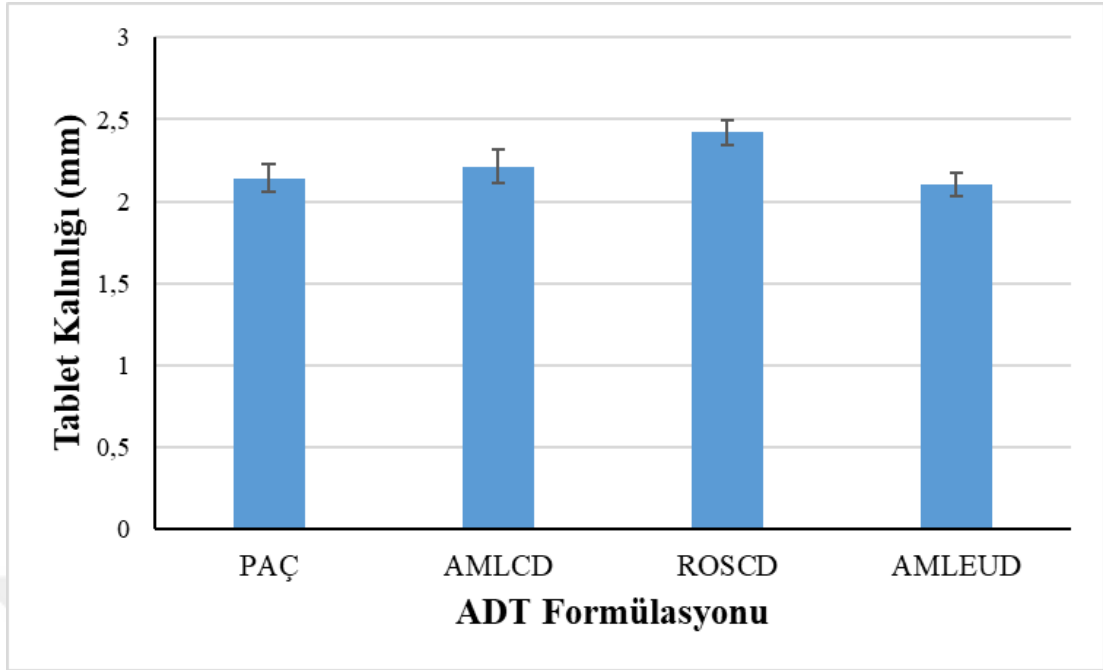
| Parametre                                       | PAÇ         | AMLCD       | ROSCD       | AMLEUD      |
|-------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Kalınlık<br/>(mm; n=20)</b>                  | 2,14±0,08   | 2,21±0,10   | 2,42±0,08   | 2,10±0,07   |
| <b>Çap<br/>(mm; n=20)</b>                       | 11,54±0,03  | 11,51±0,01  | 11,55±0,02  | 11,52±0,01  |
| <b>Ağırlık<br/>(mg; n=20)</b>                   | 260,16±2,13 | 260,95±3,93 | 260,18±3,19 | 260,20±1,73 |
| <b>Sertlik<br/>(N; n=10)</b>                    | 50±3,98     | 49,16±6,91  | 40,95±8,40  | 46,46±3,30  |
| <b>Kırılabilirlik<br/>(%)</b>                   | 0,74        | 0,69        | 0,48        | 0,84        |
| <b>Dağılma-<br/>Distile Su<br/>(sn; n=6)</b>    | 17±2,37     | 32±2,45     | 25,83±6,34  | 14,33±0,52  |
| <b>Dağılma-<br/>Yapay Tükürük<br/>(sn; n=6)</b> | 17±0,82     | 25,33±3,08  | 25,17±5,42  | 12,17±0,41  |

- *Çap-Kalınlık ve Sertlik Tayini*

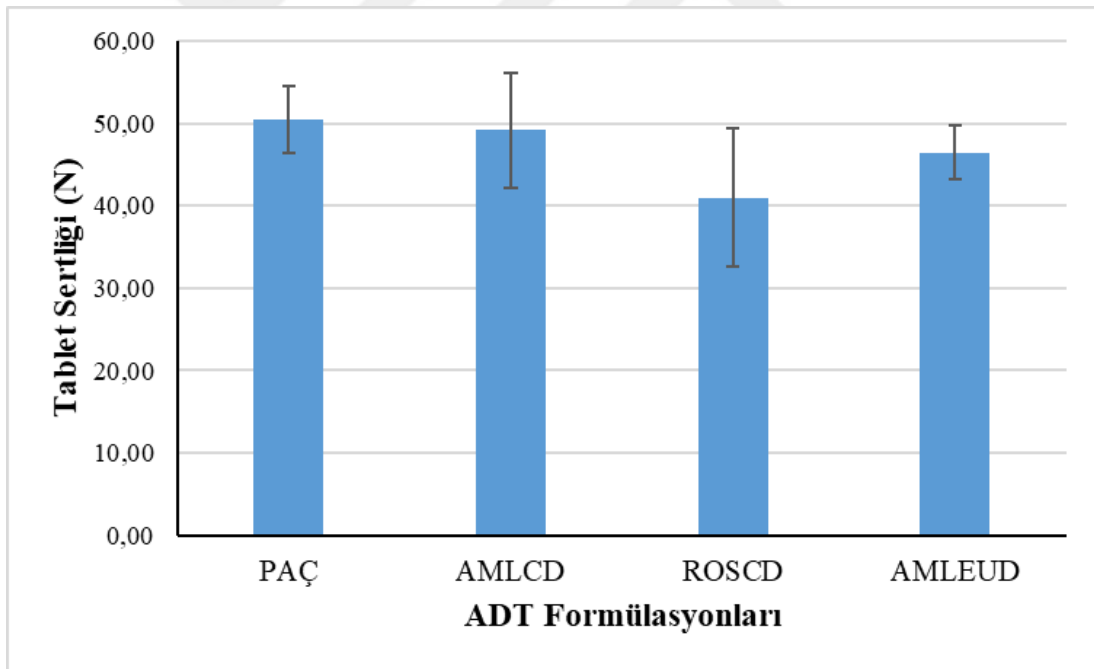
Üretilen ADT formülasyonlarının çap ve kalınlık tayinleri Bölüm 3.2.6'da belirtildiği üzere gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.21.'de tabletlerin çap değerleri Şekil 4.22.'de ise kalınlık değerleri sunulmuştur. P+A+Ç toz karışımından hareketle üretilen 3 yeni toz karışımından elde edilen ADT formülasyonlarında PAÇ tableti ile kıyasla ROSCD tableti için çap değerinde anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ( $p>0,05$ ). PAÇ tabletine kıyasla AMLCD ve AMLEUD için tablet kalınlığı anlamlı bir şekilde değişmezken ( $p>0,05$ ), ROSCD tabletinde daha kalın tabletler elde edilmiştir ( $p<0,001$ ). Tabletlerin sertlik değerleri Şekil 4.23.'te verilmiştir. AMLCD tabletinin sertlik değeri PAÇ tableti ile benzer çıkmıştır ( $p=0,61$ ). ROSCD ve AMLEUD tabletleri PAÇ tabletine göre daha düşük sertlik sonucu vermiştir ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.21.** ADT formülasyonlarının tablet çap değerleri (Ort±SS, n=20).



Şekil 4.22. ADT formülasyonlarının tablet kalınlık değerleri (Ort±SS, n=20).



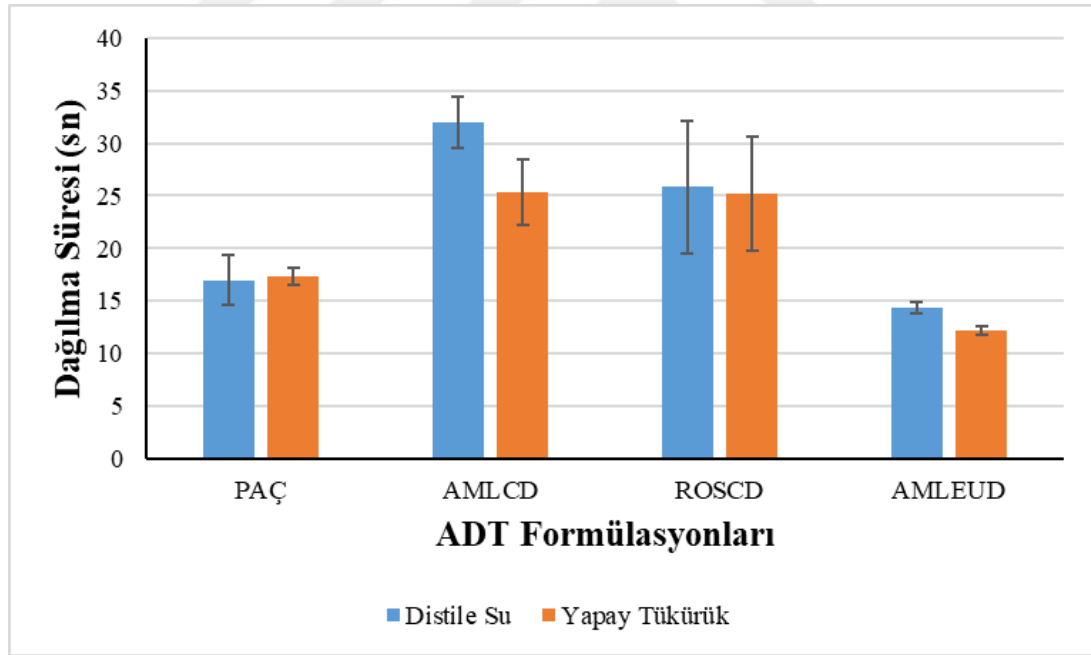
Şekil 4.23. ADT formülasyonlarının tablet sertlik değerleri (Ort±SS, n=10).

- *Kırılgenlik Tayini*

PAÇ, AMLCD, ROSCD ve AMLEUD tabletleri için sırasıyla kırılgenlik sonuçları; %0,74, %0,69, %0,48 ve %0,84 bulunmuştur. Tüm değerlerin %1'in altında olması sonuçların kabul kriterlerini sağladığını göstermektedir.

- *Dağılma Süresi Tayini*

ADT'lerin dağılma süreleri hem distile su ortamında hem de yapay tükürük ortamında ölçülmüştür (Şekil 4.24.; Tablo 4.34.). Avrupa Farmakopesi kriterlerini karşılayarak tüm tabletler 3 dakikadan kısa bir sürede dağılmıştır. FDA, ADT formülasyonları için 30 saniyeden kısa sürede dağılma şartını ortaya sürmektedir. Sadece AMLCD tableti distile su ortamında  $32 \pm 2,45$  sn dağılma süresi göstererek bu kriterin dışında kalmıştır. Distile su ve yapay tükürük ortamında PAÇ tabletine kıyasla AMLEUD tabletinin dağılma süreleri anlamlı derecede kısalmışken AMLCD ve ROSCD tabletleri için dağılma süreleri anlamlı derecede uzamıştır ( $p < 0,05$ ).



**Şekil 4.24.** ADT Formülasyonlarının dağılma süreleri (Ort±SS, n=6).

- *İçerik Tekdüzeliliği*

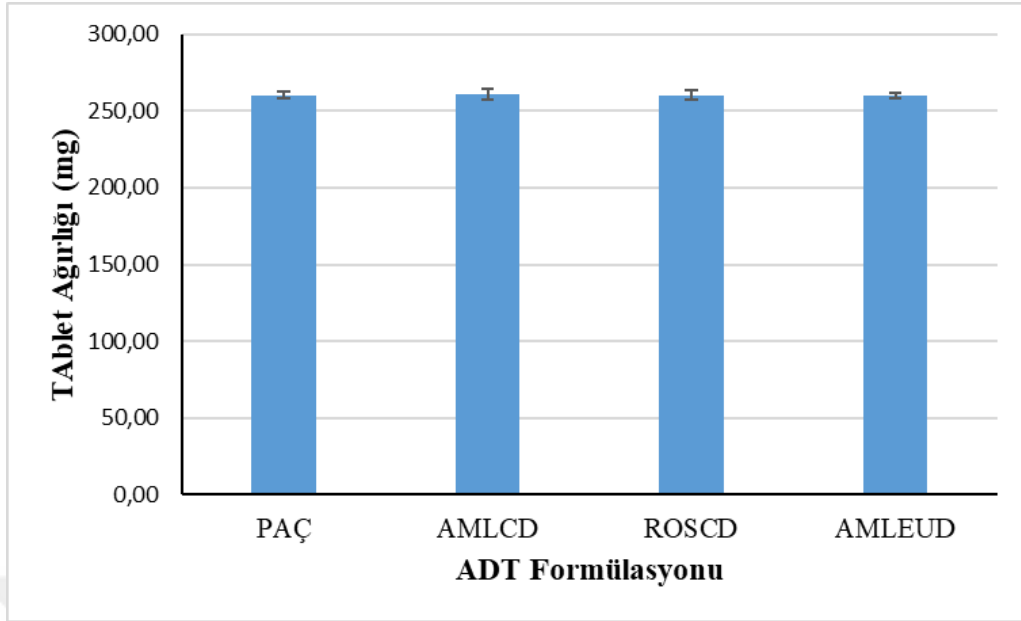
ADT formülasyonlarının grup içi ortalama etkin madde içeriğine göre % sapma miktarlarının ortalama değerleri Tablo 4.35.'te verilmiştir. Tüm formülasyonlarda etkin maddeler her bir örnek için ortalama içerik miktarının %85 ile %115 arasındaki bir değerde içerik göstererek kabul kriterlerini karşılamıştır.

**Tablo 4.35.** ADF formülasyonları içerik tekdüzeliği sonuçları (Ort $\pm$ SS; n=10).

| Formülasyon | Ortalama İçeriğe Göre Birim Dozların % Değerleri |                   |
|-------------|--------------------------------------------------|-------------------|
|             | AML                                              | ROS               |
| PAÇ         | 99,99 $\pm$ 2,6                                  | 99,99 $\pm$ 2,51  |
| AMLCD       | 99,3 $\pm$ 4,78                                  | 98,81 $\pm$ 3,44  |
| ROSCD       | 101,33 $\pm$ 6,36                                | 101,58 $\pm$ 4,26 |
| AMLEUD      | 99,99 $\pm$ 8,33                                 | 100,01 $\pm$ 8,17 |

- *Kütle Tekdüzeliliği*

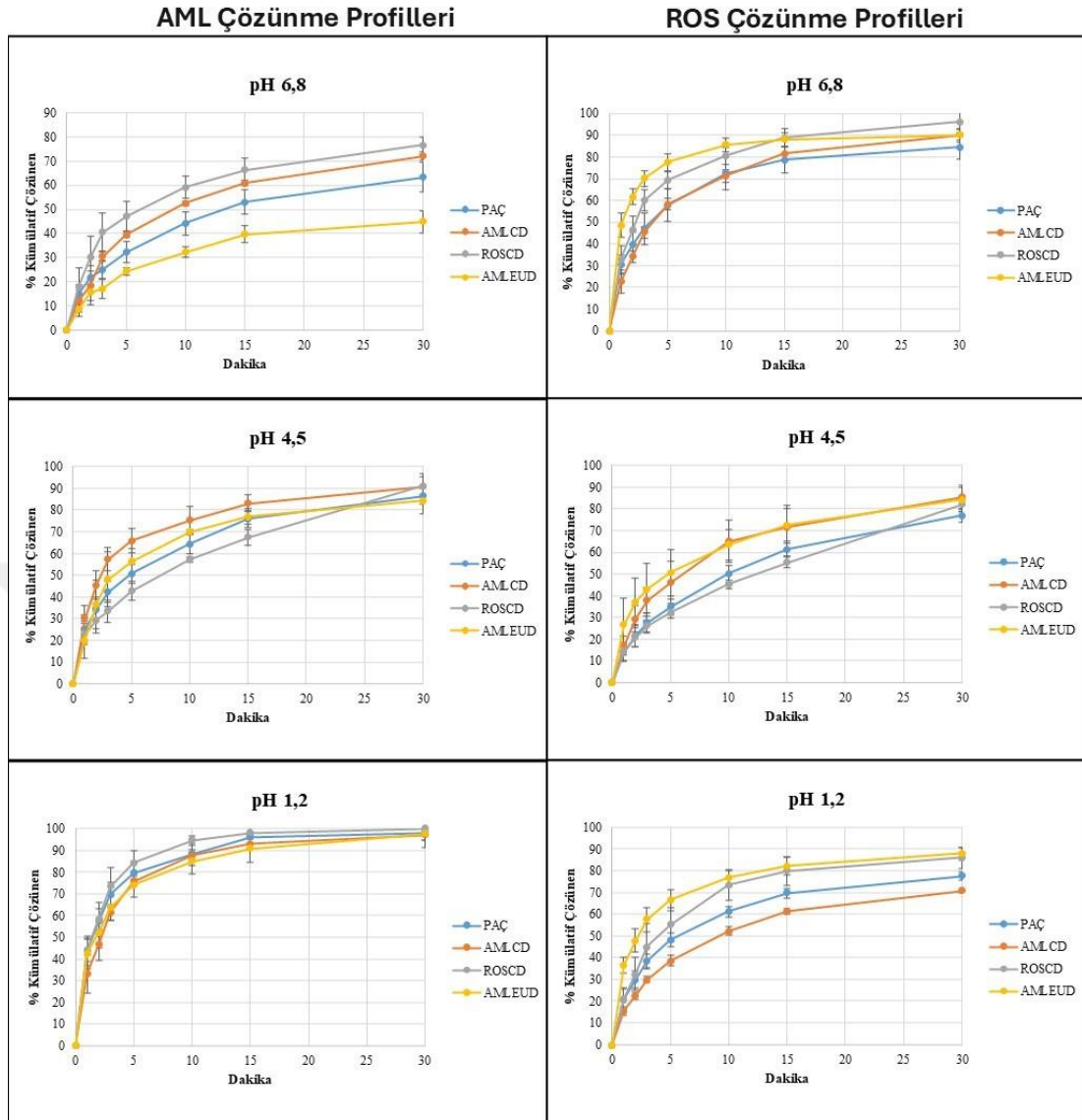
ADT formülasyonlarının Bölüm 3.2.6'da belirtildiği üzere 20 rastgele numunesinin tartımları yapılmıştır. Ölçülen tabletlerin en fazla 2 tanesi için ortalama değerden yüzde sapma değerinin %5'ten fazla olmaması, hiçbir tabletin ağırlığının yüzde sapma değerinin %10'dan fazla olmaması kriterleri değerlendirilmiştir. Ölçülen tablet ağırlıkları Şekil 4.25.'te verilmiştir. PAÇ tabletine kıyasla hiçbir tabletin ağırlık değerleri farklı bulunmamıştır (p>0,05). Tüm tabletlerin ağırlıkları ortalama değer %95'i ile %105'i arasında bulunmuştur.



**Şekil 4.25.** ADT Formülasyonlarının tablet ağırlık ortalamaları (Ort±SS; n=20).

- *İn vitro Çözünme Hızı Çalışmaları*

ADT formülasyonlarının üç pH ortamında (1,2; 4,5 ve 6,8) çözünme hızı incelenmiştir (Şekil 4.26.). Tüm formülasyonların PAÇ tablete kıyasla f2 benzerlik faktörü hesaplanmıştır. Tablo 4.36.'da formülasyonların PAÇ tablete kıyasla f2 değerleri AML ve ROS için verilmiştir. Formülasyonların 3 çözünme ortamında 5, 10, 15 ve 30 dakika sonunda elde edilen %çözünen değerleri AML ve ROS etkin maddeleri için ayrı ayrı olarak Tablo 4.37. ve Tablo 4.38.'de verilmiştir.



**Şekil 4.26.** ADT formülasyonlarının çözünme hızı profilleri (Ort±SS; n=6).

**Tablo 4.36.** PAÇ tabletine kıyasla ADT formülasyonlarının  $f_2$  değerleri.

| Etkin Madde | Formülasyon | pH 6.8 | pH 4.5 | pH 1.2 |
|-------------|-------------|--------|--------|--------|
| AML         | AMLCD       | 60,00  | 49,00  | *      |
|             | ROSCD       | 45,00  | 58,00  | *      |
|             | AMLEUD      | 47,00  | 68,00  | *      |
| ROS         | AMLCD       | 67,00  | 50,00  | 55,00  |
|             | ROSCD       | 50,00  | 71,00  | 55,00  |
|             | AMLEUD      | 38,00  | 44,00  | 40,00  |

\* Çözünme hızı 15 dakika içerisinde %85'ten fazla olan formülasyonlar için  $f_2$  değeri hesaplanmamıştır.

**Tablo 4.37.** AML etkin maddesinin 3 ortamda (pH 1,2, 4,5 ve 6,8) çözünme profilleri (Ort $\pm$ SS; n=6).

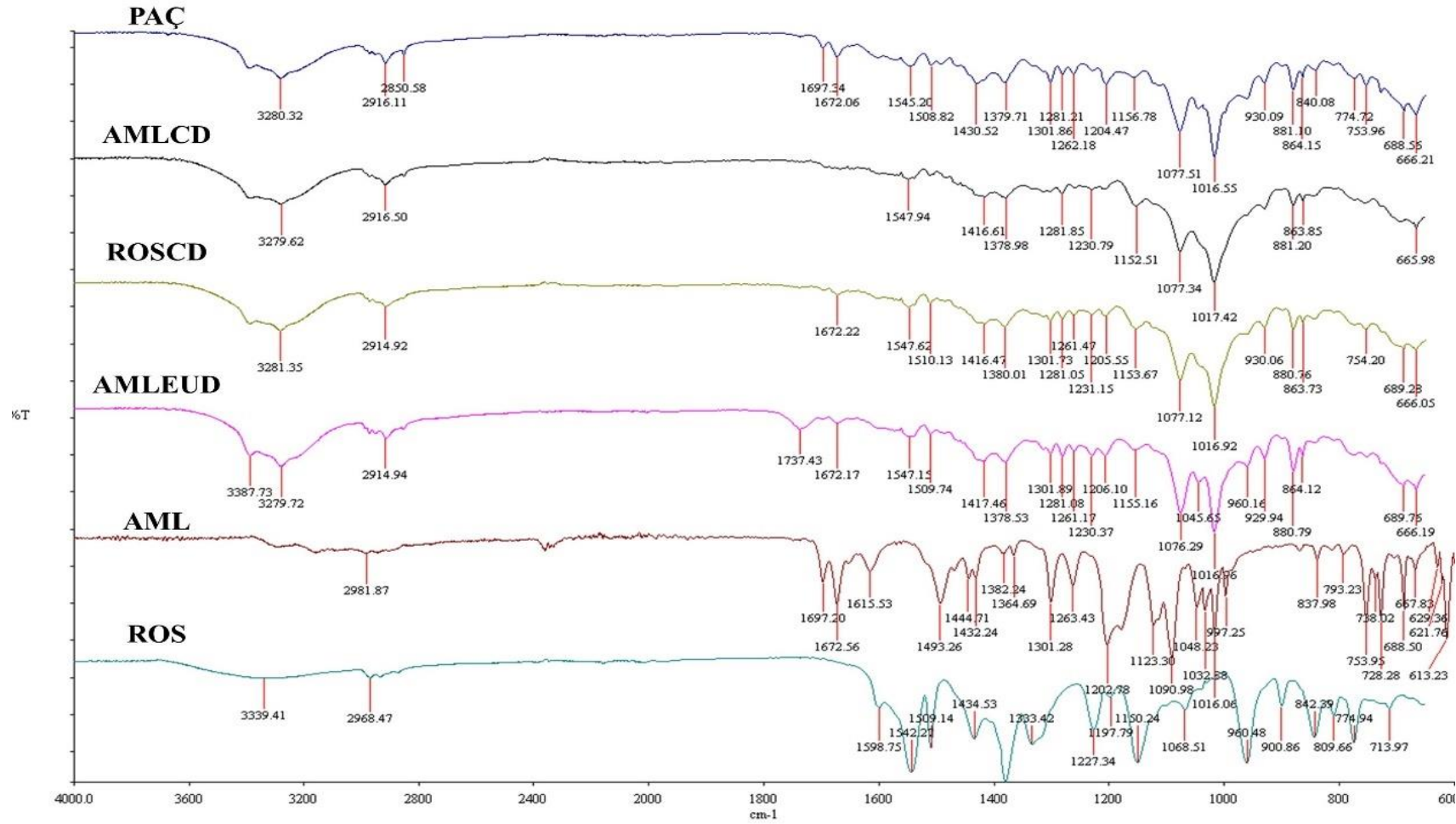
|             | AML % Çözünen    |                  |                  |                  |
|-------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Ortam       | pH 6,8           |                  |                  |                  |
| Formülasyon | PAÇ              | AMLCD            | ROSCD            | AMLEUD           |
| 5. dk       | 32,15 $\pm$ 4,34 | 39,52 $\pm$ 1,12 | 47,12 $\pm$ 6,24 | 24,25 $\pm$ 1,65 |
| 10. dk      | 44,17 $\pm$ 4,71 | 52,46 $\pm$ 0,94 | 59,21 $\pm$ 4,39 | 32,25 $\pm$ 2,17 |
| 15. dk      | 53,04 $\pm$ 4,91 | 60,83 $\pm$ 1,15 | 66,29 $\pm$ 4,99 | 39,61 $\pm$ 3,46 |
| 30. dk      | 63,27 $\pm$ 6,11 | 71,94 $\pm$ 1,74 | 76,55 $\pm$ 3,58 | 44,82 $\pm$ 4,66 |
| Ortam       | pH 4,5           |                  |                  |                  |
| Formülasyon | PAÇ              | AMLCD            | ROSCD            | AMLEUD           |
| 5. dk       | 50,72 $\pm$ 4,38 | 65,81 $\pm$ 5,68 | 42,69 $\pm$ 4,29 | 56,41 $\pm$ 6,04 |
| 10. dk      | 64,26 $\pm$ 4,41 | 75,19 $\pm$ 6,35 | 57,33 $\pm$ 1,16 | 69,97 $\pm$ 0,97 |
| 15. dk      | 76,00 $\pm$ 3,81 | 83,15 $\pm$ 3,91 | 67,40 $\pm$ 3,72 | 77,06 $\pm$ 3,71 |
| 30. dk      | 86,33 $\pm$ 3,57 | 90,79 $\pm$ 6,06 | 91,15 $\pm$ 3,91 | 84,36 $\pm$ 6,03 |
| Ortam       | pH 1,2           |                  |                  |                  |
| Formülasyon | PAÇ              | AMLCD            | ROSCD            | AMLEUD           |
| 5. dk       | 79,66 $\pm$ 5,50 | 75,72 $\pm$ 1,08 | 84,20 $\pm$ 5,82 | 74,04 $\pm$ 5,40 |
| 10. dk      | 88,27 $\pm$ 5,04 | 87,60 $\pm$ 1,60 | 94,63 $\pm$ 2,27 | 84,96 $\pm$ 5,51 |
| 15. dk      | 96,08 $\pm$ 5,07 | 93,11 $\pm$ 2,40 | 98,24 $\pm$ 2,35 | 90,81 $\pm$ 6,32 |
| 30. dk      | 98,15 $\pm$ 3,24 | 97,20 $\pm$ 2,41 | 99,97 $\pm$ 1,40 | 97,57 $\pm$ 5,96 |

**Tablo 4.38.** ROS etkin maddesinin 3 ortamda (pH 1,2, 4,5 ve 6,8) çözünme profilleri.

|             | ROS % Çözünen |            |            |             |
|-------------|---------------|------------|------------|-------------|
| Ortam       | pH 6,8        |            |            |             |
| Formülasyon | PAÇ           | AMLCD      | ROSCD      | AMLEUD      |
| 5. dk       | 57,64±7,54    | 58,27±2,52 | 69,33±4,03 | 77,64±3,96  |
| 10. dk      | 72,51±7,49    | 71,39±2,87 | 80,54±4,01 | 85,69±3,10  |
| 15. dk      | 78,68±6,22    | 81,51±3,14 | 88,84±4,23 | 88,08±3,02  |
| 30. dk      | 84,47±5,42    | 90,00±3,20 | 96,14±4,82 | 90,11±2,41  |
| Ortam       | pH 4,5        |            |            |             |
| Formülasyon | PAÇ           | AMLCD      | ROSCD      | AMLEUD      |
| 5. dk       | 34,94±3,71    | 46,10±9,67 | 32,32±2,53 | 50,69±10,70 |
| 10. dk      | 50,13±4,03    | 65,01±9,74 | 45,29±1,98 | 63,49±6,99  |
| 15. dk      | 61,30±3,08    | 71,57±9,91 | 55,41±2,25 | 72,62±7,62  |
| 30. dk      | 76,91±2,86    | 85,53±5,15 | 81,91±3,05 | 84,33±5,58  |
| Ortam       | pH 1,2        |            |            |             |
| Formülasyon | PAÇ           | AMLCD      | ROSCD      | AMLEUD      |
| 5. dk       | 48,29±3,24    | 38,65±2,40 | 55,11±7,82 | 66,45±4,72  |
| 10. dk      | 61,13±2,55    | 52,18±1,88 | 73,28±6,86 | 76,74±3,88  |
| 15. dk      | 69,61±2,27    | 61,22±1,34 | 79,77±6,37 | 82,08±4,04  |
| 30. dk      | 77,56±1,77    | 70,75±0,90 | 85,86±4,66 | 87,95±2,90  |

- *FT-IR Analizleri*

Geliştirilen dört ADT formülasyonunun ve etkin maddelerin FT-IR spektrumları Şekil 4.27.'de verilmiştir.



Şekil 4.27. ADT formülasyonlarının ve etkin maddelerin FT-IR spektrumları.

- *ADT Formülasyonları için Hızlandırılmış Stabilité Çalışmaları*

ADT formülasyonlarının 30 günlük hızlandırılmış stabilité testine ait sonuçlar Tablo 4.39.'da verilmiştir.

