



EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



NON-STEROİD ANTİ-İNFLAMATUAR KURU TOZ İNHALER FORMÜLASYONLARININ AEROLİZASYON PERFORMANSLARININ İNCELENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Ecz. Mehmet Taylan ARAS

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

İzmir

2021

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**NON-STEROİD ANTİ-İNFLAMATUAR KURU TOZ
İNHALER FORMÜLASYONLARININ AEROLİZASYON
PERFORMANSLARININ İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Ecz. Mehmet Taylan ARAS

Danışman

Prof. Dr. Mine ÖZYAZICI

İkinci Danışman

Doç. Dr. Mesut ARICI

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Tezli Yüksek Lisans Programı

İzmir

2021

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Prof. Dr. Mine Özyazıcı

(Danışman)

Üye : Prof. Dr. Özgen Özer

Üye : Doç. Dr. Zeynep Ay Şenyiğit

Yüksek Lisans Tezinin kabul tarihi:

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında, model ilaç olarak ketoprofen lizinat içeren, püskürterek kurutma yöntemiyle hazırlanan kuru toz inhaler formülasyonunun farklı inhaler cihazlarındaki aerolizasyon performans özellikleri incelenmiştir.

İzmir 2021

Mehmet Taylan ARAS



ÖZET

NON-STERÖİD ANTİ-İNFLAMATUAR KURU TOZ İNHALER FORMÜLASYONLARININ AEROLİZASYON PERFORMANSLARININ İNCELENMESİ

Bu çalışmada astım gibi akciğerde enflamasyona neden olan hastalıklarda kullanılmak üzere model etkin madde olarak non-steroidal anti-inflamatuar etkili ketoprofen lizinat kullanılarak kuru toz inhaler formülasyonlarının geliştirilmesi, geliştirilen formülasyonların fizikokimyasal özelliklerinin incelenmesi, karakterizasyon çalışmalarının yapılması ve formülasyonların farklı kuru toz inhaler cihazlar kullanılarak aerolizasyon performanslarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Tez çalışması kapsamında ketoprofen lizinat, mannitol, lösin, polivinil alkol, su ve metanol farklı oranlarda kullanılarak, püskürterek kurutma tekniğiyle kuru toz inhaler formülasyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonların cihazlardaki aerolizasyon performansları ve akış özellikleri yeni nesil impaktör ile incelenmiştir.

Tek faz olarak formüle edilen ve itici gaz içermeyen kuru toz inhalerler, yüksek stabilite ve kolay işlenmeleri sayesinde tercih edilmiştir.

Hazırlanan kuru toz inhaler formülasyonlarının aerosolizasyon özellikleri üzerine cihazların etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ketoprofen lizinat, astım, polivinil alkol, kuru toz inhaler, inhaler cihaz, püskürterek kurutma.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF AEROLIZATION PERFORMANCE OF NON-STEROID ANTI-INFLAMMATORY DRY POWDER INHALER FORMULATIONS

In the study, the development of dry powder inhaler formulations using non-steroidal anti-inflammatory ketoprofen lysinate as a model active substance for use in diseases that cause inflammation in the lungs such as asthma, examination of the physicochemical properties of the developed formulations, characterization studies and the aerolysis performance of the formulations using different dry powder inhaler devices. intended to be examined.

Within the scope of the thesis, dry powder inhaler formulations were prepared by spray drying technique using different proportions of ketoprofen lysinate, mannitol, leucine, polyvinyl alcohol, water and methanol. The aerosolization performances and flow properties of the prepared formulations were examined with a new generation impactor device.

Dry powder inhalers, which are formulated as a single phase and do not contain propellant, are preferred due to their high stability and easy handling.

It is aimed to examine the effects of the devices on the aerosolization properties of the prepared dry powder inhaler formulations.

Keywords: Ketoprofen lysinate, asthma, polyvinyl alcohol, dry powder inhaler, spray drying.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	4
ABSTRACT.....	5
İÇİNDEKİLER	6
Tablolar	10
Şekiller	11
Kısaltmalar	13
Giriş.....	15
1 GENEL BİLGİLER	16
1.1. Solunum Sistemine Ait Genel Bilgiler.....	16
1.2. Pulmoner İlaçların Akciğerde Birikimi.....	17
1.3. İnhalasyon Sistemleri	19
1.4. İnhaler Cihazlar	20
1.5. Kuru Toz İnhaler Formülasyonları.....	23
1.6. Ketoprofen Lizinat	25
1.7. Mannitol	26
1.8. Lösün.....	26
1.9. Polivinil Alkol	27
1.10. Astım.....	27
1.10.1. Tanım ve epidemiyoloji.....	27
1.10.2. Patofizyoloji	28
1.10.3. Faktörler	28
1.10.4. Tedavi.....	28
1.11. Püskürterek Kurutma Yöntemi	29
2 GEREÇ VE YÖNTEM	30
2.1. Kullanılan Maddeler ve Araç Gereçler	30

