

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

**ZAYIF ASİT SINIF II İLAÇLARIN SINIF I İLAÇ
OLARAK DEĞERLENDİRİLEBİLMESİ ÜZERİNE
ÇALIŞMALAR**

Ecz. Huriye DEMİR

Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA

2009

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

**ZAYIF ASİT SINIF II İLAÇLARIN SINIF I İLAÇ
OLARAK DEĞERLENDİRİLEBİLMESİ ÜZERİNE
ÇALIŞMALAR**

Ecz. Huriye DEMİR

Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Levent ÖNER

ORTAK TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Betül ARICA

ANKARA

2009

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne:

Bu çalışma jürimiz tarafından Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Levent ÖNER

(Hacettepe Üniversitesi)

Ortak Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Betül ARICA

(Hacettepe Üniversitesi)

Üye:

Prof Dr. Yalçın ÖZKAN

(Gülhane Askeri Tıp Akademisi)

Üye:

Prof Dr. Tuncer DEĞİM

(Gazi Üniversitesi)

Üye:

Doç. Dr. Selma ŞAHİN

(Hacettepe Üniversitesi)

ONAY:

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Hakan ORER

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, çalışmanın gerçekleşmesi için her türlü imkanı sağlayan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Levent ÖNER'e, ilgisi ve desteğiyle her zaman yanımda olan değerli hocam Doç. Dr. Betül ARICA'ya içten ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarım sırasında kullandığım etkin madde ve diğer madde ve malzemelerin sağlanmasında yardımcı olan Sanovel İlaç Sanayi ve Tic. Ltd. Şti.'ye,

Yapay sinir ağı uygulamalarında yardım ve desteğini esirgemeyen Y. Müh. Ümit KOÇKAN'a, FT-IR analizinin yapılmasına yardımcı olan Prof. Dr. Erhan PALASKA'ya, DSC analizinin yapılmasına yardımcı olan Doç. Dr. Neslihan GÜRSOY'A, erime noktası tayininin yapılmasına yardımcı olan Ecz. (B.U.) Peri AYTAÇ'a,

Araştırmalarımın her aşamasında bana yardımcı olan, sabrı ve sonsuz anlayışı ile bana güç ve destek veren Ecz. (B.U.) Tuğba GÜLSÜN, Dr. Ecz. Hakan EROĞLU, Ecz. (B.U.) Elif AY, Ecz. Onur KABAŞ, Ecz. S. Pınar BEN, Ecz. Elçin AKTAŞ, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı elemanlarına ve hocalarıma, İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğündeki çalışma arkadaşlarıma,

Ayrıca bilim uzmanlığı tez çalışmam sırasında da daima yanımda olan, sevgi ve desteğini esirgemeyen sevgili aileme,

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

ÖZET

Demir, H. Zayıf Asit Sınıf II İlaçların Sınıf I İlaç Olarak Değerlendirilebilmesi Üzerine Çalışmalar. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2009. Çalışmamızda Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi sınıf II bir ilaç olan etodolak kullanılmıştır. Etodolak antiinflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkili nonsteroidal antiinflamatuvar bir ilaçtır. Bu çalışmada etodolakin fizikokimyasal karakterizasyonu için UV(ultraviyole) spektrumu ve FT-IR (Fourier Transform Infrared Spektrofotometresi) spektrumu alınmış, DSC (Differential Scanning Calorimetry), X-ışını kırınımı analizleri ve partikül büyüklüğü analizi yapılmıştır. Etkin maddenin farklı pH'larda ve farklı konsantrasyonlarda sodyum lauril sülfat (SLS) içeren ortamlarda çözünürlük deneyleri, 200 mg etkin madde içeren film kaplı tabletlerin ise aynı ortamlarda çözünme hızı testleri yapılmıştır. Elde edilen bulgular yardımıyla yapay sinir ağları (YSA) kullanılarak farklı pH ve yüzey etkin madde konsantrasyonunda % çözünen etodolak tahmin edilmiştir. Birçok ilaç için absorpsiyon bölgesini oluşturan ince bağırsak sıvılarını tam olarak yansıtabilmek üzere hazırlanan tampon çözeltilerinin % 0.5 ve % 1 konsantrasyonlardaki SLS çözeltilerinde de çözünürlük ve çözünme hızı çalışmaları yapılmıştır. Çalışmanın amacı zayıf asidik iyonize olabilen sınıf II ilaçların absorpsiyon bölgesinde yüksek çözünürlükte olduğunun ve hemen salım sağlayan dozaj şeklinden hızla çözüldüğünün gösterilmesi ve YSA ile tahmin edilmesidir. Yüksek geçirgenlik özelliğine sahip olan etodolak absorpsiyon bölgelerinde yüksek çözünürlük göstermiş ve hemen salım sağlayan tabletinin de çözünmesi yüksek bulunmuştur. Bu da hemen salım sağlayan etodolak tabletlerinde biyoeşdeğerlikten vazgeçme uygulanabileceğini gösteren bir bulgudur. Çalışma sonunda etodolakin pH bağımlı bir çözünürlük profiline sahip olduğu pH'nın ilacın pKa'sından yüksek olduğu durumda yüksek çözünürlük gösterdiği ve dozaj şeklinden hızlı bir şekilde çözüldüğü gösterilmiştir. Çalışma sonucunda YSA uygulaması ile 30. dakikada dozaj şeklinden salınan etodolak miktarı % 92 doğrulukta tahmin edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyofarmasötik sınıflandırma sistemi, etodolak, çözünürlük, in vitro çözünme, yapay sinir ağı,

ABSTRACT

Demir, H. The Study on Considering Weak Acidic Class II Drugs as A Member of Class I Drug, Hacettepe University, Institute of Health Sciences, M. Sc. Thesis In Biopharmaceutics and Pharmacokinetics Programme, Ankara, 2009. Etodolac was used in this research as it is a member of Class II drugs according to Biopharmaceutics Classification System. Etodolac, which has anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity, is non steroidal anti-inflammatory drug. Physicochemical characteristics of etodolac were determined by UV (Ultraviolet) spectrums and FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectrometer) spectrums, DSC (Differential Scanning Calorimetry), X-ray diffraction and particle size analysis. The solubility of etodolac drug substance and in vitro dissolution testings for 200 mg etodolac film tablet were determined at different values of pH and different sodium lauryl sulfate (SLS) concentrations. The experimental outcomes from dissolution testings was used for predicting dissolved percentage of etodolac at different pH values and SLS concentrations by artificial neural network (ANN). In order to simulate the entire intestinal fluid characteristics at absorptions sites, solubility and in vitro dissolution testings were performed at different pH values containing 0.5 % and 1 % SLS. The aim of this study to show high solubility and rapid dissolution from immediate release dosage forms of weak acidic ionizable class II drug and predicting its dissolution with ANNs. Etodolac, which is highly permeable drug, showed high solubility at absorption region and dissolved rapidly from immediately release tablets. In this case, waiver of in vivo bioequivalence studies for etodolac immediate release tablets may be granted. As a result, it was determined that etodolac has a pH dependent solubility profile and at high pH values than pK_a of etodolac, it has a high solubility and rapid dissolution. In conclusion, dissolution of etodolac from immediate release tablets in 30 minutes was predicted with 92 % accuracy by ANNs.

Keywords: Biopharmaceutical Classification System, etodolac, solubility, in vitro dissolution, artificial neural network.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
TABLolar DİZİNİ	xxi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. İlacın Çözünme ve Çözünme Hızına Etki Eden Etkenler	2
2.1.1. İyonize Olabilen İlaçların Çözünmesi: Henderson-Hasselbalch Eşitliği	6
2.1.2. Zayıf Asidik Yapıdaki İlaçların pH-Çözünürlük Profili	7
2.1.3. Mide Bağırsak Sisteminin pH Profili	8
2.1.3.1. Mide'nin pH Profili	8
2.1.3.2. İnce Bağırsak pH Profili	10
2.1.4. Tamponlama Kapasitesinin Çözünürlük/Çözünmeye Etkisi	12
2.1.5. Yüzey Etkin Maddelerin Çözünürlük/Çözünmeye Etkisi	15
2.1.6. Zayıf Asidik Yapıdaki İlaçların Çözünürlüğüne pH İle Birlikte Yüzey Etkin Madde Etkisinin Birlikte İncelenmesi	19
2.2. Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi	24

2.2.1.	Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi Ölçütleri	26
2.2.1.1.	Etkin Maddenin Çözünürlüğü Yönünden Sınıflandırması	26
2.2.1.2.	Etkin Maddenin Geçirgenliği Yönünden Sınıflandırması	26
2.2.1.2.1.	İnsanlardaki Farmakokinetik Çalışmalar	27
2.2.1.2.1.1.	Kütle Denge Çalışmaları	27
2.2.1.2.1.2.	Mutlak Biyoyararlanım Çalışmaları	27
2.2.1.2.2.	Bağırsak Geçirgenlik Çalışmaları	27
2.2.1.2.3.	Mide Bağırsak Sisteminde Dayanısızlık	28
2.2.1.3.	Farmasötik Dozaj Şeklinden Etkin Maddenin İn Vitro Çözünmesi	28
2.2.2.	İlaç Absorpsiyonu ve BSS	29
2.3.	Yapay Sinir Ağları	33
2.3.1.	Tarihsel Gelişim	33
2.3.2.	YSA Tanımı ve Genel Yapısı	34
2.3.2.1.	Biyolojik Sinir Hücresi	35
2.3.2.2.	Yapay Sinir Hücresi	36
2.3.3.	YSA' nın Yapısal Olarak Sınıflandırılması	41
2.3.3.1.	Tek Katmanlı Algılayıcılar	41
2.3.3.1.1.	Basit Algılayıcılar (Percepton)	42
2.3.3.1.2.	Adaptif Linear Element (ADALİNE)	43
2.3.3.2.	Çok Katmanlı Algılayıcılar	43
2.3.3.2.1.	İleri Beslemeli YSA	45
2.3.3.2.2.	Geri Beslemeli YSA	46
2.3.4.	YSA'nın Öğrenmesi	46

2.3.4.1.	Öğretmenli Öğrenme (Supervised Learning)	47
2.3.4.2.	Öğretmensiz Öğrenme (Unsupervised Learning)	48
2.3.4.3.	Destekleyici Öğrenme (Reinforcement Learning)	49
2.3.5.	Öğrenme Kuralları	50
2.3.5.1.	Hebb's Kuralı	50
2.3.5.2.	Perceptron Öğrenme Kuralı	50
2.3.5.3.	Delta Kuralı	50
2.3.5.4.	Geriye Doğru Yayılım Öğrenme Kuralı	51
2.3.5.5.	Hopfield Kuralı	51
2.3.5.6.	Kohonen Öğrenme Kuralı	51
2.3.6.	Aşırı Uyum (Over Fitting)	52
2.3.7.	YSA'nın Uygulama Alanları	52
2.3.7.1.	YSA'nın Genel Uygulama Alanları	52
2.3.7.2.	Eczacılık Alanında Yapay Sinir Ağlarının Uygulamaları	53
2.4.	Etodolak	54
2.4.1.	Fizikokimyasal Özellikleri	54
2.4.2.	Farmakokinetik Özellikleri	56
2.4.3.	İlaç Etkileşimleri	58
2.4.4.	Kullanım Şekli ve Dozu	58
2.4.5.	Yan Etkiler	58
2.4.6.	Miktar Tayini Yöntemleri	59
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	61
3.1.	Gereç	61

3.1.1.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	61
3.1.2.	Kullanılan Aletler	62
3.2.	Yöntemler	63
3.2.1.	Etodolakın Fizikokimyasal Özellikleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	63
3.2.1.1.	UV spektrumu	63
3.2.1.2.	FT-IR Spektrumu	63
3.2.1.3.	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi	63
3.2.1.4.	X-Işını Kırınım Analizleri	63
3.2.1.5.	Erime Derecesi Tayini	64
3.2.1.6.	Partikül Büyüklüğü Dağılımı Analizi	64
3.2.2.	Etodolakın İn Vitro Miktar tayini	64
3.2.2.1.	Deneysel Tasarım	64
3.2.2.2.	Kalibrasyon Doğrusunun Çizilmesi	66
3.2.2.3.	İn Vitro Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu	66
3.2.2.3.1.	Doğrusallık (Linearity)	66
3.2.2.3.2.	Doğruluk (Accuracy) ve Kesinlik (Precision)	67
3.2.2.3.2.1.	Doğruluk (Accuracy)	67
3.2.2.3.2.2.	Kesinlik (Precision)	67
3.2.2.3.2.2.1.	Tekrar Edilebilirlik (Repetability)	67
3.2.2.3.2.2.2.	Ara Kesinlik (Intermediate Precision)	67
3.2.2.3.2.2.3.	Tekrar Elde Edilebilirlik (Reproducibility)	68
3.2.2.3.3.	Özgünlük (Specificity)	68
3.2.2.3.4.	Duyarlılık (Sensitivity)	68

3.2.2.3.4.1.	Miktar Tayini Sınırı (Limit of Quantitation)	68
3.2.2.3.5.	Stabilite (Stability)	69
3.2.3.	Çözünürlük Deneyleri	69
3.2.3.1.	Çözünürlük Sonuçlarının Değerlendirilmesi	70
3.2.4.	İn Vitro Çözünme Deneyleri	70
3.2.4.1.	İn Vitro Çözünme Deneylerinin Değerlendirilmesi	70
3.2.5.	Yapay Sinir Ağı Uygulamaları	71
4.	BULGULAR	75
4.1.	Etodolakın Fizikokimyasal Özellikleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	75
4.1.1.	UV Spektrumu	75
4.1.2.	FT-IR Spektrumu	77
4.1.3.	Diferansiyel Taramalı Kalorimetrik (DSC) Analizi	79
4.1.4.	X-Işını Kırınım Analizleri	79
4.1.5.	Erime Derecesi Tayini	80
4.1.6.	Partikül Büyüklüğü Dağılımı Analizi	80
4.2.	Etodolakın Spektrofotometrik Yöntem ile İn Vitro Miktar Tayini	81
4.2.1.	Etodolaka Ait Kalibrasyon Doğruları	81
4.2.2.	İn Vitro Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu	87
4.2.2.1.	Doğrusallık	87
4.2.2.2.	Doğruluk	87
4.2.2.3.	Kesinlik	87
4.2.2.3.1.	Tekrar Elde Edilebilirlik	87

4.2.2.3.2.	Tekrar Edilebilirlik	93
4.2.2.3.3.	Ara Kesinlik	95
4.2.2.4.	Özgünlük (Specificity)	97
4.2.2.5.	Duyarlılık	99
4.2.2.6.	Stabilite	99
4.3.	Çözünürlük Sonuçları	101
4.4.	İn Vitro Çözünme Deneyi Sonuçları	106
4.5.	Yapay Sinir Ağlarının Uygulanmasına Ait Sonuçların Değerlendirilmesi	110
4.5.1.	Yapay Sinir Ağı ile % Çözünen Etodolak Miktarının Tahmin Edilmesi	132
5.	TARTIŞMA	135
5.1.	Etkin Madde Üzerinde Yapılan Çalışmalar	136
5.2.	Etkin Maddenin UV Spektrofotometre İle İn Vitro Miktar Tayini ve Validasyonu	137
5.3.	Çözünürlük	139
5.4.	İn Vitro Çözünme Deneyleri	141
5.5.	Yapay Sinir Ağlarını Kullanarak % Çözünen Etodolak Miktarının Tahmin Edilmesi	143
6.	SONUÇ	146
	KAYNAKLAR	148
	EKLER	
	EK I: Uluslararası Bildiriler	
	EK II: Özgeçmiş	

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ADALİNE	Adaptif doğrusal eleman
AKT	Ağırlıklı kareler toplamı
A_n	Absorpsiyon sayısı
ART	Adaptif rezonans teorisi
BR	Bayesian düzeltmesi
BSS	Biyofarmasötik sınıflandırma sistemi
cmc	Kritik misel konsantrasyonu
CL	Klerens
C_{max}	Maksimum plazma konsantrasyonu
COX-1	Siklooksijenaz-1
COX-2	Siklooksijenaz-2
D_n	Çözünme sayısı
D_o	Doz sayısı
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetri
EAA	Eğri altında kalan alan
F	Mutlak biyoyararlanım
FDA	Amerikan İlaç ve Gıda İdaresi
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spektrofotometresi
HKT	Hata kareler toplamı
MADALİNE	Çoklu adaptif doğrusal eleman
MLP	Çok tabakalı basit algılayıcılar
MU	Marquart parametresi

NSAİİ	Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç
RH	Relatif nem
SLS	Sodyum lauril sülfat
SS	Standart sapma
QSAR	Kantitatif yapı aktivite ilişkisi
T _d	İlacın % 63.2'sinin çözünmesi için geçen zaman
TPGS	D- α -tokoferil polietilen glikol 1000 süksinat
USP	Amerikan Farmakopesi
V _d /F	Dağılım hacmi
VK	Varyasyon katsayısı
YSA	Yapay sinir ağları
\bar{X}	Ortalama
λ_{max}	Maksimum dalga boyu

ŞEKİLLER

	Sayfa	
Şekil 2.1.	İlacın katı dozaj şeklinden çözünmesine ilişkin aşamalar	2
Şekil 2.2.	Zayıf asidik bir ilacın pH-çözünürlük profili	8
Şekil 2.3.	Sağlıklı gönüllülerde yapılan çalışmada açlık durumundaki mide pH'sının gıda alımını takiben değişimi, (n=10)	9
Şekil 2.4.	Sağlıklı gönüllülerde açlık duodenum pH'sının gıda alınımını takiben değişimi (n=10)	10
Şekil 2.5.	Tamponlanmamış ortamda üç farklı zayıf asidin yüzey pH'sı ile çözelti pH'sı arasındaki ilişki	13
Şekil 2.6.	Glipizidin pH çözünürlük profili	14
Şekil 2.7.	Glipizidin çözünme hızı profili	15
Şekil 2.8.	Log SLS konsantrasyonuna karşı yüzey gerilimini değişimi	16
Şekil 2.9.	Piroksikamın yüzey etkin madde içeren çözeltideki denge çözünürlük şeması	20
Şekil 2.10.	Piroksikamın çözünürlük-zaman profili	22
Şekil.2.11.	Piroksikamın çözünme eğrileri	22
Şekil 2.12.	Oral yol ile uygulanan katı dozaj şeklinden etkin maddenin absorpsiyon süreci	24
Şekil 2.13.	Yüksek geçirgenliğe sahip ilaçlar için F, Do, Dn ilişkisi	32
Şekil 2.14.	Biyolojik sinir hücresinin yapısı	36
Şekil 2.15.	Yapay sinir hücresinin temel yapısı	37
Şekil 2.16.	İşlem elemanı modeli	39
Şekil 2.17.	Tek katmanlı algılayıcı modeli	41
Şekil 2.18.	Basit algılayıcı sinir hücresi modeli	42
Şekil 2.19.	ADALİNE modeli	43

Şekil 2.20.	Çok katmanlı algılayıcılar	44
Şekil 2.21.	İleri beslemeli YSA	45
Şekil 2.22.	Geri beslemeli YSA	46
Şekil 2.23.	Etodolakın kimyasal yapısı	54
Şekil 2.24.	Etodolakın ACD Suite 6.0 Programı ile hesaplanmış sonuçlara göre pH-çözünürlük profili	55
Şekil 2.25.	Etodolakın miktar tayininde kullanılan yöntemler	59
Şekil 3.1.	Yapay sinir ağının yapısı	72
Şekil 3.2.	Tanjant-Sigmoid aktivasyon fonksiyonu	72
Şekil 3.3.	Doğrusal Fonksiyon	73
Şekil 4.1.	Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponunda $12 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyondaki çözeltisinin UV spektrumu	75
Şekil 4.2.	Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponunun % 0.5 SLS çözeltisinde $12 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyondaki çözeltisinin UV spektrumu	76
Şekil 4.3.	Etodolakın pH 6.8 fosfat tamponunun % 1 SLS çözeltisinde $12 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyondaki çözeltisinin UV spektrumu	77
Şekil 4.4.	Etodolakın FT-IR spektrumu	78
Şekil 4.5.	Etodolakın DSC termogramı	79
Şekil 4.6.	Etodolakın X ışınımı kırınımı	79
Şekil 4.7.	Etodolakın partikül büyüklüğü analizi	80
Şekil 4.8.	Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponu çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)	81
Şekil 4.9.	Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponu (% 0.5 SLS içeren) çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)	82

Şekil 4.10.	Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponu (% 1 SLS içeren) çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)	82
Şekil 4.11.	Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponu çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)	83
Şekil 4.12.	Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponu (% 0.5 SLS içeren) çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)	83
Şekil 4.13.	Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponu (% 1 SLS içeren) çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)	84
Şekil 4.14.	Etodolakın pH 6.0 fosfat tamponu çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)	84
Şekil 4.15.	Etodolakın pH 6.0 fosfat tamponu (% 0.02 SLS içeren) çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)	85
Şekil 4.16.	Etodolakın pH 6.8 Mcillvaine fosfat tamponu çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)	85
Şekil 4.17.	Etodolakın pH 6.8 fosfat tamponu (% 0.5 SLS içeren) çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)	86
Şekil 4.18.	Etodolakın pH 6.8 fosfat tamponu (% 1 SLS içeren) çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)	86
Şekil 4.19.	pH 6.0 % 0.02 SLS içeren fosfat tamponuna ait UV spektrumu (n=6)	97
Şekil 4.20.	pH 6.0 SLS içermeyen fosfat tamponundaki plasebo çözeltisine ait UV spektrumu	98
Şekil 4.21.	pH 6.0 % 0.02 konsantrasyonda SLS içeren fosfat tamponundaki plasebo çözeltisine ait UV spektrumu	98
Şekil 4.22.	Etodolaka ait pH-çözünürlük grafiği	102

Şekil 4.23.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak çözünürlük bulgularına ilişkin cevap yüzey grafiği	103
Şekil 4.24.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak çözünürlük bulgularına ilişkin kontur grafiği	103
Şekil 4.25.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak doz/çözünürlük oranı bulgularına ilişkin cevap yüzey grafiği	105
Şekil 4.26.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak doz/çözünürlük oranı bulgularına ilişkin kontur grafiği	105
Şekil 4.27.	Etodolakın (200 mg Lodine [®] Tablet) pH 4.4 fosfat tamponundaki çözünme profilleri (n=6)	107
Şekil 4.28.	Etodolakın (200 mg Lodine [®] Tablet) pH 5.6 fosfat tamponundaki çözünme profilleri (n=6)	107
Şekil 4.29.	Etodolakın (200 mg Lodine [®] Tablet) pH 6.8 fosfat tamponundaki çözünme profilleri (n=6)	108
Şekil 4.30.	Etodolakın (200 mg Lodine [®] Tablet) SLS içermeyen pH 4.4, 5.6 ve 6.8 fosfat tamponundaki çözünme profilleri (n=6)	108
Şekil 4.31.	Etodolakın (200 mg Lodine [®] Tablet) % 0.5 SLS içeren pH 4.4, 5.6 ve 6.8 fosfat tamponundaki çözünme profilleri (n=6)	109
Şekil 4.32.	Etodolakın (200 mg Lodine [®] Tablet) % 1 SLS içeren pH 4.4, 5.6 ve 6.8 fosfat tamponundaki çözünme profilleri (n=6)	109
Şekil 4.33.	Bayesian öğrenme yöntemine ilişkin parametreler	115
Şekil 4.34.	5.dakika için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği	117
Şekil 4.35.	10.dakika için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği	117
Şekil 4.36.	15 dakika için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği	118
Şekil 4.37.	20. dakika için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği	118
Şekil 4.38.	30. dakika için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği	119

Şekil 4.39.	45. dakika için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği	119
Şekil 4.40.	60. dakika için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği	120
Şekil 4.41.	m değeri için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği	120
Şekil 4.42.	Bütün zaman noktaları için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği	121
Şekil 4.43.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 5.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine® Tablet) miktarına ilişkin cevap yüzey grafiği	122
Şekil 4.44.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 5.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine® Tablet) miktarına ilişkin kontur grafiği	122
Şekil 4.45.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 10.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine® Tablet) miktarına ilişkin cevap yüzey grafiği	123
Şekil 4.46.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 10.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine® Tablet) miktarına ilişkin kontur grafiği	124
Şekil 4.47.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 15.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine® Tablet) miktarına ilişkin cevap yüzey grafiği	125
Şekil 4.48.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 15.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine® Tablet) miktarına ilişkin kontur grafiği	125
Şekil 4.49.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 20.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine® Tablet) miktarına ilişkin cevap yüzey grafiği	126
Şekil 4.50.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 20.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine® Tablet) miktarına ilişkin kontur grafiği	127

Şekil 4.51.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 30.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine [®] Tablet) miktarına ilişkin cevap yüzey grafiği	128
Şekil 4.52.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 30.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine [®] Tablet) miktarına ilişkin kontur grafiği	128
Şekil 4.53.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 45.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine [®] Tablet) miktarına ilişkin cevap yüzey grafiği	129
Şekil 4.54.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 45.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine [®] Tablet) miktarına ilişkin kontur grafiği	130
Şekil 4.55.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 60.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine [®] Tablet) miktarına ilişkin cevap yüzey grafiği	131
Şekil 4.56.	SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 60.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine [®] Tablet) miktarına ilişkin kontur grafiği	131
Şekil 4.57.	Etodolakın (200 mg Lodine [®] Tablet) SLS içermeyen pH 6.0 fosfat tamponundaki çözünme profilleri	134
Şekil 4.58.	Etodolakın (200 mg Lodine [®] Tablet) % 0.02 SLS içeren pH 6.0 fosfat tamponundaki çözünme profilleri	134

TABLOLAR

	Sayfa
Tablo 2.1. Mide bağırsak sisteminde ilacın çözünme ve çözünme hızına etki eden fizikokimyasal/fizyolojik etkenler ve in vitro yansımaları	5
Tablo 2.2. Açlık ve tokluk durumlarında mide ve ince bağırsak pH'sı	11
Tablo 2.3. Griseofulvinin 500 mg dozunun farklı ortamlarda hesaplanan çözünürlük ve çözünme ile ilgili parametreleri.	18
Tablo 2.4. Yüzey etkin madde ve pH etkisinin çözünürlük ve çözünme hızına etkisinin incelendiği çalışmalar	23
Tablo 2.5. Biyofarmasötik İlaç Sınıflandırma Sistemi	25
Tablo 2.6. Transfer fonksiyonları	40
Tablo 3.1. Deney tasarımında kullanılan central composite dizayn.	65
Tablo 3.2. Çözünürlük deneyi koşulları	69
Tablo 4.1. Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponu içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6)	88
Tablo 4.2. Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponunda % 0.5 SLS içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6)	88
Tablo 4.3. Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponunda % 1 SLS içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6)	89
Tablo 4.4. Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponundaki çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6)	89
Tablo 4.5. Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponunda % 0.5 SLS içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6)	90

Tablo 4.6.	Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponunda % 1 SLS içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6)	90
Tablo 4.7.	Etodolakın pH 6.8 fosfat tamponundaki çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6)	91
Tablo 4.8.	Etodolakın pH 6.8 fosfat tamponunda % 0.5 SLS içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6)	91
Tablo 4.9.	Etodolakın pH 6.8 fosfat tamponunda % 1 SLS içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6)	92
Tablo 4.10.	Etodolakın pH 6.0 fosfat tamponu çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6)	92
Tablo 4.11.	Etodolakın pH 6.0 fosfat tamponunda % 0.02 SLS içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6)	93
Tablo 4.12.	Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin tekrar edilebilirlik sonuçları	93
Tablo 4.13.	Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin tekrar edilebilirlik sonuçları	94
Tablo 4.14.	Etodolakın pH 6.8 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin tekrar edilebilirlik sonuçları	94
Tablo 4.15.	Etodolakın pH 6.0 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin tekrar edilebilirlik sonuçları	95
Tablo 4.16.	Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin ara kesinlik sonuçları	95
Tablo 4.17.	Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin ara kesinlik sonuçları	96
Tablo 4.18.	Etodolakın pH 6.0 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin ara kesinlik sonuçları	96
Tablo 4.19.	Etodolakın pH 6.8 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin ara kesinlik sonuçları	97

Tablo 4.20.	Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin stabilite sonuçları	99
Tablo 4.21.	Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin stabilite sonuçları	100
Tablo 4.22.	Etodolakın pH 6.0 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin stabilite sonuçları	100
Tablo 4.23.	Etodolakın pH 6.8 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin stabilite sonuçları	101
Tablo 4.24.	Etodolakın çözünürlük sonuçları	101
Tablo 4.25.	Etodolakın çözünürlük verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları	102
Tablo 4.26.	Etodolakın doz/çözünürlük değerleri	104
Tablo 4.27.	Etodolakın çözünürlük sınıflandırması	104
Tablo 4.28.	Etodolakın doz/çözünürlük verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları	104
Tablo 4.29.	Etodolak tabletin (Lodine® 200 mg Film Tablet) zamana karşı ortalama % çözünen miktarı.	106
Tablo 4.30.	Lodine 200 mg Film Tablet in vitro çözünme sonuçlarının Weibull Çözünme Kinetiğine göre değerlendirilmesine ilişkin bulgular	110
Tablo 4.31.	Etodolakın % çözünen, $t_{\% 63.2}$ ve Weibull Kinetik Modeli parametrelerine ilişkin sonuçlar	111
Tablo 4.32.	Öğrenme yöntemi parametreleri	114
Tablo 4.33.	Deneysel ve tahmini verilerin regresyon analizi sonuçları	116
Tablo 4.34.	5. dk'daki % çözünen etodolak verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları	121
Tablo 4.35.	10. dk'daki % çözünen etodolak verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları	123
Tablo 4.36.	15. dk'daki % çözünen etodolak verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları	124

Tablo 4.37.	20. dk'daki % çözünen etodolak verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları	126
Tablo 4.38.	30. dk'daki % çözünen etodolak verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları	127
Tablo 4.39.	45. dk'daki % çözünen etodolak verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları	129
Tablo 4.40.	60. dk'daki % çözünen etodolak verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları	130
Tablo 4.41.	Etodolakın in vitro çözünmesine ait deneysel veriler	132
Tablo 4.42.	Etodolakın in vitro çözünmesinin tahmini verileri	132
Tablo 4.43.	Deneysel ve tahmini % çözünen etodolak miktarı arasındaki % hata	133
Tablo 4.44.	Tahmini ve deneysel % çözünen etodolak	133

1.GİRİŞ

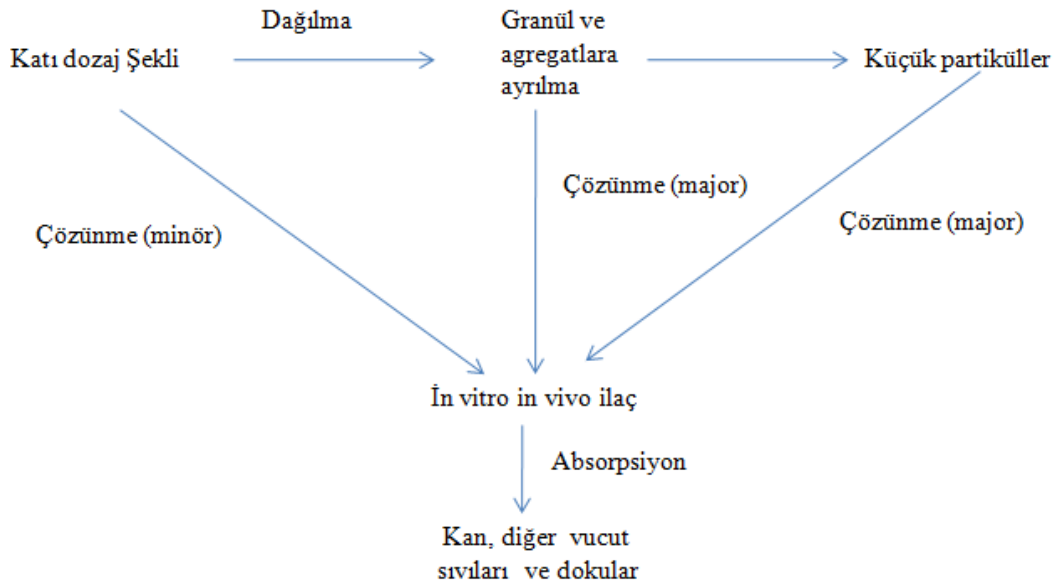
Bir etkin maddenin çözünürlüğü ve geçirgenliği formülasyon geliştirme sürecinde oldukça önemli etkenlerdendir. Biyofarmasötik sınıflandırma sistemi (BSS)'e göre etkin maddelerin çözünürlük ve mide bağırsak sistemindeki geçirgenliklerine göre gruplandırılabilir. Suda çözünen yüksek geçirgenlikteki sınıf I ilaçlar için biyoeşdeğerlik çalışmalarından vazgeçme söz konusudur. Özellikle yüksek geçirgenlikteki ve düşük çözünürlükteki sınıf II ilaçlar için çözünme, absorpsiyon hız ve derecesini belirleyen önemli bir etkidir. İlacın çözünmesinin mide bağırsak sisteminde pH, yüzey etkin maddeler, iyonik güç, tamponlama kapasitesi gibi etkenlerle değiştiği birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda in vivo absorpsiyon ortamının in vitro olarak taklit edilebilmesi büyük önem taşımaktadır. Formülasyon geliştirme aşamasında istenen çözünme hızına sahip formülasyonun tasarımının en kısa süre ve en az sayıda deneme ile yapılabilmesi oldukça önemlidir. İşlem elemanlarının ve değişkenlerin optimizasyonunda çeşitli istatistiksel yaklaşımlar söz konusudur. Son yıllarda farmasötik ürün geliştirme alanında kullanılan yöntemlerden birisi de yapay sinir ağlarıdır (YSA). Yapay sinir ağları yanıt ile değişkenler arasında doğrusal olmayan ilişkinin tahmin edilmesinde başarılı bir yöntemdir.

Bu çalışmadaki amaç zayıf asidik yapıdaki sınıf II bir ilaç olan etodolakın ince bağırsaktaki absorpsiyon bölgesinde yüksek çözünürlükte olduğunun ortaya konmasıdır. Çalışmada etodolak film kaplı tabletlerin absorpsiyon bölgesindeki çözünürlük ve çözünme hızını yansıtabilmek için ince bağırsaktaki çözünme ortamı taklit edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla farklı pH'lara sahip ve farklı konsantrasyonda yüzey etkin madde içeren ortamlarda etodolak film tabletlerin in vitro çözünme hızı deneyleri yapılmıştır. Daha az sayıda deneme yapılarak mide bağırsak sistemi boyunca ilacın çözünme hızı verilerinin tahmin etmek amacıyla yapay sinir ağları kullanılmıştır. Böylece hazırlanan formülasyonların mide bağırsak sistemindeki çözünme hızı verileri tahmin edilebilmiştir. İlacın absorpsiyon bölgesindeki yüksek çözünürlük göstermesi ve dozaj şeklinden hızlı salınmasına bağlı olarak in vivo biyoeşdeğerlik çalışmalarından vazgeçme uygulanabileceği de düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İlacın Çözünme ve Çözünme Hızına Etki Eden Etkenler

Bu bölümde çalışmamıza konu olan zayıf asidik özellikteki etodolak etkin maddesinin çözünme ve çözünme hızına etki eden etkenler incelenecektir. Formülasyon geliştirme çalışmalarında ürünün in vitro çözünme hızı deneyleri önemli bir basamağı oluşturmaktadır. Çünkü katı dozaj şeklinden ilacın absorpsiyonu çözünmesine ve çözünme hızına bağlı bir süreçtir. Oral yol ile alınan katı dozaj şeklinden etkin maddenin çözünme işlemi Şekil 2.1’de gösterilmiştir (1).



Şekil 2.1. İlacın katı dozaj şeklinden çözünmesine ilişkin aşamalar (1).

Bir etkin maddenin çözünme hızının saptanması formülasyon geliştirme aşamasında oldukça önemli ve yararlı bir işlemdir. Çözünme hızı katı dozaj şeklinden birim zamanda çözünerek çözünme ortamına geçen etkin madde miktarıdır. İlk olarak Noyes ve Whitney tarafından Eşitlik 2.1’deki gibi tanımlanmıştır. Difüzyon katman (difusion layer) çözünme teorisine göre çözünme sürecinde, katı etrafında “h” kalınlıkta bir sıvı difüzyon tabakası (durağan bir film tabakası) varsayımından hareket edilir. İlk basamakta katı sıvı ara yüzeyinde, kararlı bir doymuş katman, ikinci basamakta ise konsantrasyonun yüksek olduğu (C_s) bir

katman yer almaktadır. Bu ara yüzeyden konsantrasyonun daha düşük olduğu çözünme ortamına difüzyon ile çözünme gerçekleşir. Noyes-Whitney çözünme modeli Nernst-Brunner tarafından değiştirilmiş ilacın çözünme kinetiğinde önemli olan etkenler Eşitlik 2.2'deki gibi tanımlanmıştır (2-4).

$$\frac{dC}{dt} = k(C_s - C) \quad (2.1)$$

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DS}{Vh} (C_s - C) \quad (2.2)$$

$\frac{dC}{dt}$: t zamanında etkin maddenin çözünme hızı

k : Çözünme hızı sabiti

C_s : İlacın doyum konsantrasyonu

C : t zamanında V çözünme hacmindeki çözülmüş madde miktarı

S : İlacın spesifik yüzey alanı

D : Difüzyon katsayısı

h : Difüzyon tabakasının kalınlığı

İlacın mide bağırsak sistemindeki çözünürlüğüne etki eden etkenler; bağırsak sıvılarının içeriği, hacmi ve ilaç alımını takiben meydana gelen hidrodinamik davranışlardır. Bir ilacın in vivo çözünürlüğü ve çözünmesi birçok fizyolojik işlem sonucunda gerçekleşmekte olduğundan mide bağırsak sisteminin motilitesi gibi faktörlerden de etkilenmektedir (5). İlaç ile birlikte alınan sıvılar ve gıdaların dışında mide bağırsak sisteminde çeşitli sıvılar salgılanmaktadır. Hidroklorik asit, bikarbonatlar, enzimler, yüzey etkin maddeler, elektrolitler, mukus ve su bunlardan birkaçıdır. Bu nedenle mide bağırsak sistemi pH'sı, tamponlama kapasitesi, yüzey etkin madde konsantrasyonu, sıvı hacmi, viskozite, iyonik güç ve gıdaların varlığı ilacın çözünürlük ve çözünme hızını etkilemektedir (4). İn vitro koşullara bu etkenler tam olarak yansıtıldığında, çözünmenin absorpsiyonda sınırlayıcı etkisinin kestirimi yapılabilir.

Ayrıca ilacın fizikokimyasal özellikleri (çözünürlük, kristal şekil, difüzlenebilirlik, molekül yapısı vb.), formülasyon yöntemi (yardımcı maddeler, kaplama, üretim parametreleri vb.), çözünme yöntemi (aparey tipi, hacim, yüzey gerilimi, ortamın pH'sı, viskozite vb.) gibi etkenler de çözünmeye etki etmektedir. Çözünmeye etki eden fizikokimyasal, fizyolojik etkenler ve bunların in vitro ortamdaki yansımaları Tablo 2.1'de özetlenmiştir (6,7).

Tablo 2.1. Mide bağırsak sisteminde ilacın çözünme ve çözünme hızına etki eden fizikokimyasal/fizyolojik etkenler ve in vitro yansımaları (4,7).

PARAMETRE	FİZİKOKİMYASAL ETKEN	FİZYOLOJİK ETKEN	İN VİTRO ETKEN
S	Partikül büyüklüğü	Mide bağırsak sıvısında yüzey etkin madde ve safra tuzu varlığı	Yüzey etkin madde varlığı
D	Molekül büyüklüğü	Lümen içi sıvısının viskozitesi	Ortamın viskozitesi
h	-	Mide bağırsak sistemi motilitesi ve hızı	Karıştırma hızı ve sistemin hidrodinamiği
C _s	Hidrofilik özellik, kristal yapı, çözünürlük	pH, safra tuzu, tamponlama kapasitesi, gıda içeriği	pH ve yüzey etkin madde
C	-	Permeabilite	-
V	-	Mide bağırsak sistemi sıvılarının hacmi ve sekresyonu ve alınan sıvı miktarı	Çözünme hacmi

S: Yüzey alanı

D: Difüzyon katsayısı,

h: Difüzyon tabakasının kalınlığı,

C_s: İlacın doygunluk konsantrasyonu,

C: t zamanında V çözünme hacminde çözülmüş madde miktarı, V:Çözünme hacmi

Bir ilacın çözünürlüğünü etkileyen etkenlerden mide bağırsak sisteminin pH'sındaki değişimler ve safra tuzlarının varlığının in vitro yansması, pH etkisi ve yüzey etkin madde etkisi olarak karşımıza çıkmaktadır. Yüzey etkin madde konsantrasyonu ve pH ilacın çözünmesinde etkili olan etkenlerdir. Yüzey etkin madde ve pH etkisi iyonize olabilen ilaçlar için oldukça önemlidir, özellikle fizyolojik pH aralığında bir pK_a değerine sahip ilaçlarda bu etki daha belirgindir (8,9).

2.1.1. İyonize Olabilen İlaçların Çözünmesi: Henderson-Hasselbalch Eşitliği

Farmasötik alanda kullanılan bir çok bileşik iyonize olabilen zayıf asit, baz veya bu iki iyonizasyon tipine sahip ilaçlardır. İyonize olmayan ilaçların çözünürlüğü sabit bir değerdir bu da katı ilaç şeklinin molar enerjisi ile polar sıvı çözücü arasındaki basit dengedir. İyonize olabilen bir ilaç için hem çözücü hem de ilacın çözünürlüğü göz önünde bulundurulmalıdır. Çünkü ilacın iyonizasyon miktarı çözücünün iyonizasyon oranı (örneğin; pH) ile değişmektedir. Ayrıca ilacın katı faz-sıvı faz dengesi de pH ile değişmektedir (10). Yani zayıf bazik ve asidik iyonize olabilen ilaçların çözünürlüğü, iyonizasyon sabiti (K_a) ve çözünme ortamının pH'sına bağlıdır. Çözünürlük-pH ilişkisi Henderson-Hasselbalch eşitliği ile açıklanmaktadır (8,10). Bu eşitlik; ilacın intrinsik çözünürlüğü, pH ve pK_a 'sı ile ilişkilidir (10). İlaçların serbest asit veya baz şeklinin çözünürlüğü intrinsik çözünürlük olarak tanımlanmaktadır. Zayıf asitler için bu değer pK_a 'dan bir birim düşük pH değerlerinde bulunan çözünürlük değeridir (11).

Henderson-Hasselbalch Eşitliği:

Monobazik bileşikler için:

$$S_T = S_0 [1 + 10^{(pK_a - pH)}] \quad (2.3)$$

Monoasidik bileşikler için:

$$S_T = S_0 [1 + 10^{(pH - pK_a)}] \quad (2.4)$$

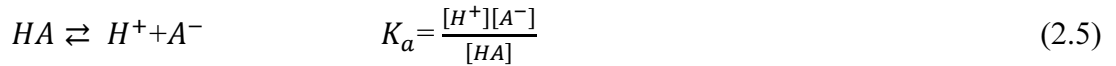
S_T : Toplam çözünürlük

S_0 : İntrensik çözünürlük

K_a : İyonizasyon sabiti

2.1.2. Zayıf Asidik Yapıdaki İlaçların pH-Çözünürlük Profili

Çözünürlük ve pH arasındaki ilişki bir denge çözünürlük modelidir (12). Denge çözünürlüğü zamana bağlı olarak katı fazın ve çözelti konsantrasyonunun değişmediği çözelti içindeki bileşiğin konsantrasyonu olarak tanımlanır (13). Zayıf asidik yapıdaki bir bileşiğin doymuş çözeltisindeki çözünürlük dengesi aşağıdaki eşitliklerle açıklanır (12).



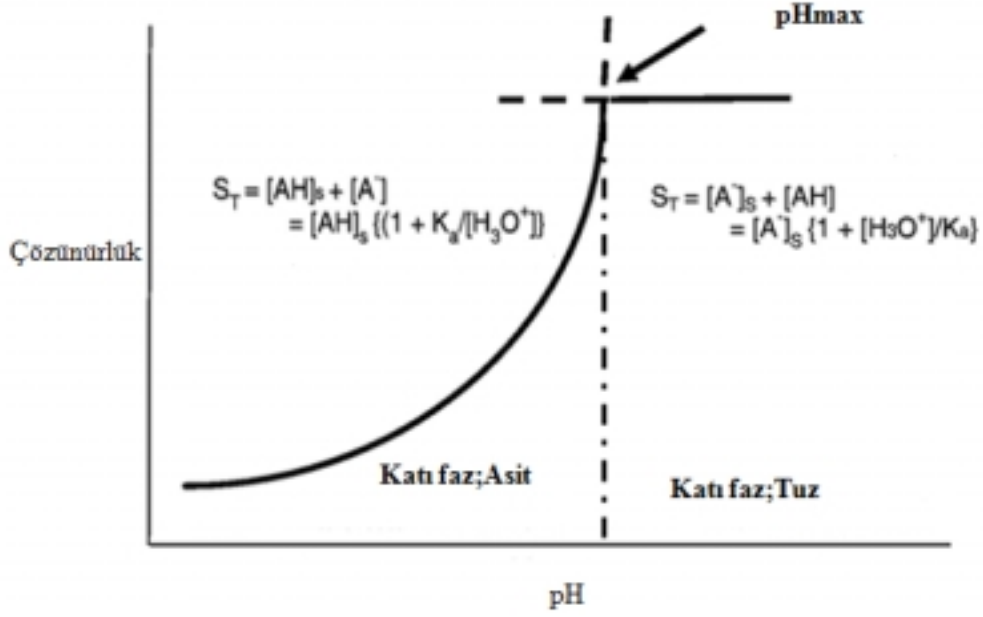
$$S_T = K_a \left[\frac{[HA]}{[H^+]} \right] + [HA] \quad (2.7)$$

$$S_T = S_0 \left(\frac{K_a}{[H^+]} + 1 \right) \quad (2.8)$$

$$S_T = S_0 (10^{-pK_a + pH} + 1) \quad \text{veya} \quad (2.9)$$

$$\log S_T = \log S_0 + \log (10^{-pK_a + pH} + 1) \quad (2.10)$$

Bir ilacın toplam çözünürlüğü, bütün bölümlerinin çözünürlüklerinin toplamına eşittir. Asidik bir ilacın pH çözünürlük profili incelendiğinde, çözünürlüğün en düşük olduğu bölgede ilaç çözelti içerisinde tamamen noniyonize halde bulunur ve ilacın bu bölgedeki çözünürlüğü ilacın intrinsik çözünürlüğünü verir. Profilin ilerleyen bölgelerinde ilaç iyonize olmaya başlar ve pK_a değerine karşılık gelen pH değerinde ilacın iyonize ve noniyonize olmayan kısmı eşit konsantrasyondadır. İyonize kısma ilişkin eğrinin tuz platosu ile birleştiği nokta pH_{max} noktası olup çözünürlüğün maksimum olduğu pH değeridir (10,13-15). Şekil 2.2'de zayıf asidik bir ilaca ilişkin pH-çözünürlük profili verilmiştir (14).



Şekil 2.2. Zayıf asidik bir ilacın pH-çözünürlük profili (14).

Zayıf asidik bir ilacın pH-çözünürlük profilinin asit bölgesindeki çözünürlük değeri:

$$pH < pH_{max} \quad S_{T, asit} = S_o \left(\frac{K_a}{[H_3O^+]} + 1 \right) \quad (2.11)$$

Zayıf asidik bir ilacın pH-çözünürlük profilinin tuz bölgesindeki çözünürlük değeri:

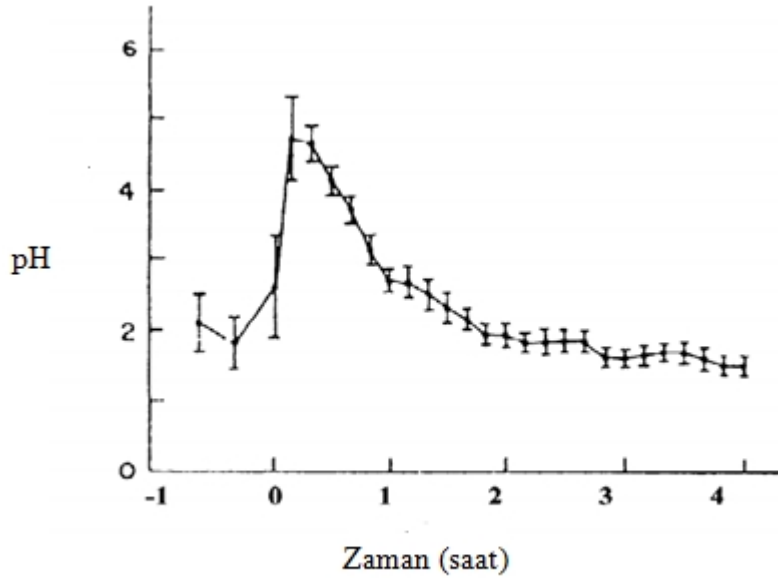
$$pH > pH_{max} \quad S_{T, tuz} = S_o \left(\frac{[H_3O^+]}{K_a} + 1 \right) \quad (2.12)$$

2.1.3. Mide Bağırsak Sisteminin pH Profili

2.1.3.1. Mide'nin pH Profili

Sağlıklı gönüllüler üzerinde yapılan birçok çalışma sonucunda açlık koşullarında mide pH'sının 1-3 arasında değişen değerler aldığı görülmüştür. İlerleyen yaşlarda mide asit salgısının üretilmesindeki düşmeye bağlı olarak daha yüksek pH değerleri gözlenmiştir (8,16). Yaşlı popülasyonunun yaklaşık % 10-20'sinde mide asit salgısının azalmasına bağlı hipoklorhidri veya salgılanmamasına bağlı olarak aklorhidri gözlenmekte ve açlık mide pH'sı 5'in üzerine çıkmaktadır (16). Bu durum Japon toplumunda belirgin bir şekilde görülmektedir (17). Ancak

Güney Amerikalılar da bundan farklı bir durum söz konusudur. Açlık koşullarında 24 genç gönüllü ve 79 yaşlı gönüllüde mide bağırsak sistemi pH'sını belirlemek üzere yapılan çalışmada yaşlılarda mide pH'sı ortalama 1.3 (1.1-1.6), genç gönüllülerde ise mide pH'sı 1.7 (1.4-2.0) bulunmuştur (18). Ayrıca mide pH'sını H₂ reseptör antagonistleri, proton pompası inhibitörleri gibi ilaçlarla tedavi ve AIDS (Acquired Immuno Deficiency Syndrome), pernisiyöz anemi gibi patolojik durumlar etkilemekte olup, açlık ve tokluk koşullarının pH'sı farklıdır (11). Mide pH'sı gıdaların tamponlama etkisi nedeniyle öncelikle artar, gıda içeriğine bağlı olarak bu değer pH 7'ye kadar çıkabilir. Gıda alımına yanıt olarak mide asit salgısı artar, gıda alımından 3-4 saat sonra mide tekrar açlık pH'sına döner (11,19,20). Mide pH'sının açlık durumundan gıda alımını takiben değişimi Şekil 2.3'de verilmiştir (21).



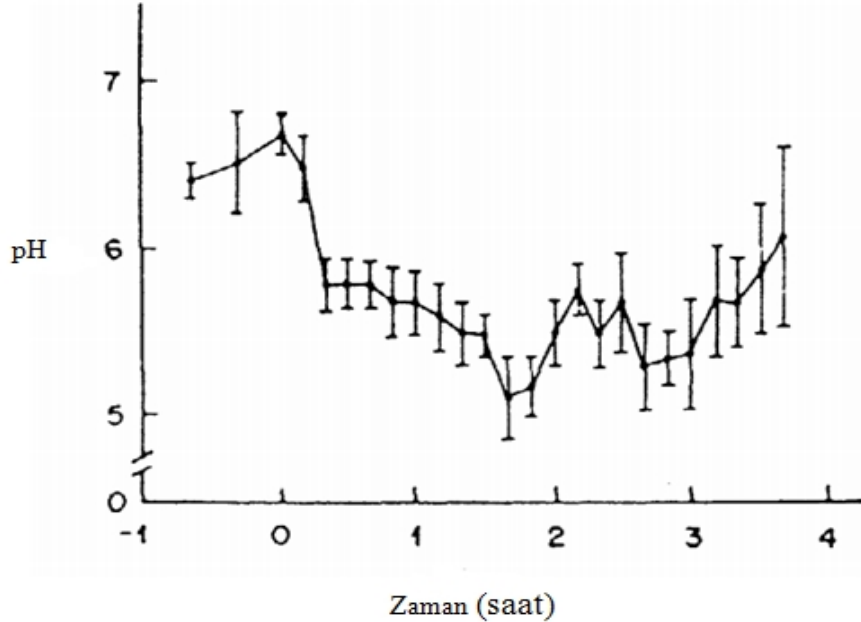
Şekil 2.3. Sağlıklı gönüllülerde yapılan çalışmada açlık durumundaki mide pH'sının gıda alımını takiben değişimi, (n=10, pH 6, 458 kalori, 400 mL sıvı) (21).

Zayıf bazik yapıya sahip ketokanozol ($pK_{a1}= 6.5$, $pK_{a2}= 2.9$), itrakanozol ($pK_a=3.7$) ve dipiridamol ($pK_a=6.4$) (22,23) gibi bileşikler gıda ile birlikte alındığında midede az çözünür, çünkü mide artık daha az asidik bir hal almıştır. Ancak gıda alınımına bağlı olarak mide boşalma süresi daha uzundur, ilaç midede

daha uzun süre kalacağından zamana bağlı olarak çözünen miktarı artar ve pH'nın yükselmesi ile azalan çözünme dengelenmiş olur (11).

2.1.3.2. İnce Bağırsak pH Profili

İnce bağırsak pH'sı mideye göre daha yüksek değerdedir, çünkü ince bağırsakta pankreastan salgılanan pankreatik sıvılar içerisindeki bikarbonat iyonları mideden gelen asidik içeriği nötralize eder. İnce bağırsak pH'sı duodenumdan ileuma doğru artış göstermektedir. Kolon ise daha yüksek bir pH'ya sahiptir, kolon pH'sı bakteriyel enzim reaksiyonlarından etkilenmektedir (4). İnce bağırsağın üst kısımlarında pH 5 ile 6.5 arasındadır (11,18,20). Perez ve diğ. altı gönüllünün açlık koşullarında duodenum ve jejunum pH'larını sırasıyla 7.0 ve 6.8 olarak saptamıştır (24). Mideden gelen asidik yapıdaki yarı sindirilmiş besinlerin (kimusun) etkisiyle ilk olarak ince bağırsak pH'sında bir azalma meydana gelir. Daha sonra açlık pH'sı koşulları tekrar sağlanır (11). Açlık ve tokluk koşullarında duodenumdaki pH değişimi Şekil 2.4'de gösterilmiştir (21).



Şekil 2.4. Sağlıklı gönüllülerde açlık duodenum pH'sının gıda alınımını takiben değişimi (n=10, pH 6, 458 kalori, 400 ml sıvı hacmi) (21).

Tablo 2.2’de açlık ve tokluk durumlarında mide ve ince bağırsak bölümlerinin pH’ları verilmiştir (11,18,20,25,26).

Tablo 2.2. Açlık ve tokluk durumlarında mide ve ince bağırsak pH’sı.

	Açlık	Tokluk
Mide Bağırsak Kanalı		
	Ortalama pH	Ortalama pH
Mide	1.3	4.9
Duodenum	6.5	5.4
Jejenum	6,6	5.2-6.0
İleum	7,4	7.5

Lipofilik zayıf asidik bileşiklerin ($pK_a \sim 3.5-5.5$) midedeki çözünmesi önemli bir oranda olmamasına karşın, ince bağırsak pH’sı ortamında daha hızlıdır ve genellikle çözünme ince bağırsakta tamamlanır (27,28). Örneğin zayıf asidik yapıdaki suda az çözünen ilaçlar olan furosemid ($pK_a=3.9$) ve indometazin ($pK_a=4.81$) (22) mide sıvısında hemen hemen hiç çözünmez ve çözünme ilk olarak ince bağırsağın üst kısımlarında gerçekleşir. Ancak çok zayıf asidik bir ilaç olan parasetamol ($pK_a=9.5$) ve hidroklorotiyazid ($pK_a=8.8$) için bu durum farklıdır. Bu ilaçlar fizyolojik pH aralığı boyunca serbest asidik formda oldukları için çözünürlükleri mide bağırsak sisteminin pH’sından etkilenmez (11). İnce bağırsak, geniş yüzey alanı ve transport mekanizmasından dolayı birçok ilaç için ilk absorpsiyon yeridir. Bu nedenle zayıf bazik ilaçların yemek sonrası absorpsiyonları daha sorundur (16).

Mide pH’sında tamamen çözünen ilaçların absorpsiyonunda hız kısıtlayıcı basamak mide boşalma hızıdır (29). İbuprofen gibi az çözünen asidik yapıdaki ilaçlar için midede çözünme çok az gerçekleşmektedir (30). İnce bağırsağın yüksek pH’sı ise asidik ilaçların çözünmesi için daha uygun bir ortam sağlamaktadır. İbuprofen ve benzer zayıf asidik ilaçlar için midenin boşalması bu ilaçların absorpsiyon ve çözünmesini kısıtlayan bir durumdur. Az çözünür nötral yapıdaki ilaçların midedeki çözünmesinin yavaş olması ve birçok diğer nedenlerden dolayı ilacın ilk absorpsiyon bölgesine gelmeden önce çözünmesi tamamlanamaz ve oral biyoyararlanımı düşer.

Zayıf bazik ilaçların ise mide bağırsak sisteminin diğer bölgelerine göre midede çözünmesi daha yüksektir (8,31).