**Tablo 4.39.** ADT formülasyonlarının hızlandırılmış stabilité bulguları.

| ADT Formülasyonu | Zaman Noktası | AML (%)     | ROS (%)    | Dağılma Distile Su (sn) |
|------------------|---------------|-------------|------------|-------------------------|
| PAÇ              | 0. Gün        | 100         | 100        | 17,00±2,37              |
|                  | 15. Gün       | 92,54±5,31  | 90,76±5,47 | 14,17±2,14              |
|                  | 30. Gün       | 87,48±5,02  | 84,10±5,07 | 11,83±1,47              |
| AMLCD            | 0. Gün        | 100         | 100        | 32,00±2,45              |
|                  | 15. Gün       | 100,66±3,60 | 94,39±2,03 | 32,33±5,28              |
|                  | 30. Gün       | 102,35±5,27 | 93,54±1,64 | 33,17±8,06              |
| ROSCD            | 0. Gün        | 100         | 100        | 25,83±6,34              |
|                  | 15. Gün       | 95,77±8,2   | 95,51±5,8  | 28,33±4,50              |
|                  | 30. Gün       | 92,40±7,56  | 91,20±9,63 | 34,33±8,09              |
| AMLEUD           | 0. Gün        | 100         | 100        | 14,33±0,52              |
|                  | 15. Gün       | 99,47±3,00  | 98,97±4,96 | 14,5±1,34               |
|                  | 30. Gün       | 98,25±3,10  | 97,23±4,92 | 14,5±1,87               |

#### 4.7. Elektro-eğirme Tekniği ile Ağızda Dağılan Film Formülasyonlarının Geliştirilmesi

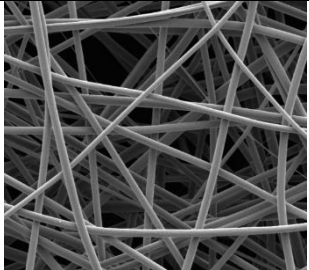
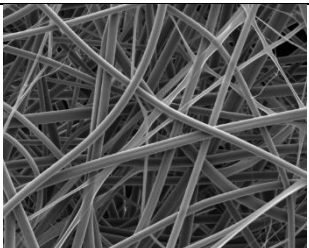
##### 4.7.1. Ön Formülasyon Çalışmaları

En uygun ağızda dağılan film formülasyonunu elde etmek için ön formülasyon çalışmaları yapılmıştır. Çalışmalar öncelikle toplayıcı tipinin seçimine odaklanmış ve tambur tipi toplayıcının, lif birikimi gibi gözlem koşullarına göre düz toplayıcıya göre daha üstün olduğunu ortaya çıkarmıştır. Daha sonra PVP konsantrasyonu (%6'dan %12'ye, a/h) polimer çözeltisinin eğrilebilirliği ile değerlendirilmiştir ve elde edilen fiber matın dağılma davranışı ile değerlendirilmiştir. Daha düşük PVP konsantrasyonları, kararsız polimer jet oluşumu nedeniyle nispeten istenmeyen bir üretim süreciyle sonuçlanmıştır. Ayrıca %12 (a/h) PVP polimer karışımı, kararlı lif

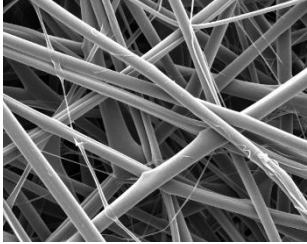
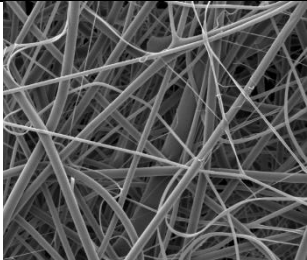
üretimi sağlayamamış ve elde edilen lif matın alüminyum tabakadan soyulması zorlaşmıştır. İlk denemelerden sonra %10 (a/h) PVP konsantrasyonunun elektro-eğirme tekniği için uygun olduğu ortaya çıkmıştır.

Elektro-eğirme işlem denemeleri, nozul ile toplayıcı arasında 18 cm mesafenin ve 1000 rpm tambur dönüş hızının uygun olduğunu göstermiştir. Yetersiz eğirme davranışını önlemek için akış hızı uygulanan voltaja göre uyarlanmıştır. Uygulanan spesifik voltaj değerleri için 25  $\mu\text{L}/\text{dk}$  ile 35  $\mu\text{L}/\text{dk}$  arasındaki akış hızının uygun olduğu belirlenmiştir. Tüm bu ön formülasyon çalışmalarının ardından nozul ile toplayıcı arasındaki mesafe ve tambur dönüş hızı sabit tutularak uygulanan optimum voltaj ve akış hızı koşulları belirlenmiştir. Nihai deneme ürünleri incelenirken filmin alüminyum folyodan kolay soyulması, son film görünümü ve SEM görüntülerine göre lif özellikleri üzerinde durulmuştur. Ön formülasyon çalışmalarından elde edilen dört ADF formülasyon adayı bulunmaktadır (ÖF1, ÖF2, ÖF3 ve ÖF4). ADF ön formülasyon çalışma koşulları ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.40.'da sunulmuştur.

**Tablo 4.40.** Elektro-eğirme ön formülasyon çalışmalarından elde edilen bulgular.

| Ön Formülasyon | Uygulanan Voltaj (kV) | Akış Hızı ( $\mu$ L/dk) | Toplayıcı ve Nozul Arası Mesafe (cm) | Tambur Hızı (rpm) | Üretim Zamanı (dk) | Lif Özellikleri ve Değerlendirmeleri                                                                                                                | SEM Görüntüleri (5000x büyütme)                                                      |
|----------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------------------|-------------------|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| ÖF1            | 10                    | 25                      | 18                                   | 1000              | 15                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>Alüminyum folyodan kolay soyulma</li> <li>Pürüzsüz görünüm</li> <li>Göreceli ince yapı</li> </ul>            |   |
| ÖF2            | 15                    | 35                      | 18                                   | 1000              | 15                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>Alüminyum folyodan kolay soyulma</li> <li>Pürüzsüz görünüm</li> <li>Göreceli kalın ve sağlam yapı</li> </ul> |  |

Tablo 4.40. Devam.

| Ön Formülasyon | Uygulanan Voltaj (kV) | Akış Hızı (µL/dk) | Toplayıcı ve Nozul Arası Mesafe (cm) | Tambur Hızı (rpm) | Üretim Zamanı (dk) | Lif Özellikleri ve Değerlendirmeleri                                                                                                               | SEM Görüntüleri (5000x büyütme)                                                      |
|----------------|-----------------------|-------------------|--------------------------------------|-------------------|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| ÖF3            | 20                    | 35                | 18                                   | 1000              | 15                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>Alüminyum folyodan zor soyulma</li> </ul>                                                                   |   |
| ÖF4            | 25                    | 35                | 18                                   | 1000              | 15                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>Sprey-benzeri işlem</li> <li>Pürüzlü yüzey elde edilmesi</li> <li>Alüminyum folyodan zor soyulma</li> </ul> |  |

Ön formülasyon çalışmalarından elde edilen bulgular ÖF1 ve ÖF2'nin ADF gereksinimlerine uygun olabileceğini göstermiştir. ÖF1'in toplayıcıdan soyulması kolay olup SEM görüntüleri, tek düze bir yapıyla istenen en iyi lif oluşumuna sahip olduğunu göstermiştir. ÖF2'nin toplayıcıdan soyulması da aynı şekilde kolay olmakla birlikte SEM görüntüleri, lif oluşumunda bazı düzensizliklerin olduğunu göstermiştir. Ancak ÖF2 filmi nispeten kalındır ve ADF üretimi daha hızlı olacaktır. ÖF2 işleminin akış hızı nedeniyle ÖF1 işlemine göre daha kısa sürebileceği değerlendirilmiştir. Bu bulgular doğrultusunda iki farklı ADF formülasyonu (ADF-1 ve ADF-2) üretilmiştir. ADF-1, ÖF1 işlem parametreleriyle hazırlanmıştır ancak elektro-eğirme süresi 120 dakika olarak seçilmiştir. ADF-2, ÖF2 işlem parametreleriyle hazırlanmıştır ancak elektro-eğirme süresi 90 dakika olarak seçilmiştir.

#### 4.7.2. Polimer Çözeltilerinin Karakterizasyonları

- *Yüzey Gerilimi*

Yüzey gerilimi ölçümleri sonucunda, PÇ1 (ilaçsız polimer çözeltisi), PÇ2 (AML+ROS yüklü polimer çözeltisi), PÇ3 (AML yüklü polimer çözeltisi) ve PÇ4 (ROS yüklü polimer çözeltisi) için yüzey gerilimi değerleri sırasıyla  $23,37 \pm 0,03$  mN/m,  $22,83 \pm 0,11$  mN/m,  $22,43 \pm 0,07$  mN/m ve  $22,38 \pm 0,07$  mN/m olarak bulunmuştur.

- *Viskozite*

İstenilen lif morfolojisini elde edebilmek ve polimer çözeltisinin elektro-eğrilebilme yeteneğini sağlamak için viskozite belirli bir seviyeyi aşmalı ve uygun bir değerde olmalıdır. Daha düşük viskozite daha ince liflerle sonuçlanırken, belirli bir seviyenin üzerindeki yüksek viskozite polimer çözeltisinin eğrilmemesine neden olabilir. Genel olarak, 100-2000 *centipoise* (cP) arasındaki viskozite ölçümleri kabul edilebilirdir. PÇ1, PÇ2, PÇ3 ve PÇ4'ün viskozite değerleri sırasıyla  $208.90 \pm 0.51$ ,  $372.16 \pm 1.91$ ,  $215.24 \pm 0.30$  ve  $347.38 \pm 1.09$  cP çıkmıştır. PÇ2, PÇ3 ve PÇ4 ölçümleri, AML ve ROS'un PÇ1'e kıyasla önemli bir viskozite artışına neden olduğunu ortaya koymuştur ( $p < 0,05$ ).

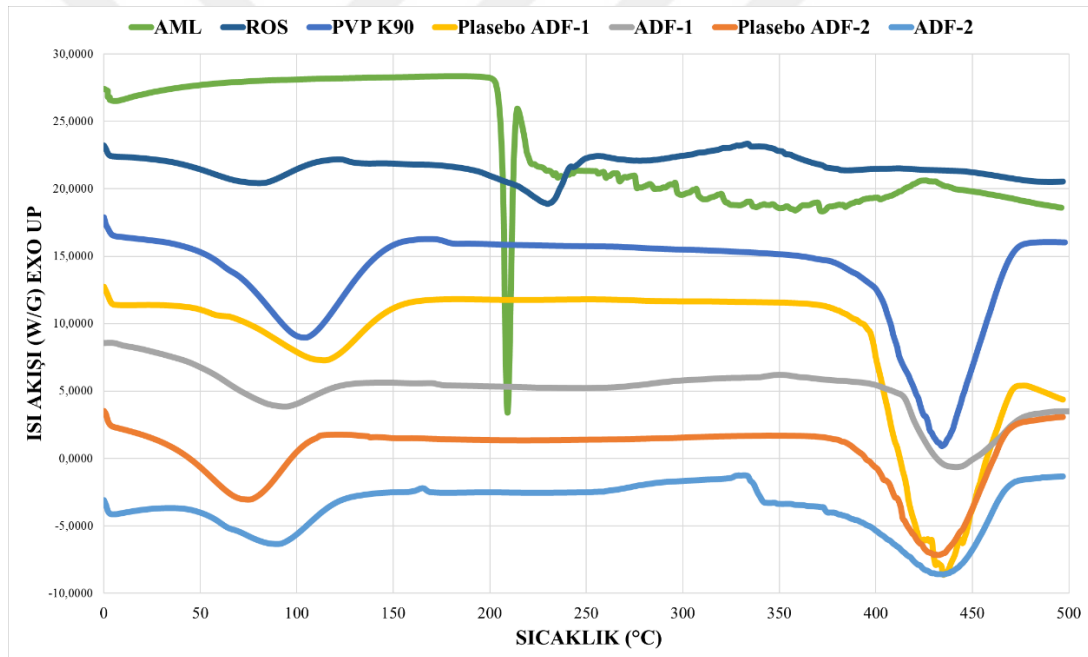
- *İletkenlik*

PÇ1, PÇ2, PÇ3 ve PÇ4'ün iletkenlik değerleri sırasıyla;  $23,10 \pm 0,01 \mu\text{S/cm}$ ,  $228 \pm 0,04 \mu\text{S/cm}$ ,  $202,67 \pm 0,58 \mu\text{S/cm}$  ve  $25,23 \pm 0,06 \mu\text{S/cm}$  olarak tespit edilmiştir. AML ve ROS etkin maddelerinin polimer çözeltisinin iletkenliğini artırdığı gösterilmiştir.

#### 4.7.3. Elektro-eğrilmiş ADF Formülasyonlarının Karakterizasyonu

- *Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi*

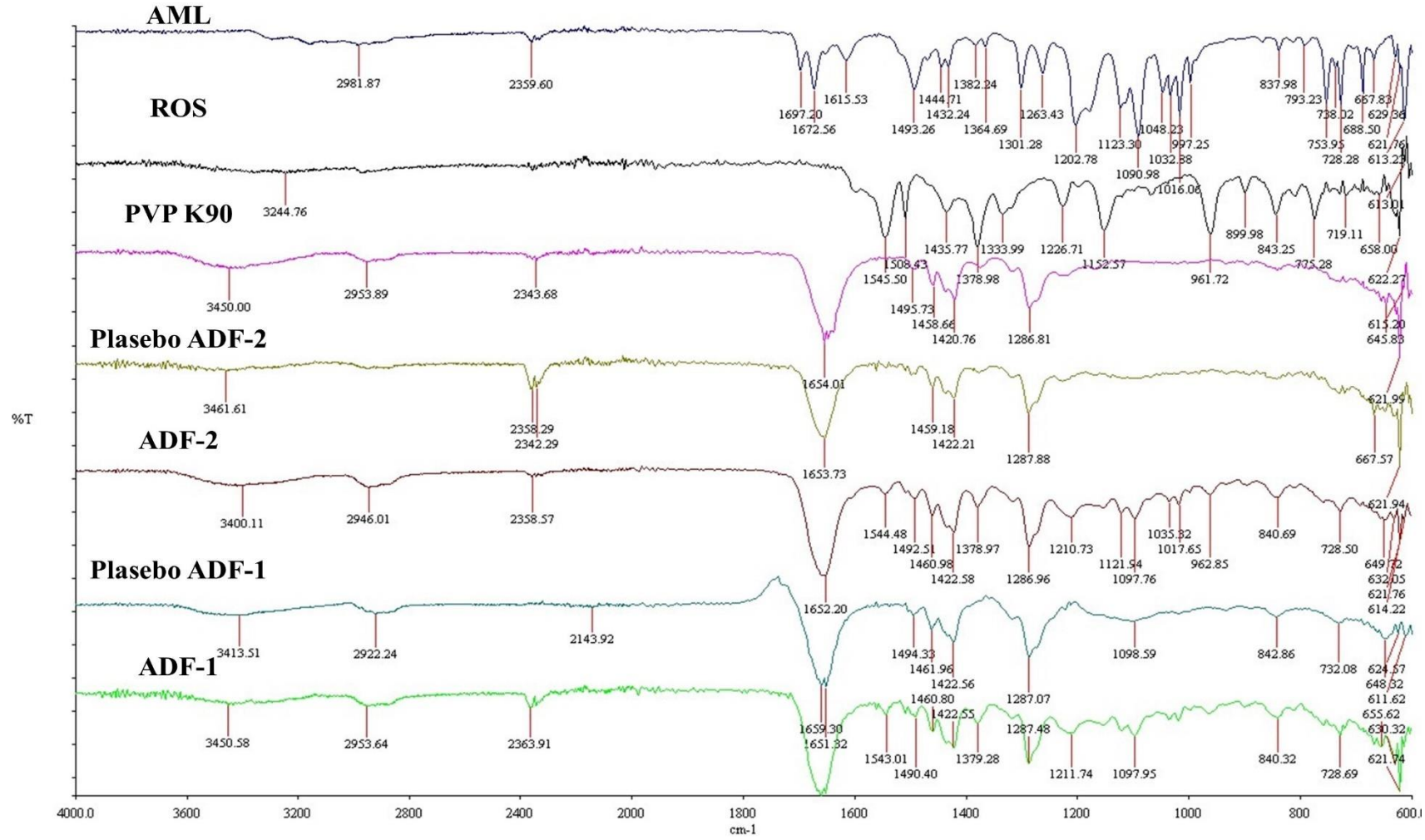
Etkin maddelerin (AML ve ROS), yardımcı maddelerin (PVP K90), ADF formülasyonlarının (ADF-1 ve ADF-2) ve plasebo ADF'lerin DSC termogramları Şekil 4.28.'de sunulmuştur.



**Şekil 4.28.** İlaçların, yardımcı maddelerin ve ADF'lerin DSC termogramları.

- *Fourier Transform Infrared Spektroskopi (FT-IR)*

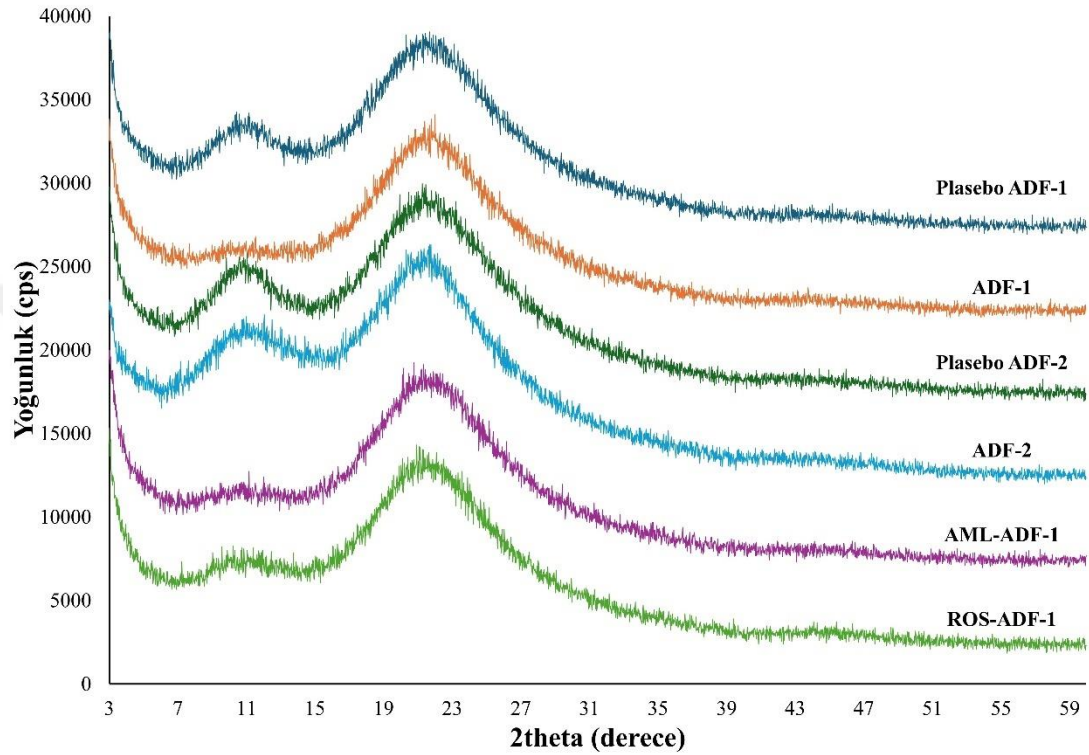
Tüm bileşenlerin kimyasal yapısını ve ayrıca ADF-1, ADF-2 ve bunların ilaçsız formlarını (plasebo ADF-1 ve plasebo ADF-2) analiz etmek için FT-IR çalışmaları değerlendirilmiştir. Tüm numuneler için FT-IR spektrumları Şekil 4.29.'da sunulmuştur.



Şekil 4.29. ADF formülasyonları (ADF-1, ADF-2), plasebo ADF'ler ve etkin maddelerin (AML ve ROS) FT-IR spektrumu.

- *X-Işını Kırınımı (XRD) Analizi*

İlaç yüklü (ADF-1, ADF-2, AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1) ve plasebo ADF üretimlerinin elde edilen XRD profilleri Şekil 4.30.'da sunulmuştur.

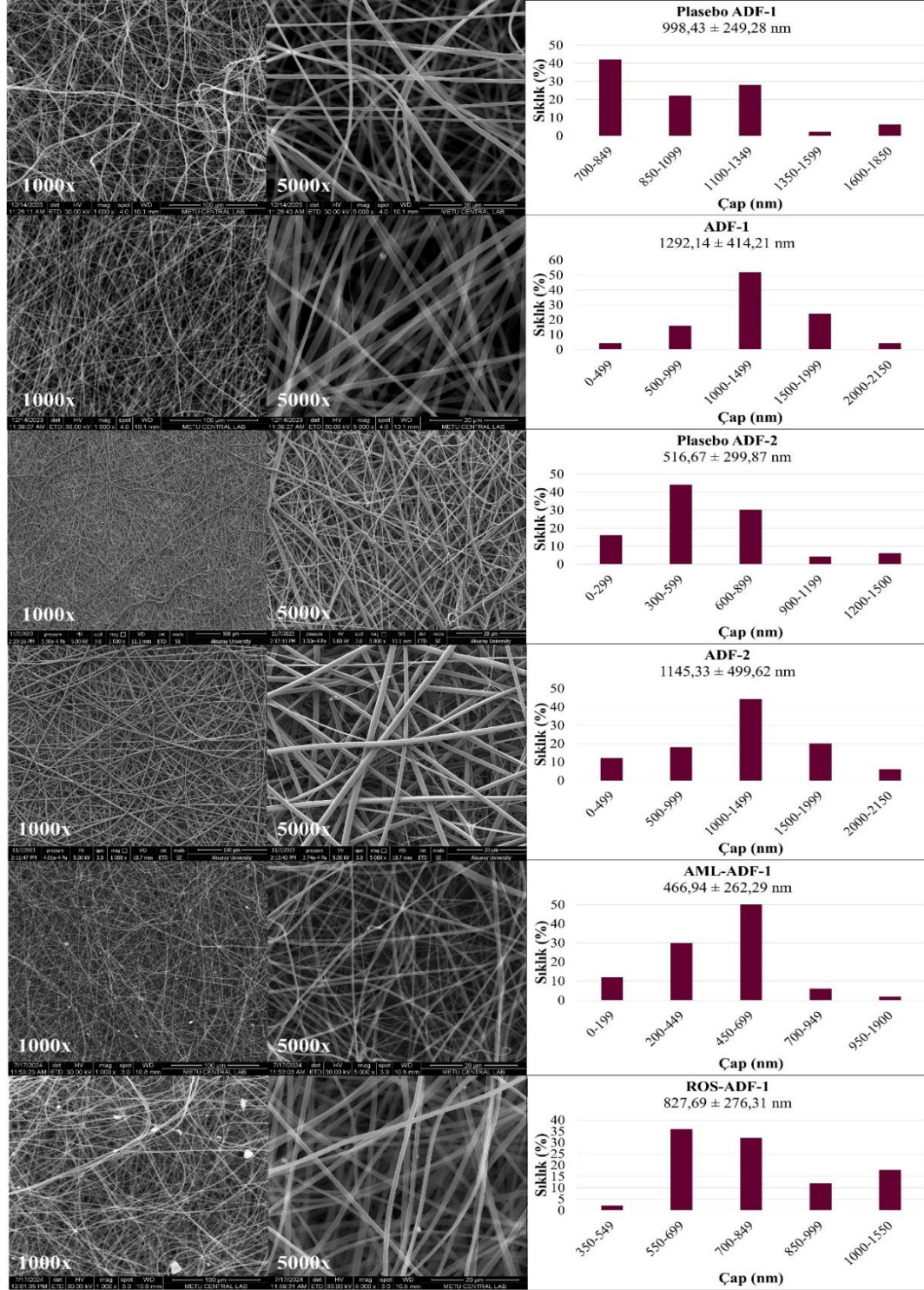


**Şekil 4.30.** ADF formülasyonlarının XRD profilleri.

- *Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüleme ve Değerlendirmeleri*

SEM görüntüleri hem işlem parametrelerinin hem de polimer çözeltisi bileşenlerinin lif oluşumuna etki ettiğini göstermiştir. Plasebo ADF-2 önemli düzensizlikler ve düz şekilli bir lif yapısı sergilemiştir (Şekil 4.31.). Plasebo ADF-2 için ortalama lif çapı  $516,67 \pm 299,87$  nm iken, plasebo ADF-1'in ortalama lif çapı  $998,43 \pm 249,28$  nm olup birleşik yuvarlak ve düz bir morfoloji göstermiştir ( $p < 0,05$ ). Hem ADF-1 hem de ADF-2, sırasıyla  $1292,14 \pm 414,21$  nm ve  $1145,33 \pm 499,62$  nm ortalama lif çaplarıyla düz/şerit lif morfolojisi sergilemiştir. AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1, ADF-1 ve ADF-2 ile karşılaştırıldığında daha ince ortalama lif çaplarına (sırasıyla  $466,94 \pm 262,29$  nm ve  $827,69 \pm 276,31$  nm) sahiptir (Şekil 4.31.). 10 nm ile

1000 nm arasındaki lif çapları nanolifler olarak sınıflandırıldığından (174), elde edilen sonuçlar, tek ilaç yüklü ADF'lerin sabit doz ADF'lere kıyasla nano-boyutunda lif çapları sağladığını göstermiştir.



**Şekil 4.31.** İlaç yüklü ADF formülasyonlarının lif çapları histogram grafikleri ve SEM görüntülerinin karşılaştırılması.

- *ADF Formülasyonlarının Mekanik Özelliklerinin Değerlendirilmesi*

Geliştirilen ADF formülasyonları (ADF-1, ADF-2, AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1) ile plasebo ADF formları (plasebo ADF-1 ve plasebo ADF-2) ve tek ilaç yüklü ADF'lerin mekanik özellikleri ölçülmüş ve Bölüm 3.2.7'de verilen eşitlikler yardımıyla gerilme direnci, kopma anında uzama ve elastik modülüs değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.41.'de sunulmuştur. Tüm plasebo ve ilaç yüklü ADF'lerin katlanma direnci >200 çıkmıştır.

**Tablo 4.41.** ADF formülasyonları ve plasebo ADF'lerin mekanik özellikleri (Ort±SS, n=3).

| Parametre                                 | Plasebo ADF-1 | Plasebo ADF-2 | ADF-1       | ADF-2       | AML-ADF-1   | ROS-ADF-1   |
|-------------------------------------------|---------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Gerilme Direnci (N/cm<sup>2</sup>)</b> | 0,80 ± 0,05   | 0,72 ± 0,08   | 0,80 ± 0,04 | 0,70 ± 0,04 | 0,19 ± 0,02 | 0,30 ± 0,02 |
| <b>Kopma Anında Uzama (%)</b>             | 22,89 ± 3,61  | 9,06 ± 0,54   | 0,87 ± 0,05 | 1,13 ± 0,10 | 2,91 ± 0,15 | 6,03 ± 1,11 |
| <b>Young's modülüs (MPa)</b>              | 0,04 ± 0,00   | 0,08 ± 0,01   | 0,95 ± 0,08 | 0,62 ± 0,02 | 0,07 ± 0,00 | 0,05 ± 0,01 |

- *Film Kalınlığının Ölçülmesi*

ADF-1'in (ÖF1 işlem süresi 120 dakika) ve ADF-2'nin (ÖF2 işlem süresi 90 dakika) kalınlık değerleri sırasıyla 254,00±21,59 µm ve 401,40±53,78 µm'dir (p<0,001). Plasebo ADF-1'in (200,87±8,61 µm) ve plasebo ADF-2'nin (355,67±28,99 µm) film kalınlığı karşılık gelen ilaç yüklü formlarına göre daha incedir. AML-ADF-1, ADF-1 filmine göre daha ince film kalınlığı sağlarken ROS-ADF-1 ile daha kalın film elde edilmiştir.

- *ADF Formülasyonlarının Yüzey pH Değerinin Ölçümü*

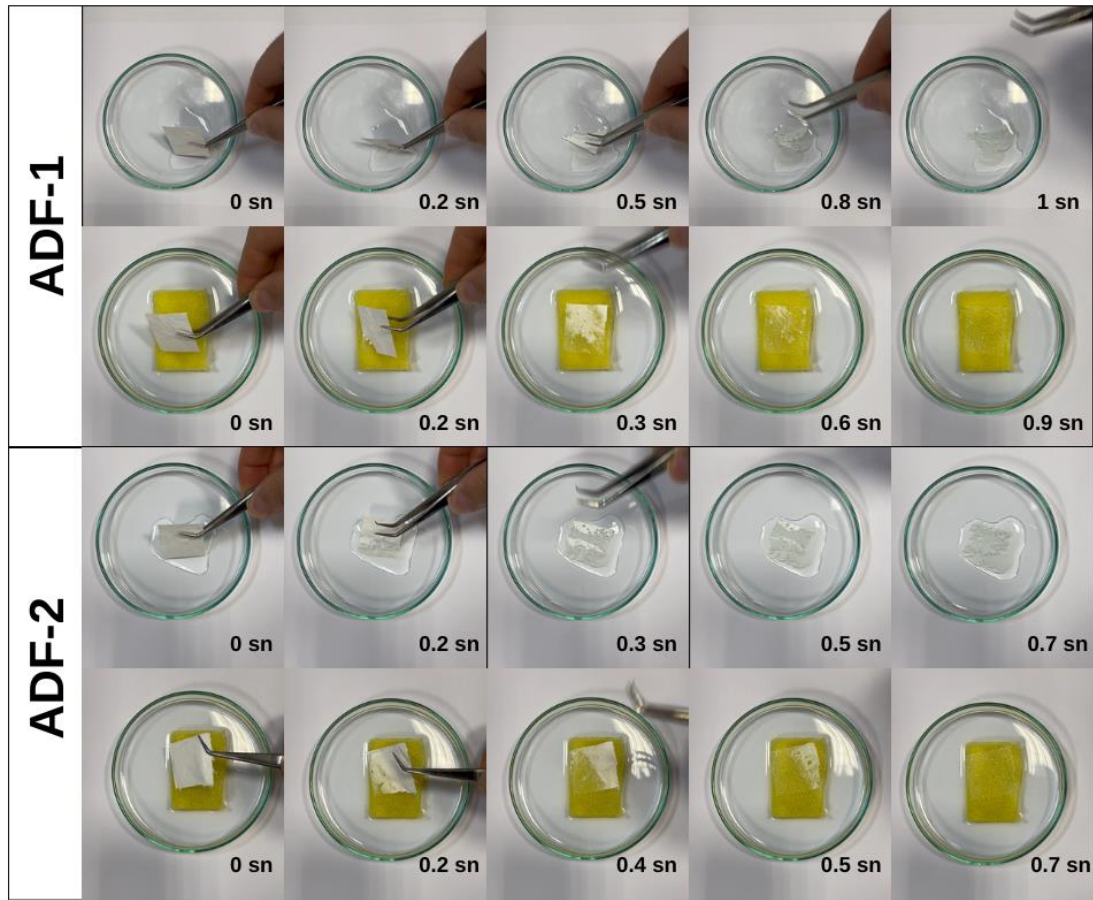
ADF-1, ADF-2, plasebo ADF-1, plasebo ADF-2, AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1'in yüzey pH değerleri sırasıyla  $5,94 \pm 0,06$ ,  $5,94 \pm 0,04$ ,  $6,67 \pm 0,05$ ,  $6,60 \pm 0,06$ ,  $6,77 \pm 0,11$  ve  $5,89 \pm 0,06$ 'dır.