2.1.1.	Kullanılan maddeler	30
2.1.2.	Kullanılan araç gereçler	30
3	YÖNTEM VE DENEYLER	31
3.1.	Ketoprofen Lizinatın Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi	31
3.1.1.	FTIR spektrumu	31
3.1.2.	DSC analizi	31
3.1.3.	XRD analizi.....	31
3.1.4.	Ketoprofen Lizinatın standart doğrusunun çizilmesi	31
3.1.5.	AYV çalışmaları.....	32
3.1.5.1.	Doğrusallık.....	32
3.1.5.2.	Doğruluk	33
3.1.5.3.	Kesinlik.....	33
3.1.5.4.	Özgünlük ve seçicilik.....	34
3.1.5.5.	Saptama derişimi.....	34
3.1.5.6.	Duyarlık sınırı	34
3.1.5.7.	Sağlamlık	34
3.1.6.	Çözünürlük çalışması	35
3.2.	KTİ Formülasyonlarının Hazırlanması	35
3.2.1.	KTİ formülasyonlarında çalışmalar	36
3.2.2.	Ketoprofen Lizinat içermeyen KTİ formülasyonlarının hazırlanması çalışmaları	37
3.2.3.	Ketoprofen Lizinat içeren KTİ formülasyonlarının hazırlanması çalışmaları	38
3.3.	KTİ Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları	40
3.3.1.	Partikül büyüklüğü - dağılımı	40
3.3.2.	SEM analizi.....	40
3.3.3.	Tozların akış özellikleri.....	40
3.3.4.	% Ağırlık kaybı tayini	41

3.3.5.	Katı durum karakterizasyonu tayini	41
3.3.5.1.	DSC analizi	41
3.3.5.2.	XRD analizi	41
3.3.5.3.	FTIR analizi	42
3.3.6.	EE tayini.....	42
3.3.7.	KTİ formülasyonlarının <i>in vitro</i> aerosol performans tayini	42
3.3.8.	Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi	45
4	BULGULAR.....	46
4.1.	Ketoprofen Lizinatın Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi Bulguları .	46
4.1.1.	FTIR spektrum bulguları.....	46
4.1.2.	DSC analiz bulguları	46
4.1.3.	XRD analiz bulguları	47
4.1.4.	Ketoprofen Lizinatın standart doğrusu çizilmesi bulguları.....	48
4.1.5.	AYV bulguları.....	49
4.1.5.1.	Doğrusallık.....	49
4.1.5.2.	Doğruluk	51
4.1.5.3.	Kesinlik.....	51
4.1.5.4.	Özgünlük ve seçicilik.....	53
4.1.5.5.	Saptama derişimi.....	53
4.1.5.6.	Duyarlık veya analiz sınırı	53
4.1.5.7.	Sağlamlık	53
4.2.	Çözünürlük Çalışması Bulguları	55
4.3.	KTİ Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışma Bulguları	55
4.3.1.	Partikül büyüklüğü - dağılımı bulguları	56
4.3.2.	Partikül morfolojisi bulguları	56
4.3.3.	Tozların akış özellikleri bulguları	59
4.3.4.	% Ağırlık kaybı tayin bulguları.....	59

4.3.5.	Katı durum karakterizasyonu tayin bulguları.....	60
4.3.5.1.	DSC analiz bulguları.....	60
4.3.5.2.	FTIR analiz bulguları.....	62
4.3.5.3.	XRD analiz bulguları	62
4.3.6.	EE tayin bulguları	63
4.3.7.	KTİ formülasyonlarının <i>in vitro</i> aerosol performans tayin bulguları...	63
5	TARTIŞMA	66
6	SONUÇ VE ÖNERİLER	71
7	KAYNAKLAR	72
8	TEŞEKKÜR.....	78
9	ÖZGEÇMİŞ	79