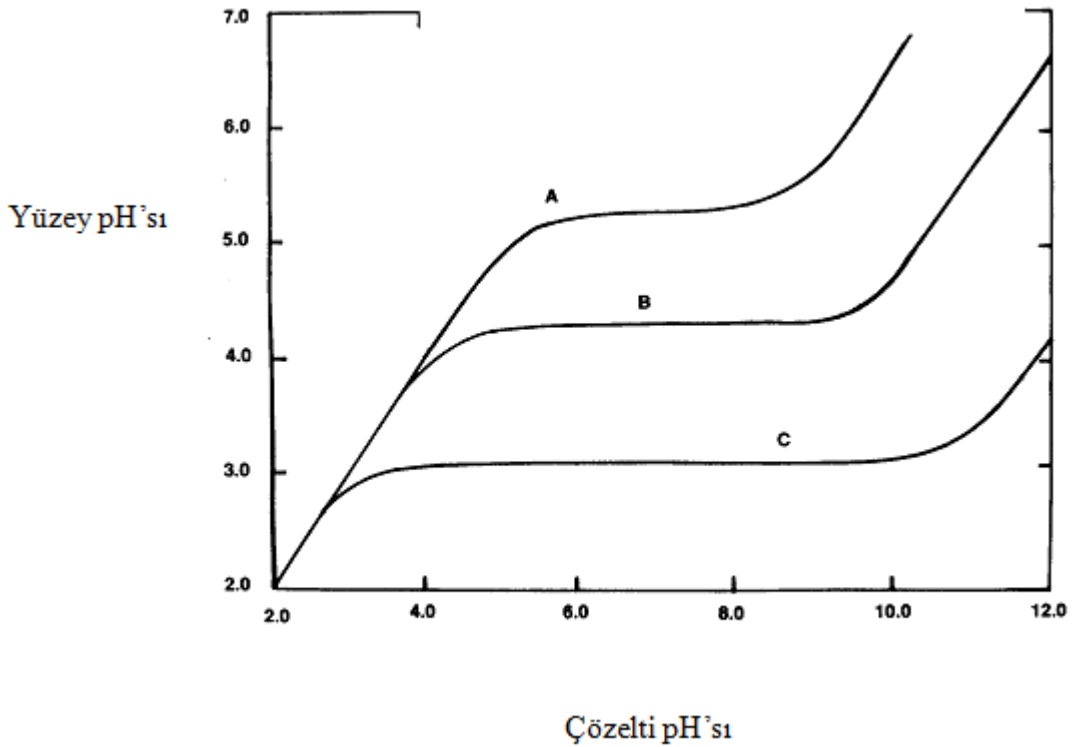
2.1.4. Tamponlama Kapasitesinin Çözünürlük/Çözünmeye Etkisi

Tamponlama kapasitesi ilacın yüzey pH'sını belirleyen önemli bir etkidir (13). Bazal mide asit salgısı ve pankreatik bikarbonat salgısı mide bağırsak sisteminin tamponlama kapasitesini oluşturur. İnsan midesinde yaklaşık bir milyon parietal hücre bulunmaktadır. Bu hücreler yaklaşık 160 mEq/L konsantrasyonda HCl asit üretirler, açlık durumunda mide asit salgısı 2-4 mmol/h'dir. Pankreasın ekzokrin salgıları yüksek hacimde bikarbonat iyonları ve düşük hacimde sindirim enzimleri içerir. Duedonuma günlük salgılanan pankreatik sıvı içerisinde 0.2 ile 0.8 L arasında alkaliner yer almaktadır (16).

Yüksek tamponlama kapasitesi olan gıda ve sıvıların alımı ile iyonize olabilen ilaçların midedeki çözünme hızı değişebilmektedir. İnce bağırsakta ise tamponlama kapasitesi özellikle pankreatik sıvı gibi salgıların sekresyonu ile düzenlenmektedir. İnce bağırsaktaki pH artışı, ilacın çözünürlüğünü ve zayıf asidik ilaçların çözünme hızını artıracaktır. Çünkü ilacın yüzeyindeki pH lümende yer alan çözücü hacminin pH'sına yakın bir pH'ya sahip olacaktır. Sistik fibroz gibi patofizyolojik bir durumda pankreatik salgı önemli ölçüde azalır. Bu nedenle normal bir mide bağırsak sistemine sahip bir insana göre bu hastaların ince bağırsak pH'sı ve tamponlama kapasitesi daha düşüktür. İnce bağırsakta önemli ölçüde bikarbonat tamponunun varlığı göz önünde bulundurulduğunda, in vitro çözünme testlerinde tamponlanmamış veya az tamponlanmış ortamların kullanılması, iyonize olabilen ilaçların in vivo davranışlarının in vitro testler ile yansıtmasını güçleştirir (11).

İyonize olabilen ilaçların çözünmesini belirlemede çözünme yüzeyi ile temas halindeki difüzyon tabakasının pH'sı büyük önem taşımaktadır. Difüzyon tabakasının pH'sını belirleyen etkenlerin başında tamponlama kapasitesi gelmektedir. Zayıf asidik ve bazik ilaçlar için diğer önemli bir nokta çözünme tabakasındaki pH'dır. Bu pH değeri çözeltinin tamponlama kapasitesi ve etkin maddenin çözünürlük ve pK_a değerine bağlı olarak çözeltinin pH'sından çok az farklı olabilir (4,32).

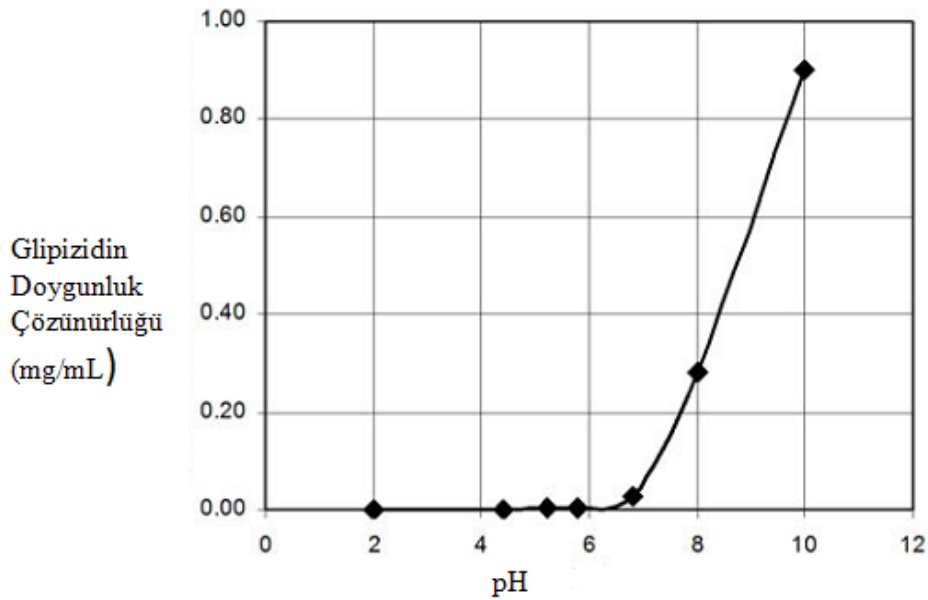
Öztürk ve diğ. 1987 yılında yaptıkları çalışmada tamponlanmamış çözünme ortamında 3 farklı zayıf asit ile (indometazin, 2-naftoik asit, benzoik asit) yaptıkları araştırmada ilaç yüzeyindeki pH ile çözelti pH'sı arasındaki ilişkiyi göstermiştir. Çözelti pH'sının ilacın pK_a 'sından düşük olmaması koşulu ile yüzey pH'sının çözelti pH'sından daha düşük olduğu tahmin edilmiştir (32). Çözelti pH'sının ilacın pK_a değerinden büyük olması durumunda bir plato oluşur, burada yüzey pH'sı çözelti pH'sına göre ilaçtan daha çok etkilenmemektedir. Yüzey pH'sı çözelti pH'sı ile orantılı olarak yükselir ancak her zaman çözelti pH'sından daha düşüktür. Şekil 2.5'de yüzey pH'sı ile çözelti pH'sı arasındaki ilişki bu üç zayıf asidik ilaç için gösterilmiştir.



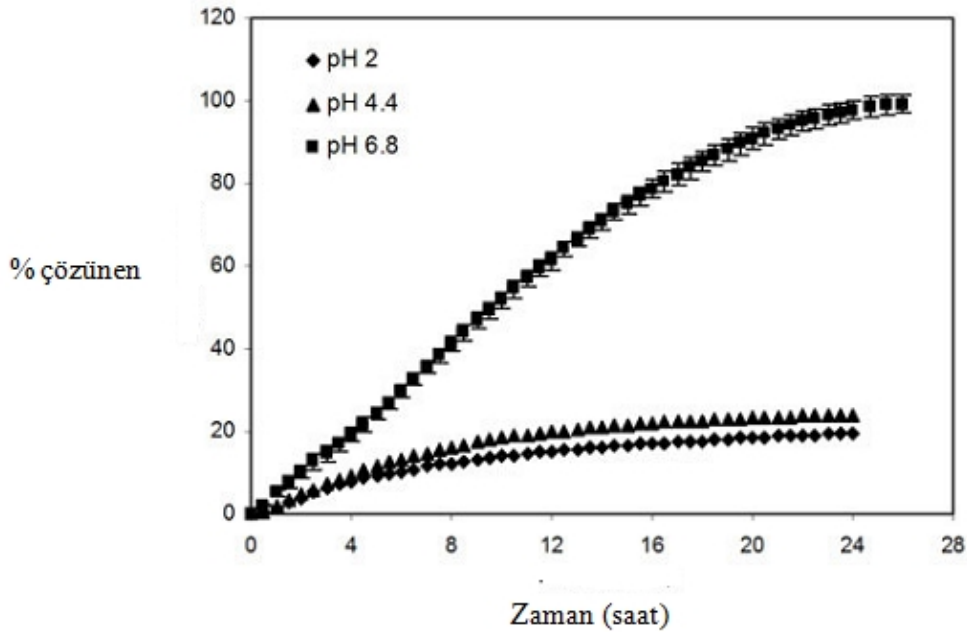
Şekil 2.5. Tamponlanmamış ortamda üç farklı zayıf asidin yüzey pH'sı ile çözelti pH'sı arasındaki ilişki (A: İndometazin, B: Naftoik asit, C: Benzoik asit) (32).

Çözünmekte olan bir asitin yüzey pH'sını çözelti pH'sından daha düşük bir değere baskılama yeteneğinin, ilacın pK_a ve çözünürlüğüne bağlı olabileceği belirtilmiştir. Yüzey pH'sı ve çözelti pH'sındaki değişikliklerin doğrudan bu ilaçların çözünme hızını etkilediği gösterilmiştir (32).

Yapılan bir çalışmada zayıf asidik bir yapıya sahip olan glipizidin ($pK_a=5.9$) çözünürlüğü araştırılmış, çözünürlüğün pH'ya bağımlı olduğu gösterilmiştir. Çözünürlük, glipizidin pK_a değerinden daha yüksek pH'lara gelindiğinde beklenildiği üzere belirgin bir şekilde artmaktadır. Kontrollü salım sağlayan 10 mg dozda glipizid içeren formülasyonun farklı pH'lardaki çözünmesi incelendiğinde pH'ya bağlı bir artış söz konusudur. Glipizidin pK_a değerinin altındaki pH değerlerinde çözünürlüğün az olması nedeniyle çözünme yeterli düzeye ulaşamamıştır. Şekil 2.6 ve Şekil 2.7'de pH'nın glipizidin çözünürlük ve çözünme hızına etkisi verilmiştir (6).



Şekil 2.6. Glipizidin pH çözünürlük profili (6).



Şekil 2.7. Glipizidin çözünme hızı profili (10 mg, 75 rpm) (6).

2.1.5. Yüzeysel Etkin Maddelerin Çözünürlük/Çözünmeye Etkisi

Yüzeysel etkin maddeler, çözünürlük ve çözünme hızını artırarak ilacın biyoyararlanımının artmasına yardımcı olan bileşiklerdir. Bu maddeler ;

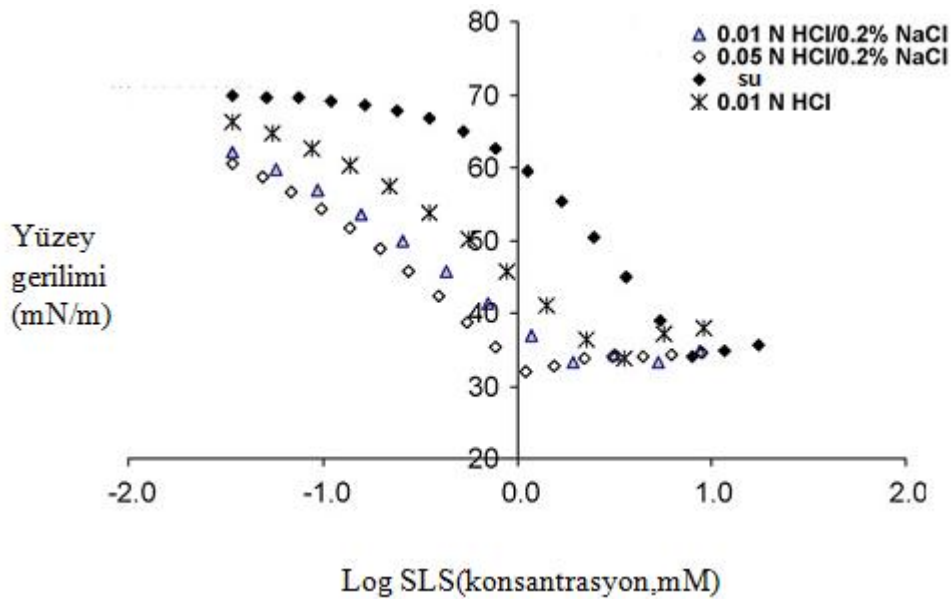
- Çözünme ortamı ile katı ilaç arasındaki yüzeysel enerji gerilimini düşürerek (ıslanabilirliğini artırarak) ve yüzeysel alanı artırarak,
- Miseller çözünürlükten gelen katkıya bağlı olarak çözünürlüğü artırarak çözünme hızında artışa neden olurlar.

İn vivo çözünmenin gerçekleştiği gastrik sıvılarının yüzeysel gerilimi, suyun yüzeysel geriliminden daha düşüktür. Bunun nedeni bu bölgede yer alan yüzeysel etkin maddelerdir (4). Mide bağırsak sisteminde yer alan bu doğal yüzeysel etkin maddeler ile ilacın lümen sıvısı ile ıslanabilirliği artar, böylece lümen sıvısının partiküller arasına ve porlara penetrasyonunun artması ile çözünme artar (11).

Midenin açlık koşullarında yüzeysel gerilimi 35-45 mN/m'dir (33). Pedersen ve diğ.'nin 6 sağlıklı gönüllüde yaptıkları çalışmada ise bu değer 28-42 mN/m olarak saptanmıştır (34). Mide sıvılarının düşük yüzeysel geriliminin yalnızca safra tuzlarından

ileri gelmediği yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (35). Düşük yüzey gerilimi midede bulunan pepsinlerin yüzey etkin özelliklerinden de kaynaklanmaktadır. Pepsin için en düşük yüzey gerilimi ~ 57 mN/m olarak bulunmuştur (36,37). Midede pepsinlerden başka yüzey etkin maddelerin varlığına da dikkat çekilmekte olup bunlar tam olarak tanımlanamamıştır (33).

İlacın safra tuzu miselleri ile çözünmesi ilacın difüzyon katsayısının düşmesinin bir sonucudur. Genellikle artmış ıslanabilirlik kritik misel konsantrasyonunun altındaki safra tuzu konsantrasyonunda etkilidir. Ancak çözünürlüğün artması kritik misel konsantrasyonunun üstünde daha baskındır (16). Yüzey geriliminin çözünme üzerine etkisi hidrofobik ilaçlarda daha belirgindir. Hidrofobik bir ilacın ıslanabilirliğini belirlemede sıvı katı yüzeyi arasındaki temas açısının ve ilacın yapısının etkisi vardır (11). Higroskopik ilaçların değme açısının büyüklüğüne bağlı olarak artan yüzeyler arası gerilimleri nedeniyle ilaç partikülleri sıvının etkisi ile agregatlar oluşturur. Yüzey alanı azalır ve serbest yüzey enerjisi en düşük düzeye gelir, sonuç olarak da etkin yüzey alanı düşer ve çözünme hızı azalır. Yüzey etkin maddeler bu temas açısını küçülterek sıvı ortamın ilaç partiküllerini ıslatmasını kolaylaştırır. Bu olay yüzeydeki hava fazının sıvı fazla yer değiştirmesine neden olur. Başka bir ifade ile etkin yüzey alanı artar ve sonuç olarak çözünme artar (33).



Şekil 2.8. Log SLS konsantrasyonuna karşı yüzey gerilimini değişimi (33).

İnce bağırsak sıvısı içerisinde ise safra tuzları az çözünür ilaçların çözünürlüğünü artırır, safra tuzlarının çözünürlük üzerine etkisi oldukça fazla araştırılmıştır. Bu amaçla griseofulvin, danazol, digoxin, diazepam, halofantrin ve gemfibrozil gibi birçok ilaca yönelik çalışmalar yapılmıştır. Safra tuzu miselleri safra asiti ve fosfolipitleri içeren misellerdir (13). Açlık koşullarında safra tuzu konsantrasyonu ince bağırsağın proksimal kısmında 3-5 mM arasında olup duodenum ve jejunumda benzer konsantrasyondadır (19,24,38). Gıda alımıyla birlikte ince bağırsaktaki safra tuzu konsantrasyonu 30 dakika içinde en yüksek düzeye ulaşır (ortalama safra tuzu konsantrasyonu duodenumda; 14.5 ± 9.4 , üst jejunumda; 16.3 ± 1.5) (4). Mide bağırsak sisteminde safra tuzları ve lesitinin fizyolojik olarak varlığı ıslanabilirliği ve lipofilik maddelerin çözünürlüğünü artırmaktadır (35,39,40). İn vivo ortamı taklit eden sıvı ortamlarda benzer yüzey gerilimi elde etmek için doğal safra tuzu bileşiklerinin karşılığı olarak in vitro deneylerde kullanılacak birçok yüzey etkin madde bulunmaktadır (41).

Amidon ve Löbenberg yaptıkları bir çalışmada, farklı yüzey etkin madde misellerinin ve emülsiyon sistemlerinin griseofulvinin çözünürlük ve çözünmesine etkisini incelemiştir (41). Tablo 2.3'de yüzey etkin maddelerin ortama eklenmesi ile çözünürlüğün sudaki çözünürlüğe göre 150 kat arttığı gösterilmiştir. En yüksek çözünürlük artışı % 2 sodyum lauril sülfat (SLS) içeren ortamda gözlemlenmiştir. Çözünürlük dodesiltrimetilamonyum bromür ve tween 20 (polioksietilensorbitan monolaurat) ile sırasıyla 42 ve 7 kat artmıştır. Miseller sistem ve safra tuzları ile çözünmesi ise sırasıyla 40 ve 5 kat artmıştır. Çözünürlükteki 150 kat artışa rağmen çözünme hızında meydana gelen 50 katlık artışın nedeni miseller sistemin difüzlenebilirlik katsayısının düşmesidir (42). Bunun nedeni de misellerin büyüklüğüdür. Daha büyük çapa sahip miseller çözülmüş molekül ile karşılaştırıldığında difüzyonlarının yavaş olması beklenir. Yüksek yüzey etkin madde konsantrasyonlarında misel içinde çözünen maddenin ve misellerin difüzyonu misel büyüklüğü nedeniyle daha yavaştır. Bu nedenle misel içindeki ilacın çözünürlüğünün azalması difüzyon katsayısının düşmesinin bir sonucudur (41).

Tablo 2.3. Griseofulvinin 500 mg dozunun farklı ortamlarda hesaplanan çözünürlük ve çözünme ile ilgili parametreleri (41).

Ortam içeriği	C_s	σ	V	Do	Dn
Su	0.015	1	33333	133	0.23
Misel sistemler					
% 2 SLS	2.205	150	227	0.9	7.62
% 2 DTAB	0.629	42	795	3.17	3.31
% 2 TW 20	0.11	7	4545	18.2	0.52
Emülsiyon sistemler					
% 2 TW 20 (% 10)	0.222	15	2252	8.25	0.42
% 2 TW 20 (% 20)	0.286	19	1746	7.58	0.28
% 2 TW 20 (% 30)	0.345	23	1449	5.99	0.26
Safra tuzları					
% 2.15 NaTC (40 mM)	0.064	4.2	7874	22.5	0.54
% 1.72 NaC (40 mM)	0.064	4.2	7874	22.7	0.51
% 1.72 NaC (40 mM) ^b	0.049	3.3	10183	34.9	0.36
PC/NaC (MR,0.7) ^c	0.253	17	1976	7.64	0.32

C_s , doyunluk çözünürlüğü 37 °C, σ , çözünürlük artışı

V, 500 mg griseofulvinin çözünmesi için gereken hacim

Do, doz sayısı; Dn,çözünme sayısı

NaTC, sodyum taurokolat; NaC, sodyum kolat

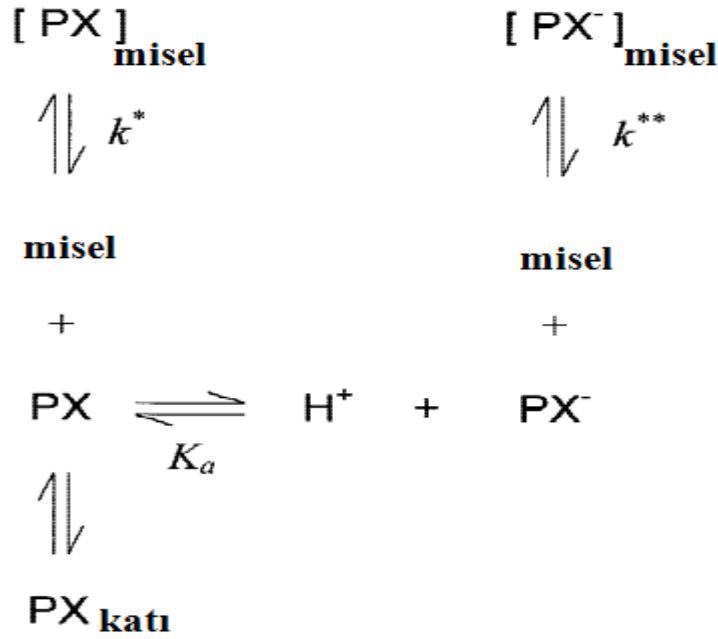
^b 0,15M sodyum kolat içerir; ^c PC, fosfatidil kolin ; NaC konsantrasyonu,40 mM.

SLS, sodyum lauril sülfat; DTAB, dodesil trimetil amonyum bromür; TW 20, polioksietilensorbitan monolaurat

2.1.6 Zayıf Asidik Yapıdaki İlaçların Çözünürlüğüne pH İle Birlikte Yüzey Etkin Madde Etkisinin Birlikte İncelenmesi

Sınıf II ilaçlar oral yol ile uygulandığında absorpsiyolarında hız kısıtlayıcı basamak in vivo çözümleridir. BSS’de biyodeşdeğerlikten vazgeçme kriterlerinin çözünme yönünden sınıf II ilaçlar için genişletilebilmesi oldukça önemlidir. Suda çözünmeyen birçok ilaç membran geçirgenliği yüksek olan Sınıf II ilaçlardır. Bu ilaçlar için in vivo çözünme in vitro olarak tahmin edilebilirse, in vivo- in vitro korelasyon kurabilmek mümkündür. Bu nedenle sınıf II ilaçlar için in vivo çözünme yöntemlerini tahmin edecek in vitro çözünme yöntemleri tasarlanmaktadır. Ancak deneysel yöntemler in vivo olarak meydana gelen olayları tasarlamada ve valide etmede zorlanmaktadır. Sınıf II ilaçların bağırsaktan absorbe olmalarında çözünürlük hız sınırlayıcı bir etken (43) olduğundan absorpsiyon bölgesindeki çözünürlüğün ölçülmesi oldukça önemlidir. Bu bölgede ilacın çözünürlüğü, pH değişimi ve yüzey etkin maddelerden etkilenmektedir. Az çözünen ilaçları içeren formülasyonların in vitro çözünme testlerinde ortama sodyum lauril sülfat veya herhangi bir yüzey etkin madde ilavesi ile in vivo çözünme ve in vivo sink koşullar taklit edilmiş olur. Örneğin Amerikan Farmakopesi USP’de medroksiprogesterone asetat tablet, danazol kapsül, karbamazepine tablet ve flutamid tablet için önerilen çözünme ortamları sırasıyla % 0.5, % 0.75, % 1, % 2 SLS içermektedir (44). Ancak çözünme ortamlarında yüzey etkin madde içeren bu ortamlar bitmiş ürünün kalite kontrolü için yeterli olsa da ilacın in vivo çözünmesini tahmin etmede yeterli olduğu konusu tartışmalıdır (43). İn vivo çözünmenin tahmin edilmesinde kullanılacak en iyi yöntemlerden biri de pH ve yüzey etkin madde etkisinin birlikte incelenmesidir (41).

jinno ve diğ. (45) yaptığı çalışmada yüzey etkin madde ve pH’nın çözünürlüğe etkisinin kombine edildiği denge çözünürlük modeli Şekil 2.9 ile gösterilmiştir. Yüzey etkin madde ve pH’nın, suda çözünmeyen ve iyonize olabilen bir etken madde olan piroksikamın ($pK_{a1}=1.86$, $pK_{a2}=5.46$) çözünürlük ve çözünme hızına birlikte etkisi incelenmiştir. Piroksikamın, pH ve yüzey etkin maddenin birlikte etkisi ile, çözünürlük ve intrinsik çözünme hızı artmaktadır (45).



Şekil 2.9. Piroksikamın yüzey etkin madde içeren çözeltideki denge çözünürlük şeması (45).

Şekil 2.9'da piroksikama ilişkin bir iyonizasyon dengesi ve iki adet çözünürlük dengesi yer almaktadır. PX^- , $[PX]_{\text{miseller}}$, $[PX^-]_{\text{miseller}}$ sırasıyla iyonize ilaç, misel içindeki noniyonize ilaç, misel içindeki iyonize olmuş ilacı temsil etmektedir. K_a denge iyonizasyon sabiti; $[H^+]$, hidrojen iyonu konsantrasyonu; $c_{(PX^-)}$ ve c_{PX} sırasıyla iyonize ve iyonize olmayan ilaç konsantrasyonu; k^* ve k^{**} sırasıyla noniyonize ve iyonize kısımların miseller çözünürlük denge sabitleridir. C_m , yüzey etkin madde/misel konsantrasyonudur, $[c_m = c_{yem} - cmc, c_{yem}$: Yüzey etkin madde konsantrasyonu, cmc : Kritik misel konsantrasyonu (46)].

$$K_a = \frac{c_{(PX^-)}[H^+]}{c_{PX}} \quad (2.13)$$

$$k^* = \frac{c_{[PX]_{\text{misel}}}}{\{(c_{PX})(c_m)\}} \quad (2.14)$$

$$k^{**} = \frac{c_{[PX^-]_{\text{misel}}}}{\{(c_{PX^-})(c_m)\}} \quad (2.15)$$

$$c_m = c_{yem} - cmc \quad (2.16)$$

Zayıf asidik bir ilacın yüzey etkin madde içeren ortamdaki toplam çözünürlüğü, her bir kısmın çözünürlükleri toplamına eşittir (Eşitlik 2.17 ve 2.18);

$$c_{toplam} = c_{PX} + c_{PX^-} + c_{[PX]_{misel}} + c_{[PX^-]_{misel}} \quad (2.17)$$

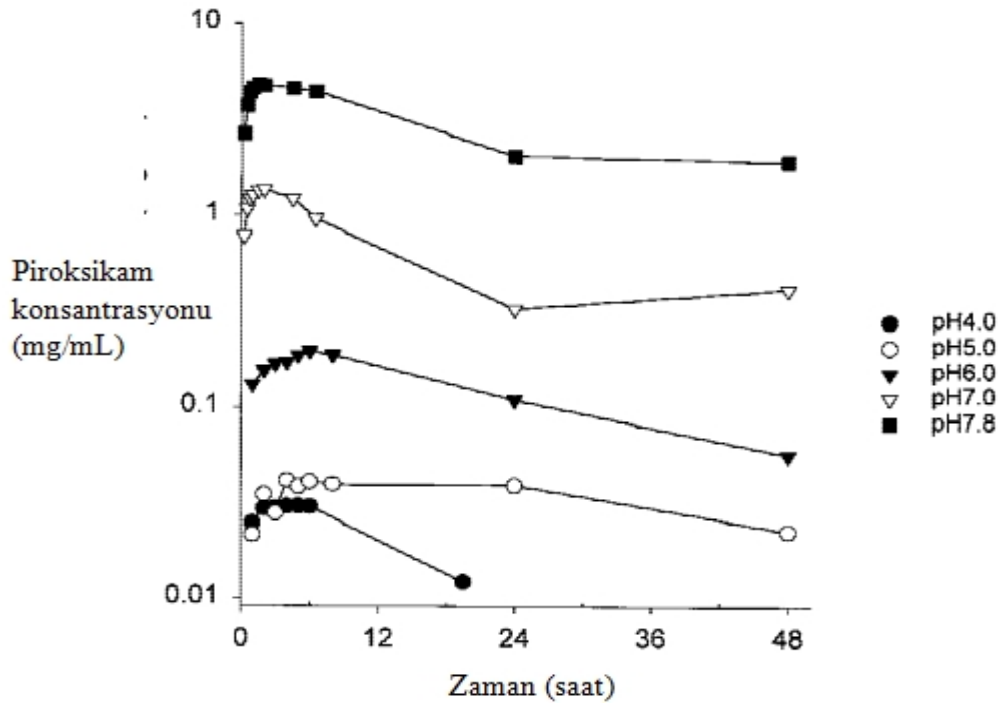
$$c_{toplam} = \left\{ 1 + \frac{K_a}{[H^+]} + (k^* + k^{**} + \frac{K_a}{[H^+]}) c_m \right\} c_{PX} \quad (2.18)$$

Burada c_{PX} değeri ilacın intrinsik çözünürlüğü olup sistemde aşırı katı halde etken maddenin olması nedeniyle deney süresince sabit bir değerdir. Eşitlik 2.18 Eşitlik 2.20'ye dönüştürüldüğünde elde edilen C_{SP} değeri (c_{total}/c_{PX}) birimsiz bir değer olup çözünürlük gücünün büyüklüğünü gösteren bir değerdir. Buradan ilacın toplam çözünürlüğünün pH ve yüzey etkin madde değişimi ile nasıl değiştiği açıkça ortaya çıkmaktadır (9).

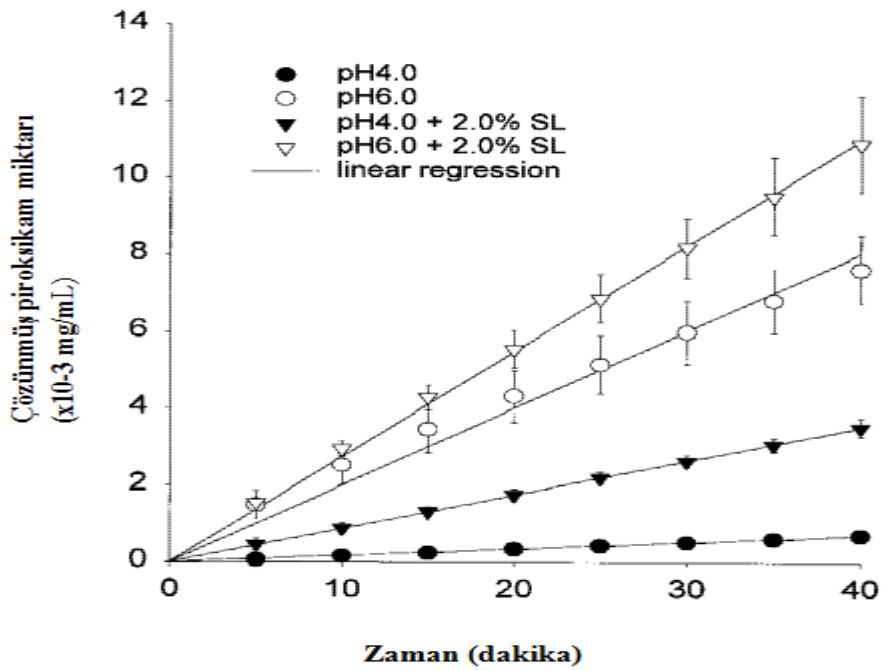
$$C_{SP} = \frac{c_{toplam}}{c_{PX}} = (1 + k^* c_m) + \frac{K_a}{[H^+]} (1 + k^{**} c_m) \quad (2.19)$$

$$C_{SP} = \frac{c_{toplam}}{c_{PX}} = \left(1 + \frac{K_a}{[H^+]} \right) + \left(k^* + k^{**} \frac{K_a}{[H^+]} \right) c_m \quad (2.20)$$

Bu eşitlikler serbest çözünmüş kısım ve miseller çözünmüş kısım olmak üzere iki kısımdan oluşmakta, non-iyonize ilaç kısmı $(1 + k^* c_m)$ ve iyonize ilaç kısmı $(1 + k^{**} c_m)(K_a/[H^+])$ ile temsil edilmektedir. İyonize ilaç şeklinin pH'dan daha çok etkilendiği Eşitlik 2.19'dan açıkça görülmektedir. Zayıf asidik yapıdaki iyonize olabilen ilacın toplam çözünürlüğü $[H^+]$ konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Artan c_m , toplam çözünürlüğe etki etmektedir. Eşitlik 2.19'de de görüldüğü gibi c_m ile toplam çözünürlük arasında doğrusal bir ilişki söz konusudur (9). Jinno ve diğ.'nin (45) yaptığı araştırmada, artan pH'larda zayıf asidik bileşiğin çözünürlüğünün ve buna paralel olarak da çözünmesinin arttığı Şekil 2.10 ve Şekil 2.11'de gösterilmiştir.



Şekil 2.10. Piroksikamın çözünürlük-zaman profili (45).



Şekil 2.11. Piroksikamın çözünme eğrileri (50 rpm) (45).

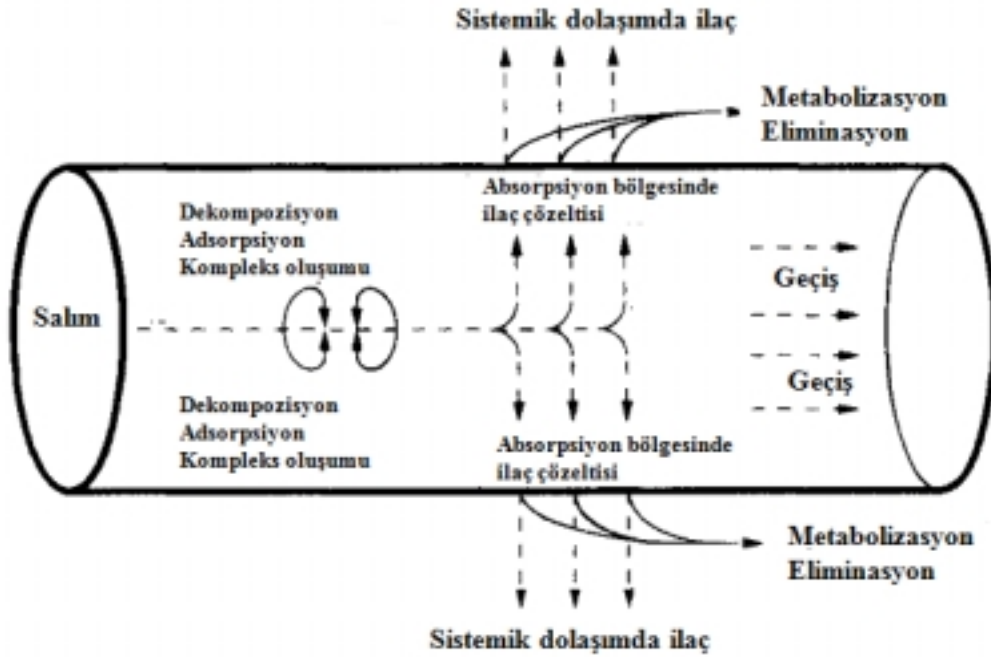
Yüzey etkin madde ve pH'nın ilacın çözünürlük ve çözünmesi üzerine etkisini inceleyen birçok çalışmada pH ve yüzey etkin madde veya safra tuzlarının çözünürlük ve in vitro çözünmeyi artırdığı gösterilmiştir. Tablo 2.4'de pH ve yüzey etkin maddenin etkisinin incelendiği zayıf asidik yapıdaki etkin maddelere örnekler verilmiştir.

Tablo 2.4. Yüzey etkin madde ve pH etkisinin çözünürlük ve çözünme hızına etkisinin incelendiği çalışmalar.

Etkin Madde	pH Etkisi	Yüzey etkin madde /safra tuzu Etkisi	pK_a	Referans
Piroksikam	Çözünürlük	Çözünürlük	1.86, 5.46	(45)
	Çözünme hızı	Çözünme hızı		
Glibenklamid	Çözünme hızı	Çözünme hızı	5.3	(47)
Ketoprofen	Çözünürlük	Çözünürlük	4.6	(9)
	Çözünme hızı	Çözünme hızı		
Mefenamik asit	Çözünürlük	Çözünürlük	4.2	(48,49)
İbuprofen	Çözünürlük	Çözünürlük	4.4	(33)
	Çözünme hızı	Çözünme hızı		
Glipizid	Çözünürlük	-	5.9	(6)

2.2. Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi

Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BSS), etkin maddeleri çözünürlük ve mide bağırsak sistemi mukozasından penetrasyon (permeabilite) özelliklerine göre sınıflandıran bilimsel bir yaklaşımdır (50). Bir ilacın oral biyoyararlanımında etkin maddesinin çözünürlüğü ve geçirgenliği kritik parametrelerdir. Herhangi bir dozaj şeklinden etkin maddenin absorpsiyon hız ve derecesi o ilacın biyoyararlanımını ifade etmektedir (51). Katı bir dozaj şeklinin oral uygulamasından sonra ilaç absorpsiyonundaki basamaklar Şekil 2.12’de gösterilmektedir (4) .



Şekil 2.12. Oral yol ile uygulanan katı dozaj şeklinden etkin maddenin absorpsiyon süreci (4).

Oral yol ile uygulanan katı dozaj şekillerinden etkin maddelerin absorpsiyon hızı ve derecesini sınırlayan etkenler aşağıdaki gibi açıklanabilir (4):

- İlacın absorpsiyon bölgesine ulaşmadan önce farmasötik dozaj şekliinden salınmaması,
- İlacın mide bağırsak kanalında bozunması veya absorplanamayan kompleksler haline dönüşmesi,
- İlacın etkin bir şekilde bağırsak duvarında apikalden bazal yöne taşınmaması,
- İlacın sistemik dolaşıma girerken metabolizasyona ve eliminasyona uğraması.

Yukarıda belirtilen olası durumlar Şekil 2.12’de gösterilmektedir. İlacın absorpsiyonunu kısıtlayan faktörlerden ikisi BSS kapsamında incelenebilir, yukarıda açıklandığı gibi bu etkenden biri etkin maddenin çözünürlüğü, ikincisi etken ise etkin maddenin permeabilitesidir. BSS’e göre sınıflandırma yapılırken hemen salım sağlayan oral katı dozaj şekillerinden etkin maddenin kana geçiş hız ve derecesini belirleyen üç etken (50);

- Etkin maddenin çözünürlüğü
- Etkin maddenin mide bağırsak sistemi mukozasındaki permeabilitesi
- Farmasötik dozaj şekliinden etkin maddenin in vitro çözünmesidir.

Etkin maddenin bu özelliklerine göre BSS’e göre etkin maddeler Tablo 2.5’deki gibi sınıflandırılır.

Tablo 2.5. Biyofarmasötik İlaç Sınıflandırma Sistemi (50).

SINIF I	Yüksek Çözünürlük	Yüksek Geçirgenlik
SINIF II	Düşük Çözünürlük	Yüksek Geçirgenlik
SINIF III	Yüksek Çözünürlük	Düşük Geçirgenlik
SINIF IV	Düşük Çözünürlük	Düşük Geçirgenlik

BSS'e göre yüksek çözünürlük ve yüksek permeabilite özelliğine sahip ilaç etkin maddelerinin hemen salım sağlayan dozaj şekilleri, hızlı in vitro çözümlerinin uygun test yöntemleri ile gösterilmesiyle, in vivo çalışmalardan muaf tutulabilir. BSS'e göre çözünürlük, permeabilite ve in vitro çözünme ölçütlerinin değerlendirilmesi aşağıda belirtilmiştir (50).

2.2.1. Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi Ölçütleri

2.2.1.1. Etkin Maddenin Çözünürlüğü Yönünden Sınıflandırması

BSS, bir etkin maddenin pH-çözünürlük profilinin 37 ± 1 °C'de pH 1-7.5 (fizyolojik pH) aralığında incelenmesini önermektedir. Ancak uygun pH aralığında, pH-çözünürlük profili doğru bir şekilde değerlendirilebilir. Uygun pH aralığı ise etkin maddenin iyonizasyon özelliklerine göre belirlenmektedir. Örneğin bir ilacın pK_a 'sı 3-5 arasında bir değer ise çözünürlüğünün $pH=pK_a$, $pH=pK_a+1$, $pH=pK_a-1$, $pH=1$, $pH=7.5$ 'de ölçülmesi önerilmektedir. Her bir pH için en az 3 tekrar yapılmalıdır. Çalışmanın varyasyonuna bağlı olarak bu sayı artırılabilir. Kullanılabilecek standart tampon çözeltileri USP'de belirtilmiştir. Ancak kimyasal veya fiziksel nedenlerle bu tamponlar uygun olmadığı takdirde diğer tampon çözeltileri de kullanılabilir. Geleneksel bir yöntem olan yatay çalkalayıcıların yanı sıra asit baz titrasyon modelleri etkin maddenin çözünürlüğünün doğruluğunu belirlemede kullanılabilir. Çözünürlük sınıfı, en yüksek dozun çözünebildiği hacmin hesaplanması ile belirlenir. BSS'de yüksek çözünürlük ölçütü, etkin maddenin en yüksek dozunun 250 mL veya daha az hacimdeki pH'sı 1-7.5 aralığında olan tampon çözeltilerde çözünebilir olmasıdır. (50).

2.2.1.2. Etkin Maddenin Geçirgenliği Yönünden Sınıflandırması

Permeabilite çalışmaları ile ilacın mide bağırsak sistemindeki absorpsiyon bölgesinin belirlenmesinin yanında, ilacın bağırsak duvarından geçiş etkinliği de tayin edilmektedir (4).

Bir etkin maddenin geçirgenlik derecesinin belirlenmesinde doğrudan ve dolaylı ölçüm yöntemleri kullanılır. Geçirgenlik tayini insanlarda mutlak biyoyararlanım çalışmaları veya kütle denge çalışmaları ile absorbe olan etkin madde

miktarının belirlenmesi veya bağırsak perfüzyon çalışmaları (insan veya hayvanlarda in vitro epitelyal hücre kültürü modeli ve in situ sıçan perfüzyon modeli) ile yapılmaktadır (50).

2.2.1.2.1. İnsanlardaki Farmakokinetik Çalışmalar

2.2.1.2.1.1. Kütle Denge Çalışmaları

Farmakokinetik kütle denge çalışmalarında işaretlenmemiş kararlı izotoplar veya radyoaktif olarak işaretlenmiş etkin maddeler ilacın absorpsiyon derecesini belirlemek için kullanılır. Değişkenliğin yüksek olması nedeni ile uygun sayıda gönüllü ile gerçekleştirilmelidir. Değişkenliğin yüksek olmasına bağlı olarak alternatif yöntemlerin kullanılması önerilmektedir (50).

2.2.1.2.1.2. Mutlak Biyoyararlanım Çalışmaları

İlacın oral biyoyararlanımı belirlemede etkin maddenin intravenöz yoldan uygulanan dozaj şekli referans olarak kullanılır. Bu yöntemde de değişkenliğin yüksek olması durumunda çalışma uygun sayıda gönüllü ile gerçekleştirilmelidir. Etkin maddenin mutlak biyoyararlanımının % 90 veya daha fazla olduğunun gösterildiği durumlarda etkin maddenin mide bağırsak kanalı sıvılarında dayanıklı olduğunu göstermek için ek çalışmalara gereksinim duyulmamaktadır (50).

2.2.1.2.2. Bağırsak Geçirgenlik Çalışmaları

Bu yöntemde etkin maddenin mide bağırsak sisteminden geçirgenliğini tayin etmek için aşağıda önerilen yöntemler kullanılmaktadır (50):

- İnsanda in vivo perfüzyon çalışmaları
- Hayvanlarda in vivo veya in situ bağırsak perfüzyon çalışmaları
- İnsan veya hayvanlardan alınmış bağırsak dokuları kullanılarak in vitro permeasyon çalışmaları
- Epitel kültür hücrelerinin tekli tabakasında in vitro permeasyon çalışmaları.

2.2.1.2.3. Mide Bağırsak Sisteminde Dayanıksızlık

İdrar üzerinden toplam radyoaktivite değerleri kullanılarak yapılan kütle denge çalışmaları, etkin maddenin bağırsak geçirgenliği öncesinde karşılaştığı parçalanmanın etkisini dikkate almamaktadır. Buna ek olarak insan veya hayvan mide bağırsak kanalından ve in vivo veya in situ olarak etkin madde kaybı geçirgenlik tayininde kullanılabilir. Etkin maddenin mide bağırsak kanalındaki stabilitesi mide bağırsak sıvılarında ölçülebilir. Etkin maddenin bu sıvılardaki çözeltisi 37 °C'de inkübasyona bırakılır, 1 saat mide sıvısı, 3 saat bağırsak sıvısı içinde bekletilen ilacın % 5'den fazla parçalanması halinde etkin maddenin dayanıksız olduğu sonucuna varılır (50).

2.2.1.3. Farmasötik Dozaj Şeklinden Etkin Maddenin İn Vitro Çözünmesi

Hemen salım sağlayan dozaj şeklinin hızlı çözünen olarak tanımlanabilmesi için etiketinde belirtilen miktarın % 85'inden fazlasının, 900 mL veya daha az hacimde USP aparey I (basket/100 rpm) veya USP aparey II (pedal/50 rpm) yöntemlerinin kullanılmasıyla, 30 dakika içinde çözülmüş olması gerekmektedir. Çözünme ortamları olarak 0.1 N HCL veya enzimsiz simüle edilmiş mide sıvısı, pH 4.5 tamponu, pH 6.8 tamponu veya enzimsiz simüle edilmiş bağırsak sıvısı belirlenmiştir. USP aparey I genellikle kapsül ve batmayan ürünler için, USP aparey II ise daha çok tabletler için tercih edilmektedir. Bazı tablet dozaj şekillerinde dağılan tabletin çözünme kabının dibine çökmesi nedeniyle çözünme yavaş gerçekleşmektedir. Bu gibi durumlarda aparey II yerine aparey I tercih edilebilir. İn vivo çözünmenin daha iyi yansıtılabilmesi için test koşulları uygun şekilde değiştirilebilir (örn: dönme hızı) (50). Çözünme ortamlarında sink koşullarının sağlanması önemli bir noktadır. Sink koşulunun sağlanması için çözünme ortamındaki ilaç konsantrasyonu, doygunluk çözünürlüğündeki miktarın % 15 - % 20'sini aşmamalıdır.(4).

İn vitro çözünme profili karşılaştırma yöntemleri gerek formülasyon geliştirme, gerekse kalite kontrol sürecinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Referans ve test ilacın çözünme profilleri yaygın olarak model bağımsız yöntemlerden olan benzerlik faktörü (f_2) ile karşılaştırılmaktadır. Benzerlik faktörü iki ilacın % çözünme eğrileri arasındaki benzerliği göstermektedir.

$$f_2 = 50 \cdot \log\left\{1 + \left(\frac{1}{n}\right) \sum_1^n (R_t - T_t)^2\right\}^{-0.5} \cdot 100\} \quad (2.21)$$

Benzerlik faktörü $f_2 \geq 50$ olduğu durumlarda iki çözünme profili benzerdir. Ortalama verilerin kullanılabilmesi için erken zaman noktalarında (örn: 10. dakika) varyasyon katsayısı % 20'den, diğer zaman noktalarında ise % 10'dan yüksek olmamalıdır. Test ve referans ürünün en az % 85'nin 15 dakikadan daha önce çözünmesi durumunda çözünme profillerinin f_2 testi ile karşılaştırılması gerekmez, çözünme sonuçları benzer kabul edilir (50). Biyoeşdeğerlik çalışmalarından vazgeçme çalışmalarında en az 12 birim dozaj şekli ile çalışılması önerilmektedir. Ayrıca çözünme profilini en iyi şekilde yansıtabilecek sayıda ve aralıklarla örnek alınması da diğer önemli bir noktadır.

2.2.2. İlaç Absorpsiyonu ve BSS

Fick'in Birinci Yasasına göre mukozal yüzeyden absorpsiyon Eşitlik 2.22'deki gibidir.

$$j_w = P_w X C_w = \frac{dM}{dt} X \frac{1}{A} \quad (2.22)$$

j_w : Bağırsak duvarından kütle transportu

P_w : Efektif permeabilite

$\frac{dM}{dt}$: Zamanın fonksiyonu olarak kütle transportu

C_w : Membran yüzeyindeki ilaç konsantrasyonu

A: Yüzey alanı

Eşitlik 2.22'de permeabilite ve çözünürlüğün kütle transportu için ana değişkenler olduğu görülmektedir (41). BSS ile etkin maddeyi karakterize ederken doz sayısı (dose number, Do), çözünme sayısı (dissolution number, Dn), absorpsiyon sayısı (absorption number, An) gibi kavramlardan yararlanılmaktadır. Bunlar mide bağırsak kanalından ilaç absorpsiyonunun temelini oluşturan fizikokimyasal ve fizyolojik parametrelerdir. Absorpsiyon sayısı, çözünme sayısı ve doz sayısı hesaplanmasında sırasıyla Eşitlik 2.23, 2.24, 2.25 kullanılmaktadır (41,52).

Absorpsiyon sayısı:

$$An = \frac{P_{eff}}{R} x(T_{si}) = \frac{(T_{si})}{(T_{abs})} \quad (2.23)$$

An : Absorpsiyon sayısı

T_{si} : İnce bağırsaktaki kalış zamanı

R : Bağırsak çapı

P_{eff} : Geçirgenlik

T_{abs} : Absorpsiyon zamanı

Çözünme sayısı:

$$D_n = \left(\frac{3D}{r^2}\right) \left(\frac{C_s}{\rho}\right) (T_{si}) = \frac{(T_{si})}{T_{diss}} \quad (2.24)$$

D : Difüzyon katsayısı

C_s : Çözünürlük

ρ : Yoğunluk

r : Partikül çapı

T_{diss} : Çözünme zamanı

Doz sayısı:

$$Do = \frac{M/V_o}{c_s} \quad (2.25)$$

M: Doz (mg)

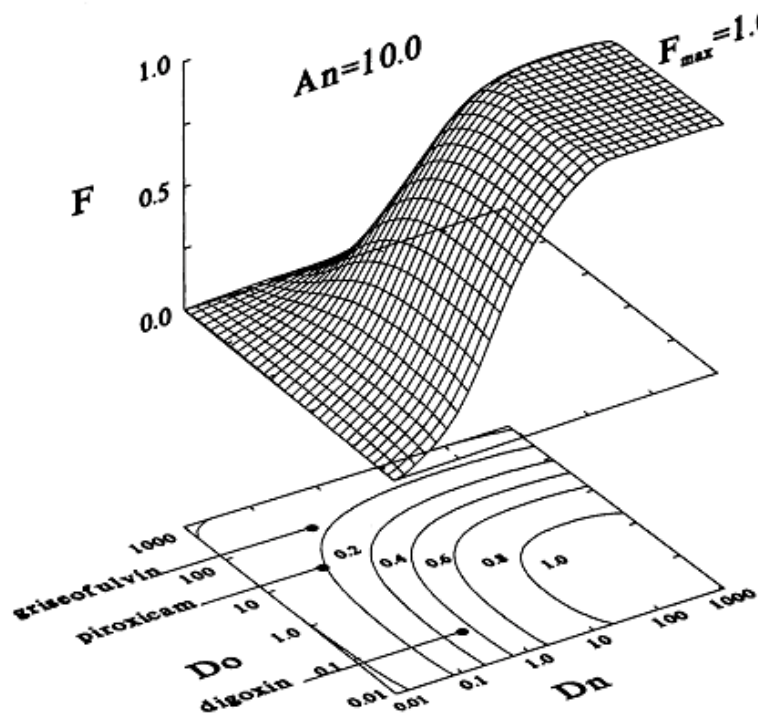
V_o: İlaçla birlikte alınan su hacmi (250 mL)

C_s: Çözünürlük

Bir ilacın absorbe olan fraksiyonu (F) absorpsiyon sayısı ile ilişkilidir ve Eşitlik 2.26 ile hesaplanır.

$$F = 1 - e^{-2An} \quad (2.26)$$

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ilaçların biyofarmasötik sınıflandırmasını yaparken iki ölçütü ele almıştır. Bunlardan ilki çözünürlüktür. Çözünürlükle ilgili sınıflandırmayı yaparken doz sayısından yararlanılmaktadır, $Do \leq 1$ olması durumunda ilaç çözünür olarak değerlendirilir. İkinci ölçüt olan geçirgenlik sınıflandırmasında ise logP ve ClogP değerleri kullanılır. FDA'nın yayınlamış olduğu 14 yüksek geçirgen ilacı referans olarak önermektedir. Geçirgenlik sınıfı belirlenirken ilacın logP ve ClogP değerleri referans ilaç olan metoprololün logP ve ClogP değeri ile karşılaştırılmaktadır (53). Şekil 2.13'de yüksek geçirgenliğe sahip bir ilacın tipik bir profili verilmiştir. Yüksek geçirgenliğe sahip ilaçlarda absorpsiyon derecesi, doz ve çözünme sayısının 1'e yakın olduğu bölgelerde önemli ölçüde değişmektedir.



Şekil 2.13. Yüksek geçirgenliğe sahip ilaçlar için F , D_o , D_n ilişkisi (54).

Şekil 2.13'den yüksek doz sayısında absorpsiyon derecesinin çözünme sayısına daha az bağlı olduğu anlaşılmaktadır. Bu bölgede absorplanan fraksiyon çözünme hızından bağımsızdır ve Eşitlik 2.27 yardımı ile hesaplanabilir (54).

$$F = \frac{2A_n}{D_o} \quad (2.27)$$

İlacın Şekil 2.13'de platonun neresinde yer aldığı bilinmesi erken dönemde biyoyararlanım sorunlarının çözülmesinde yardımcı olabilir. Formülasyonda yer alan parametreler değiştirilerek grafikte plato noktalarının yakalanması sağlanabilir. İn vivo absorpsiyonu eksiksiz hesaplayabilmek için, ince bağırsaktaki çözünen miktarının bulunması kritik bir süreçtir. Yüksek doz sayısına sahip ilaçların iyi absorbe olmaları için etkin bir şekilde çözünmesi gerekir. Zayıf çözünürlükteki bir ilacın çözünmesi genellikle düşük iken ($D_n < 1$) absorpsiyon sayısı ve doz sayısı yüksektir (Sınıf II). Eğer A_n ve D_n düşük ise ilaç sınıf IV bir ilaçtır (41,54). Sınıf II ilaçlar için çözünme profili eksiksiz tanımlanmış ve tekrarlanabilir olmalıdır. Sınıf II ilaçlar için A_n yüksek ve D_n düşüktür. İlacın in vivo

çözünürlüğü absorpsiyonunda hız sınırlayıcı basamaktır (çok yüksek Do değerine sahip ilaçlar hariç) ve absorpsiyon sınıf I ilaçlara göre düşüktür. Zayıf çözünürlükteki iki ilaç digoksin ve griseofulvunin çözünürlükleri yaklaşık olarak aynı (20 µg/mL) olmasına rağmen tek uygulamada verilen dozları sırası ile 0.5, 500 mg'dır. Digoksinin tek uygulamada verilen dozunu çözmek için 20 mL hacme gereksinim duyulurken griseofulvin için bu miktar 33 L'dir. Griseofulvin için verilmesi gereken hacim oldukça büyük olup oral uygulaması olanaksızdır (41,54).

Sınıf II ilaçların ince bağırsaktaki içerik ve membran özelliklerine bağlı olarak kalış süreleri uzar ve absorpsiyon daha uzun bir dönemde gerçekleşir. Bundan dolayı çözünme testi en az 4-6 zaman noktasında tekrarlanmalı ve fizyolojik pH aralığında % 85 çözünme elde edilmelidir. İlaç bağırsak ortamında daha uzun süre kaldığından bağırsak ortam koşullarının etkisi göz önünde bulundurulmalıdır, özellikle yüzey etkin maddelerin etkisi dikkat edilmesi gereken noktalardan biridir. Bu gruptaki ilaçların farklı formülasyonları absorpsiyona etki edebilir (54).

2.3. Yapay Sinir Ağları

Yapay zeka kavramı ile insanın en önemli özellikleri olan düşünebilme ve öğrenebilme yetenekleri; günümüzün en önemli araştırma alanlarından biri olmuştur. Özellikle son yıllarda bilgisayar kullanımının hızla yaygınlaşması sonucunda yapay zeka çalışmaları da bu oranda hızlanmıştır. Yapay sinir ağları (YSA) teknolojisi ise, bir yapay zeka yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır. YSA; insan beyninden esinlenerek, öğrenme sürecinin matematiksel olarak modellenmesi çabalarının bir sonucudur. YSA çalışmaları beyinde bulunan biyolojik sinir hücrelerinin modellenmesi esasına dayanır, bilgisayar teknolojilerindeki gelişimle birlikte YSA pek çok uygulama alanı bulmuştur.

2.3.1. Tarihsel Gelişim

YSA teorisi ilk olarak 1943 yılında nörofizyolog McCulloch ve mantıkçı Pitts tarafından ileri sürülmüş (55), bu araştırmacılar tarafından geliştirilen modellerde nöronların çalışma prensipleri hakkında bazı varsayımlara yer verilmiştir. Bu modeller, sabit eşiklere sahip ikili aletler olarak görülen basit nöronlardan

oluşturmuştur. Daha sonra International Business Machines (IBM) araştırmacılarından Farley ve Clark 1954 yılında, Rochester, Holland, Haibit ve Duda ise 1956 yılında bu konuda çalışmışlar, Rosenblatt da 1958 yılında basit algılayıcıları (perceptron) geliştirmiştir. 1960 yılında ise Stanford Üniversitesinden Widrow ve Hoff tarafından en küçük ortalama kareler öğrenme kuralını kullanan ve basit bileşenlerden oluşan bir analog elektronik alet olan ADALİNE (Adaptive Linear Element) geliştirilmiştir. Minsky ve Papert 1969 yılında yazdıkları kitaplarında çok tabakalı sistemlere göre tek tabakalı perceptronların yetersiz olduğunu belirtmişlerdir. 1995 yılında Grossberg ve Carpenter Adaptif Rezonans Teorisini (Adaptive Resonance Theory, ART) geliştirmişler, Klorf 1972'de *heterostatis* olarak isimlendirilen yapay sinirlerde sinirsel öğrenme için biyolojik prensiplere dayanan temel bir uygulama geliştirmiş, Werbos ise 1974 yılında geri beslemeli öğrenme yöntemi üzerine araştırmalar yapmıştır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan bu çok tabakalı perceptronlardır, yapay sinirde farklı eşik değerlerine, sağlam ve kullanışlı öğrenme kurallarına sahiptir. Amari 1967 yılında yayınladığı araştırmasında adaptif yapı sınıflandırmasını yapmış, Fukushima ise adım adım (step wise) eğitilmiş çok tabakalı YSA'nı oluşturmuştur (56).