- *Nem İçeriği Tayini*

ADF-1 ve ADF-2'nin nem içeriği sırasıyla  $\%3,00 \pm 0,16$  ve  $\%2,13 \pm 0,02$ 'dir. Buna karşılık plasebo ADF-1  $\%1,38 \pm 0,19$  nem içeriği gösterirken plasebo ADF-2  $\%0,71 \pm 0,25$  nem içeriğine sahiptir. AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1 sırasıyla  $\%2,65 \pm 0,09$  ve  $\%2,40 \pm 0,40$  nem içeriği göstermiştir.

- *Dağılma ve İslanma Sürelerinin Ölçülmesi*

Dağılma ve ıslanma süresi ADF formülasyonları için ölçülmüştür. ADF-2, ADF-1'den ( $1,03 \pm 0,17$  sn) daha hızlı bir dağılma süresi ( $0,72 \pm 0,07$  sn) göstermiştir ( $p=0,003$ ). ADF-1 ve ADF-2'nin ıslanma süreleri sırasıyla  $0,88 \pm 0,07$  sn ve  $0,65 \pm 0,08$  sn olarak tespit edilmiştir ( $p<0,001$ ) (Şekil 4.32.). Plasebo ADF-1 ve Plasebo ADF-2'nin dağılma süreleri;  $0,30 \pm 0,04$  sn ve  $0,38 \pm 0,05$  sn olup ıslanma süreleri sırasıyla  $0,36 \pm 0,07$  sn ve  $0,46 \pm 0,04$  sn'dir. AML-ADF-1  $0,35 \pm 0,08$  sn dağılma süresi ve  $0,34 \pm 0,03$  sn ıslanma süresi göstermiştir. ROS-ADF-1 ise  $1,38 \pm 0,21$  sn dağılma süresi ve  $1,10 \pm 0,09$  sn ıslanma süresi göstermiştir.



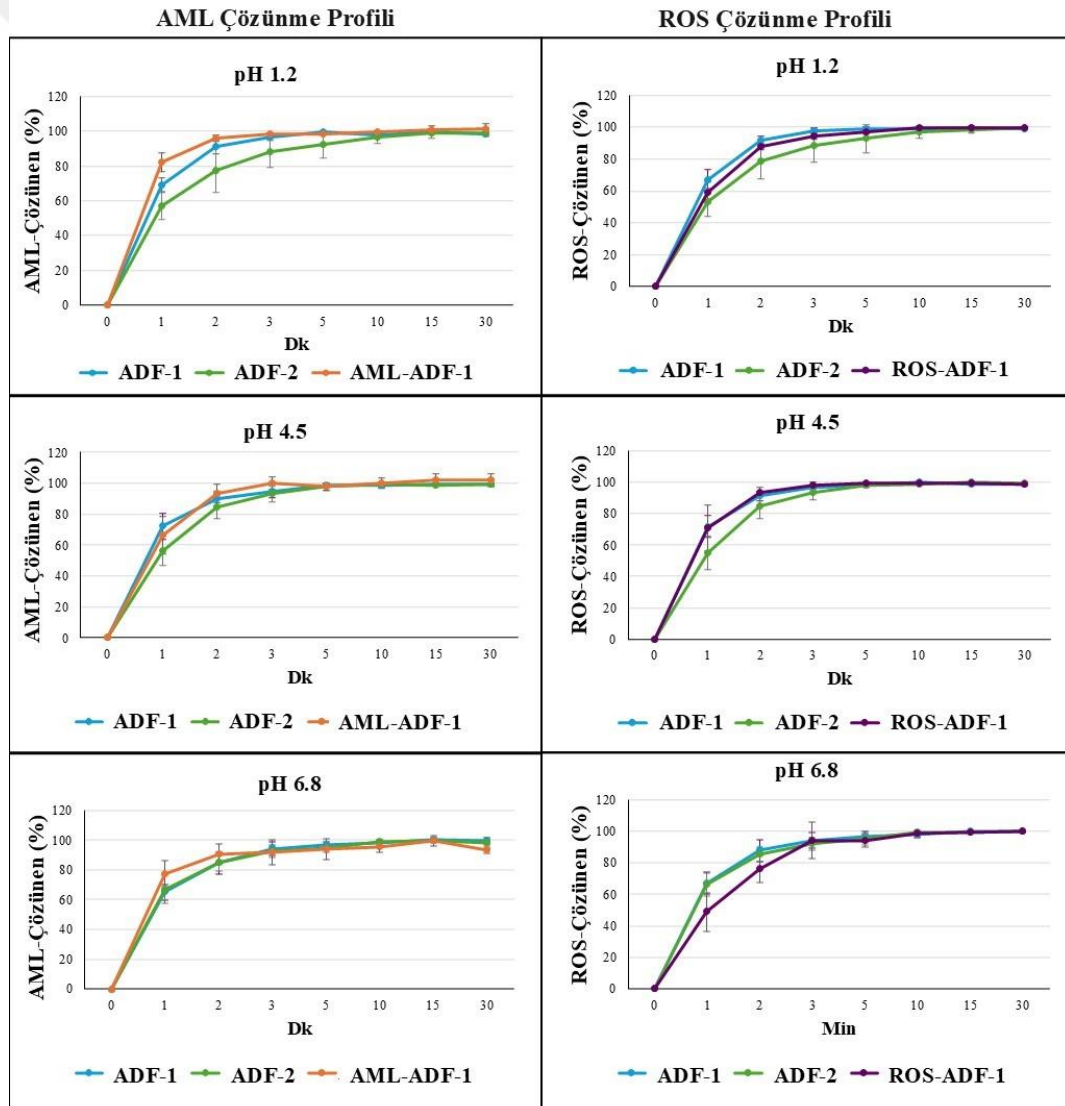
Şekil 4.32. ADF-1 ve ADF-2 formülasyonlarının dağılma ve ıslanma süreleri.

- *ADF Formülasyonları İçerik Tekdüzeligi Tayini*

ADF-1 formülasyonundaki AML ve ROS miktarları sırasıyla  $19,15 \pm 0,46$  a/a ve  $13,65 \pm 0,33$  a/a olarak tespit edilmiştir. ADF-2 formülasyonu için bu miktarlar AML için  $19,86 \pm 0,48$  a/a ve ROS için  $14,30 \pm 0,42$  a/a olarak tayin edilmiştir. Tüm bileşenler, Avrupa Farmakopesi'nin 10. baskısının kabul kriterlerini sağlamıştır. Bu kritere göre tüm numuneler ortalama içeriğin %85 ile %115 aralığında her numune için tekdüzelik göstermiştir. Tek ilaç yüklü ADF'ler için AML-ADF-1'in AML içeriği  $23,70 \pm 1,07$ , ROS-ADF-1'in ROS içeriği ise  $15,56 \pm 0,64$  olarak bulunmuştur. Tek ilaç yüklü ADF formülasyonları da %85 ile %115 aralığında ortalama ilaç içeriği sunarak içerik tekdüzeligi kabul kriterlerini sağlamıştır.

• *İn vitro* Çözünme Hızı Çalışmaları

İlaç yüklü ADF'lerin (ADF-1, ADF-2, AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1) çözünme hızı deneyleri 3 farklı ortamda gerçekleştirilmiştir. Tüm örnekler ilk 5 dakika içerisinde iki etkin madde için de %90'dan fazla çözünme profili göstermiştir (Şekil 4.33.). FDA ve EMA kılavuzlarına göre bir dozaj formu 15 dakika içerisinde %85'ten fazla çözünüyorsa matematiksel bir değerlendirmeye gerek olmaksızın profiller benzer kabul edilmektedir (175, 176). Bu sebeple  $f_2$  benzerlik faktörleri hesaplanmamış olup çözünme profilleri benzer kabul edilmiştir. Tablo 4.42. ve 4.43.'te AML ve ROS etkin maddelerinin ADF formülasyonlarından 5, 10, 15 ve 30 dakikada ortalama %çözünen etkin madde yüzdeleri sunulmuştur.



Şekil 4.33. ADF formülasyonlarının çözünme hızı profilleri (Ort±SS; n=6).

**Tablo 4.42.** AML etkin maddesi içeren ADF formülasyonlarının 3 ortamda (pH 1,2, 4,5 ve 6,8) çözünme profilleri (Ort $\pm$ SS; n=6).

|                    | <b>AML % Çözünen</b> |                  |                   |
|--------------------|----------------------|------------------|-------------------|
| <b>Ortam</b>       | <b>pH1,2</b>         |                  |                   |
| <b>Formülasyon</b> | <b>ADF-1</b>         | <b>ADF-2</b>     | <b>AML-ADF-1</b>  |
| 5                  | 99,34 $\pm$ 0,84     | 92,44 $\pm$ 7,84 | 98,38 $\pm$ 0,75  |
| 10                 | 97,59 $\pm$ 1,50     | 96,57 $\pm$ 3,62 | 99,51 $\pm$ 0,70  |
| 15                 | 99,34 $\pm$ 0,69     | 98,71 $\pm$ 2,46 | 100,77 $\pm$ 2,33 |
| 30                 | 98,50 $\pm$ 1,22     | 99,14 $\pm$ 0,90 | 101,46 $\pm$ 3,09 |
| <b>Ortam</b>       | <b>pH 4,5</b>        |                  |                   |
| <b>Formülasyon</b> | <b>ADF-1</b>         | <b>ADF-2</b>     | <b>AML-ADF-1</b>  |
| 5                  | 98,73 $\pm$ 0,84     | 97,99 $\pm$ 2,35 | 97,82 $\pm$ 2,60  |
| 10                 | 99,00 $\pm$ 1,50     | 99,28 $\pm$ 0,55 | 100,30 $\pm$ 3,42 |
| 15                 | 99,31 $\pm$ 0,69     | 99,08 $\pm$ 0,99 | 102,16 $\pm$ 3,72 |
| 30                 | 99,10 $\pm$ 1,22     | 99,47 $\pm$ 0,65 | 102,23 $\pm$ 4,28 |
| <b>Ortam</b>       | <b>pH 6,8</b>        |                  |                   |
| <b>Formülasyon</b> | <b>ADF-1</b>         | <b>ADF-2</b>     | <b>AML-ADF-1</b>  |
| 5                  | 96,45 $\pm$ 2,28     | 94,77 $\pm$ 3,03 | 93,90 $\pm$ 7,01  |
| 10                 | 98,05 $\pm$ 2,32     | 98,62 $\pm$ 1,18 | 95,53 $\pm$ 3,36  |
| 15                 | 100,34 $\pm$ 1,58    | 99,40 $\pm$ 0,93 | 99,49 $\pm$ 3,74  |
| 30                 | 99,54 $\pm$ 1,81     | 98,16 $\pm$ 1,68 | 93,25 $\pm$ 1,82  |

**Tablo 4.43.** ROS etkin maddesi içeren ADF formülasyonlarının 3 ortamda (pH 1,2, 4,5 ve 6,8) çözünme profilleri (Ort $\pm$ SS; n=6).

|             | ROS % Çözünen    |                   |                  |
|-------------|------------------|-------------------|------------------|
| Ortam       | pH1,2            |                   |                  |
| Formülasyon | ADF-1            | ADF-2             | ROS-ADF-1        |
| 5           | 98,83 $\pm$ 1,40 | 93,05 $\pm$ 8,84  | 97,33 $\pm$ 1,71 |
| 10          | 98,87 $\pm$ 1,07 | 97,23 $\pm$ 3,83  | 99,40 $\pm$ 0,97 |
| 15          | 99,73 $\pm$ 0,47 | 98,61 $\pm$ 2,1   | 99,66 $\pm$ 0,27 |
| 30          | 99,13 $\pm$ 0,57 | 99,64 $\pm$ 0,35  | 99,55 $\pm$ 0,46 |
| Ortam       | pH 4,5           |                   |                  |
| Formülasyon | ADF-1            | ADF-2             | ROS-ADF-1        |
| 5           | 98,51 $\pm$ 1,26 | 98,42 $\pm$ 1,37  | 99,52 $\pm$ 0,73 |
| 10          | 99,96 $\pm$ 0,10 | 99,18 $\pm$ 0,74  | 99,52 $\pm$ 0,45 |
| 15          | 98,90 $\pm$ 0,67 | 100,03 $\pm$ 0,67 | 99,57 $\pm$ 0,22 |
| 30          | 99,00 $\pm$ 0,82 | 99,64 $\pm$ 0,45  | 98,85 $\pm$ 0,41 |
| Ortam       | pH 6,8           |                   |                  |
| Formülasyon | ADF-1            | ADF-2             | ROS-ADF-1        |
| 5           | 96,74 $\pm$ 3,46 | 95,14 $\pm$ 3,63  | 94,02 $\pm$ 3,92 |
| 10          | 98,02 $\pm$ 1,99 | 99,15 $\pm$ 0,88  | 98,83 $\pm$ 2,01 |
| 15          | 99,85 $\pm$ 0,52 | 99,52 $\pm$ 0,43  | 99,59 $\pm$ 0,42 |
| 30          | 99,7 $\pm$ 0,47  | 99,83 $\pm$ 0,23  | 99,63 $\pm$ 0,35 |

- *ADF Formülasyonları Stabilite Çalışmaları*

12 ay boyunca yürütülen stabilite çalışmalarına ait içerik tekdüzeliği ve mukavemet deneylerinin sonuçları Tablo 4.44. ve 4.45.'te verilmiştir. Tüm aylarda bazı ADF örneklerinin nispeten sarardığı ve kuruduğu görülmüştür. Bu örneklerin primer ambalajının ısı ile yeterince iyi kapatılamadığı için hava aldığı değerlendirilerek mukavemet deneylerinde bu filmler kullanılmamıştır.

**Tablo 4.44.** ADF formülasyonlarının stabilite çalışması boyunca içerik tekdüzeliği sonuçları (Ort±SS; n=10).

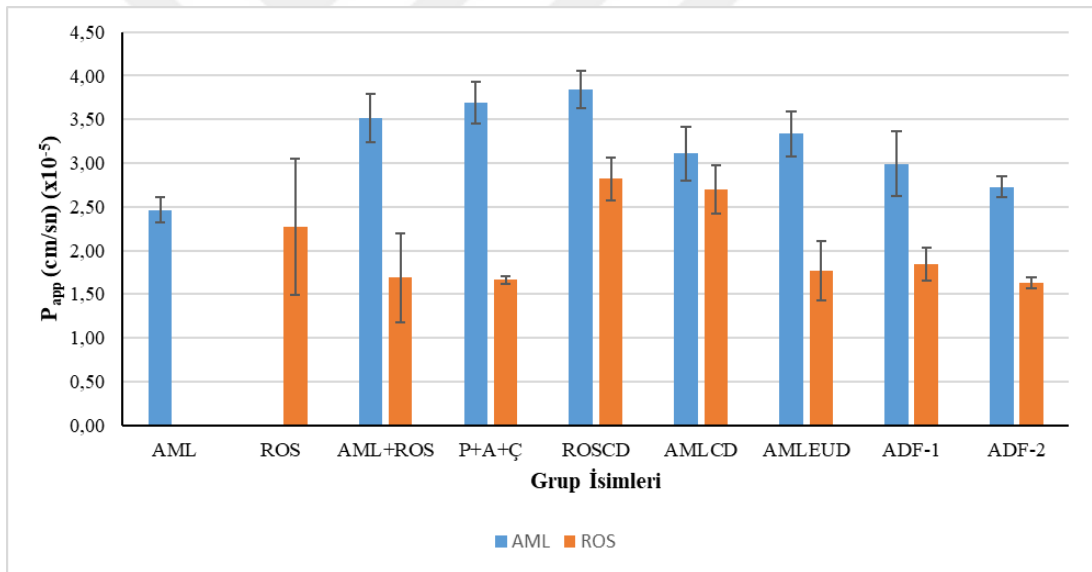
| Zaman  | ADF-1       |             | ADF-2       |             |
|--------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|        | AML (% a/a) | ROS (% a/a) | AML (% a/a) | ROS (% a/a) |
| 0. Ay  | 100         | 100         | 100         | 100         |
| 1. Ay  | 99,84±3,37  | 101,25±3,23 | 98,76±4,47  | 100,44±2,76 |
| 3. Ay  | 99,97±9,47  | 101,46±2,97 | 100,04±5,24 | 100,05±5,20 |
| 6. Ay  | 100,84±4,65 | 101,67±4,44 | 92,97±3,46  | 94,86±3,77  |
| 12. Ay | 98,13±5,98  | 100,87±7,22 | 89,43±5,29  | 92,29±5,82  |

**Tablo 4.45.** ADF numunelerinin stabilite çalışması boyunca mukavemet deneylerinin sonuçları (Ort±SS; n=3).

|       | Zaman  | Gerilme Direnci (N/cm <sup>2</sup> ) | Kopma Anında Uzama (%) | Young's modülü (MPa) | Dağılma Süresi (Distile Su) (sn) |
|-------|--------|--------------------------------------|------------------------|----------------------|----------------------------------|
| ADF-1 | 0. Ay  | 0,80±0,04                            | 0,87±0,05              | 0,95±0,08            | 1,03±0,17                        |
|       | 1. Ay  | 0,25±0,04                            | 5,30±1,47              | 0,05±0,02            | 1,15±0,20                        |
|       | 3. Ay  | 0,55±0,04                            | 0,61±0,20              | 0,98±0,28            | 1,10±0,10                        |
|       | 6. Ay  | 0,27±0,08                            | 0,67±0,20              | 0,40±0,03            | 0,97±0,11                        |
|       | 12. Ay | 0,65±0,19                            | 0,81±0,15              | 0,78±0,10            | 0,90±00                          |
| ADF-2 | 0. Ay  | 0,70±0,04                            | 1,13±0,10              | 0,62±0,02            | 0,72±0,07                        |
|       | 1. Ay  | 0,47±0,11                            | 0,39±0,15              | 1,28±0,17            | 1,08±0,12                        |
|       | 3. Ay  | 0,54±0,16                            | 0,82±0,13              | 0,65±0,10            | 1,00±0,13                        |
|       | 6. Ay  | 0,58±0,10                            | 0,68±0,14              | 0,87±0,13            | 0,90±0,13                        |
|       | 12. Ay | 0,54±0,18                            | 0,79±0,04              | 0,68±0,21            | 0,82±0,11                        |

#### 4.8. Hücre Kültürü Çalışmaları

*In vitro* hücre kültürü çalışmaları ile geliştirilen formülasyonların ve hammadde olarak etkin maddelerin CaCo-2 hücre hattından permeabiliteleri incelenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.34.'te verilmiştir. Tablo 4.46. ve Tablo 4.47.'de permeabilite gruplarının hammadde karışımı (AML+ROS) ve PAÇ tabletine kıyasla p değerleri verilmiştir. ROS etkin maddesinin AML varlığında permeabilitesinde azalma var gibi gözükse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 4.46.). AML etkin maddesinin ise permeabilitesi ROS varlığında artma eğilimindedir (p=0,048). PAÇ tabletine kıyasla değerlendirildiğinde siklodekstrin içeren formülasyonlarda ROS etkin maddesinin permeabilitesinde anlamlı bir artış görülmüştür (Tablo 4.47.).



Şekil 4.34. Permeabilite çalışmalarından elde edilen deney sonuçları (Ort±SS; n=3).

**Tablo 4.46.** Permeabilite çalışmalarında kullanılan formülasyonlarının permeabilite sonuçları (n=3) ve AML+ROS grubuna kıyasla elde edilen p değerleri.

|                            | <b>Etkin Madde</b> | <b>P<sub>app</sub> (cm/sn)<br/>(x10<sup>-5</sup>)</b> | <b>Standart Sapma</b> | <b>p değeri</b> |
|----------------------------|--------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------|
| <b>PAÇ</b>                 | AML                | 3,69                                                  | 0,24                  | 0,62            |
|                            | ROS                | 1,67                                                  | 0,04                  | 0,95            |
| <b>ROSCD</b>               | AML                | 3,84                                                  | 0,22                  | 0,36            |
|                            | ROS                | 2,82                                                  | 0,24                  | 0,03*           |
| <b>AMLCD</b>               | AML                | 3,11                                                  | 0,31                  | 0,35            |
|                            | ROS                | 2,70                                                  | 0,28                  | 0,02*           |
| <b>AMLEUD</b>              | AML                | 3,34                                                  | 0,26                  | 0,61            |
|                            | ROS                | 1,77                                                  | 0,34                  | 0,89            |
| <b>ADF-1</b>               | AML                | 2,99                                                  | 0,37                  | 0,28            |
|                            | ROS                | 1,84                                                  | 0,18                  | 0,73            |
| <b>ADF-2</b>               | AML                | 2,73                                                  | 0,12                  | 0,07            |
|                            | ROS                | 1,63                                                  | 0,06                  | 0,89            |
| <b>Hammadde Tek Başına</b> | AML                | 2,46                                                  | 0,14                  | 0,048*          |
|                            | ROS                | 2,27                                                  | 0,78                  | 0,29            |
| <b>AML+ROS</b>             | AML                | 3,52                                                  | 0,28                  | -               |
|                            | ROS                | 1,69                                                  | 0,51                  | -               |

\* p değeri <0,05'tir.

**Tablo 4.47.** Permeabilite çalışmalarında kullanılan formülasyonların permeabilite değerleri (n=3) ve PAÇ grubuna kıyasla elde edilen p değerleri.

|                                | <b>Etkin Madde</b> | <b>P<sub>app</sub> (cm/sn)<br/>(x10<sup>-5</sup>)</b> | <b>Standart Sapma</b> | <b>p değeri</b> |
|--------------------------------|--------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------|
| <b>AML+ROS</b>                 | AML                | 3,52                                                  | 0,28                  | 0,62            |
|                                | ROS                | 1,69                                                  | 0,51                  | 0,95            |
| <b>ROSCD</b>                   | AML                | 3,84                                                  | 0,22                  | 0,25            |
|                                | ROS                | 2,82                                                  | 0,24                  | 0,01*           |
| <b>AMLCD</b>                   | AML                | 3,11                                                  | 0,31                  | 0,01*           |
|                                | ROS                | 2,70                                                  | 0,28                  | 0,02*           |
| <b>AMLEUD</b>                  | AML                | 3,34                                                  | 0,26                  | 0,00*           |
|                                | ROS                | 1,77                                                  | 0,34                  | 0,65            |
| <b>ADF-1</b>                   | AML                | 2,99                                                  | 0,37                  | 0,04*           |
|                                | ROS                | 1,84                                                  | 0,18                  | 0,20            |
| <b>ADF-2</b>                   | AML                | 2,73                                                  | 0,12                  | 0,01*           |
|                                | ROS                | 1,63                                                  | 0,06                  | 0,61            |
| <b>Hammadde<br/>Tek Başına</b> | AML                | 2,46                                                  | 0,14                  | 0,00*           |
|                                | ROS                | 2,27                                                  | 0,78                  | 0,29            |

\* p değeri <0,05'tir.

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Analitik Yöntem ve Validasyonu

Tez çalışmaları boyunca yapılacak miktar tayini deneylerinin güvenilir bir şekilde yapılabilmesi için AML ve ROS etkin maddelerini eş zamanlı olarak tayin edebilecek bir HPLC metodu geliştirilmiştir. Etkin maddeler bir tampon (örn. çözünme hızı çalışmalarında pH 1.2, pH 4,5, pH 6.8 tamponları; hücre kültürü çalışmalarında HEPES tamponu) ortamından tayin edildiği için geliştirilen HPLC yönteminin validasyonu analitik yöntem validasyonu kriterlerine göre değerlendirilmiştir.

Optimize edilen HPLC metodu ICH Q2 (R1) kılavuzu uyarınca özgüllük (seçicilik), doğrusallık, doğruluk, kesinlik, saptanabilirlik sınırı (LOD), tayin edilebilirlik sınırı (LOQ) ve stabilite parametreleri açısından değerlendirilmiştir. Validasyon çalışmalarından elde edilen bulgular kılavuz tarafından ilgili validasyon parametreleri için talep edilen kriterleri sağlamıştır. Bu bulgular geliştirilen yöntemin çözünme hızı, çözünürlük, miktar tayini ve hücre kültürü çalışmalarından elde edilen numunelerdeki AML ve ROS'un tayininde güvenle kullanılabileceğini göstermiştir.

Analizlerde kullanılan HPLC cihazı için sistemin uygunluğunu incelemek amacıyla ayırıcılık, teorik tabaka sayısı ve kuyruklanma faktörü testleri araştırılmış ve elde edilen sonuçlar kılavuz kriterleri dahilinde bulunmuştur.

Tüm yapılan validasyon çalışmaları sonucunda geliştirilen metodun AML ve ROS etkin maddelerinin eş zamanlı tayini için geliştirilen metodun ve kullanılan cihazın etkin maddeleri güvenli bir şekilde tayin etmek için uygun olduğunu göstermiştir.

### 5.2. Etkin Maddelerin Doygunluk Çözünürlüğü Çalışmaları

Etkin maddelerin (AML ve ROS) distile su, pH 1,2; pH 4,5 ve pH 6,8 ortamlarındaki doygunluk çözünürlüğü çalışması etkin maddeler tek başına ve diğer etkin maddenin varlığında 24 saat süreyle tayin edilmiştir. AML'nin distile su, pH 1,2; pH 4,5 ve pH 6,8 ortamlarındaki çözünürlüğü sırasıyla  $4,07 \pm 0,06$  mg/mL,  $4,44 \pm 0,20$  mg/mL,  $4,40 \pm 0,19$  mg/mL ve  $1,38 \pm 0,06$  mg/mL olarak tayin edilmiştir. Literatürde

AML'nin oda sıcaklığındaki çözünürlüğü 4 mg/mL (177), distile su, pH 1,2; pH 4,5 ve pH 6,8 ortamlarında sırasıyla 3,87 mg/mL, 4,16 mg/mL, 4,11 mg/mL, 2,83 mg/mL olarak raporlanmıştır (23). AML için elde edilen çözünürlük değerleri literatürle uyumlu olup pH bağımlı bir çözünürlük göstermiştir.

ROS'un distile su, pH 1,2; pH 4,5 ve pH 6,8 ortamlarında sırasıyla  $8,52 \pm 0,12$  mg/mL,  $0,60 \pm 0,04$  mg/mL,  $3,22 \pm 0,15$  mg/mL ve  $12,22 \pm 1,07$  mg/mL olarak tayin edilmiştir. Literatürde ROS'un distile su, pH 1,2 ve pH 6,8 ortamlarındaki çözünürlük değerleri sırasıyla 0,9 mg/mL, 0,29 mg/mL ve 0,35 mg/mL (140), bir başka çalışmada ise distile suda 0,051 mg/mL ve pH 1.2 ortamında 0,421 mg/mL olarak rapor edilmiştir. (178). Bir tez çalışmasında ise ROS'un distile sudaki çözünürlüğü  $7,32 \pm 0,08$  mg/mL olarak tespit edilmiştir (179). ROS pH bağımlı bir çözünürlük göstermekte olup literatürle uyumlu olarak en düşük çözünürlük pH 1.2 ortamında elde edilmiştir.

Literatürde her iki etkin maddenin birlikte çözünürlüğünü inceleyen bir çalışma mevcut değildir. AML+ROS karışımında yapılan çözünürlük çalışmalarında AML'nin distile su ( $0,24 \pm 0,04$  mg/mL), pH 1,2 ( $3,28 \pm 0,20$  mg/mL; pH 4,5 ( $2,27 \pm 0,17$  mg/mL) ve pH 6,8 ( $0,24 \pm 0,09$  mg/mL) ortamlarındaki çözünürlüğünün ROS varlığında anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ). Benzer şekilde AML varlığında ROS'un distile su ( $2,53 \pm 0,45$  mg/mL), pH 1,2 ( $0,41 \pm 0,02$  mg/mL), pH 4,5 ( $0,30 \pm 0,02$  mg/mL) ve pH 6.8 ( $2,04 \pm 0,46$  mg/mL) çözünürlük değerleri anlamlı derecede azalmıştır ( $p < 0,05$ ).