Tablolar

Tablo 1. KPL içermeyen KTİ formülasyon bileşenlerinin bilgileri.....	35
Tablo 2. KPL içeren KTİ formülasyon bileşenlerinin bilgileri.....	36
Tablo 3.KPL içermeyen KTİ formülasyon bilgileri.....	38
Tablo 4. KPL içeren KTİ formülasyon bilgileri.....	38
Tablo 5. Doğrusallık parametresinin sonuçlarına ait değerler.	50
Tablo 6. Uygulama aralığı parametresinin sonuçlarına ait değerler.	50
Tablo 7. Doğruluk parametresinin sonuçlarına ait değerler.....	51
Tablo 8. KPL tekrarlanabilirlik analiz sonuçları.....	52
Tablo 9. KPL laboratuvar içi kesinlik analiz sonuçları.....	52
Tablo 10. Pik tanımlanması, kör ve plasebo etkisine ait sonuçlar.	53
Tablo 11. Sağlamlık analiz sonuçları.....	54
Tablo 12. Hazırlanan KTİ formülasyonlarına ait % verim sonuçları.....	55
Tablo 13. KTİ formülasyonlarının partikül büyüklüğü sonuçları.....	56
Tablo 14. KTİ akış özellikleri.....	59
Tablo 15. KTİ formülasyonlarının % ağırlık kaybı tayin sonuçları.....	60
Tablo 16. KTİ formülasyonlarının % EE sonuçları.....	63
Tablo 17. Kullanılan inhaler cihazların direnç değerleri.....	63
Tablo 18. F5 KTİ formülasyonunun farklı inhaler cihazlar ile uygulanması sonucu bulunan değerler.....	64

Şekiller

Şekil 1. İnsan akciğer yapısının şematik gösterimi.	17
Şekil 2. Solunum sisteminde meydana gelen 3 partikül birikim mekanizması.	18
Şekil 3. Pulmoner uygulamada kullanılan cihazlar.	21
Şekil 4. Kuru toz inhalerlerin sınıflandırılması.	22
Şekil 5. Ketoprofen lizinat'ın kimyasal yapısı.	25
Şekil 6. Mannitol'ün kimyasal yapısı.	26
Şekil 7. Lösin'in kimyasal yapısı.	26
Şekil 8. PVA'nın kimyasal yapısı.	27
Şekil 9. NBPK.	37
Şekil 10. NGI sistemi.	43
Şekil 11. NGI sistem bölümlerinin açık görüntüsü.	43
Şekil 12. Çalışmada kullanılan C1 görüntüsü.	44
Şekil 13. Çalışmada kullanılan C2 görüntüsü.	44
Şekil 14. Çalışmada kullanılan C3 görüntüsü.	44
Şekil 15. Yatay çalkalayıcı.	45
Şekil 16. KPL'nin FTIR spektrumu.	46
Şekil 17. KPL'nin DSC termogramı.	47
Şekil 18. KPL'nin XRD spektrumu.	47
Şekil 19. KPL'nin HPLC sisteminde elde edilen pik görüntüsü.	48
Şekil 20. KPL'nin mobil faz içerisinde standart doğrusu.	49
Şekil 21. BF1 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x25.000).	56
Şekil 22. BF2 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x35.000).	57
Şekil 23. F1 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x25.000).	57
Şekil 24. F2 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x50.000).	57
Şekil 25. F3 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x10.000).	58
Şekil 26. F4 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x20.000).	58
Şekil 27. F5 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x25.000).	58
Şekil 28. F6 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x10.000).	59
Şekil 29. Lösin DSC termogramı.	60
Şekil 30. PVA DSC termogramı.	61
Şekil 31. Mannitol DSC termogramı.	61

Şekil 32. F5 formülasyonu DSC termogramı.....	61
Şekil 33. F5 formülasyonu FTIR spektrumu.	62
Şekil 34. F5 formülasyonu XRD spektrumu.....	62
Şekil 35. F5 formülasyonunun C1 inhaler cihazı ile uygulandığında NGI bölümlerindeki partikül % dağılım grafiği.....	64
Şekil 36. F5 formülasyonunun C2 inhaler cihazı ile uygulandığında NGI bölümlerindeki partikül % dağılım grafiği.....	65
Şekil 37. F5 formülasyonunun C3 inhaler cihazı ile uygulandığında NGI bölümlerindeki partikül % dağılım grafiği.....	65



Kısaltmalar

Ketoprofen lizinat	KPL
Pulmoner ilaç taşıyıcı sistemler	PİTS
Ölçülü doz inhaler	ÖDİ
Kuru toz inhaler	KTİ
İnce partikül fraksiyonu	FPF
Fourier dönüşüm infrared spektrometresi	FTIR
Diferansiyel taramalı kalorimetresi	DSC
X-ışını kırınımı	XRD
Termal gravimetrik analiz	TGA
Yeni nesil impaktör	NGI
Taramalı elektron mikroskobu	SEM
Determinasyon katsayısı	r^2
Aritmetik ortalama	$\bar{x}_{ort}$
Standart sapma	SS
Relatif standart sapma	RSD
Saptama derişimi	LOD
Duyarlık veya analiz sınırı	LOQ
İletilen doz	ED
Solunan doz	RF
Geometrik standart sapma	GSD
Kütle ortalama aerodinamik çap	MMAD
Poli vinil alkol	PVA
Non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar	NSAİİ
Eğri altı alan	EAA
Ultra yüksek basınçlı sıvı kromatografisi	U-YBSK