2.3.2. YSA Tanımı ve Genel Yapısı

YSA, insan beyninin çalışma ilkeleri esas alınarak modellenmiş bir sistemdir. Klasik yöntemlerle çözümlenemeyen karmaşık problemleri insan beyninin çalışma sistemine benzer yöntemlerle çözmeye çalışır.

Yapay sinir ağları, insan beyninin özelliklerinden olan öğrenme yolu ile; yeni bilgiler türetebilme, yeni bilgiler oluşturabilme ve keşfedebilme gibi işlemleri herhangi bir yardım almadan otomatik olarak gerçekleştirmek amacı ile geliştirilen bilgisayar sistemleri olarak tanımlanabilir (57).

Bir diğer tanımlamaya göre ise; YSA insan beyninin çalışma mekanizmasını taklit ederek; beynin öğrenme, hatırlatma ve genelleme yapma yolu ile yeni bilgiler türetebilme gibi temel işlevlerini gerçekleştirmek üzere geliştirilen mantıksal yazılımlardır (58). Bir diğer tanımlama ise Haykin tarafından şöyle yapılmıştır; bir sinir ağı basit işlem birimlerinden oluşan, deneysel bilgileri biriktirmeye yönelik

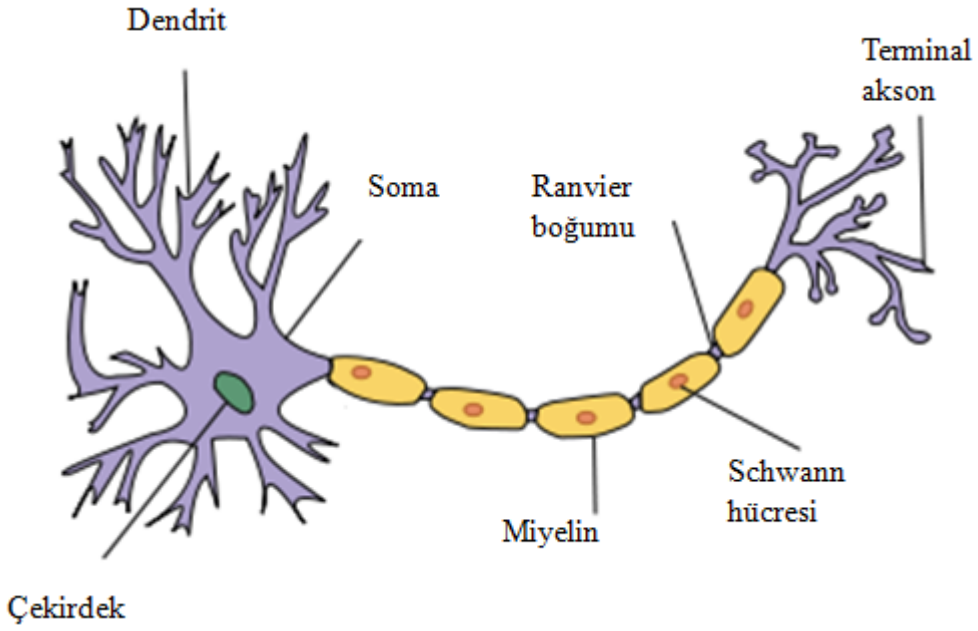
doğal bir eğilimi olan ve bunların kullanılmasını sağlayan yoğun bir şekilde dağıtılmış işlemcidir. Bu işlemci iki şekilde beyin ile benzerlik gösterir:

- Bilgi, ağ tarafından bir öğrenme süreciyle çevreden elde edilir.
- Elde edilen bilgileri biriktirmek için sinaptik ağlıklar olarak da bilinen nöronlar arası bağlantı güçleri kullanılır (59).

YSA, biyolojik sinir hücrelerinin bilgiyi öğrenme yöntemlerinden esinlenerek geliştirilmiştir, burada bilgi işleme sisteminin yapısı anahtar rol oynar. Biyolojik sinir hücresinde olduğu gibi yapay sinir hücrelerinin de aralarında sinaptik bağlantıların olması gerekir. Çok sayıda birbirine bağlı işlem elemanı problemi çözmek için birbirine bağlanır.

2.3.2.1. Biyolojik Sinir Hücresi

İnsan beyni farklı tiplerdeki sinir hücrelerinden, bu hücreler de basit bir sinir hücresinin özelleşmesiyle oluşmaktadır. Yapay sinir ağlarını oluşturan hücreler ise yapıları çok daha iyi bilinen hücreleri taklit etmektedir. Basit biyolojik sinir hücresi üç parçadan oluşur, soma (hücresinin gövdesi ve çekirdeğini içeren kısım), dendritler (diğer sinir hücrelerinden veya dışarıdan aldığı sinyalleri somaya taşıyan kısım) ve aksonlardır (akson ucunda yer alan sinapslara sinyalleri aktaran kısım) (Şekil 2.14). Sinir hücreleri arasındaki bağlantı ise sinaps adı verilen bağlantı noktaları ile sağlanır (60,61).

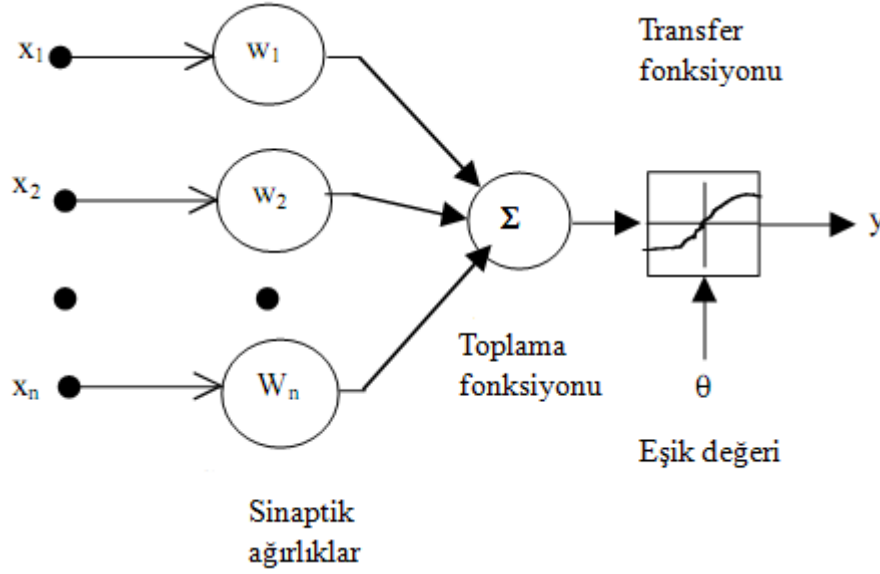


Şekil 2.14. Biyolojik sinir hücresinin yapısı (62) .

Biyolojik sinir hücresinde sinir hücreleri, sinapslar aracılığı ile sinyalleri dendritlere veya sinir hücresi zarına gönderir. Eşik değerini aşabilen sinyaller sinir hücresini aktive eder ve sinyali aksonlara doğru iletir. Bu sinyal bir diğer sinapsa gönderilir ve diğer nöronu aktive eder (63).

2.3.2.2. Yapay Sinir Hücresi

YSA'nın temel işlem elemanları yapay sinirlerdir (Şekil 2.15). YSA ağırlıklandırılmış şekilde birbirine bağlanmış çok sayıda sinir hücresinden oluşan matematiksel sistemlerdir. Biyolojik sinir hücresinde olduğu gibi yapay sinir hücrelerinin de aralarında sinaptik bağlantıların olması gerekir (64). YSA'nın işleyişi biyolojik bir nöron hücresinin işleyişine benzer olarak gerçekleşmektedir. Yapay sinir hücresinin temel elemanları; girdiler, ağırlıklar, toplama fonksiyonu, transfer fonksiyonu ve çıktılardır.



Şekil 2.15. Yapay sinir hücresinin temel yapısı (65).

Girdi (x) : YSA'ya dışarıdan verilen bilgilerdir.

Ağırlıklar (w) : Girdi bilgisinin gücünü belirleyen adaptif katsayılardır, bir girdinin bağlantı kuvvetinin ölçüsüdür. Hücre üzerinden gelen bilginin değerini ve hücre üzerine etkisini belirler. Diğer bir ifadeyle ağırlıklar; girdi seti veya kendinden önceki bir katmandaki başka bir işlem elemanının, bu işlem elemanı üzerindeki etkisini açıklayan değerlerdir (66).

Toplama Fonksiyonu (Σ) : Her bir girdinin kendi ağırlığıyla çarpılması sonucu toplam ağırlığın bulunmasıyla net girdinin hesaplanmasını sağlayan fonksiyon.

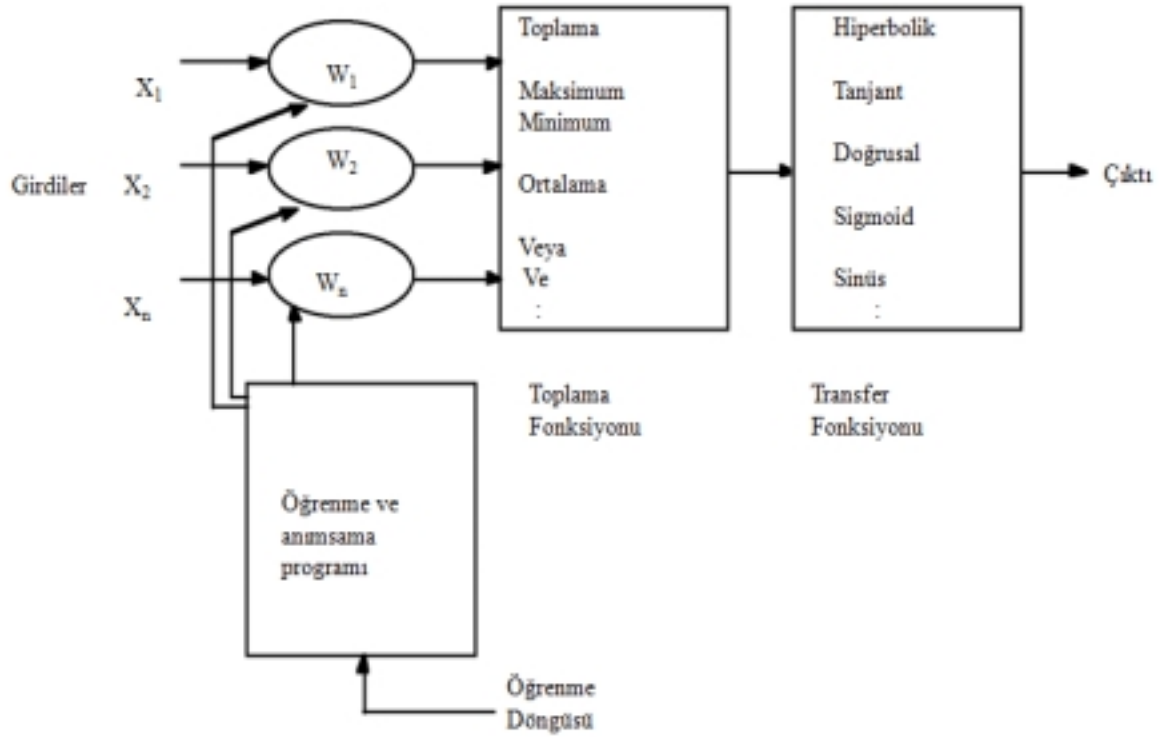
Transfer Fonksiyonu : Toplama fonksiyonundan gelen ağırlıklandırılmış toplam girdinin işlenmesi sonucu çıktının üretilmesini sağlayan fonksiyondur. Transfer fonksiyonunda, toplam bir eşik değeri ile karşılaştırılarak yapay çıktı saptanır (66).

Eşik Değeri (θ) : Sinapsların internal eşik değeri θ ile uyarıların büyüklük kuvveti dengelenir. Eşik değeri θ ile gösterilir ve eşik değerini aşabilen uyarılar çıktı oluşturabilir (65).

Yapay sinir hücresi ile biyolojik sinir hücresinin karşılaştırılması yapıldığında, birbiri yerine geçen kavramlar aşağıda verilmiştir;

Biyolojik sinir hücresi	Yapay sinir hücresi
Nöron	İşlemci eleman
Dendrit	Toplama fonksiyonu
Hücre gövdesi	Transfer fonksiyonu
Aksonlar	Yapay nöron çıkışı
Sinapslar	Ağırlıklar

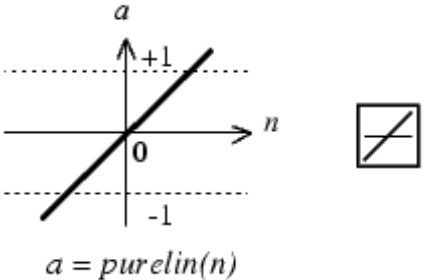
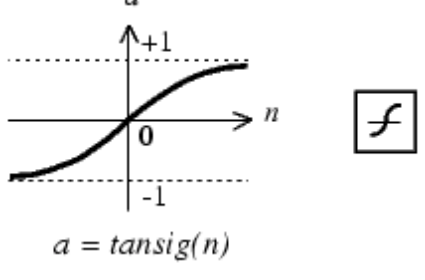
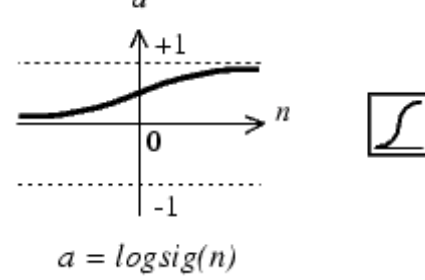
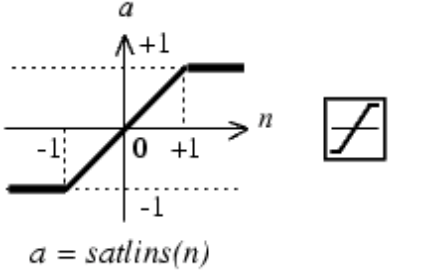
Şekil.2.15’de basit yapay sinir hücresinin yapısı daha ayrıntılı olarak verilmiştir. Şekil 2.15’de girdiler işlem elemanına sol üst bölümden girmektedir. İlk basamakta her bir girdi sırasıyla kendi ağırlık faktörü ($w(n)$) ile çarpılır. Bu değiştirilmiş girdiler toplama fonksiyonuna gönderilir ve genellikle toplamı alınır. Burada farklı fonksiyonlar da seçilebilir, bu işlemler ile ileriye doğru iletilecek birçok farklı değer oluşturulabilir. Toplama fonksiyonlarına maksimum, minimum ve ortalama, ve/veya işlemleri örnek verilebilir. Bazı durumlarda toplama fonksiyonuna, toplama fonksiyonunun zamana bağlı olarak işlemlerini sağlayan bir aktivasyon fonksiyonu eklenir. Daha sonra toplama fonksiyonunun çıktısı transfer fonksiyona gönderilir. Bu fonksiyon aldığı değerleri bir algoritma ile gerçek bir çıktıya dönüştürür. Bu algoritma girdileri alır ve “0” , “1” , “1x1” veya başka sayılara dönüştürür, genellikle sigmoid, sinüs, hiperbolik tanjant fonksiyonları kullanılır, transfer fonksiyonunun çıktısı ise genellikle doğrudan işlemin çıktısıdır.



Şekil 2.16. İşlem elemanı modeli (66).

Eşik veya transfer fonksiyonu genellikle doğrusal olmayan bir fonksiyondur (66,67). Çünkü doğrusal fonksiyonlarda girdi ve çıktı değeri arasında basit bir oran vardır. Bu nedenle doğrusal fonksiyonların kullanılması elverişli değildir. Doğrusal fonksiyonların kullanıldığı YSA'ların başarısız oldukları 1969 yılında Minsky ve Papert tarafından ortaya konmuştur (66). Tablo 2.6'da bazı transfer fonksiyonları gösterilmiştir, bunlardan sigmoid fonksiyon en sık kullanılan fonksiyondur .

Tablo 2.6. Transfer fonksiyonları (68).

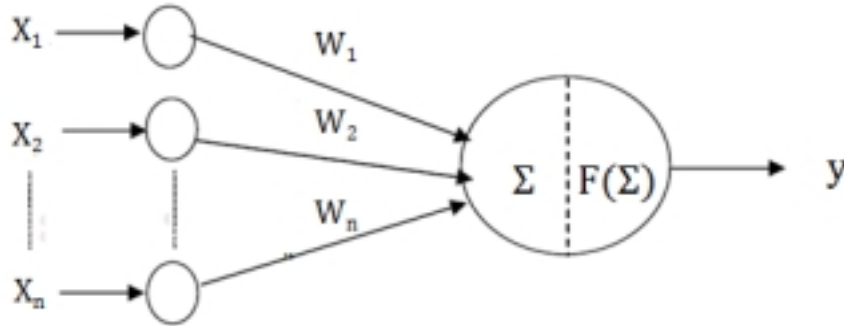
Transfer Fonksiyonu /Algoritma	Grafik
<p>Doğrusal Transfer Fonksiyonu (Linear transfer function)</p> <p>$a = \text{purelin}(n) = n$</p>	 <p>$a = \text{purelin}(n)$</p>
<p>Hiperbolik Tanjant Sigmoid Fonksiyon (Hyperbolic tangent sigmoid transfer function)</p> <p>$a = \text{tansig}(n) = 2/(1+\exp(-2*n))-1$</p>	 <p>$a = \text{tansig}(n)$</p>
<p>Log-sigmoid Transfer Fonksiyonu (Log-sigmoid transfer function)</p> <p>$\text{logsig}(n) = 1 / (1 + \exp(-n))$</p>	 <p>$a = \text{logsig}(n)$</p>
<p>Simetrik Eşik Değer Fonksiyon (Symmetric saturating linear transfer function)</p> <p>$\text{satlins}(n) = -1$, eğer $n \leq -1$ n, eğer $-1 \leq n \leq 1$ 1, eğer $1 \leq n$</p>	 <p>$a = \text{satlins}(n)$</p>

2.3.3. YSA' nın Yapısal Olarak Sınıflandırılması

YSA tek katmanlı algılayıcılar [perceptron (basit algılayıcılar) ve ADALİNE (Adaptive Linear Element) / MADALİNE (Multiple Adaptive Linear Element)] ve çok katmanlı algılayıcılar (Multi Layer Perceptrons, MLP) olarak ikiye ayrılabilir.

2.3.3.1. Tek Katmanlı Algılayıcılar

Tek katmanlı algılayıcıların ilk örneği McCulloch-Pitts modeli girdi ve çıktı tabakalarından oluşmaktadır. Bu modelde doğrusal eşik değer fonksiyonu kullanılmaktadır. Burada X girdi bilgilerini içeren vektör olmak üzere $X_{toplama}=[X_1, X_2, \dots, X_n]$ şeklinde ifade edilebilir. Ağırlık katsayı değerlerini içeren vektör ise $W_T=[W_1, W_2, \dots, W_n]$ ile gösterilebilir (Şekil 2.17). Çıktı “y” yalnızca 0 veya 1 rakamlarını alır (binary). Eğer ağırlık değeri 0’den büyük ise o sinapsın aktive edici etkisi, ağırlığı 0’den küçük ise inhibitör etkisi vardır (69), matematiksel olarak Eşitlik 2.28’deki gibi ifade edilmektedir.



Şekil 2.17. Tek katmanlı algılayıcı modeli

$$y = f(net) = f\left(\sum_j^n w_j x_j\right) \quad (2.28)$$

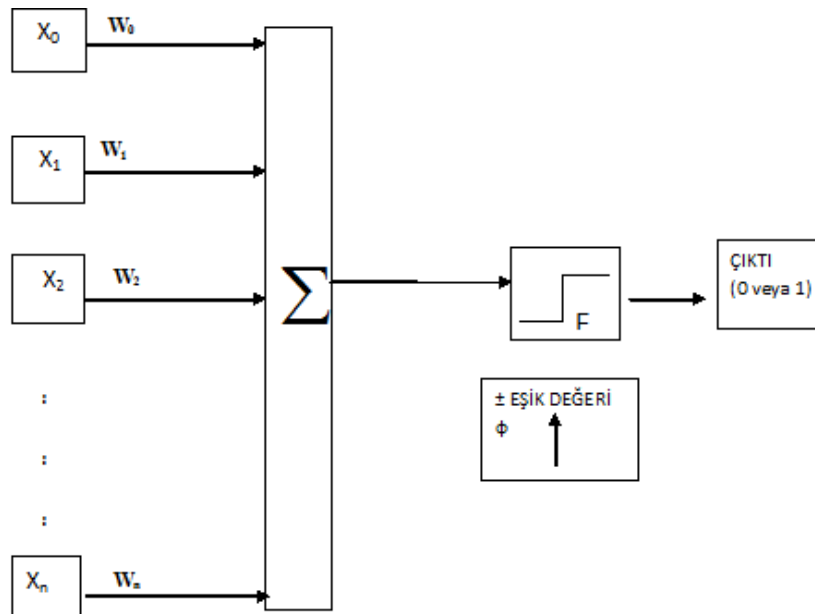
$$net = w^T x = w_1 x_1 + w_2 x_2 + w_3 x_3 + \dots + w_n x_n \quad (2.29)$$

$$f(x) = \begin{cases} 1, & \text{eğer } w^T x \geq 0 \\ 0, & \text{eğer } w^T x < 0 \end{cases} \quad (2.30)$$

Hücrede toplama fonksiyonu ile toplanan bilgi, aktivasyon fonksiyonu ile y çıktı bilgisine dönüştürülür. Eşik değerini aşamayan sinyaller için çıktı değeri “ 0 ” aşabilen sinyaller için çıktı değeri “ 1 ” olarak bulunur (67). Aşağıdaki bölümde tek katmanlı algılayıcılardan yaygın olarak kullanılan basit algılayıcılar ve ADALİNE’ a ilişkin bilgi verilmiştir.

2.3.3.1.1. Basit Algılayıcılar (Perceptron)

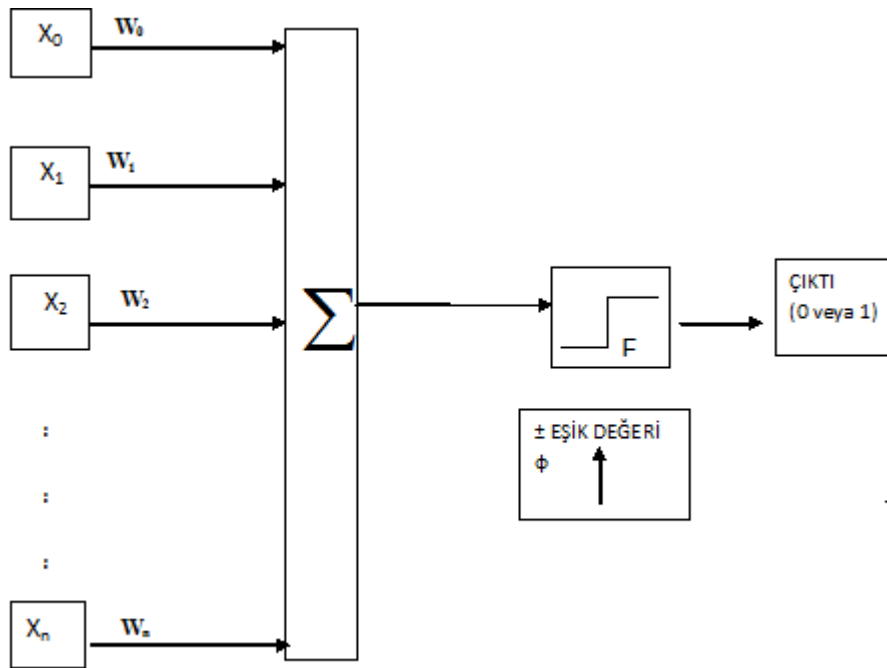
1958 yılında Amerikalı Psikolog Frank Rosenblatt bilişimsel sınırlar olan basit algılayıcıları bulmuştur. Bu modelin McCulloch-Pitts Modelinden farklılığı aktive edici ve inhibitör ağırlıkların yerine birbirleriyle bağlantılı sayısal ağırlıkların geliştirilmiş olmasıdır (69). Basit algılayıcılar bir sinir hücresinin birden fazla girdisinden çıktı üreten sistemlerdir. Basit algılayıcı modelinde bir işlemci ağırlıklar, toplama işlemi ve eşik değeri içerir. Bir basit algılayıcı birçok dış girdi yanında bias (custom) olarak adlandırılan bir iç girdi içerir, ayrıca çıktının hesaplanmasında eşik değer fonksiyonu kullanılır (Şekil 2.18). Eşik değeri bir duvar görevi görür gelen sinyaller yeterli ise bu duvarı aşabilir ve yoluna devam eder aksi halde durur (64). Basit algılayıcı öğrenme kuralını (perceptron learning rule) kullanır.



Şekil 2.18. Basit algılayıcı sinir hücresi modeli

2.3.3.1.2. Adaptif Linear Element (ADALİNE)

Adaptif linear element (Adaptif Doğrusal Elemanlar) tek bir sinir hücresi içeren sistemlerdir, en küçük ortalama kareler yöntemine dayanmaktadır (Şekil 2.18). Ağırlıklar en küçük ortalama kareler yöntemi ile normalize edilir, bu yöntem “*delta kuralı*” olarak da adlandırılmaktadır, öğretmenli öğrenme yöntemi ile birçok problemin çözümünde kullanılır. Yapısı basit algılayıcılara benzemekle birlikte öğrenme kuralı yönünden farklılık vardır (65).



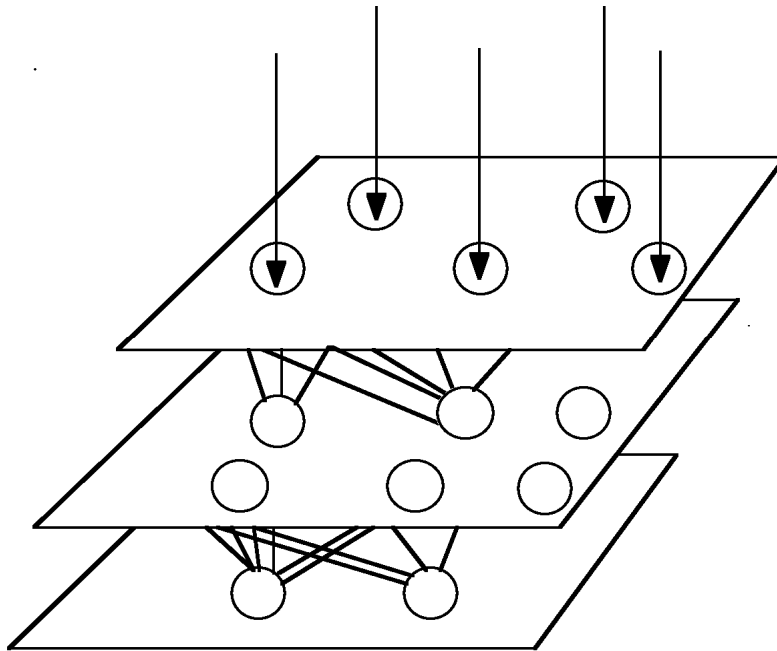
Şekil 2.19. ADALİNE modeli

2.3.3.2. Çok Katmanlı Algılayıcılar

Bütün YSA genel olarak Şekil 2.20’de gösterilen bir topolojiye sahiptir. Bazı sinir hücreleri girdileri dışarıdan alırken bazıları ise dışarıya yanıt çıktısını gönderir. YSA bir sinir hücresi kümesidir. Tek katman ya da tek eleman içeren bazı başarılı ağlar oluşturulabilmesine rağmen çoğu uygulamalar en az üç katman (girdi katmanı, gizli katman ve çıktı katmanı) içeren ağlara gereksinim duymaktadır. Girdi katmanı, dışarıdan girdileri alan nöronları içerir. Çıktı katmanı ise çıktıları dışarı ileten nöronları içeren katmandır (70). Üzerinde durulması gereken önemli

bir nokta da girdi katmanındaki nöronların girdi değerler üzerinde bir işlem uygulamamasıdır (66).

Girdi ve çıktı katmanları tek katmandan oluşurken bu iki katman arasında birden fazla gizli katman yer almaktadır. Çok sayıda nöron içeren bu gizli katmanlar yapıda çeşitli şekilde birbirleriyle bağlantılıdır. Bu gizli katmanlar, ağdaki en anlamlı özelliği kademeli olarak çıkarır ve böylece karmaşık tanımlama işlemlerine olanak sağlar. Her bir katmandaki sinir hücresi kendinden sonra gelen katmanlardaki çok sayıdaki sinir hücreleriyle birçok bağlantıya sahiptir. Diğer önemli bir özellik ise, sinir hücresinin doğrusal olmayan bir aktivasyon fonksiyonunun olmasıdır. Bu özellikleri yapay sinir ağının öğrenme kapasitesini artırır, doğrusal olmayan fonksiyonun ve çok sayıda bağlantının olması ise teorik olarak analizi zorlaştırır. Gizli sinir hücreleri işlemin gözlemlenmesini zorlaştırır. Bunun yanında YSA sınırsız bir kapasiteye sahip değildir, bazen girdi verilerinin boyutunun azaltılması için ön işlem gerekmektedir (71).



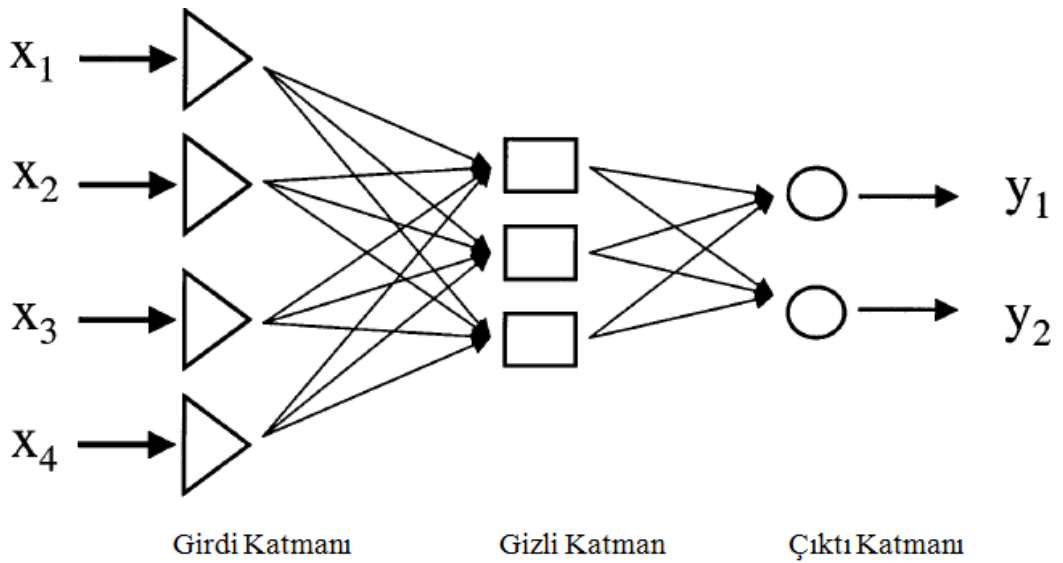
Şekil 2.20. Çok katmanlı algılayıcılar (66).

Birçok çalışmada çok katmanlı algılayıcıların (Multi Layer Perceptions, MLP) karmaşık problemleri çözdüğü gösterilmiştir. Çok katmanlı algılayıcılar, girdi

katmanından alınan sinyallerin akış yönüne bağlı olarak, ileri beslemeli veya geriye beslemeli olmak üzere iki gruba ayrılır.

2.3.3.2.1. İleri Beslemeli YSA

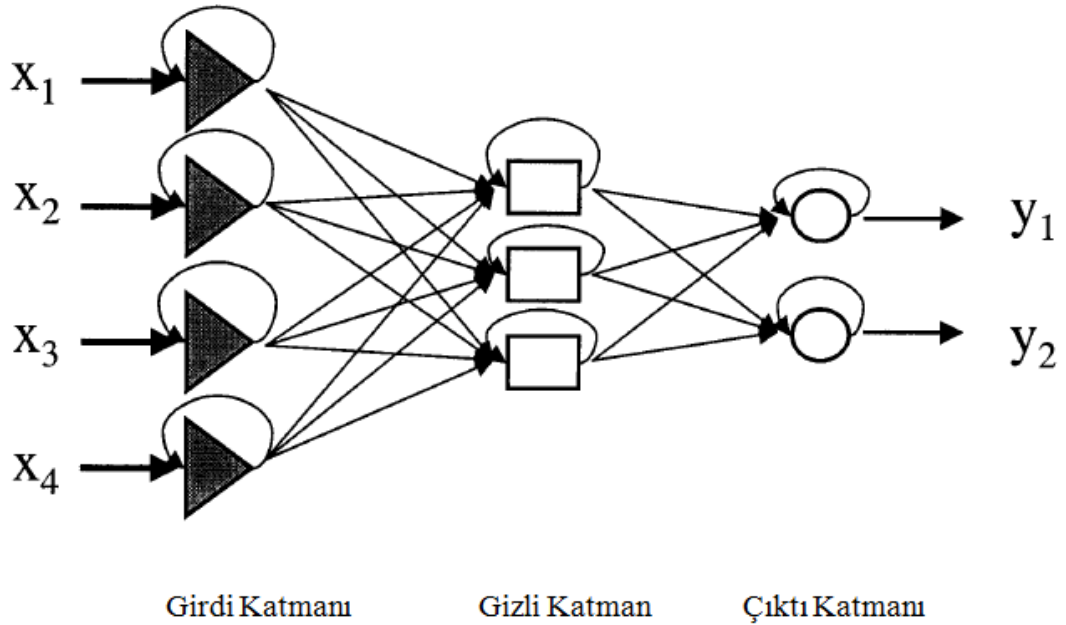
Girdi katmanından alınan sinyal, girdi katmanından çıktı katmanına doğru ilerler. Bir sinir hücresi önceki katmanın bütün sinir hücrelerinden sinyal alır ve işlemini yaptıktan sonra bir sonraki katmanın bütün sinir hücrelerine bu sinyali iletir. Bu tip ağlarda geriye doğru aynı katmanlar arasında bağlantı yoktur katman atlama yoktur (64,72,73). Gizli katman sayısı arttıkça YSA'nın girdi verilerinden daha yüksek istatistiksel sonuçlar elde etme yeteneği artmaktadır (74). İleri beslemeli YSA'lara basit algılayıcılar ve ADALİNE örnek olarak verilebilir (Şekil 2.21) (73,75).



Şekil 2.21. İleri beslemeli YSA (72).

2.3.3.2.2. Geri Beslemeli YSA

Sinir hücresi çıktılarını ağa ya da diğer bir sinir hücresindeki tabakanın çıktısını, bir önceki tabakaya gönderir (Şekil 2.22). Bu tip sinir ağlarında bağlantılar çıktı tabakasından girdi tabakasına doğrudur (73). Bir ağ önceki durumu hafızasına aldığı takdirde bir sonraki durum sadece girdi sinyallerine değil bir önceki duruma da bağlıdır (72,74). Geriye yayılmada yanıl engelleme (lateral inhibition) veya rekabet (competition) söz konusudur. Bazı ağlarda, bir nöron aynı tabakadaki başka nöronlara engel oluşturabilir. Bu durum yanıl engelleme veya rekabet olarak adlandırılır ve en çok çıktı tabakasında kullanılır (66). Anderson, Kohonen ve Hopfield Algoritmaları birer geri beslemeli yapay sinir ağı modelleridir (75).



Şekil 2.22. Geri beslemeli YSA (72).

2.3.4. YSA'nın Öğrenmesi

Yapay sinir ağları girdi serilerinden hareketle istenilen çıktıları üretmek üzere tasarlanmıştır. YSA'da bağlantıların gücünü artırmak için çeşitli yollar vardır. Bunlardan birisi ağırlıkların daha önceki bilgilerin ışığında net bir şekilde belirlenmesidir. Bir diğer yöntem ise YSA'nın öğrenme modelleriyle beslenmesi ve

bazı öğrenme kurallarından yararlanılarak ağırlıklarının değiştirilmesidir. YSA'da öğrenme; öğretmenli, öğretmensiz ve destekleyici öğrenme olmak üzere üç grupta incelenebilir (67).

2.3.4.1.Öğretmenli Öğrenme (Supervised Learning)

Öğretmenli öğrenmede hem girdi hem de çıktı değerleri olmalıdır. Ağ elde edilen çıktılar ile hedeflenen çıktılar karşılaştırarak işlev yerine getirilir. Öğretmenli öğrenmenin amacı bir veya daha fazla hedeflenen değerin bir veya daha fazla girdi değişkeninden tahmin edilmesidir. Öğretmenli öğrenme, girdi ve çıktı veri örneklerinden elde edilen bir regresyon şeklidir. Bu tip ağlar birbirine bağlı girdi tabakası, çıktı tabakası ve gizli tabakalar halinde organize olmuş sistemlerdir (72). Bu modelde bir girdi sinyalinden elde edilen çıktı (gerçek yanıt) istenen çıktı sinyali (istenen yanıt) ile karşılaştırılır. Eğer gerçek yanıt istenen yanıtta farklı ise YSA tarafından bir hata sinyali üretilir. Başlangıçta ağ tarafından rasgele atanan ağırlık değerleri yeniden hesaplanarak gerçek yanıt ve istenilen yanıt eşleştirilir. Diğer yandan girdi ağırlıkları sürekli değiştirilerek hata minimize edilir ve mümkün olduğu takdirde sıfıra yaklaştırılır. Hatanın azaltılması işlemi, öğretmen olarak bilinen özel bir döngü gerektirir (64). Bu yöntemde bazı ağırlıkların bağlantıları daha kuvvetli iken bazı ağırlıkların daha zayıftır, böylece YSA daha doğru yanıtlar üretebilir (64,72).

Ağın öğrenmeye başlamadan önce eğitilmesi gerekir. Eğitim girdi ve çıktı verilerinin ağa sunulması demektir. Bir ağın başarılı bir şekilde eğitilmesi için girdi ve çıktıların ağa sunum şekli önemlidir. YSA sadece sayısal verilerle çalışabildiğinden elde edilen veriler sayısal verilere dönüştürülmelidir, ayrıca ağın anlayabileceği şekilde ölçeklendirilmeli ve normalleştirilmelidir (66).

Günümüzde yapay ağ geliştirmeye yönelik paketler, doğru yanıtı tahmin etmeyi sağlayabilecek araçlar geliştirmektedir. Bu araçlar ağın doğru ve istenen noktayı bulana kadar günlerce çalışmasını sağlamaktadır, bazı durumlarda ise ağ öğrenmemektedir, bu durum birçok nedenden kaynaklanabilir. Bu nedenlerden biri girdi verilerinin istenen çıktı verilerine ilişkin özgül bilgileri içermemesidir. Ayrıca ağın öğrenmesine olanak verecek yeterli girdi verisi olmadığı durumlarda da ağ

uyum sağlayamamaktadır. YSA'da gerekli testlerin yapılabilmesi için yeterince veri seti alınmalıdır. Ancak çok sayıda işlem elemanın olması durumunda da ağ hafıza oluşturabilir, bu istenmeyen bir durumdur. Ayrıca gizli tabakadaki sinir hücresi sayısı bağlantıların sayısını etkiler bu nedenle çalışma süresince girdiler bağlantı ağırlıkları ile düzeltilir. Bu nedenle bağlantı sayısı ağın performansını önemli oranda etkiler. Gizli tabaka sayısının fazla olması da öğrenmeyi engeller ve tahmin edebilme yeteneğini zayıflatır (66,72).

Eğer bir ağ bir problemi çözememiş ise tasarımcı; girdi ve çıktıları katman sayısını, her bir katmandaki eleman sayısını, katmanlar arası bağlantı sayısını, toplama ve transfer fonksiyonlarını ve ağırlıklarını gözden geçirmelidir. Diğer bir nokta ise tasarımcının öğrenme kuralını yönetmek konusundaki yaratıcılığıdır. İleri beslemeli öğrenmede ağırlık değerleri öğrenme boyunca düzeltilmelidir. Eğitim sırasında ağırlıkların ayarlanabilmesi için geri beslemeyi sağlayacak değişik öğrenme kuralları vardır. Bu yöntemde sık kullanılan öğrenme kuralı, geriye doğru yayılım tekniğidir (66), hatanın geriye doğru yayılımı ağırlıkları düzeltir ve hatayı azaltır. Bu şekilde aynı hatanın tekrarlanması önlenmiş olur.

YSA istenen yanıtı ürettiği takdirde ağırlıklandırılmış bağlantılar kaydedilir ve yeni girdi verilerinin sonuçlarını tahmin etmek için kullanılır (72). Öğretmenli öğrenme tekniğinde; geriye yayılım algoritması, delta kuralı ve basit algılayıcılar öğrenme kuralı en iyi bilinen uygulamalardır (67).

2.3.4.2. Öğretmensiz Öğrenme (Unsupervised Learning)

Günümüzde öğretmensiz öğrenme modeli çok iyi anlaşılmamış olup çok sık kullanılmamaktadır. Bu yöntem, kendi kendine öğrenme (self-organization) veya adaptasyon olarak da bilinmektedir. Bu sistem girdi verilerini gruplandırmak için kullanacağı niteliklere, kendi karar vererek girdi verilerini gruplamaktadır. Tuevo Kohonen tarafından geliştirilen öğretmensiz öğrenme modeli günümüzde askeri alanda ilgi uyandırmaktadır. Bu yöntemle bilgisayarların kendi kendine öğrenebilecekleri öngörülmektedir (66).

Öğretmensiz öğrenme modeli bir öğreticiye ihtiyaç duymaz ve istenilen bir çıktı (yanıt) yoktur. YSA dışarıdan aldığı girdiyi kendi içerisinde karşılaştırarak

sınıflandırır. Daha sonra alınan girdi ait olduğu sınıfı gösteren bir yanıt üretir. Eğer gelen girdiye uygun bir sınıf bulunamıyorsa yeni bir sınıf oluşturulur (64).

Öğretmensiz öğrenme modeli girdi verileri ile çıktı verilerinin eşleştirmek yerine verilerin esas yapısını bulmayı amaçlamıştır, sınıflandırmayı bu şekilde yapmaktadır.

Öğretmensiz öğrenmenin araştırmacıya sağladığı bazı üstünlükleri vardır:

- Çıktı verilerinin toplanmasına ve etiketlenmesine gerek yoktur.
- Zaman içerisinde verilerin özellikleri ve şeklinin değişmesi halinde ağ da verilerin şeklinin değişmesine bağlı olarak değişebilir.
- Araştırmanın başlarında problemlerin anlaşılmasını sağlar ve böylece daha iyi bir sonuç için yol göstericidir (76).

Bu kendi kendine organizasyon modeli sinir hücreleri arasında yarışma ve/veya birlikte çalışmayı içermektedir. Yarışmalı öğrenme özel uyarılara daha güçlü yanıt verecek şekilde bazı özel gruplara ayrılır, böylece diğer sinir hücrelerinin yanıtlarını baskılar veya inhibe eder. Ayrıca süreç elemanları gruplar arasında işbirliğine önem vermektedir. Grup içinde dışarıdan bazı girdiler aktive edilirse grubun etkinliği artar, ya da tam tersi bir durumda grup üzerinde engelleyici bir etki de oluşabilir (66,72,75).

2.3.4.3. Destekleyici Öğrenme (Reinforcement Learning)

Öğretmenli ve öğretmensiz öğrenme arasında bir öğrenme çeşididir. Bu modelde bir veya daha fazla yapay sinir hücresine, çıktı katmanına ve öğretmenli öğrenmeden farklı bir öğretime gereksinim vardır. Gerçek yanıt ve beklenen yanıt birbiri ile ilişkilendirilmez, girdi değerlerine karşı istenen çıktı değerlerinin bilinmesine gerek yoktur. Öğretmen sisteme istenen yanıtı vermez fakat başarılı/başarısız olarak gösterir. Böylece çalışma boyunca çıktı verilerinin girdi verilerine uygunluğu başarılı (iyi) veya başarısız (kötü) olarak değerlendirilir. Eğer öğretmenin işareti kötü ise ağ parametrelerini yeniden düzenler ve çıktı yanıtı doğru olana kadar deneme tekrarlanır (64).

2.3.5. Öğrenme Kuralları

2.3.5.1. Hebb's Kuralı

Donald Hebb's tarafından tanımlanmıştır. Eğer bir sinir hücresi diğer sinir hücresine girdi gönderiyor ve ikisi de aynı yüksek aktivasyonu gösteriyorsa aralarındaki bağı kuvvetlendirilmesi gerekir (66).

2.3.5.2. Perceptron Öğrenme Kuralı

Tek katmanlı ağlar olan basit algılayıcılarda girdi vektörüne ait ağırlıklar ve biaslar öğretilerek, istenen yanıtın doğru bir şekilde üretilmesi hedeflenir. Bu öğrenme tekniği basit algılayıcılar öğrenme kuralı olarak adlandırılır. Basit sınıflandırma problemleri için uygundur ve bu yöntemde eşik değeri önemli bir etkidir. Bu yöntemin uygulaması çok basittir. Örneğin x girdi değerlerini, $d(k)$ istenen çıktı değeri (sınıflama işlemlerinde $d(k)$ genellikle $+1$ veya -1 'dir) olarak temsil edildiğinde bu kural şu şekilde uygulanır;

- Her bir bağlantı için rasgele ağırlıklar atanır.
- Öğretme verilerinden bir (x) girdisi seçilir.
- Eğer çıktı $y(k) \neq d(k)$ ise basit algılayıcı bir hata yanıtı verir, bu durumda w_i 'e ait bağlantılar Eşitlik 2.31'in uygulaması ile yeniden hesaplanır.

$$\delta w_i = \eta (d_k - y_k) x_i \quad (2.31)$$

η ; öğrenme oranı

- Yeniden öğretme verilerinden bir (x) girdisi seçilir ve hata en düşük değere ulaşmaya kadar devam edilir.

Bu kural Hebb's kuralına benzer bir yöntemdir, tek fark bu yöntemde ağın cevabı doğru ise ağırlıklar değiştirilmez (67,69).

2.3.5.3. Delta Kuralı

Hebb's kuralında yapılan bir takım değişikliklerden oluşan ve sık kullanılan yöntemlerden biridir. Gerçek çıktı değerleri ve istenen çıktı değerleri arasında farkı küçültmek için sürekli bağlantı ağırlıklarını değiştiren bir yöntemdir. Bu kural Widrow ve M. Hoff tarafından öne sürülmüş olup en küçük hata kare (least mean square) öğrenme yöntemi olarak da bilinir. Bu yöntem sinaptik ağırlıkları

değiştirerek hata kareler ortalamasını en aza indirger. ADALİNE ve birçok ADALİNE ünitesinden oluşan MADALİNE YSA'larında bu yöntem kullanılmaktadır (66,69).

2.3.5.4. Geriye Doğru Yayılım Öğrenme Kuralı

Geriye doğru yayılım algoritması öğretmenli öğrenme modelinin kullandığı bir diğer öğrenme kuralıdır. Bu öğrenme algoritmasını ilk kez 1974 yılında Paul J Werbos yüksek lisans tezi çalışmaları sırasında uygulamıştır. Öğretmenli öğrenme modelinde kullanılan en popüler öğrenme kuralı olarak karşımıza çıkmaktadır. Ağ birimlerinin aktivasyon fonksiyonları, türetilebilir olması halinde çok tabakalı algılayıcılarda kullanılmaktadır (69). Burada kilit nokta gizli tabakalar için oluşturulan hatanın geriye doğru ağa yayılmasıdır (77). Bundan da anlaşılacağı gibi, geriye hata yayılımı öğrenme algoritması, farklı katmanlar arasındaki iki farklı geçişten oluşmaktadır; ileriye doğru yayılım, geriye doğru yayılım. İleriye doğru yayılmada çıktı oluşturulana kadar aktif yapı girdiyi alır ve bir katmandan diğerine doğru iletir. Ardışık katmanlar arasındaki ağırlıklar rastgele dağıtılır. Geriye doğru yayılmada ağ ile beklenen yanıt arasındaki hata saptanır ve ağırlıkları düzeltmek için kullanılır. Geriye doğru yayılım algoritması bu hatayı YSA çalışma verileri öğrenene kadar sürdürür. Gizli katmandan başlayan her bir sinir hücresi doğrusal olmayan bir transfer fonksiyonu ile modellenmiştir. En sık kullanılan transfer fonksiyonu sigmoidal fonksiyondur (72,78).

2.3.5.5. Hopfield Kuralı

Hebb's kuralına benzer farklı olarak bu yöntem güçlendirici veya zayıflatıcı olarak sınıflama yapar. İstenen girdi ve çıktı değerinin ikisi de aktif veya inaktif ise öğrenme oranıyla bağlantı ağırlıkları artırılır aksi durumda azaltılır (66).

2.3.5.6. Kohonen Öğrenme Kuralı

Bu öğrenme kuralında işlem elemanları öğrenme şansını elde etmek için yarışır veya kendi ağırlıklarını düzeltir. Bu yarışta en geniş çıktı kümesine sahip olan işlem elemanı birinci olur, kendisi ile yarış halindeki diğer elemanları baskılar ve kendisine yakın olan komşularını uyarır (66).

2.3.6 Aşırı Uyum (Over Fitting)

Bir ağın başarılı bir öğrenme yapabilmesi için çok iyi genelleme yapması gerekmektedir. Öğrenme sırasında meydana gelen aşırı öğrenme veya zayıf genelleme YSA'nın başarısını düşürür. Aşırı öğrenme, sistemin genelleme yapmadan ezberleme yapmasıdır. Bu durumların engellenmesi için iki farklı yaklaşım vardır:

- Öğrenmeyi Erken Durdurma, hatanın artmaya başladığı noktada eğitimin durdurulması yaklaşımıdır.
- Bayesian Regularization, Bu yöntem aşırı öğrenme problemini azaltma ve en aza indirmek için YSA yapısındaki uygun verileri hesaba katma yaklaşımı olarak açıklanabilir (78,79).

2.3.7. YSA'nın Uygulama Alanları

2.3.7.1. YSA'nın Genel Uygulama Alanları

YSA'ların ilk adımları 1943'lerde atılmasına rağmen ancak 1980'li yıllarda geniş bir kullanım alanına ulaşabilmiştir. Günümüzde ise YSA çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Stok market tahminlerinden, koyunlarda süt üretim eğrilerine, elektrik yüklemeye tahminlerinden, kimyada üretim yöntemi bölümlerinin optimizasyonuna çok geniş bir kullanım alanına sahiptir (60). YSA havacılık ve uzay sanayi, otomotiv sanayi, bankacılık sektöründe kredi derecelendirme, finansal öngörü, sigortacılık, menkul kıymetler, üretim süreci geliştirme ve kontrolü, kalite kontrol laboratuvar çalışmaları, petrol ve gaz arama çalışmaları, haberleşme, konuşma ve yapı tanımlama, elektronik, savunma, sağlık gibi birçok sektörde kullanılmaktadır (56,80). Verilerden yola çıkarak tahminde bulunmayı gerektiren satış sektörü, finans, mühendislik alanlarının yanı sıra tıp ve eczacılıkta YSA uygulamaları hızla artmaktadır. Tıp alanında insan vücudu parçalarının modellenmesi ve taramalardan elde edilen sonuçlardan hastalık tanısının konmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır. YSA'ları biyokimyasal analizlerde, genetik alanında, kardiyoloji, gastroenteroloji, onkoloji, nöroloji, jinekoloji ve patolojide teşhis ve tahmin amaçlı kullanılmaktadır (58,81). YSA'ların modelleri doğru bir şekilde sınıflandırma ve tanıma yetenekleri, birçok araştırmacının klinik problemleri çözmek için bu yöntemin kullanılmasına neden olmuştur. Tanı, tedavi ve klinik olguların sonuçların

tahmini birçok klinik, biyolojik ve patolojik değişkene bağlı olduğundan YSA gibi analitik bir yönteme gereksinim duyulmaktadır (82).

2.3.7.2. Eczacılık Alanında Yapay Sinir Ağlarının Uygulamaları

YSA farmasötik sistemler için uygun bir teknoloji olarak karşımıza çıkmaktadır. YSA'ları ile yapılan günümüzdeki birçok çalışma farmasötik alanda başarılı sonuçlar vermektedir. YSA; kantitatif yapı aktivite analizi, farmakodinamik, farmasötik formülasyon geliştirme, üretim işlemi optimizasyonu gibi alanlarda kullanılmaktadır. YSA özellikle farmasötik işlemlerde sıklıkla karşılaşılan doğrusal olmayan (non-linear) veri setlerinde ümit verici bir modelleme tekniğidir. YSA daha az istatistiksel denemelere gereksinim duyar. Karmaşık eşitlikler gerekmeden bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki doğrusal olmayan ilişkiyi ve etkileşimi tespit edebilir. Analitik sonuçların yorumu (kalite kontrolde farmasötik analiz modellemesi), hammadde tasarımı (QSAR ve molekül modelleme), dozaj şekli tasarımı (üretim işlemi optimizasyonu), biyofarmasötik (farmakokinetik ve farmakodinamik modelleme, invitro/invivo korelasyon) aracılığı ile klinik eczacılıkta yaygın şekilde kullanılmaktadır (72).

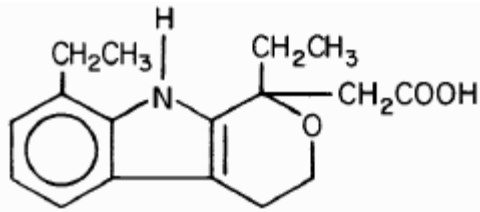
Zupani Bozic ve diğ. (1996) uzatılmış salım sağlayan diklofenak sodyumun in vitro çözünme çalışmalarının optimizasyonu çalışmalarında YSA teknolojisini kullanmıştır. Formülasyon bileşenlerinin in vitro çözünme hızına etkisi YSA yöntemi ile analiz edilmiştir (83). Mendyk ve Jachowicz (2005) ketoprofenin katı dispersiyonu ve fiziksel karışımının in vitro çözünme sonuçlarından hedeflenen formülasyonu geliştirme çalışmalarını YSA modeli kullanarak yapmışlardır (84). Mandal ve diğ. (2007) metformin içeren kontrollü salım sağlayan matriks tabletlerin optimizasyonu çalışmalarında çok tabakalı algılayıcılar kullanmışlardır (85). Agatonovic ve diğ. (1999) çalışmalarında ise ranitidin hidroklorürün poliformik karışımından iki kristal şeklin nicel ve nitel tanıma kapasitesini ve kristal şeklinin tanımlanmasını ve tablet içindeki etkin madde miktarını YSA modeli ile araştırmıştır (86). Chen ve diğ.(1999) kontrollü salım sağlayan optimum formülasyonu geliştirmek için YSA ile çalışmışlardır (87). Leane ve diğ.'nin yaptıkları çalışmada enterik kaplı uzatılmış salım sağlayan tabletlerin formülasyon ve işlem değişkenlerinin önemini, in vitro çözünme sonuçlarını kullanarak test etmişlerdir

(88). Peng ve diğ. yaptıkları çalışmada asetaminofen boncuklarının işlem değişkenlerini girdi kümesi in vitro çözünme sonuçlarını çıktı kümesi olarak seçmişler, YSA modeli kullanılarak işlem değişkenlerini optimize etmişlerdir (89). Değim ve diğ. ksenobiotiklerin deriden geçirgenliklerini tahmin etmek için YSA'larını kullanmışlardır (90). Türkoğlu ve diğ. farklı bağlayıcılar kullanarak tabletin sertliği, dağılması gibi parametrelerin optimizasyonu ile tablet basım işlemi YSA'ları ile değerlendirilmiştir (91). Valizadeh ve diğ. (2008), Peh ve diğ. (2000), Bourquin diğ. (1998), Değim (2005) YSA'nın model olarak kullanıldığı farmasötik araştırmalar yapmışlardır (92-95).

2.4. Etodolak

2.4.1. Fizikokimyasal Özellikleri

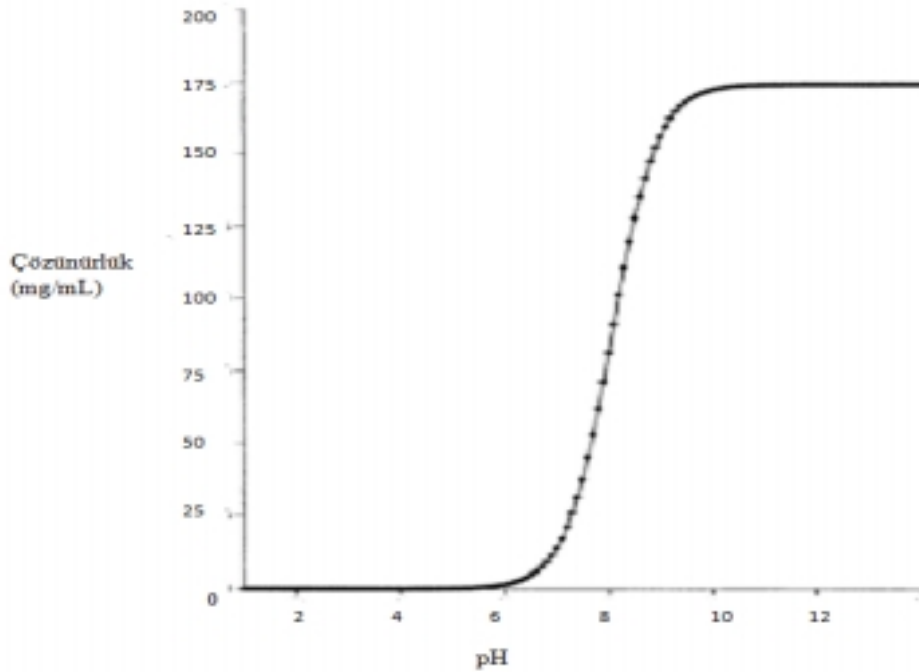
Etodolak piranokarboksilik asit türevi analjezik, antipiretik ve antiinflatuvar etkili selektif siklooksijenaz-2 (COX-2) inhibitörü nonsteroidal antiinflatuvar (NSAİİ) bir ilaçtır. Etodolak bir şiral merkeze sahip olup [+] S ve [-] R enansiyomerlerin rasemik karışımıdır. Anti inflamatuvar aktivitesinden (+) enansiyomeri sorumludur (96). Kimyasal adı (\pm)1,8-diethyl-1,3,4,9-tetrahidropirano-[3,4-b]indol-1-asetik asit olan etodolakın moleküler formülü $C_{17}H_{21}NO_3$ 'dür. Kimyasal yapısı Şekil 2.23'de gösterilmiştir (97).