#### *Sink Koşulun Değerlendirilmesi*

Dissolüsyon çalışmalarında sink koşulun sağlanması için doygunluk çözünürlüğüne göre birim dozdaki etkin madde miktarı için gereken çözücü hacminin üç katı ortam hacmi hesaplanmıştır. AML etkin maddesi için sink koşulu sağlayan ortam hacmi ROS varlığında 3 dissolüsyon ortamında da en yüksek 196,07 mL olarak bulunmuştur. ROS için ise AML varlığında bu hacim 230,28 mL olarak hesaplanmıştır. Dissolüsyon çalışmaları 500 mL ortamda yapılmıştır. Bu sebeple tüm çözünme hızı deneylerinde sink koşul sağlanmaktadır.

### 5.3. Siklodekstrin İnküzyon Kompleksi Çalışmaları

#### *Faz Çözünürlük Çalışmaları*

AML etkin maddesinin acı tadını maskelemek amacıyla ve ROS etkin maddesinin çözünürlüğünü artırmak amacıyla 2-HP $\beta$ CD ile inküzyon komplekslerinin elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu sebeple ideal 2-HP $\beta$ CD:ilaç molar oranının tespiti için faz çözünürlük çalışması yapılmıştır. Elde edilen çözünürlük diyagramları etkin maddelerin siklodekstrin ile zayıf etkileşimini işaret eden  $A_L$  tipi grafik şeklinde elde edilmiştir. Faz çözünürlük grafiklerinin eğimi  $< 1$  ise ,1:1 stokiyometri düşünülmesi gerektiği belirtilmektedir (180). Tez çalışmamızda  $K_{1:1}$  değerleri AML ve ROS için sırası ile 39,19  $M^{-1}$  ve 20,38  $M^{-1}$  olarak tespit edilmiştir. Literatürde siklodekstrin kompleksleri ile yapılan çalışmalarda  $K_{1:1}$  değeri 30-70  $M^{-1}$  arasında ise kompleks yapısının uygun olduğu bildirilmiştir (181). AML için literatürde 1:1 molar konsantrasyonlarda inküzyon kompleksleri (182), ROS için 1:1 ve 1:2 molar oranlarda siklodekstrin kompleksleri hazırlanan çalışmalar mevcuttur (183, 184). ROS molekülünün büyük bir molekül olması nedeniyle ve  $K_{1:1}$  değerinin AML'ye göre düşük olması nedeniyle tez çalışmasında 1:1 ve 1:2 molar oranlarda inküzyon komplekslerinin hazırlanması ve karakterizasyon çalışmalarının yapılması uygun görülmüştür.

Literatürde inküzyon kompleksi üretimi için öğütme (kneading), dondurarak kurutma (liyofilizasyon) ve birlikte çöktürme (ko-presipitasyon) gibi yöntemler mevcuttur. Literatürde yapılan karşılaştırmalı çalışmaların çoğunda liyofilizasyon tekniğinin en etkin sonucu verdiği gösterilmiştir (160, 185, 186). Özellikle ısıya duyarlı ilaçlar için endüstriyel uygulamaya uygunluk ve işlem kolaylığı ve yüksek verim nedeniyle liyofilizasyon yöntemi tercih sebebidir. Bu sebeple inküzyon komplekslerinin üretimi için liyofilizasyon tekniği tercih edilmiştir. Hazırlanan inküzyon komplekslerinin karakterizasyonu amacıyla DSC ve FT-IR analizleri yapılmıştır.

**DSC Analizleri:** İnküzyon komplekslerinin oluşumunda misafir molekül (etkin madde) siklodekstrin (CD) boşluklarına veya kristal kafeslere hapsedildiğinde, erime, kaynama ve süblimleşme noktaları farklı sıcaklıklara kaymaktadır veya kaybolmaktadır. DSC termogramlarında AML etkin maddesinin spesifik olarak 210

°C’de göstermekte olduğu endotermik pik AML:CD fiziksel karışımında da aynı derecede görülmüştür (Şekil 4.12.). Buna karşılık 1:1 kompleks yapısında ilgili pik 206 °C’ye kaymış ve yoğunluğu azalmıştır. Aynı şekilde ROS etkin maddesinin 75-80 °C arasında göstermekte olduğu su kaybı kaynaklı endotermik pik 1:1 ve 1:2 siklodekstrin komplekslerinde 100 ile 115 °C aralığına kaymıştır (Şekil 4.13.). Aynı şekilde ROS ve ROS:CD fiziksel karışımı için 230 °C dolaylarında görülmekte olan polimorfik formu ifade eden camsı geçiş piki siklodekstrin kompleksleri için 225 °C dolaylarında görülmüştür. Benzer çalışmalarda da gösterildiği üzere bu verilerin inklüzyon komplekslerinin oluştuğuna dair kanıt sunduğu değerlendirilmiştir (160, 182).

**FT-IR Analizleri:** Siklodekstrin komplekslerinin oluşturduğu zayıf bağlar nedeni ile etkin maddelerin bazı spesifik piklerinin kaybolması, genişlemesi veya yoğunluk ve dalga boylarındaki değişimlerin görülmesi ile komplekslerin oluşup oluşmadığı değerlendirilmektedir. AML etkin maddesinin 3160  $\text{cm}^{-1}$  bölgesinde göstermekte olduğu primer amin grubuna ait gerilim pikinin siklodekstrin kompleksinde kaybolduğu görülmüştür (Şekil 4.14). 1493  $\text{cm}^{-1}$ ’de yer alan N-H deformasyon titreşimlerine karşılık gelen pik AML:CD 1:1 kompleksinde 1486  $\text{cm}^{-1}$  bölgesine kaymıştır.

ROS etkin maddesi ve fiziksel karışımında 1016  $\text{cm}^{-1}$  civarında görülen C-O gerilim piki hem 1:1 hem de 1:2 komplekslerinde 2-HP $\beta$ CD’e ait C-O pikinin altında kalarak kaybolmuştur. ROS etkin maddesinde 1068  $\text{cm}^{-1}$ ’deki karbonil grubu ile ilişkili pik 1:1 ve 1:2 komplekslerinde kaybolmuş ve bu piklerin yerine 2-HP $\beta$ CD’nin 1080  $\text{cm}^{-1}$ ’deki piki görülmüştür. ROS etkin maddesinin 960  $\text{cm}^{-1}$  bölgesinde ve 2-HP $\beta$ CD’in 1016  $\text{cm}^{-1}$  bölgesinde göstermekte olduğu C-O gerilim pikleri ROS:CD komplekslerinde 963 ve 1025  $\text{cm}^{-1}$  bölgesinde gerilme bandı göstermiştir (Şekil 4.15.). ROS’un 2968  $\text{cm}^{-1}$  de göstermekte olduğu C-H gerilim pikleri komplekslerde 2930  $\text{cm}^{-1}$  bandında görülmüştür. Söz konusu bu bulgular inklüzyon komplekslerinin oluştuğunun göstergesi olarak değerlendirilmiştir (182, 187).

Yapılan karakterizasyon çalışmaları sonucunda AML ve ROS etkin maddelerinin inklüzyon komplekslerinin başarıyla üretildiği gösterilmiştir. 1:1 ve 1:2

molar oranlarda üretilen ROS:CD kompleksleri için uygun sonuçlar elde edildiği için 1:1 molar oranda ROS:CD kompleksinin üretilmesi uygun görülmüştür.

#### 5.4. Katı Dispersiyon Çalışmaları

Tat maskeleye yaklaşımlarında tercih edilen yöntemlerden biri ilacın ağız boşluğuna hemen salımını engellemektir. Bu amaçla çeşitli enkapsülasyon teknikleri kullanılmaktadır. Sprey-kurutma, sıcak eriyik ekstrüzyon gibi teknikler ile ilacın fiziksel olarak kaplanması hedeflenmektedir. İdeal fiziksel tat maskeleye yönteminde ilacın ağızda hızlı salımı önlenirken ilacın gastro-intestinal sistemdeki emilim profilinin değişmemesini sağlamak gerekmektedir (188). Bu amaçla, Eudragit E100 ile üretilen katı dispersiyonların uygun bir yaklaşım olacağı düşünülmüştür. AML etkin maddesinin acı tadını maskeleye amacıyla Eudragit E100 ile 1:1 a/a oranında katı dispersiyonu üretilmiştir.

Hazırlanan katı dispersiyonun değerlendirilmesi amacıyla DSC ve FT-IR analizleri ve yapay tükürük ortamında salım çalışmaları yapılmıştır.

**DSC Analizleri:** Etkin madde ve katı dispersiyonun DSC analizleri ile fiziksel kaplamanın etkinliği değerlendirilmiştir. Toz etme işlemi esnasında katı dispersiyonun yapısının bozulup bozulmadığını anlamak için toz edilmemiş katı dispersiyon ile toz edilmiş katı dispersiyonun DSC analizi yapılmıştır. AML etkin maddesi için yaklaşık 210 °C’de görülen endotermik pik toz edilmemiş AML:EUD katı dispersiyonunda ve toz edilmiş AML:EUD katı dispersiyonunda 204 °C’de görülmüştür. Yapının amorf özellik gösterdiğini ifade eden katı dispersiyon piklerinin yayvanlaştığı görülmüştür. DSC analizlerinden elde edilen sonuçlar AML etkin maddesinin Eudragit E100 ile katı dispersiyonunun başarıyla hazırlandığının göstergesi olarak alınmıştır.

**FT-IR Analizleri:** AML etkin maddesi için 3300  $\text{cm}^{-1}$ ’de N-H gerilim piki, 1615,53  $\text{cm}^{-1}$ ’de bir C=C(aromatik) pik, 1493,26  $\text{cm}^{-1}$ ’de bir aromatik iskelet yapısı gerilim piki, 1263,43  $\text{cm}^{-1}$ ’de sülfonat asimetrik gerilim piki ve -C=O ile ilişkili etil ve metil ester pikleri sırasıyla 1697,20  $\text{cm}^{-1}$  ve 1672,56  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyunda görülmüştür ve pik bulguları literatür bulguları ile uyumludur (189, 190). Eudragit E100 polimerinin spektrumunda literatür bulgularıyla uyumlu olarak (simetrik/asimetrik) C=H gerilimi ile ilişkilendirilen 2950,69-2822,12  $\text{cm}^{-1}$  gerilim pikleri, 1722,19  $\text{cm}^{-1}$

dolaylarında C=O gerilimi ile ilişkilendirilen gerilim piki, 1266,20  $\text{cm}^{-1}$  bandında bir C-O gerilim piki ve 1017,36  $\text{cm}^{-1}$  bandında bir C-N gerilim piki görülmüştür (70). AML:EUD fiziksel karışımında AML etkin maddesi ile ilişkili, 3300  $\text{cm}^{-1}$ 'de N-H gerilim piki, 1614,24  $\text{cm}^{-1}$ 'de bir C=C(aromatik) piki, 1491,47  $\text{cm}^{-1}$ 'de bir aromatik iskelet yapısı gerilim piki, 1263,08  $\text{cm}^{-1}$ 'de sülfonat asimetrik gerilim piki ve -C=O ile ilişkili etil ve metil ester pikleri sırasıyla 1697,00  $\text{cm}^{-1}$  ve 1672,05  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyunda görülmüştür. Ayrıca Eudragit E100 polimerinin (simetrik/asimetrik) C=H gerilimi ile ilişkilendirilen 2982,34  $\text{cm}^{-1}$  bandında bir gerilim piki, 1266,20  $\text{cm}^{-1}$  bandında görülmesi beklenen C-O gerilim pikinin 1263,08  $\text{cm}^{-1}$  dolaylarında AML etkin maddesi kaynaklı sülfonat grubu ile örtüşen bir gerilim piki ve 1722,19  $\text{cm}^{-1}$  dolaylarında görülmesi beklenen C=O gerilim piki ile AML etkin maddesinin C=O gerilim pikinin örtüşmesi nedeniyle 1697  $\text{cm}^{-1}$  bandında bir gerilim piki tespit edilmiştir. AML:EUD katı dispersiyonunda AML etkin maddesi ile ilişkili, 3300  $\text{cm}^{-1}$ 'de N-H gerilim piki, 1614,42  $\text{cm}^{-1}$ 'de bir C=C(aromatik) piki, 1492,29  $\text{cm}^{-1}$ 'de bir aromatik iskelet yapısı gerilim piki, 1263,67  $\text{cm}^{-1}$ 'de sülfonat asimetrik gerilim piki ve -C=O ile ilişkili etil ve metil ester pikleri sırasıyla 1697,17  $\text{cm}^{-1}$  ve 1672,64  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyunda görülmüştür. Katı dispersiyonda Eudragit E100 polimerinin (simetrik/asimetrik) C=H gerilimi ile ilişkilendirilen 2980,66  $\text{cm}^{-1}$  bandında bir gerilim piki, 1266,20  $\text{cm}^{-1}$  bandında görülmesi beklenen C-O gerilim pikinin 1263,67  $\text{cm}^{-1}$  dolaylarında AML etkin maddesi kaynaklı sülfonat grubu ile örtüşen bir gerilim piki ve 1722,19  $\text{cm}^{-1}$  dolaylarında görülmesi beklenen C=O gerilim piki ile AML etkin maddesinin C=O gerilim pikinin örtüşmesi nedeniyle 1697,17  $\text{cm}^{-1}$  bandında bir gerilim piki tespit edilmiştir. Katı dispersiyon hazırlama aşamasında uygulanan sıcaklık koşulları ve etanolün AML etkin maddesinin yapısını bozmadığı ve katı dispersiyonda AML ile ilişkili fonksiyonel grupların tespit edilebildiği gösterilmiştir.

**Salım çalışmaları:** Eudragit E100 pH bağımlı davranış gösteren bir polimer olup pH 5 değerinin üzerinde şişerken pH 5 değerinin altında çözünmektedir (74). Bu sayede tükürük ortamında (pH>5) ilacın polimer ortamına hapsolması ve midede polimerin çözünerek ilacın salınması hedeflenmektedir. Elde edilen dispersiyonun havanda toz edilmiş hali ile ilaç salım çalışması yapılmıştır. İlaç salınımının değerlendirilmesi için yapay tükürük ortamında 3 dakika içerisinde salınacak ilacın tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla 3 mL yapay tükürük ortamında (pH 5,7),

birim dozda yer alacak AML miktarını içeren katı dispersiyondan ilaç salımı etkin madde ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen katı dispersiyondan 3 dakika içerisinde salınan ilacın yaklaşık %63 azaldığı tespit edilmiştir. Bu bulgu AML'nin katı dispersiyonunun hazırlanmasıyla acı tadının maskelenebileceğinin göstergesi olarak alınmıştır.

### 5.5. SeDeM-ODT Uzman Sistemi Çalışmaları

SeDeM-ODT uzman sistemi formülasyona girebilecek tüm tozların direkt basıma uygunluğunu ve ADT formülasyonuna uygunluğunu değerlendirmeye imkân veren bir sistemdir. Bu değerlendirme sisteminde 15 farklı parametre ile SeDeM-ODT diyagramları elde edilmektedir. Bu parametreler kütle dansitesi, sıkıştırılmış dansite, partikül arası porozite, Carr indeksi, kohezyon indeksi, Hausner oranı, yığın açısı, toz akışı, kurutmada kayıp, higroskopik (nem çekme),  $< 50 \mu\text{m}$  partikül oranı, homojenlik indeksi, efervesan süresi, diskle dağılma süresi ve disk olmadan dağılma süresidir. Bu 15 parametre ile SeDeM-ODT uzman sisteminde 6 faktör (boyut, basılabilirlik, akışkanlık/toz akışı, kayganlık/stabilite, kayganlık/dozaj formu ve parçalanabilirlik) elde edilir. Boyut; kütle ve sıkıştırılmış dansiteden elde edilmektedir. Basılabilirlik; partikül arası porozite, Carr indeksi ve kohezyon indeksi ile tozun sıkıştırılabilirliği ve dolayısıyla basılabilirliği faktörleri belirlenir. Akışkanlık/toz akışı; Hausner oranı, yığın açısı ve toz akış süresi parametreleri ile elde edilen bir faktör olup tozun akışkanlığını ve direkt basıma uygunluğunu değerlendirmeye yarayan bir başka değişkendir. Kayganlık/stabilite; kurutmada kayıp ve higroskopik (nem çekme) parametreleri ile elde edilmekte olup tozun raf ömrü boyunca nem ile ilgili olan davranışını ortaya koymaktadır. Kayganlık/dozaj formu faktörü ise  $< 50 \mu\text{m}$  partikül oranı ve homojenlik indeksi parametreleri ile tozun dozaj formu için homojen bir akış sağlaması değerlendirmektedir. Parçalanabilirlik faktörü; efervesan süresi, diskle dağılma süresi ve disk olmadan dağılma süresi parametreleri ile tozun ADT kriterlerine uygunluğunu değerlendirmektedir. Bu faktör için yapılan dağılma ve efervesan deneyleri tozun mümkün olan en sert tabletiyle ekstrem koşulların test edilmesi ile yapılmaktadır. Bu sayede ekstrem koşullar altında dahi iyi dağılma özelliği gösteren tozun üstünlüğü tercih edilmektedir.

Sistem 15 parametreyi analiz etmeyi amaçlamaktadır. Bunlardan 12'si öncelikle direkt basıma uygunluğu değerlendirmeye yardımcı olurken 3 tanesi ADT formülasyonuna uygunluğu aydınlatmaktadır. Buradan hareketle SeDeM-ODT sisteminde önceliğin 3 parametre ile elde edilen “parçalanabilirlik” faktörüne yoğunlaşılması gerekmektedir. Tez çalışmalarında kullanılan AML ve ROS etkin maddelerinin parçalanabilirlik faktörleri 0 çıkmış olup düzeltilmesi gereken öncelikli faktörün parçalanabilirlik olduğu değerlendirilmiştir.

Basılabilirlik faktörü AML ve ROS için sırasıyla 4,93 ve 3,23 olarak bulunmuştur. Her iki değerin de 5'ten küçük olması nedeniyle parçalanabilirlik faktörünün düzeltilmesi halinde ikinci aşamada basılabilirlik faktörünün düzeltilmesi gerektiği değerlendirilmiştir.

**Çekirdek Toz Karışımının Oluşturulması:** Yapılan literatür taramasında SeDeM-ODT uzman sistemi ve SeDeM uzman sistemi, sadece tek etkin maddenin tek bir özelliğini iyileştirmek üzere toz karışımları üzerine odaklanan çalışmalarla sınırlandırılmıştır. Örneğin ibuprofen etkin maddesinin ADT formülasyonu için SeDeM uzman sistemi ile direkt basılabilirliğini sağlayacak formülasyon geliştirilmesi hedeflenmiş ve uygun düzeltici eksipiyanelardan yalnızca biri ile (kaydırıcı karışımı varlığında) tabletler basılmıştır. Söz konusu çalışmada teorik tablet ağırlığı 760 ile 1020 mg arasında değişen 8 ayrı formülasyon denenmiştir (191). Bizim tez çalışmamızda 2 etkin madde ve birden fazla yardımcı madde kullanılması amaçlanmıştır. Bununla birlikte karşılaştırılabilirlik açısından, tablet ağırlığının tüm formülasyonlar için aynı olması hedeflenmiştir. SeDeM ile yapılan mevcut çalışmalarda düzeltici eksipiyen oranı önerildiği için düşük dozda etkin madde içeren ilaçlarda sabit dozda ve ağırlıkta tablet formülasyonu üretmek mümkün olmamaktadır. Örneğin 600 mg ibuprofen için %33 düzeltici eksipiyen ile yaklaşık 900 mg toz karışımı elde edilirken yaklaşık 20 mg ROS için elde edilecek toz karışımı yaklaşık 30 mg olabilmektedir. Ayrıca AML etkin maddesinin acı tada sahip olması nedeniyle tat maskeleyme imkânı sağlamak amacıyla tatlandırıcı eksipiyenlerin de kullanılması gerekmektedir. Birden fazla etkin madde ve birden fazla eksipiyen kullanarak SeDeM-ODT uzman sistemi hesaplamalarını yapan mevcut bir çalışma tespit edilememiştir. Buradan hareketle yenilikçi bir yaklaşım sunarak SeDeM-ODT uzman sisteminin birden çok bileşen varlığındaki performansını değerlendireceğimiz bir çalışma

yürütülmüştür. Her tablet formülasyonunda yer alması beklenen etkin madde (AML ve ROS), yardımcı madde (asesülfam potasyum ve aspartam) ve kaydırıcı karışımı (Mg stearat, talk ve aerosil) bileşenleri çekirdek toz karışımı olarak belirlenmiştir. SeDeM-ODT uzman sisteminin doğrusallık özelliğinden yararlanarak söz konusu karışımın SeDeM-ODT profili teorik olarak hesaplanmıştır. Elde edilen yeni çekirdek toz karışımının parçalanabilirlik özelliğinin ve sonrasında basılabilirlik özelliğinin düzeltilmesi amaçlanmıştır.

***Etkin Maddelerin ve Eksipiyanların SeDeM-ODT Profilleri ve Düzeltici***

***Eksipiyan Seçimleri:*** Etkin maddeler hariç 25 eksipiyan çalışılmıştır. Bunlardan sadece 4 tozun Pİ (parametrik indeks), PPI (parametrik profil indeksi) ve İBİ (iyi basım ve bukodispersibilite indeksi) indeks değerleri kabul kriterlerinin üzerinde olup parçalanabilirlik faktörü 5'in üzerinde çıkmıştır. Söz konusu 4 toz da süperdağıtıcı nitelikte olan Parteck-ODT®, Pearlitol®, Pharmaburst® ve Kollidon Cl® eksipiyanlarıdır. Bu eksipiyanlardan Parteck-ODT®, Pearlitol® ve Kollidon Cl®'nin %DO değeri (Düzeltici eksipiyan oranı) 100'ün altında bulunmuştur. Parmaburst'ün %DO değerinin %116,98 bulunması etkin maddelerin parçalanabilirlik faktörünü iyileştiremeyeceğini göstermiştir.

Parçalanabilirlik faktörü için uygun görülen 3 aday toz ile deneysel aşamaya geçmeden önce bu tozların varlığında basılabilirlik faktörünü de iyileştirebilecek ikinci bir eksipiyanın seçilmesi amaçlanmıştır. Eklenecek eksipiyan parçalanabilirlik faktörünü 5'in altına indirmemeli ve basılabilirliği düzeltilmelidir. %100'lük bir toz karışımının %18,84'ü çekirdek toz karışımıdır. Geriye kalan %81,16'lık fraksiyonun süper dağıtıcı ile basılabilirlik düzeltici eksipiyan arasında paylaşılması gerekmektedir. Bu amaçla elde edilen matematiksel formülle bir süper-dağıtıcı varlığında düzeltici eksipiyanın basılabilirliği düzeltmek için %81,16'lık dilimin ne kadarını kullanması gerektiği hesaplanmıştır. Basılabilirlik için söz konusu formülle elde edilen % değerinin, aynı formülle parçalanabilirlik için elde edilen % değerinden büyük olmaması gerekmektedir. Değerlendirilen basılabilirlik düzeltici tozların, parçalanabilirlik özelliği 5'ten küçük olduğu için parçalanabilirlik satırında elde edilen % değerinin üzerinde kullanılacak tozun nihai toz karışımının parçalanabilirliğini 5'in altına indirmesi söz konusudur. Örneğin, Kollidon Cl'nin süper dağıtıcı olduğu senaryoda Avicel PH102 %20,99 kullanılırsa basılabilirlik parametresi 5 olacaktır.

Buna karşılık parçalanabilirlik için %20,52'den fazla Avicel PH102 kullanılması toplam parçalanabilirlik parametresini 5'in altına indirecektir. Söz konusu hesap ile basılabilirlik değerinin 5 olması hedeflenmiştir. Başka bir deyişle, parçalanabilirlik parametresinden minimum feragat ile basılabilirliğin düzeltilebileceği tozlar elde edilmiştir.

Sonuç olarak hem basılabilirlik hem de parçalanabilirlik faktörünün 5'in üzerinde olacağı iki toz karışımı önerilmiştir. Pearlitol ve Parteck için Avicel PH102 ile elde edilen formülasyon önerileri SeDeM-ODT uzman sisteminde karakterize edilmiştir. Bununla birlikte Parteck ve Pearlitol ile sadece parçalanabilirlik özelliği iyileştirilmiş toz karışımlarının da SeDeM-ODT karakterizasyonları yapılmıştır.

Parteck+ çekirdek toz karışımı (P+Ç), Parteck+Avicel PH102+çekirdek toz karışımı (P+A+Ç), Pearlitol+çekirdek toz karışımı ve Pearlitol+Avicel PH102+çekirdek toz karışımı SeDeM-ODT uzman sistemine göre karakterize edilmiştir. 4 tozun da Pİ değeri 0,6 çıkmıştır. Pearlitol içeren tozların PPI değerleri 5,92 iken Parteck içeren tozlarda P+Ç ve P+A+Ç için sırasıyla 6,20 ve 6,21 çıkmıştır. Pearlitol ile hazırlanan Pearlitol+çekirdek ve Pearlitol+Avicel PH102+çekirdek tozları için İBİ değerleri sırasıyla 5,74 ve 5,75 iken Parteck içeren tozlar için sırasıyla P+Ç=6,02 ve P+A+Ç=6,03 çıkmıştır. Pearlitol içeren tozların PPI ve İBİ değerleri daha düşük çıktığı için Parteck içeren toz karışımlarının ADT formülasyonları için değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

P+Ç ve P+A+Ç tozlarının teorik parçalanabilirlik yarıçap değerleri 6,55 ve 5,55 olarak beklenmektedir. Buna karşılık SeDeM-ODT deneylerinde maksimum sertlikle basılan SeDeM-ODT-tabletlerinin parçalanabilirlik değerleri sırasıyla 3,49 ve 3,16 çıkmıştır. Beklenenden düşük parçalanabilirlik değerinin elde edilmesi maksimum sertliğin çok yüksek elde edilmesine bağlanmıştır. P+Ç tozu için SeDeM-ODT deneylerinde yaklaşık 105 N sertlik elde edilmiştir ancak teorik olarak bu sertliğin yaklaşık 70 N olması gerekmektedir. P+A+Ç tozu için SeDeM-ODT deneylerinde yaklaşık 113 N sertlik elde edilmiştir. Ancak beklenen teorik sertlik yaklaşık 91 N olmalıdır. Bu sebeple bu hedef sertliklerde tabletler basılarak parçalanabilirlik deneylerinin tekrar yapılarak SeDeM-ODT-Hedefli yeni yarıçap değerleri basılabilirlik ve parçalanabilirlik için hesaplanmıştır. Yeni parçalanabilirlik

değerleri P+Ç ve P+A+Ç tozları için sırasıyla 6,94 ve 5,74 çıkmıştır. Söz konusu iki değer de teorik deneylere yakın ve yüksek çıkmıştır.

SeDeM-ODT-hedefli sertlikle elde edilen profiller için yeni basılabilirlik, Pİ, PPİ ve İBİ değerleri hesaplanmıştır. P+Ç ve P+A+Ç tozlarının teorik ve gerçekleşen basılabilirlik değerleri birbirine yakındır. Buna karşılık Pİ, PPİ ve İBİ değerleri deneysel sonuçlarda teorik sonuçlara göre düşük çıkmıştır. SeDeM-ODT-hedefli sertlik ile elde edilen yeni kohezyon indeksi değerleri nedeniyle basılabilirlik yarıçap değerleri teorik değerlerden düşük çıkmıştır. Buna karşılık Pİ, PPİ ve İBİ değerleri teorik ve deneysel sonuçlara göre yükselmiştir. Sonuç olarak SeDeM-ODT uzman sisteminin parçalanabilirlik faktörünü doğru tahmin ettiği senaryoda daha iyi Pİ, PPİ ve İBİ indeksleri daha iyi çıkmaktadır. Fakat bu durumda basılabilirlik faktörünün tahmin yeteneği düşmektedir.

P+Ç ve P+A+Ç tozlarının Pİ, PPİ ve İBİ değerleri çok yakındır. Bu sebeple bu iki tozun da ADT basımlarının yapılması ve friyabilite ve dağılma testleri ile optimum tablet formülasyonuna karar verilmesi uygun görülmüştür.

### **5.6. ADT Formülasyonları ve Karakterizasyon Çalışmaları**

SeDeM-ODT uzman sisteminden elde edilen bulgular doğrultusunda P+Ç ve P+A+Ç tozlarının ADT tabletleri basılmıştır. P+Ç tozları ile basılan ADT tabletleri için uygun friyabilite değerleri elde edilememiştir. P+A+Ç toz karışımından 20 N, 50 N ve 85 N sertlikte üç ADT basımı yapılmıştır. 50 N sertliğe sahip ADT formülasyonu kabul edilebilir bir friyabilite değerine ve dağılma süresine sahip olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak optimum ADT formülasyonu olarak PAÇ-ADT (PAÇ) seçilmiştir. PAÇ formülasyonundan hareketle AMLCD, ROSCD ve AMLEUD tabletleri basılmıştır. Tabletlerin basımının uygunluğu SeDeM-ODT uzman sistemine göre teorik olarak hesaplanarak değerlendirilmiştir. Profili bilinmeyen yeni tozun tüm değerlerinin “0” olması halinde Pİ, PPİ ve İBİ değerleri tüm yeni formülasyonlar için teorik olarak kabul kriterlerinin üzerinde çıkmıştır. Deneysel sonuçlar sadece ROSCD için sadece İBİ değerinin 4,92 olarak çıktığını göstermiştir ve bu değer de 5’e yakındır. Sonuç olarak PAÇ, AMLCD, ROSCD ve AMLEUD tabletlerinin ADT karakterizasyonları yapılmıştır.