Analitik yöntem validasyonu

AYV

Enkapsülasyon etkinlik

EE

Nano boyutlu püskürterek kurutucu cihazı

NBPK



Giriş

Bu çalışmada astım gibi akciğerde inflamasyona neden olan hastalıklarda kullanılmak üzere model etkin madde olarak ketoprofen lizinat içeren KTİ formülasyonlarının hazırlanarak, çeşitli inhaler cihazların aerolizasyon performans özelliklerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

Astım, kronik havayolları inflamasyonu ve bronşiyal aşırı duyarlılıkla göğüste sıkışma hissi, nefes darlığı, öksürük gibi semptomlar gösteren bir hastalıktır. T lenfositler, eozinofiller, nötrofil, makrofaj, fibroblastlar ve çeşitli mediyatörler inflamasyona neden olmaktadır. Bu bağlamda, pulmoner inflamasyon, astım hastalarında akciğer hasarını sınırlamayı ve geciktirmeyi amaçlayan önemli bir terapötik hedeftir.

İnhalasyon için farklı NSAİİ'ler (ibuprofen, indometasin, diklofenak sodyum) ile çalışmalar yapılmıştır. Pulmoner uygulama durumunda, dozu geleneksel yüksek doz oral tedaviye kıyasla dört ila beş kat daha azdır. NSAİİ'lerin pulmoner olarak verilmesi, hem iltihabı hem de ilaca sistemik maruziyeti azaltabilir, böylece yan etkilerinden kaçınabilir. Bu bağlamda projemizde solunum yollarında inflamasyona neden olan kistik fibroz ve astım gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere nsaii grubunda bulunan KPL ile KTİ formülasyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonların aerolizasyon performansları yeni nesil impaktör cihazında incelenerek akciğerlerdeki birikim oranları belirlenmiştir.

Tezin tüm aşamaları tamamlanarak hedeflenen KPL içeren KTİ formülasyonları hazırlanarak, çeşitli inhaler cihazlarının aerolizasyon performans özellikleri incelenerek değerlendirilmiştir.

1 GENEL BİLGİLER

1.1. Solunum Sistemine Ait Genel Bilgiler

Akciğerlere hedeflenen ilaçlarda tedavinin başarı olabilmesi için akciğerlerin fizyolojik ve anatomik özelliklerinin iyi bilinmesi gerekmektedir. Akciğerler fizyolojik olarak gaz değişimi ve maddelerin emiliminden sorumludur. Bu nedenle emilim hava yolu mukozasının özelliklerini ve bütünlüğünü bozmamalıdır. Inhale aerosol tedavisinin anlaşılabilmesi özellikle akciğerlerin ventilasyon sırasındaki mekanik özelliklerinin bilinmesine bağlıdır (Newman & Clarke, 1983).

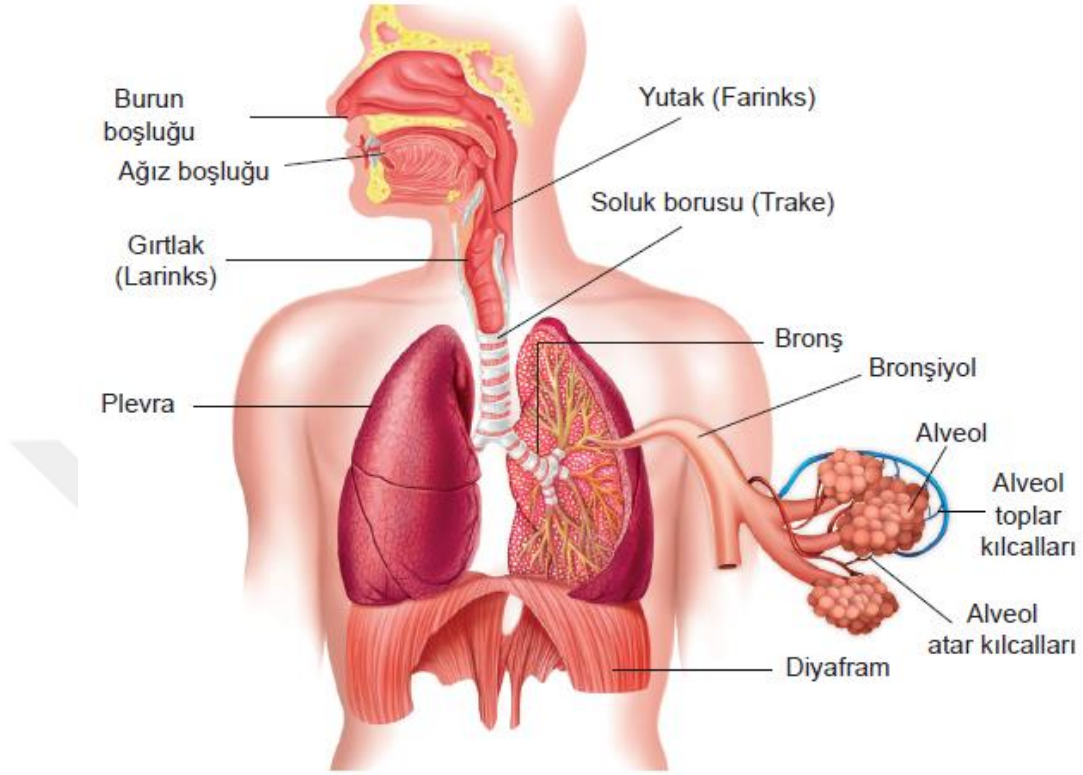
Solunum sistemi iki ana bölümden oluşmaktadır. Bunlar, nazofarenks, orofarenks ve larinks üst solunum yolları ve trake, bronşlar, bronşiolle ve alveoller alt solunum yollarıdır (Şekil 1) (www.bilgial.com/solunum-sistemi-organlari-ve-gorevleri-nelerdir/, 2021). Solunum sistemi aynı zamanda iletken solunum bölgelerini içerir. İletken bu bölgeler nazal kavite, nazofarinks, bronş ve bronşiollelerden oluşur. Bu yolun sonunda hava değişiminin olduğu alveoller yer alır (Weibel, 1965).