Şekil 2.23. Etodolakın Kimyasal Yapısı

Etodolak beyaz kristalize bir bileşiktir. Molekül ağırlığı $287.37 \text{ mg.mol}^{-1}$ olan etodolak etkin maddesi iyonize olabilen bir gruba sahiptir; pKa'sı 4.65 ve pH 7.4'deki n-oktanol-su partiyon katsayısı 11.4'dür. Erime derecesine ilişkin literatürde 145,148 ,152, 157 °C gibi değerler verilmektedir (22,97,98).

Etodolak alkol, kloroform, dimetilsülfoksit ve sıvı poli etilen glikolde çözünür. Etodolak yapısında iyonize olabilen bir grup taşıdığı için çözünürlüğü üzerine pH'nın etkisi vardır. Etodolakın ACD Solubility Suite 6.0 Program (Advanced Chemistry Development, Toronto/Canada) ile bulunun sonuçlarına göre pH-çözünürlük profili Şekil 2.24'de verilmektedir (99). Yazdanian ve diğ. tarafından yapılan bir çalışmada etodolakın pH 1.2, pH 5.0 ve pH 7.4 deki çözünürlükleri sırasıyla 0.04, 0.14 ve 4.5 mg.mL⁻¹ olarak saptanmıştır (27). Bazı kaynaklarda etodolakın suda çözünmediği belirtilmektedir (22,93) ancak Milic-Askrobic ve diğ. yaptıkları çalışmada ise etodolakın sudaki çözünürlüğü 0,01 mg.mL⁻¹ olarak bulunmuştur (100). Etodolakın çözünmesini ve stabilitesini artırmaya yönelik Barakat yaptığı çalışmada Gelucire 44/14 ve D- α -tokoferil polietilen glikol 1000 süksinat (TPGS) kullanılmış, etodolakın farklı dispersiyonları hazırlanmıştır. Çalışma sonunda etodolakın sudaki çözünürlüğü 75 μ g.mL⁻¹ bulunmuştur. Gelucire 44/14 ve TPGS'nin % 15 konsantrasyonda eklendiği dispersiyonlarda ise çözünürlüğünün sırasıyla 22 ve 27 kat arttığı belirtilmiştir. Burada etodolakın çözünürlüğünün artmasının nedeni etodolakın ıslanabilirliğinin ve miseller çözünürlüğün artması olarak gösterilmiştir (101).



Şekil 2.24 Etodolakın ACD Suite 6.0 Programı ile hesaplanmış sonuçlara göre pH-çözünürlük profili (Advanced Chemistry Development Toronto/CANADA) (99).

Etodolak higroskopik bir maddedir. Etodolakin (% 20) Gelucire 44/14:TPGS (% 80) sıvı dispersiyonun oda sıcaklığında ve 4 °C'de % 0 RH'de (relatif nem) kimyasal ve fiziksel özelliklerinin değişmediği gözlemlenmiştir (101). Etodolakin [+] S ve [-] R sodyum tuzları hazırlanarak 7 gün boyunca % 75 RH'de incelenmiş ve ağırlığının % 5.4'nü kaybettiği tespit edilmiştir (99).

2.4.2. Farmakokinetik Özellikleri

Etodolak oral yoldan alındığında hızlıca ve neredeyse tamamen absorbe olur (102). Etodolak tabletin sistemik biyoyararlanımı, çözeltisi ile karşılaştırıldığında % 100'dür ve kütle denge çalışmalarında bu değer en az % 80 olarak saptanmıştır. Etodolak çok iyi absorbe edilir ve 200 mg kapsül, çözelti şekli ile karşılaştırıldığında relatif biyoyararlanımı % 100'dür. Yazdanian ve diğ. Caco-2 hücrelerinde yapmış oldukları çalışmada, apikalden bazolaterale ve bazolateralden apikale permeabilite değerlerini 200 mg etodolak için, $P_{Caco-2 \times 10^6}^{A-B}: 23.4 \pm 2.1$ cm/s, $P_{Caco-2 \times 10^6}^{B-A}: 26.8 \pm 2.0$ cm/s ve 400 mg etodolak için $P_{Caco-2 \times 10^6}^{A-B} : 21.9 \pm 2.3$ cm/s, $P_{Caco-2 \times 10^6}^{B-A} : 23.9 \pm 2.6$ cm/s olarak bulmuştur. Etodolak oral alımdan sonra önemli bir ilk geçiş etkisine uğramaz. Tek doz 200 ile 600 mg etodolak alımında ortalama C_{max} değerleri 14 ± 4 ile 37 ± 9 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ arasındadır ve bu değerlere 80 ± 30 dakikada ulaşılır. Plazma konsantrasyonu zaman eğrisi (EAA) her 12 saatte bir 600 mg üzerinde etodolak alındığında doğrusal olarak devam eder. Her 12 saatte bir 400 mg etodolak alındığında plazma pik konsantrasyonu hem toplam hem de serbest etodolak dozuyla orantılıdır. Fakat 600 mg'lık doz alımından sonra pik daha düşük dozlara göre % 20 daha artar. Cayen ve diğerlerinin yaptığı çalışmada 25-1600 mg doz aralığında tek doz etodolakin sağlıklı erkek gönüllülere verilmesini takiben 400-1600 mg doz aralığında EAA'nın doza bağımlı olarak arttığı, yani doğrusal farmakokinetik gösterdiği saptanmıştır (103). Etodolakin gıdalar ile birlikte alınması biyoyararlanımını etkilemez ancak serum pik konsantrasyonunu düşürür ve geciktirir. Yiyeceklerle alındığında yaklaşık yarım saatte erişilen pik konsantrasyonu düşer ve pik konsantrasyon zamanı 1.4 saatten 3.8 saatte kadar artar (102).

Etodolakin farklı izomerlerinin farmakokinetik özelliklerinin karşılaştırıldığı Shi ve diğ. yaptığı çalışmada, C_{max} ve EAA_{0-t} , R-(-) enansiyomerinde yüksek, CL(s) ve V/F değerlerinin ise S-(+) enansiyomerinde yüksek olduğu gösterilmiştir,

($P < 0.05$). Bu sonuçlar ratlarda etodolakin oral alımını takiben farklı izomerlerinin farmakokinetiklerinin de farklı olduğuna işaret etmektedir (104). Etodolakin ortalama görünür dağılım hacmi (V_d/F) 390 mL/kg'dır. Etodolak % 99'dan daha fazla oranda plazma proteinlerine özellikle de albümine bağlanır. Serbest fraksiyon oranı % 1'den azdır ve etodolakin toplam konsantrasyonundan bağımsızdır. Etodolakin insan sütüne geçip geçmediği bilinmemektedir fakat fiziksel ve kimyasal özellikleri temel alındığında süte geçtiği düşünülmektedir. Etodolak ile ratlarda yapılan çalışmalarda özellikle kanda, konektif dokularda ve kalp, böbrek, karaciğer ve akciğer gibi yüksek oranda kanlanan organlarda lokalize olduğu gösterilmiştir (98,103).

Etodolak büyük oranda karaciğerde metabolize olur. Etodolakin metabolizmasındaki spesifik sitokrom P_{450} 'nin rolü tam olarak bilinmemektedir. İnsan plazma örneklerinde ve idrarda çok sayıda etodolak metaboliti tanımlanmıştır. Metabolitler 6-, 7- ve 8- hidroksi-etodolak ve etodolak glukuronattır. Diğer metabolitleri henüz tanımlanamamıştır. Tek doz ^{14}C -etodolak alımından sonra sayılan hidroksillenmiş etodolak metaboliti oranı, serumdaki toplam etodolak miktarının % 10'nundan azdır. Kronik dozlamada, böbrek fonksiyonları normal hastaların plazmalarında hidroksillenmiş etodolak metaboliti ölçülemediği. Hidroksillenmiş etodolak metabolitleri glukuronidasyona uğradıktan sonra böbreklerden ve parsiyel eliminasyonla feçes ile atılır (97,103).

Oral dozlamadan sonra etodolakin ortalama oral klerensi $49 (\pm 16)$ mL/h/kg'dır. Etodolakin alınan dozunun genellikle %1'i değişmeden idrarla atılır. Verilen dozun % 72'si ise ana ilaç ve metabolitleri olarak idrarla atılır. Bu metabolitlerden etodolak glukuronat % 13, hidroksillenmiş metabolitler (6-, 7-, 8-OH) % 5, hidroksillenmiş metabolitlerin glukuronatları % 2, tanımlanamayan metabolitler % 33 oranındadır, dozun % 16'sı ise feçes ile atılır (97,103).

Etodolakin atılımında renal eliminasyonun önemli bir rolü olmasına rağmen renal yetersizliği olan veya hemodiyaliz altındaki hastalarda doz ayarlamasına gerek yoktur. Yapılan bir çalışmada etodolakin terminal yarı ömrü 6.4 saat (% VK 22)

olarak, Cayen ve diğ. yaptıkları çalışmada da bu değer 7 saat olarak tespit edilmiştir (97,103).

2.4.3. İlaç Etkileşimleri

NSAİİ'ler, ACE-inhibitörlerinin antihipertansif etkilerini azaltmaktadır, antiasitlerle etodolakın birlikte alınması etodolak absorpsiyonunu etkilememekte, ancak pik konsantrasyonunu % 15-% 20 oranında azalmakta pik zamanını ise değiştirmemektedir. Etodolakın aspirin ile alınması halinde plazma proteinlere bağlanma oranı azalmakta serbest etodolakın klerensi değişmemektedir. Etodolak diğer NSAİİ'ler gibi doğrudan renal prostaglandinlere etki ettiğinden siklosporin, digoksin ve metotreksat gibi ilaçların eliminasyonlarını değiştirerek serum düzeylerini yükseltmekte ve toksisitelerinin artmasına neden olmaktadır. Etodolakın furosemid ve hidroklorotiyazid ile beraber alınmasında farmakokinetik bir etkileşim yoktur. Buna rağmen pazarlama sonrası çalışmalar bazı hastalarda etodolak tabletlerinin furosemid ve tiyazidlerin natriüretik etkilerini azalttığını göstermektedir. NSAİİ'ler plazma lityum düzeyini % 15 artırmakta ve renal klerensi % 20 oranında azaltmaktadır. Etodolak fenilbutazon ile birlikte alındığında serbest etodolak fraksiyonun (% 80) arttığı gözlenmiştir. Bu iki ilacın birlikte alınmaması önerilmektedir. Varfarin ve etodolakın mide bağırsak kanalında kanamaya sinerjistik etkisi olduğu için bu iki ilacı aynı anda alan hastalarda kanama riski daha yüksektir (97).

2.4.4. Kullanım Şekli ve Dozu

Etodolak akut ve uzun süreli osteoartrit ve romatoid artirit tedavisinde oral yoldan kullanılmaktadır. Osteoartrit ve romatoid artirit tedavisinde başlangıç dozu günde iki veya üç doz halinde 300 mg veya günde iki doz 500 mg olarak önerilmektedir (97).

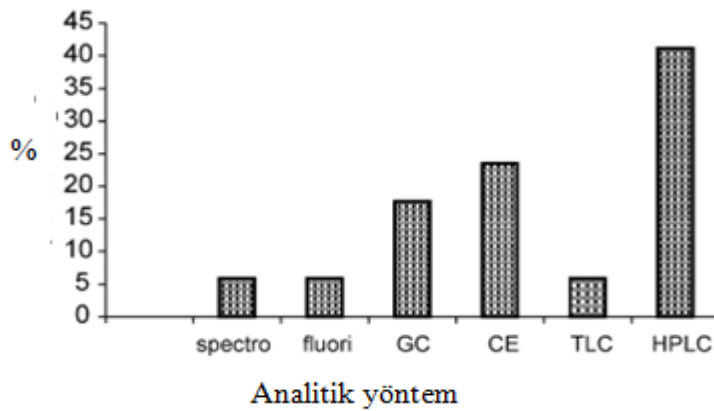
2.4.5. Yan Etkileri

Etodolakın en sık rastlanan yan etkileri; mide bağırsak sisteminde ülserasyon, kanama ve perforasyon, abdominal ağrı, mide yanması, hazımsızlık, diyare, bulantı,

anaflaktik (alerjik) reaksiyonlar, bulanık görme, ciltte kaşıntı, kilo alma, ödem, nefrotoksisite, hepatoksisite, ototoksisite ve kas kasılmasıdır (97,98).

2.4.6. Miktar Tayini Yöntemleri

Etodolakın in vivo ve in vitro miktar tayini için farklı yöntemler türetilmiş, bu yöntemlerin dağılımı Şekil 2.25’de gösterilmiştir (105). Etodolakın USP 29’a kayıtlı monografında, tablet dozaj şeklinden miktarının, UV absorbansı ölçülerek (pH 6.8 fosfat tamponu, $\lambda_{\max}=274$ nm) tayin edilebileceği belirtilmiştir (44).



Şekil. 2.25. Etodolakın miktar tayininde kullanılan yöntemler.

El Kousy basıma hazır toz karışımında halindeki ve dozaj şekli içindeki etodolakın analizi için spektrofotometrik ve fluorometrik yöntemler kullanmışlardır. Etodolakın etonoldeki çözeltisi 235 nm’de eksitasyon ve 345 nm’de emisyon ile doğal floresans göstermektedir (106). Amer ve diğ. tarafından geliştirilen yöntemde formülasyon içindeki etodolak miktar tayini, bakır (II) ve demir (III) ile oluşan renkli bileşiğin 684 nm ve 385 nm dalga boylarında kolorimetrik yöntemle okunması ile yapılmıştır (107). Boni ve diğ. juvenil romatoid artirit hastalarında etodolakın farmakokinetik parameterlerini araştırdıkları çalışmalarında, plazma etodolak miktar tayini için, UV dedektörlü HPLC yöntemini kullanmıştır (108). Davis ve diğ. ise atlarda oral ve intravenöz uygulama sonrasında etodolakın farmakokinetik ölçütlerini saptamışlardır. Bu çalışmada etodolakın plazma konsantrasyonunun 274 nm’de UV dedektörlü HPLC ile tayin edilmiştir (109). Bir başka çalışmada Etodolak tayini için RP-LC (Reverse Phase Liquid Chromatographic) yöntemi geliştirilmiş ve valide

edilmiştir (110). Pablos ve diğ. yaptıkları çalışmada, rasemik etodolak içeren farklı formülasyonlardan enansiyomerlerinin tayini için, kapiller elektroforez ile şiral ayırım metodu geliştirmiş ve valide etmişlerdir (111).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Etodolak	Dr. Reddy's, Hindistan
Sitrik asit	Carlo Erba, İtalya
di- sodyumhidrojenfosfat- dihidrat	Merck, Almanya
Sodyum Lauril Sülfat	Merck, Almanya
Sodyum Hidroksit	Merck, Almanya
Lodine 200 mg Film Tablet	Daiichi-Sanko,Fransa

3.1.2. Kullanılan Aletler

Çözünme Hızı Cihazı	Sotax CH-4123 , İsviçre
UV Spektrofotometre	Schimadzu, Japonya
Manyetik Karıştırıcı	Heildolph, Almanya
Hassas Terazı AX200	Schimadzu, Almanya
pH metre	Sartorius, Almanya
DSC Q 100	TA Instrument, ABD
FT-IR	Bruker Vector 22, ABD
Yatay Çalkalayıcılı su banyosu	Memmert, Almanya
Ultrasonik su banyosu	Advantage-Lab, İsviçre
Erime derecesi tayin cihazı	Thomas Hover, ABD
X-Işını difraktometresi	Rigaku, Japonya
Partikül Büyüklüğü Tayin Cihazı	Malvern Hydro 2000S, İngiltere

3.2.Yöntemler

3.2.1. Etodolakın Fizikokimyasal Özellikleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Etodolakın fizikokimyasal özelliklerini tayin etmek amacıyla ultraviyole (UV) spektrumları ile Fourier Transform Infra Red (FT-IR) spektrumu çekilmiş, ayrıca diferansiyel taramalı kalorimetrik analizi, erime derecesi tayini, X-ışınımı kırınımı analizi ve çözünürlük deneyleri yapılmıştır.

3.2.1.1.UV spektrumu

Etodolakın çözünme hızı testinde kullanılan ortamlardaki (Tablo 3.1 ve 3.2) ve pH 6.0, pH 6.0+±0.02 SLS ortamlarındaki 12 µg.ml⁻¹ konsantrasyondaki çözeltileri hazırlanmış ve 200-400 nm dalga boyu aralığında UV spektrumu, 1x1 cm'lik kuartz hücreler içerisinde taranarak etodolak çözeltisinin λ_{max} değeri saptanmıştır.

3.2.1.2. FT-IR Spektrumu

Etodolakın, Bruker Vector 22 (ABD) FT-IR spektrofotometresi ile toz halinde 650 – 4000 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında spektrumu çekilmiş ve değerlendirilmiştir.

3.2.1.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi

Etodolakın DSC Analizi DSC Q 100 (ABD) diferansiyel taramalı kalorimetre kullanılarak yapılmıştır. Alüminyum panlar içine yerleştirilen örnek ile (5.2 mg) 10 °C/dk hızda 10-200 °C sıcaklık aralığında azot atmosferi altında etodolakın DSC termogramları çekilmiştir. DSC cihazının kalibrasyonu için indiyum standardı kullanılmıştır.

3.2.1.4. X-Işını Kırınım Analizleri

Etodolakın X-ışını kırınımı analizi Rigaku X-ray Diffractometer (Japonya) X-Işını kırınımı cihazı kullanılarak 40 kV voltajda, 0.02°/dk tarama hızında 2θ: 5-50° arasında taranarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.5. Erime Derecesi Tayini

Kılcal bir tüp içerisine yerleştirilen toz halindeki etodolak etkin maddesinin erime noktası, erime derecesi tayin aygıtında (Thomas Hoover, ABD) belirlenmiştir. Cihaz beklenen erime derecesinin 10°C altına kadar ısıtıldıktan sonra, içerisinde etodolak bulunan kılcal tüpler cihaza yerleştirilmiştir. Aletin standart ısıtma hızına göre sıcaklığı artırılarak, etodolakin erimeye başladığı sıcaklık ile erimenin tamamlandığı sıcaklık aralığı kaydedilmiştir.

3.2.1.6. Partikül Büyüklüğü Dağılımı Analizi

Etodolakin partikül büyüklüğü tayini için 20 mg etodolakin 10 mL'lik balon jöjelerde distile su ile dispersiyonu hazırlanmış, 2 dk ultrasonik su banyosunda bekletilmiş ve Malvern Mastersizer Hydro 2000S aleti (İngiltere) kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.2. Etodolakin İn Vitro Miktar tayini

3.2.2.1. Deney Tasarımı

Etodolakin in vivo ortamdaki çözünürlük ve çözünme hızının tahmin edilebilmesi amacıyla in vitro ortamda in vivo koşullar yansıtılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla birçok ilaç için absorpsiyon bölgesi olan ince bağırsak ortamı taklit edilmiştir. İnce bağırsak pH'sının açlık ve tokluk koşullarını yansıtılabilmek için pH 4.4, pH 5.6 ve pH 6.8 fosfat tamponu içeren çözünme ortamlarında etodolakin çözünürlük ve çözünme hızı çalışmalarının yapılması tasarlanmıştır. Ayrıca ince bağırsaktaki yüzey etkin maddelerin varlığı göz önünde bulundurularak % 0.5 ve % 1 konsantrasyonlarda sodyum lauril sülfat içeren pH 4.4, pH 5.6 ve pH 6.8 tampon (112) çözeltilerinde çözünürlük ve çözünme hızı çalışmaları yapılmıştır. Etodolakin tablet dozaj şeklinden çözünme hızı sonuçlarının yapay sinir ağları uygulamasında girdi verilerini oluşturması hedeflenmiştir. Bu amaçla Box–Wilson Central Composite Design $\alpha=1$ yöntemine göre oluşturulan standart protokol doğrultusunda deney tasarımı Tablo 3.1'deki gibi yapılmıştır (113). Çözünme ortamı pH'sı (X_1) ve yüzey etkin madde konsantrasyonu (X_2), girdi değişkenleri olarak seçilmiş ve bu

değişkenlerin üç farklı düzeyi çalışılmıştır, çıktı olarak zamana karşı % çözünme etodolak miktarları ve in vitro çözünme kinetiğinden elde edilen eğimler seçilmiştir. Çalışılan aralık pH için 4.4-6.8, yüzey etkin madde konsantrasyonu için % 0-%1'dir. Merkez nokta (0,0 noktası (5.6,0.5)) 5 tekrarlı çalışılmıştır. Bağımsız değişkenler olan X_1 ve X_2 'nin farklı düzeylerinin kombinasyonlarından oluşan 13 farklı in vitro çözünme deneyi yapılmıştır. Bu kombinasyonlar ve her bir düzey için verilen kod seviyeleri Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Deney tasarımında kullanılan central composite dizayn.

Deneme no	Değişkenlerin seviye kodları		
	X_1	X_2	
1	-1	-1	
2	-1	0	
3	-1	1	
4	0	-1	
5	0	0	
6	0	1	
7	1	-1	
8	1	0	
9	1	1	
10	0	0	
11	0	0	
12	0	0	
13	0	0	
Kod seviyesi	-1	0	1
X_1 : pH	4.4	5.6	6.8
X_2 : % SLS Konsantrasyonu	0	0.5	1

Tablo 3.1.'de yer alan pH ve SLS konsantrasyonunun farklı kombinasyonları sonucu elde edilen çözünme ortamlarına ilave olarak pH 6.0 ve pH 6.0 % 0.02 konsantrasyonda SLS içeren ortamda etodolak için spektrofotometrik miktar tayini yöntemi de geliştirilmiştir. Bu ortamlarda elde edilen çözünme hızı sonuçları sadece yapay sinir ağının performansını test edilmesinde kullanılmıştır. Her bir ortamda etodolakin UV spektrumu sonuçlarından hareketle maksimum absorbans verdiği

dalga boyu tespit edilmiş ve bu dalga boyunda çalışılmış ve yöntem her bir ortam için valide edilmiştir.

3.2.2.2. Kalibrasyon Doğrusunun Çizilmesi

Etodolakin Tablo 3.1’de ve/veya Tablo 3.2’de belirtilen ortamlarda $12.5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda çözeltilerini hazırlanmıştır. 12.5 mg etodolak üzerine, çözücü ortam eklenmiş bir saat manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra 1 saat ultrasonik su banyosunda bekletilmiş, çözücü ile 1000 mL ’ye tamamlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltilerden hareketle $2, 4, 6, 8, 10, 12 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmış, bu konsantrasyonlarda 6 farklı seriden kalibrasyon doğruları çizilerek regresyon ve varyasyon analizleri yapılmıştır. Toplamda 6 farklı kalibrasyon serisinin ortalamasından bir kalibrasyon doğrusu elde edilerek regresyon analizi yapılmıştır. Bu işlem her bir ortam için tekrarlanmıştır.

3.2.2.3. İn Vitro Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

Bir analitik yöntemin validasyonundaki amacı; yöntemin hedeflenen amaç için uygun olduğunu göstermektir. Öncelikle analitik yöntemin amacı iyice anlaşılmalıdır, yöntem validasyonu test yönteminin doğruluk ve güvenilirliğinin kanıtlanmasıdır (114). Etodolakin in vitro miktar tayinin validasyonunda doğrusalık, doğruluk, kesinlik (tekrar edilebilirlik, ara kesinlik, tekrar elde edilebilirlik), özgünlük, duyarlılık ve stabilite gibi analitik parametreler esas alınmış ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2.3.1. Doğrusallık (Linearity)

Bir analitik yöntemde çalışılan aralıkta doğrusal bir ilişkinin olup olmadığı değerlendirilmelidir (114,115). ICH Q2B’de doğrusallığın gösterilmesi için minimum beş nokta önerilmektedir. Bu amaçla etodolakin $12.5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda stok çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden seyreltme yoluyla hazırlanan 6 farklı konsantrasyondaki nokta üzerinden UV spektrofotometresinde konsantrasyona karşı elde edilen absorpsiyon değerlerinin regresyon analizi yapılarak korelasyon katsayısı, y-eksenini kesme değeri (intersept), regresyon doğrusunun eğimi hesaplanmıştır.

3.2.2.3.2. Doğruluk (Accuracy) ve Kesinlik (Precision)

3.2.2.3.2.1. Doğruluk (Accuracy)

Bir analitik yöntemin doğruluğu analiz ile ölçülen değerlerin gerçek değerlere yakınlığıdır. Doğruluk analitik yöntemin belirtildiği aralıkta çalışmalıdır. Doğruluk deneyde bilinen miktarda eklenmiş örnekle % geri kazanılan olarak veya belirlenen (örn: % 95) güven aralığında ortalama ve gerçek değer arasındaki fark olarak değerlendirilebilmektedir. Etodolakın in vitro miktar tayini için kullanılan yöntemin doğruluğunu tespit etmek için üç farklı konsantrasyonda toplam 6 farklı seri çözeltisi hazırlanarak analiz edilmiş ve % geri kazanım değerleri hesaplanmıştır (114,116).

$$\% \text{ Geri kazanım} = \frac{\text{Tayin Edilen Konsantrasyon}}{\text{Gerçek (eklenen) Konsantrasyon}} \times 100 \quad (3.1)$$

3.2.2.3.2.2. Kesinlik (Precision)

Bir analitik yöntemin kesinliği önceden belirlenmiş koşullar altında aynı homojen numuneden alınan çoklu örneklerden elde edilen bir dizi ölçüm sonuçlarının yakınlığı ile değerlendirilmektedir. Kesinlik üç düzeyde değerlendirilmektedir: Tekrar edilebilirlik, ara kesinlik, tekrar elde edilebilirlik.

3.2.2.3.2.2.1. Tekrar Edilebilirlik (Repeatability)

Tekrar edilebilirlik kısa bir zaman aralığında aynı koşullar altındaki kesinliği ifade etmektedir. Tekrar edilebilirlik aynı zamanda örnek-içi kesinlik olarak da bilinmektedir. Tekrar edilebilirlik için belirlenen aralıkta en az 9 ölçüm (örn:3 konsantrasyon/ 3 tekrar) veya test konsantrasyonunun % 100'ünde en az altı ölçüm önerilmektedir (115). Etodolak miktar tayini yöntemi validasyonu için 3 farklı konsantrasyonda 6 tekrarlı ölçüm yapılmıştır.

3.2.2.3.2.2.2. Ara Kesinlik (Intermediate Precision)

Ara kesinlik parametresinin ne ölçüde test edileceği, yöntemin kullanılmasının amaçlandığı koşullara dayanmaktadır. Rastgele seçilen

değişikliklerin analitik yöntemin kesinliği üzerindeki etkileri saptanmalıdır. Bu değişikliklere farklı günler, farklı analistler, farklı ekipmanlar örnek verilebilir. Etodolak için geliştirilen yöntemin ara kesinliğinin saptanması için, günler arası farklılıklar değerlendirilmiştir. Bu amaçla 3 farklı konsantrasyonda etodolak içeren çözeltiler 3 farklı gün içinde hazırlanarak ölçülmüştür.

3.2.2.3.2.2.3. Tekrar Elde Edilebilirlik (Reproducibility)

Tekrar elde edilebilirlik laboratuvarlar arası deneme aracılığıyla değerlendirmek ve bir yöntemin standardizasyonu durumunda, örneğin, farmakopelere yöntemin dahil edilmesi durumunda önem taşımaktadır. Deneyler arası kesinliğin saptanmasında kullanılmaktadır (115). Bu amaçla 3 farklı konsantrasyonda 6 çözeltiler hazırlanarak analiz edilmiş ve ortalama, standart sapma ve % varyasyon katsayısı (% VK) hesaplanmıştır.

3.2.2.3.3. Özgünlük (Specificity)

Bir yöntemin özgünlüğü örnek içinde bulunabilecek maddelerin (safsızlık, parçalanma, bozunma ürünleri) varlığında, analiti doğru bir şekilde ölçme yeteneğinin derecesini gösterir (117,118). Yöntemin etkin maddeye özgünlüğünü göstermek amacı ile aynı dalga boyu aralığında etodolak etkin maddesini içeren ve içermeyen örneklerin UV spektrumu alınarak karşılaştırılmıştır. Ayrıca etodolak film tabletin bileşiminde yer alan yardımcı maddeleri içeren plasebo karışımının UV spektrumu alınarak etodolak ile aynı dalga boyunda maksimum absorban verip vermediği incelenmiştir.

3.2.2.3.4. Duyarlılık (Sensitivity)

3.2.2.3.4.1. Miktar Tayini Sınırı (Limit of Quantitation)

Bir analitik yöntemin tayin sınırı örnek içindeki analizi yapılan maddenin kabul edilebilir doğruluk ve tekrarlanabilirlikte tayin edilebileceği en düşük konsantrasyondur.

3.2.2.3.5. Stabilite (Stability)

Etodolakın in vitro miktar tayininin gerçekleştirildiği ortamlardaki stabilitesini göstermek amacıyla $12 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlardaki çözeltileri hazırlandıktan hemen sonra 1. saat, 6. saat ve 24. saat sonunda miktarları tayin edilmiştir. Analiz sonuçlarını değerlendirmek üzere ortalama, standart sapma ve % varyasyon katsayısı (% VK) hesaplanmıştır.

3.2.3. Çözünürlük Deneyleri

Etodolakın farklı ortamlardaki çözünürlüklerini saptamak için örnekler $37 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de, 24 saat boyunca dakikada 80 devir olacak şekilde çalkalamaya bırakılmıştır. Aşırı doymuş çözeltisini hazırlayabilmek için ortam koşullarına göre farklı miktarlarda etkin madde kullanılmıştır (Tablo 3.2). 15 mL'lik cam flakonlara konulan örneklere 10'ar mL çözünme ortamı eklenmiş ve flakonlar kauçuk ve alüminyum kapaklarla kapatılmış, 1.saat ve 24. saat sonrasında 5 ml örnek alınarak süzildükten sonra UV spektrofotometrede analiz edilmiştir. Seçilen deney düzenine bağlı olarak oluşturulan çözünürlük deneyinin yapıldığı koşullar Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Çözünürlük deneyi koşulları.

Ortam no	pH	SLS Konsantrasyonu (%)	Etkin Madde Miktarı (mg/10 mL)
1	4.4	0	200
2	4.4	0.5	200
3	4.4	1	200
4	5.6	0	400
5	5.6	0.5	400
6	5.6	1	400
7	6.8	0	600
8	6.8	0.5	600
9	6.8	1	600

3.2.3.1. Çözünürlük Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Etodolaka ait denge çözünürlük değerleri ve doz/çözünürlük oranı hesaplanmıştır. Etodolakin yüksek çözünürlük kriterlerine sağlayıp sağlamadığını belirlemek amacıyla etodolakin en yüksek dozunun (400 mg) 250 mL çözücünde çözünmesi gerekliliği göz önünde bulundurularak çözünürlük sınıflandırması yapılmıştır (50). Ayrıca etodolakin farklı pH'larda saptanan çözünürlük sonuçlarından hareketle pH-çözünürlük profili çizilmiştir.

3.2.4. İn Vitro Çözünme Deneyleri

Etodolakin in vitro çözünme çalışmalarında 200 mg etodolak etkin maddesi içeren Lodine 200 mg Film Tablet (Daiichi Sanko, Fransa) kullanılmıştır. İn vitro çözünme çalışmaları USP 31'de belirtilen Basket yöntemi ile 37 ± 0.5 °C sıcaklıkta Sotax-CH 4123 (İsviçre) çözünme hızı aygıtı kullanılarak yapılmıştır. Devir hızı (devir/dakika) 100 rpm olarak ayarlanmıştır. 5., 10., 15., 20., 30., 45. ve 60 .dakikalarda 5'er mL örnek alınmış ve yerine sıcaklığı 37 ± 0.5 °C'ye ayarlanmış çözünme ortamından eklenmiştir. Alınan örnekler süzgeç kağıdından süzülerek UV spektrofotometrede analiz edilmiştir. İn vitro çözünme deneyinde kullanılan ortamlar Tablo 3.2'de verilmiştir.

3.2.4.1. İn Vitro Çözünme Deneylerinin Değerlendirilmesi

Etodolakin zamanın fonksiyonu olarak % kümülatif çözünen miktarları hesaplanmış, zamana karşı % çözünen etodolak grafikleri çizilmiş ve çözünme profilleri elde edilmiştir. Etodolakin in vitro çözünme işlemini tanımlamak üzere farklı matematiksel eşitlikler ile ifade edilen çeşitli kinetik modeller kullanılmıştır. Etodolakin çözünme kinetiğini en iyi açıklayan modelin Weibull Modeli olduğu tespit edilmiştir. Etodolakin in vitro çözünme kinetiğini tanımlamada en yüksek açıklayıcılık katsayısı ve en iyi doğrusal ilişki Weibull modelinde elde edilmiştir (Eşitlik 3.2) (119,120). Weibull tarafından 1951 yılında çözünme/salım işlemi için Eşitlik 3.2 geliştirilmiştir. Bu eşitlik bütün çözünme eğrileri için uygulanabilmektedir (121). Sigmoidal şeklindeki çözünme eğrilerini tanımlamada Weibull Eşitliği başarılı olmuştur (122). Weibull Eşitliğine göre farmasötik dozaj şeklinden salınan ya da çözünen etkin madde miktarı m, Eşitlik 3.2'deki gibi verilmiştir.

$$m = 1 - \exp \left[\frac{-(t-T_i)^b}{a} \right] \quad (3.2)$$

m =t zamanındaki çözelti içindeki madde miktarı

t = zaman

T_i = Çözünmenin başlaması için geçen bekleme süresi

b = salım yada çözünme profilinin şekil ölçütü

a = Ölçek parametresi, salım sürecini ifade eden ölçek

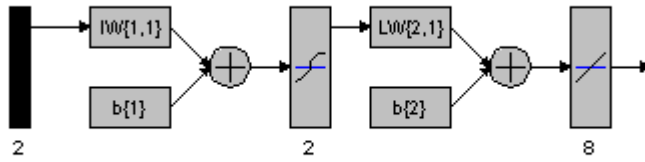
$$\log[-\ln(1 - m)] = b \log(t - T_i) - \log a \quad (3.3)$$

Şekil ölçütü eğrisel profiller için $b=1$ (Durum 1) sigmoidal şekilli profiller için $b>1$ (Durum 2) parabolik şekilli çözünme profilleri için $b<1$ değerini alır (Durum 3). Eşitlik 3.2 için logaritmik dönüşüm yapıldığında Eşitlik 3.3 elde edilir. Bu eşitlikten $-\ln(1-m)$ 'in zamana karşı grafiğe geçirilmesi ile doğrusal bir ilişki elde edilir. Şekil ölçütü bu doğrusal ilişkinin eğiminden hareketle hesaplanır, ölçek parametresi $t=1$ anındaki ordinat değerinden kestirilmektedir. Bu parametre daha açıklayıcı bir parametre olan çözünme zamanı T_d değeri ile yer değiştirildiğinde $a=(T_d)^b$ olarak ifade edilir ve $-\ln(1-m)=1$ 'e karşılık gelen zaman değerinden bulunur. $\ln(1-m)=1$ olduğunda $m=0.632$ olduğu için T_d değeri farmasötik dozaj şeklinden etkin maddenin % 63.2'sinin salımı ya da çözünmesi için gerekli olan zamana karşı gelmektedir. Eşitlik 3.3. ile etodolakin dozaj şeklinden % 63.2'sinin çözünmesi için geçen zaman hesaplanır (123,124).

3.2.5. Yapay Sinir Ağı Uygulamaları

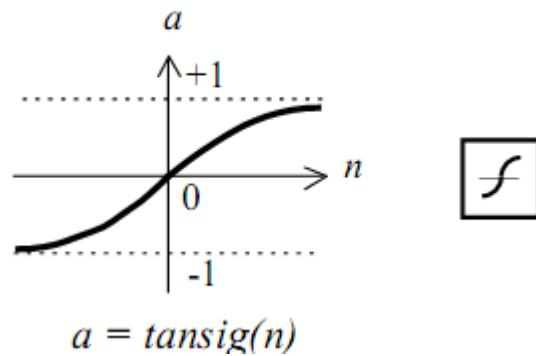
Yapay sinir ağı uygulaması için MATLAB 7.0.1 programından yararlanılmıştır. Çalışmada girdi tabakası, bir veya birden fazla gizli ve çıktı tabakalarından oluşan çok tabakalı algılayıcılar kullanılmıştır. Çok tabakalı algılayıcılar daha önce Bölüm 2.3.3.2.1'de belirtildiği gibi ileri beslemeli bir yapay sinir ağı modelidir. Öğretme için ileri beslemeli yapay sinir ağlarıyla birlikte Bayesian düzeltme (Bayesian Regularization, BR) yöntemi kullanılmıştır. Girdi verisini iki farklı bağımsız değişken (çözünme ortamının pH'sı ve içerdiği yüzey

etkin madde konsantrasyonu) ve çıktı verisini bağımlı bir değişken olan % çözünen etodolak miktarı temsil etmektedir. Zamana karşı % çözünen etodolak miktarı yapay sinir ağını öğrenmesi için kullanılmak üzere her iki bağımsız değişkenin üç düzeyi için 6 kez tekrarlanması ile elde edilmiştir. Yapay sinir ağına eğitilmesi için bu deneysel sonuçlar kullanılmıştır. Öğretme için 78 adet veri kullanılmıştır. Deney tasarımı Tablo 3.1’de verilmektedir. Model oluşturulurken 1 girdi ve 1 adet çıktı tabakası arasında en uygun sonucu elde etmek için ağırlıklar ve gizli tabaka sayısı ve düğüm sayısı deneme yanılma ile bulunmuştur. Elde edilen yapay sinir ağına 2 adet girdi ve 8 adet çıktı verisinden oluşmaktadır. Girdi ve çıktı katmanları arasında 2 adet gizli katman yer almaktadır. Şekil 3.1’de yapay sinir ağına yapı gösterilmektedir.

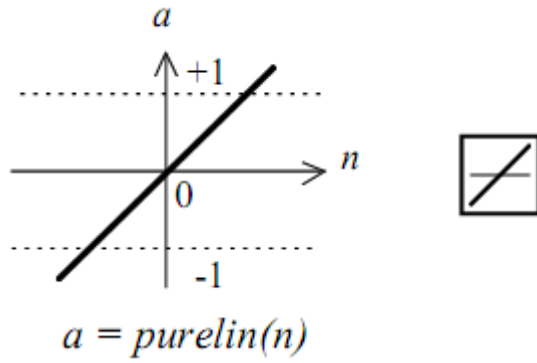


Şekil 3.1. Yapay sinir ağına yapı

Aktivasyon fonksiyonu olarak gizli tabakada ‘Tansig’ fonksiyonu ve çıktı tabakasında ise ‘Doğrusal (purelin)’ fonksiyonu kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Tanjant-Sigmoid aktivasyon fonksiyonu (80)



Şekil 3.3. Doğrusal Fonksiyon (80).

Sigmoid fonksiyonun özelliğinden dolayı, veriler ağa verilmeden önce 0-1 arasında normalize edilmiştir. Yapılan bu çalışmada girdi veri değeri olarak ortam pH'sı ve % yüzey etkin madde konsantrasyonu, çıktı değerleri olarak zamana karşı % çözünen etkin madde miktarı ve Weibull Kinetik modelinden elde edilen eğim kullanılmıştır. Bu parametrelerin her birinin maksimum ve minimum değerleri bulunarak aradaki değerler (0-1) arasında normalize edilmiştir. Buna bağlı olarak yapay sinir ağlarının üreteceği sonuçlar da 0-1 arasında olacaktır, bu durumda normalize işlemi tersine çevrilerek çıkışlar bulunur.

Diğer önemli bir nokta ise BR yönteminin daha iyi bir genelleme yapabilmek için bazı parametreleri minimize etmiş olmasıdır. Bu parametreler;

HKT: Hata kareler toplamı

AKT: Ağırlıklar kareler toplamı

parametreleri: Etkili parametrelerin sayısı

Yapay Sinir Ağı modeli % çözünen etodolak miktarının tahmin performansının değerlendirilmesi amacıyla uygulama sonrası regresyon analizi yapılmıştır. Değerlendirmede korelasyon katsayısı (r) ve doğrunun eğiminin (m) büyük olması, y-intersept değerinin (b) küçük olması gerekmektedir. Çünkü m değerinin en yüksek olduğu ve doğrunun orjinden geçtiği, b değerinin sıfıra eşit olduğu durumda tahmini ve deneysel sonuçların birbirine eşit olmaktadır (125). Ayrıca tahmini ve deneysel veriler arasındaki % hatanın düşük olması iyi bir tahmin yapıldığı hakkında fikir

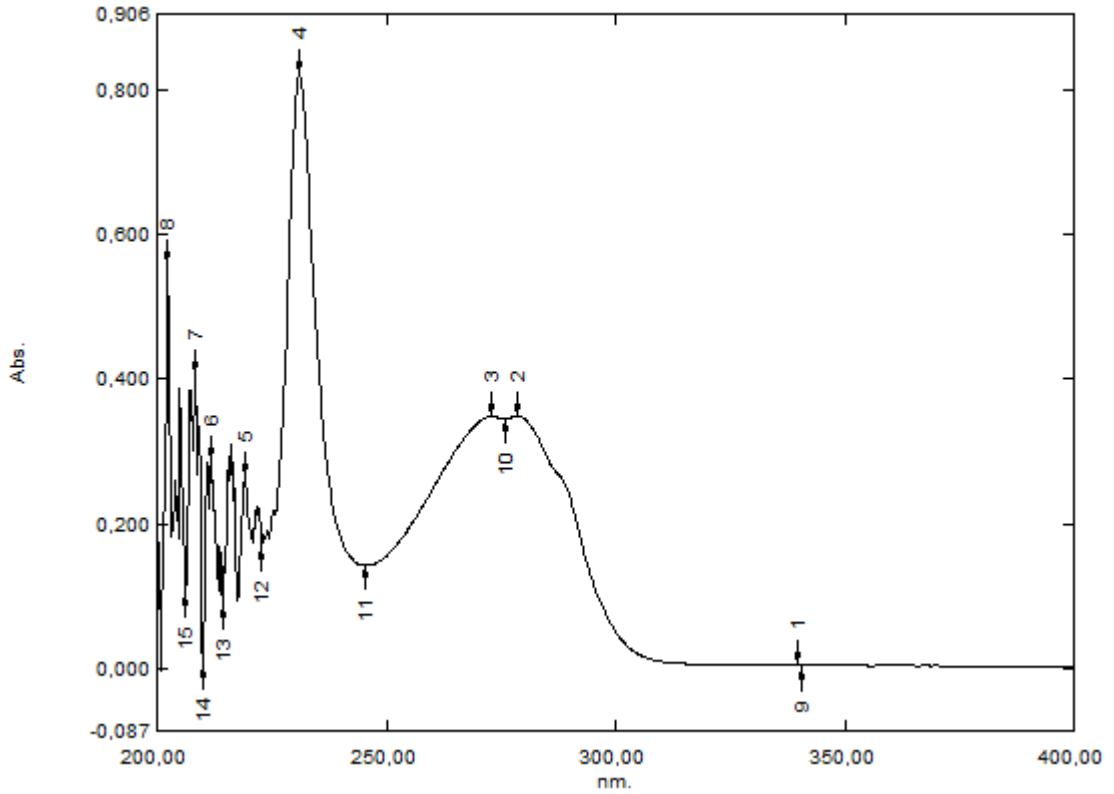
verebilir. Yapay sinir ağından elde edilen tahmini sonuçlar ve deneysel olarak elde edilen sonuçlar korelasyon grafikleri ile ve f_2 benzerlik testi ile karşılaştırılmıştır.

4.BULGULAR

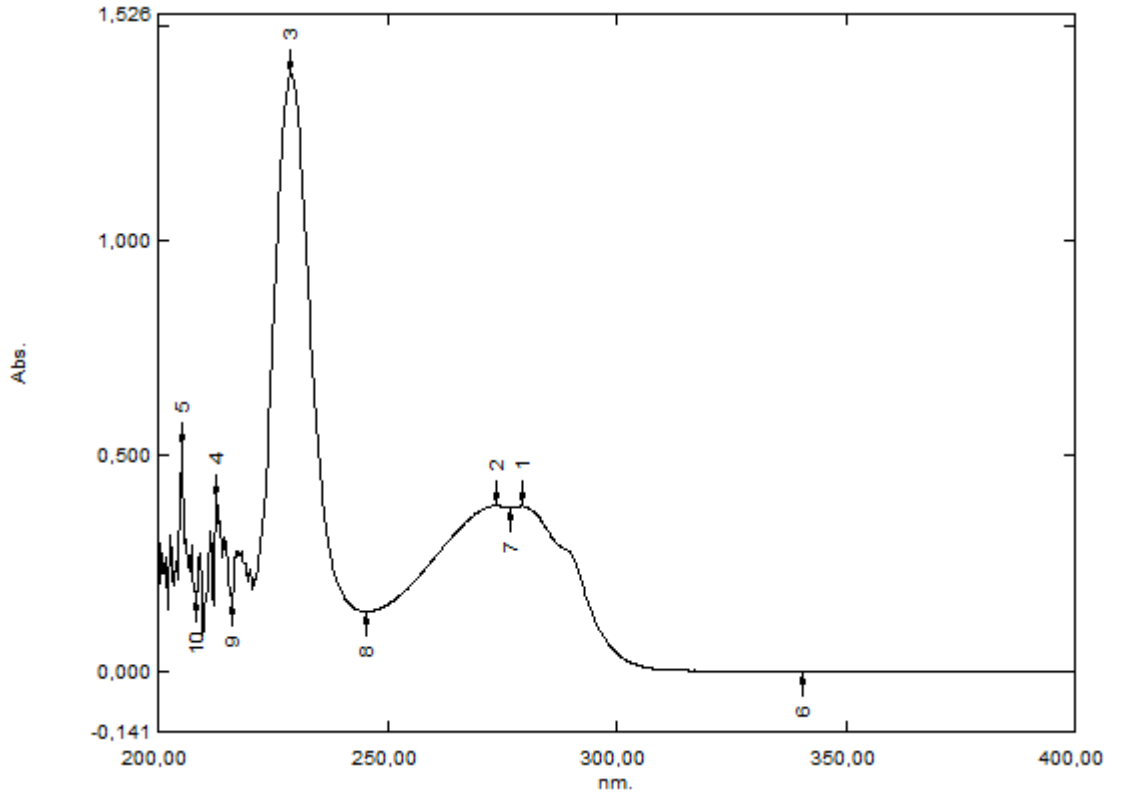
4.1. Etodolakın Fizikokimyasal Özellikleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

4.1.1.UV spektrumu

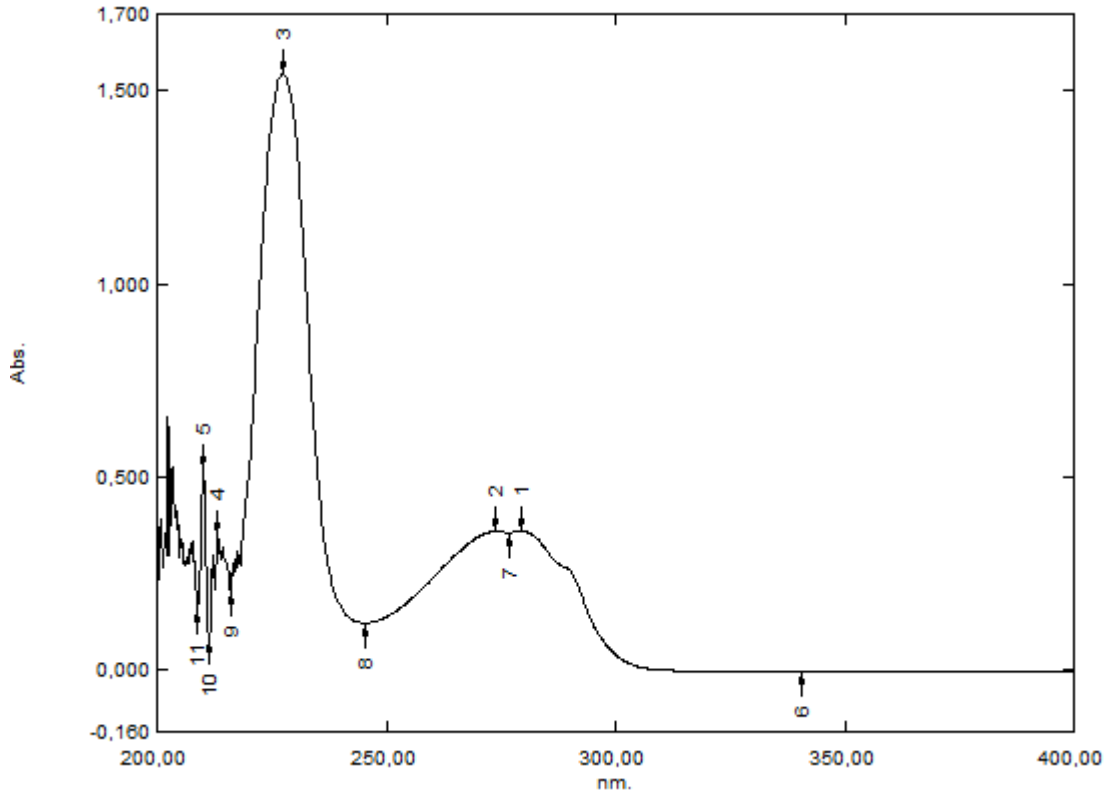
Etodolakın Bölüm 3.2.3’de belirtilen ortamlarda $12 \mu\text{g.ml}^{-1}$ konsantrasyonundaki çözeltisinin UV spektrumları Şekil 4.1 - 4.3’de verilmektedir. 200-400 nm arasında yapılan spektrum taraması sonucunda etodolaka ait maksimum dalga boyu (λ_{max}) 273 nm olarak bulunmuş ve in vitro miktar tayini yöntemlerinde bu dalga boyunda analizler yapılmıştır. Her bir ortam için aynı sonuçlar elde edildiğinden burada yalnız farklı pH ve farklı yüzey etkin madde konsantrasyonlarına ait sadece üç adet UV spektrumu verilmiştir.



Şekil 4.1. Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponunda $12 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyondaki çözeltisinin UV spektrumu.



Şekil 4.2. Etodolacın pH 5.6 fosfat tamponunun % 0.5 SLS çözeltisinde $12 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyondaki çözeltisinin UV spektrumu.



Şekil 4.3. Etodolacın pH 6.8 fosfat tamponunun % 1 SLS çözeltisinde $12 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyondaki çözeltisinin UV spektrumu.

4.1.2. FT-IR Spektrumu

Etodolaca ait FT-IR spektrumu Şekil 4.4’de verilmiştir. Etodolaca ait karakteristik piklerin FT-IR spektrum sonuçlarına göre değerlendirilmesi aşağıda yapılmıştır.

$3650\text{-}2700 \text{ cm}^{-1}$ ’de karboksilat grubuna ait kuvvetli O-H gerilim titreşimleri

$3000\text{-}2850 \text{ cm}^{-1}$ ’de aromatik C-H gerilim titreşimleri

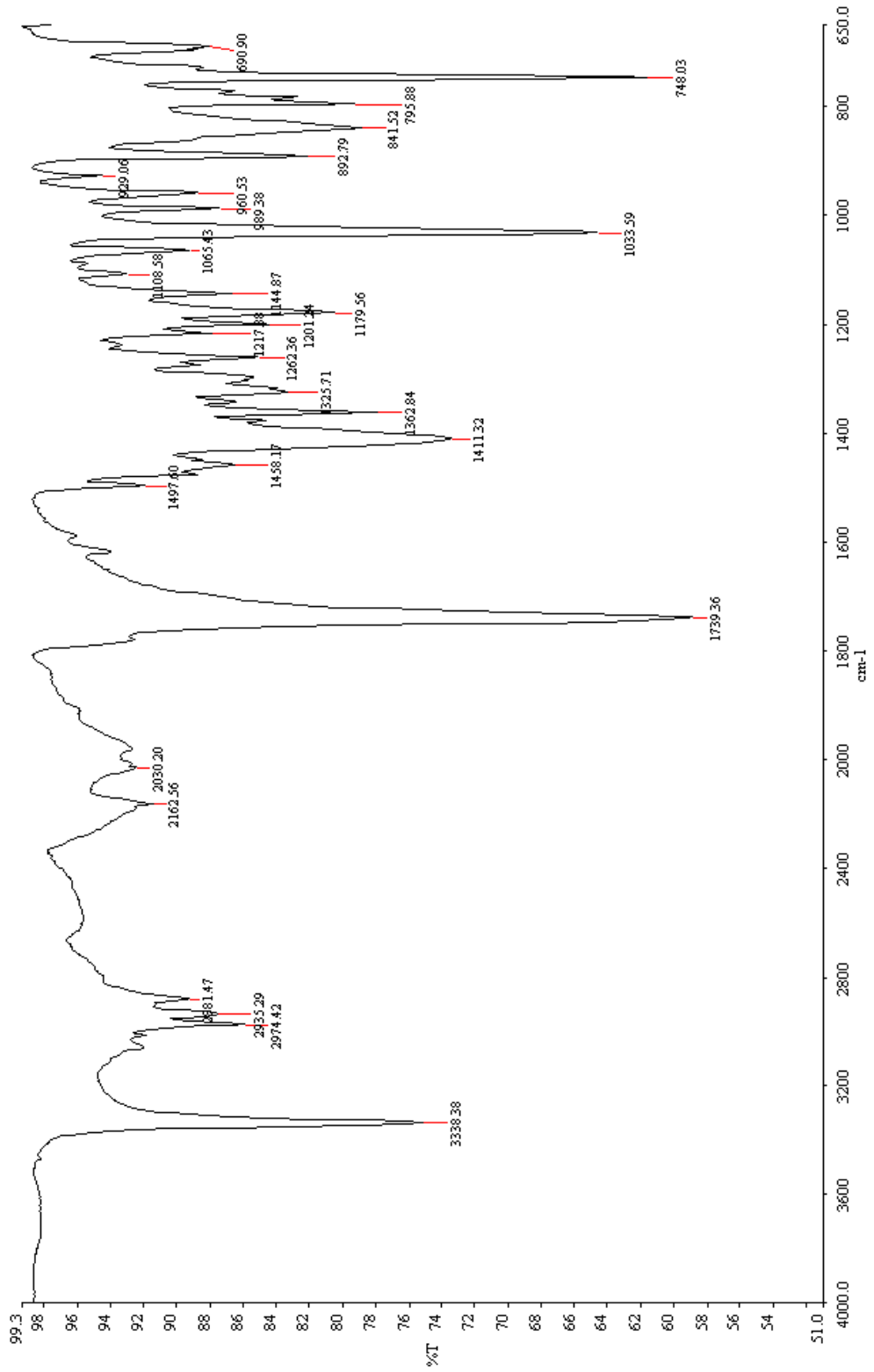
$1760 - 1690 \text{ cm}^{-1}$ ’de karboksilat grubuna ait karakteristik C=O gerilim titreşimleri,

$1465 - 1415 \text{ cm}^{-1}$ ’de alifatik halkaya ait C-H eğilme titreşimleri

$1300\text{-}1050 \text{ cm}^{-1}$ ’de ester grubuna ait C-O gerilme titreşimleri

$795\text{-} 892 \text{ cm}^{-1}$ ’de aromatik halkaya ait H-H eğilme titreşimleri

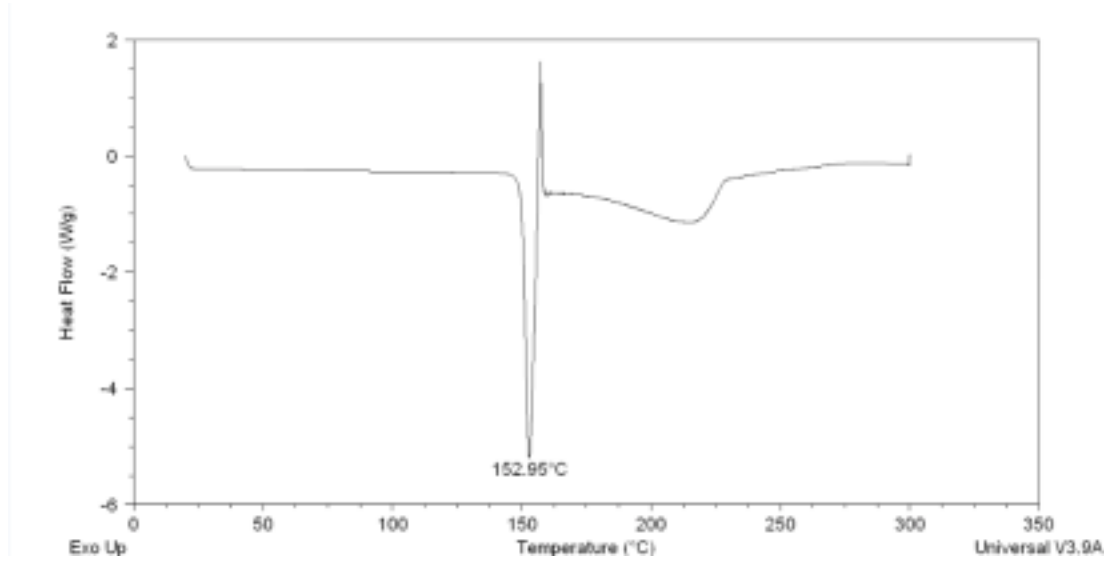
748 cm^{-1} ’de -NH eğilme titreşimleri görülmektedir.



Şekil 4.4.Etodolacın FT-IR spektrumu.