**Çap-Kalınlık-Sertlik Tayini:** 4 formülasyonun da çap ve kalınlık değerleri tespit edilerek Tablo 4.34.'te sunulmuştur. PAÇ tabletine kıyasla AMLCD ve AMLEUD için tablet kalınlığı anlamlı bir şekilde değişmezken ( $p>0,05$ ), ROSCD tabletinde daha kalın tabletler elde edilmiştir ( $p<0,001$ ). Bunun sebebinin daha düşük sertlik değerinin daha kalın tabletlerle sonuçlanması olduğu düşünülmektedir. ROSCD tabletinin sertlik değeri daha düşük çıkarken AMLEUD tabletinin de sertlik değeri PAÇ tabletine kıyasla düşük olduğu görülmüştür. Buna karşılık AMLEUD tabletinin kalınlığı artmamıştır. Bunun sebebinin AMLEUD tozunun kütle ve sıkıştırılmış dansite sonuçlarının ve Hausner oranının PAÇ tozuna kıyasla daha yüksek olması olduğu düşünülmektedir.

**Kırılgenlik Tayini:** PAÇ, AMLCD, ROSCD ve AMLEUD tabletleri için sırasıyla kırılgenlik sonuçları; %0,74, %0,69, %0,48 ve %0,84 bulunmuştur. Tüm değerler kabul kriteri olan %1'in altında çıkmıştır. Bu bulgular geliştirilen ADT tabletlerinin ambalajlama, saklama ve taşıma koşulları için yeterli mekanik dirence sahip olduğunu göstermektedir.

**Dağılma Süresi Tayini:** ADT'lerin dağılma süreleri hem distile su ortamında hem de yapay tükürük ortamında ölçülmüştür. FDA, ADT formülasyonlarının 30 saniyeden kısa sürede dağılmasını önermektedir. Avrupa Farmakopesi'ne göre ADT formülasyonlarının 3 dakika içerisinde dağılmalıdır. Sadece AMLCD tableti distile su ortamında  $32\pm 2,45$  sn dağılma süresi göstererek FDA kabul kriterinin dışında kalmış tüm formülasyonlar Avrupa Farmakopesi standardını sağlamıştır. Distile su ve yapay tükürük ortamında PAÇ tabletine kıyasla AMLEUD tabletinin dağılma süreleri anlamlı derecede kısılırken AMLCD ve ROSCD tabletleri için dağılma süreleri anlamlı derecede uzamıştır ( $p<0,05$ ). AMLEUD tabletinin dağılma süresindeki kısalma PAÇ tabletine kıyasla daha düşük sertlikte olmasına bağlanabilir. AMLCD ve ROSCD tabletlerinin dağılma sürelerindeki uzama anlamlı olsa da dağılma süresi hızlıdır. Siklodekstrin kompleksleri genel olarak dağılma süresini kısaltmaktadır. Buna karşılık AMLCD ve ROSCD tabletlerinde kullanılan Parateck oranı PAÇ tabletine göre az olması sebebiyle süper dağıtıcı oranındaki azalmanın tablet dağılma süresini uzattığı değerlendirilmiştir.

**İçerik Tekdüzeliliği:** Avrupa Farmakopesi'nin 10'uncu baskısına her bir numunenin ortalama değerinin %85 ile %115'i arasında olması ve hiçbir numunenin bu kriterden sapmaması gerekmektedir. Tüm ADT tabletlerinin içerik tekdüzeliliği bu kabul kriterlerini karşılamış olup hazırlanan toz karışımlarının karıştırma yönteminin ve akış özelliklerinin uygun olduğunun bir göstergesi olarak alınmıştır. Ayrıca doz tekdüzeliliğinin korunacağı gösterilmiştir.

**Kütle Tekdüzeliliği:** ADT formülasyonlarının kütle tekdüzeliliği Avrupa Farmakopesi'ne göre 20 tablet üzerinden değerlendirilmiştir (38). Ölçülen tabletlerin en fazla 2 tanesi için ortalama değerden sapmanın %5'ten fazla olmaması, hiçbir tabletin ağırlığının sapmasının %10'dan fazla olmaması gerekmektedir. Geliştirilen tüm ADT'lerin ağırlıkları ortalama değer  $\pm$  %95'i ile  $\pm$  %105'i arasında bulunmuştur. Bu bulgu ADT formülasyonlarının sabit dozda ilaç içeriğini sunabileceğini ortaya koymaktadır.

**İn vitro Çözünme Hızı Çalışmaları:** İn vitro çözünme hızı çalışmaları sink koşulun sağlandığı 500 mL'lik üç farklı fizyolojik ortamda (pH 1.2, pH 4.5 ve pH 6.8) pedal yöntemi (Aparat II, 50rpm)'ne göre yapılmıştır. Tüm çözünme profilleri için f2 benzerlik faktörü hesaplanmış ve profillerin benzerliği f2 değerinin 50-100 arasında olmasına göre değerlendirilmiştir.

**PAÇ Tablet:** AML'nin çözünme hızı etkin maddenin çözünürlüğü ile paralellik göstermiştir. Çözünürlüğün en yüksek olduğu pH 1,2 ortamında çözünme hızı 10 dakikada %88,27, 30 dk'da %98,15 olarak tespit edilmiştir. Çözünürlüğün en düşük olduğu pH 6.8 ortamında ise 30 dk içerisinde %63,27 çözünmüştür. pH 4.5 ortamında 30 dakikada yaklaşık %86,33 oranında çözünme göstermiştir. Benzer bir çalışmada AML'nin 0,01 N HCl ortamında ADF formülasyonu ile 30 dakika içerisinde yaklaşık %83'ü çözünmüştür (23).

PAÇ tabletinden ROS'un 30 dakika içinde % çözünen değerleri pH 1,2 ortamında %77,56, pH 4,5 ortamında %76,91 ve pH 6,8 ortamında %84,47 olarak tayin edilmiştir. Doygunluk çözünürlüğü çalışmalarında ROS'un AML varlığındaki çözünürlüğü en yüksek pH 6,8 ortamında ( $2,04 \pm 0,46$  mg/mL) tespit edilmiş olup çözüme hızı çalışmalarında da en yüksek çözünme hızı pH 6,8 ortamında elde edilmiştir. Literatürde yer alan bir çalışmada 10 mg rosuvastatin'e eşdeğer

rosuvastatin kalsiyum'un 900 mL pH 6,8 ortamında 25 dakika içerisinde %95'ten fazla çözündüğü gösterilmiştir (192).

**AMLCD tableti:** AML pH 1,2, pH 4,5 ve pH 6,8 ortamlarında sırasıyla %97,20, %90,79 ve %71,94 oranlarında çözünmüştür. Çözünme hızı profilleri PAÇ tabletiyle kıyaslandığında pH 1,2 ortamında AML'nin her iki tabletten 15 dakikada %90'dan fazla çözünmesinden dolayı f2 benzerlik testi yapılmamıştır. pH 6,8 ortamında ise AML etkin maddesi için f2 benzerlik faktörünün 50'den büyük olması profillerin benzer olduğunu göstermiştir. pH 6,8 ortamında profiller benzer görülse de AMLCD tabletinden çözünme hızının ilk zaman noktalarında daha yavaş olduğu görülmektedir. Bu durumun AMLCD tabletinin dağılma süresinin nispeten daha uzun olmasına bağlı olduğu düşünülmüştür. pH 4,5 ortamında ise siklodekstrin komplekslerinin çözünürlüğü artırması sonucu çözünme hızı anlamlı derecede artmıştır ( $f_2=49$ ).

AMLCD tabletinden ROS pH 1,2, pH 4,5 ve pH 6,8 ortamlarında sırasıyla %70,75, %85,53 ve %90,00 oranında çözünmüştür. Çözünme hızı profilleri PAÇ tabletiyle karşılaştırıldığında üç ortamda profiller benzer bulunmuştur ( $f_2 \geq 50$ ).

**ROSCD tableti:** AML pH 1,2, pH 4,5 ve pH 6,8 ortamlarında sırasıyla %99,97, %91,15 ve %76,55 çözünme göstermiştir. pH 1,2 ortamında ROSCD tableti ve PAÇ tableti için AML çözünme hızı ilk 15 dakikada %85'ten fazla olduğu için f2 benzerlik faktörü hesaplanmamış profiller benzer kabul edilmiştir. Çözünme hızı profilleri PAÇ tabletiyle karşılaştırıldığında pH 4,5 ortamında profiller benzer ( $f_2=58$ ) bulunurken pH 6,8 ortamında benzerlik sağlanamamıştır ( $f_2=45$ ). AML etkin maddesinin düşük çözünürlük gösterdiği pH 6,8 ortamında çözünme hızı PAÇ tabletine göre anlamlı derecede artmıştır (%76,55 vs. %63,27). pH 4,5 ortamında ilk dakikalarda PAÇ tabletine kıyasla ilaç çözünme hızının nispeten daha yavaş olduğu ancak 30dk da çözünen değerin daha yüksek olduğu (%91,15 vs. %86,33) tespit edilmiştir. pH 1,2 ortamında ise 5 dakika içerisinde PAÇ tabletine göre daha yüksek çözünme elde edilmiş olmakla birlikte 30 dk 'da çözünen değerler oldukça benzerdir (%99,97 vs. %98,15).

ROSCD tabletinden ROS pH 1,2, pH 4,5 ve pH 6,8 ortamlarında sırasıyla %85,86, %81,91 ve %96,14 oranında çözünmüştür. Çözünme hızı profilleri PAÇ tabletleri ile karşılaştırıldığında 3 ortamda da çözünme profilleri PAÇ tableti ile benzer

çıkıştır (f<sub>2</sub>≥50). ROS etkin maddesinin kısıtlı çözünme gösterdiği pH 1,2 ortamında 3'üncü zaman noktasından sonra (3 dk) çözünme hızının arttığı görülmüştür ve 30 dk sonunda çözünen değerin PAÇ tabletinden daha yüksek olduğu (%85,86 vs. %77,56) bulunmuştur. Çözünürlüğün yüksek olduğu pH 6,8 ortamında ise 30 dk. da çözünen değer PAÇ tabletinden daha yüksek olduğu bulunmuştur (%96,14 vs. %84,47).

**AMLEUD tableti:** AML pH 1,2, pH 4,5 ve pH 6,8 ortamlarında sırasıyla %97,57, %84,36 ve %44,82 oranında çözünme. Eudragit E100'ün pH bağımlı çözünme davranışı nedeniyle pH 6,8 ortamında şişen polimerin ilaç salınımını yavaşlatması nedeniyle çözünme hızı profili PAÇ tabletiyle karşılaştırıldığında profillerin benzer olmadığı (f<sub>2</sub>=47) gösterilmiştir. pH 1,2 ortamında AMLEUD tableti ve PAÇ tableti için AML çözünme hızı ilk 15 dakikada %85'ten fazla olduğu için f<sub>2</sub> benzerlik faktörü hesaplanmamış profiller benzer kabul edilmiştir. pH 4, 5 ortamında da profillerin benzer olduğu tespit edilmiştir (f<sub>2</sub>≥50).

AMLEUD tabletinden ROS pH 1,2, pH 4,5 ve pH 6,8 ortamlarında sırasıyla %87,95, %84,33 ve %90,11 oranında çözünmüştür. Elde edilen çözünme hızı profilleri PAÇ tabletiyle karşılaştırıldığında her üç ortamda da profillerin benzer olmadığı gösterilmiştir (f<sub>2</sub> <50). Her üç ortamda da ROS'un daha hızlı çözündüğü ve 30 dk sonunda çözünen değerlerin PAÇ tablete göre (pH 1,2: %77,56, pH 4,5: %76,91, pH 6,8: %84,47) daha yüksek olduğu bulunmuştur. Doygunluk çözünürlüğü çalışmalarında ROS etkin maddesinin AML varlığında çözünürlüğünün azaldığı gösterilmiştir. Eudragit E100 tarafından fiziksel olarak enkapsüle edilmiş AML etkin maddesinin ROS çözünme hızını azaltmadığı değerlendirilmesi yapılmıştır.

**FT-IR Analizleri:** PAÇ tabletinde AML etkin maddesine spesifik olan 1262,18 cm<sup>-1</sup> bölgesinde sülfonat asimetrik gerilim piki ve ayrıca -C=O grubuyla ilişkili etil ve metil ester pikleri sırasıyla 1697,34 cm<sup>-1</sup> ve 1672,06 cm<sup>-1</sup> dalga boyunda görülmüştür. ROS etkin maddesinin C-N (aromatik) geriliminden dolayı 1545,20 cm<sup>-1</sup> bölgesinde bir absorpsiyon bandı, aromatik halka ile ilgili 1508,82 cm<sup>-1</sup> dolaylarında C-C geriliminden dolayı, aromatik yapının C-F gerilmesinden dolayı 1379,71 cm<sup>-1</sup>'de, karakteristik asimetrik sülfon gerilmesinden kaynaklı 1230 cm<sup>-1</sup> dolaylarında zayıf gerilim piki ve -OH gruplarıyla ilgili yaklaşık 3280 cm<sup>-1</sup> dolaylarında pik tespit edilmiştir.

AMLCD tabletinde AML etkin maddesinin  $1672\text{ cm}^{-1}$  dalga boyunda görülmesi beklenen ester grubuna ilişkin pikiin görülmemesi inklüzyon kompleksinin yapısıyla ilişkilendirilmiştir.  $1262\text{ cm}^{-1}$  civarında görülmesi beklenen sülfonat grubu ilişkili gerilim piki ile AML yapısının korunduğu gösterilmiştir. ROS etkin maddesinin aromatik yapısının C-F gerilmesinden dolayı  $1378,98\text{ cm}^{-1}$ 'de gerilim piki,  $1547,94\text{ cm}^{-1}$ 'de C-N aromatik geriliminden kaynaklı bir absorpsiyon bandı ve karakteristik asimetrik sülfon geriliminden kaynaklı  $1230,79\text{ cm}^{-1}$ 'de gerilim piki tespit edilmiştir.

ROSCD tabletinde AML etkin maddesinden kaynaklı  $1261,47\text{ cm}^{-1}$  civarında sülfonat grubu ilişkili gerilim piki ve  $1672,22\text{ cm}^{-1}$  dalga boyunda ester grubuna ilişkin gerilim piki tespit edilmiştir. ROS etkin maddesinin karakteristik asimetrik sülfon geriliminden kaynaklı  $1231,15\text{ cm}^{-1}$ 'de gerilim piki,  $1547,62\text{ cm}^{-1}$ 'de C-N aromatik geriliminden kaynaklı bir absorpsiyon bandı ve aromatik yapının C-F gerilmesinden dolayı  $1380,01\text{ cm}^{-1}$ 'de gerilim piki tespit edilmiştir.

AMLEUD tabletinde AML etkin maddesinin  $1261,17\text{ cm}^{-1}$  bölgesinde sülfonat asimetrik gerilim piki ve  $1672,17\text{ cm}^{-1}$  dalga boyunda ester grubuna ilişkin gerilim piki tespit edilmiştir. ROS etkin maddesinin C-N (aromatik) geriliminden dolayı  $1547,15\text{ cm}^{-1}$ 'de bir absorpsiyon bandı,  $1378,53\text{ cm}^{-1}$ 'de aromatik yapının C-F gerilmesinden dolayı bir gerilim piki ve  $1230,37\text{ cm}^{-1}$ 'de karakteristik asimetrik sülfon geriliminden kaynaklı bir gerilim piki tespit edilmiştir.

FT-IR spektrumlarından elde edilen bulgular geliştirilen dört formülasyonda da etkin maddelerin yardımcı maddeler ve üretim yöntemleri ile geçimlilik gösterdiğinin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

**Stabilite Çalışmaları:** Hızlandırılmış stabilite koşullarında ( $40\pm 2\text{ C}^\circ$ ; %75 bağıl nem) yapılan 30 günlük stabilite testinde PAÇ tabletinin etkin madde içeriğinin 30 gün sonunda AML etkin maddesi için  $87,48\pm 5,02$  değerine, ROS etkin maddesi için  $84,10\pm 5,07$  değerine düştüğü tespit edilmiştir. Diğer taraftan AMLCD, ROSCD ve AMLEUD tabletlerindeki her iki etkin madde içeriğinin %90'ından fazlası korunmuştur. AMLCD tabletinde ise AML etkin madde içeriğinde bir azalma olmadığı ( $102,35\pm 5,27$ ) tespit edilmiştir. Literatürde siklodekstrinlerin ilaç degradasyonunu azalttığına dair çalışmalar mevcuttur (193). Bu nedenle AML etkin maddesinin AMLCD tabletinde stabil kalması siklodekstrinle inklüzyon kompleksi

oluşturmasına bağlanmıştır. Benzer şekilde ROSCD tabletinde etkin maddelerin PAÇ tabletine göre daha stabil olması da ortamdaki siklodekstrin varlığına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Literatürde katı dispersiyonların etkin maddelerin stabilitelerini artırdığı gösterilmiştir (194). AMLEUD tabletinde her iki etkin maddenin de stabilitesini yüksek oranda korumuştur. Bu durum katı dispersiyon oluşumuna bağlanabilir. ROS etkin maddesi buzdolabı koşullarında stabil olan bir etkin madde olmakla birlikte PAÇ tableti haricinde diğer ADT formülasyonlarında stabilitesini koruduğu gösterilmiştir.

AMLCD ve AMLEUD tabletlerinin stabilite çalışmaları süresince distile su ortamında dağılma süreleri anlamlı bir değişiklik göstermemiştir ( $p>0,05$ ). ROSCD tabletinin dağılma süresi 30. günde ortalama  $34,33\pm 8,09$  sn ile başlangıca göre ( $25,83\pm 6,34$  sn) uzamıştır ( $p<0,05$ ). PAÇ tabletinin ise dağılma süreleri anlamlı derecede hızlanmıştır ( $p<0,05$ ). Stabilite çalışmaları sonucunda *in vitro* karakterizasyon çalışmalarında anlamlı bir değişiklik olmayıp etkin madde içeriğini koruduğu gösterilen AMLCD ve AMLEUD tabletleri daha stabil bulunmuştur.

## 5.7. Elektro-eğirme Tekniği ile ADF Üretimleri

### 5.7.1. Polimer Çözeltisi Karakterizasyonları

**Yüzey gerilimi:** Elektro-eğirme işleminde, elektrik alanı bir polimer jeli üretmek için yüzey gerilimini aşmalıdır. Literatürdeki çalışmalar, yüzey geriliminin genellikle jet akışının kararlılığıyla ilişkili olduğunu ancak lif morfolojisiyle ilişkili olmadığını ortaya koymaktadır (111). PÇ2, PÇ3 ve PÇ4 ölçümleri, AML ve ROS'un yüzey geriliminde bir azalmaya neden olduğunu ve elektro-eğirme işlemi için potansiyel bir avantaj sağladığını göstermiştir. Bir çalışmada, yüzey gerilimi değeri  $25.18\pm 0.04$  mN/m olarak bulunmuştur ve bu değer PÇ1-PÇ4 değerlerinden daha yüksektir (195). Çalışmamızda elde edilen daha düşük yüzey gerilimi verimli bir elektro-eğirme işlemi için avantaj olarak değerlendirilmiştir.

**Viskozite:** İstenilen lif morfolojisi ve polimer çözeltisinin elektro-eğirme kabiliyeti için viskozite belirli bir seviyeyi aşmalı ve uygun bir değerde olmalıdır. Daha düşük viskozite ile daha ince lif çapı elde edilirken, belirli bir değerin üzerindeki yüksek viskozite polimer çözeltisinin eğrilme kabiliyetinin sınırlanmasına neden

olabilmektedir. Genel olarak, 100-2000 centipoise (cP) arasındaki viskozite ölçümleri kabul edilebilirdir (105). PÇ1, PÇ2, PÇ3 ve PÇ4'ün viskozite değerleri elektro-eğirme tekniği için kabul edilebilir çıkmıştır. PÇ2 ölçümleri, AML ve ROS'un PÇ1'e kıyasla önemli bir viskozite artışına neden olduğunu göstermiştir ( $p=0.00$ ). PÇ1, PÇ2, PÇ3 ve PÇ4 çözeltilerinin viskozitesinin değerlendirilmesi ROS etkin maddesinin viskoziteyi daha çok artıran etkin madde olduğunu göstermiştir.

**İletkenlik:** Polimer çözeltisi, elektrik alanını ve polimer jetini hızlandırmak için iletken olmalıdır. Literatürdeki çalışmalar, daha yüksek iletkenliğin daha ince ve daha pürüzsüz liflerle sonuçlandığını göstermiştir (98, 105). Arzu edilen lif yapısını elde etmek için, polimer çözeltisi iletkenliğini artırmak için tuz ekleme tekniği gibi çeşitli yaklaşımlar araştırılmıştır (196). PÇ1, PÇ2, PÇ3 ve PÇ4'ün iletkenlik değerlerinin değerlendirilmesi, AML ve ROS'un bir tuz ekleme yaklaşımı gibi hareket ettiğini ve polimer çözeltisinin iletkenliğini artırdığını göstermiştir. Ayrıca AML etkin maddesinin iletkenliği ROS etkin maddesine kıyasla daha çok artırdığı görülmüştür.

### 5.7.2. ADF Karakterizasyonları

**DSC Analizleri:** DSC termogramları yalnızca malzemenin termal davranışı hakkında değil, aynı zamanda hammadde özellikleri ve nihai ürün yapısı hakkında da bilgi sağlamaktadır. DSC termogramlarının değerlendirilmesi (Şekil 4.28.), AML'nin literatürle tutarlı olarak 208,29 °C'de erime endotermik bir pik sergilediğini (23) ve ROS'un su kaybına bağlı karakteristik bir pik olan 80,33 °C'de endotermik pik sergilediğini göstermiştir (197, 198). ROS ayrıca amorf yapısı nedeniyle 230,56 °C'de küçük bir endotermik pik göstermiştir (170, 199). PVP K90, higroskopik amorf PVP K90'ın su kaybından kaynaklanan 74-110 °C arasında geniş bir endotermik pik göstermiştir (200). PVP K90 ayrıca erime nedeniyle 433,92 °C'de geniş bir endotermik pik vermiştir (201). İlaçsız ve ilaç yüklü ADF örneklerinin DSC termogramları, PVP K90'a benzer su kaybı ve erime tepe noktalarına sahipken etkin maddelere ait pikler kaybolmuştur. Bu durum, AML ve ROS'un PVP K90 tarafından kapsandığını göstermektedir (202).

**FT-IR Analizleri:** AML, 3300 cm<sup>-1</sup>'de belirli bir N-H gerilim piki, 1614,08 cm<sup>-1</sup>'de bir C=C(aromatik) piki, 1493,61 cm<sup>-1</sup>'de bir aromatik iskelet yapısı gerilim piki, 1263,12 cm<sup>-1</sup>'de sülfonat asimetrik gerilim piki ve -C=O ile ilişkili etil ve metil ester pikleri sırasıyla 1697,20 cm<sup>-1</sup> ve 1672,56 cm<sup>-1</sup> dalga boyunda görülmüştür. Bu pikler literatürle uyumlu bulunmuştur (189, 190). ROS'un IR spektrumu, C-N (aromatik) geriliminden dolayı 1545,50 cm<sup>-1</sup>'de bir absorpsiyon bandı, aromatik halka ile ilgili 1508,43 cm<sup>-1</sup> C-C geriliminden dolayı, aromatik yapının C-F gerilmesinden dolayı 1383,6 cm<sup>-1</sup>'de, karakteristik asimetrik sülfon gerilmesinden kaynaklı 1226,71 cm<sup>-1</sup>'de ve -OH gruplarıyla ilgili yaklaşık 3200 cm<sup>-1</sup>'de pik göstermiştir (178, 199). PVP K90; 2953,89 cm<sup>-1</sup> (C-H gerilme titreşimi), 1654,01 cm<sup>-1</sup> (C=O gerilme), 1420,76 cm<sup>-1</sup> (C-H bükülmesi), 1286,81 cm<sup>-1</sup> (C-N gerilmesi) ve PVP'nin higroskopik yapısı nedeniyle PVP'nin C=O grupları ile PVP'nin su içeriği arasındaki etkileşimden kaynaklanan hidrojen bağları ile ilgili 3450,00 cm<sup>-1</sup> piklerini göstermiştir (203). Hem plasebo ADF-1 hem de ADF-1 yaklaşık 2900 cm<sup>-1</sup> (C-H gerilme titreşimi), 1659,30 cm<sup>-1</sup> (C=O gerilme), 1422,55 cm<sup>-1</sup> (C-H bükülmesi) ve 1287,48 cm<sup>-1</sup> (C-N gerilmesi) dalga boylarında pik göstermiştir. Ek olarak, ADF-1, sırasıyla ROS'a bağlı aromatik C-N gerilmesi ve aromatik C-F gerilmesi ile ilgili 1543.01 cm<sup>-1</sup> ve 1379.28 cm<sup>-1</sup> emilim bantlarında pik göstermiş ve ayrıca sülfonat asimetrik gerilmesinden kaynaklanan 1211,74 cm<sup>-1</sup>'de bir absorpsiyon piki görülmüştür. Hem plasebo ADF-2 hem de ADF-2, yaklaşık 2900 cm<sup>-1</sup>'de (C-H gerilme titreşimi), 1653,73 cm<sup>-1</sup>'de (C=O gerilmesi), 1422,21 cm<sup>-1</sup>'de (C-H bükülmesi) ve 1286,96 cm<sup>-1</sup>'de (C-N gerilmesi) pik göstermiştir. ADF-2, ROS'un aromatik C-N gerilmesini ve aromatik C-F gerilme bantlarını sırasıyla 1544,48 cm<sup>-1</sup> ve 1378.97 cm<sup>-1</sup>'de pik göstermiştir. Ayrıca, ADF-2, AML'nin sülfonat asimetrik gerilmesi nedeniyle 1210,73 cm<sup>-1</sup>'de bir absorpsiyon bandı sunmuştur. Tüm ADF örneklerinin değerlendirmeleri, karmaşık ADF üretim süreçlerine rağmen aktif maddelerin kimyasal yapılarının korunduğunu göstermiştir.

**XRD Analizleri:** Tüm XRD profillerinin değerlendirilmeleri; tüm ADF formülasyonlarının 21° (güçlü pik) ve 11° (zayıf pik) civarında piklere sahip olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 4.30). Bu pikler, PVP-K90'ın yarı kristal doğasından kaynaklanmaktadır (204, 205). Ek olarak, AML ve ROS'tan kaynaklanan bir kristallik bulgusu görülmemiştir. Bu durum etkin maddelerin lif içinde amorf bir yapıda

dağıldığını göstermektedir. Bu veriler, polimer çözelti karışımlarının amorf profili korumak için uygun bir ortam sağladığını göstermiştir.

**SEM Görüntüleri:** SEM görüntüleri hem işlem parametrelerinin hem de polimer çözeltisi bileşenlerinin lif oluşumunu etkilediğini ortaya koymuştur. Özellikle, plasebo ADF-2 önemli lif düzensizlikleri ve düz (flat) şekilli bir lif yapısı göstermiştir. Plasebo ADF-2 için ortalama lif çapı  $516,67 \pm 299,87$  nm iken, plasebo ADF-1'in ortalama lif çapı  $998,43 \pm 249,28$  nm olup, plasebo ADF-2 yuvarlak ve düz morfoloji kombinasyonu şeklinde oluşmuştur. Literatürdeki çalışmalar, polimer çözücüsünün buharlaşmasının lif morfolojisini etkilediğini öne sürmektedir. Genel olarak, elektro-eğirme işlemleri lif morfolojisinde boncuk görüntüsü oluşumu olmadan düzgün, yuvarlak şekilli lifler üretmeyi amaçlamaktadır. Bununla birlikte, sabit koşullar altında, daha yüksek akış hızları düz/şerit şekilli liflerle sonuçlanabilmektedir. Bu morfoloji, çözücü buharlaşmasının sabit olmayabileceğini düşündürür ve işlem parametreleri hakkında fikir verir (206). Bu tür lif morfolojisi, lif matının mekanik özelliklerini etkileyebilir ve belirli çalışmalarda çapraz bağlama uygulamaları gibi manipülasyonlara izin verdiği gösterilmiştir (207). Hem ADF-1 hem de ADF-2, sırasıyla  $1292,14 \pm 414,21$  nm ve  $1145,33 \pm 499,62$  nm ortalama lif çaplarıyla düz/şerit lif morfolojisi sergilemiştir. AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1, ADF-1 ve ADF-2 ile karşılaştırıldığında daha ince ortalama lif çaplarına (sırasıyla  $466,94 \pm 262,29$  nm ve  $827,69 \pm 276,31$  nm) sahiptir. 10 nm ile 1000 nm arasındaki lif çapları nanofiber olarak sınıflandırıldığından (174), elde edilen sonuçlar, tek ilaç yüklü ADF'lerin sabit doz ADF'lere kıyasla nanofiber çapları sağladığını göstermiştir.

Beklendiği gibi, ADF-1 ve ADF-2, polimer çözeltisinin (PÇ2) daha yüksek viskozitesi nedeniyle plasebo ADF'lere kıyasla daha kalın lif çapları göstermiştir. PÇ2'nin PÇ1'e kıyasla daha yüksek iletkenliğinin olması ( $PÇ2 > PÇ1$ ) ve daha düşük yüzey gerilimi olması ( $PÇ2 < PÇ1$ ) nedeniyle, ADF-1 ve ADF-2'nin plasebo ADF'lere kıyasla daha ince lif çapları sergilemesi beklenmiştir. Fakat, plasebo ve ilaç yüklü ADF'ler karşılaştırıldığında, PÇ2, PÇ1'den daha kalın lif çaplarına neden olmuştur. Buradan hareketle viskozitenin, yüzey gerilimi ve iletkenliğe kıyasla lif morfolojisini etkileyen en önemli parametre olabileceği değerlendirilmiştir.

AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1'in SEM görüntüleri, optimum hazırlama yönteminin tek başına AML veya ROS içeren bir ADF formülasyonu elde etmek için uygun olmadığını göstermiştir. İki filmde de görsel olarak lif düzensizlikleri tespit edilmiştir. Hem AML-ADF-1 hem de ROS-ADF-1 filmlerinin SEM görüntülerinde, ilaç etkin maddelerinin kristal doğalarından kaynaklanabileceği düşünülen kristal benzeri yapılar görsel olarak tespit edilebilmektedir. Ancak, XRD analizleri tek ilaç yüklü ADF'lerde kristalinite profilinin olmadığını göstermiştir. Bu sonuçlara dayanarak, PÇ3 ve PÇ4'ün kararsız elektro-eğirme sürecinin bir sonucu olarak lifte amorf yapılar oluştuğu ve bu yapıların lif yapısı oluşturamayan parçacık benzeri yapılar olarak SEM görüntülerinde görüldüğü değerlendirilmiştir.