Solunum sistemi gaz alışverişini sağlayan akciğer ve onu havalandıran sistemlerden oluşmuştur. Bu sistemler: göğüs kafesi, göğüs boşluğunun artıp azalmasına imkan olanak sağlayan solunum kasları, beyin kas bağlantısını sağlayan sinir ve yolaklarıdır. Normal bir insan dinlenme durumunda dakikada 12-15 defa nefes alıp verir. Her nefes alındığında yaklaşık olarak 500 ml hava alınır ve 6-8 L/dk alışveriş gerçekleştirilmiş olur. Alınan bu hava alveollerdeki gaz ile karışır ve basit difüzyon ile O₂ pulmoner kılcal damarlardan kana geçerken CO₂ alveollere geçer. Bu şekilde dakikada 250 ml O₂ vücuda girerken 20 ml CO₂ vücuttan atılır (Traini, 2013).

Solunum yolu anatomik olarak orofarenksten başlayıp alveollere kadar uzanan çatallanmalardan meydana gelir. Akciğerin sağ lobunda 3 ana dallanma meydana gelirken sol lobunda 2 ana dallanma meydana gelir. Trakea ve alveoller arasında hava yolları çatallanarak 23 defa bölünür. Bu çoklu bölünmeler hava yollarının toplam yüzey alanı trakeada 2.5 cm²'den alveollerde 11800 cm²'ye arttırır.

Alınan hava nazal boşluğu ve farenksi geçerek ısınır ve nemlenir. Buradan sırasıyla trakea, bronşiolle ve oradan da alveollere doğru ilerler. Gaz değişiminin olduğu ve pulmoner kılcal damarların yer aldığı kısımlar bronşiolle ve alveollerdir. Alveoller akciğerlerin birincil gaz değişim ünitesi olarak görev alırlar özellikle alveolar boşluk

ile pulmoner kılcal damarlar arasındaki gaz-kan bariyeri çok ince olduğundan dolayı hızlı gaz alışverişi gerçekleşir (Traini, 2013).



Şekil 1. İnsan akciğer yapısının şematik gösterimi.

1.2. Pulmoner İlaçların Akciğerde Birikimi

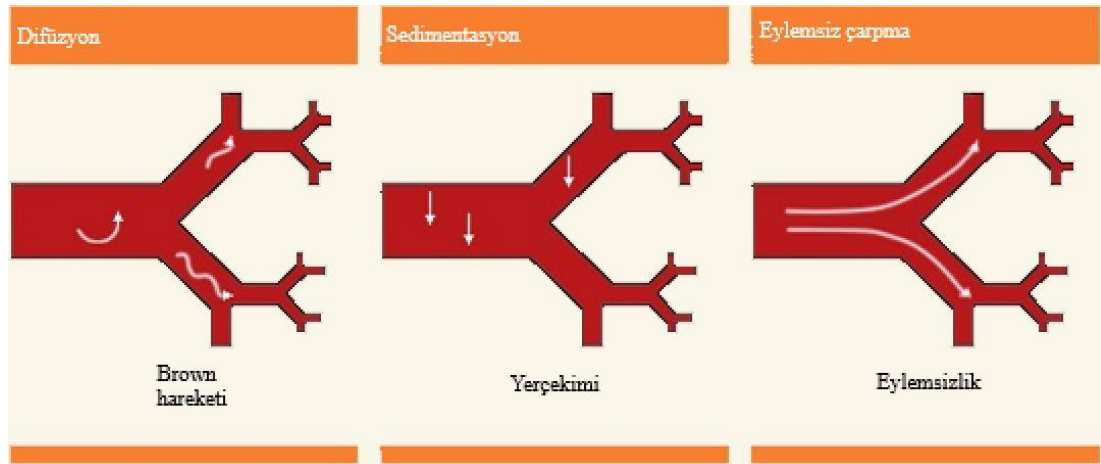
Solunum sistemi sahip olduğu hava yolu ve akciğer klirensi mekanizmasıyla yabancı partiküllerin girişini sınırlar (Lippmann, 1990). Partiküllerin solunum yolunda tutulmasında 3 ana mekanizma rol almaktadır: eylemsiz sıkışma (inertial impaction), yerçekimi sedimantasyonu (gravitational sedimentation), difüzyon (brown). (Şekil 2) (Yeh et al., 1976).