4.1.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetrik (DSC) Analizi

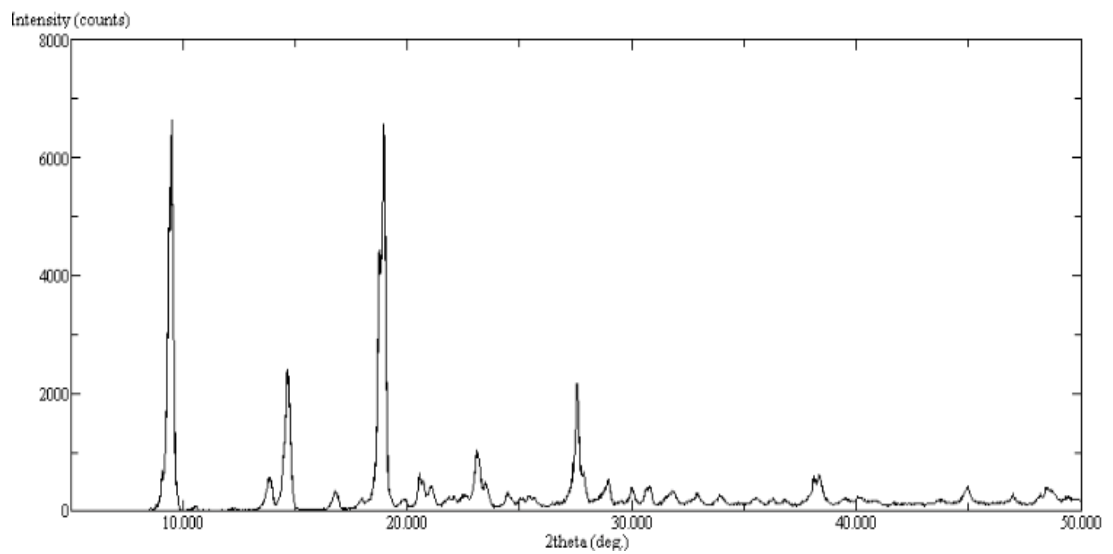
Etodolakın DSC termogramı Bölüm 3.2.1.3’de belirtildiği şekilde yapılmıştır ve 152.95 °C’de erime piki gözlenmiştir.



Şekil 4.5. Etodolakın DSC termogramı.

4.1.4. X-Işını Kırınımı Analizi

Etodolakın X-ışını kırınımı analizi Bölüm 3.2.1.4’de belirtildiği gibi yapılmıştır. X-ışını kırınımı difraktogramında piklerin gözlenmesi etodolakın kristal yapıda olduğunu gösterir.



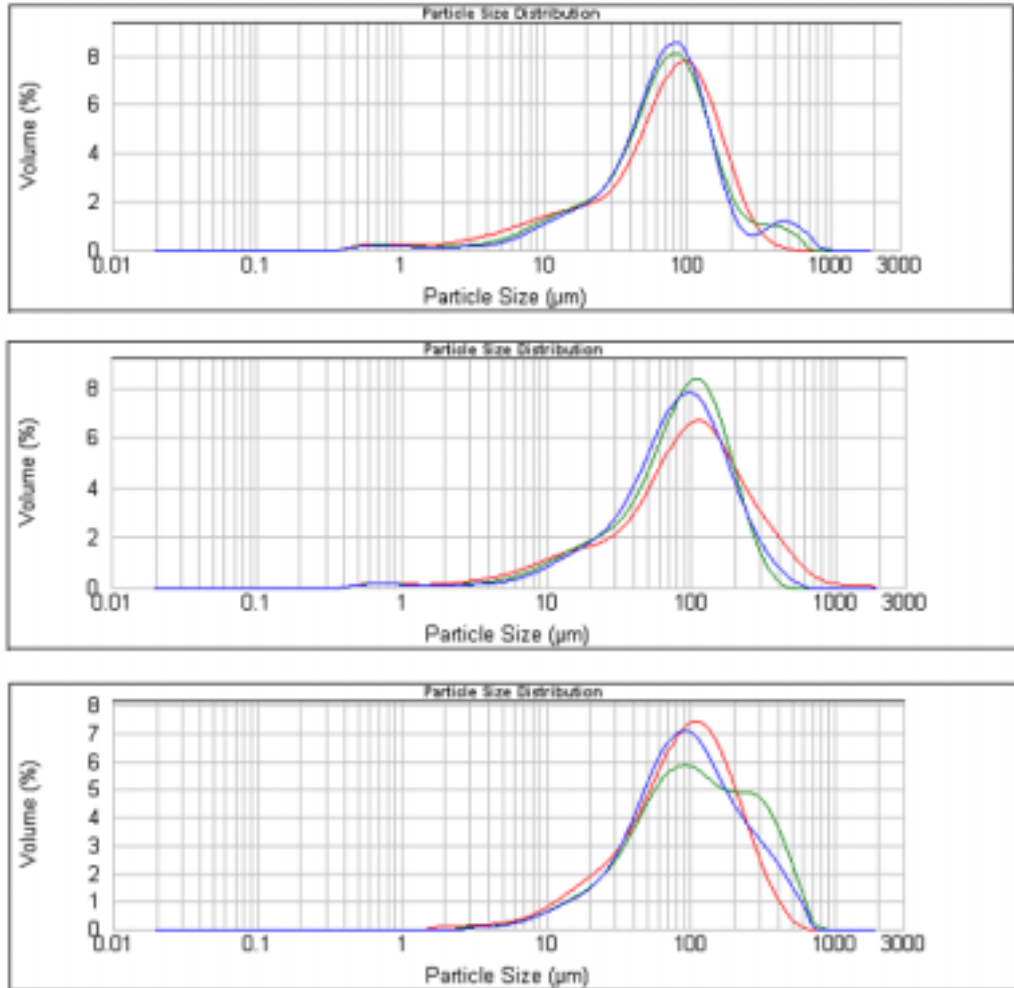
Şekil 4.6. Etodolakın X ışını kırınımı difraktogramı.

4.1.5. Erime Derecesi Tayini

Bölüm 3.2.1.5’de anlatıldığı şekilde tayin edilen etodolakin erime derecesi 151-153 °C bulunmuştur.

4.1.6. Partikül Büyüklüğü Dağılımı Analizi

Etodolakin partikül büyüklüğü tayini Bölüm 3.2.1.6’da belirtildiği gibi Malvern Mastersizer Hydro 2000S kullanılarak yapılmıştır. İç fazın refraktif indeksi 1.52, dış fazın ise 1.33 olarak alınmıştır. Her bir örnek 3 kere ölçülmek üzere 3 örnek analiz edilmiş ve ortalamaları alınmıştır. Etodolakin ortalama partikül büyüklüğü $85.502 \pm 14.584 \mu\text{m}$ bulunmuştur (Şekil 4.7).



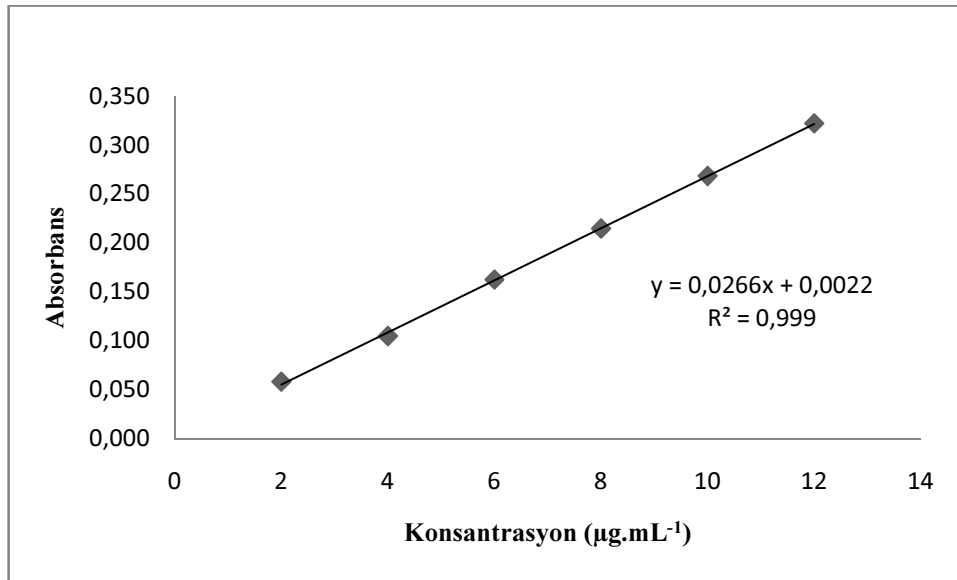
Şekil 4.7. Etodolakin partikül büyüklüğü analizi.

4.2. Etodolakın Spektrofotometrik Yöntem ile İn Vitro Miktar Tayini

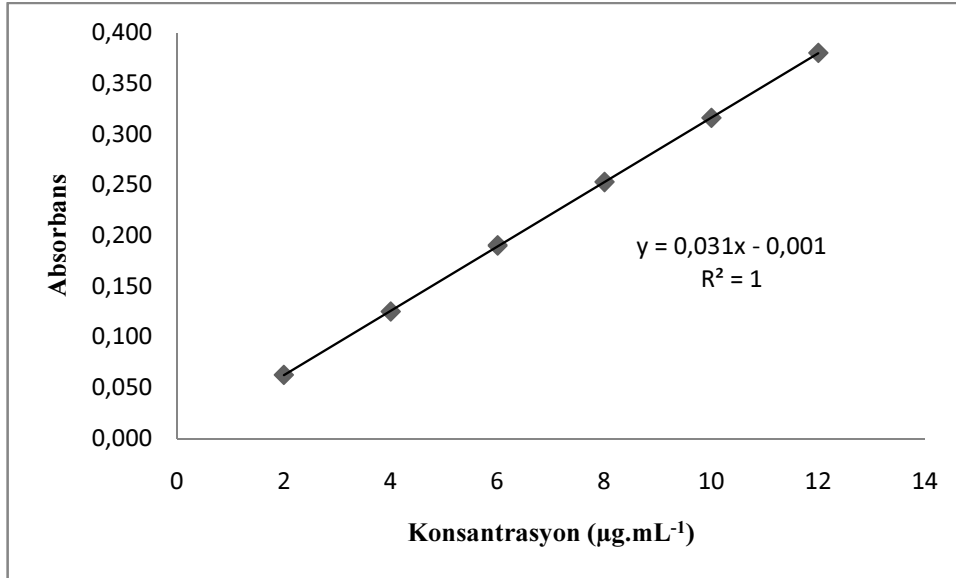
Etodolakın in vitro miktar tayini Bölüm 3.2.2’de açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Etodolak etkin maddesinin 11 farklı ortamdaki spektrumu dikkate alınarak, tüm ortamlarda maksimum absorbans verdiği dalga boyu olan 273 nm’de in vitro miktar tayini gerçekleştirilmiştir. Bölüm 3.2.2.1’de belirtilen her bir ortamda etodolak için kalibrasyon doğrusu elde edilmiştir (Şekil 4.8- 4.17).

4.2.1.Etodolaka Ait Kalibrasyon Doğruları

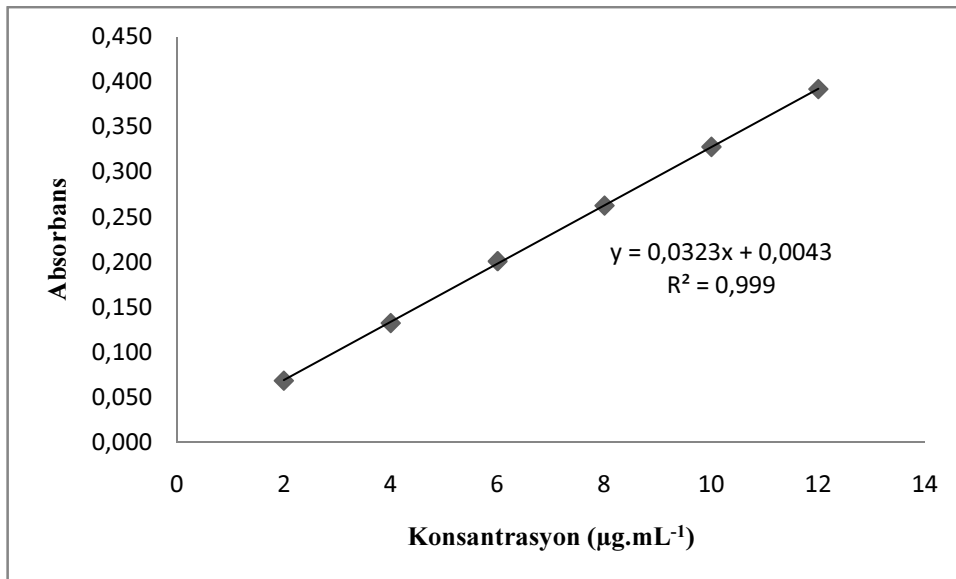
Bölüm 3.2.2.2’de açıklandığı gibi etodolakın çalışmamızda kullandığımız her bir ortamda elde edilen kalibrasyon doğruları ve denklemleri Şekil 4.8 - 4.17’de verilmiştir.



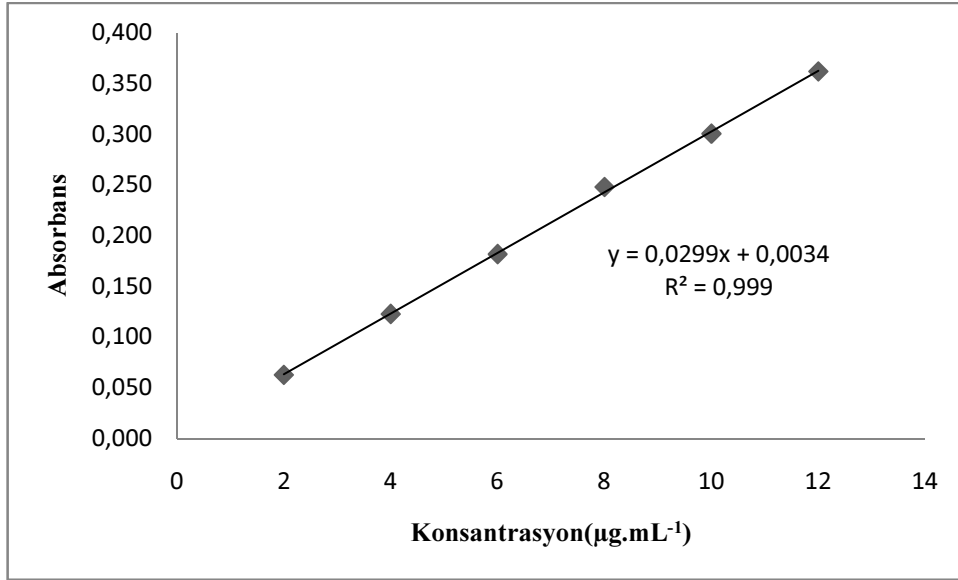
Şekil 4.8. Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponu çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemleri (n=6)



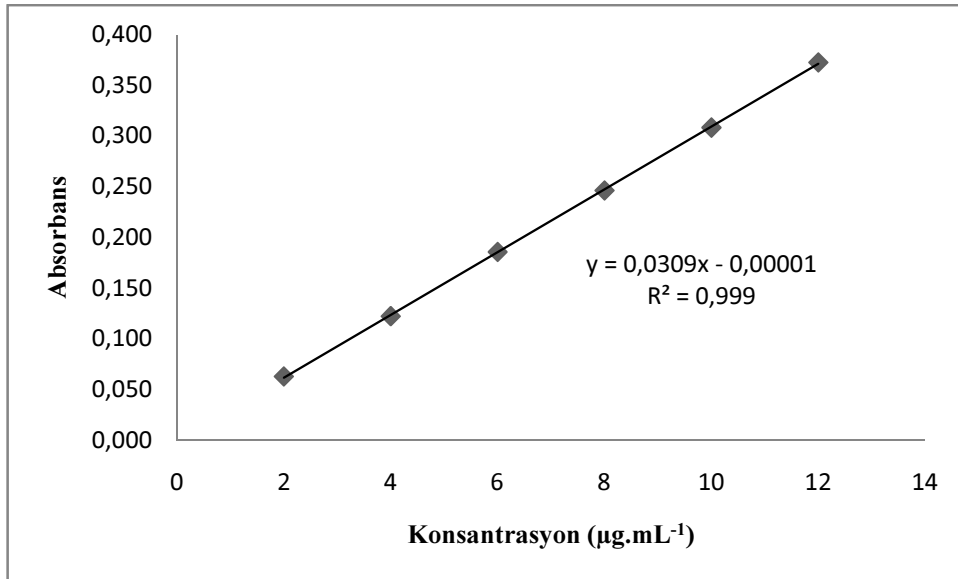
Şekil 4.9. Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponu (% 0.5 SLS içeren) çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemini (n=6)



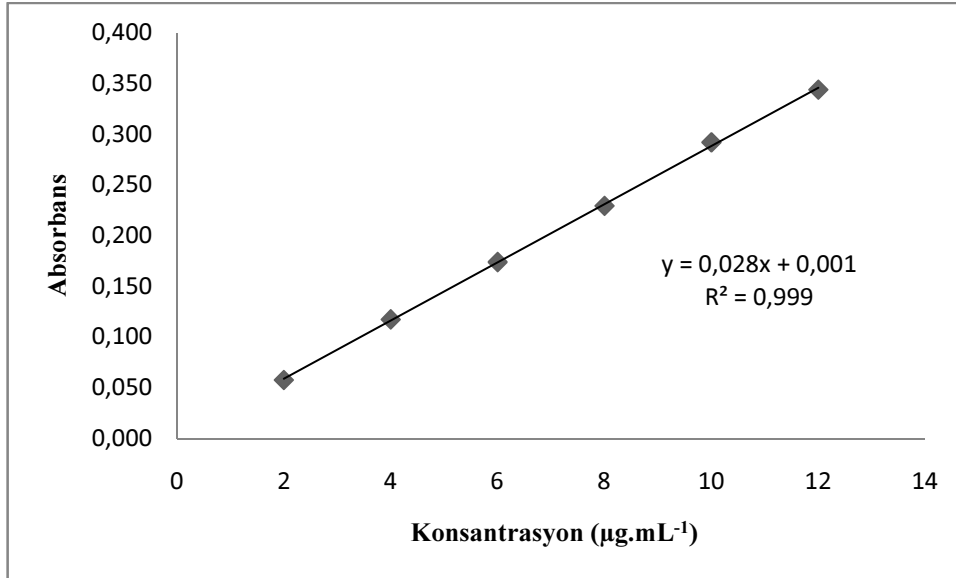
Şekil 4.10. Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponu (% 1 SLS içeren) çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemini (n=6)



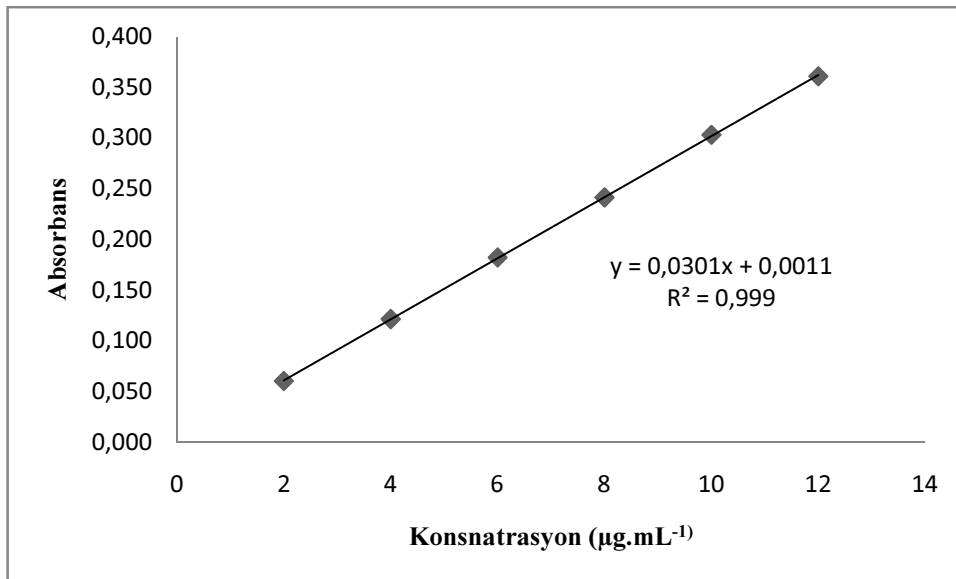
Şekil 4.11. Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponu çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)



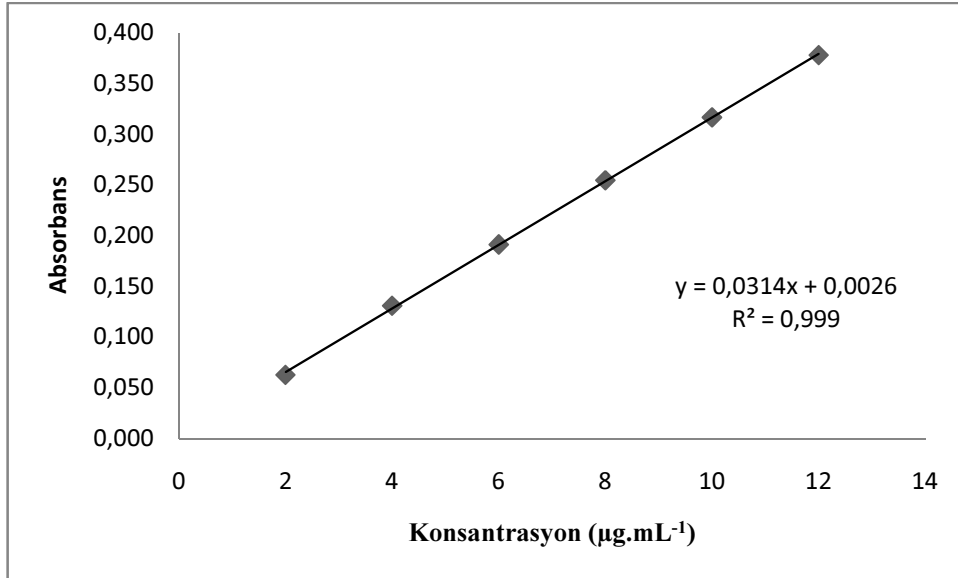
Şekil 4.12. Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponu (% 0.5 SLS içeren) çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)



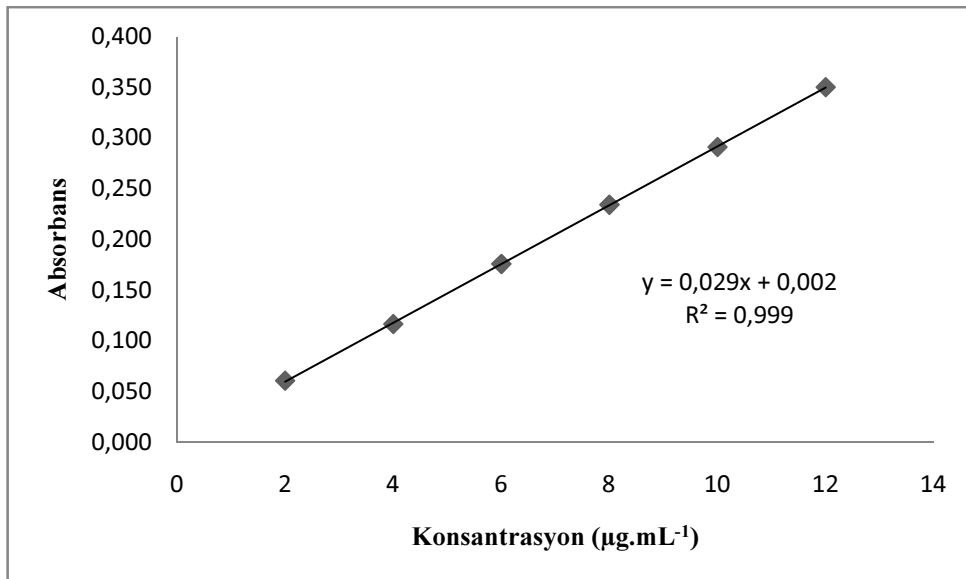
Şekil 4.13. Etodolakin pH 5.6 fosfat tamponu (% 1 SLS içeren) çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)



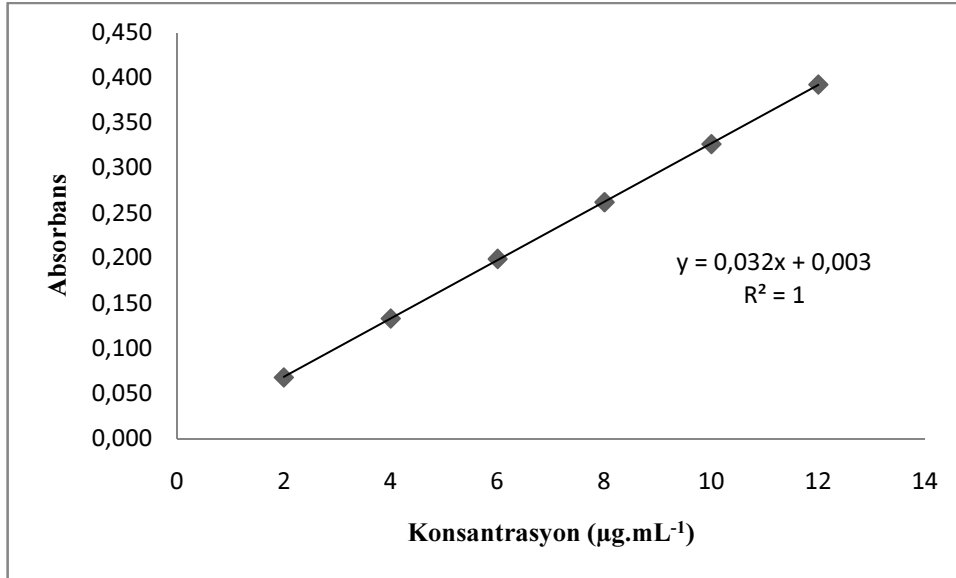
Şekil 4.14. Etodolakin pH 6.0 fosfat tamponu çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)



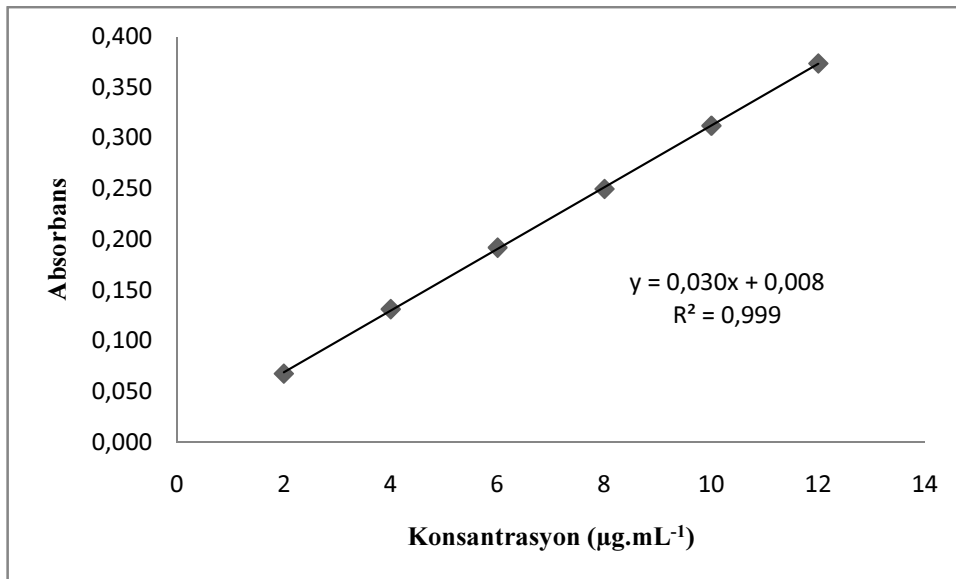
Şekil 4.15 Etodolakın pH 6.0 fosfat tamponu (% 0.02 SLS içeren) çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)



Şekil 4.16. Etodolakın pH 6.8 fosfat tamponu çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)



Şekil 4.17. Etodolakin pH 6.8 fosfat tamponu (% 0.5 SLS içeren) çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)



Şekil 4.18. Etodolakin pH 6.8 fosfat tamponu (% 1 SLS içeren) çözeltisinde kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)

4.2.2. İn Vitro Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

4.2.2.1. Doğrusallık

Bölüm 3.2.2.3.1’de belirtildiği gibi etodolakın $12.5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda hazırlanan stok çözeltisinden 2, 4, 6, 8, 10, 12 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda hazırlanan çözeltileri kullanarak konsantrasyona karşı absorbens değerleri grafiğe geçirilmiş ve kalibrasyon doğrusu denklemi elde edilmiştir. Açıklayıcılık katsayısı ($R^2 \geq 0.999$) değerleri hesaplanarak söz konusu denklemin belirtilen aralıkta doğrusallığı gösterilmiştir (Şekil 4.8-4.18).

4.2.2.2. Doğruluk

Bölüm 3.2.2.3.2.1.’de belirtildiği gibi 2 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 8 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 12 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlarda etodolak içerecek şekilde hazırlanan örneklerin analizi sonucu elde edilen absorbens değerlerinden kalibrasyon doğrusu denklemine yerleştirilerek bulunan konsantrasyonlardan hareketle % geri kazanım miktarları hesaplanmıştır. (Tablo 4.1 -4.11).

4.2.2.3. Kesinlik

Bölüm 3.2.2.3.2.2’de belirtildiği gibi üç düzeyde gösterilmiştir: Tekrar elde edilebilirlik tekrar edilebilirlik, ara kesinlik. Bu amaçla 2 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 8 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 12 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlarda etodolak içerecek şekilde hazırlanan örneklerin analizi sonucu elde edilen sonuçlar aşağıda değerlendirilmiştir.

4.2.2.3.1. Tekrar Elde Edilebilirlik

Bölüm 3.2.2.3.2.2.3’de açıklandığı gibi analitik yöntemin tekrar edilebilirliğinin sonuçları Tablo 4.1.-4.11.’de gösterilmektedir.

Tablo 4.1. Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponu içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6)

Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			% Geri kazanılan		
2	8	12	2.098	7.887	12.060	104.887	98.590	100.501
2	8	12	2.035	8.000	11.985	101.767	100.000	99.875
2	8	12	2.098	8.000	12.060	104.887	100.000	100.501
2	8	12	2.023	7.962	12.022	101.128	99.530	100.188
2	8	12	2.098	7.962	12.022	104.887	99.530	100.188
2	8	12	2.023	8.000	12.060	101.128	100.000	100.501
Ortalama			2.062	7.969	12.035	103.114	99.608	100.292
SS			0.039	0.044	0.031	1.956	0.549	0.256
VK (%)			1.897	0.552	0.255	1.897	0.552	0.255

Tablo 4.2. Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponunda % 0.5 SLS içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6).

Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			% Geri kazanılan		
2	8	12	1.921	7.883	11.858	96.057	98.541	98.817
2	8	12	1.953	7.915	12.016	97.634	98.935	100.131
2	8	12	1.984	7.946	11.921	99.211	99.330	99.343
2	8	12	1.921	7.946	12.016	96.057	99.330	100.131
2	8	12	2.016	8.073	11.984	100.789	100.907	99.869
2	8	12	1.953	7.978	11.953	97.634	99.724	99.606
Ortalama			1.958	7.957	11.958	97.897	99.461	99.649
SS			0.037	0.065	0.061	1.844	0.815	0.510
VK (%)			1.884	0.819	0.512	1.884	0.819	0.512

Tablo 4.3. Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponunda % 1 SLS içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6).

Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			% Geri kazanılan		
2	8	12	1.910	8.133	11.972	95.511	101.664	99.768
2	8	12	2.003	7.947	12.096	100.155	99.342	100.800
2	8	12	1.972	7.947	11.910	98.607	99.342	99.252
2	8	12	2.034	7.947	11.941	101.703	99.342	99.510
2	8	12	2.003	8.02	12.034	100.155	101.277	100.284
2	8	12	2.003	7.885	11.972	100.155	98.568	99.768
Ortalama			1.988	7.994	11.988	99.381	99.923	99.897
SS			0.043	0.099	0.067	2.134	1.242	0.559
VK (%)			2.147	1.243	0.560	2.147	1.243	0.560

Tablo 4.4. Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponundaki çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6).

Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			% Geri kazanılan		
2	8	12	1.993	8.080	12.027	99.666	101.003	100.223
2	8	12	2.060	8.281	12.027	103.010	103.512	100.223
2	8	12	1.993	8.281	12.027	99.666	103.512	100.223
2	8	12	1.993	8.281	12.194	99.666	103.512	101.616
2	8	12	2.027	8.281	11.960	101.338	103.512	99.666
2	8	12	1.960	8.214	12.161	97.993	102.676	101.338
Ortalama			2.004	8.236	12.066	100.223	102.954	100.548
SS			0.035	0.081	0.091	1.727	1.013	0.756
VK (%)			1.723	0.984	0.752	1.723	0.984	0.752

Tablo 4.5. Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponunda % 0.5 SLS içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6).

Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			% Geri kazanılan		
2	8	12	1.974	8.219	11.909	98.689	102.743	99.239
2	8	12	2.071	8.187	12.038	103.544	102.338	100.318
2	8	12	2.071	8.122	12.006	103.544	101.529	100.049
2	8	12	2.039	8.219	12.006	101.926	102.743	100.049
2	8	12	1.974	8.219	12.006	98.689	102.743	100.049
2	8	12	2.006	7.928	12.006	100.307	99.102	100.049
Ortalama			2.022	8.149	11.995	101.117	101.866	99.959
SS			0.045	0.115	0.044	2.230	1.434	0.368
VK (%)			2.206	1.408	0.369	2.206	1.408	0.369

Tablo 4.6. Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponunda % 1 SLS içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6) .

Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			% Geri kazanılan		
2	8	12	2.042	7.721	11.519	102.091	96.516	95.993
2	8	12	2.007	7.756	11.554	100.348	96.951	96.283
2	8	12	2.042	7.686	11.519	102.091	96.080	95.993
2	8	12	2.111	7.861	11.624	105.575	98.258	96.864
2	8	12	2.077	7.861	11.624	103.833	98.258	96.864
2	8	12	2.042	7.652	11.554	102.091	95.645	96.283
Ortalama			2.053	7.756	11.566	102.671	96.951	96.380
SS			0.036	0.088	0.048	1.799	1.102	0.397
VK (%)			1.752	1.136	0.412	1.752	1.136	0.412

Tablo 4.7. Etodolakın pH 6.8 fosfat tamponundaki çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6).

Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			% Geri kazanılan		
2	8	12	2.103	8.034	12.138	105.172	100.431	101.149
2	8	12	2.103	7.966	12.034	105.172	99.569	100.287
2	8	12	2.207	8.069	12.138	110.345	100.862	101.149
2	8	12	2.172	8.000	12.103	108.621	100.000	100.862
2	8	12	2.138	8.103	12.000	106.897	101.293	100.000
2	8	12	2.103	8.138	12.000	105.172	101.724	100.000
Ortalama			2.138	8.052	12.069	106.897	100.647	100.575
SS			0.044	0.065	0.065	2.181	0.806	0.545
VK (%)			2.040	0.801	0.542	2.040	0.801	0.542

Tablo 4.8. Etodolakın pH 6.8 fosfat tamponunda % 0.5 SLS içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6).

Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			% Geri kazanılan		
2	8	12	1.957	8.037	12.080	97.840	100.463	100.669
2	8	12	1.926	8.037	12.111	96.296	100.463	100.926
2	8	12	1.926	7.975	12.049	96.296	99.691	100.412
2	8	12	1.988	7.975	12.080	99.383	99.691	100.669
2	8	12	1.988	7.944	12.111	99.383	99.306	100.926
2	8	12	2.019	8.037	11.988	100.926	100.463	99.897
Ortalama			1.967	8.001	12.070	98.354	100.013	100.583
SS			0.037	0.041	0.046	1.869	0.513	0.387
VK (%)			1.900	0.513	0.385	1.900	0.513	0.385

Tablo 4.9. Etodolakın pH 6.8 fosfat tamponunda % 1 SLS içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6).

Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			% Geri kazanılan		
2	8	12	2.003	7.990	12.003	100.164	99.877	100.027
2	8	12	2.003	8.089	12.036	100.164	101.110	100.302
2	8	12	2.069	8.056	12.036	103.454	100.699	100.302
2	8	12	2.069	8.056	12.036	103.454	100.699	100.302
2	8	12	2.069	7.957	12.003	103.454	99.465	100.027
2	8	12	2.135	7.990	12.069	106.743	99.877	100.576
Ortalama			2.058	8.023	12.031	102.906	100.288	100.256
SS			0.050	0.051	0.025	2.476	0.637	0.206
VK (%)			2.406	0.635	0.206	2.406	0.635	0.206

Tablo 4.10. Etodolakın pH 6.0 fosfat tamponu çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6).

Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			% Geri kazanılan		
2	8	12	2.023	7.970	11.990	101.163	99.626	99.917
2	8	12	2.056	8.036	11.990	102.824	100.457	99.917
2	8	12	1.990	7.837	11.990	99.502	97.965	99.917
2	8	12	2.023	7.970	12.056	101.163	99.626	100.471
2	8	12	2.056	7.970	12.023	102.824	99.626	100.194
2	8	12	2.023	8.036	11.923	101.163	100.457	99.363
Ortalama			2.029	7.970	11.996	101.440	99.626	99.963
SS			0.025	0.073	0.044	1.250	0.910	0.368
VK (%)			1.233	0.913	0.368	1.233	0.913	0.368

Tablo 4.11. Etodolakın pH 6.0 fosfat tamponunda % 0.02 SLS içeren çözeltisinde tekrar elde edilebilirlik ve doğruluk bulguları (n=6).

Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			% Geri kazanılan		
2	8	12	1.924	7.943	11.764	96.178	99.283	98.036
2	8	12	1.924	8.038	11.828	96.178	100.478	98.567
2	8	12	1.955	8.006	11.828	97.771	100.080	98.567
2	8	12	1.987	8.006	11.860	99.363	100.080	98.832
2	8	12	1.987	8.261	11.860	99.363	103.264	98.832
2	8	12	2.019	7.911	11.796	100.955	98.885	98.301
Ortalama			1.966	8.028	11.823	98.301	100.345	98.523
SS			0.039	0.124	0.037	1.928	1.545	0.310
VK (%)			1.962	1.540	0.315	1.962	1.540	0.315

4.2.2.3.2. Tekrar Edilebilirlik

Tablo 4.12. Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin tekrarlanabilirlik sonuçları.

Analiz no	pH 4.4 (SLS içermeyen ortam)			pH 4.4 (% 0.5 SLS içeren ortam)			pH 4.4 (% 1 SLS içeren ortam)		
	Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	2	8	12	2	8	12	2	8	12
1	2.098	7.850	12.211	1.953	7.915	12.300	1.910	8.102	12.034
2	2.023	7.887	12.173	2.047	7.946	12.237	1.910	7.885	12.034
3	2.023	7.962	11.985	2.079	7.946	12.142	1.910	7.854	11.972
4	2.060	7.962	12.135	2.016	7.978	12.205	1.879	7.885	11.879
5	2.060	7.925	12.098	2.079	7.978	12.174	1.879	7.947	11.941
6	2.098	7.962	11.985	1.984	8.009	12.110	1.879	7.978	11.879
Ortalama	2.060	7.925	12.098	2.026	7.962	12.195	1.895	7.942	11.957
SS	0.034	0.048	0.095	0.052	0.033	0.068	0.017	0.091	0.070
VK (%)	1.632	0.600	0.786	2.542	0.416	0.559	0.895	1.141	0.585

Tablo 4.13. Etodolakin pH 5.6 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin tekrarlanabilirlik sonuçları.

Analiz no	pH 5.6 (SLS içermeyen ortam)			pH 5.6 (% 0.5 SLS içeren ortam)			pH 5.6 (% 1 SLS içeren ortam)		
	Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	2	8	12	2	8	12	2	8	12
1	2.027	8.214	12.027	1.974	8.155	12.006	1.868	7.756	11.589
2	2.027	8.381	12.027	1.974	7.993	12.103	1.868	7.756	11.589
3	2.027	8.281	11.960	1.974	8.155	12.103	1.937	7.826	11.589
4	1.960	8.314	11.960	1.974	8.090	12.103	1.937	7.826	11.589
5	1.960	8.314	11.993	1.974	7.993	11.974	1.972	7.756	11.624
6	1.960	8.348	11.960	1.974	7.928	12.136	1.902	7.756	11.693
Ortalama	1.993	8.309	11.988	1.974	8.053	12.071	1.914	7.779	11.612
SS	0.037	0.058	0.033	0.000	0.095	0.065	0.042	0.036	0.042
VK (%)	1.838	0.693	0.274	0.000	1.176	0.536	2.205	0.463	0.363

Tablo 4.14. Etodolakin pH 6.8 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin tekrarlanabilirlik sonuçları

Analiz no	pH 6.8 (SLS içermeyen ortam)			pH 6.8 (% 0.5 SLS içeren ortam)			pH 6.8 (% 1 SLS içeren ortam)		
	Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	2	8	12	2	8	12	2	8	12
1	2.103	8.103	12.000	1.926	8.037	12.049	1.938	7.957	11.938
2	2.069	8.069	11.966	1.926	8.037	12.019	2.003	7.990	11.938
3	2.103	8.000	12.103	1.957	8.099	12.019	1.970	7.957	11.938
4	2.103	8.000	11.931	2.019	8.099	12.019	2.003	7.957	11.970
5	2.069	8.069	12.000	1.957	8.099	12.019	2.036	7.990	12.003
6	2.069	8.069	12.000	1.988	8.068	12.019	2.003	7.990	11.970
Ortalama	2.086	8.052	12.000	1.962	8.073	12.024	1.992	7.974	11.959
SS	0.019	0.042	0.058	0.036	0.030	0.013	0.034	0.018	0.027
VK (%)	0.905	0.525	0.481	1.839	0.376	0.105	1.705	0.226	0.225

Tablo 4.15. Etodolakin pH 6.0 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin tekrarlanabilirlik sonuçları.

Analiz no	pH 6.0 (SLS içermeyen ortam)			pH 6.0 (% 0.02 SLS içeren ortam)		
	Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	2	8	12	2	8	12
1	2.056	7.970	11.990	2.083	7.847	11.955
2	2.090	8.037	11.957	2.083	7.847	11.955
3	2.056	8.003	11.957	1.987	7.783	11.955
4	2.056	8.003	12.023	1.987	7.879	12.083
5	2.090	8.037	11.957	2.019	7.783	11.955
6	2.056	8.037	11.990	1.987	7.847	11.987
Ortalama	2.068	8.014	11.979	2.024	7.831	11.982
SS	0.017	0.027	0.027	0.047	0.039	0.051
VK (%)	0.830	0.338	0.226	2.316	0.498	0.426

4.2.2.3.3. Ara Kesinlik

Bölüm 3.2.2.3.2.2'de belirtildiği gibi analitik yöntemin ara kesinliğinin değerlendirilmesinde günler arası farklılığı değerlendirmek amacıyla $2 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $8 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $12 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlarda hazırlanan etodolakin her bir ortamda hazırlanan çözeltileri 3 farklı gün boyunca analiz edilmiştir. Sonuçlar ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayıları (%) hesaplanarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4.16. Etodolakin pH 4.4 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin ara kesinlik sonuçları.

Gün	pH 4.4 (SLS içermeyen ortam)			pH 4.4 (% 0.5 SLS içeren ortam)			pH 4.4 (% 1 SLS içeren ortam)		
	Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	2	8	12	2	8	12	2	8	12
1	2.035	7.887	12.085	1.932	7.999	11.942	2.034	7.994	11.998
2	2.060	8.019	12.079	1.953	7.941	11.890	1.988	7.978	12.024
3	2.110	8.069	12.054	1.916	7.915	12.068	2.019	7.953	11.936
Ortalama	2.069	7.992	12.073	1.933	7.952	11.967	2.013	7.975	11.986
SS	0.038	0.094	0.017	0.018	0.043	0.092	0.024	0.021	0.045
VK (%)	1.851	1.174	0.137	0.955	0.541	0.768	1.174	0.261	0.376

Tablo 4.17. Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin ara kesinlik sonuçları.

Gün	pH 5.6 (SLS içermeyen ortam)			pH 5.6 (% 0.5 SLS içeren ortam)			pH 5.6 (% 1 SLS içeren ortam)		
	Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	2	8	12	2	8	12	2	8	12
1	1.993	8.197	11.943	2.044	7.993	11.779	2.042	7.744	11.624
2	1.967	8.203	11.960	2.098	8.149	11.995	2.030	7.826	11.670
3	2.032	8.197	11.954	2.038	8.014	12.011	1.961	7.756	11.600
Ortalama	1.997	8.199	11.952	2.060	8.052	11.929	2.011	7.775	11.631
SS	0.033	0.003	0.009	0.033	0.085	0.129	0.044	0.044	0.035
VK (%)	1.656	0.039	0.071	1.593	1.053	1.086	2.187	0.566	0.305

Tablo 4.18. Etodolakın pH 6.0 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin ara kesinlik sonuçları.

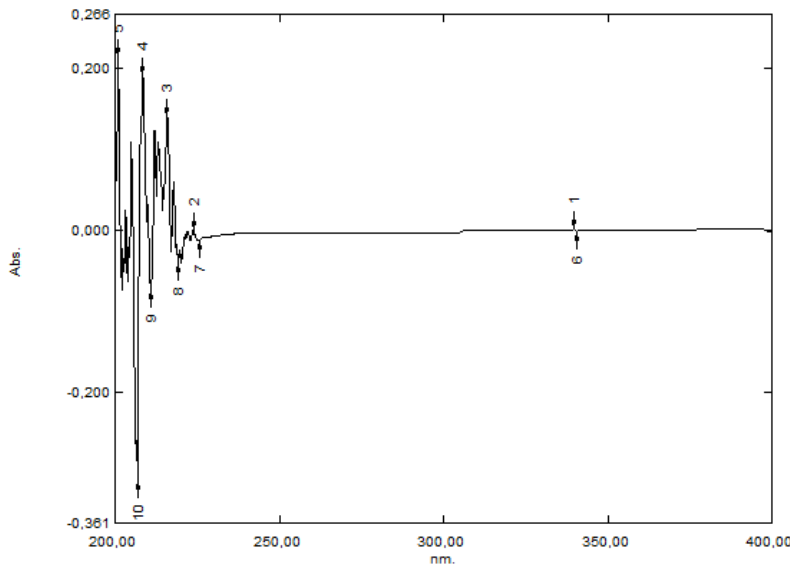
Gün	pH 6.0 (SLS içermeyen ortam)			pH 6.0 (% 0.02 SLS içeren ortam)		
	Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	2	8	12	2	8	12
1	1.973	7.981	11.946	2.035	7.996	12.115
2	2.029	7.970	11.996	1.971	8.028	11.823
3	1.996	7.953	11.929	2.014	8.017	11.897
Ortalama	1.999	7.968	11.957	2.007	8.013	11.945
SS	0.028	0.014	0.035	0.032	0.016	0.152
VK (%)	1.394	0.175	0.289	1.616	0.202	1.270

Tablo 4.19. Etodolakin pH 6.8 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin ara keskinlik sonuçları

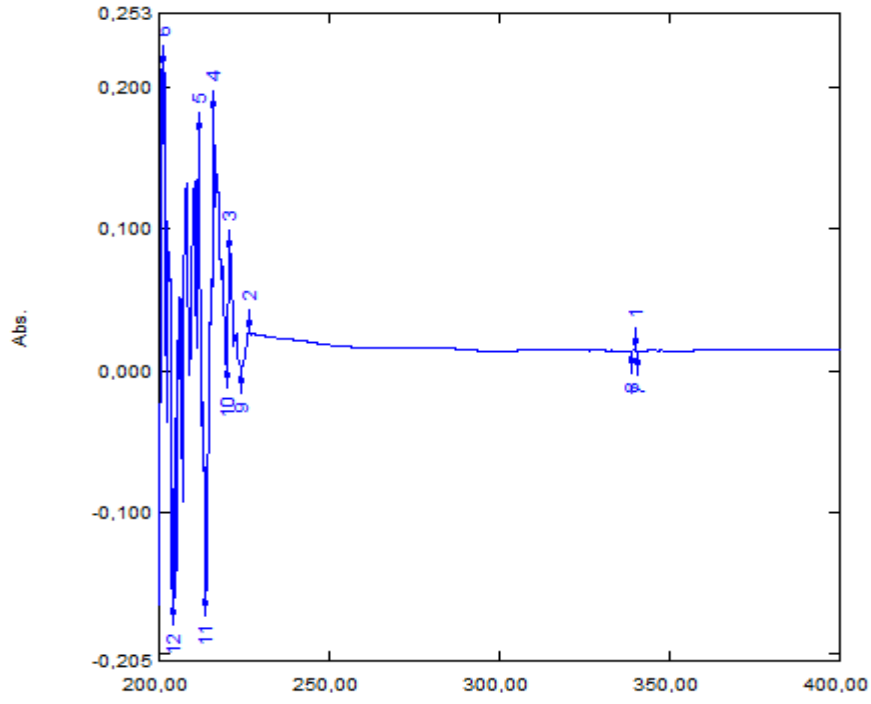
Gün	pH 6.8 (SLS içermeyen ortam)			pH 6.8 (% 0.5 SLS içeren ortam)			pH 6.8 (% 1 SLS içeren ortam)		
	Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	2	8	12	2	8	12	2	8	12
1	2.103	8.011	12.034	1.962	8.001	12.039	2.058	8.023	12.031
2	2.075	8.069	12.069	1.972	8.006	12.013	2.003	8.061	12.124
3	2.161	8.052	12.080	2.019	8.068	12.019	2.025	8.018	12.042
Ortalama	2.113	8.044	12.061	1.984	8.025	12.024	2.029	8.034	12.065
SS	0.044	0.029	0.024	0.030	0.037	0.014	0.028	0.024	0.051
VK (%)	2.077	0.367	0.198	1.519	0.464	0.113	1.360	0.297	0.422

4.2.2.4. Özgünlük (Specificity)

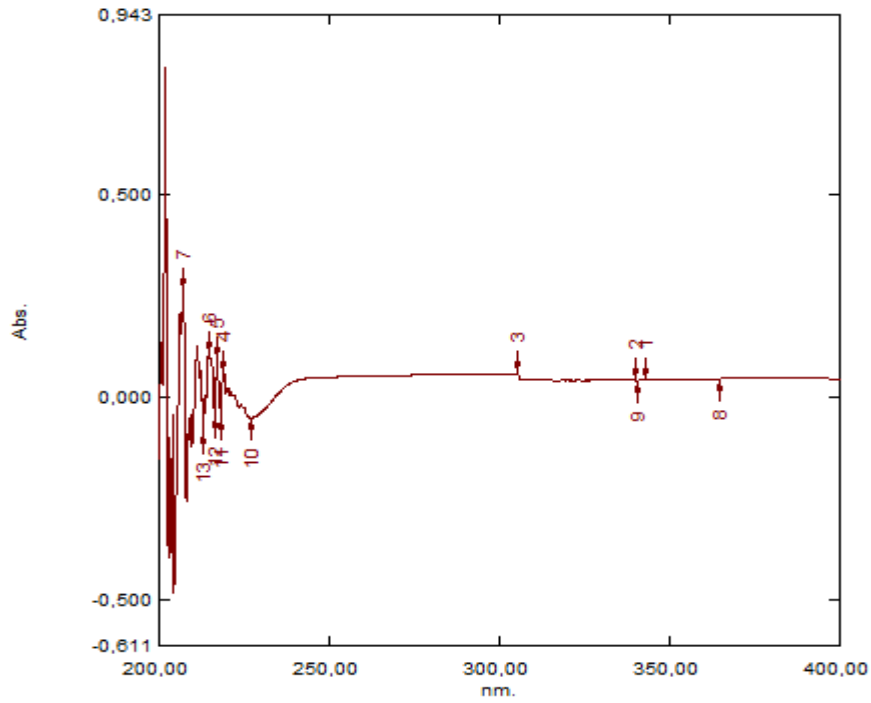
Bölüm 3.2.2.3.3.'de açıklandığı etodolakin maksimum absorbanı verdiği dalga boyunda çalışmalar süresince kullanılacak çözünme ortamları içeriğinde yer alan ve etodolak film tabletin içeriğinde yer alan yardımcı maddelerin etodolak ile aynı koşullar altında aynı dalga boyunda maksimum absorban verip vermediğinin belirlenmesine yönelik elde edilen UV spektrumları Şekil 4.17-4.19'da verilmiştir. Etodolakin maksimum absorban verdiği 273 nm dalga boyunda herhangi bir pik gözlenmemiştir.



Şekil 4.19. pH 6.0 % 0.02 SLS içeren fosfat tamponuna ait UV spektrumu.



Şekil 4.20. pH 6.0 SLS içermeyen fosfat tamponundaki plasebo çözeltisine ait UV spektrumu.



Şekil 4.21. pH 6.0 % 0.02 konsantrasyonda SLS içeren fosfat tamponundaki plasebo çözeltisine ait UV spektrumu.

4.2.2.5. Duyarlılık

Etodolakın UV spektrofotometrik miktar tayini sınırı doğruluk ve kesinlik bulgularındaki varyasyon katsayılarında dikkate alınarak $2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak saptanmıştır.

4.2.2.6. Stabilite

Bölüm 3.2.2.3.5’de açıklandığı gibi etodolakın in vitro çözünmesinin ve in vitro çözünürlüğünün belirlenmesi çalışmaları süresince stabil olduğunu göstermek üzere $12 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyondaki çözeltisini hazırlandıktan hemen sonra, 1.saat, 2.saat ve 24. saat sonunda analiz edilmiş ve sonuçlar Tablo 4.20 - 4.23’de verilmiştir.

Tablo 4.20. Etodolakın pH 4.4 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin stabilite sonuçları.

Ölçüm Zamanı	Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	pH 4.4 (% 0 SLS)	pH 4.4 (% 0.5 SLS)	pH 4.4 (% 1 SLS)
		Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
0.saat	12	12.060	11.663	11.910
1.saat	12	12.060	11.724	11.817
6.saat	12	12.023	11.724	11.786
24.saat	12	11.910	11.755	12.034
Ortalama		12.013	11.717	11.887
SS		0.071	0.039	0.111
VK (%)		0.592	0.332	0.936

Tablo 4.21. Etodolakın pH 5.6 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin stabilite sonuçları.

Ölçüm Zamanı	Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	pH 5.6 (% 0 SLS)	pH 5.6 (% 0.5 SLS)	pH 5.6 (% 1 SLS)
		Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
0.saat	12	11.993	12.039	11.763
1.saat	12	11.960	12.006	11.589
6.saat	12	11.893	12.168	11.484
24.saat	12	11.960	12.071	11.728
Ortalama		11.952	12.071	11.641
SS		0.042	0.070	0.129
VK (%)		0.352	0.579	1.107

Tablo 4.22. Etodolakın pH 6.0 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin stabilite sonuçları.

Ölçüm Zamanı	Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	pH 6.0 (% 0 SLS)	pH 6.0 (% 0.02 SLS)
		Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
0.saat	12	12.023	11.860
1.saat	12	11.990	11.764
6.saat	12	12.056	11.732
24.saat	12	11.990	11.764
Ortalama		12.015	11.780
SS		0.032	0.055
VK (%)		0.265	0.468

Tablo 4.23. Etodolakın pH 6.8 fosfat tamponu içindeki çözeltisinin stabilite sonuçları.

Ölçüm Zamanı	Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	pH 6.8 (% 0 SLS)	pH 6.8 (% 0.5 SLS)	pH 6.8 (% 1 SLS)
		Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Tayin edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
0.saat	12	11.931	11.988	12.090
1.saat	12	12.103	11.988	11.990
6.saat	12	11.966	11.988	12.156
24.saat	12	11.966	11.957	12.090
Ortalama		11.991	11.980	12.081
SS		0.076	0.015	0.068
VK (%)		0.638	0.129	0.567

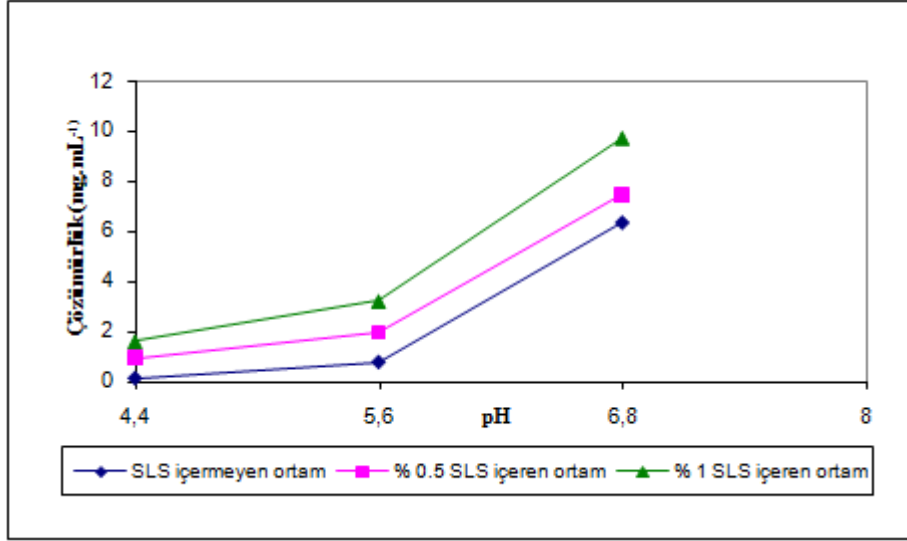
4.3. Çözünürlük Sonuçları

Bölüm 3.2.3’de anlatıldığı gibi etodolak etkin maddesinin çözünürlüğü yatay çalkalayıcıda 80 devir/dakika hızda, 37 ± 0.5 °C sıcaklıkta yatay çalkalayıcıda 24 saat boyunca bekletilerek saptanmış, sonuçlar Tablo 4.24.’de ve pH-çözünürlük profili Şekil 4.21’de verilmiştir.

Tablo 4.24. Etodolakın çözünürlük sonuçları.

SLS Konsantrasyonu (%)	Çözünürlük (mg.mL^{-1}) ^a					
	pH 4.4		pH 5.6		pH 6.8	
	1.saat	24.saat	1.saat	24.saat	1.saat	24.saat
0	0.126 \pm 0.004	0.124 \pm 0.003	0.759 \pm 0.011	0.767 \pm 0.020	5.808 \pm 0.234	6.371 \pm 0.231
0.5	0.906 \pm 0.045	0.925 \pm 0.010	1.832 \pm 0.029	1.933 \pm 0.066	6.590 \pm 0.190	7.460 \pm 0.075
1	1.546 \pm 0.035	1.608 \pm 0.020	2.567 \pm 0.064	3.213 \pm 0.047	8.540 \pm 0.083	9.717 \pm 0.189

^a Ortalama \pm SS (n=6).