SEM görüntülerinin genel değerlendirmeleri, elektro-eğirme işlem parametrelerinin plasebo ADF'leri ilaç yüklü ADF'lerden daha fazla etkilediğini ve tek ilaç yüklü ADF'lerin sabit dozlu ADF'lere kıyasla nano boyutta fiber oluşumu sergilediğini ortaya koymuştur. Polimer solüsyonu karakterizasyonları, viskozitenin lif çapını etkileyen en önemli faktör olduğunu göstermiştir.

**İçerik Tekdüzeligi:** Beklendiği gibi, aktif bileşenlerin yüzdesi ADF-2'de daha yüksek çıkmıştır. Bu fark, uygulanan voltaj farkından dolayı ADF-2'nin daha düşük nem içeriğine sahip olmasından kaynaklanabilir. Tek ilaç yüklü ADF formülasyonları açısından sonuçlar, tek ilaç yüklemesinin ADF'ler için sabit doz ADF'lerden daha yüksek ilaç içeriği sağladığını göstermiştir. Başlangıç polimer çözeltilerinin (PÇ2, PÇ3 ve PÇ4) aynı miktarda AML ve ROS içerdiği düşünüldüğünde, AML-ADF-1'in daha yüksek ilaç yükleme kapasitesi; çok düşük kalınlığı ve lif düzensizlikleri ile açıklanabilir. Yine de AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1 Avrupa Farmakopesi'nin 10. baskısının içerik tekdüzelik kriterlerini karşılamıştır fakat, bu durumun sabit koşullar altında sabit doz preparatlarına kıyasla daha yüksek standart sapmalara yol açtığı değerlendirilmiştir. Literatürde yer alan ADF çalışmalarındaki ilaç yüklemesinin kapsamlı bir incelemesinde, çözücü döküm (*solvent casting*) gibi çeşitli üretim yöntemleri de dahil olmak üzere bu aralığın 0,01 ila 20,83 mg/cm<sup>2</sup> arasında olduğu ve ortalama değerin 2,08 mg/cm<sup>2</sup> olduğu bulunmuştur (208). Tez çalışmasında, ADF-1 ve ADF-2'nin ilaç yükleme kapasitesi yüzey alanı üzerinden sırasıyla yaklaşık 0,62±0,01 mg/cm<sup>2</sup> ve 0,97±0,03 mg/cm<sup>2</sup> olarak hesaplanmıştır. Bu karşılaştırmanın ADF kalınlığını hesaba katmadığı unutulmamalıdır. Başka bir çalışmada, nano-süspansiyon

bazlı bir ADF'nin ilaç yüklemesi yaklaşık %33,33 a/a olarak bildirilmiştir (209). Çalışmamızda, toplam ilaç yüklemesi yaklaşık %32,80 ile %34,20 a/a arasında değişmiştir. Başka bir çalışmada, zayıf suda çözünen bir bileşik olan piroksikam içeren 3x3 cm elektro-eğrilmiş ADF örnekleri, %8,9'luk maksimum ilaç yüklemesi sergilemiştir (210). ADF üretmeye engel teşkil edeceği düşünülen ROS etkin maddesinin düşük suda çözünürlüğü göz önünde bulundurulduğunda, ADF-1 ve ADF-2'nin mükemmel ilaç yükleme kapasitesi ve içerik homojenliği sunduğu değerlendirilmiştir.

**Film Kalınlığı:** Film kalınlığı, ADF'lerin temel bir özelliğidir ve ADF tekdüzeliğini ve mekanik değerlendirmelerine ışık tutar (211). ADF kalınlığı için kabul edilebilir aralığın 20  $\mu\text{m}$  ile 500  $\mu\text{m}$  arasında olduğu bildirilmektedir (212). Plasebo ADF-1 ve plasebo ADF-2'nin film kalınlığı, karşılık gelen ADF-1 ve ADF-2 formülasyonlarından daha ince film kalınlığı göstermiştir. Bu sonuçlara dayanarak, ikili ilaç içeriğinin daha kalın filmlerin üretilmesine imkân verdiği düşünülmektedir. Dokuz farklı ADF formülasyonunu karşılaştıran bir çalışmada, film kalınlığı  $70 \pm 30$   $\mu\text{m}$  ile  $389 \pm 10$   $\mu\text{m}$  arasında değişmiş, kalınlık için daha yüksek standart sapma değerleri 100  $\mu\text{m}$ 'nin altında görülmüştür. Bu sebeple tekdüze fiber filmler elde etmek için film kalınlığının belirli bir seviyeyi aşması gerektiği sonucuna varılmıştır (213). Tez çalışmalarında, ADF-1 ve ADF-2 düşük SS değerleriyle kabul edilebilir kalınlık değerleri sunmuştur. ADF-1, ADF-2 ile karşılaştırıldığında daha düşük bir standart sapmaya sahiptir. Bu durum, film kalınlığından etkilenen elektro-eğirme koşullarıyla ilişkili olabilir. Lif matlarının kalınlaşmasının elektrik alanını etkilediği ve istenmeyen mat oluşumuna neden olabileceği bildirilmiştir.

Sumatriptan içeren ADF formülasyonları üzerinde yürütülen başka bir çalışmada, film kalınlığı değerlerinin  $206 \pm 5$   $\mu\text{m}$  ile  $328 \pm 10$   $\mu\text{m}$  arasında değiştiği ve tüm formülasyonların istenen mekanik özellikleri gösterdiği bildirilmiştir (214). Karşılaştırmalı bir panel çalışmasında, elektro-eğrilmiş filmler ( $253 \pm 10$   $\mu\text{m}$ ) ve çözücü döküm filmler ( $83 \pm 10$   $\mu\text{m}$ ) sağlıklı gönüllüler tarafından çeşitli ADF özelliklerine göre değerlendirilmiş ve elektro-eğrilmiş filmler kalınlık açısından %22 daha fazla katılımcı tarafından tercih edilmiştir (215). Tüm bu veriler göz önünde bulundurulduğunda, tez çalışmasında elde edilen sabit doz ADF'lerin kalınlığı kabul edilebilir bulunmuştur.

ÖF1 (120 dk) işlemiyle hazırlanan ilaç içeren ADF'lerin kalınlık sırası şu şekildedir: AML-ADF-1<ADF-1<ROS-ADF-1. Bu çalışmada elde edilen en ince filmler AML-ADF-1 filmleri olmuştur ( $150\pm15.83 \mu\text{m}$ ). Sabit dozlu film hazırlama yaklaşımları, daha istenen ADF özelliklerini elde etmek için filmlerin kalınlığının ayarlanmasına olanak tanımıştır.

**Yüzey pH Değeri Değerlendirmeleri:** Elde edilen ADF örneklerinin pH değerlerinin karşılaştırılması, ROS içeriğinin ADF-1 ve ADF-2'nin yüzey pH değerindeki düşüşün ana nedeni olabileceğini ortaya koymuştur (pH; ROS-ADF-1<ADF-1<AML-ADF-1). İnsan tükürüğünün pH aralığı 5,3-7,8 arasında olduğundan (216, 217) ilaç yüklü tüm ADF formülasyonları (ADF-1, ADF-2, AML-ADF-1, ROS-ADF-1) insan kullanımı için uygun ve güvenli kabul edilmektedir ve hasta uyuncunun sağlanacağı düşünülmektedir.

**Nem İçeriği:** ADF'lerin nem içeriği, olası yapışkanlığı ve kullanım zorluklarını önlemek için %10'un altında tutulmalıdır (208). ADF-1 ve ADF-2'nin nem içeriği, kurutmada kayıp yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. 30 dakika inkübasyon sonrası ağırlıkta azalmada bir değişiklik olmaması nedeniyle nem içeriğini hesaplamak için 30 dakikaya kadar ölçümler kullanılmıştır. Daha yüksek voltajın, jet çözeltisinin daha verimli kurutulmasıyla sonuçlandığı bilinmektedir (102). ADF-1, 10 kV voltajla üretilirken, ADF-2, 15 kV voltajla üretilmiştir. ADF-1 ve ADF-2'nin nem içeriği sırasıyla  $3,00\pm0,16$  ve  $2,13\pm0,02$  şeklinde sonuçlanmıştır. ADF-2, uygulanan voltaj artışını telafi etmesi ve ADF-1 gibi bir nem içeriğini koruması için akış hızının artırılması bir strateji olarak düşünülebilir. Fakat daha yüksek akış hızının benzer bir nem içeriğine ulaşmadığı görülmüştür. Tez çalışmamızda elde edilen sabit dozlu ADF'lerin nem içeriği depolama ve taşıma koşulları için kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir.

Tüm ilaç yüklü ADF'lerin nem içeriği ( $>2\%$ ), ilaçsız ADF'lerin nem içeriğinden ( $0,71-1,38$ ) daha yüksektir. İlaç yüklü ADF'ler için nem içeriği, toplam ilaç içeriğindeki artışla birlikte artmıştır. Nem içeriğinin toplam ilaç yüklemesinden etkilendiği düşünülmektedir.

**Dağılma ve Islanma Süreleri:** Dağılma ve ıslanma süresi ADF formülasyonlarının önemli özellikleridir. ADF-2, ADF-1'den ( $1,03\pm0,17 \text{ sn}$ ) daha hızlı

bir dağılma süresi ( $0,72 \pm 0,07$  sn) göstermiştir ( $p=0.003$ ). ADF-1 ve ADF-2'nin ıslanma süreleri sırasıyla  $0,88 \pm 0,07$  sn ve  $0,65 \pm 0,08$  sn olarak tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). ADF-2 daha yüksek gözeneklilik gösterdiği ve bu sebeple daha hızlı ıslanmasına ve dağılma gösterdiği düşünülmektedir. ADF-2'deki lif çapı değerlerinin daha düzensiz dağılması, daha gözenekli bir yapı elde edilmesine neden olmuş olabilir. Plasebo ADF-1'in dağılma ve ıslanma süresi plasebo ADF-2'den daha hızlı olmuştur. Her ne kadar ADF dozaj formlarının dağılma süresi için belirlenmiş bir yöntem veya kabul kriteri olmasa da, FDA ağızda dağılan tabletler için 30 saniye veya daha kısa bir dağılma süresini kabul etmektedir (218). Tez çalışmasında üretilen tüm ADF formülasyonları çok hızlı dağılma ve ıslanma davranışı göstermiştir.

Dağılma süresi nemden de etkilenebilir. Bir çalışma, sabit bağıl nem altında (75%; 85% ve 95% bağıl nem) nem uygulama süresinin ilaç ürününün dağılma süresinin uzamasına yol açtığını göstermiştir (219). Bu nedenle, ADF-2'nin daha düşük nem içeriğinin, ADF-1'e kıyasla hızlı dağılmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Sabit doz ADF'lerin (ADF-1 ve ADF-2) dağılma ve ıslanma süreleri, plasebo ADF'lerin sürelerinden (plasebo ADF-1 ve plasebo ADF-2) daha uzun olmuştur. AML'nin yüksek çözünürlük özelliği sebebiyle; AML-ADF-1, plasebo ADF-1 ile benzer dağılma süresi ( $p=0,32$ ) ve ıslanma süresi ( $p=0,43$ ) göstermiştir. ROS-ADF-1 ise, muhtemelen daha düşük çözünürlüğü nedeniyle, hem plasebo ADF-1 hem de ADF-1 ile karşılaştırıldığında daha uzun dağılma ve ıslanma süreleri göstermiştir. AML ve ROS içeren sabit doz ADF'lerin dağılma ve ıslanma süresi davranışları, ROS-ADF-1 ile karşılaştırıldığında iyileşmiştir. Başka bir deyişle, AML içeriği, yüksek çözünürlüğü nedeniyle bir hızlandırıcı olarak katkıda bulunmuştur. Bulgularımıza benzer şekilde, elektro-eğrilmiş liflere dayalı iki kontraseptif ilacın (levonorgestrel ve etinilestradiol) transdermal olarak verilmesini amaçlayan bir çalışma, elektro-eğrilmiş liflerin tek ve çift ilaç yükleme etkisini değerlendirmiştir. Her iki ilaç da suda çözünmüyor olsa da suda çözünürlükleri artmıştır (levonorgestrel:  $1,4 \mu\text{g/mL}$  çözünürlük ve etinilestradiol:  $9,7 \mu\text{g/mL}$ ) (220). Bu çalışmada, sürekli ilaç salımı için çift ilaç yüklemesi, tek ilaç yüklü forma kıyasla levonorgestrel salım profilinin artmasıyla sonuçlanmıştır ve daha yüksek çözünürlüğe sahip bir ilaçla çift ilaç yüklemesinin düşük çözünürlüğe sahip ilaçların çözünürlüğünün hızlanmasını sağladığı savını desteklemiştir (221).

**Mekanik Özellikler:** Bir ADF ürünü, taşıma, depolama ve hasta kullanımı dahil olmak üzere çeşitli koşullara dayanıklı olmalıdır. Mekanik özellikleri değerlendirmek için, çekme mukavemeti (gerilme direnci), kopma anında uzama ve elastik modülüs (Young's modülüs) gibi belirli özellikler incelenerek bu değerlendirmeler yapılabilir.

ADF'lerin istenen mekanik özellikleri arasında yeterli gerilme direnci, yüksek uzama davranışı ve düşük elastik modülüs yer almaktadır (222, 223). Tüm gerilme direnci değerlendirmeleri, plasebo ve sabit doz ADF'lerin benzer gerilme direnci özellikleri sergilediğini ortaya koymuştur ( $p>0,05$ ). Buna karşılık, AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1, plasebo ve sabit doz ADF'lere kıyasla daha düşük gerilme direnci değerlerine sahiptir. Gerilme direnci değerlendirmeleri, ADF-1'in ADF-2'den daha arzu edilen mekanik özelliklere sahip olabileceğini gösterse de fark istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır ( $p=0,08$ ). Sonuçlara dayanarak, çift ilaç içeren polimer çözeltisinin, elde edilen elyaf matının gerilme direnci açısından elektro-eğirme işlem parametrelerinden önemli ölçüde etkilenmediği sonucuna varılabilir. Öte yandan, tek ilaç yüklü polimer çözeltileri kullanılarak elde edilen filmler daha düşük gerilme direnci özellikleri göstermiştir.

ADF'lerin uzama davranışının analizi (kopma anında uzama), plasebo ADF'lerin daha fazla elastikiyet gösterdiğini ve ADF-2'nin uzama özellikleri açısından ADF-1'e kıyasla daha fazla elastikiyet gösterdiğini ortaya koymuştur ( $p=0,03$ ). Plasebo ADF-1, plasebo ADF-2'ye kıyasla belirgin şekilde üstün uzama özellikleri göstermiştir ( $p=0,01$ ). Bu farklılık, plasebo ADF-2'de daha yüksek çözücü buharlaşmasına yol açan uygulanan voltaj farkına ve elde edilen elyaf matının liflerdeki daha düşük çözücü içeriği nedeniyle daha düşük elastikiyet özellikleri göstermesine bağlanmıştır. ADF-2, ADF-1'e kıyasla üstün elastikiyet göstermiştir ( $p=0,03$ ). Bu fark, çözücü ortamının yokluğunda ilaç içeriğinin daha elastik bir davranış sergilediğini düşündürebilir. İlaç içeren polimer çözeltilerinin elastikiyette bozulmaya neden olduğu görülmektedir. Öte yandan elastikiyetteki bozulma filmin toplam ilaç yüzdesinden kaynaklanıyor olabilir. Kopma uzaması değerleri plasebo ADF-1 ( $\%22,89\pm3,61$ ), ROS-ADF-1 ( $\%6,03\pm1,11$ ), AML-ADF-1 ( $\%2,91\pm0,15$ ), ADF-1 ( $\%0,87\pm0,05$ ) sırasında azalmıştır. Buna karşılık gelen toplam ilaç içerikleri ADF-1 ( $\%32,8$  a/a), AML-ADF-1 ( $\%23,70$  a/a), ROS-ADF-1 ( $\%15,56$  a/a), plasebo

ADF-1 (%0 a/a) sırasıyla azalmıştır. Bu sonuçlar, kopma anında uzama değerlerinin toplam ilaç yüzdeleriyle ters orantılı olduğunu göstermiştir.

ADF-1 ve ADF-2'nin Young's modülü sonuçları, ilaç ilavesiyle plasebo ADF'lere kıyasla artmıştır. ADF-1, ADF-2 ile karşılaştırıldığında daha yüksek Young's modülü değeri göstermiştir ( $p=0,006$ ). Elektro-eğirilmiş filmler üzerinde yapılan bir çalışmada, Young modülü değerleri, istenen değer olarak kabul edilen  $0,93 \pm 0,11$  MPa ile  $1,23 \pm 0,09$  MPa arasında değişmiştir (224). Bu değerler, tez çalışmasında üretilen edilen sabit doz fiber matlarla uyumlu olmuştur. Buna karşılık, AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1, istenmeyen mekanik özelliğin göstergesi olan çok düşük Young's modülü değeri göstermiştir. Elektro-eğirme işleminin sabit koşulları altında (PF1 işlemi, 120 dk işlem süresi), AML ve ROS'un sabit doz kombinasyonu daha yüksek Young's modülü değeri ile sonuçlanmıştır. Elektro-eğirme işlemi çözücü döküm yöntemine kıyasla daha düşük Young's modülü değerlerine yol açsa da, elektro-eğirilmiş ADF'ler çok hızlı parçalanma (0,30 - 1,50 sn süreye karşılık 51,3 sn) ve çözünme (5 dakikada yaklaşık %85 çözünmeye karşılık 60 dakikada yaklaşık %85 çözünme) profili göstermiştir (23). AML-ADF-1 ve ROS-ADF-1, ADF-1 ile aynı elektro-eğirme yöntemi ile hazırlanmış olsa da istenen mekanik özelliklere sahip değildir. Fakat ADF-1, çift ilaç içeriği ve optimum elektro-eğirme koşulları nedeniyle mükemmel dağılma ve çözünme profili ve kabul edilebilir mekanik özellikler sergilemiştir. Literatüre göre, Young's modülü değeri  $26.08 \pm 5.20$  MPa olan ve AML içeren elektro-eğirilmiş ADF'leri, farklı polimer seçimi veya farklı elektro-eğirme koşulları gibi farklı yaklaşımlarla geliştirmek mümkündür (225). Tez çalışmamızda elektro-eğirme sürecine tek ve kombine ilaç yüklemenin etkisini değerlendirmek amacıyla PF1 üretim sürecinin sabit tutulması uygun görülmüştür.

Genel olarak, ADF-1 ve ADF-2'nin fiziksel strese karşı daha dayanıklı ve dolayısıyla taşıma ve depolama süreçleri sırasında daha kararlı olabileceği sonucuna varılmıştır. Özellikle, ADF-1, elektro-eğirme sürecindeki işlem varyasyonları nedeniyle daha kabul edilebilir özellikler sunmuştur.

Katlama dayanıklılığını değerlendirmek için, tüm ADF'ler herhangi bir kırılma olmadan 200'den fazla kez katlanmıştır. Bir çalışmada, geliştirilen ADF'ler 40 kez katlanmış ve bu ADF'lerin esnek olduğu bulunmuştur (226). Literatüre göre, katlama

dayanıklılığı değerleri 50 ile 300'den fazla katlama arasında değişmektedir (216). Bir çalışmada, dört ticari ADF ürünü katlama dayanıklılığı açısından değerlendirilmiş ve sonuçlar 5 ile 179 katlama arasında değişmiştir (227). Tüm verilere dayanarak, bu çalışmada geliştirilen sabit doz ADF'lerin ürün yaşam döngüsünün tüm aşamalarına dayanabileceğini göstermektedir.

***İn vitro çözünme hızı çalışmaları:*** Çözünme hızı çalışmaları, ilaç ürününün *in vivo* performansını ilişkilendirmenin en etkili yollarından biridir. FDA'nın endüstriye yönelik kılavuzunda, yüksek çözünürlüklü ilaç maddesi içeren hemen salınan dozaj formları için çözünme kabul kriteri 30 dakikada %80 çözünme olarak bildirilmiştir (228). Çalışmamızda, tek ilaç yüklü ADF'ler de dahil olmak üzere tüm ADF formülasyonları hem AML hem de ROS için her pH ortamında 5 dakikada %90'ın üzerinde bir çözünme profili sergilemiştir. Literatürde incelenen benzer ADF çalışmalarında da 5 dakikada %90'ın üzerinde bir çözünme potansiyeli tespit edilmektedir. Örneğin, az çözünür albendazol sülfoksit ve prazikuantel içeren bir ADF formülasyonu, fiber film formülasyonu sayesinde 5 dakikada %90'ın üzerinde çözünme sergilemiştir (201). ROS'un düşük çözünürlüğüne rağmen, çözünme profili yüksek çözünürlüklü ilaç maddeleri için kabul kriterlerini karşılamaktadır. ADF-2'nin dağılıma süresi daha hızlı olmasına rağmen, pH 1,2 ve pH 4,5 tamponlarında 5 dakikada çözünmesi ADF-1'e kıyasla nispeten daha düşük olmuştur, ancak fark anlamlı değildir ( $p>0.05$ ). Bu sonuçlar, ADF-2'nin düşük nem içeriğinden kaynaklanıyor olabilir ve bu da ilaç maddelerinin daha düşük ıslanmasına neden olmuş olabilir.

Etkin maddelerin çözünürlük davranışları nedeniyle, AML-ADF-1 daha hızlı çözünme göstermiş ve ROS-ADF-1 daha yavaş çözünme profili sergilemiştir. İlaç yüklü ADF'ler (AML-ADF-1, ROS-ADF-1, ADF-1 ve ADF-2) tüm ortamlarda erken zaman noktalarında küçük farklılıklar gösterse de, tüm ADF'lerdeki ilaç salımı (AML veya ROS) 5 dakika içinde %90'dan fazladır. FDA ve EMA'nın hemen salınan dozaj formuna ilişkin yönergelerine göre, ilacın %85'inden fazlası 15 dakika içinde çözünüyorsa, çözünme profilleri daha fazla matematiksel değerlendirmeye gerek kalmadan benzer olarak kabul edilmektedir (175, 176). Bu sebeple, tüm ortamlarda tüm ilaç yüklü ADF'lerin çözünme profillerinin benzer olduğu kabul edilmiştir.

ADF'leri geliştirmek için çeşitli yaklaşımlar kullanılabilmektedir. Bunlardan özücü dökümü, işlenmesinin kolay olması nedeniyle yaygın olarak seçilen bir yöntemdir. Ancak, bu filmler elektro-eğirilmiş ADF'lere kıyasla daha uzun dağılma ve çözünme süreleriyle sonuçlanmaktadır. Literatürde özücü döküm yöntemi ile hazırlanan AML içeren ADF formülasyonunda dağılma süresinin 51,3 saniye olduğu ve %85 çözünmenin 60 dakikada elde edildiği bildirilmiştir (23). Çözücü döküm veya 3B baskı ile birleştirilmiş sıcak eriyik ekstrüzyon yöntemi başka bir yaklaşımdır. Bu yöntemle uzun süreli ilaç salımlarının sağlandığı bildirilmiştir (229, 230). Elektro-eğirme, sıcak eriyik ekstrüzyon veya 3B baskı ile üretilmiş parçacıkların polimer çözeltilisine dahil edilmesini sağlamaktadır (231). 3B baskılı veya ekstrüde edilmiş parçacıkların uzun süreli salınım davranışı göstermesi nedeniyle, elektro-eğirilmiş ADF formülasyonunun çok hızlı bir şekilde dağılması ve çözünmesi sebebiyle üstünlük göstermektedir.

**Stabilite alışmaları:** ADF formülasyonlarının stabilite çalışmaları 12 ay süre ile yürütölmüştür. Formülasyon geliştirme süreçlerinde ADF örneklerinin nem kaybederek sertleştiği tespit edilmiştir. Bu sebeple stabilite çalışmaları filmlerin hava almaz alüminyum ambalajlarda saklanması ile yapılmıştır. Söz konusu ambalajlar ısı ile kapatılmıştır. alışmalar esnasında bazı filmlerin hava alarak kuruduğu dolayısıyla ısı ile kapatma işleminin başarısız olduğu örneklerin tespit edilmiştir. Bu şekilde kuruduğu tespit edilen filmler stabilite deneylerine dahil edilmemiştir. Hava almadan saklanmış filmlerin üretim zamanında olduğu gibi esnek, kırık beyaz ve düz görünümde olduğu tespit edilmiştir.

içerik tek düzeliği sonuçlarına göre ADF-1 filmi her iki etkin madde için 12 ay boyunca stabilitesini korumuştur. ADF-2 filmi ise 6. ayda her iki etkin madde için beklenen içeriğin yaklaşık %92'sini sunmuştur. 12. ayın sonunda AML içeriği beklenen içeriğin %89'una inmiştir. ADF-1 filmi ADF-2 filmine göre daha stabildir. Bu durum ADF-1 formülasyonunun çok daha düzgün ve homojen lif yapısına bağlı olabilir.

Gerilme direnci, kopma anında uzama ve elastik modölüs değerleri örneklem zamanlarında tutarsız sonuçlar vermiştir. Bunun sonucunun hava aldığı fark edilmeyen film örnekleri olduğu düşünölmektedir. 12. ay örnekleri ısıtıcı yardımıyla ilk

ambalajlanmış örnekler olup en güvenilir örnekler olarak değerlendirilmektedir. Tüm örnekler için 12. ay deneylerinde gerilme direnci, kopma anında uzama ve elastik modülüs değerleri 0. ay değerlerinden istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Sonuç olarak iki film formülasyonu da mekanik özelliklerini stabilite çalışması boyunca koruma eğilimindedir. Her iki formülasyonun da aynı şekilde 12. ay örneklerinde distile su ortamındaki dağılma sürelerinde anlamlı bir değişiklik olmamıştır.

### 5.8. Hücre Kültürü Çalışmaları

Geliştirilen formülasyonların (PAÇ, AMLCD, ROSCD, AMLEUD, ADF-1 ve ADF-1) ve hammadde olarak etkin maddelerin (AML, ROS ve AML+ROS) CaCo-2 hücre hattından permeabiliteleri incelenmiştir. Tek başına hammaddelerin permeabilite sonuçları AML ve ROS için sırasıyla  $2,46\pm0,14\times10^{-5}$  cm/sn ve  $2,27\pm0,78\times10^{-5}$  cm/sn olarak tespit edilmiştir. Literatürde,  $P_{app}<1\times10^{-6}$  cm/sn olan etkin maddeler zayıf permeabilite (%0-20),  $1\times10^{-6}$  cm/sn  $<P_{app}<1\times10^{-5}$  cm/sn arasında olanlar orta permeabilite (%20-70) ve  $P_{app}>1\times10^{-5}$  cm/sn olan maddelerin ise yüksek permeabilite (%70-100) gösterdiği değerlendirilmektedir (232, 233). Tayin edilen permeabilite bulguları doğrultusunda AML ve ROS 'un permeabilitesi yüksek olarak değerlendirilmiştir.

AML etkin maddesinin ROS varlığında permeabilitesinde artış olduğu görülmüştür ( $3,52\pm0,28\times10^{-5}$  cm/sn;  $p=0,048$ ). ROS etkin maddesinin ise AML varlığında permeabilitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişme olmamasına rağmen ortalama  $P_{app}$  değeri azalmıştır ( $1,69\pm0,51\times10^{-5}$  cm/sn;  $p=0,40$ ). Bununla birlikte AML ve atorvastatin ile yapılan benzer bir çalışmada AML'nin atorvastatin varlığında permeabilitesinde azalma olduğu ancak atorvastatinin emiliminin etkilenmediği gösterilmiştir (234). PAÇ tablet için tayin edilen permeabilite değerleri etkin maddelerin fiziksel karışımı için permeabilite değerleri ile benzer bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Bu bulgu PAÇ formülasyonunda kullanılan eksipiyenlerin etkin maddelerin permeabilitesine bir etkisinin olmadığı yönünde değerlendirilmiştir.

AMLCD ve ROSCD tabletlerinde, etkin maddelerin fiziksel karışımına (AML+ROS) ve PAÇ tabletine kıyasla ROS etkin maddesinin permeabilitesi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmıştır ( $p<0,05$ ). AML etkin maddesinin ise fiziksel karışıma

kıyasla permeabilitesinde anlamlı bir değişim olmamıştır ( $p>0,05$ ). Buna karşılık PAÇ tabletine kıyasla AMLCD tabletinde AML permeabilitesinde bir azalma görülmüştür ( $p=0,005$ ). ROSCD tabletinde ise PAÇ tabletine kıyasla AML permeabilitesinde anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ( $p=0,25$ ). Siklodekstrin komplekslerinin permeabilite artırma stratejisi olarak kullanıldığı bilinmektedir. ROS etkin maddesi için ortamda yer alan siklodekstrin varlığının permeabilite artırıcı etkinliğinin olduğu gösterilmiştir. Buna karşılık AML etkin maddesinin permeabilitesinin ortamda siklodekstrin varlığına farklı cevap verebileceği değerlendirilmiştir. AMLCD tabletinde inklüzyon kompleksi halinde olan etkin maddenin permeabilitesi azalırken, ROSCD tabletinde hammadde halinde bulunan AML etkin maddesinin emiliminde bir azalma görülmemiştir. Ortamdaki siklodekstrin konsantrasyonu arttıkça ilaçların permeabilitesinin azaldığı bildirilmiştir (235, 236). AML etkin maddesinin AMLCD tabletinde permeabilitesinin azalması bu nedenle gerçekleşmiş olabilir. Bununla birlikte ROSCD tablet formülasyonu içeriğindeki ROSCD miktarının daha fazla olması nedeniyle teorik olarak daha yüksek konsantrasyonda 2HP $\beta$ CD salımı yapmaktadır. AML etkin maddesinin öncelikli mekanizma olarak pasif difüzyon ile emilim gösterdiği ileri sürülmüştür (234). Buradan hareketle inklüzyon kompleksi içerisinde hapsolmuş AML etkin maddesinin pasif difüzyonla geçişinin yavaşladığı çıkarımında bulunulmuştur.