İlaçların solunum sisteminden verilmesi basit bir süreç değildir. Partiküller hava akım çizgisini takip etmediğinde yüzeylere temas ederek birikimler meydana gelir.

- Eylemsiz sıkışma mekanizması hava hızının yüksek ve havanın çalkantılı olduğu akciğerinin ilk 10 çatallanmalarında görülür (Lourenço & Cotromanes, 1982). 10 µm ve daha büyük partiküller orofarengeal bölgede birikim gösterir özellikle larenks bölgesinde bu birikim daha fazla görülür. Yüksek inspirasyon gerektiren KTİ cihazlarında ve ilacı yüksek hızlarda dağıtan ÖDİ cihazlarında partiküller

genellikle eylemsiz sıkışma mekanizmasıyla tutulur. Bu büyük partiküller daha sonar yutularak az da olsa sistemik dolaşıma geçerler.

- Eylemsizlik hareket eden kütlenin sahip olduğu temel özelliklerdendir. Partikülün çapına ve yoğunluğuna bağlı olmakla birlikte hava akış hızına da bağlıdır.
- Sedimentasyon, partiküllerin yerçekimi etkisiyle yerleşmesiyle meydana gelen mekanizmadır. Partikül boyutu 1-8 μm arasındaki parçacıklar bu mekanizmayla tutulur. Bu durumda bir partikülün belirli bir sürede yerleşeceği mesafe kütle ve yerçekimine bağlı bir işlemdir.
- Brown difüzyonu, partiküllerin havadaki düzensiz hareketidir. Gaz moleküllerinin partikülleri sürekli bombardımana tutması sonucu oluşan rastgele hareketlerdir. Çoğunlukla alveolar bölgede biriken küçük partiküller ($<1\mu\text{m}$) brown hareketi ile çöker. Bu bölgede hava akımı ihmal edilebilecek derecede azdır bundan dolayı eylemsizlik hareketinin birikime etkisi yoktur. Partiküller bu bölgede daha uzun süre kalırlar ve brown hareketi yanında sedimentasyon hareketi de görülür. İnhalasyon sonunda tutulamayan partiküller soluk verme sırasında dışarı verilir. 0.5 μm 'ye kadar olan partiküller sedimentasyon hareketinden etkilenirken 0.5 μm 'den küçük partiküllerin birikmesi için gerekli olan ana mekanizma difüzyondur.



Şekil 2. Solunum sisteminde meydana gelen 3 partikül birikim mekanizması.

Boyutu 1 μm 'den büyük olan partiküller için difüzyon hareketi düşüktür. Bu durumda akciğerde meydana gelen tutulumu sedimentasyon mekanizmasının yönetir (Köbrich et al., 1994).

Solunum sisteminde birikimgerçekleşebilmesi için partikül boyutunun minimum $\sim 0.5 \mu\text{m}$ olması gerekmektedir. Bu ölçülerdeki partikül boyutlarında hemen hemen bütün tutulum mekanizmaları verimsizdir. Aerodinamik partikül boyutunun $1 \mu\text{m}$ 'den büyük olması hava yollarında geniş bir bölgede birikimin gerçekleşmesi için yeterlidir. Maksimum alveolar birikimin sağlanması için $\sim 3 \mu\text{m}$ olması gerekmektedir. Bunun nedeni büyük partiküllerin inert olması, hava akımını takip edememeleri ayrıca ağız ve yutakta birikmeleridir. Partikül boyutu $8 \mu\text{m}$ 'den büyük olduğu durumlarda alveolar tutulum anlamlı değildir (Heyder et al., 1986).