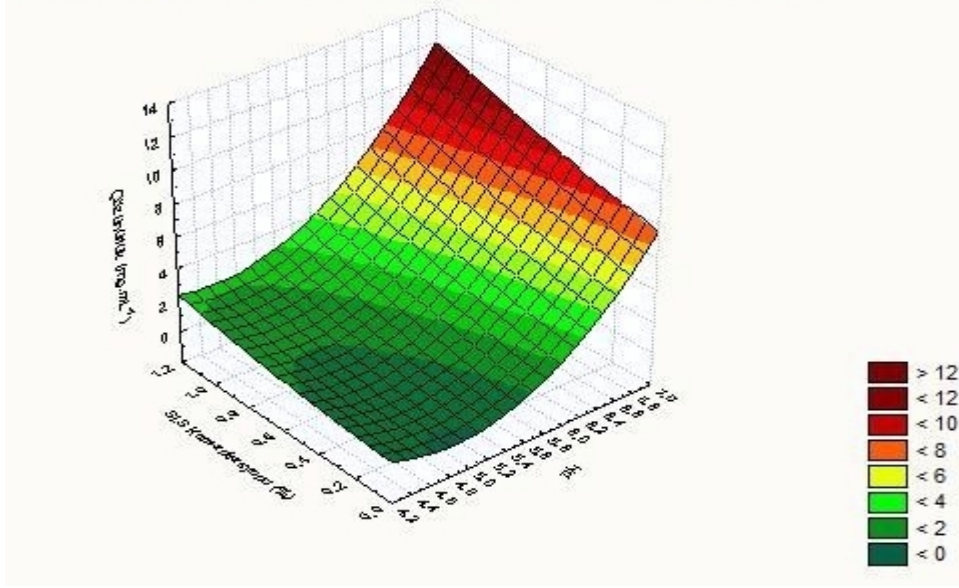
Şekil 4.22. Etodolaka ait pH-çözünürlük grafiği.

SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak etodolacın çözünürlüğü Eşitlik 3.4 ile ifade edilmiş ve cevap yüzey ve kontur grafikleri Şekil 4.22 ve 4.23'de verilmiştir.

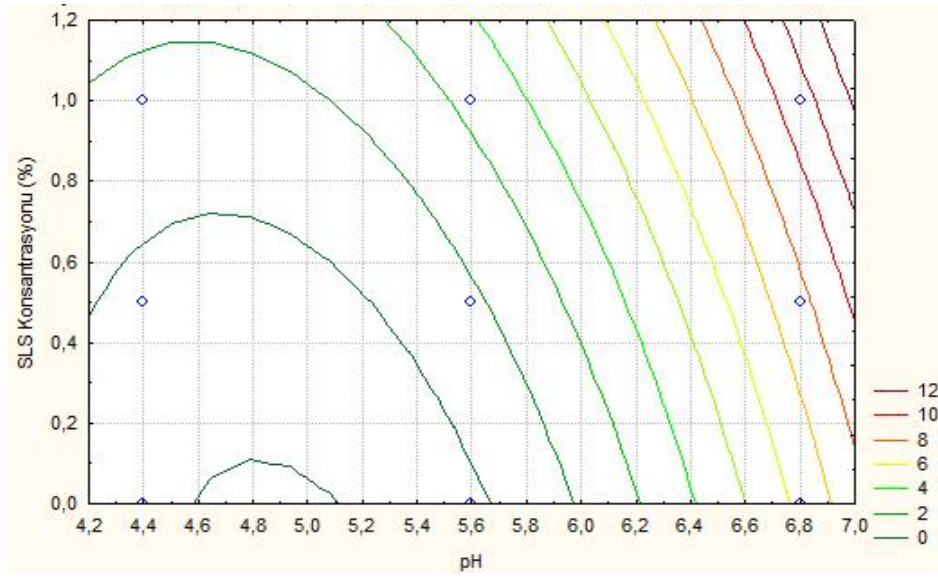
$$\text{Çözünürlük}(mg.mL^{-1})=38.940-16.127x_1-2.696x_2+1.664x_1^2+0.776x_1x_2+0.776x_2^2 \quad (3.4)$$

Tablo 4.25. Etodolacın çözünürlük verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları.

Korelasyon Katsayısı (r)	Açıklayıcılık Katsayısı (r ²)	Regresyon Denkleminin Standart Hatası
0.999	0.998	0.228



Şekil 4.23. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak çözünürlük bulgularına ilişkin cevap yüzey grafiği.



Şekil 4.24. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak çözünürlük bulgularına ilişkin kontur grafiği.

Etodolakin doz/çözünürlük değeri ve çözünürlük sınıflandırması Tablo 4.26 ve Tablo 4.27'de verilmiştir.

Tablo 4.26. Etodolakin doz/çözünürlük değerleri

SLS Konsantrasyonu (%)	En Yüksek Dozu (mg)	250 mL'deki doza bağlı çözünürlüğü	Denge Çözünürlüğü (mg.mL ⁻¹)			Doz/Çözünürlük (mL)		
			pH			pH		
			4.4	5.6	6.8	4.4	5.6	6.8
0	400	1.6	0.124	0.767	6.371	3225	521	62
0.5	400	1.6	0.925	1.933	7.460	432	206	53
1	400	1.6	1.608	3.213	9.717	248	124	41

Tablo 4.27. Etodolakin çözünürlük sınıflandırması

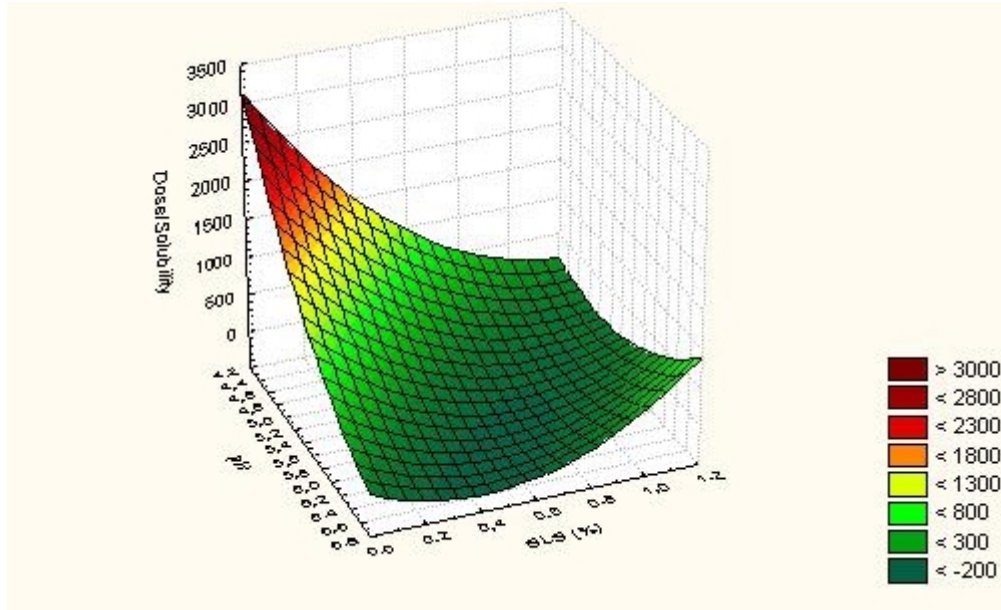
SLS Konsantrasyonu (%)	En Yüksek Dozu (mg)	250 mL'deki doza bağlı çözünürlüğü	Doz Sayısı (D ₀)			Çözünürlük Sınıfı (250 mL'de)		
			pH			pH		
			4.4	5.6	6.8	4.4	5.6	6.8
0	400	1.6	12.9	2.084	0.248	Düşük	Düşük	Yüksek
0.5	400	1.6	1.72	0.824	0.212	Düşük	Yüksek	Yüksek
1	400	1.6	0.992	0.496	0.164	Yüksek	Yüksek	Yüksek

SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak etodolakin doz/çözünürlük oranı Eşitlik 3.5 ile ifade edilmiş, cevap yüzey ve kontur grafikleri Şekil 4.24 ve 4.25'de verilmiştir.

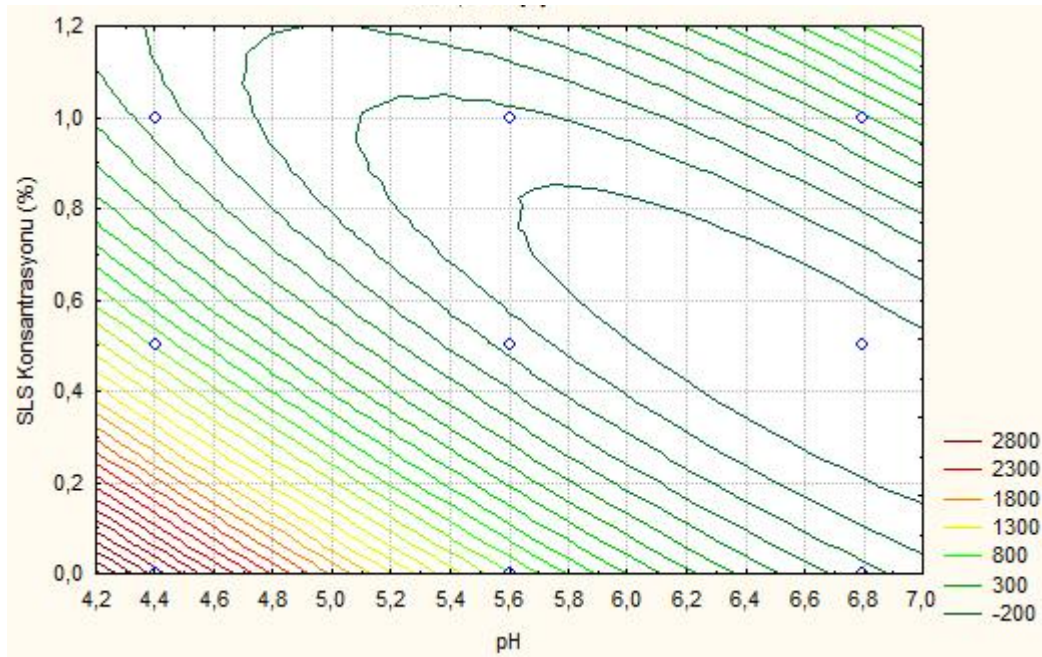
$$\text{Doz/çözünürlük} = 15879,04 - 4178,65x_1 - 9889,30x_2 + 271,91x_1^2 + 1227,55x_1x_2 + 1886,21x_2^2 \quad (3.5)$$

Tablo 4.28. Etodolakin doz/çözünürlük verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları.

Korelasyon Katsayısı (r)	Açıklayıcılık Katsayısı (r ²)	Regresyon Denkleminin Standart Hatası
0.931	0.868	603.632



Şekil 4.25. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak doz/çözünürlük oranı bulgularına ilişkin cevap yüzey grafiği.



Şekil 4.26. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak doz/çözünürlük oranı bulgularına ilişkin kontur grafiği.

4.4. İn Vitro Çözünme Deneyi Sonuçları

Etodolak etkin maddesinin farklı çözünme ortamlarındaki % çözünen miktarları çözünme profilleri ve salım kinetiklerinin değerlendirilmesine ilişkin bulgular Tablo 4.29'da ve Şekil 4.26-4.31'de gösterilmektedir.

Tablo 4.29. Etodolak tabletin (Lodine® 200 mg Film Tablet) zamana karşı ortalama % çözünen miktarı.

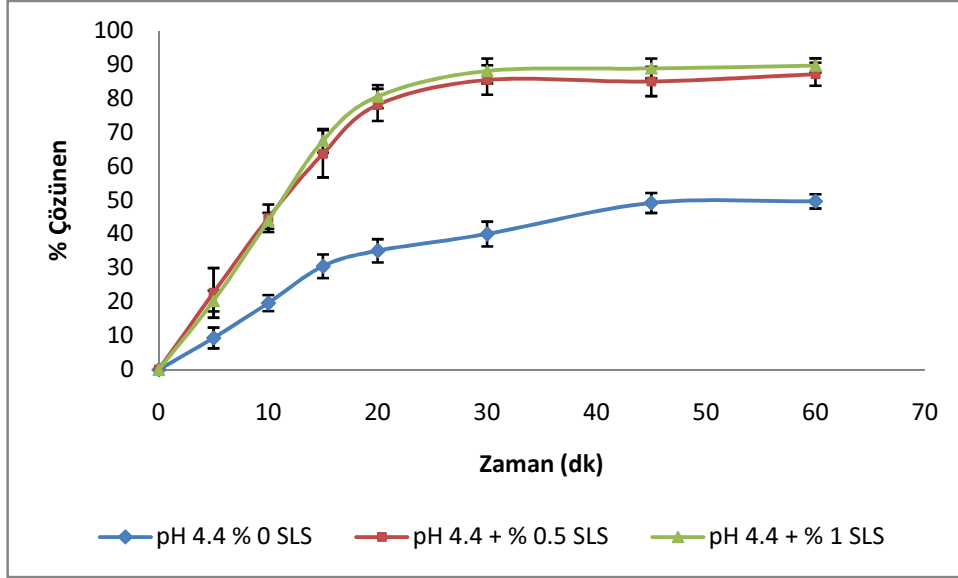
X ₁ pH	X ₂ % SLS		Y ₁ 5.dk	Y ₂ 10.dk	Y ₃ 15.dk	Y ₄ 20.dk	Y ₅ 30.dk	Y ₆ 45.dk	Y ₇ 60.dk
4.4	0	\bar{X}	9.350	19.640	30.504	35.064	40.017	49.154	49.648
		% VK	32.798	12.028	11.499	9.710	9.152	5.989	4.262
4.4	0.5	\bar{X}	22.672	44.659	63.659	78.102	85.419	84.981	87.128
		% VK	32.281	9.050	10.959	6.074	5.096	5.073	3.918
4.4	1	\bar{X}	20.268	43.928	67.515	80.547	88.115	88.846	89.706
		% VK	14.985	7.311	2.571	1.930	3.084	2.608	1.220
5.6	0	\bar{X}	21.093	49.949	76.347	82.153	86.102	86.154	89.632
		% VK	29.308	10.033	7.635	3.207	2.992	4.703	7.737
5.6	0.5	\bar{X}	15.004	41.603	65.000	82.872	86.830	90.413	93.158
		% VK	22.738	15.580	7.996	5.540	2.158	2.048	1.425
5.6	1	\bar{X}	10.973	41.882	68.547	86.702	100.300	99.526	100.542
		% VK	21.075	12.698	8.632	4.731	1.547	1.912	3.016
6.8	0	\bar{X}	3.569	20.026	55.484	78.700	95.246	101.078	98.276
		% VK	41.522	25.190	14.085	6.435	6.412	2.747	3.509
6.8	0.5	\bar{X}	4.724	25.370	53.456	73.608	95.724	100.669	99.742
		% VK	48.531	13.342	6.390	3.337	1.929	2.118	0.854
6.8	1	\bar{X}	5.034	27.446	54.326	79.387	96.887	101.151	101.212
		% VK	25.892	23.064	13.374	8.898	1.281	2.489	1.454

Y_{1,7}: Zamana karşı ortalama % çözünen etodolak miktarı (n=6).

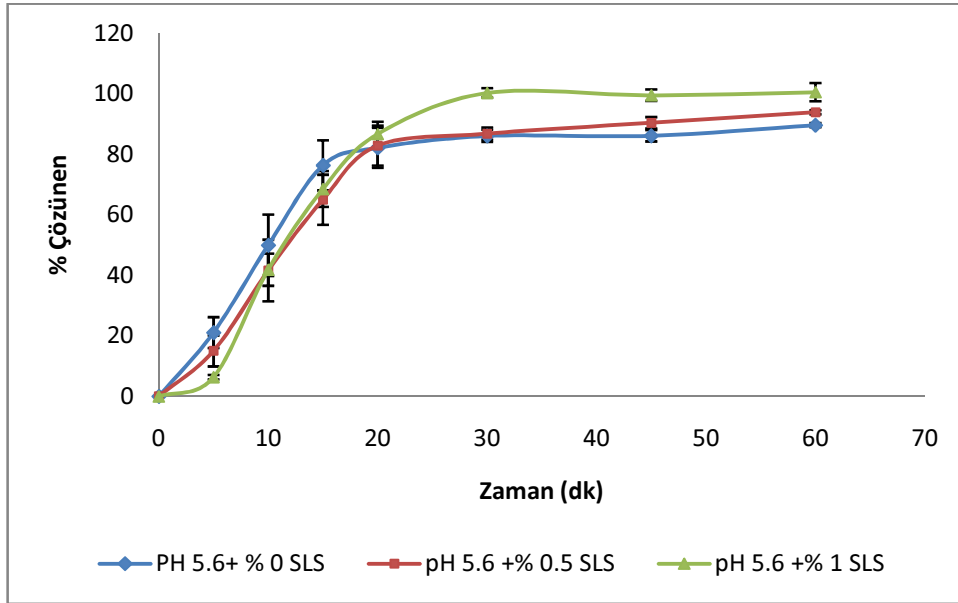
X₁: Çözünme ortamının pH'sı

X₂: Çözünme ortamındaki % SLS miktarı

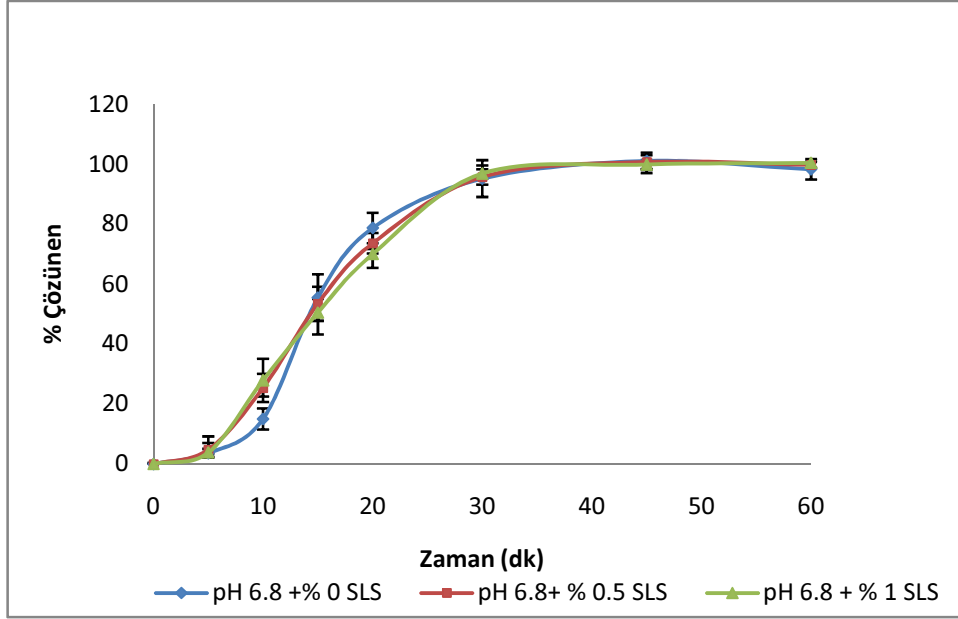
\bar{X} : Ortalama



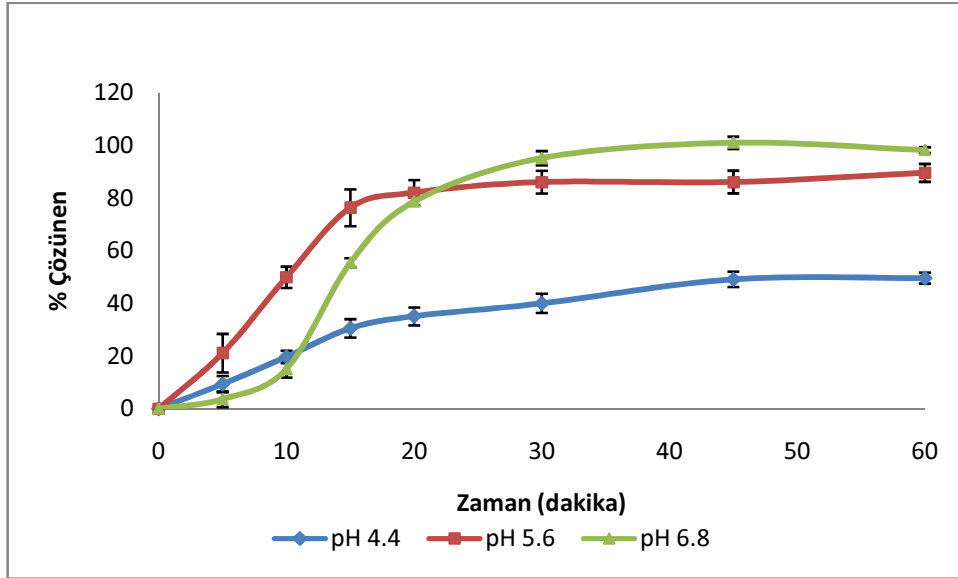
Şekil 4.27. Etodolacın (200 mg Lodine® Tablet) pH 4.4 fosfat tamponundaki çözünme profilleri (n=6).



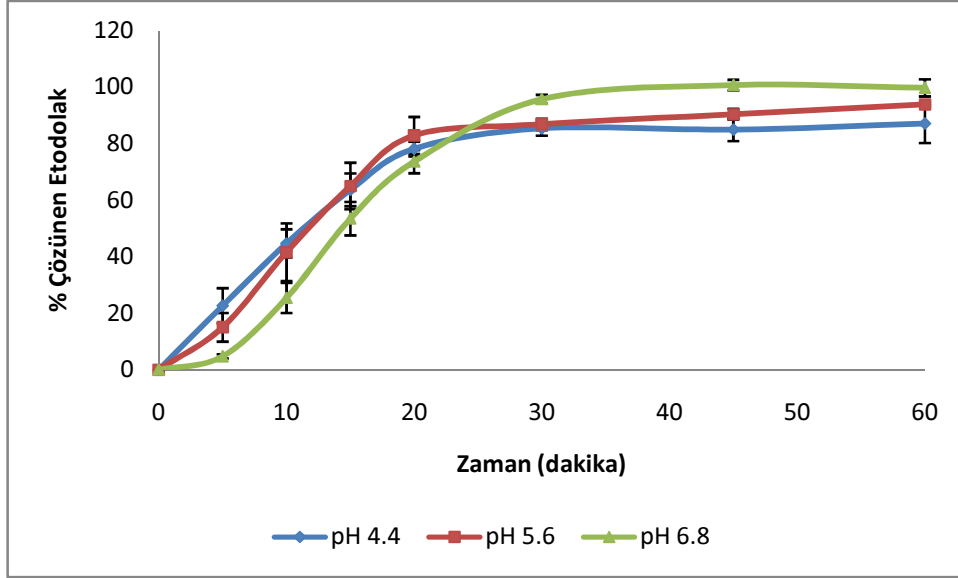
Şekil 4.28. Etodolacın (200 mg Lodine® Tablet) pH 5.6 fosfat tamponundaki çözünme profilleri (n=6).



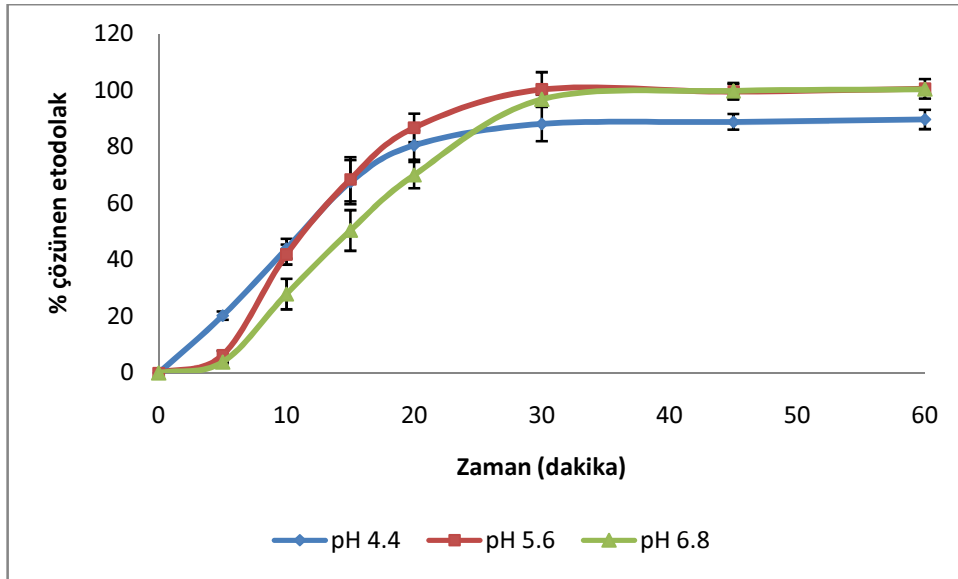
Şekil 4.29. Etodolakin (200 mg Lodine® Tablet) pH 6.8 fosfat tamponundaki çözünme profilleri (n=6).



Şekil 4.30. Etodolakin (200 mg Lodine® Tablet) SLS içermeyen pH 4.4, 5.6 ve 6.8 fosfat tamponundaki çözünme profilleri (n=6).



Şekil 4.31. Etodolacın (200 mg Lodine® Tablet) % 0.5 SLS içeren pH 4.4, 5.6 ve 6.8 fosfat tamponundaki çözünme profilleri (n=6).



Şekil 4.32. Etodolacın (200 mg Lodine® Tablet) % 1 SLS içeren pH 4.4, 5.6 ve 6.8 fosfat tamponundaki çözünme profilleri (n=6).

Tablo 4.30'da etodolakın (200 mg Lodine[®] Tablet) in vitro çözünmesinin Weibull Kinetik Modeli sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.30. Lodine 200 mg Film Tablet in vitro çözünme sonuçlarının Weibull Çözünme Kinetiğine göre değerlendirilmesine ilişkin bulgular.

X ₁	X ₂	Eğim	Kesişim	Açıklayıcılık katsayısı	T _{%63.2}	Şekil ölçütü
pH	SLS (%)	m	n	r ²	T _d	b
4.4	0	0.777	-3.340	0.937	-	-
4.4	0.5	1.168	-3.200	0.988	14.707	1.276
4.4	1	1.303	-3.526	0.984	14.160	1.441
5.6	0	0.993	-2.706	0.861	12.865	1.489
5.6	0.5	1.251	-3.552	0.925	14.431	1.713
5.6	1	2.474	-6.571	0.984	14.238	2.474
6.8	0	2.555	-7.364	0.989	16.899	2.755
6.8	0.5	2.414	-6.877	0.996	17.159	2.416
6.8	1	2.295	-6.678	0.987	17.576	2.022

4.5. Yapay Sinir Ağlarının Uygulanmasına Ait Sonuçların Değerlendirilmesi

Yapay sinir ağının eğitilmesi için Lodine 200 mg Tablet in vitro farklı pH'lardaki ve farklı konsantrasyonlarda sodyum lauril sülfat içeren tampon çözeltilerindeki çözünme testlerinin sonuçları kullanılmıştır. Ayrıca etodolakın Weibull Kinetik Modeline göre çözünme kinetiklerinin hesaplanmasıyla bulunan m (eğim) değeri ağın eğitilmesinde kullanılan bir diğer parametredir. Yapay sinir ağının öğretilmesinde kullanılan veriler Tablo 4.31'e verilmiştir. Tablo 4.31'de ayrıca ilacın % 63.2'sinin çözünmesi için geçen zaman (T_d) ve ilacın çözünme eğrilerinin Weibull Kinetik Modeline ilişkin parametreler, eğim değeri (m), keşişim (n) ve açıklayıcılık katsayıları (r²) verilmiştir.

Tablo 4.31. Etodolakin % çözünen, $t_{\%63.2}$ ve Weibull Kinetik Modeli parametrelerine ilişkin sonuçlar.

Deneme no #	X ₁ pH	X ₂ SLS Kons. (%)	Y ₁ 5.dk	Y ₂ 10.dk	Y ₃ 15.dk	Y ₄ 20.dk	Y ₅ 30.dk	Y ₆ 45.dk	Y ₇ 60.dk	T _d (dk) t _{%63.2}	m	n	r ²
1	4.4	0	8.865	18.778	32.500	37.336	42.888	48.528	49.295		0.799	-3.391	0.906
2	4.4	0	7.737	16.429	27.613	31.579	36.623	46.961	48.825		0.847	-3.669	0.949
3	4.4	0	9.767	21.598	35.691	38.980	44.612	50.564	48.590		0.876	-3.471	0.925
4	4.4	0	9.015	17.650	26.057	30.287	35.370	44.768	47.180		0.762	-4.422	0.967
5	4.4	0	14.932	22.256	29.464	35.691	38.816	52.287	50.705		0.626	-2.788	0.977
6	4.4	0	5.782	21.128	31.696	36.513	41.792	51.817	53.289		0.959	-3.896	0.884
7	4.4	0.5	14.957	41.548	59.006	77.313	77.576	78.628	82.308	15.595	1.309	-3.759	0.944
8	4.4	0.5	18.412	49.698	60.741	78.628	84.674	86.514	84.674	15.769	1.054	-3.001	0.918
9	4.4	0.5	17.323	42.731	59.322	79.679	88.880	88.091	90.983	15.805	1.167	3.329	0.936
10	4.4	0.5	22.150	39.314	58.060	77.313	89.143	81.782	86.251	15.907	1.256	3.476	0.989
11	4.4	0.5	30.577	47.463	70.205	85.200	87.829	84.411	90.720	12.579	1.065	-2.747	0.962
12	4.4	0.5	32.610	47.200	74.621	70.478	84.411	90.457	87.829	15.691	0.837	-2.234	0.950
13	4.4	1	19.481	45.498	67.709	81.708	85.062	84.546	88.158	13.935	1.279	-3.476	0.964
14	4.4	1	16.076	41.241	65.588	82.482	85.836	89.448	90.996	14.417	1.048	-3.046	0.891
15	4.4	1	20.642	47.046	67.910	80.934	86.352	90.222	88.674	13.854	1.078	-2.974	0.940
16	4.4	1	18.940	40.209	69.923	79.128	89.190	88.416	90.222	14.425	1.139	-3.197	0.921
17	4.4	1	25.286	47.691	68.529	80.676	91.254	91.254	89.706	13.807	1.036	-2.778	0.955
18	4.4	1	21.184	41.886	65.433	78.354	90.996	89.190	90.480	14.974	1.109	-3.090	0.943
19	5.6	0	13.846	44.955	69.008	83.501	86.009	89.498	84.615	18.898	1.247	-3.527	0.893
20	5.6	0	16.227	44.955	69.008	78.205	85.452	84.816	83.779	19.769	1.108	-3.170	0.887
21	5.6	0	18.435	47.882	80.435	80.713	88.796	84.147	102.174	14.024	1.374	-3.626	0.932
22	5.6	0	24.187	57.637	77.648	81.828	86.566	84.482	92.698	13.369	1.133	-2.910	0.929
23	5.6	0	23.050	50.948	80.435	86.009	88.239	92.508	88.517	12.917	1.057	-2.764	0.895
24	5.6	0	30.809	53.317	81.550	82.664	81.550	81.472	86.009	13.952	1.211	-2.957	0.961
25	5.6	0.5	5.567	26.538	55.341	68.773	86.842	90.887	94.393	17.530	1.139	-3.246	0.906
26	5.6	0.5	15.923	27.994	51.296	83.336	84.145	87.651	94.124	19.769	1.171	-3.530	0.916

Tablo 4.31(Devamı). Etodolakin % çözünen, $t_{\% 63.2}$ ve Weibull Kinetik Modeli parametrelerine ilişkin sonuçlar.

27	5.6	0.5	15.292	42.557	64.888	86.033	87.921	92.236	94.663	15.592	1.548	-4.836	0.924
28	5.6	0.5	18.205	47.816	70.390	84.415	87.381	89.809	93.854	13.371	1.012	-2.830	0.862
29	5.6	0.5	20.389	49.111	71.604	86.033	86.572	92.236	92.775	12.919	1.111	3.002	0.919
30	5.6	0.5	15.535	46.441	66.750	83.336	82.797	92.505	94.124	13.952	1.090	-3.115	0.907
31	5.6	1	12.599	44.042	69.817	84.669	97.154	101.510	97.154	14.221	1.827	-4.851	0.995
32	5.6	1	12.146	39.077	63.502	86.411	100.929	101.220	97.445	14.399	1.943	-5.183	0.998
33	5.6	1	7.641	42.909	69.382	87.573	100.639	100.058	98.897	13.983	2.358	-6.221	0.989
34	5.6	1	13.505	32.898	60.889	80.023	101.220	99.768	102.962	15.692	1.743	-4.799	0.993
35	5.6	1	8.707	43.931	69.817	89.895	100.929	96.574	103.542	13.640	2.310	-6.037	0.993
36	5.6	1	11.240	48.432	77.875	91.638	100.929	98.026	103.252	12.702	2.208	-5.613	0.995
37	6.8	0	2.672	20.431	47.414	75.216	89.304	100.000	92.241	17.908	2.531	-7.466	0.979
38	6.8	0	2.431	12.155	49.425	74.784	97.466	106.034	96.552	18.632	2.884	-8.409	0.991
39	6.8	0	4.690	24.052	66.667	84.698	85.868	98.707	98.707	15.418	2.028	-5.931	0.938
40	6.8	0	6.086	21.103	60.776	82.543	99.184	102.586	101.293	16.069	2.440	-6.791	0.995
41	6.8	0	2.810	16.466	49.425	72.629	100.473	100.000	99.569	17.912	2.801	-8.084	0.997
42	6.8	0	2.724	25.948	59.195	82.328	99.184	99.138	101.293	16.402	2.432	-7.024	0.947
43	6.8	0.5	2.430	20.050	45.967	68.569	93.656	98.445	98.985	19.052	2.115	-6.544	0.949
44	6.8	0.5	3.669	27.612	51.911	72.020	95.938	102.346	98.666	18.128	2.427	-6.989	0.992
45	6.8	0.5	3.513	21.726	53.238	74.328	96.935	99.629	100.877	17.686	2.274	-6.694	0.986
46	6.8	0.5	3.688	22.875	55.082	74.679	98.491	103.693	99.414	17.126	2.587	-7.363	0.998
47	6.8	0.5	8.317	27.284	51.302	73.110	97.539	101.974	99.273	16.925	2.206	-6.168	0.992
48	6.8	0.5	6.723	32.671	63.238	78.940	91.787	97.928	101.236	15.622	1.884	-5.406	0.974
49	6.8	1	4.094	35.622	46.530	78.372	95.303	98.349	103.832	18.045	2.078	-6.078	0.951
50	6.8	1	5.556	26.306	59.194	86.321	98.045	105.355	99.872	16.067	2.422	-6.725	0.995
51	6.8	1	3.683	17.590	45.543	77.001	96.522	102.004	101.090	18.204	2.533	-7.369	0.998
52	6.8	1	7.367	22.913	54.260	83.306	98.349	102.004	99.872	16.334	2.252	-6.305	0.994
53	6.8	1	4.472	34.800	66.102	71.937	96.217	98.045	101.395	14.114	1.968	-5.715	0.954
54	6.8	1	3.732	28.221	58.701	65.152	98.654	99.872	102.918	17.101	2.351	-6.772	0.977

Tablo 4.31(Devamı). Etodolakin % çözünen, $t_{\% 63.2}$ ve Weibull Kinetik Modeli parametrelerine ilişkin sonuçlar.

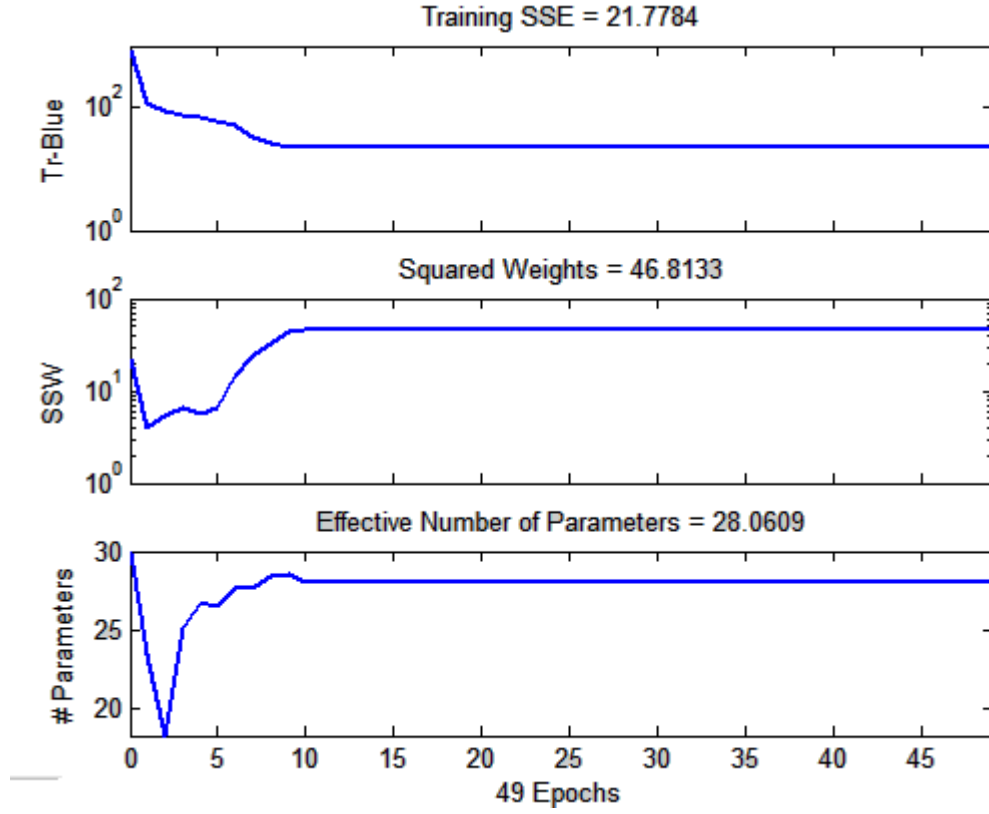
55	5.6	0.5	12.751	36.510	62.461	78.751	86.572	91.157	90.887	15.482	1.350	-3.915	0.945
56	5.6	0.5	15.000	42.274	64.322	82.527	87.381	88.190	92.775	14.480	1.222	-3.482	0.911
57	5.6	0.5	9.936	45.106	72.008	85.763	92.505	94.663	97.090	13.758	1.345	-3.815	0.885
58	5.6	0.5	17.137	43.286	65.536	84.145	87.921	87.651	91.157	14.066	1.160	-3.265	0.903
59	5.6	0.5	13.172	43.556	66.143	87.381	86.303	88.730	91.157	13.844	1.572	-4.298	0.940
60	5.6	0.5	20.584	47.466	69.581	84.954	85.766	90.887	92.505	13.258	0.958	-2.664	0.897
61	5.6	0.5	11.636	31.109	58.606	73.349	86.721	91.014	92.789	16.835	1.257	-3.811	0.937
62	5.6	0.5	14.920	38.110	60.525	82.766	86.440	88.036	93.171	15.015	1.241	-3.582	0.919
63	5.6	0.5	12.837	42.889	65.888	84.822	88.508	91.294	94.441	13.804	1.339	-3.786	0.912
64	5.6	0.5	16.387	45.364	67.763	84.271	87.676	88.643	92.396	13.405	1.178	-3.297	0.900
65	5.6	0.5	17.082	46.103	68.648	86.766	86.429	90.339	91.901	13.653	1.175	-3.256	0.898
66	5.6	0.5	17.849	46.736	68.150	84.013	84.992	91.092	93.474	13.653	1.149	-3.192	0.920
67	5.6	0.5	9.087	30.140	57.914	72.379	86.747	90.987	93.130	16.950	1.348	-4.130	0.929
68	5.6	0.5	15.397	34.342	57.087	82.979	85.586	87.893	93.527	18.088	1.127	-3.346	0.914
69	5.6	0.5	13.358	43.199	66.706	85.575	89.073	92.429	93.767	14.003	1.344	-3.771	0.918
70	5.6	0.5	17.377	46.056	68.504	84.313	87.594	88.972	92.808	13.658	1.152	-3.207	0.903
71	5.6	0.5	17.784	46.952	69.482	86.560	86.470	90.875	92.149	13.284	1.215	-3.310	0.920
72	5.6	0.5	17.359	46.754	67.808	83.901	84.149	91.699	93.572	13.713	1.038	-2.940	0.905
73	5.6	0.5	10.332	32.725	59.760	74.966	86.677	91.057	92.221	16.353	1.278	-3.874	0.920
74	5.6	0.5	15.286	37.251	59.741	82.814	86.245	88.003	93.252	15.126	1.234	-3.569	0.921
75	5.6	0.5	11.969	44.046	69.056	85.747	90.599	93.516	95.580	13.865	1.416	-3.954	0.915
76	5.6	0.5	17.395	44.965	67.336	84.248	87.724	88.453	92.158	13.811	1.152	-3.220	0.904
77	5.6	0.5	15.912	45.614	68.167	86.885	86.405	90.031	91.759	13.513	1.204	-3.552	0.893
78	5.6	0.5	18.667	47.059	68.520	84.335	84.735	91.429	93.132	13.530	1.005	-2.824	0.903

Tablo 4.31'deki deneysel verilerle Matlab Neural Network Toolbox kullanılarak yapay sinir ağı modeli oluşturulmuştur (Şekil 3.1). Öğretme için Bayesian düzeltme yöntemi (Bayesian regularization method) ile ileri beslemeli yapay sinir ağları kullanılmıştır. Öğretme yöntemi ile ilgili parametreler Tablo 4.32'de verilmiştir.

Tablo 4.32. Öğrenme yöntemi parametreleri.

Yöntem	Gizli Katmandaki Nöron Sayısı	Gizli Katmandaki Aktivasyon Fonksiyonu	Çıktı Katmanındaki Aktivasyon Fonksiyonu	Tekrar (İterasyon)	Öğrenme hedefi (MSE)
BR	2	Tansig Fonksiyonu	Doğrusal Fonksiyon	200	1e-3

Bayesian düzeltme yöntemi daha iyi genellenmiş sonuçları elde edebilmek için çeşitli parametreleri minimize etmektedir. Bayesian düzeltme yöntemi bu genellemeyi yaparken diğer çoğu yöntemde yer almayan bazı parametreler kullanır. Bu parametreler, hata kareler toplamı, ağırlıklar kareler toplamı ve efektif parametrelerin sayısıdır (Şekil 4.32). Yapay sinir uygulamasında 49 tekrar sonrasında öğrenme bitmiş ve maximum marquart değerine ulaşılmıştır. Marquart (MU) değeri 49 tekrar sonrası en yüksek değere ulaştığında, ağırlıklar en iyi değerde oluşturulmuş böylece yapay sinir ağının öğrenmesi tamamlanmıştır. Hata kareler toplamı (HKT) 21.778, ağırlıklı kareler toplamı (AKT) 46.813 etkili parametre sayısı ise 28.06 bulunmuştur.

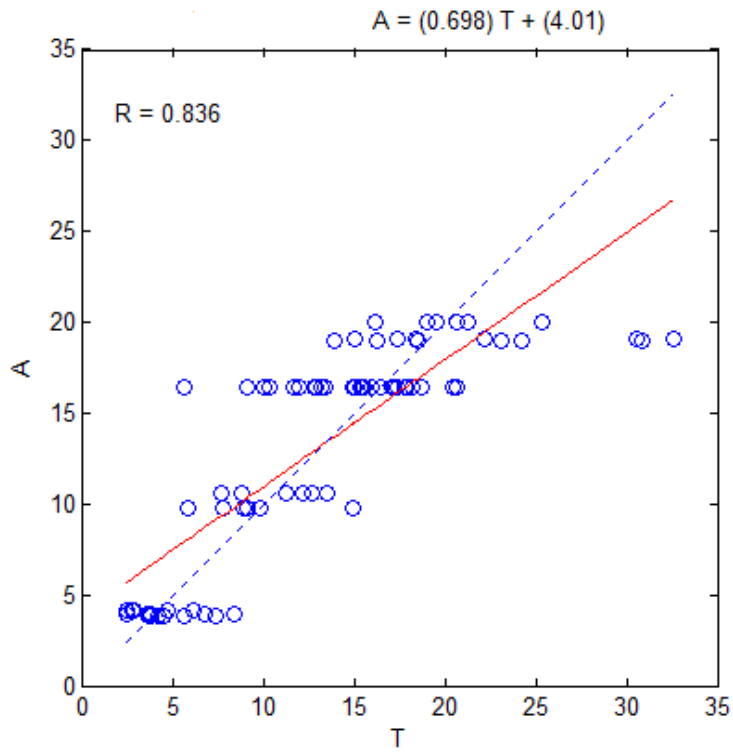


Şekil 4.33. Bayesian öğrenme yöntemine ilişkin parametreler.

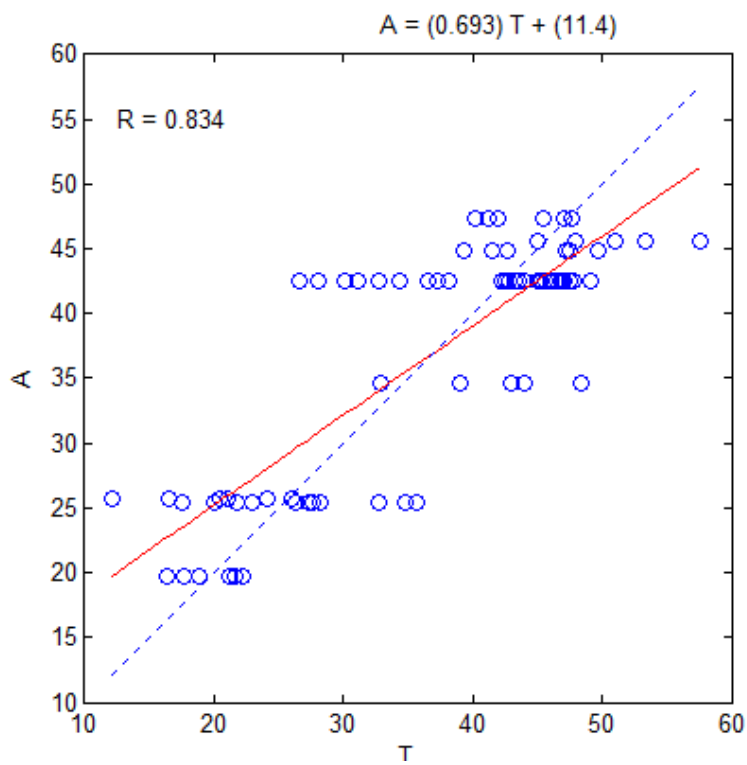
Yapay sinir ağı uygulaması sonrasında elde edilen tahmini çıktılar ve deneysel olarak bulunan çıktılar arasında doğrusal bir ilişki olup olmadığını saptayabilmek amacıyla regresyon analizi yapılmıştır. Şekil 4.33-4.41’de “A” tahmini çıktıları, “ T ” deneysel çıktıları ve R korelasyon katsayısını göstermek üzere yapay sinir ağı, eğim (m), y-intersept değeri (b), tahmini ve gerçek çıktı değerleri arasındaki korelasyon katsayısı (r^2) parametreleri ile ağın performansı açıklanmaktadır. Yapay sinir ağı uygulama sonuç verileri ile gerçek veriler arasındaki regresyon analizi sonuçları Tablo 4.33’de verilmiştir.

Tablo 4.33. Deneysel ve tahmini verilerin regresyon analizi sonuçları.

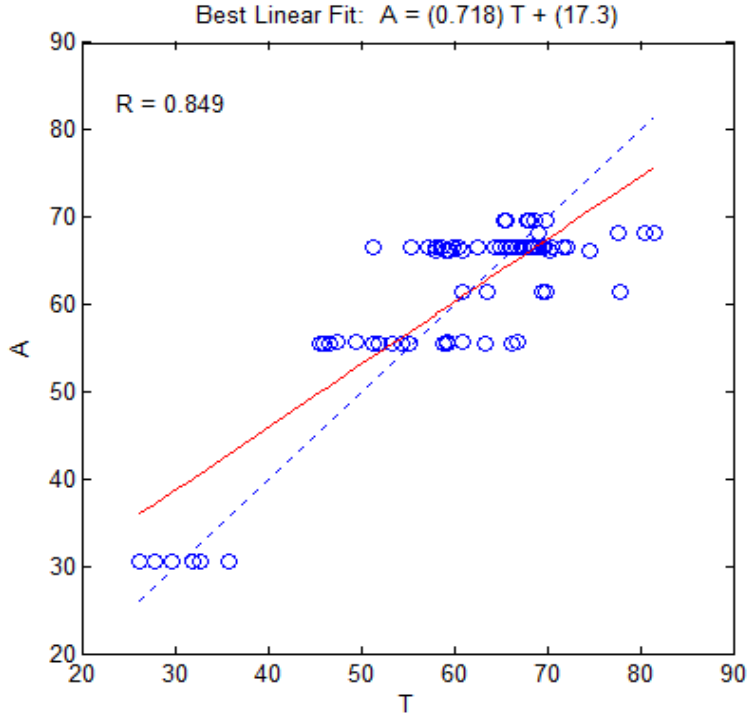
	Eğim (m)	y-intersept (b)	Korelasyon katsayısı (R)	Açılayıcılık katsayısı (r^2)
5. dakika	0.698	4.01	0.836	0.699
10.dakika	0.693	11.4	0.834	0.696
15.dakika	0.718	17.3	0.849	0.720
20.dakika	0.866	10.4	0.932	0.869
30.dakika	0.928	6.23	0.96.4	0.929
45.dakika	0.954	4.08	0.978	0.956
60.dakika	0.948	4.69	0.975	0.951
m (eğim)	0.859	0.21	0.927	0.859



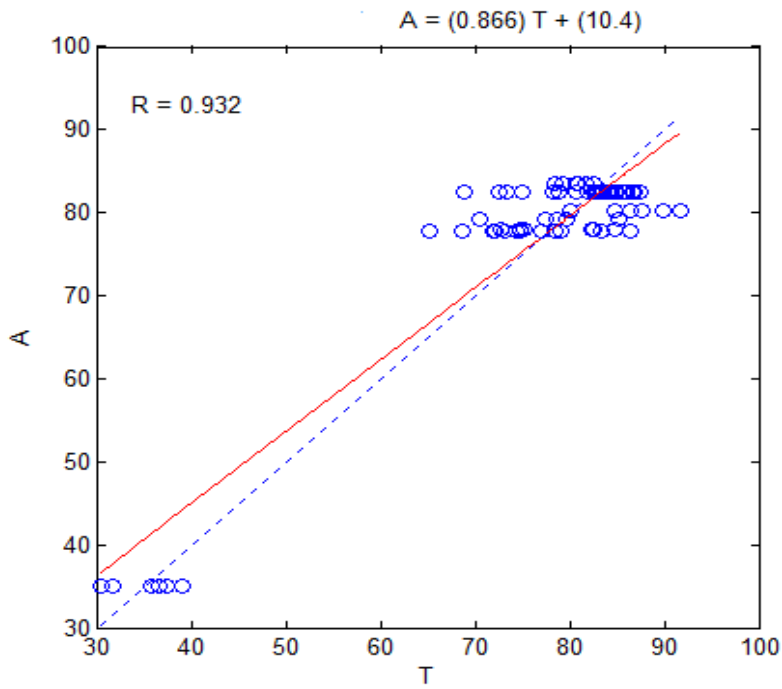
Şekil 4.34.5.dakika için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği



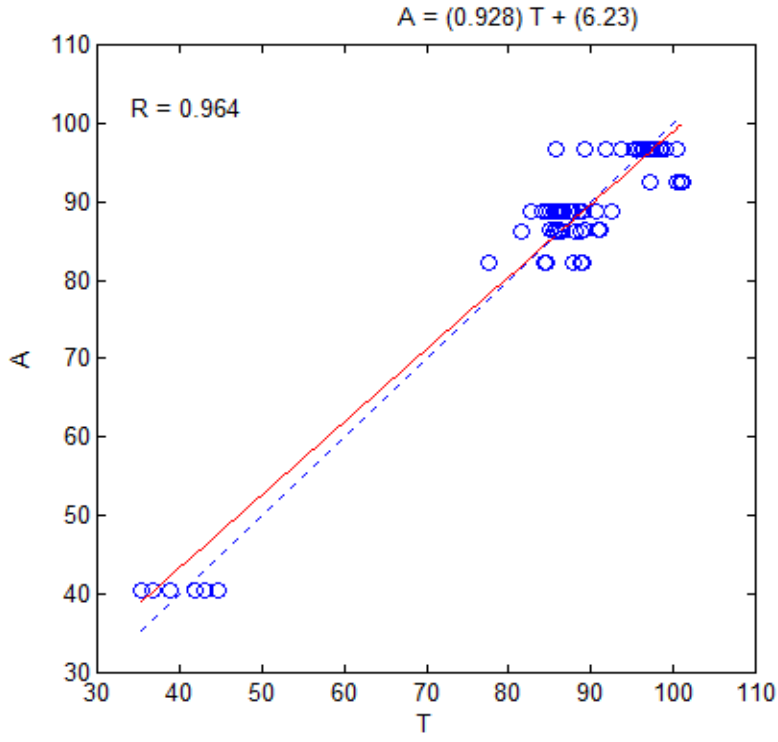
Şekil 4.35. 10.dakika için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği



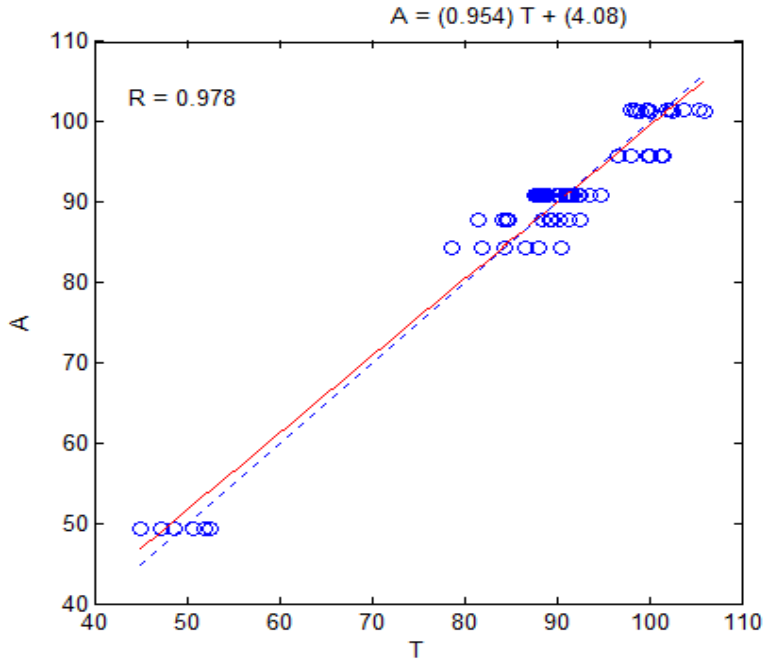
Şekil 4.36. 15 dakika için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği.



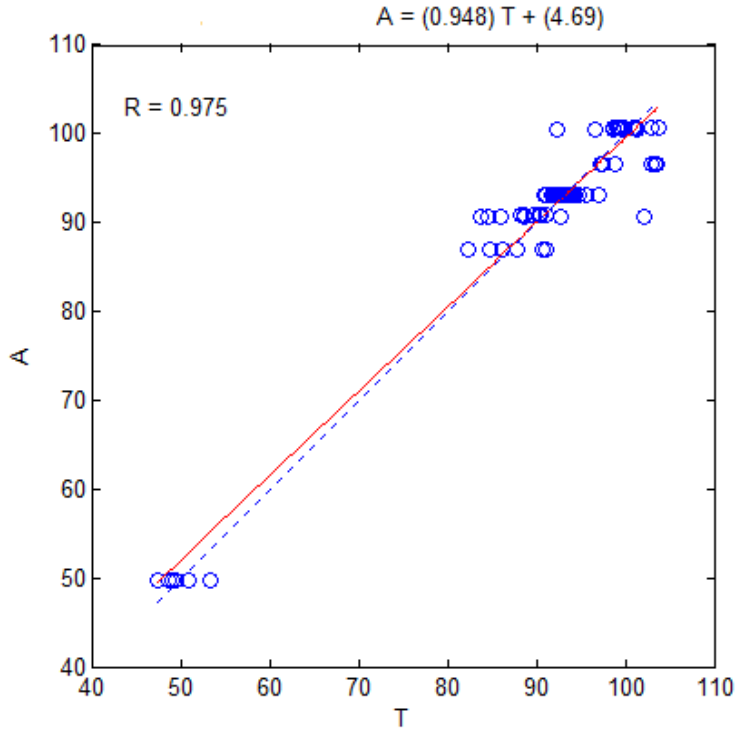
Şekil 4.37. 20. dakika için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği



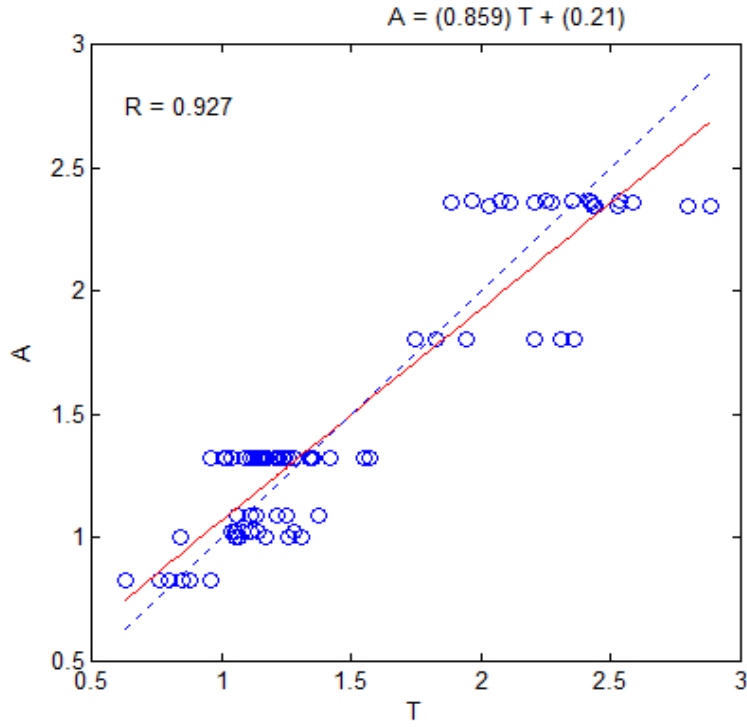
Şekil 4.38. 30. dakika için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği.