AMLEUD tabletinde AML+ROS karışımına kıyasla permeabilite sonuçlarında anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Buna karşılık PAÇ tabletine kıyasla AMLEUD tabletinde AML etkin maddesinin permeabilitesi biraz azalmıştır. Bunun sebebinin Eudragit E100 polimerinin HBSS ortamındaki çözünürlüğünün az olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

ADF-1 ve ADF-2 filmlerinde ROS etkin maddesi için AML+ROS karışımına ve PAÇ tabletine kıyasla herhangi bir permeabilite farkı tespit edilmemiştir. AML etkin maddesinin AML+ROS karışımına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmasa da permeabilitesi düşmüştür. PAÇ tabletine kıyasla ADF formülasyonlarında AML permeabilitesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşmüştür. Literatürde PVP K90'ın permeabilite üzerine etkisi araştırılmıştır. Antipirin ve  $\beta$ -naftol'ün permeabilitesinin PVP varlığında belirli konsantrasyonunun üzerinde transselüler geçişin azalmasına bağlı olarak azalma eğiliminde olduğu gösterilmiştir. Buna karşılık paraselüler geçişin

etkilenmediği bildirilmiştir (237). AML etkin maddesinin P-gp substratı olduğu bilinmektedir (238, 239). Ek olarak bir çalışmada AML'nin transselüler geçiş ile pasif *efflux* mekanizmasını izlediği bildirilmiştir (134). Sonuç olarak ADF formülasyonlarındaki AML emiliminin kısmi düşüşünün PVP K90 varlığına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

ADT formülasyonları ile ADF formülasyonları karşılaştırıldığında, ADT formülasyonlarının daha iyi ve kolay tayin edilebilir fiziksel mukavemet, kolay üretim ve özel ekipman gerektirmeme gibi üstünlükleri olduğu görülmüştür. Buna kıyasla, tez çalışmasında ADF formülasyonları ağızda dağılan dozaj formlarının kritik kalite özellikleri olan dağılma ve çözünme hızı için 1 saniye gibi kısa bir sürede dağılma ve çok hızlı çözünme hızı gösterme gibi anlamlı üstünlükler göstermiştir. *In vitro* permeabilite çalışmalarında ADF formülasyonlarında AML etkin maddesi için permeabilitenin azaldığı tespit edilmiştir. Söz konusu azalmanın kullanılan polimerden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Alternatif bir polimer seçimi ile (PVA, PEO veya kombinasyonları) bu azalmanın önüne geçilebileceği düşünülmektedir. Bu değerlendirmeler ışığında AML ve ROS içeren ağızda dağılan sabit doz kombinasyonları için ADF formülasyonlarının çok daha avantajlı olduğu düşünülmektedir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tez çalışmaları kapsamında amlodipin besilat (AML) ve rosuvastatin kalsiyum (ROS) içeren ağızda dağılan sabit doz kombinasyonu formülasyonlar geliştirilmiştir. Bu amaçla ağızda dağılan tabletler (ADT) ve ağızda dağılan filmler (ADF) geliştirilmiştir.

- AML ve ROS etkin maddelerinin eş zamanlı tayin edilebileceği bir HPLC yöntemi geliştirilmiş ve valide edilmiştir.
- Etkin maddelerin doyguluk çözünürlüğü çalışmaları yapılmış ve her iki etkin maddenin de 4 ortamda (distile su, pH 1,2, 4,5 ve 6,8) karışım halinde çözünürlüğünün azaldığı tespit edilmiştir.
- AML ve ROS etkin maddelerinin siklodekstrin inklüzyon kompleksleri başarıyla hazırlanmış ve ayrıca AML etkin maddesinin katı dispersiyonu hazırlanmıştır.

### *Ağızda dağılan tablet çalışmaları:*

- SeDeM-ODT uzman sistemi yardımı ile birden fazla tozun basılabilirlik ve parçalanabilirlik özelliklerinin eş zamanlı düzeltilmesi yaklaşımı sağlanmıştır.
- Optimum formülasyon önerisinden hareketle 3 farklı ADT formülasyonu da dahil olmak üzere 4 ADT formülasyonu (PAÇ,AMLCD,ROSCD ve AMLEUD) geliştirilerek karakterizasyonları yapılmıştır.
- AMLCD tableti hariç tüm ADT formülasyonlarının distile su ortamında dağılma süreleri 30 saniyeden kısa bulunmuştur.
- ROSCD ve AMLEUD tabletlerinde pH 6,8 ortamında ROS etkin maddesinin çözünürlük profili iyileştirilmiştir.
- Stabilitate çalışmaları sonucunda AMLCD ve AMLEUD tabletleri başlangıç ilaç içeriklerini ve dağılma sürelerini benzer şekilde koruduğu için stabil formülasyonlar olarak değerlendirilmiştir.
- Elde edilen bulgular doğrultusunda AMLCD ve AMLEUD tabletleri optimum formülasyonlar olarak değerlendirilmiştir.

*Ağızda dağılan film çalışmaları:*

- Elektro-eğirme tekniğinin optimizasyonu yapılarak yöntem parametreleri belirlenmiş ve lif yapısına etki eden önemli polimer çözültisi özelliklerinden birinin viskozite olduğu tespit edilmiştir.
- Ön formülasyon çalışmalarından hareketle iki farklı ADF formülasyonu üretilerek (ADF-1 ve ADF-2) karakterizasyonları yapılmıştır.
- Tüm filmlerin in vitro çözünme hızları üç ortamda (pH 1,2, 4,5 ve 6,8) değerlendirilmiş olup tüm filmler her iki etkin madde için 15 dakika içerisinde %90'dan fazla çözünme göstermiştir.
- ADF formülasyonlarının 12 ay süre ile stabilite çalışmaları yapılmış ve ADF-1 formülasyonunun daha stabil olduğu bulunmuştur.
- Elde edilen bulgular doğrultusunda ADF-1 formülasyonu optimum ADF formülasyonu olarak değerlendirilmiştir.

*Hücre kültürü çalışmaları:*

- Caco-2 hücre hattında yapılan permeabilite çalışmalarında AML etkin maddesinin ROS etkin maddesi varlığında ve PAÇ formülasyonunda emiliminin arttığı gösterilmiştir.
- AMLCD ve ROSCD tabletlerinde PAÇ tabletine kıyasla ROS etkin maddesinin permeabilitesinin arttığı tespit edilmiştir.
- AMLCD tabletinde AML etkin maddesinin permeabilitesinin kısmen düştüğü gösterilmiştir.
- ADF formülasyonlarında AML etkin maddesinin permeabilitesinin kısmen düştüğü gösterilmiştir.

Sonuç olarak tez çalışmalarında AML ve ROS içeren ağızda dağılan sabit doz kombinasyon formülasyonları başarıyla geliştirilmiştir. ROS etkin maddesinin çözünürlüğü siklodekstrin inklüzyon komplekslerinin hazırlanması ve elektro-eğrilmiş film formülasyonlarının hazırlanmasıyla anlamlı düzeyde artırılmıştır. AML etkin maddesinin siklodekstrin inklüzyon kompleksinin hazırlanması ve katı dispersiyonunun hazırlanması ile tat maskeleye yaklaşımları çalışılmıştır. ADT ve

ADF karakterizasyonları sonucunda ADF formülasyonlarının ADT'lere kıyasla hızlı dağılma ve çözünme gibi özellikler nedeniyle daha avantajlı olduğu değerlendirilmiştir. İleriye dönük çalışmalarda, AML etkin maddesinin tat maskeleme etkinliği elektronik dil veya insan panel çalışmalarıyla değerlendirilebilir. *In vitro* hücre kültürü ortamında elde edilen permeabilite sonuçlarının *in vivo* (hayvan ve/veya insan) modellerle doğrulanması sağlanabilir. Konvansiyonel sabit dozaj formu ile geliştirilen ADT ve ADF'lerin oral uygulama sonrası farmakokinetik parametreleri incelenebilir. Elektro-eğirme tekniği ile çözücü dökme tekniğinin film özelliklerine etkisini karşılaştırmak için çözücü dökme tekniği ile ADF üretilir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Elliott WJ. Systemic hypertension. *Curr Probl Cardiol.* 2007;32(4):201-59.
2. Tsao CW, Aday AW, Almarzooq ZI, Anderson CA, Arora P, Avery CL, et al. Heart disease and stroke statistics—2023 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 2023;147(8):e93-e621.
3. TÜİK ölüm ve ölüm nedeni istatistikleri-2023: Türkiye İstatistik Kurumu; [Available from: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Olum-ve-Olum-Nedeni-Istatistikleri-2023-53709>].
4. Flack JM, Adekola B. Blood pressure and the new ACC/AHA hypertension guidelines. *Trends Cardiovasc Med.* 2020;30(3):160-4.
5. Ananchenko G, Novakovic J, Lewis J. Chapter 2 - Amlodipine besylate. In: Brittain HG, editor. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology.* 37: Academic Press; 2012. p. 31-77.
6. Williams HD, Ford L, Lim S, Han S, Baumann J, Sullivan H, et al. Transformation of Biopharmaceutical Classification System Class I and III drugs into ionic liquids and lipophilic salts for enhanced developability using lipid formulations. *J Pharm Sci.* 2018;107(1):203-16.
7. Kaynak MS, Bogacz A, Stelmasinski M, Sahin S. Bioavailability file: amlodipine. *FABAD J Pharm Sci.* 2011;36(4):207.
8. Sirtori CR. The pharmacology of statins. *Pharmacol Res.* 2014;88:3-11.
9. Müge A, Sahin S. Interaction of statins with grapefruit juice. *FABAD J Pharm Sci.* 2023;48(2):337-58.
10. Kamble PR, Shaikh KS, Chaudhari PD. Application of liquisolid technology for enhancing solubility and dissolution of rosuvastatin. *Adv Pharm Bull.* 2014;4(2):197-204.
11. Gallo G, Sarzani R, Cicero AFG, Genovese S, Pirro M, Gallelli L, et al. An expert opinion on the role of the rosuvastatin/amlodipine single pill fixed dose combination in cardiovascular prevention. *High Blood Press Cardiovasc Prev.* 2023;30(2):83-91.
12. Takeuchi Y, Umemura K, Tahara K, Takeuchi H. Formulation design of hydroxypropyl cellulose films for use as orally disintegrating dosage forms. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2018;46:93-100.

13. Cilurzo F, Musazzi UM, Franzé S, Selmin F, Minghetti P. Orodispersible dosage forms: biopharmaceutical improvements and regulatory requirements. *Drug Discov Today*. 2018;23(2):251-9.
14. Gulsun T, Akdag Cayli Y, Izat N, Cetin M, Oner L, Sahin S. Development and evaluation of terbutaline sulfate orally disintegrating tablets by direct compression and freeze drying methods. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2018;46:251-8.
15. Juan C, Rodriguez D, Ceballos L, Lanusse C, Gallo L, Gonzalez Vidal N. Development of ivermectin orally disintegrating tablets using factorial design: In-vitro evaluation and in vivo absorption pattern in rats. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2023;87:104757.
16. Gulsun T, Akdag Y, Izat N, Cetin M, Oner L, Sahin S. Development and characterization of metformin hydrochloride-and glyburide-containing orally disintegrating tablets. *Pharm Dev Technol*. 2020;25(8):999-1009.
17. Han X, Shan X, Du Y, Pang S, Hu L. Development and evaluation of novel innovative multi-channel aripiprazole orally disintegrating tablets. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2020;55:101446.
18. Uluhan OD, Gulsun T, Sahin S. Development and characterization of trimethobenzamide hydrochloride containing orally disintegrating tablets. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2023;88:104980.
19. Wang C, Sun CC. The efficient development of a sildenafil orally disintegrating tablet using a material sparing and expedited approach. *Int J Pharm*. 2020;589:119816.
20. Aguilar-Díaz JE, García-Montoya E, Suñe-Negre JM, Pérez-Lozano P, Miñarro M, Ticó JR. Predicting orally disintegrating tablets formulations of ibuprofen tablets: An application of the new SeDeM-ODT expert system. *Eur J Pharm Biopharm*. 2012;80(3):638-48.
21. Stegemann S, Ternik RL, Onder G, Khan MA, van Riet-Nales DA. Defining patient centric pharmaceutical drug product design. *The AAPS journal*. 2016;18:1047-55.
22. Burke MD, Keeney M, Kleinberg R, Burlage R. Challenges and opportunities for patient centric drug product design: industry perspectives. *Pharm Res*. 2019;36:1-7.

23. Pezik E, Gulsun T, Sahin S, Vural İ. Development and characterization of pullulan-based orally disintegrating films containing amlodipine besylate. *Eur J Pharm Sci.* 2021;156:105597.
24. Hu X, Liu S, Zhou G, Huang Y, Xie Z, Jing X. Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. *J Control Release.* 2014;185:12-21.
25. Anusiya G, Jaiganesh R. A review on fabrication methods of nanofibers and a special focus on application of cellulose nanofibers. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications.* 2022;4:100262.
26. Tan SM, Teoh XY, Le Hwang J, Khong ZP, Sejare R, Almashhadani AQ, et al. Electrospinning and its potential in fabricating pharmaceutical dosage form. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2022;76:103761.
27. Lian S, Lamprou D, Zhao M. Electrospinning technologies for the delivery of biopharmaceuticals: current status and future trends. *Int J Pharm.* 2023:123641.
28. Asci H, Savran M, Cengiz Callioglu F, Sahin S, Hasseyid N, Kaynak M, et al. Supralingual administration of paracetamol embedded in polyvinyl alcohol nanofibers: a pharmacokinetic study. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2022;67:102948.
29. Wan X, Ma P, Zhang X. A promising choice in hypertension treatment: Fixed-dose combinations. *Asian J Pharm Sci.* 2014;9(1):1-7.
30. Türkiye kalp ve damar hastalıkları önleme ve kontrol programı eylem planı (2021-2026) [Available from: [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kronik-hastaliklar-ve-yasli-sagligi-db/Dokumanlar/Kitaplar/KalpDamarEylemPlani\\_2021-2026.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kronik-hastaliklar-ve-yasli-sagligi-db/Dokumanlar/Kitaplar/KalpDamarEylemPlani_2021-2026.pdf).
31. Carey RM, Moran AE, Whelton PK. Treatment of hypertension: a review. *JAMA.* 2022;328(18):1849-61.
32. Türk Eczacıları Birliği-ilaç veri tabanı ve farmasötik bakım asistanı-Tebrp [Available from: <https://www.tebrp.com>.
33. Aydoğdu S, Güler K, Bayram F, Altun B, Derici Ü, Abacı A, et al. Türk hipertansiyon uzlaşi raporu 2019. *Türk Kardiyol Dern Ars.* 2019;47(6):535-46.
34. Berberich AJ, Hegele RA. A modern approach to dyslipidemia. *Endocr Rev.* 2022;43(4):611-53.

35. Kılınçarslan MG, Şahin EM. Güncel kılavuzlar ışığında dislipidemi yönetiminin ilk basamağı: yaşam tarzı değişiklikleri. *Türkiye Aile Hek Derg.* 2019;23(1):31-40.
36. Ersanl M. Dislipidemi tedavisinde statinlerin önemi. 2007.
37. FDA C. Guidance for industry—orally disintegrating tablets. 2008. *Fed Regist.* 2018;1-3.
38. The European Pharmacopoeia 10th Edition, European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare 10 ed: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare
39. Maheshwari S, Singh A, Varshney AP, Sharma A. Advancing oral drug delivery: The science of fast dissolving tablets (FDTs). *Intel Pharm.* 2024;2(4):580-7.
40. Ganesh N, Deshpande K. Orodispersible tablets: an overview of formulation and technology. India: *Int J Phar Bio Sci Hal.* 2011:728-9.
41. Hirani JJ, Rathod DA, Vadalia KR. Orally disintegrating tablets: a review. *Trop J Pharm Res.* 2009;8(2).
42. Nagar P, Singh K, Chauhan I, Verma M, Yasir M, Khan A, et al. Orally disintegrating tablets: formulation, preparation techniques and evaluation. *J Appl Pharm Sci.* 2011(Issue):35-45.
43. Abay F, Ugurlu T. Orally disintegrating tablets: a short review. *J Pharm & Drug Dev.* 2015;3(3):303.
44. Pandey P, Dahiya M. Oral disintegrating tablets: a review. *Int J Pharm Res Rev.* 2016;5(1):50-62.
45. Nayak AK, Manna K. Current developments in orally disintegrating tablet technology. *J Pharm Educ Res.* 2011;2(1):21.
46. Kumar NP, Nayyar P, Kumar SP. Superdisintegrants-current approach. *J Drug Deliv Ther.* 2014;4(3):37-44.
47. Mittapalli R, Sha Qhattal H, Lockman P, Yamsani M. Varying efficacy of superdisintegrants in orally disintegrating tablets among different manufacturers. *Pharmazie.* 2010;65(11):805-10.
48. Roy D, Bhowmik D, Kumar KS. A comprehensive review on superdisintegrants used in orodispersible tablets. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology.* 2014;2(4):1297-303.

49. Desai PM, Liew CV, Heng PWS. Review of disintegrants and the disintegration phenomena. *J Pharm Sci.* 2016;105(9):2545-55.
50. Taşhan E, Karaküçük A, Çelebi N. Ağızda dağılan tabletler: genel bakış ve tasarımıyla kalite yaklaşımı. *J Lit Pharm Sci.* 2017;6(1):43-58.
51. Mohanachandran P, Sindhumol P, Kiran T. Superdisintegrants: an overview. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2011;6(1):105-9.
52. Pahwa R, Gupta N. Superdisintegrants in the development of orally disintegrating tablets: a review. *Int J Pharm Sci Res.* 2011;2(11):2767.
53. FDA U. Guidance for Industry: Q8 (R2) Pharmaceutical Development. Maryland: Food and Drug Administration. 2009.
54. Lawrence XY. Pharmaceutical quality by design: product and process development. *Pharm Res.* 2008;4.
55. Food U, Administration D. Critical Path Opportunities for Generic Drugs. Department of Health and Human Services, editor Rockville, MD. 2007.
56. Suñe Negre J, Roig Carreras M, Fuster García R, Hernández Pérez C, Ruhí Roura R, García Montoya E, et al. Nueva metodología de preformulación galénica para la caracterización de sustancias en relación a su viabilidad para la compresión: Diagrama SeDeM. *Cienc Tecnol Pharm.* 2005:125-36.
57. Dai S, Xu B, Shi G, Liu J, Zhang Z, Shi X, et al. SeDeM expert system for directly compressed tablet formulation: A review and new perspectives. *Powder Technol.* 2019;342:517-27.
58. Stanton T, Reid J. Fixed dose combination therapy in the treatment of hypertension. *J Hum Hypertens.* 2002;16(2):75-8.
59. Oigman W, Gomes MAM, Pereira-Barretto AC, Póvoa R, Kohlmann O, Rocha JC, et al. Efficacy and safety of two ramipril and hydrochlorothiazide fixed-dose combination formulations in adults with stage 1 or stage 2 arterial hypertension evaluated by using ABPM. *Clin Ther.* 2013;35(5):702-10.
60. Jung HW, Kim CY, Hong SP, Bae HJ, Choi JY, Ryu JK, et al. Randomized, multicenter, parallel, open, phase 4 study to compare the efficacy and safety of rosuvastatin/amlodipine polypill versus atorvastatin/amlodipine polypill in hypertension patient with dyslipidemia. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2023;25(9):828-44.

61. Singh I, Thakur AK, Bala R, Madan R. SeDeM Expert System, an innovative tool for developing directly compressible tablets: a review. *Curr Drug Res Rev.* 2021;13(1):16-24.
62. Pérez P, Suñé-Negre JM, Miñarro M, Roig M, Fuster R, García-Montoya E, et al. A new expert systems (SeDeM Diagram) for control batch powder formulation and preformulation drug products. *Eur J Pharm Biopharm.* 2006;64(3):351-9.
63. Suñé-Negre JM, Pérez-Lozano P, Miñarro M, Roig M, Fuster R, Hernández C, et al. Application of the SeDeM diagram and a new mathematical equation in the design of direct compression tablet formulation. *Eur J Pharm Biopharm.* 2008;69(3):1029-39.
64. Khan A, Majeedullah, Qayum M, Ahmad L, Ahmad Khan S, Abbas M. Optimization of diluents on the basis of SeDeM-ODT expert system for formulation development of ODTs of glimepiride. *Adv Powder Technol.* 2022;33(2):103389.
65. Sivert A, Bérard V, Andrès C. New binary solid dispersion of indomethacin with surfactant polymer: from physical characterization to in vitro dissolution enhancement. *J Pharm Sci.* 2010;99(3):1399-413.
66. Yu J, Xie J, Xie H, Hu Q, Wu Z, Cai X, et al. Strategies for taste masking of orodispersible dosage forms: time, concentration, and perception. *Mol Pharm.* 2022;19(9):3007-25.
67. Bhujbal SV, Mitra B, Jain U, Gong Y, Agrawal A, Karki S, et al. Pharmaceutical amorphous solid dispersion: a review of manufacturing strategies. *Acta Pharm Sinica B.* 2021;11(8):2505-36.
68. Sun DD, Lee PI. Probing the mechanisms of drug release from amorphous solid dispersions in medium-soluble and medium-insoluble carriers. *J Control.* 2015;211:85-93.
69. Wang X, Zhu Y, Zhao X, Zhang S, Cao M, Wang X, et al. Development and characterization of an amorphous curcumin-Eudragit®E100 solid dispersions with improved solubility, stability, and pharmacokinetic properties. *Pharmaceutical Development and Technology.* 2022;27(9):965-74.
70. Shahoud S, Abdlwahed W, Hammad T. Development a taste-masked acetaminophen solid dispersions using Eudragit® E100 polymer by solvent evaporation technique. *J Res Pharm.* 2023;27(5).

71. Shim JB, Kim MJ, Kim SJ, Kang SJ, Lee JH, Kim HS, et al. Dissolution properties of control released solid dispersion of carvedilol with HPMC and Eudragit RS. *J Pharm Invest.* 2012;42:285-91.
72. Six K, Murphy J, Weuts I, Craig DQ, Verreck G, Peeters J, et al. Identification of phase separation in solid dispersions of itraconazole and Eudragit® E100 using microthermal analysis. *Pharm Res.* 2003;20:135-8.
73. Nazzal S, Guven N, Reddy IK, Khan MA. Preparation and characterization of Coenzyme Q10–Eudragit® solid dispersion. *Drug Dev Ind Pharm.* 2002;28(1):49-57.
74. Guzman ML, Manzo RH, Olivera ME. Eudragit E100 as a drug carrier: the remarkable affinity of phosphate ester for dimethylamine. *Mol Pharm.* 2012;9(9):2424-33.
75. Nagar P, Chauhan I, Yasir M. Insights into Polymers: film formers in mouth dissolving films. *Drug Inven Today.* 2011;3(12).
76. Choudhary DR, Patel VA, Chhalotiya UK, Patel HV, Kundawala AJ. Development and characterization of pharmacokinetic parameters of fast-dissolving films containing levocetirizine. *Sci Pharm.* 2012;80(3):779.
77. Irfan M, Rabel S, Bukhtar Q, Qadir MI, Jabeen F, Khan A. Orally disintegrating films: A modern expansion in drug delivery system. *Saudi Pharm J.* 2016;24(5):537-46.
78. Siemann U. Solvent cast technology—a versatile tool for thin film production. *Scattering methods and the properties of polymer materials*: Springer; 2005. p. 1-14.
79. Jamróz W, Szafraniec J, Kurek M, Jachowicz R. 3D printing in pharmaceutical and medical applications—recent achievements and challenges. *Pharm Res.* 2018;35:1-22.
80. Cossé A, König C, Lamprecht A, Wagner KG. Hot melt extrusion for sustained protein release: matrix erosion and in vitro release of PLGA-based implants. *AAPS PharmSciTech.* 2017;18:15-26.
81. Gryczke A, Schminke S, Maniruzzaman M, Beck J, Douroumis D. Development and evaluation of orally disintegrating tablets (ODTs) containing Ibuprofen granules prepared by hot melt extrusion. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2011;86(2):275-84.

82. Wu S, Dong T, Li Y, Sun M, Qi Y, Liu J, et al. State-of-the-art review of advanced electrospun nanofiber yarn-based textiles for biomedical applications. *Appl Mater Today*. 2022;27:101473.
83. Mercante LA, Andre RS, Facure MHM, Correa DS, Mattoso LHC. Recent progress in conductive electrospun materials for flexible electronics: Energy, sensing, and electromagnetic shielding applications. *Chem Eng J*. 2023;465:142847.
84. Favors Z, Bay HH, Mutlu Z, Ahmed K, Ionescu R, Ye R, et al. Towards scalable binderless electrodes: carbon coated silicon nanofiber paper via Mg reduction of electrospun SiO<sub>2</sub> nanofibers. *Sci Rep*. 2015;5(1):8246.
85. Bidhar S, Goss V, Chen WY, Stanishevsky A, Li MM, Kuksenkov S, et al. Production and qualification of an electrospun ceramic nanofiber material as a candidate future high power target. *Phys Rev Accel Beams*. 2021;24(12):123001.
86. Cui JX, Li FH, Wang YL, Zhang QL, Ma WJ, Huang CB. Electrospun nanofiber membranes for wastewater treatment applications. *Sep Purif Technol*. 2020;250:117116.
87. Sethuram L, Thomas J. Therapeutic applications of electrospun nanofibers impregnated with various biological macromolecules for effective wound healing strategy—A review. *Biomed Pharmacother*. 2023;157:113996.
88. Xue J, Wu T, Dai Y, Xia Y. Electrospinning and electrospun nanofibers: methods, materials, and applications. *Chem Rev*. 2019;119(8):5298-415.
89. Anton F, inventor; Google Patents, assignee. Process and apparatus for preparing artificial threads. US patent 1,975,504. 1934.
90. Anton F, inventor; Google Patents, assignee. Method and apparatus for spinning. US patent 2,160,962. 1939 June 6, 1939.
91. Anton F, inventor; Google Patents, assignee. Artificial thread and method of producing same. US patent 2,187,306. 1940 July 28, 1937.
92. Taylor G. Electrically driven jets. *Proc R Soc Lond A Math Phys Sci*. 1969;313(1515):453-75.
93. Taylor GI. Disintegration of water drops in an electric field. *Proc R Soc Lond A Math Phys Sci*. 1964;280(1382):383-97.
94. Doshi J, Reneker DH. Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *J Electrostatics*. 1995;35(2-3):151-60.

95. Hsiung E, Celebioglu A, Emin Kilic M, Durgun E, Uyar T. Ondansetron/Cyclodextrin inclusion complex nanofibrous webs for potential orally fast-disintegrating antiemetic drug delivery. *Int J Pharm.* 2022;623:121921.
96. Celebioglu A, Uyar T. Metronidazole/Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin inclusion complex nanofibrous webs as fast-dissolving oral drug delivery system. *Int J Pharm.* 2019;572:118828.
97. Patil S, Celebioglu A, Uyar T. Orally fast-dissolving drug delivery systems for pediatrics: Nanofibrous oral strips from isoniazid/cyclodextrin inclusion complexes. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2023;85:104584.
98. Kamali H, Farzadnia P, Movaffagh J, Abbaspour M. Optimization of curcumin nanofibers as fast dissolving oral films prepared by emulsion electrospinning via central composite design. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2022;75:103714.
99. Rüzgar G, Birer M, Tort S, Acartürk F. Studies on improvement of water-solubility of curcumin with electrospun nanofibers. *FABAD J Pharm Sci.* 2013;38(3):143.
100. Samprasit W, Akkaramongkolporn P, Ngawhirunpat T, Rojanarata T, Kaomongkolgit R, Opanasopit P. Fast releasing oral electrospun PVP/CD nanofiber mats of taste-masked meloxicam. *Int J Pharm.* 2015;487(1-2):213-22.
101. AnjiReddy K, Karpagam S. Hyperbranched cellulose polyester of oral thin film and nanofiber for rapid release of donepezil; preparation and in vivo evaluation. *Int J Biol Macromol.* 2019;124:871-87.
102. Deitzel JM, Kleinmeyer J, Harris D, Tan NCB. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer.* 2001;42(1):261-72.
103. Kessick R, Fenn J, Tepper G. The use of AC potentials in electrospraying and electrospinning processes. *Polymer.* 2004;45(9):2981-4.
104. Cramariuc B, Cramariuc R, Scarlet R, Manea LR, Lupu IG, Cramariuc O. Fiber diameter in electrospinning process. *J Electrostatics.* 2013;71(3):189-98.
105. Muratoglu S, Inal M, Akdag Y, Gulsun T, Sahin S. Electrospun nanofiber drug delivery systems and recent applications: An overview. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2024;92:105342.