Partikül boyutu $2-5 \mu\text{m}$ arasında olan partiküller terapotik uygulama bölgesi olarak Kabul edilen intratorasik bölgeye ulaşabilirler. Daha küçük partiküller ($< 2 \mu\text{m}$) alveollere ulaşır, buradan emilimi gerçekleşir ve sistemik dolaşıma geçerler. Alveollerde bulunan zengin kan damarları ve geniş yüzey alanı hızlı emilime olanak verir (Scheuch & Stahlhofen, 1988). Ayrıca ilaç oral olarak alındığında maruz kalacağı mide asidi ve karaciğer ilk geçiş etkisinden korunmuş olur. Difüzyon sadece partikül boyutuna bağlıdır yoğunluk ya da şekle bağlı değildir. Bronşial birikim şeklide dahil olmak üzere parçacığın doğrusal boyutlarına bağlıdır. Boyutun yanısıra birikim profili tozun katı hal özellikleri gibi diğer birçok özelliği tarafından control edilir.

1.3. İnhalasyon Sistemleri

Akciğerler lokal ve sistemik tedavide kullanılan ilaç uygulama yollarından biridir (Traini, 2013). Bu uygulamanın avantajlarından arasında ilacın etkisinin daha hızlı başlaması ve olası yan etkilerinin azalması sayılabilir. Ayrıca akciğerlerin düşük metabolik aktiviteye sahip olması mideye göre avantaj sağlar, böylece ilaç karaciğer geçiş etkisinden ve mide pH'ından etkilenmemiş olur. Pulmoner yol geniş yüzel alanına ($\sim 100 \text{ m}^2$) sahip olduğundan yüksek emilimin gerçekleşmesine imkan verir (Gonda, 2000). İlaç formülasyonları ve inhalasyon cihazlarındaki gelişmeler oral ve parenteral yöntemlere alternatif yeni inhale ilaçların üretimine imkan sağlamıştır (Traini, 2013).

Pulmoner yol ile ilaç uygulamasında tedavinin etkinliği etkin maddenin terapötik etki gösterebileceği proksimal hava yollarına ulaşmasıyla doğru orantılıdır. Bu miktar solunum fizyolojisine ve mukosiliyer klirensle bağlıdır.

İnhalerler, kullanım kolaylığı ve optimal tedavi edici özelliklerinden dolayı tedavide kendilerine yer bulmuşlardır. Nebulizerler sundukları ilaç formülasyonlarından bağımsız gelişmiş olmalarına rağmen mevcut ÖDİ ve KTİ spesifik formülasyonlar için uyarlanarak performans artışı hedeflenmektedir. Ayrıca bu işlemler basit bir süreç olmamakla birlikte inhale edilen ürün ve hasta ile ilişkili birçok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

İnhaler preparat arasında KTİ'ler stabil olmaları, yüksek taşıma kapasitesi sunmaları ve kullanım kolaylığı gibi üstünlükler sunmaktadır (Clarke & Newman, 1984). KTİ'ler partiküllü yapılardan oluşmaktadır. Formülasyon hazırlanırken dikkat edilmesi gereken parametreler; partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı, morfoloji, ilacın kristal ya da amorf yapıda olup olmadığı ve çözünme hızıdır. KTİ'lerin kalitesi aerodinamik özelliklerine bakılarak belirlenir (Wong et al., 2010).

1.4. İnhaler Cihazlar

Bir inhalasyon uygulama sisteminin klinik kullanımda kabul edilebilir olması için bazı yeterlilik kriterlerini karşılaması gerekir (Chrystyn, 2007):

- 10 mikrondan daha küçük boyutlarda ilaç taşıyıcı partiküllerin uygulanmasına imkan sağlamalıdır. Özellikle 0.5-5 mikron arası boyutlarda bulunmalıdır.
- Cihaz taşınabilir olmalıdır.
- İlaç uygulaması tekrarlanabilir olmalıdır.
- İlacın fiziksel ve kimyasal stabilitesini korumalıdır.
- Minimal hasta eğitim ihtiyacı sunmalıdır.

İdeal bir inhaler system cihazı ucuz, kullanımı kolay, taşınabilir ve hasta uyumluluğu yüksek olmalıdır. İlacın fiziksel ve kimyasal stabilitesini korumalıdır. Ayrıca kullanılan cihaz uygun büyüklükte partikül sunmalı ve bu tekrarlanabilir olmalıdır. Pulmoner yolla ilaç uygulamasında kullanılan cihazlar 3 çeşittir (Şekil 3):

- Nebulizörler
- Ölçülü doz inhaler
- Kuru toz inhaler

Nebulizörler, gaz içinde disperse edilen çok ince sıvı partiküllerin bir maske yardımıyla hastaya verildiği aerosol sistemleridir. Ticari olarak jet nebulizer ve ultrasonik nebulizer olmak üzere 2 çeşidi bulunmaktadır. Jet nebulizerler,

sıkıştırılmış gaz yardımıyla ilaç çözeltisini damlacıklarına ayırırken ultrasonik nebulizerler bunu ses dalgalarıyla yaparlar. Taşınabilirliğinin az olması, verimlerinin düşük olması ve stabilite sorunu olan ilaçlarda uygulanamaması dezavantajlarındandır.