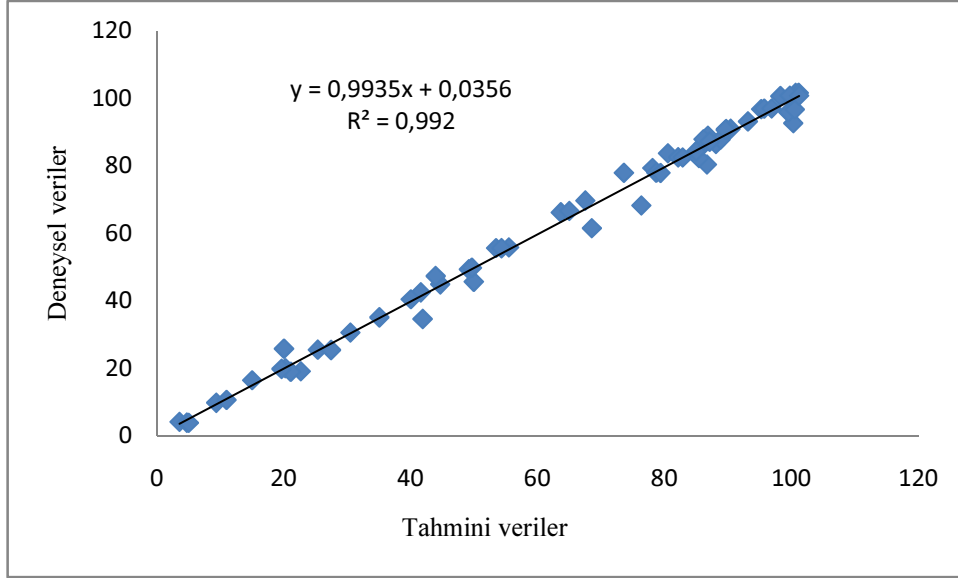
Şekil 4.39. 45. dakika için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 4.40. 60. dakika için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği.



Şekil 4.41. m değeri için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği.



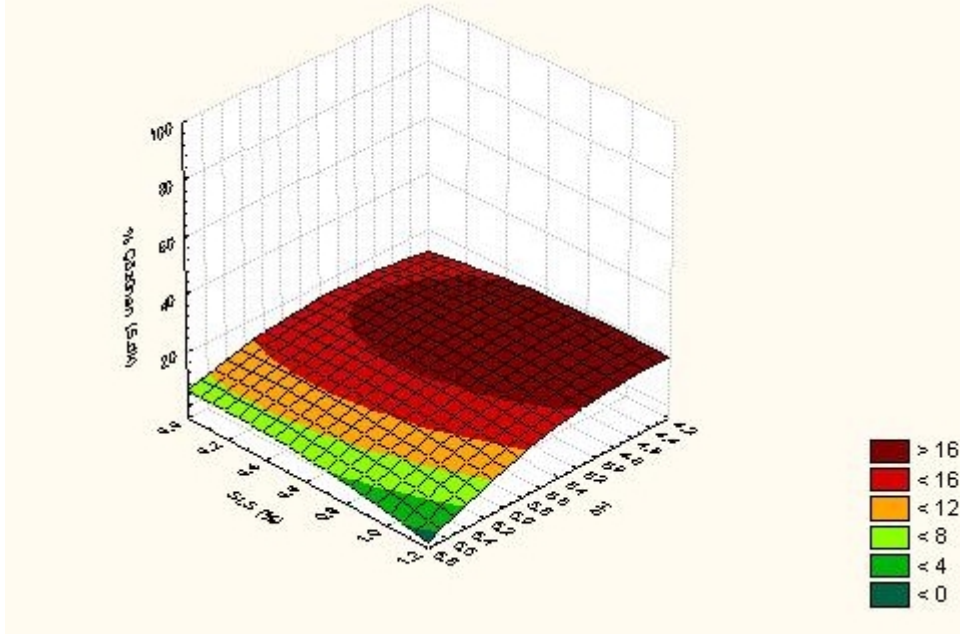
Şekil 4.42. Bütün zaman noktaları için tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği.

Şekil 4.42-4.47’de yapay sinir ağından pH ve yüzey etken maddenin fonksiyonu olarak elde edilen yanıt değişkenine ait cevap yüzey ve kontur grafikleri gösterilmiştir.

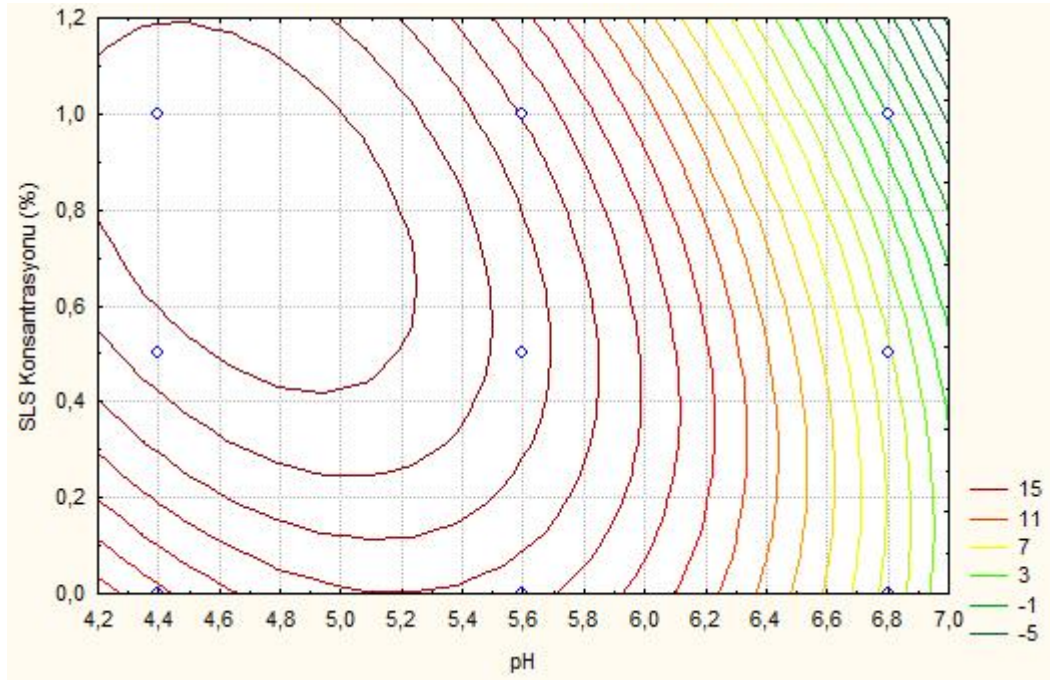
$$\% \text{ Çözünen}_{(5.dk)} = -80.7877 + 36.934x_1 + 32.5019x_2 - 3.5611x_1^2 - 4.3834x_1x_2 - 7.4089x_2^2 \quad (3.6)$$

Tablo 4.34. 5. dk’daki % çözünen etodolak verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları

Korelasyon Katsayısı (r)	Açıklayıcılık Katsayısı (r^2)	Regresyon Denkleminin Standart Hatası
0.829	0.687	3.369



Şekil 4.43. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 5.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine[®] Tablet) miktarına ilişkin cevap yüzey grafiği.

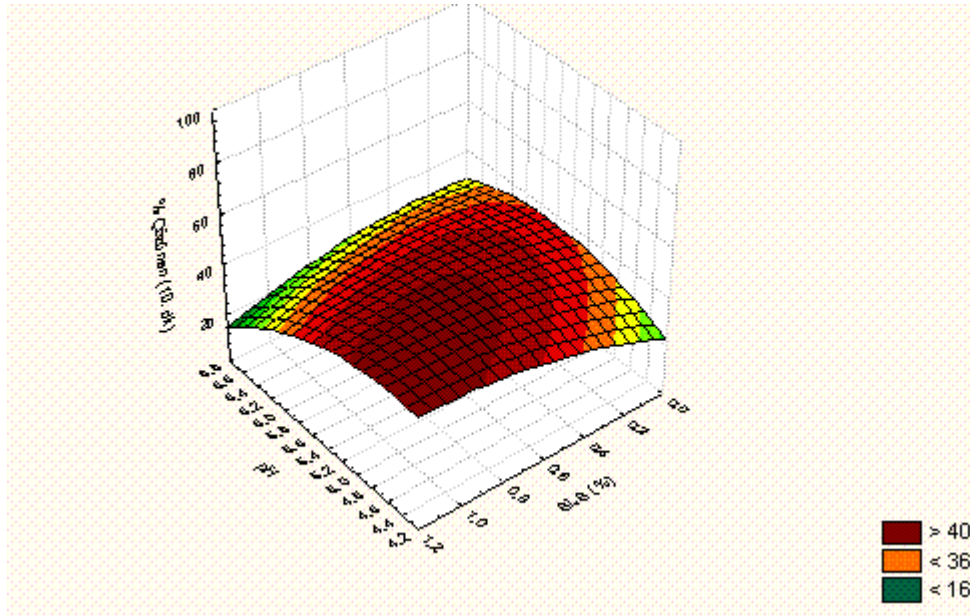


Şekil 4.44. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 5.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine[®] Tablet) miktarına ilişkin kontur grafiği.

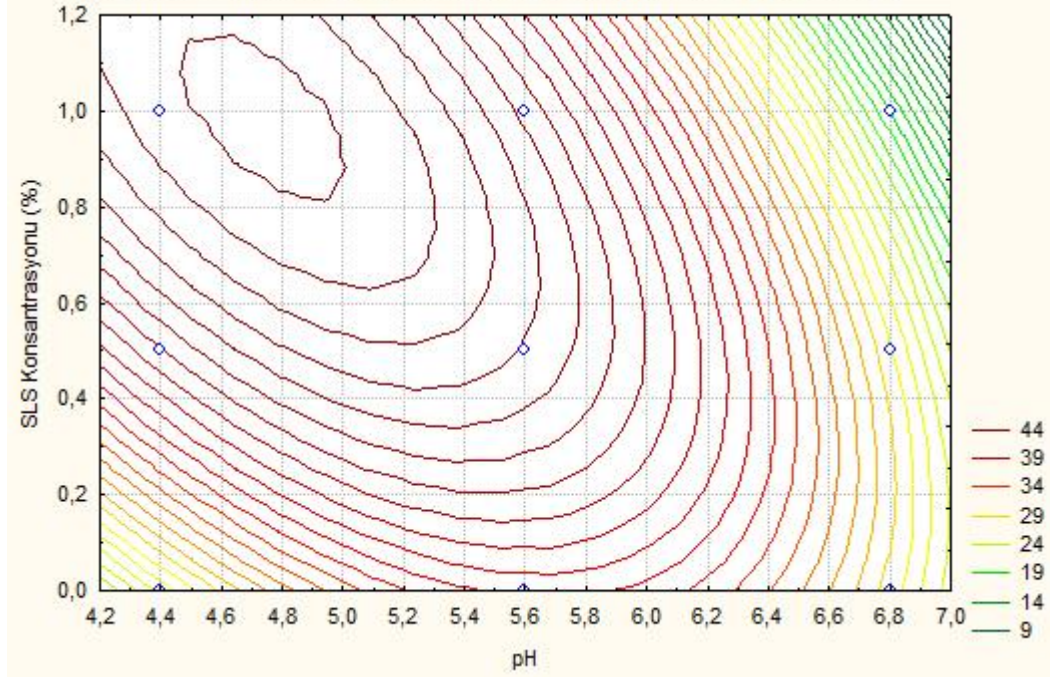
$$\% \text{ Çözünen}_{(10. \text{ dk})} = -161.7985 + 69.8436x_1 + 86.1012x_2 - 6.1551x_1^2 - 11.6125x_1x_2 - 15.7035x_2^2 \quad (3.7)$$

Tablo 4.35. 10. dk'daki % çözünen etodolak verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları.

Korelasyon Katsayısı (r)	Açıklayıcılık Katsayısı (r^2)	Regresyon Denkleminin Standart Hatası
0.876	0.768	4.584



Şekil 4.45. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 10.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine[®] Tablet) miktarına ilişkin cevap yüzey grafiği

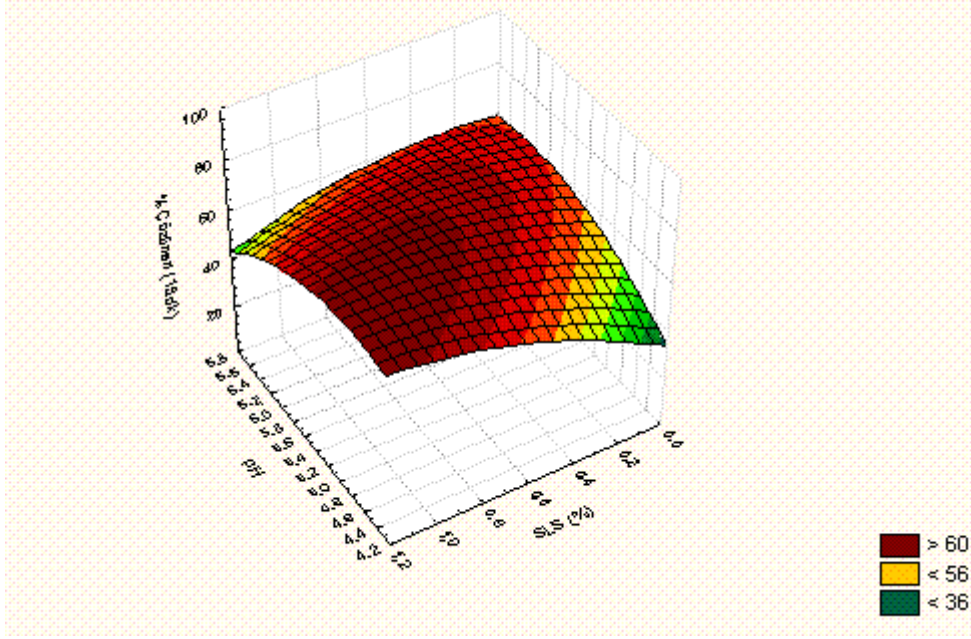


Şekil 4.46. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 10.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine® Tablet) miktarına ilişkin kontur grafiği.

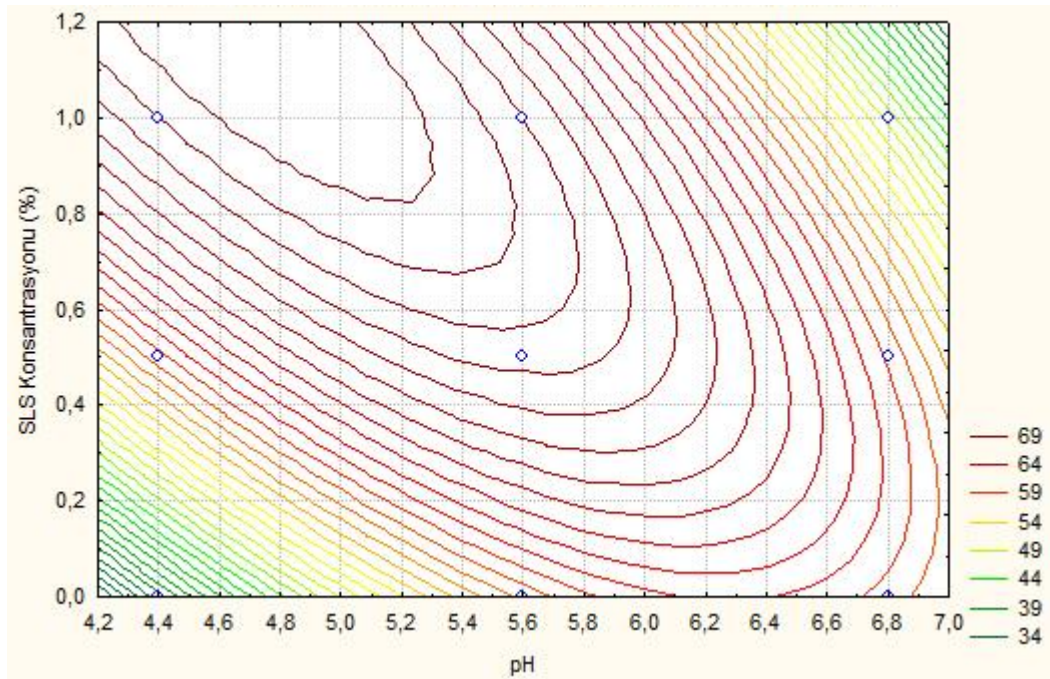
$$\% \text{ Çözünen}_{(15.dk)} = -178.8634 + 76.0749x_1^1 + 121.4777x_2^2 - 6.0538x_1^2 - 16.3833x_1x_2 - 19.014x_2^2 \quad (3.8)$$

Tablo 4.36. 15. dk'daki % çözünen etodolak verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları.

Korelasyon Katsayısı (r)	Açıklayıcılık Katsayısı (r^2)	Regresyon Denkleminin Standart Hatası
0.861	0.742	5.328



Şekil 4.47. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 15.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine[®] Tablet) miktarına ilişkin cevap yüzey grafiği

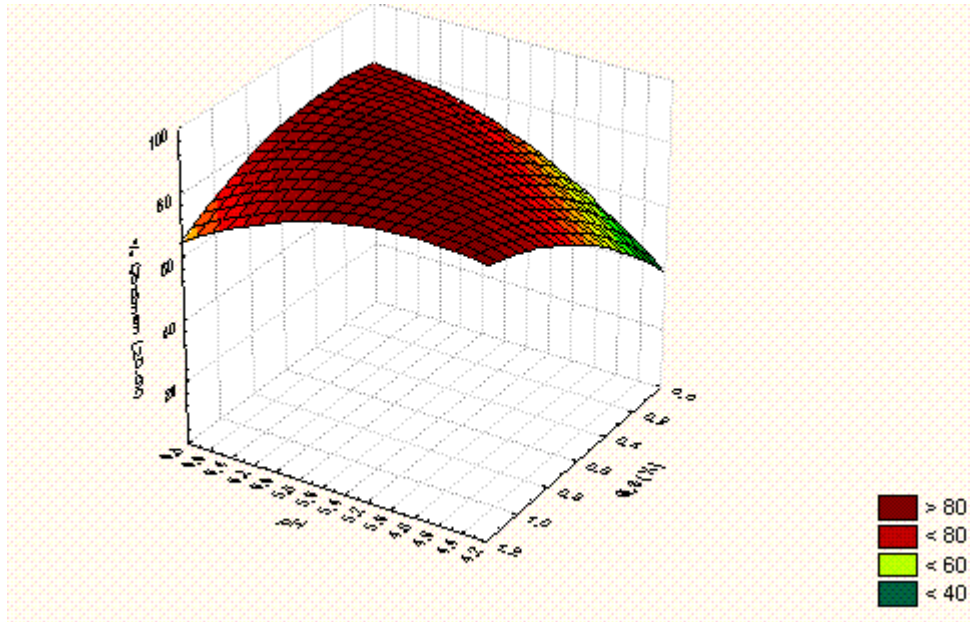


Şekil 4.48 SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 15.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine[®] Tablet) miktarına ilişkin kontur grafiği

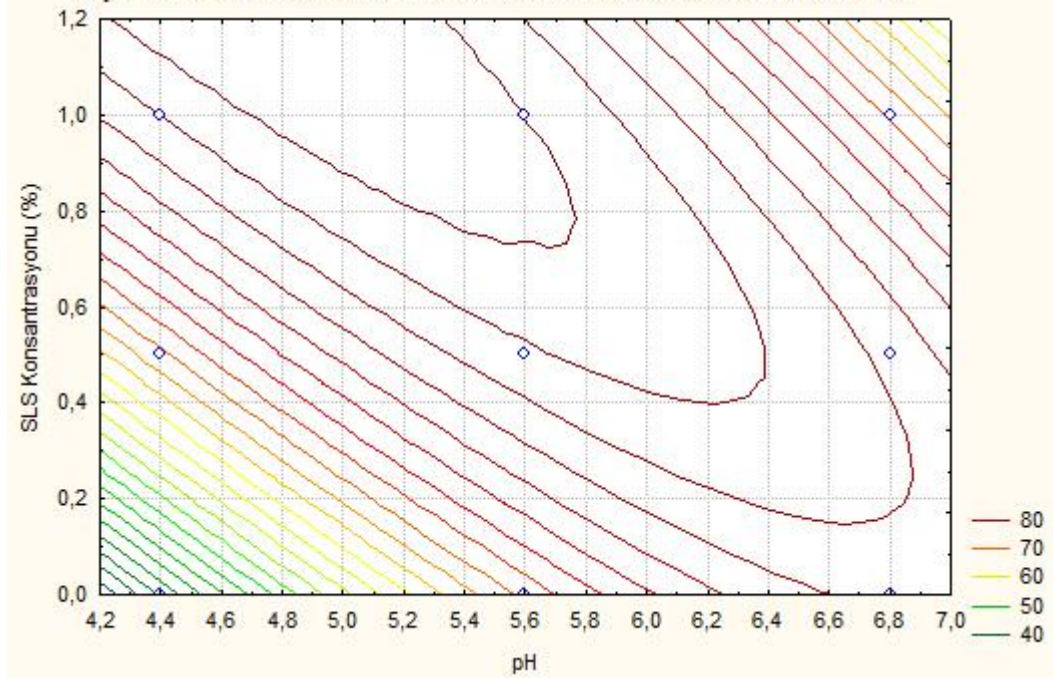
$$\% \text{ Çözünen}_{(20.dk)} = -191.5538 + 78.5345x_1 + 150.2847x_2 - 5.6652x_1x_2 - 20.2683x_1x_2 - 21.3414x_2^2 \quad (3.9)$$

Tablo 4.37. 20. dk'daki % çözünen etodolak verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları.

Korelasyon Katsayısı (r)	Açıklayıcılık Katsayısı (r ²)	Regresyon Denkleminin Standart Hatası
0.889	0.790	5.907



Şekil 4.49. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 20.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine® Tablet) miktarına ilişkin cevap yüzey grafiği.

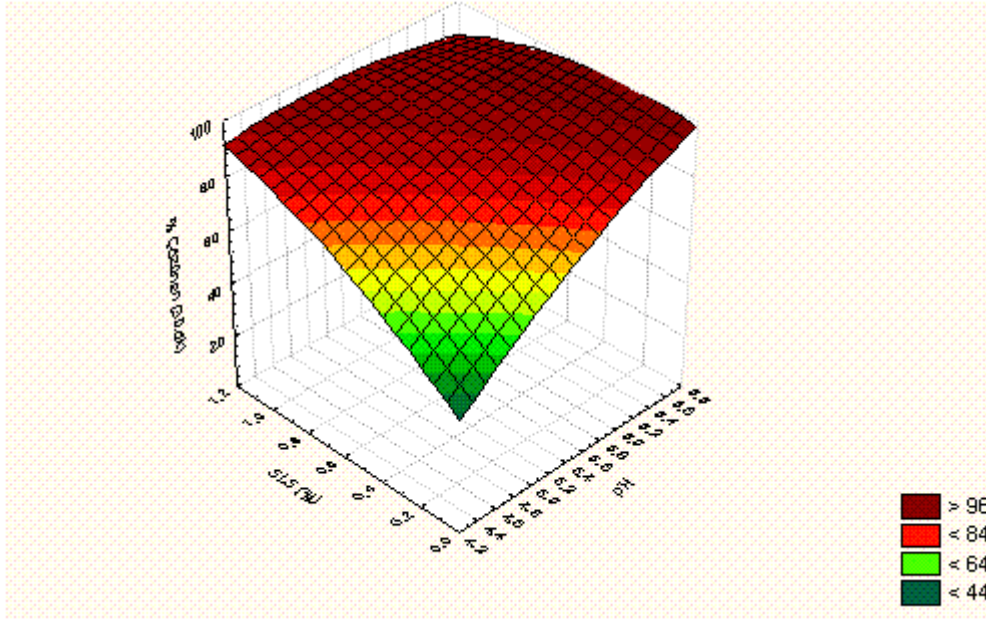


Şekil 4.50. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 20.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine® Tablet) miktarına ilişkin kontur grafiği.

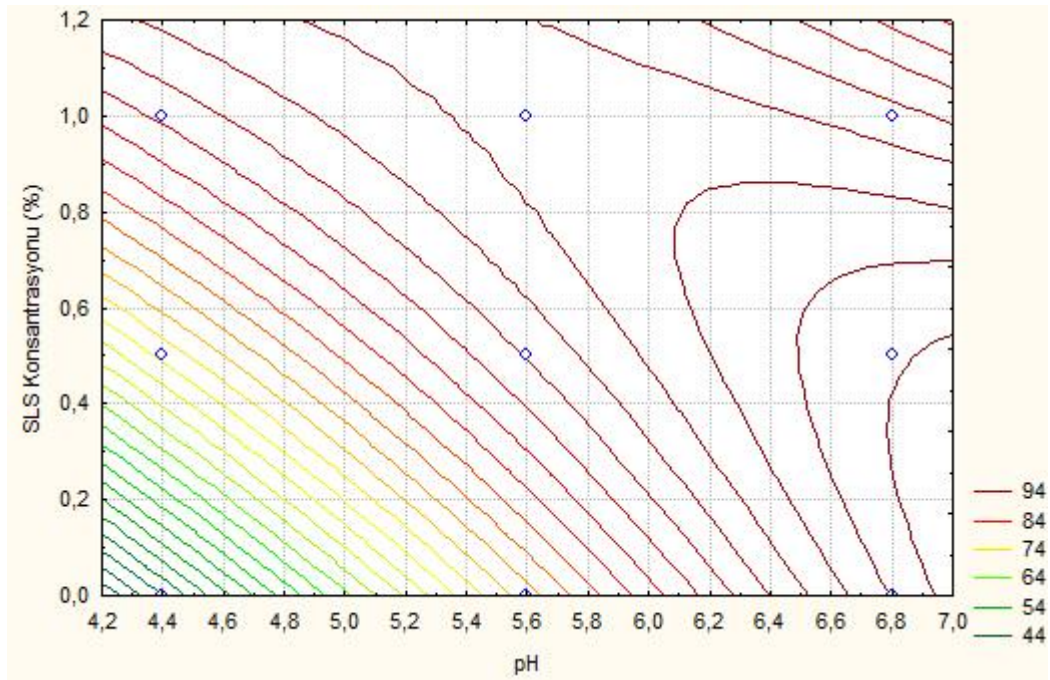
$$\% \text{ Çözünen}_{(30.dk)} = -128.466 + 52.5818x_1 + 141.4886x_2 - 2.8331x_1^2 - 19.0817x_1x_2 - 17.1046x_2^2 \quad (3.10)$$

Tablo 4.38. 30. dk'daki % çözünen etodolak verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları.

Korelasyon Katsayısı (r)	Açıklayıcılık Katsayısı (r^2)	Regresyon Denkleminin Standart Hatası
0.943	0.890	4.821



Şekil 4.51. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 30.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine[®] Tablet) miktarına ilişkin cevap yüzey grafiği.

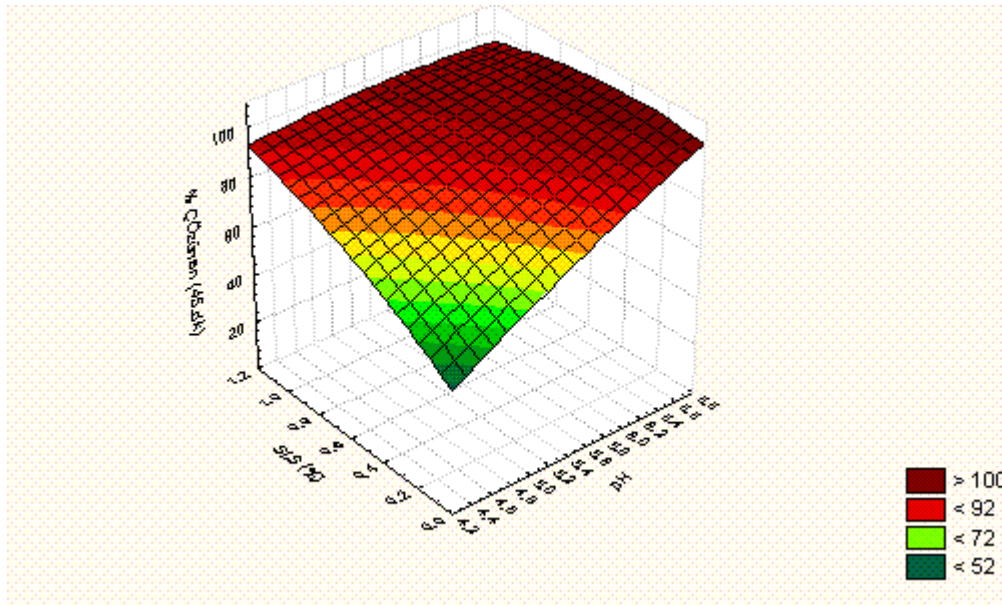


Şekil 4.52. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 30.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine[®] Tablet) miktarına ilişkin kontur grafiği.

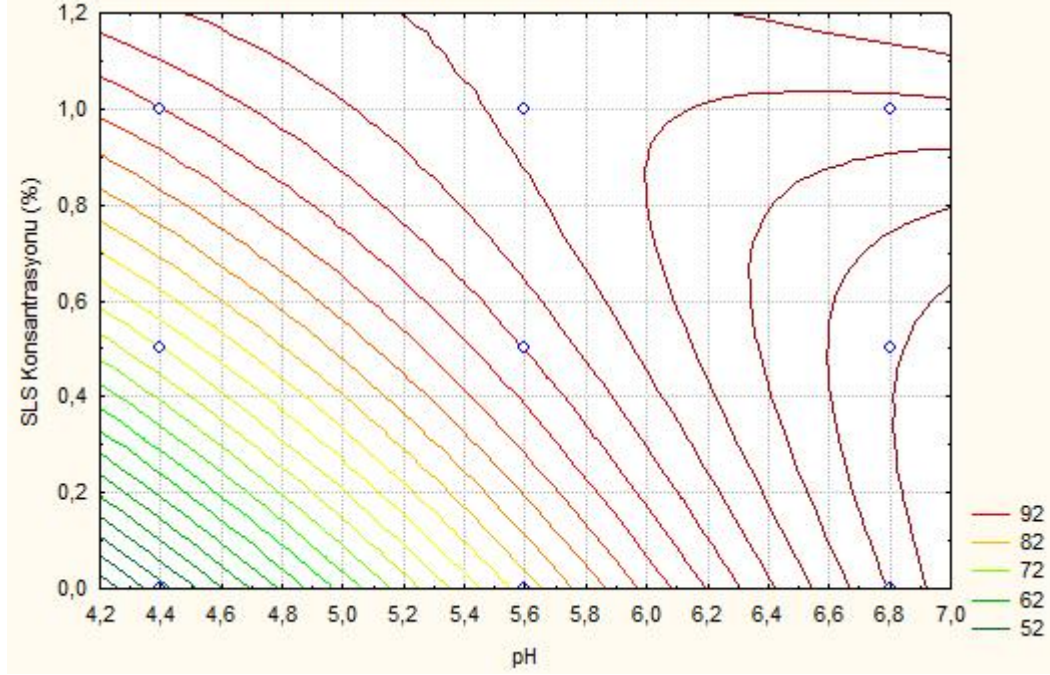
$$\% \text{ Çözünen}_{(45.\text{dk})} = -77.6113 + 37.1436x_1 + 118.0571x_2 - 1.5761x_1^2 - 15.9208x_1x_2 - 13.3345x_2^2 \quad (3.11)$$

Tablo 4.39. 45. dk'daki % çözünen etodolak verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları.

Korelasyon Katsayısı (r)	Açıklayıcılık Katsayısı (r ²)	Regresyon Denkleminin Standart Hatası
0.957	0.916	3.858



Şekil 4.53. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 45.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine[®] Tablet) miktarına ilişkin cevap yüzey grafiği

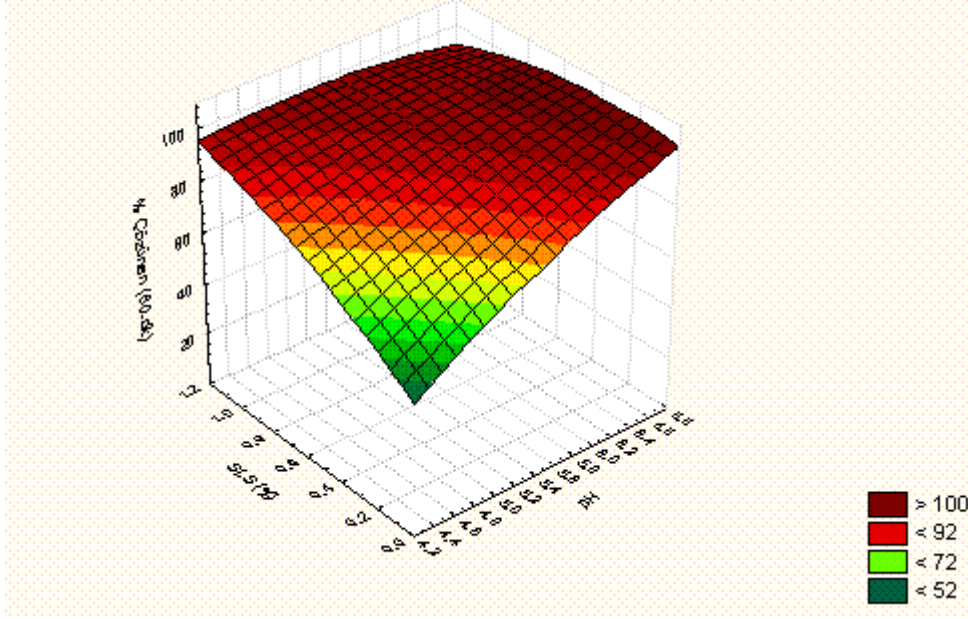


Şekil 4.54 SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 45.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine® Tablet) miktarına ilişkin kontur grafiği.

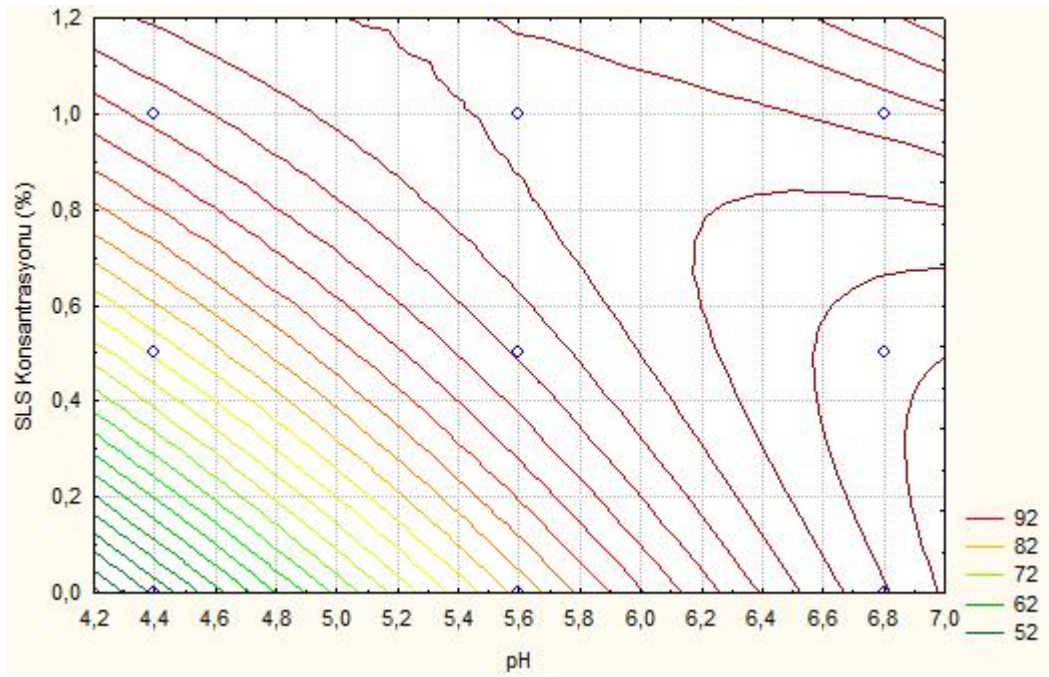
$$\% \text{ Çözünen}_{(60.dk)} = -99.5682 + 46.2309x_1 + 126.3204x_2 - 2.4456x_1^2 - 17.0367x_1x_2 - 15.1667x_2^2 \quad (3.12)$$

Tablo 4.40. 60. dk'daki % çözünen etodolak verisine ilişkin çoklu regresyon analizi sonuçları.

Korelasyon Katsayısı (r)	Açıklayıcılık Katsayısı (r^2)	Regresyon Denkleminin Standart Hatası
0.945	0.893	4.285



Şekil 4.55. SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 60.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine® Tablet) miktarına ilişkin yüzey cevap grafiği.



Şekil 4.56 SLS konsantrasyonu ve pH'nın fonksiyonu olarak 60.dk'daki % çözünen etodolak (200 mg Lodine® Tablet) miktarına ilişkin kontur grafiği.

4.5.1. Yapay Sinir Ağı ile % Çözünen Etodolak Miktarının Tahmin Edilmesi

Tablo 4.41-4.43'de etodolakin farklı çözünme ortamlarındaki deneysel olarak bulunan ortalama % çözünen miktarı, yapay sinir ağının tahmin ettiği % çözünen miktarları ve tahmini ve deneysel çıktılar arasındaki % hata değerleri verilmiştir.

Tablo 4.41. Etodolakin in vitro çözünmesine ait deneysel veriler.

X ₁	X ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆	Y ₇	Eğim
pH	SLS (%)	5.dk	10.dk	15.dk	20.dk	30.dk	45.dk	60.dk	m
4.4	0	9.350	19.640	30.504	35.064	40.017	49.154	49.648	0.777
4.4	0.5	22.672	44.659	63.659	78.102	85.419	84.981	87.128	1.168
4.4	1	20.268	43.928	67.515	80.547	88.115	88.846	89.706	1.092
5.6	0	21.093	49.949	76.347	82.153	86.102	86.154	89.632	0.993
5.6	0.5	15.004	41.603	65.000	82.872	86.830	90.413	93.158	1.251
5.6	1	10.973	41.882	68.547	86.702	100.300	99.526	100.542	1.959
6.8	0	3.569	20.026	55.484	78.700	95.246	101.078	98.276	2.555
6.8	0.5	4.724	25.370	53.456	73.608	95.724	100.669	99.742	2.414
6.8	1	5.034	27.446	54.326	79.387	96.887	101.151	101.212	2.295
6	0	18.004	51.866	73.708	89.489	90.698	92.982	93.328	1.458
6	0.02	10.564	36.927	59.697	78.832	91.490	91.653	92.118	1.593

Tablo 4.42. Etodolakin in vitro çözünmesinin tahmini verileri.

X ₁	X ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆	Y ₇	Eğim
pH	SLS (%)	5.dk	10.dk	15.dk	20.dk	30.dk	45.dk	60.dk	m
4.4	0	9.772	19.795	30.551	35.070	40.416	49.280	49.726	0.825
4.4	0.5	19.112	44.840	66.126	79.250	82.239	84.250	87.073	1.001
4.4	1	20.018	47.296	69.634	83.620	86.394	87.730	90.784	1.020
5.6	0	18.950	45.607	68.164	82.435	86.147	87.797	90.593	1.091
5.6	0.5	16.437	42.468	66.560	82.408	88.807	90.861	93.058	1.320
5.6	1	10.615	34.578	61.469	80.301	92.567	95.805	96.610	1.805
6.8	0	4.128	25.775	55.774	77.918	96.717	101.280	100.530	2.344
6.8	0.5	3.902	25.470	55.579	77.841	96.868	101.480	100.670	2.363
6.8	1	3.854	25.406	55.537	77.824	96.899	101.520	100.700	2.367
6	0	14.071	39.215	64.388	81.398	90.155	92.709	94.340	1.514
6	0.02	13.836	38.903	64.197	81.335	90.332	92.931	94.506	1.534

Tablo 4.43. Deneysel ve tahmini % çözünen etodolak miktarı arasındaki % hata

X ₁	X ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆	Y ₇	Eğim
pH	SLS (%)	5.dk	10.dk	15.dk	20.dk	30.dk	45.dk	60.dk	m
4.4	0	4.512	0.791	0.155	0.016	0.998	0.256	0.158	6.173
4.4	0.5	15.701	0.405	3.875	1.470	3.723	0.860	0.063	14.280
4.4	1	1.235	7.666	3.138	3.815	1.953	1.256	1.202	6.565
5.6	0	10.158	8.693	10.718	0.343	0.052	1.907	1.072	9.863
5.6	0.5	9.549	2.080	2.400	0.560	2.277	0.496	0.108	5.531
5.6	1	3.265	17.439	10.325	7.382	7.710	3.738	3.911	7.871
6.8	0	15.653	28.709	0.523	0.993	1.544	0.200	2.294	8.269
6.8	0.5	17.401	0.395	3.971	5.751	1.195	0.805	0.931	2.109
6.8	1	23.446	7.434	2.230	1.969	0.012	0.364	0.506	3.151
6	0	21.843	24.392	12.645	9.041	0.598	0.293	1.085	3.835
6	0.02	30.977	5.352	7.537	3.175	1.265	1.394	2.593	3.722
Ortalama % hata		13.976	9.396	5.229	3.138	1.939	1.052	1.265	6.488

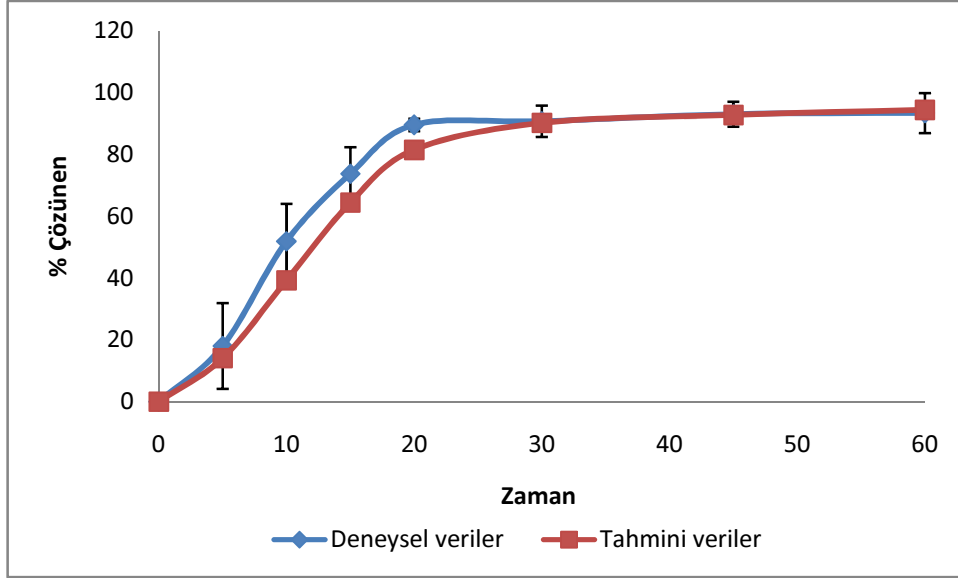
Yapay sinir ağı öğretme verileri arasında yer almayan 2 farklı çözünme ortamında (pH 6.0 + % 0 SLS ve pH 6.0 + % 0.02 SLS içeren ortamlar) etodolak 200 mg tabletin in vitro çözünmesi deneysel olarak test edilmiş ve yapay sinir ağı modeli ile tahmin edilen veriler ile karşılaştırmak amacıyla çözünme profillerinin f_2 değerleri hesaplanmıştır (Şekil 4.56,4.57).

Tablo 4.44. Tahmini ve deneysel % çözünen etodolak

Zaman (Dakika)	Deneysel Çıktılar		Tahmini Çıktılar	
	A	B	A	B
5	18.004	10.564	14.071	13.836
10	51.866	36.927	39.215	38.903
15	73.708	59.697	64.388	64.197
20	89.489	78.832	81.398	81.335
30	90.698	91.490	90.155	90.332
45	92.982	91.653	92.709	92.931
60	93.328	92.118	94.340	94.506

A; pH 6.0 fosfat tamponundaki % çözünen etodolak miktarı (n=6)

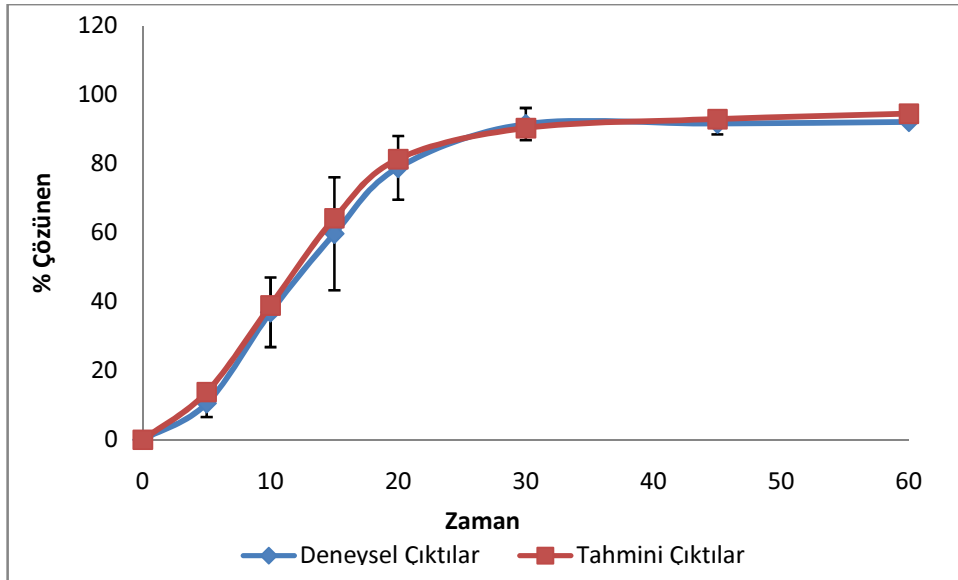
B; pH 6.0 % 0.02 konsantrasyonda SLS içeren fosfat tamponundaki % çözünen etodolak miktarı (n=6)



Şekil 4.57. Etodolakın (200 mg Lodine® Tablet) SLS içermeyen pH 6.0 fosfat tamponundaki çözünme profilleri (n=6).

Kabul kriteri; f_2 50-100

f_2 :benzerlik faktörü=57.962



Şekil 4.58. Etodolakın (200 mg Lodine® Tablet) % 0.02 SLS içeren pH 6.0 fosfat tamponundaki çözünme profilleri (n=6).

f_2 benzerlik faktörü=77.269

5.TARTIŞMA

Bu bölümde etodolakın fizikokimyasal özellikleri üzerinde yapılan çalışmalar, in vitro çözünme ve çözünürlük çalışmaları üzerine genel bir değerlendirme yapılacaktır.

BSS, etkin maddeleri sudaki çözünürlüklerine ve bağırsak duvarından geçirgenliklerine göre sınıflandırmaktadır. Yüksek çözünürlük ve yüksek geçirgenlik özelliklerine sahip hemen salım sağlayan dozaj şeklinden hızlı çözünen ilaçlar için (Sınıf I) in vivo biyoeşdeğerlik çalışmasından vazgeçme söz konusudur. Etodolak gibi sınıf II ilaçlar ise düşük çözünürlük ve yüksek geçirgenlikteki ilaçlardır. Bu özelliklerinden dolayı etodolakın biyoyararlanımı üzerinde hız kısıtlayıcı basamağı etkin maddenin dozaj şeklinden çözünmesi oluşturmaktadır.

Bir ilacın in vivo çözünürlük ve çözünmesini etkileyen birçok fizyolojik etken bulunmaktadır. Bunlardan pH ve yüzey etkin maddelerin etkisi iyonize olabilen ilaçlar için oldukça önemlidir. Özellikle mide bağırsak sistem pH aralığında bir pK_a 'ya sahip ilaçlar için bu etki daha da önemlidir. Mide bağırsak sistem pH'sı ve yüzey etkin maddelerin etkisinin in vitro olarak yansıtıldığı bu çalışmada zayıf asidik bir pK_a 'ya sahip ve çözünürlüğü pH'ya bağımlı bir etkin madde olan etodolak kullanılmıştır.

Bu çalışmada hedeflenen amaç, zayıf asidik iyonize olabilen bir etkin madde olan etodolakın absorpsiyonun gerçekleştiği fizyolojik pH aralığında yüksek çözünürlüğe sahip olduğunun ve dozaj şeklinden hızlı bir şekilde salındığının gösterilmesidir. Ayrıca yüzey etkin maddenin çözünürlük ve çözünme hızına etkisinin araştırılmasıdır. Burada bütün pH noktaları ve yüzey etkin madde konsantrasyonlarının ayrı ayrı çalışılması yerine bu iki değişkenin düşük orta ve yüksek düzeyleri çalışılarak yapay sinir ağı yöntemi ile farklı pH ve yüzey etkin madde konsantrasyonundaki çözünmesi tahmin edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla zayıf asidik bir ilaç olan etodolak içeren 200 mg film kaplı tabletinin Tablo 3.2'deki çözünme ortamlarında in vitro çözünme çalışmaları gerçekleştirilmiş ve YSA'da girdi verisi olarak kullanılmıştır.

5.1. Etkin Madde Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Etodolakin fizikokimyasal özellikleri incelenmiş ve sonuçlar literatür verileri ile karşılaştırılarak etkin maddenin karakterizasyonu ve saflık kontrolü yapılmıştır. Etodolakin fizikokimyasal özelliklerini tayin etmek amacıyla FT-IR ve UV spektrumları çekilmiş, erime derecesi tayini, diferansiyel taramalı kalorimetrik analizi, X-ışını kırınımı analizi, partikül büyüklüğü dağılımı analizi yapılmıştır.

Etodolakin FT-IR spektrumunda gözlenen 748.03 cm^{-1} 'de N-H eğilme titreşimleri, 1033 cm^{-1} 'de ester grubuna ait C-O gerilme titreşimleri, 1411 cm^{-1} 'de $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$ eğilme titreşimleri, 1739 cm^{-1} 'de karboksilat grubuna ait C=O gerilme titreşimleri, 2974 cm^{-1} 'de aromatik C-H gerilim titreşimleri, 3338 cm^{-1} 'de karboksilik asit grubuna ait O-H gerilim titreşimleri literatürde kayıtlı etodolaka ait FT-IR spektrumları ve kimyasal yapısı ile uyumludur (99,126). Etodolakin DSC termogramlarında $152 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de keskin bir endotermik pik gözlenmiş, bu nokta etodolakin erime noktasına karşılık gelmektedir. Etodolakin erime derecesi literatürde $145 \text{ }^\circ\text{C}$ (97,107) ve $157 \text{ }^\circ\text{C}$ (101) arasında değişmektedir. Literatürde liyofilize etodolak ve kristalize etodolaka ait termogramlar karşılaştırıldığında liyofilize etodolakin $148 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de kristalize etodolakin $154 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de pik verdiği belirtilmektedir (127). DSC termogramı ve $152 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de elde edilen endotermik pik literatür ile uyumludur (127). Etkin maddenin erime derecesi tayin aygıtı ile tespit edilen erime derecesi $151\text{-}153 \text{ }^\circ\text{C}$ bulunmuş, bu sonuç DSC termogramlarında, elde edilen sonuç ile uyumludur. Ayrıca etodolakin X-ışını difraktogramından, elde edilen sonuçlar literatür verileri ile uyumlu olup, keskin piklerin görülmesi etkin maddenin kristal bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir (100,127). Etodolakin partikül büyüklüğü dağılımı analizi yapılmış ve 85.502 ± 14.584 olarak saptanmıştır (Şekil 4.7). Etodolakin miktar tayininde spektrofotometrik, kolorimetrik, flurometrik ve kromatografik yöntemler ve kapiller elektroforez olmak üzere çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (100-106). Bu çalışmada etodolak miktarı tayini için, USP NF 29'da etodolak film tablet için önerilmiş olan UV spektrofotometresi kullanılmıştır. Etodolakin Bölüm 3.2.3'de belirtilen ortamlarda UV spektrumları çekilmiş (Şekil 4.1-4.3), 273 nm ve 278 nm 'lerde maksimum absorbans verdiği görülmüştür. Etodolak Tablet USP NF 29'da yer alan monografında belirtilen dalga boyu (274

nm) ile uyumlu olarak 273 nm dalga boyunda in vitro miktar tayini yapılması uygun bulunmuştur (44).

5.2. Etkin Maddenin UV Spektrofotometre İle İn Vitro Miktar Tayini ve Validasyonu

Etodolakın Bölüm 3.2.2.2’de belirtildiği gibi pH 4.4, pH 4.4 +% 0.5 SLS, pH 4.4+% 1 SLS, pH 5.6, pH 5.6 +% 0.5 SLS, pH 5.6 +% 1 SLS, pH 6.0, pH 6.0+% 0.02 SLS, pH 6.8, pH 6.8+% 0.5 SLS, pH 6.8+% 1 SLS çözeltilerdeki 12.5 µg.mL⁻¹ konsantrasyondaki çözeltilerinden hareketle hazırlanan 2, 4, 6, 8, 10, 12 µg.mL⁻¹ konsantrasyonlardaki çözeltileri kullanılarak kalibrasyon doğruları hazırlanmıştır (Şekil 4.8-4.18). Her bir konsantrasyon noktası 6 seri olacak şekilde çalışılmış, her bir serinin ortalaması alınarak kalibrasyon doğrusu çizilmiş ve açıklayıcılık katsayısının (R²) 1’e yakın olduğu doğru denklemleri, çözünürlük ve in vitro çözünme hızı analizlerinde kullanılmıştır.

Analitik yöntem validasyonunda doğrusallık, doğruluk, kesinlik (tekrar edilebilirlik, ara kesinlik, tekrar elde edilebilirlik), özgünlük, duyarlılık ve stabilite gibi analitik validasyon ölçütleri esas alınmış ve bulgular istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Yöntemin doğrusallık tayini için Bölüm 3.2.2.3.1.’de belirtildiği gibi 2-12 µg.mL⁻¹ konsantrasyon aralığında hazırlanan çözeltiler kullanarak konsantrasyon ile absorbans arasındaki ilişkiyi belirlemek üzere regresyon doğrusu çizilmiş ve açıklayıcılık katsayısı (r²) 0.999 ve 1 bulunarak (Şekil 4.8-4.18), konsantrasyon ile absorbans arasında doğrusal bir ilişki olduğu gösterilmiştir.

Yöntemin doğruluğu Bölüm 3.2.2.3.2.1’de belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir. Farklı konsantrasyonda yapılan analizler sonucunda % geri kazanım ve % VK değerlendirilmiştir. Analitik yöntem geliştirme ve validasyonuna ilişkin 2006’da USP tarafından yayınlanan ve Bölüm 1225 kaynak gösterilerek verilen örnek çalışmada doğruluk için geri kazanım %95-%105, ortalama doğruluk için ise % 97-% 103 olarak önerilmektedir. Etodolak miktar tayini için geliştirilen bu yöntemde yalnızca pH 6.8’de en düşük konsantrasyonda bu sınırlar dışında bir değer elde edilmiştir. Doğruluk için % VK’lar yine en düşük konsantrasyonda bazı noktalarda % 2’den yüksek (% 2.147, % 2.26, % 2.040, % 2.406) değerler almıştır.

Örneğin pH 4.4+ % 1 SLS içeren tampon çözeltisinde etodolakın % geri kazanım sonuçları incelendiğinde, sapan bir değere bağlı olarak % VK yüksek bir değer almıştır. Yöntemin kesinliğinin tayini için tekrar elde edilebilirlik, tekrar edilebilirlik ve ara kesinlik parametreleri Bölüm 3.2.2.3.2.2’de belirtildiği şekilde tayin edilmiş ve sonuçlar ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayıları hesaplanarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.1-4.19). Üç farklı konsantrasyonda hesaplanan % VK değerlerinden en düşük konsantrasyonda ($2 \mu\text{g.mL}^{-1}$) tekrar elde edilebilirlik (% 2.147, % 2.206, %2.040, %2.406) tekrar edilebilirlik (% 2.542 % 2.205, % 2.316) ve ara kesinlikte (% 2.187, % 2.077) % 2’den yüksek bulunmuştur. Diğer konsantrasyonlar için % VK değeri, % 2’nin altında olmakla beraber bazı kaynaklarda kesinlik için % VK’nın analitin konsantrasyonuna ve analiz tekniğine bağlı olarak % 2- % 20 arasında değişebileceği belirtilmiş, bazı kaynaklarda ise bu değer % 3 olarak verilmektedir (128-131). Özgünlük parametresinin değerlendirilmesi için Bölüm 3.2.2.3.3’de belirtildiği gibi çözünme ortamının ve etodolak film tablet (Lodine 200 mg Film Tablet®) bileşiminde yer alan yardımcı maddelerden oluşan plasebonun UV spektrumu alınmış ve etodolakın maksimum absorpsiyon verdiği dalga boyunda herhangi bir pik tespit edilmemiştir (Şekil 4.19-4.21). Etodolakın maksimum absorpsiyon verdiği dalga boyunda tampon hazırlamak için kullanılan maddelerin ve etodolak film tabletin bileşiminde yer alan yardımcı maddelerden herhangi birinin aynı dalga boyunda pik vermediği ve yöntemin etodolaka özgün olduğu saptanmıştır.

Etodolakın UV spektrofotometrik miktar tayini sınırı $2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonda yukarıda açıklandığı gibi doğruluk ve kesinlik ölçütlerinde varyasyon katsayısının % 2 değerinin üzerinde olması bu durumu kanıtlamaktadır. Kaldı ki in vitro miktar tayini için spektrofotometrik tayin sırasında hiçbir örneğin absorpsiyonu $2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyondaki absorpsiyona karşılık gelecek şekilde okunmamıştır. Etodolakın analiz süresi boyunca stabilitesinin değerlendirilmesi Bölüm 3.2.2.3.5’de belirtildiği şekilde yapılmıştır. Etodolakın çözünme ortamlarındaki $12 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyondaki çözeltisi; hazırlandıktan hemen sonra, 1. saat, 2.saat ve 24. saat sonunda analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar arasındaki % VK hesaplanmış ve % 2’den düşük bulunmuştur, bu sonuç da etkin madde kaybının % 2’den daha fazla olmadığını göstermektedir.