106. Pisani S, Genta I, Dorati R, Modena T, Chiesa E, Bruni G, et al. A Design of Experiment (DOE) approach to correlate PLA-PCL electrospun fibers diameter and mechanical properties for soft tissue regeneration purposes. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2022;68:103060.
107. Pereira AGB, Fajardo AR, Gerola AP, Rodrigues JHS, Nakamura CV, Muniz EC, et al. First report of electrospun cellulose acetate nanofibers mats with chitin and chitosan nanowhiskers: Fabrication, characterization, and antibacterial activity. *Carbohydr Polym.* 2020;250:116954.
108. Wang XF, Um IC, Fang DF, Okamoto A, Hsiao BS, Chu B. Formation of water-resistant hyaluronic acid nanofibers by blowing-assisted electro-spinning and non-toxic post treatments. *Polymer.* 2005;46(13):4853-67.
109. Azizoglu GA, Azizoglu E, Barker TH, Özer Ö. Single and multi-dose drug loaded electrospun fiber mats for wound healing applications. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2023:104168.
110. Samraj SMD, Vadodaria K. Development and optimization of gelatin nanofibrous scaffold for tissue engineering applications. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2022;71:103283.
111. Bhardwaj N, Kundu SC. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnol Adv.* 2010;28(3):325-47.
112. Pelipenko J, Kristl J, Jankovic B, Baumgartner S, Kocbek P. The impact of relative humidity during electrospinning on the morphology and mechanical properties of nanofibers. *Int J Pharm.* 2013;456(1):125-34.
113. Zong XH, Kim K, Fang DF, Ran SF, Hsiao BS, Chu B. Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer.* 2002;43(16):4403-12.
114. Amariei N, Manea L, Berteau A, Berteau A, Popa A, editors. The influence of polymer solution on the properties of electrospun 3D nanostructures. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*; 2017: IOP Publishing.
115. Huan SQ, Liu GX, Han GP, Cheng WL, Fu ZY, Wu QL, et al. Effect of experimental parameters on morphological, mechanical and hydrophobic properties of electrospun polystyrene fibers. *Materials.* 2015;8(5):2718-34.

116. Bassas-Galia M, Follonier S, Pusnik M, Zinn M. Natural polymers: A source of inspiration. *Bioresorbable polymers for biomedical applications*: Elsevier; 2017. p. 31-64.
117. Juncos Bombin AD, Dunne NJ, McCarthy HO. Electrospinning of natural polymers for the production of nanofibres for wound healing applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020;114:110994.
118. Sta M, Tada DB, Medeiros SF, Santos AM, Demarquette NR. Hydrophilic drug release from electrospun membranes made out of thermo and pH-sensitive polymers. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2022;71:103284.
119. Khan I, Pandit J, Ahmed S, Zameer S, Nikita, Ahmad S, et al. Development and evaluation of biodegradable polymeric lomustine nanofibres for the efficient tumor targeting: In vitro characterization, ex vivo permeation and degradation study. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2022;75:103685.
120. Włodarczyk J, Musiał-Kulik M, Jelonek K, Stojko M, Karpeta-Jarżabek P, Pastusiak M, et al. Dual-jet electrospun PDLGA/PCU nonwovens as promising mesh implant materials with controlled release of sirolimus and diclofenac. *Int J Pharm*. 2022;625:122113.
121. Illangakoon UE, Gill H, Shearman GC, Parhizkar M, Mahalingam S, Chatterton NP, et al. Fast dissolving paracetamol/caffeine nanofibers prepared by electrospinning. *Int J Pharm*. 2014;477(1):369-79.
122. Sharifi N, Mortazavi SA, Rabbani S, Torshabi M, Talimi R, Haeri A. Fast dissolving nanofibrous mats for diclofenac sodium delivery: Effects of electrospinning polymer and addition of super-disintegrant. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2022;73:103356.
123. Tort S, Yıldız A, Tuğcu-Demiröz F, Akca G, Kuzukıran Ö, Acartürk F. Development and characterization of rapid dissolving ornidazole loaded PVP electrospun fibers. *Pharm Dev Tech*. 2019;24(7):864-73.
124. Turanlı Y, Birer M, Turgut Birer Y, Uyar R, Yurdakök Dikmen B, Acartürk F. Oral fast-dissolving risperidone loaded electrospun nanofiber drug delivery systems for antipsychotic therapy. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2024;92:105262.

125. Cid-Samamed A, Rakmai J, Mejuto JC, Simal-Gandara J, Astray G. Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. *Food Chem.* 2022;384:132467.
126. Crini G. A history of cyclodextrins. *Chem Rev.* 2014;114(21):10940-75.
127. Skuredina AA, Kopnova TY, Le-Deygen IM, Kudryashova EV. Physical and chemical properties of the guest–host inclusion complexes of ciprofloxacin with  $\beta$ -cyclodextrin derivatives. *Mosc Univ Chem Bull.* 2020;75(4):218-24.
128. Carneiro SB, Costa Duarte FÍ, Heimfarth L, Siqueira Quintans JdS, Quintans-Júnior LJ, Veiga Júnior VFd, et al. Cyclodextrin–drug inclusion complexes: in vivo and in vitro approaches. *Int J Mol Sci.* 2019;20(3):642.
129. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for Amlodipine Besylate [Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/60496>.
130. FDA Label of NORVASC® [Available from: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2011/019787s0471bl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/019787s0471bl.pdf).
131. CBG-Medicines Evaluation Board-Public Assessment Report of Amlodipine Besylate [Available from: <https://db.cbg-meb.nl/pars/h31805.pdf>.
132. EMA-CHMP assessment report- telmisartan / amlodipine [Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/twynsta-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/twynsta-epar-public-assessment-report_en.pdf).
133. Stopher D, Beresford A, Macrae P, Humphrey M. The metabolism and pharmacokinetics of amlodipine in humans and animals. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1988;12:S55-S9.
134. Ni L, Yu X, Yu Q, Chen X, Jia L. Effects of Cyclosporine a and itraconazole on permeability, biliary excretion and pharmacokinetics of amlidipine. *Drug Metab Lett.* 2008;2(3):163-8.
135. Maddi S, Yamsani MR, Seeling A, Scriba GK. Stereoselective plasma protein binding of amlodipine. *Chiral Pharmacol Biolog Chem Conseq Molec Asym.* 2010;22(2):262-6.
136. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for Rosuvastatin Calcium [Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5282455>.

137. CBG-Medicines Evaluation Board-Public Assessment Report of Rosuvastatin Calcium [Available from: <https://db.cbg-meb.nl/pars/h118813.pdf>.
138. FDA Label of Crestor® [Available from: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2003/21366\\_crestor\\_lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2003/21366_crestor_lbl.pdf).
139. Elsayed I, El-Dahmy RM, Elshafeey AH, Abd El Gawad NA, El Gazayerly ON. Tripling the bioavailability of rosuvastatin calcium through development and optimization of an in-situ forming nanovesicular system. *Pharmaceutics*. 2019;11(6):275.
140. Sarfraz RM, Ahmad M, Mahmood A, Minhas MU, Yaqoob A. Development and evaluation of rosuvastatin calcium based microparticles for solubility enhancement: an in vitro study. *Adv Polym Tech*. 2017;36(4):433-41.
141. Nandal R, Tahlan S, Verma R, Kumar D, Deep A. Evaluation of SNEDDS for poorly water soluble BCS class 2 rosuvastatin: preparation, in-vitro and in-vivo assessment. *J Pharm Negat*. 2022:3455-74.
142. Park JS, Jeon JY, Kim MG. Pharmacokinetic and bioequivalence study of a fixed-dose combination of amlodipine besylate and rosuvastatin calcium compared to co-administration of separate tablets in healthy Korean subjects. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2019;57(12):612-22.
143. Seong SJ, Ohk B, Kang WY, Gwon MR, Kim BK, Cho S, et al. Pharmacokinetic drug interactions between amlodipine, valsartan, and rosuvastatin in healthy volunteers. *Adv Ther*. 2019;36(7):1642-56.
144. Miranda C, Aceituno A, Fernández M, Mendes G, Rodríguez Y, Llauró V, et al. ICH guideline for biopharmaceutics classification system-based biowaiver (M9): Toward harmonization in Latin American countries. *Pharmaceutics*. 2021;13(3):363.
145. EMA-ICH M9 guideline on biopharmaceutics classification system-based biowaivers 2020 [Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-m9-biopharmaceutics-classification-system-based-biowaivers-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-m9-biopharmaceutics-classification-system-based-biowaivers-step-5_en.pdf).
146. ICH M9 guideline on biopharmaceutics classification system-based biowaivers 2020 [Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-m9-biopharmaceutics-classification-system-based-biowaivers-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-m9-biopharmaceutics-classification-system-based-biowaivers-step-5_en.pdf).

147. M9 Biopharmaceutics Classification SystemBased Biowaivers Guidance for Industry-FDA 2021 [Available from: <https://www.fda.gov/media/148472/download>.
148. Lea T. Caco-2 cell line. The impact of food bioactives on health: in vitro and ex vivo models. 2015:103-11.
149. Sun H, Chow EC, Liu S, Du Y, Pang KS. The Caco-2 cell monolayer: usefulness and limitations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2008;4(4):395-411.
150. Mubtasim N, Kabir ER, Podder AK, Bhadra S. A pragmatic approach to the analysis of a combination formulation. *Saudi Pharm J*. 2016;24(6):689-97.
151. ICH. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1). ICH Geneva; 2005.
152. EMA. ICH Guidelines Q2 (R2) on validation of analytical procedures. european medicines agency (EMA) Amsterdam, The Netherlands; 2022.
153. Guideline IH. Analytical procedure development Q14. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use: Geneva, Switzerland. 2022.
154. Kir F, Dogan A, Sahin S. Development of a RP-HPLC method for simultaneous determination of atenolol, metoprolol tartrate and phenol red for in-situ rat intestinal perfusion studies. *J Chromatogr B*. 2024;1241:124160.
155. Nenni M, Doğan A, Celebier M, Soyseven M, Kaynak MS, Aboul-Enein HY, et al. Ultrafiltration-based sample preparation and HPLC-UV determination of diclofenac in human plasma samples. *Turk J Chem*. 2022;46(3):777-85.
156. Epshtein N. System suitability requirements for liquid chromatography methods: controlled parameters and their recommended values. *Pharm Chem J*. 2020;54(5):518-25.
157. Bose A. HPLC calibration process parameters in terms of system suitability test. *Austin Chromatogr*. 2014;1(2):1-4.
158. USP, editor Propranolol hydrochloride extended release capsules. The United States Pharmacopeial Convention; 2010.
159. USP. USP 35-Buffer Solutions. The United States Pharmacopeial Convention-USP 352012. p. 5774.

160. Al-Heibshy FNS, Başaran E, Öztürk N, Demirel M. Preparation and in vitro characterization of rosuvastatin calcium incorporated methyl beta cyclodextrin and Captisol® inclusion complexes. *Dev Ind Pharm*. 2020;46(9):1495-506.
161. Loftsson T, Hreinsdóttir D, Másson M. Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs. *Int J Pharm*. 2005;302(1):18-28.
162. Nicolescu C, Aramă C, Nedelcu A, Monciu C-M. Phase solubility studies of the inclusion complexes of repaglinide with  $\beta$ -cyclodextrin and  $\beta$ -cyclodextrin derivatives. *Farmacia*. 2010;58(5):620-8.
163. Na DH, Faraj J, Capan Y, Leung KP, DeLuca PP. Chewing gum of antimicrobial decapeptide (KSL) as a sustained antiplaque agent: preformulation study. *J Control Release*. 2005;107(1):122-30.
164. Khan A. Prediction of quality attributes (mechanical strength, disintegration behavior and drug release) of tablets on the basis of characteristics of granules prepared by high shear wet granulation. *PLoS One*. 2021;16(12):e0261051.
165. Origoni MX, Nardi-Ricart A, Suñé-Pou M, Pérez-Lozano P, Romero-Obón M, Negre JMS, et al. Exploration of moisture activated dry granulation for the development of gastroretentive tablets aided by SeDeM diagram. *Eur J Pharm Biopharm*. 2024;203:114456.
166. Galdón E, Casas M, Gayango M, Caraballo I. First study of the evolution of the SeDeM expert system parameters based on percolation theory: Monitoring of their critical behavior. *Eur J Pharm Biopharm*. 2016;109:158-64.
167. USP. <701> DISINTEGRATION. USP: The United States Pharmacopeial Convention; 2020.
168. Convention USP. Tablet friability. United States Pharmacopeial Convention Rockville, MD, USA; 2021.
169. FDA-Guidance for industry orally disintegrating tablets [Available from: <https://www.fda.gov/media/70877/download>].
170. González R, Peña MÁ, Torres NS, Torrado G. Design, development, and characterization of amorphous rosuvastatin calcium tablets. *PLoS One*. 2022;17(3):e0265263.
171. Butt S, Hasan SMF, Hassan MM, Alkharfy KM, Neau SH. Directly compressed rosuvastatin calcium tablets that offer hydrotropic and micellar solubilization for

improved dissolution rate and extent of drug release. Saudi Pharm J. 2019;27(5):619-28.

172. Guo X, Cun D, Wan F, Bera H, Song Q, Tian X, et al. Comparative assessment of in vitro/in vivo performances of orodispersible electrospun and casting films containing rizatriptan benzoate. Eur J Pharm Biopharm. 2020;154:283-9.

173. King AP, Eckersley RJ. Chapter 5 - Inferential statistics II: parametric hypothesis testing. In: King AP, Eckersley RJ, editors. Statistics for Biomedical Engineers and Scientists: Academic Press; 2019. p. 91-117.

174. Podgórski R, Wojasiński M, Ciach T. Nanofibrous materials affect the reaction of cytotoxicity assays. Sci Rep. 2022;12(1):9047.

175. EMA. Guideline on the Investigation of Bioequivalence. 2010 [Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-bioequivalence-rev1\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-bioequivalence-rev1_en.pdf)].

176. FDA. Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. guidance for industry. 1997 [Available from: <https://www.fda.gov/media/70936/download>].

177. Lauro MR, Carbone C, Auditore R, Musumeci T, Santagati N, Aquino RP, et al. A new inclusion complex of amlodipine besylate and soluble  $\beta$ -cyclodextrin polymer: preparation, characterization and dissolution profile. J Incl Phenom Macrocycl Chem. 2013;76:19-28.

178. Inam S, Irfan M, Lali NUA, Khalid Syed H, Asghar S, Khan IU, et al. Development and characterization of eudragit® EPO-based solid dispersion of rosuvastatin calcium to foresee the impact on solubility, dissolution and antihyperlipidemic activity. Pharmaceuticals. 2022;15(4):492.

179. Al-Heibshy FNS. Formulation and in vitro-in vivo evaluation of rosuvastatin calcium incorporated cyclodextrin, solid lipid and chitosan based drug delivery system: Anadolu University (Turkey); 2017.

180. Kaur K, Jindal R. A comparative study of the interactions of 5-fluorouracil and amlodipine besylate in aqueous  $\beta$ -cyclodextrin solution and drug release studies. Polym Bull. 2024;81(3):2719-40.

181. Fernández-Ferreiro A, Bargiela NF, Varela MS, Martínez MG, Pardo M, Ces AP, et al. Cyclodextrin–polysaccharide-based, in situ-gelled system for ocular antifungal delivery. *Beilstein J Org Chem*. 2014;10(1):2903-11.
182. Kapor A, Nikolić V, Nikolić L, Stanković M, Cakić M, Stanojević L, et al. Inclusion complexes of amlodipine besylate and cyclodextrins. *Open Chem*. 2010;8(4):834-41.
183. Tanuja B. Enhancement of dissolution rate of rosuvastatin calcium by complexation with  $\beta$ -cyclodextrins. *Sch Acad J Pharm*. 2017; 6(3):101-7.
184. Anusha PS, Reddy MS. Formulation and evaluation of rosuvastatin calcium immediate release tablets using beta cyclodextrin. *Saudi J Med Pharm Sci*. 2022;8(10):511-7.
185. Elgindy N, Elkhodairy K, Molokhia A, Elzoghby A. Lyophilization monophasic solution technique for improvement of the physicochemical properties of an anticancer drug, flutamide. *Eur J Pharm Biopharm*. 2010;74(2):397-405.
186. Fernandes CM, Teresa Vieira M, B. Veiga FJ. Physicochemical characterization and in vitro dissolution behavior of nicardipine–cyclodextrins inclusion compounds. *Eur J Pharm Sci*. 2002;15(1):79-88.
187. Örgül D. Comparison the solubility and dissolution rate effects of beta-cyclodextrin and gamma-cyclodextrin complexations of rosuvastatin calcium. *Journal of Research in Pharmacy*. 2024;28(3).
188. Al-kasmi B, Alsirawan MHDB, Bashimam M, El-zein H. Mechanical microencapsulation: The best technique in taste masking for the manufacturing scale - Effect of polymer encapsulation on drug targeting. *Journal of Controlled Release*. 2017;260:134-41.
189. Ibesh S, Bitar Y, Trefi S. A New method for simultaneous qualitative and quantitative determination of amlodipine besylate and atorvastatin calcium in bulk and pharmaceutical formulations using transmission FT-IR spectroscopy. *Heliyon*. 2023;9(3).
190. Chourasiya V, Bohrey S, Pandey A. Formulation, optimization, and characterization of amlodipine besylate loaded polymeric nanoparticles. *Polym Polym Compos*. 2021;29(9\_suppl):S1555-S68.

191. Aguilar-Díaz JE, García-Montoya E, Pérez-Lozano P, Suñé-Negre JM, Miñarro M, Ticó JR. SeDeM expert system a new innovator tool to develop pharmaceutical forms. *Dev Ind Pharm*. 2014;40(2):222-36.
192. Rajeshwar V, Ramana MV. Formulation and evaluation of orodispersible rosuvastatin tablets: A comparative study on natural and synthetic super disintegrants. *Int Res J Pharm*. 2016;7(6):10-5.
193. Aiassa V, Garnero C, Zoppi A, Longhi MR. Cyclodextrins and their derivatives as drug stability modifiers. *Pharmaceuticals*. 2023;16(8):1074.
194. Lehmkemper K, Kyeremateng SO, Heinzerling O, Degenhardt M, Sadowski G. Impact of polymer type and relative humidity on the long-term physical stability of amorphous solid dispersions. *Mol Pharm*. 2017;14(12):4374-86.
195. Birer M, Kara AA, Yurdakok-Dikmen B, Uyar R, Aralan G, Birer YT, et al. Electrospun hesperidin nanofibers induce a cytoprotective effect on sodium-fluoride induced oxidative stress in vitro. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2024;92:105388.
196. Topuz F, Satilmis B, Uyar T. Electrospinning of uniform nanofibers of Polymers of Intrinsic Microporosity (PIM-1): The influence of solution conductivity and relative humidity. *Polymer*. 2019;178:121610.
197. Adel IM, ElMeligy MF, Amer MS, Elkasabgy NA. Polymeric nanocomposite hydrogel scaffold for jawbone regeneration: The role of rosuvastatin calcium-loaded silica nanoparticles. *Int J Pharm-X*. 2023;6:100213.
198. Adel IM, ElMeligy MF, Amer MS, Elkasabgy NA. Gellan gum-based bi-polymeric hydrogel scaffolds loaded with Rosuvastatin calcium: A useful tool for tendon tissue regeneration. *Eur J Pharm Sci*. 2024;192:106659.
199. Gabr MM, Mortada SM, Sallam MA. Carboxylate cross-linked cyclodextrin: A nanoporous scaffold for enhancement of rosuvastatin oral bioavailability. *Eur J Pharm Sci*. 2018;111:1-12.
200. Fini A, Cavallari C, Ospitali F. Raman and thermal analysis of indomethacin/PVP solid dispersion enteric microparticles. *Eur J Pharm Biopharm*. 2008;70(1):409-20.
201. Gültekin Y, Korkmaz Ç, Öztürk N, Filazi A, Deniz A, Doğan O, et al. Preparation and evaluation of fast-dissolving albendazole sulfoxide and praziquantel-

loaded polyvinylpyrrolidone nanofiber films by electrospinning. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2024;92:105304.

202. Gulsun T, Inal M, Akdag Y, Izat N, Oner L, Sahin S. The development and characterization of electrospun gelatin nanofibers containing indomethacin and curcumin for accelerated wound healing. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2022;67:103000.

203. Chanabodeechalermrung B, Chaiwarit T, Chaichit S, Udomsorn S, Baipaywad P, Worajittiphon P, et al. HPMC/PVP K90 dissolving microneedles fabricated from 3D-printed master molds: impact on microneedle morphology, mechanical strength, and topical dissolving property. *Polymers.* 2024;16(4):452.

204. Laosirisathian N, Saenjurn C, Sirithunyalug J, Eitssayeam S, Chaiyana W, Sirithunyalug B. PVA/PVP K90 nanofibers containing punica granatum peel extract for cosmeceutical purposes. *Fiber Polym.* 2021;22:36-48.

205. Teng Y, Li Y, Li Y, Song Q, editors. Preparation of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/PVP magnetic nanofibers via in situ method with electrospinning. *Journal of Physics: Conference Series*; 2020: IOP Publishing.

206. Topuz F, Uyar T. Electrospinning of gelatin with tunable fiber morphology from round to flat/ribbon. *Mater Sci Eng C.* 2017;80:371-8.

207. Ner Y, Stuart JA, Whited G, Sotzing GA. Electrospinning nanoribbons of a bioengineered silk-elastin-like protein (SELP) from water. *Polymer.* 2009;50(24):5828-36.

208. Turković E, Vasiljević I, Drašković M, Parojčić J. Orodispersible films — Pharmaceutical development for improved performance: A review. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2022;75:103708.

209. Gandhi NV, Deokate UA, Angadi SS. Formulation, optimization and evaluation of nanoparticulate oral fast dissolving film dosage form of nitrendipine. *AAPS PharmSciTech.* 2021;22(6):218.

210. Song Q, Guo X, Sun Y, Yang M. Anti-solvent precipitation method coupled electrospinning process to produce poorly water-soluble drug-loaded orodispersible films. *AAPS PharmSciTech.* 2019;20:1-11.

211. Scarpa M, Stegemann S, Hsiao W-K, Pichler H, Gaisford S, Bresciani M, et al. Orodispersible films: Towards drug delivery in special populations. *Int J Pharm.* 2017;523(1):327-35.

212. Bukhary H, Williams GR, Orlu M. Electrospun fixed dose formulations of amlodipine besylate and valsartan. *Int J Pharm*. 2018;549(1):446-55.
213. Chaithanya P, Charyulu RN, Sandeep D. Design and evaluation of ebastine fast dissolving oral films. *Int J Pharm Sci Res*. 2018;9(10):4303-8.
214. Soni G, Yadav KS. Fast-dissolving films of sumatriptan succinate: factorial design to optimize in vitro dispersion time. *J Pharm Innov*. 2015;10:166-74.
215. Abdelhakim HE, Williams GR, Craig DQM, Orlu M, Tuleu C. Human mouthfeel panel investigating the acceptability of electrospun and solvent cast orodispersible films. *Int J Pharm*. 2020;585:119532.
216. Pacheco MS, Barbieri D, da Silva CF, de Moraes MA. A review on orally disintegrating films (ODFs) made from natural polymers such as pullulan, maltodextrin, starch, and others. *Int J Biol Macromol*. 2021;178:504-13.
217. Gittings S, Turnbull N, Henry B, Roberts CJ, Gershkovich P. Characterisation of human saliva as a platform for oral dissolution medium development. *Eur J Pharm Biopharm*. 2015;91:16-24.
218. Speer I, Steiner D, Thabet Y, Breitreutz J, Kwade A. Comparative study on disintegration methods for oral film preparations. *Eur J Pharm Biopharm*. 2018;132:50-61.
219. Late SG, Yu Y-Y, Banga AK. Effects of disintegration-promoting agent, lubricants and moisture treatment on optimized fast disintegrating tablets. *Int J Pharm*. 2009;365(1):4-11.
220. Chen S, Singh J. In vitro release of levonorgestrel from phase sensitive and thermosensitive smart polymer delivery systems. *Pharm Dev Tech*. 2005;10(2):319-25.
221. Painuly D, Nisha U, Arya S, Sangeeth Krishnan JB. Effect on in-vitro release of individual and dual contraceptive drug loading from gelatin electrospun fibers. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2019;51:454-63.
222. Peh KK, Wong CF. Polymeric films as vehicle for buccal delivery: swelling, mechanical, and bioadhesive properties. *J Pharm Pharm Sci*. 1999;2(2):53-61.
223. Mashru RC, Sutariya VB, Sankalia MG, Parikh PP. Development and evaluation of fast-dissolving film of salbutamol sulphate. *Drug Dev Ind Pharm*. 2005;31(1):25-34.

224. Švára D, Kopřivová B, Pícek T, Mikeš P, Kluk A, Šoóš M. The impact of the lamination pressure on the properties of electrospun nanofibrous films. *Eur J Pharm Sci.* 2022;173:106170.
225. Zhao Z, Li Y, Wu J, Shi Z, Zhao P, Su H, et al. Nanofiber orodispersible films based on carboxymethyl curdlan and PEO: New delivery system for amlodipine besylate. *Colloids Surf Physicochem Eng Aspects.* 2022;635:128096.
226. Liew KB, Tan YTF, Peh KK. Characterization of oral disintegrating film containing donepezil for Alzheimer disease. *AAPS PharmSciTech.* 2012;13:134-42.
227. Takeuchi Y, Ikeda N, Tahara K, Takeuchi H. Mechanical characteristics of orally disintegrating films: Comparison of folding endurance and tensile properties. *Int J Pharm.* 2020;589:119876.
228. Dissolution testing and acceptance criteria for immediate-release solid oral dosage form drug products containing high solubility drug substances- FDA Guidance for Industry: FDA; 2018 [Available from: <https://www.fda.gov/media/92988/download>].
229. Speer I, Preis M, Breitreutz J. Prolonged drug release properties for orodispersible films by combining hot-melt extrusion and solvent casting methods. *Eur J Pharm Biopharm.* 2018;129:66-73.
230. Eleftheriadis GK, Ritzoulis C, Bouropoulos N, Tzetzis D, Andreadis DA, Boetker J, et al. Unidirectional drug release from 3D printed mucoadhesive buccal films using FDM technology: In vitro and ex vivo evaluation. *Eur J Pharm Biopharm.* 2019;144:180-92.
231. Townsend-Nicholson A, Jayasinghe SN. Cell electrospinning: a unique biotechnique for encapsulating living organisms for generating active biological microthreads/scaffolds. *Biomacromolecules.* 2006;7(12):3364-9.
232. Yee S. In vitro permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict in vivo (small intestinal) absorption in man--fact or myth. *Pharm Res.* 1997;14(6):763-6.
233. Tao Q, Qin Z, Liu XW, Zhang ZD, Li SH, Bai LX, et al. Investigation of the uptake and transport of aspirin eugenol ester in the Caco-2 cell model. *Front Pharmacol.* 2022;13:887598.
234. Dennison TJ, Smith JC, Badhan RK, Mohammed AR. Fixed-dose combination orally disintegrating tablets to treat cardiovascular disease: formulation, in vitro

characterization and physiologically based pharmacokinetic modeling to assess bioavailability. *Drug Des Devel Ther.* 2017;811-26.

235. Zuo Z, Kwon G, Stevenson B, Diakur J, Wiebe LI. Flutamide-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin Complex: formulation, physical characterization, and absorption studies using the caco-2 in vitro model. *J Pharm Pharmaceut Sci.* 2000;3(2):220-7.

236. Másson M, Loftsson T, Másson Gs, Stefánsson E. Cyclodextrins as permeation enhancers: some theoretical evaluations and in vitro testing. *J Control Release.* 1999;59(1):107-18.

237. Takizawa Y, Furuno Y, Hayashi M. Effects of polyvinylpyrrolidone (K90) on membrane permeation via the transcellular route in the rat jejunum. *J Pharm Invest.* 2021;51:311-6.

238. Katoh M, Nakajima M, Yamazaki H, Yokoi T. Inhibitory potencies of 1, 4-dihydropyridine calcium antagonists to P-glycoprotein-mediated transport: comparison with the effects on CYP3A4. *Pharm Res.* 2000;17:1189-97.

239. Darvari R, Boroujerdi M. Concentration dependency of modulatory effect of amlodipine on P-glycoprotein efflux activity of doxorubicin—a comparison with tamoxifen. *J Pharm Pharmacol.* 2004;56(8):985-91.

## 8. EKLER

### EK-1: Dijital Makbuz



### Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Şemsi Muratoğlu  
 Ödev başlığı: Kardiyovasküler Hastalıklar İçin Sabit Doz Kombinasyonunda A...  
 Gönderi Başlığı: Kardiyovasküler Hastalıklar İçin Sabit Doz Kombinasyonunda A...  
 Dosya adı: Kardiyovasküler\_Hastalıklar\_İçin\_Sabit\_Doz\_Kombinasyonunda...  
 Dosya boyutu: 4.73M  
 Sayfa sayısı: 193  
 Kelime sayısı: 40,165  
 Karakter sayısı: 241,407  
 Gönderim Tarihi: 10-Şub-2025 12:44ÖS (UTC+0300)  
 Gönderim Numarası: 2584542550



## EK-2: Tez Çalışması Orijinallik Raporu

### Kardiyovasküler Hastalıklar İçin Sabit Doz Kombinasyonunda Ağızda Dağılan Dozaj Formlarının Geliştirilmesi ve In vitro Yöntemlerle Değerlendirilmesi

#### ORJİNALLİK RAPORU

|                   |                     |          |                  |
|-------------------|---------------------|----------|------------------|
| %6                | %5                  | %4       | %1               |
| BENZERLİK ENDEKSİ | İNTERNET KAYNAKLARI | YAYINLAR | ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ |

#### BİRİNCİL KAYNAKLAR

|   |                                                                                                                                                                                                                                                                        |     |
|---|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1 | acikbilim.yok.gov.tr<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                               | %1  |
| 2 | openaccess.hacettepe.edu.tr:8080<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                   | %1  |
| 3 | openaccess.hacettepe.edu.tr<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                        | %1  |
| 4 | Semsi Muratoglu, Murat Inal, Tugba Gulsun, Selma Sahin. "Development and Characterization of Orodispersible Films Containing Amlodipine Besylate and Rosuvastatin Calcium Based on Electrospun Fibers", Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2024<br>Yayın | <%1 |
| 5 | tr.aaptschool.com<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                                  | <%1 |
| 6 | docplayer.biz.tr<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                                   | <%1 |

## 9. ÖZGEÇMİŞ