5.3. Çözünürlük

Etodolakin farklı pH'lardaki tampon çözeltisindeki denge çözünürlük değerleri Bölüm 3.2.3'de belirtildiği gibi tayin edilmiştir. Yüzey etkin madde konsantrasyonunun ve pH'nın iyonize olabilen ilaçların çözünürlüğüne etkisi Bölüm 2.1.5'de Eşitlik 2.13-2.20 yardımıyla açıklanmıştır. Bölüm 2.1.5'de belirtildiği gibi iyonize olabilen ilacın toplam çözünürlüğü iyonize olabilen ve non-iyonize kısımlarının çözünürlükleri toplamına eşittir. İyonize olabilen kısmın çözünürlüğünün artmasına pH ve c_m (yüzey etkin madde/misel konsantrasyonu) etki etmektedir. Non-iyonize ilacın çözünürlüğü ise c_m artışına bağlı olarak artmaktadır. İyonize olabilen zayıf asidik yapıdaki etodolakin toplam çözünürlüğü pH ve sodyum lauril sülfat konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak artmaktadır. Etodolakin çözünürlük sonuçları Tablo 4.24'de verilmiştir. Yüzey etkin madde yokluğunda maksimum çözünürlük 6.371 mg.mL^{-1} olarak pH 6.8'de tespit edilmiştir. Yüzey etkin madde ile birlikte pH 6.8'de çözünürlük değeri 9.717 mg.mL^{-1} olup sadece pH'ya bağımlı çözünürlükten daha yüksek bir değer ölçülmüştür. Eşitlik 2.19'dan görüleceği gibi yüksek c_m değerlerinde non-iyonize kısmın yanında iyonize kısmın çözünürlüğü de artmaktadır. Ayrıca iyonize ilaç ve miselleri ile noniyonize ilaç ve misellerinin çözünürlüğü pH bağımlıdır. İlacın pK_a değeri pH değerinden büyük olduğu zaman iyonize ilacın miseller çözünürlük denge sabiti k^{**} non-iyonize ilacın miseller çözünürlük denge sabiti k^* 'dan daha küçük olacağı için toplam çözünürlüğe iyonize kısım ve misellerinin katkısı daha az olacaktır. Diğer taraftan pH'nın ilacın pK_a (etodolak için $pK_a=4.65$) değerinden büyük olması durumunda iyonize ilacın çözünürlüğe katkısı artacaktır. Etodolakin çözünürlük sonuçları incelendiğinde pH'nın etodolakin pK_a değerinden düşük olduğu pH 4.4'de çözünürlük oldukça düşük olmasına rağmen daha yüksek pH'larda çözünürlük 50 kat kadar artmıştır. Etodolakin pH 4.4'deki çözünürlüğü artan SLS konsantrasyonuna bağlı olarak 12 kat artmıştır. Burada etodolakin çözünürlüğü, pH'nın değişimine, SLS konsantrasyonunda meydana gelen değişikliklerden daha fazla duyarlıdır. Etodolakin çözünürlük sonuçlarından (Tablo 4.24) pH değişikliğinin çözünürlüğü 6 ila 50 kat arttırdığı SLS konsantrasyonunda meydana gelen değişikliğin 1.5- 12 kat arttırdığı görülmektedir.

Etodolakın farklı yüzey etkin madde konsantrasyonlarındaki çözünürlük sonuçları Şekil.4.22’de grafiklenmiştir. Burada etodolakın çözünürlüğünün $S_{pH\ 4.4} < S_{pH\ 5.6} < S_{pH\ 6.8}$ sıralaması ile pH bağımlı bir çözünürlük profiline sahip olduğu görülmektedir. pH değişimi ve SLS konsantrasyonundaki değişimin birlikte incelendiği çözünürlüğe ilişkin ikinci dereceden polinomial eşitlik ile cevap yüzey ve kontur grafikleri de çalışmamız sonucunda elde edilen bulgular arasındadır. Şekil 4.23’deki cevap yüzey grafiği ve 4.24’deki kontur grafiği, yüzey etkin madde ve pH artışına karşılık olarak çözünürlükte artış oluştuğunu göstermektedir.

Etodolakın pH’ya bağlı çözünürlük sonuçlarından hareketle çözünürlük sınıfı belirlenmiş ve Tablo 4.26’da verilmiştir. Bölüm 2.2.1.1’de belirtildiği gibi bir ilacın yüksek çözünürlük özelliği göstermesi için en yüksek dozunun en fazla 250 mL çözücüde çözünüyor olması gerekmektedir. Diğer bir ifadeyle doz/çözünürlük oranının en fazla 250 mL olması gerekmektedir. Bu durumda Tablo 4.26 incelendiğinde etodolak pH 6.8’de yüksek çözünürlük gösteren bir ilaçtır. Ayrıca pH 5.6 % 0.5 SLS içeren, pH 5.6 % 1 SLS içeren ve pH 4.4 % 1 SLS içeren ortamlarda da yüksek çözünürlük göstermektedir. pH ve SLS konsantrasyonundaki değişimin birlikte incelendiği doz/çözünürlük oranına ilişkin ikinci dereceden polinomial eşitlik (Eşitlik 3.5) ile cevap yüzey ve kontur grafiklerinde (Şekil 4.25 , Şekil 4.26) SLS ve pH artışına bağlı olarak doz/çözünürlük oranı azalmaktadır (Tablo 4.27).

Birçok ilacın absorpsiyon bölgesini oluşturan ince bağırsağın açlık koşullarında pH aralığı 6.5-7.4, safra tuzu, lesitin konsantrasyonu 7 mM’dır, tokluk koşullarında ise pH aralığı 5.2-7.5, safra tuzu, lesitin konsantrasyonu 19 mM’dır (4,11). Zayıf asidik yapıdaki iyonize olabilen bir etkin madde olan etodolakın ($pK_a=4.65$) $pH > pK_a$ olduğunda ince bağırsak pH’sındaki çözünürlüğü sudaki ve mide sıvılarındaki çözünürlüğünden daha yüksek olacaktır. Bunun sebebi etodolakın pH’ya bağımlı bir çözünürlük profiline sahip olması ve zayıf asidik karakterde olmasıdır. Birçok iyonize olabilen ilacın çözünürlüğünün fizyolojik pH’dan etkilendiği Bölüm 2.1.3’de açıklanmıştır. Ayrıca safra tuzu ve lesitinler fizyolojik olarak ıslanabilirliği artırarak lipofilik ilaçların çözünürlüklerini artırmaktadır. Absorpsiyon bölgesinde etodolakın çözünürlüğü bağırsak pH’sı ve safra tuzlarının

yüzey etkin madde özelliklerine bağlı olarak artacaktır. Bu artışa bağlı olarak etodolakin in vivo çözünmesi dolayısı ile absorpsiyon hız ve derecesi artacaktır.

5.4. İn Vitro Çözünme Deneyleri

Etodolakin in vitro çözünme deneyleri Bölüm 3.2.4.'de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Etodolakin in vitro çözünme çalışmaları için pH 4.4 ve pH 5.6 fosfat tamponları ve USP 29'a kayıtlı Etodolak Film Kaplı tablet için önerilen çözünme ortamı olan pH 6.8 fosfat tamponu kullanılmıştır. Ayrıca çözünme ortamlarına % 0.5 ve % 1 konsantrasyonlarda sodyum lauril sülfat ilave edilerek de in vitro çözünme testleri gerçekleştirilmiştir. USP 29'a göre Etodolak Film Tablet in en az % 85'nin (% 80 Q) 30 dakika içinde çözünmesi gerekmektedir. Etodolak Film Tablet in in vitro çözünme testi sonuçları Tablo 4.29'da verilmiştir. Tablo 4.29'daki bulgularda görüldüğü gibi 5. ve 10. dakikalarda % çözünen etodolak miktarlarına ilişkin varyasyon katsayıları oldukça yüksektir. Bu da hemen salım sağlayan tabletlerde sıklıkla rastlanan bir durumdur. Tabletlerin dağılma zamanlarındaki farklılığa bağlı olarak ilk örnek alma noktalarında değişkenlik ölçütleri FDA'nın "Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms" rehberinde de vurgulanmıştır (132). Tüm bunlara ek olarak, in vitro çözünme çalışmaları sırasında düşük pH noktalarında etodolak film kaplı tabletin film kaplamasının daha kısa sürede dağıldığı ve çözünmenin daha erken başladığı, yüksek pH'larda ise daha uzun sürede dağıldığı gözlemlenmiştir. Film kaplama her tablet için aynı anda açılmadığı için ilk zaman noktalarında farklı çözünme hücrelerinden elde edilen sonuçlar arasındaki varyasyon katsayılarını büyük olması kaplama materyalinin çözünürlüğünün de pH'ya bağımlı olduğunu düşündürmektedir.

Zayıf asidik bir ilaç olan etodolakin çözünürlüğü buna bağlı olarak katı dozaj şeklinden çözünmesi, çözünme ortamının pH'sı arttıkça artmaktadır. Şekil 4.27'da yüzey etkin madde içermeyen ortamlardaki etodolak film tabletin in vitro çözünme profilleri incelendiğinde pH 4.4'de çözünme tamamlanamamakta ancak pH 5.6 ve 6.8'de çözünme 30 dakika içinde % 85'e ulaşmaktadır (Şekil 4.28, Şekil 4.29). Çözünme, ortam pH'sının etodolakin pK_a 'sından daha yüksek olduğunda belirgin bir şekilde artış göstermektedir. Bu durumda etodolakin midenin asit ortamında çözünürlüğünün ve çözünmesinin düşük, ince bağırsağın giriş kısmında ve ince

bağırsakta yüksek olduğu söylenebilir. Bölüm 5.3’de belirtildiği gibi etodolakin ince bağırsakta yüksek çözünürlük sınıfına dahil olduğunu (Tablo 4.27) ve etkin maddenin dozaj şeklinden % 85’ inin 30 dakika içinde çözündüğünü söyleyebiliriz (Tablo 4.29). Çözünme ortamına SLS eklenmesi ile beraber her üç pH’daki çözünme profillerinin SLS içermeyen tamponlardaki çözünme profillere göre birbirine yaklaştığı görülmektedir. Şekil 4.30-4.32’de in vitro çözünmesine SLS etkisi incelenmiş, pH 5.6 ve pH 6.8’de çözünme ortamında yüzey etkin madde eklenmesi çözünmeyi büyük ölçüde etkilememektedir. Ancak pH 4.4’de ise yüzey etkin maddenin ortama eklenmesi ile 30. dakikada % 40’larda olan çözünme % 85’lere, bir saat sonunda ise % 50’lerde olan çözünme % 90’a ulaşmıştır. Bu durum yine Bölüm 5.3’de belirtildiği gibi etodolakin miseller çözünürlüğünün artmasına bağlı olarak in vitro çözünmesinin de artması şeklinde açıklanabilir.

İlacın in vivo/in vitro çözünme hızına yüzey etkin maddeler ile birlikte pH etkisi birbirinden bağımsız ve toplamsaldır. Ortam pH’sının etodolakin pK_a ’sından küçük olduğu zaman ilacın çözünürlüğünün pH’dan az, yüzey etkin madde konsantrasyonundan daha belirgin şekilde etkilendiği ve gerekçeleri Bölüm 5.3’de açıklanmıştır. Etkin maddenin çözünürlüğüne bağlı olarak dozaj şeklinden çözünmesinin de bu yönde bir değişim göstereceği beklenmelidir. İlacın dozaj şeklinden çözünmesi pH’nın iyonize olabilen ilacın pK_a değerinden büyük olduğu durumda ise iyonize olabilen kısmın çözünmesi, iyonize olmayan ve miseller halde bulunan kısmın çözünmesi ile karşılaştırıldığında çok daha yüksek olacağı için ilacın çözünmesine pH etkisinin daha belirgin olduğu söylenebilir. Etodolakin in vitro çözünme çalışmalarında 30. dakikada pH 4.4 tampon çözeltisindeki % çözünen etodolak sonuçları incelendiğinde SLS içeren ortamda içermeyen ortama göre % 100’den fazla bir artış gözlenmektedir (Tablo 4.29). Diğer taraftan pH 6.8 tampon çözeltisindeki % çözünen etodolak SLS içeren ve içermeyen ortamlar kıyaslandığında % 1 civarında bir artış gözlenmiştir. Bu durum yüksek pH’larda yüzey etkin madde etkisinin daha az; daha düşük pH’larda ise çok olduğunu göstermektedir. Yukarıda açıklandığı gibi ilaçların absorpsiyon hız ve derecesini belirleyen en önemli etkenlerden biri ilacın çözünmesidir. Sınıf II bir ilaç olan etodolak düşük çözünürlük ve yüksek permeabilite özelliklerine sahip bir ilaçtır. Bu çalışmada zayıf asidik yapıda ve fizyolojik pH aralığında bir pK_a ’ya sahip bir etkin

madde olan etodolakın beklentiler doğrultusunda absorpsiyon bölgesinde çözünürlüğünün yüksek ve dozaj şeklinden çözünmesinin hızlı olduğu tespit edilmiştir. Etodolakın in vitro çözünme bulgularının değerlendirilmesine yönelik Bölüm 3.2.4.1’de Eşitlik 3.2 ve 3.3 yardımı ile çözünme hızı kinetikleri de değerlendirilmiştir. Bu amaçla açıklayıcılık katsayısı, y-intersept değeri, n kesişim değerleri “b” şekil ölçütü ve $t_{\%63.2}$ değerleri hesaplanmıştır. Çözünme hızı sonuçları, her türlü salım kinetiğini ve sigmoidal çözünme profili gösteren sistemleri tanımlamada başarılı bir model olan Weibull Eşitliği ile tanımlanmıştır. Açıklayıcılık katsayısı (r^2)’nin yüksek olduğu, en iyi doğrusal ilişkinin tespit edildiği Weibull Modeli etodolakın çözünme kinetiğini açıklayabilen modellerden biridir. Çözünme kinetiğine ilişkin elde edilen veriler Tablo 4.30’da verilmiştir. Ayrıca etodolakın % 63.2’sinin çözünmesi için geçen zaman T_d değeri ve şekil ölçütü Eşitlik 3.3 ile hesaplanmış ve Tablo 4.30’da verilmiştir. Deneysel olarak elde edilen verilerle hesaplanan $t_{\%63.2}$ değerlerinin birbiri ile uyumlu olduğu görülmüştür. Şekil ölçütü b’nin 1’den büyük olması çözünme profillerinin sigmoidal bir yapıya sahip olduğunu doğrulamakta olup, Weibull Modelinin etodolakın çözünme kinetiğinin değerlendirmesinde başarılı olduğunu sigmoidal yapıdaki çözünme profilinin de YSA’larında kullanabileceğini söyleyebiliriz.

5.5. Yapay Sinir Ağlarını Kullanarak % Çözünen Etodolak Miktarının Tahmin Edilmesi

Etodolakın tablet dozaj şeklinden zamana karşı % çözünen miktarlarının tespit edilmesi amacıyla Tablo 3.1’de belirtildiği şekilde deney tasarımı yapılmıştır. Bu deneysel tasarımında $\alpha=1$ Central Composite Design kullanılmış, merkez noktası olan orta düzeyler beş kere tekrarlanmıştır. Böylece deneyin kesinliği artırılmaya çalışılmıştır. Araştırmamızda BR yöntemi kullanılmış böylece YSA’nın daha iyi bir genelleme yapması sağlanmış ve aşırı öğrenmenin önüne geçilmiştir. Ortalama standart hata $1e^{-3}$ olarak belirlenmiş ve 49 iterasyon sonunda belirlenen oranda hata ile YSA tahmin edebilmiştir. Etodolak tabletin 3 farklı pH ve 3 farklı yüzey etkin madde düzeyinde elde edilen çözünme verilerin girdi verilerini oluşturduğu yapay sinir ağı uygulaması sonucunda regresyon analizi yapılmıştır. Regresyon analizi sonuçları (Tablo 4.33) incelendiğinde korelasyon katsayısının 0.90’un üzerinde

olduğu zaman noktalarında kestirim daha güçlüdür. Korelasyon katsayısının ve eğimin büyük olması, y-intersept değerinin küçük olması, tahmini ve deneysel sonuçların benzer olduğunu göstermektedir. Örneğin 30 dakika için korelasyon katsayısının “0.964” olması tahmini ve deneysel veriler arasında pozitif güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir. Açıklayıcılık katsayısı (r^2) “0.929” tahminin % 92 doğrulukta olduğunu göstermektedir. İlk zaman noktalarında açıklayıcılık katsayısının düşük olması yapay sinir ağının bu noktalarda güçlü bir tahmin yapamadığını göstermektedir. Tahmini verilerin deneysel verilere eşit olduğunda elde edilecek olan regresyon doğrusu ile gerçek tahmini ve deneysel veriler arasındaki regresyon doğrularının birbiri ile çakışması beklenmektedir. Tahminin güçlü olduğu 30., 45., 60. dakikalar ve m değeri için bu iki doğrunun birbirine daha yakın olduğu gözlenmektedir (Şekil.4.38-4.41). Tahminin doğruluğunun azaldığı noktalarda ise ideal doğrudan sapma daha fazladır. Yapay sinir ağı 5.,10.,15.,20.,30.,45. ve 60. dakikalar için sırasıyla % 69, % 69, % 72, % 86, % 92, % 95, % 95, doğrulukta tahminler yapabilmektedir. YSA’ları kullanılarak tahmin edilen pH ve SLS’nin etodolakın çözünmeye etkisi cevap yüzey grafikleri ve kontur grafikleri ile de gösterilmiştir. Bu grafiklerde de düşük pH’larda yüzey etkin madde artışının pH artışından daha etkili olduğu görülmektedir. Her iki bağımsız değişkendeki artışlarında, etodolakın çözünme hızını artırdığı Şekil 4.43-4.56’de görülmektedir.

YSA’dan elde edilen tahmini sonuçlar ile deneysel olarak elde edilen elde edilen ortalama % çözünen etodolak miktarları ve % hata değerleri Tablo 4.41-4.43’de verilmiştir. YSA’nın tahmin edebilme performansını test etmek amacıyla ile herhangi bir çözüme ortamı seçilerek bu ortamlarda in vitro çözünme hızı çalışmaları yapılmış, YSA ile tahmin edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Bu amaçla pH 6.0 fosfat tamponu ve pH 6.0 fosfat tamponu % 0.02 SLS içeren ortamlarda elde edilen deneysel ve tahmini verilerden elde edilen in vitro çözünme profilleri f_2 benzerlik testi ile karşılaştırılmıştır (Şekil 4.57-4.58) Benzerlik faktörü f_2 değeri (pH 6.0 çözünme ortamında 57.96, pH 6.0 % 0.02 SLS içeren ortamında ise 77.26 bulunmuştur) 50’nin üzerindeki bu değerler profillerin birbirine benzer olduğunu göstermektedir Bu şekilde formülasyon geliştirme çalışmalarında hedeflenen amaca yönelik olarak çeşitli bağımsız değişkenlerin değişimine bağlı olarak istenen cevap,

yapay sinir ağı modeli ile tahmin edilebilir. Bulgularımız sonucunda araştırmacı her bir çözüme ortamında deney yapmak yerine YSA ile tahmin edilen en uygun çözüme ortamını deneysel olarak çalışarak doğruluğunu test edebilecektir. Böylece geliştirilen formülasyonun vücudun farklı bölgelerindeki çözünmesi de tahmin edilebilir. YSA uygulamaları çözünme ortamının tahmin edilmesi, formülasyon ve üretim işlemi değişkenlerinin optimizasyonu ile ürünün performansını artırmak için de kullanılan bir yöntemdir.

6.SONUÇ

Bu tez çalışması süresince zayıf asidik yapıda BSS sınıf II bir ilaç olan etodolak etkin maddesinin fizikokimyasal karakterizasyonu tamamlandıktan sonra çözünürlük ve in vitro çözünme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çözünürlük ve in vitro çözünme çalışmalarında zayıf asidik yapıdaki bir ilacın in vivo çözünürlük ve çözünmesine etki eden faktörlerden pH ve yüzey etkin madde etkisini incelemek amacıyla in vivo çözünme ortamı, in vitro olarak taklit edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla farklı pH'larda tampon çözeltilerinde ve farklı konsantrasyonda yüzey etkin madde içeren ortamlardan elde edilen in vitro çözünme profilleri karşılaştırılmıştır. Sonuçta zayıf asidik iyonize olabilen bir ilacın çözünürlük ve in vitro çözünmesine pH ve yüzey etkin maddelerin ayrı ayrı etkisi olduğu ve bu etkilerin toplamsal olduğu saptanmıştır. Ayrıca etkin maddenin pK_a değerinden düşük pH'larda yüzey etkin madde etkisinin, yüksek pH'lar da pH etkisinin daha belirgin olduğu gösterilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda zayıf asidik yapıdaki iyonize olabilen sınıf II bir ilaç olan etodolakin ince bağırsaktaki absorpsiyon bölgesinin yansıtıldığı ortamlarda yüksek çözünürlükte olduğu ve dozaj şekline hızlı bir şekilde çözüldüğü saptanmıştır. Etodolakin mide bağırsak sisteminin farklı pH koşullarında ve farklı yüzey etkin madde içeren bölgelerindeki in vitro çözünme hızını tahmin etmek üzere bir yapay sinir ağı modeli oluşturulmuştur. Böylece dozaj şekli içindeki etodolakin herhangi bir pH ve SLS konsantrasyonunda 30 dakikada çözüneceği miktar % 92 doğrulukta tahmin edilebilmiştir.

Sonuç olarak zayıf asidik iyonize olabilen bir etkin madde olan BSS sınıf II bir etkin madde olan etodolakin absorpsiyon bölgesinde yüksek çözünürlükte bir ilaç olması, oral katı dozaj şeklinde hızlı çözünmesi, etodolak için in vivo biyoeşdeğerlik çalışmasından vazgeçilebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca yapay sinir ağı modeli ile; mide bağırsak sisteminin değişen bölgelerinde ve absorpsiyon bölgesinde ilacın çözünme profili tahmin edilebilir. Böylece farmasötik ürün geliştirme çalışmaları sırasında doğru bir tasarım yapılması sağlanabilir. Bu yöntem kullanarak absorpsiyon süresince ilacın in vivo çözünme hızı ve çözünürlüğü tahmin edilerek zayıf asidik yapıdaki ve iyonize olabilen ilacın BSS sınıf I bir ilaç özelliklerine sahip olduğu gösterilebilir, etodolak yüksek geçirgenliğe sahip bir ilaç olduğundan absorpsiyon

bölgesindeki çözünme ve çözünme hızı da dikkate alındığında in vivo biyoeşdeğerlik çalışmalarından vazgeçme uygulanabilir.

KAYNAKLAR

1. Troy, D. B., Beringer P. (2005). *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* [Elektronik Sürüm]. Lippincott Williams & Wilkins
2. Dokoumetzidis, A., Macheras, P. (2006). A Century of dissolution research: from Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System. *International Journal of Pharmaceutics*, 321 (1-2), 1-11.
3. Noyes, A.A., Whitney, W.R. (1897). The rate of solution of solid substances in their own solutions. *Journal of the American Chemical Society*, 19 (12), 930-934.
4. Dressman, J.B., Amidon, G.L., Reppas, C., Shah, V.P. (1998). Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: Immediate release dosage forms. *Pharmaceutical Research*, 15 (1), 11-22.
5. Tarling, M.M., Toner, C.C., Withington, P.S., Baxter, M.K., Whelpton, R., Goldhill, D.R. (1997). A model of gastric emptying using paracetamol absorption in intensive care patients. *Intensive Care Medicine*, 23 (3), 256-260.
6. Jamzad, S., Fassihi, R. (2006). Role of surfactant and pH on dissolution properties of fenofibrate and glipizide—A technical note. *AAPS PharmSciTech*, 7 (2), 17-22.
7. Dressman, J.B., Reppas, C. (2000). In vitro-in vivo correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11 (2), 73-80.
8. Dressman, J.B., Vertzoni, M., Goumas, K., Reppas, C. (2007). Estimating drug solubility in the gastrointestinal tract. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59 (7), 591-602.
9. Sheng, J.J., Kasim, N.A., Chandrasekharan, R., Amidon, G.L. (2006). Solubilization and dissolution of insoluble weak acid, ketoprofen: Effects of pH combined with surfactant. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29 (3-4), 306-314.
10. Bhattachar, S.N., Deschenes, L.A., Wesley, J.A. (2006). Solubility: it's not just for physical chemists. *Drug Discovery Today*, 11 (21-22), 1012-1018.

11. Hörter, D., Dressman, J.B. (2001). Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46 (1-3), 75-87.
12. Avdeef, A. (2007) Solubility of sparingly-soluble ionizable drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59 (7), 568-590.
13. Sugano, K., Okazaki, A., Sugimoto, S., Tavornvipas, S., Omura, A., Mano, T. (2007). Solubility and dissolution profile assessment in drug discovery. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 22 (4), 225-254.
14. Serajuddin, A.T.M. (2007). Salt formation to improve drug solubility. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59 (7), 603-616.
15. Ledwidge, M.T., Corrigan, O.I. (1998) Effects of surface active characteristics and solid state forms on the pH solubility profiles of drug-salt systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 174 (1-2), 187-200.
16. Charman, W.N., Mithani, S., Dressman, J.B., (1997). Physicochemical and physiological mechanisms for the effects of food on drug absorption: The role of lipids and pH. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86 (3), 269-282.
17. Morihara, M., Aoyagi, N., Kaniwa, N., Kojima, S., Ogata, H. (2001). Assessment of gastric acidity of Japanese subjects over the last 15 years. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 24 (3), 313-315.
18. Russell, T.L., Berardi, R.R., Barnett, J.L., Dermentzoglou, L.C., Jarvenpaa, K.M., Schmaltz, S.P. ve diğerleri. (1993.) Upper gastrointestinal pH in seventy-nine healthy, elderly, north american men and women. *Pharmaceutical Research*, 10 (2), 187-196.
19. Kalantzi, L., Goumas, K., Kalioras, V., Abrahamsson, B., Dressman, J., Reppas, C. (2006). Characterization of the human upper gastrointestinal contents under conditions simulating bioavailability/bioequivalence studies. *Pharmaceutical Research*, 23 (1), 165-176.

20. Dressman, J.B., Berardi, R.R., Dermentzoglou, L.C., Russell, T.L., Schmaltz, S.P., Barnett, J.L. ve diğerleri. (1990). Upper gastrointestinal (GI) pH in young, healthy men and women. *Pharmaceutical Research*, 7 (7), 756-761.
21. Malegelada, J. Longstreth, G.F., Summerskill, W.H., Go,V.L. (1976). Measurement of gastric function during digestion of ordinary solid meals in man. *Gastroenterology*, 70, 203-210.
22. Budavari, S. (2008). The Merck Index, USA.
23. Bergström, C.A.S., Luthman, K., Artursson, P. (2004). Accuracy of calculated pH-dependent aqueous drug solubility. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22 (5), 387-398.
24. Perez de la Cruz Moreno, M., Oth, M., Deferme, S., Lammert, F., Tack, J., Dressman, J. ve diğerleri. (2006). Characterization of fasted-state human intestinal fluids collected from duodenum and jejunum. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 58, 1079-1089.
25. Evans, D.F., Pye, G., Bramley, R., Clark, A.G., Dyson, T.J.,Hardcastle, J.D. (1988). Measurement of gastrointestinal pH profiles in normal ambulant human subjects. *Gut*, 29 (8), 1035-1041.
26. Borgström, B., Dahlqvist, A., Lundh G. Sjövall, J. (1957). Studies of intestinal digestion and absorption in the human. *Journal of Clinical Investigation*, 36 (10), 1521-1536.
27. Yazdanian, M., Briggs, K., Jankovsky, C.,Hawi, A. (2004). The “High Solubility” definition of the current FDA guidance on Biopharmaceutical Classification System may be too strict for acidic drugs. *Pharmaceutical Research*, 21 (2), 293-299.
28. Rinaki, E., Dokoumetzidis, A., Valsami, G., Macheras, P. (2004) Identification of biowaivers among class II drugs: Theoretical justification and practical examples. *Pharmaceutical Research*, 21 (9), 1567-1572.
29. Dressman, J., Butler, J., Hempenstall, J.,Reppas, C. (2001). The BCS: Where do we go from here? *Pharmaceutical Technology*, 25 (7), 68-76.

30. Potthast, H., Dressman, J.B., Junginger, H.E., Midha, K.K., Oeser, H., Shah, V.P., H. Vogelpoel, H., Barends, D.M. (2005). Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Ibuprofen. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 94 (10), 2121-2131.
31. Kostewicz, E.S., Wunderlich, M., Brauns, U., Becker, R., Bock, T., Dressman, J.B. (2004). Predicting the precipitation of poorly soluble weak bases upon entry in the small intestine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 56, 43-51.
32. Öztürk, S.S., Palsson, B.O., Dressman, J.B. (1988). Dissolution of ionizable drugs in buffered and unbuffered solutions. *Pharmaceutical Research*, 5 (5), 272-282.
33. Aburub, A., Risley, D.S., Mishra, D. (2008). A critical evaluation of fasted state simulating gastric fluid (FaSSGF) that contains sodium lauryl sulfate and proposal of a modified recipe. *International Journal of Pharmaceutics*, 347 (1-2), 16-22.
34. Pedersen, B.L., Müllertz, A., Brøndsted, H., Kristensen, H.G. (2000). A comparison of the solubility of danazol in human and simulated gastrointestinal fluids. *Pharmaceutical Research*, 17 (7), 891-894.
35. Luner, P.E. (2000). Wetting properties of bile salt solutions and dissolution media. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 89 (3), 382-395.
36. Vertzoni, M., Dressman, J., Butler, J., Hempenstall, J., Reppas, C. (2005). Simulation of fasting gastric conditions and its importance for the in vivo dissolution of lipophilic compounds. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 60 (3), 413-417.
37. Vertzoni, M. (2004). Dissolution media simulating the intraluminal composition of the small intestine: physiological issues and practical aspects. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 56 (4), 453.

38. Lindahl, A., Ungell, A.-L., Knutson, L., Lennernäs, H. (1997). Characterization of fluids from the stomach and proximal jejunum in men and women. *Pharmaceutical Research*, 14 (4), 497-502.
39. Bakatselou, V., Oppenheim, R.C., Dressman, J.B. (1991). Solubilization and wetting effects of bile salts on the dissolution of steroids. *Pharmaceutical Research*, 8 (12), 1461-1469.
40. Mithani, S.D., Bakatselou, V., TenHoor, C.N., Dressman, J.B. (1996). Estimation of the increase in solubility of drugs as a function of bile salt concentration. *Pharmaceutical Research*, 13 (1), 163-167.
41. Löbenberg, R., Amidon, G.L. (2000). Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50 (1), 3-12.
42. Crison, J.R., Shah, V.P., Skelly, J.P., Amidon, G.L. (1996). Drug dissolution into micellar solutions: Development of a convective diffusion model and comparison to the film equilibrium model with application to surfactant-facilitated dissolution of carbamazepine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85 (9), 1005-1011.
43. Yu, L.X., Amidon, G.L., Polli, J.E., Zhao, H., Mehta, M.U., Conner, D.P. ve diğerleri. (2002) Biopharmaceutics Classification System: The scientific basis for biowaiver extensions. *Pharmaceutical Research*, 19 (7), 921-925.
44. The United States Pharmacopeial Convention Inc., (2006). United States Pharmacopeia (USP 29) Rockville, USA.
45. Junichi, J., Doo-man, O., Crison, J.R., Amidon, G.L. (2000). Dissolution of ionizable water-insoluble drugs: The combined effect of pH and surfactant. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 89 (2), 268-274.
46. Jain, A., Ran, Y., Yalkowsky, S.H. (2004). Effect of pH-sodium lauryl sulfate combination on solubilization of PG-300995 (an Anti-HIV Agent): A Technical Note. *AAPS PharmSciTech*, 5 (3).

47. Löbenberg, R., Krämer, J., Shah, V.P., Amidon, G.L., Dressman, J.B. (2000). Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: Dissolution behavior of glibenclamide. *Pharmaceutical Research*, 17 (4), 439-444.
48. TenHoor, C.N., Bakatselou, V., Dressman, J. (1991). Solubility of mefenamic acid under simulated fed- and fasted-state conditions. *Pharmaceutical Research*, 8 (9), 1203-1205.
49. Galia, E., Nicolaidis, E., Hörter, D., Löbenberg, R., Reppas, C., Dressman, J.B. (1998). Evaluation of various dissolution media for predicting in vivo performance of class I and II drugs. *Pharmaceutical Research*, 15 (5), 698-705.
50. Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System. (2000). U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER).
51. Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products — General considerations.(2003). U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER).
52. Oh, D.-M., Curl, R.L., Amidon, G.L. (1993). Estimating the fraction dose absorbed from suspensions of poorly soluble compounds in humans: A mathematical model. *Pharmaceutical Research*, 10 (2), 264-270.
53. Kasim, N.A., Whitehouse, M., Ramachandran, C., Bermejo, M., Lennernas, H., Hussain, A.S. ve diğerleri. (2004). Molecular properties of WHO essential drugs and provisional Biopharmaceutical Classification. *Molecular Pharmaceutics*, 1 (1), 85-96.

54. Amidon, G.L., Lennernäs, H., Shah, V.P., Crison, J.R. (1995). A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research*, 12 (3), 413-420.
55. McCulloch, W.S., Pitts, W.H. (1943) A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *Bulletin of Mathematical Biophysics* 5,115-133.
56. Stergiou, C.,Siganos, D. (1996). Neural Networks. Erişim: 5 Şubat 2009, Ağ Sitesi:
http://www.doc.ic.ac.uk/~nd/surprise_96/journal/vol4/cs11/report.html
57. Öztemel, E. (2003). Yapay Sinir Ağları. İstanbul: Papatya Yayıncılık.
58. Yazıcı, A.C., Ögüş, E., Ankaralı, S., Canan, S., Ankaralı, H., Akkuş, Z. (2007). Yapay Sinir Ağlarına Genel Bakış. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 27 (1), 65-71.
59. Haykin, S. (2008). Neural network and machine learning (3 bs.): Prentice Hall
60. Dohnal, V., Kuce, K. Jun, D. (2005). What are artificial neural network and what they can do? *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.*, 149 (2), 221-224.
61. Macleod, C. Practical Neural Network and Genetic Algorithms (t.y) [Elektronik Sürüm].
62. Wikipedia, The Free Encyclopedia [Elektronik Sürüm]. Wikimedia Foundation, Inc
63. Gershenson, C. (2003). Artificial Neural Networks for Beginners. *Computer Research Repository*.
64. Mehta, A.J., Mehta, H.A., Manjunant, T.C.,Ardil, C. (2008). A Multi-Layer artificial neural network architecture design for load forecasting in power system. *International Journal of Applied Mathematics and Computer Science* 4(4), 227-240.

65. Zilouchian, A. (2001). Intelligent control systems using soft computing methodologies. A. Zilouchian & M. Jamshidi (Ed.). *Fundamentals of Neural Networks* (1st bs.): CRC Press LLC.
66. Anderson, D., McNeil, G. (1992). Artificial Neural Network Technology (Rapor No: F30602-89-0082). New York: Kaman Science Corporation.
67. Abraham, A. (2005). 129: Artificial Neural Networks. P. H. Sydenham & R. Thorn (Ed.). *Handbook of measuring System Design* (s. 901-908). OK: John Wiley & Sons
68. Transfer Functions. Erişim: 5 Temmuz 2009 Ağ Sitesi Adı: [http://www.mathworks.com/access/helpdesk/help/toolbox/nnet/index.html?/access/helpde help/toolbox/nnet/function.html](http://www.mathworks.com/access/helpdesk/help/toolbox/nnet/index.html?/access/helpde%20help/toolbox/nnet/function.html)
69. Perez-Uribe, A. (1998). *Bio-Inspired Computing Machines: Toward Novel Computational Architectures* [Elektronik Sürüm]. PPUR Press.
70. Pinkus, A. (1999). Approximation theory of the MLP model in the neurons. *Acta Numerica*, 143-195.
71. Bishop, C.M. (1995). Neural Networks for pattern recognition [Elektronik Sürüm]. Oxford: Clarendon Press.
72. Agatonovic-Kustrin, S., Beresford, R. (2000). Basic concepts of artificial neural network (ANN) modeling and its application in pharmaceutical research. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 22 (5), 717-727.
73. Rogers, S.K., Kabrisky, M. (1991). An Introduction to Biological and Artificial Neural Networks for Pattern Recognition [Elektronik Sürüm]. SPIE Optical Engineering Press.
74. Nygren, K. (2004). Stock Prediction-A Neural Network Approach. Royal Institute of Technology, Stockholm.
75. Artificial Neural Networks.(t.y) Erişim: 22 Şubat 2009, Ağ Sitesi Adı: <http://www.learnartificialneuralnetworks.com/>

76. Massie, D.D., Curtis, P.S. Neural network fundamentals for scientists and engineers. Erişim: 23 Şubat 2009, Ağ Sitesi Adı: <http://www.cibse.org/pdfs/neural.pdf>
77. Dony, R.D., Haykin, S. (1995) Neural network approaches to image compression. *Proceedings of The IEEE*, 73 (283-303).
78. Doan, C.D., Liong, S.-y. (2004). Generalization for multilayer neural network bayesian regularization for early stopping. [Bildiri]. Proceedings of the 2nd Conference of the Asia Pacific Association of Hydrology and Water Resources (APHW), Singapore
79. Mackay, D.J.C. (1992) A practical bayesian framework for backpropagation networks. *Neural Computation*, 4 (3), 448-472.
80. Demuth, H., Beale, M. (2001) Neural network toolbox for use with MATLAB®.
81. Michael I. Jordan, Bishop, C.M. (1996) Neural network. *ACM Computing Surveys*, 28 (1), 73-75.
82. Ramesh, A.N., Kambhampati, C., Monson, J.R.T., Drew, P.J. (2004). Artificial intelligence in medicine. *Annals of The Royal College of Surgeons of England*, 86, 334-338.
83. Zupani Bozi, D., Vreer, F., Kozjek, F. (1997). Optimization of diclofenac sodium dissolution from sustained release formulations using an artificial neural network. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5 (3), 163-169.
84. Mendyk, A., Jachowicz, R. (2005) Neural network as a decision support system in the development of pharmaceutical formulation--focus on solid dispersions. *Expert Systems with Applications*, 28 (2), 285-294.
85. Mandal, U., Gowda, V., Ghosh, A., Bose, A., Bhaumik, U., Chatterjee, B. ve diğerleri. (2008). Optimization of metformin HCl 500 mg sustained release matrix tablets using Artificial Neural Network (ANN) based on Multilayer Perceptrons (MLP) Model. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 56 (2), 150-155.

86. Agatonovic-Kustrin, S., Tucker, I., Schmierer, D. (1999). Solid state assay of Ranitidine HCl as a bulk drug and as active ingredient in tablets using DRIFT spectroscopy with Artificial Neural Networks. *Pharmaceutical Research*, 16 (9), 1477-1482.
87. Chen, Y., McCall, T.W., Baichwal, A.R., Meyer, M.C. (1999). The application of an artificial neural network and pharmacokinetic simulations in the design of controlled-release dosage forms. *Journal of Controlled Release*, 59 (1), 33-41.
88. Leane, M., Cumming, I., Corrigan, O. (2003). The use of artificial neural networks for the selection of the most appropriate formulation and processing variables in order to predict the in vitro dissolution of sustained release minitabets. *AAPS PharmSciTech*, 4 (2), 129-140
89. Peng, Y., Geraldrajan, M., Chen, Q., Sun, Y., Johnson, J., Shukla, A. (2006). Prediction of dissolution profiles of acetaminophen beads using Artificial Neural Networks *Pharmaceutical Development and Technology* 11 (3), 337-349.
90. Değim, T., Hadgraft, J., İlbasmış, S., Özkan, Y. (2003) Prediction of skin penetration using artificial neural network (ANN) modeling. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 92 (3), 656-664.
91. Turkoglu, M., Aydin, I., Murray, M., Sakr, A. (1999) Modeling of a roller-compaction process using neural networks and genetic algorithms. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 48 (3), 239-245
92. Bourquin, J., Schmidli, H., van Hoogevest, P., Leuenberger, H. (1998). Comparison of Artificial Neural Networks (ANN) with classical modelling techniques using different experimental designs and data from a galenical study on a solid dosage form. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6 (4), 287-300.

93. Peh, K.K., Lim, C.P., Quek, S.S.,Khoh, K.H. (2000). Use of Artificial Neural Networks to predict drug dissolution profiles and evaluation of network performance using similarity factor. *Pharmaceutical Research*, 17 (11), 1384-1388.
94. Valizadeh, H., Pourmahmood, M., Mojarrad, J.S., Nemati, M.,Zakeri-Milani, P. (2008). Application of artificial intelligent tools to modeling of glucosamine preparation from exoskeleton of shrimp. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 1-12.
95. Değim, Z.I. (2005). Prediction of Permeability Coefficients of Compounds Through Caco-2 Cell Monolayer Using Artificial Neural Network Analysis. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 31 (9), 935-942.
96. Demerson, C.A., Humber, L.G., Abraham, N.A., Schilling, G., Martel, R.R.,Pace-Asciak, C. (2002). Resolution of etodolac and antiinflammatory and prostaglandin synthetase inhibiting properties of the enantiomers. *Journal of Medicinal Chemistry*, 26 (12), 1778-1780.
97. Lodine Label. Erişim:10 Haziran 2009, Ağ Sitesi Adı: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2006/018922s022,020_584s009lbl.pdf.
98. Miles, S., Enna, S.J.,David, B.B. (2007). Etodolac. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference (1-5). New York: Elsevier
99. Shah K.P., Shah G.K., Brittain G.H. (2002). Etodolac.Brittain G.H.(Ed.). *Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients* (105-147). [Elektronik Sürüm]. USA: Academic Press
100. Milić-Aškrić, J., Rajić, D.S., Tasić, L., Djurić, S., Kása, P.,Pintye-hódi, K. (1997). Etodolac and solid dispersion with P-cyclodextrin. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 23 (11), 1123-1129.
101. Barakat, N.S. (2006). Etodolac-liquid-filled dispersion into hard gelatin capsules: An approach to improve dissolution and stability of etodolac formulation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 32, 865-876.

102. ETODOLAC Veterinary—Systemic.(2004). The United States Pharmacopeial Convention.
103. Cayen, M.N., Kraml, M., Ferdinandi, E.S., Greselin, E., Dvornik, D. (1981). The metabolic disposition of etodolac in rats, dogs, and man. *Drug Metabolism Reviews*, 12 (2), 339-362.
104. Shi, J-M., Lai, S.-G, Xu, C.-J., Duan G.-L., Duan, L. (2004). Pharmacokinetic difference between S-(+)- and R-(-)-etodolac in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, 25 (8), 996-999.
105. Nageswara Rao, R., Meena, S., Raghuram Rao, A. (2005). An overview of the recent developments in analytical methodologies for determination of COX-2 inhibitors in bulk drugs, pharmaceuticals and biological matrices. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39 (3-4), 349-363.
106. El Kousy, N.M. (1999). Spectrophotometric and spectrofluorimetric determination of etodolac and aceclofenac. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 20 (1-2), 185-194.
107. Amer, S. M., El.-Saharty, Y.S., Metvally, F. H., Younes, K. M. (2005). Spectrophotometric study of etodolac complexes with copper (II) and iron (III). *Journal of AOAC International*, 88 (6), 1637-1643.
108. Boni, J., Korth-Bradley, J., McGoldrick, K., Appel, A., Cooper, S. (1999). Pharmacokinetic and pharmacodynamic action of etodolac in patients after oral surgery. *Journal of Clinical Pharmacology*, 39 (7), 729-737.
109. Davis, J.L., Papich, M.G., Morton, A.J., Gayle, J., Blikslager, A.T., Campbell, N.B. (2007). Pharmacokinetics of etodolac in the horse following oral and intravenous administration. *Journal of Veterinary Pharmacology & Therapeutics*, 30, 43-48.
110. Dongre, V., Shah, S., Bayes, G., Phadke, M., Jadhav, V. (2009). Simultaneous determination of etodolac and acetaminophen in tablet dosage form by RP-LC. *Chromatographia*, 69 (9), 1019-1023.

111. Pablos, R.R. de, Garcia.-Ruiz. C., Crego, A.L., Marina, M.L. (2005). Separation of etodolac enantiomers by capillary electrophoresis, validation and application of the chiral method to the analysis of commercial formulations. *Electrophoresis* 26, 1106-1113.
112. McIlvaine, T.C. (1921). A buffer solution for colorimetric comparison. *Journal of Biological Chemistry*, 49 (1), 183-186.
113. Singh, B., Chakkal, S., Ahuja, N. (2006). Formulation and optimization of controlled release mucoadhesive tablets of atenolol using response surface methodology. *AAPS PharmSciTech*, 7 (1), 19-28.
114. Q2B validation of analytical procedures: Methodology. (1996). U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER).
115. ICH- Text on validation on validation of analytical procedures. (1994). U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER).
116. Wafaa S. H., Ayman, A. G., (2008). Spectrophotometric determination of etodolac in pure form and pharmaceutical formulations. *Chemistry Central Journal*, 2 (7).
117. Van Zoonen, P., Hoogerbrugge, R., Gort, S.M., van de Wiel, H.J., van 't Klooster, H.A. (1999). Some practical examples of method validation in the analytical laboratory. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 18 (9-10), 584-593.
118. Thompson, M. Elison, S.L.R., Wood, R. (2002). Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). *Pure Applied Chemistry*, 74 (5), 835-855.
119. Ertan, G., Karasulu, H.Y., Karasulu, E., Ege, M.A., Köse, T., Güneri, T. (2000). A new in vitro/in vivo kinetic correlation method for nitrofurantoin matrix tablet formulations. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 26 (7), 737-743.

120. Sevgi, F., Özyazici, M., Güneri, T. (1994). Sustained-release dosage form of phenylpropanolamine hydrochloride. Part I: Microencapsulation and in vitro release kinetics. *Journal of Microencapsulation*, 11 (3), 327-334.
121. Jantratid, E., De Maio, V., Ronda, E., Mattavelli, V., Vertzoni, M., Dressman, J.B. (2009). Application of biorelevant dissolution tests to the prediction of in vivo performance of diclofenac sodium from an oral modified-release pellet dosage form. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37 (3-4), 434-441.
122. D'Souza, S., Faraj, J., DeLuca, P. (2005). A model-dependent approach to correlate accelerated with real-time release from biodegradable microspheres. *AAPS PharmSciTech*, 6 (4), 553-564.
123. Nikiforova, O., Arzamastsev, A., Kruchenkov, A. (1998). Comparative analysis of the pharmaceutical accessibility of omeprazole in capsules from various manufacturers. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 32 (12), 625-628.
124. Costa, P., Sousa Lobo, J.M. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13 (2), 123-133.
125. Koçkan, Ü. (2009). Prediction of Hexagonal Lattice Parameters of Stoichiometric and Non-Stoichiometric Apatites by Artificial Neural Networks. Middle East Technical University, Ankara.
126. Mandy, C.M. (2008). Etodolac: An analytical profile. *Microgram Journal*, 6 (3-4), 104-108.
127. Cappello, B., di Maio, C., Iervolino, M., Miro, A., Calignano, A. (2009). Etodolac/cyclodextrin formulations: physicochemical characterization and in vivo pharmacological studies. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 35 (7), 877-886.
128. Ertaş, Ö.S., Kayalı, A. (2005). Analitik Yöntem Geçerliliğine Genel Bir Bakış. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 34 (1), 41 – 57.
129. Nash, R.A., Wachter, A.H. (2003). Pharmaceutical process validation [Elektronik Sürüm]. *Informa Health Care*.

130. CompoundingRFP@USP.org. (2006). United States Pharmacopeia request for proposal pharmaceutical compounding. Erişim:14 Ağustos 2009,
131. Validation of automated dissolution methodologies with online UV-Vis analysis. (2009). *Practical Solutions*, 8.
132. Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. (1997). U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER).

EKLER

EK 1: Uluslararası Bildiriler

EK II: Özgeçmiş

HONORARY BOARD OF BBBB SYMPOSIUM FOUNDERS

Dominique Duchene (France)
Istvan Hermecz (Hungary)
A. Atilla Hıncal (Turkey)
Hans Linden (EUFEPS)

Ales Mrhar (Slovenia)
Christian R. Noe (Austria)
Peep Veski (Estonia)

INTERNATIONAL SCIENTIFIC BOARD

Daan Crommelin (The Netherlands)
Carlo Rossi (Italy)
Levent Öner (Turkey)
Juan Manuel Irache (Spain)
Juoni Hirvonen (Finland)
Imre Klebovich (Hungary)
Albin Kristl (Slovenia)
Milena Jadrijevic-Mladar Takac (Croatia)

Okan Atay (Turkey)
Constantin Mirciou (Romania)
Vera Kapetanovic (Serbia)
Svetla Bogdanova (Bulgaria)
Karen Marie Ulshagen (Norway)
Svetlana Kulevanova (Macedonia)
Margareta Hammarlund Udenaes (Sweden)
Amin Rostami H (United Kingdom)

ORGANIZING COMMITTEE

A. Atilla Hıncal (Ide Drug Inf. Cons. CRO, Ankara)
Nevin Çelebi (Gazi University, Ankara)
Sema Çalış (Hacettepe University, Ankara)
Nilüfer Tarımcı (Ankara University, Ankara)
Fusun Acartürk (Gazi University, Ankara)
Nilüfer Yüksel (Ankara University, Ankara)
Hakan Eroğlu (Hacettepe University, Ankara)
Yeşim Aktaş (Atatürk University, Erzurum)
Buket Aksu (Santa Farma Pharmaceuticals, İstanbul/EUFEPS)
Alev Eren (Novartis Pharmaceuticals, İstanbul)

Osman Özdemir, (Sanovel Pharmaceuticals, İstanbul)
Feyza Tevruz (Zentiva - Eczacıbaşı, İstanbul)
Yasemin Yazan (Anadolu University, Eskişehir)
Tamer Güneri (Ege University, İzmir)
Betül Dortunç (Marmara University, İstanbul)
Burak Pakkal (Bayer Pharmaceuticals, İstanbul)
Pelin Yüceyaltırık (Johnson & Johnson İstanbul)
Güzin Şahan (Celgene Biopharmaceuticals, İstanbul)
Yıldız Özsoy (Istanbul University, İstanbul)
Sermin Biçer (Schering Plough Pharmaceuticals, İstanbul)
Dicle Balbay (Servier Pharmaceuticals, İstanbul)

SCHEDULE

- If you intend to present a contributed talk (20 minutes), please e-mail us until 15 November, 2008 giving details such as your title, affiliation, and address together including the title and brief summary of the presentation.
- For submission poster presentations and registration to the conference please note the below schedule:
Abstracts of oral/poster presentations 15 March, 2009
Early registration 15 June, 2009
Final date of registration 15 September, 2009

LANGUAGE

The official language of the conference will be English.

REGISTRATION FEES and CONFERENCE HOTEL

Details will be given in second announcement.

SECOND ANNOUNCEMENT

The second announcement containing preliminary programme, registration and abstract forms will be sent in December 2008.

OUR WEB SITE

Conference information will appear at www.tuftad.org.tr in December, 2008.

CONFERENCE SECRETARIAT

Assoc. Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL, Ankara University, School of Pharmacy,
Department of Pharmaceutical Technology 06100 Tandogan, Ankara-TURKEY
E-mail: nyuksel@pharmacy.ankara.edu.tr / bbbantalya2009@gmail.com
Phone: 00 90 312 203 3155 Fax: 00 90 312 213 1081

TUFTAD

EUFEPS
EUROPEAN FEDERATION FOR PHARMACEUTICAL SCIENCES

Bosphorus

3rd BBBB

International Conference
on Pharmaceutical Sciences

October 26-28, 2009
Antalya –TURKEY

With the Participation of Representatives of
University - Industry - Regulatory Scientists

Baltic **Balaton** **Bled** **Bosphorus**

The Turkish Pharmaceutical Technology Scientists' Association (TUFTAD)
announces that the 3rd BBBB International Conference
will be held in Antalya, Turkey on 26-28 October, 2009.

EVALUATION OF SOLUBILITY CLASS OF WEAK ACIDIC DRUG: ETODOLAC

H. Demir, B. Arica - Yegin, L.Öner

Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Hacettepe University, 06100, Ankara, Turkey

INTRODUCTION

The BCS is a scientific framework for classifying drug substances based on their aqueous solubility and intestinal permeability (1). Etodolac was selected as a model drug which belongs to BCS Class II. BCS Class II drugs exhibit low solubility and high permeability. In this study, the total solubility of a insoluble and ionizable weak acid etodolac ($pK_a=4.65$) (2) in surfactant containing buffers was investigated. The aim of this study was determining pH-solubility profile and solubility class of etodolac with the presence of surfactant within the intestinal pH range.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Etodolac was supplied by Dr. Reddy's Laboratory. Sodium Lauryl Sulfate (SLS) and disodium hydrogen phosphate were purchased from Merck Co., and citric acid was purchased from Carlo Erba. All the other chemicals used were analytical grade and used without further purification.

Preparation of media

Mcllvaine buffers at pH 4.4, 5.6 and 6.8 were prepared for solubility studies.

Solubility Studies

For determining solubility of etodolac at pH 4.4, 5.6 and 6.8, each medium containing 0.5% and 1% (w/v) surfactant or without surfactant, etodolac powder was weighed as 200 mg, 400 mg and 600 mg, respectively. Etodolac powder were shaken in rubber-capped vials containing 10 mL buffer solutions at 37°C in a horizontal shaker water bath (Memmert, Germany) with 80 rpm. At the end of first hour and twenty fourth hours, samples were collected and drug content were

determined at 273 nm with UV spectrometer (Shimadzu, Japan).

RESULTS AND DISCUSSION

The equilibrium solubility of etodolac in different buffer solutions containing 0.5 - 1% SLS is shown in Table 1.

Table 1. Equilibrium solubility of etodolac at various buffer solutions (n=6, $\bar{x}\pm SD$).

SLS Concentration (%)	Solubility ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)		
	pH 4.4	pH 5.6	pH 6.8
0	0.124 \pm 0.003	0.767 \pm 0.020	6.371 \pm 0.231
0.5	0.925 \pm 0.010	1.933 \pm 0.066	7.460 \pm 0.075
1	1.608 \pm 0.020	3.213 \pm 0.047	9.717 \pm 0.189

The solubility results indicate that the total solubility of etodolac increases with pH and SLS concentration. At pH pK_a total solubility was low however when pH pK_a , solubility increased. Solubility enhancement was found to be 5-50 folds with pH and 1.5-12 folds with SLS concentration changes.

Figures 1 and 2 illustrate surface plot and contour graphics of solubility with Equation 1 as a function of pH and SLS concentration.

$$S_{\text{total}}=38,940-16,127x_1-2,696x_2+1,664x_1^2+0,776x_1x_2-0,7762x_2^2 \quad (1)$$

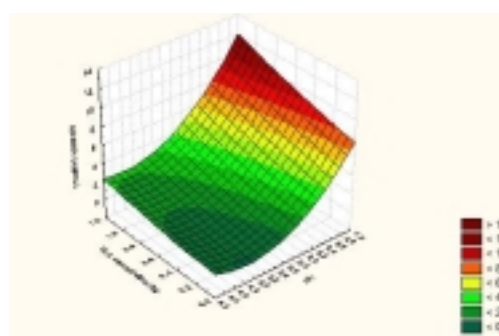


Figure 1. Total solubility as function of pH and SLS concentration.

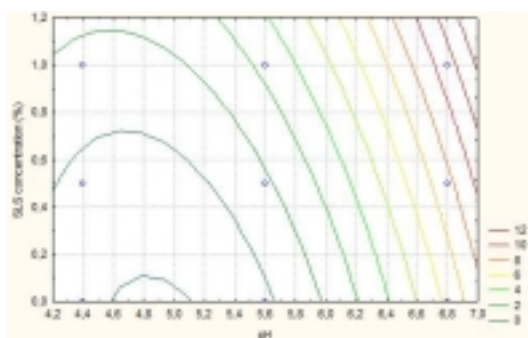


Figure 2. Total solubility as function of pH and SLS concentration.

Solubility results were used to determine the solubility class of etodolac. The solubility class was determined by calculating the volume of an aqueous medium sufficient to dissolve the highest dose strength of etodolac (400 mg) in the pH range 4.4-6.8.

Dose/solubility values for etodolac are presented in Table 2. A drug substance is considered highly soluble when the highest dose strength is soluble in 250 mL or less of aqueous media over the pH range of 1-7.5 (1). According to this, solubility class evaluation for etodolac is shown at Table 3.

Table 2. Dose/solubility values of etodolac at various buffer solutions

SLS Concentration (%)	Dose/solubility (mL)		
	pH 4.4	pH 5.6	pH 6.8
0	3216	521	62
0.5	432	206	53
1	248	124	41

Table 3. Solubility classification of etodolac in various buffer solutions.

SLS Concentration (%)	Solubility Classification (250 mL)		
	pH 4.4	pH 5.6	pH 6.8
0	Low	Low	High
0.5	Low	High	High
1	High	High	High

Figures 3 and 4 illustrate surface plot and contour graphics of dose/Solubility values with Equation 2 as a function of pH and SLS concentration.

$$D/S=15879,0x_1-4178,6x_1-9889,3x_2+271,9x_1^2+1227,5x_1x_2+1886,2x_2^2 \quad (2)$$

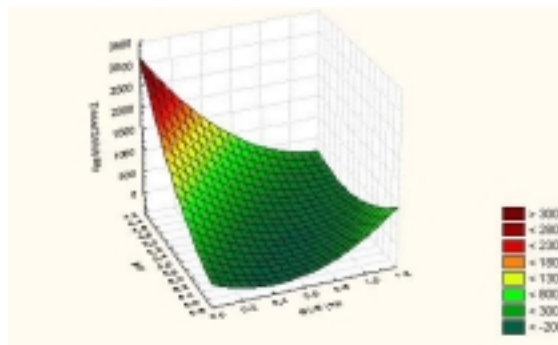


Figure 3. Dose/solubility of etodolac as function of pH and SLS concentration

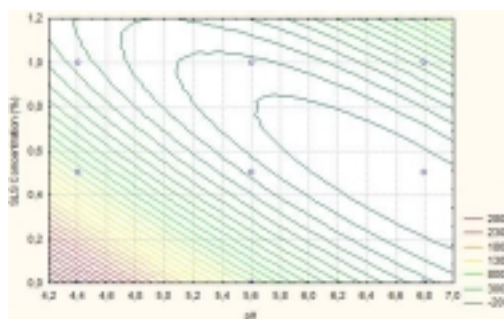


Figure 4. Dose/solubility of etodolac as function of pH and SLS concentration

CONCLUSION

Studies for combined effect of pH and surfactant on the solubility showed that etodolac solubility is pH-dependent and enhancement of pH and SLS concentration increased its solubility. Dose/solubility values indicated at pH 6.8 and pH 5.6 with SLS that etodolac is highly soluble. In summary, because of high solubility at pH range of absorption region in the gastrointestinal tract, etodolac exhibits BCS class I behavior.

REFERENCE

- 1.CDER/FDA. (2000). Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies For Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System.
- 2.Yazdaniyan, M., Briggs, K., Jankovsky, C.,Hawi, A. (2004) The "High Solubility" Definition of the Current FDA Guidance on Biopharmaceutical Classification System May Be Too Strict for Acidic Drugs. *Pharmaceutical Research*, 21 (2), 293-299.

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Aksaray'da doğdu. İlköğrenimi Aksaray Emlak Kredi İlkokulunda bitirdikten sonra orta ve lise öğrenimi Aksaray Hazım Kulak Anadolu Lisesinde tamamladı. 2002 yılında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde yüksek öğrenimine başladı. 2006 yılında mezun oldu ve aynı yıl T.C. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü'nde eczacı olarak göreve başladı. 2007 yılında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programında yüksek lisansa başladı. Halen T.C. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü'nde eczacı olarak çalışmaktadır.