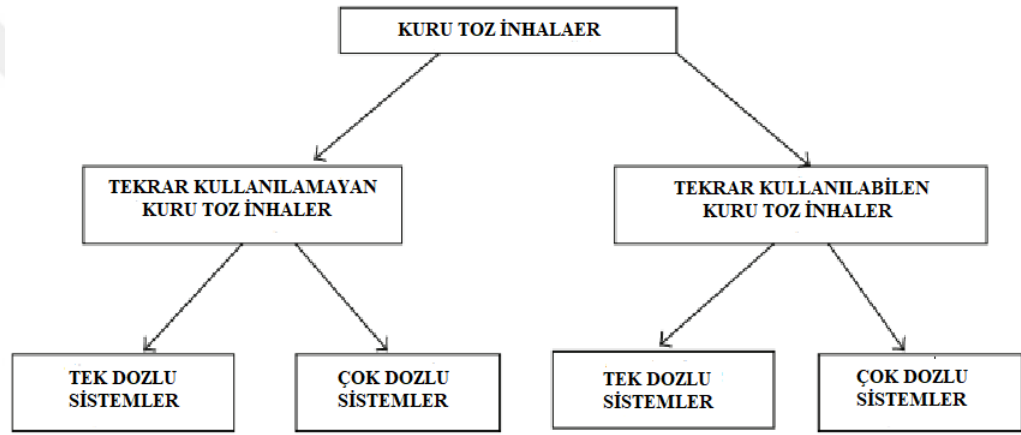
Şekil 3. Pulmoner uygulamada kullanılan cihazlar.

ÖDİ, basınç altında sıvılaştırılmış gazlar yardımıyla ilacı damlacık haline getiren sistemlerdir. Nebülizör ve ÖDİ'ler sıvı ve itici aerosol sistemlerini içerir. İkisi arasında ki temel fark nebulizörlerin aerosol damlacık üretmesi için harici enerji kullanması, ÖDİ'lerin ise aerolizasyon için için enerji sağlayan itici gaz içermesidir (Stephen P. Newman, 2005). ÖDİ tedavide kullanılan cihazların başında gelmektedir çünkü kullanım kolaylığı sağlamaktadır ve yüksek güvenilirlik profile sahiptir. Bununla birlikte geleneksel ÖDİ'lerin hasta tarafından zor el-nefes kordinasyonu ve çevreye zarar veren itici gaz kullanımı gibi önemli dezavantajları vardır. İlaç uygulaması olarak ÖDİ'ler verimsizdir. Uygulanan ilacın sadece %10-15'i akciğere ulaşır (Khassawneh et al., 2008). Bu sistem basınçlı hava kullandığından dolayı ekipman gerektirir. Ayrıca hastaların bu sistemden hava soluması birkaç dakikayı bulabilir (Le Brun et al., 2000).

KTİ toz partiküllerini uygun araçlar kullanılarak solunum yollarına aerosol şeklinde verilmesini sağlayan cihazlardır. KTİ'ler itici gaz içermezler, koordinasyon gerektirmez ve hastanın solunumu ile active edilirler (Islam &

Gladki, 2008). Ayrıca daha kararlı ve verimli sistemlerdir. Taşıma kolaylığı sunarlar, soğuk zincir koşullarında saklanmaya ve sulandırılarak kullanılmaya ihtiyaç duymazlar. Nemden etkilenmeleri ve solunum güçlüğü çeken hastalarda dozlamının güçleşmesi dezavantajlarındandır.

Hazırlanan tozlar tek başlarına verilebileceği gibi büyük partikül boyutlu bir yardımcı madde ile verilebilir. Bunun için genellikle laktoz kullanılır (S.P. Newman & Busse, 2002). KTİ cihazlar tekrar kullanılabilir. KTİ ve tekrar kullanılamayan KTİ cihazlar olmak üzere ikiye ayrılırlar (Lavorini, 2013). Bunlar da kendi içlerinde tek dozlu cihazlar ve çok dozlu cihazlar olmak üzere ikiye ayrılırlar (Şekil 4):



Şekil 4. Kuru toz inhalelerin sınıflandırılması.

- Tek dozlu cihazlar

Temel mekanizma farmasötik kompozisyonu içeren kapsülün delinmesidir. Hastanın soluk almasıyla oluşan hava akımı kapsüldeki tozun alınmasını sağlar (Rotahaler) (Hetzl & Clark, 1977). Turbospin® her kullanımdan önce cihaza yükleme yapılması gereken, tek dozlu, nefen ile aktiveşen tek dozlu KTİ'dir (Islam & Gladki, 2008).

- Çok dozlu cihazlar

Bu cihazlar iki kategoriye ayrılırlar. Bunlar tozu bireysel blisterde (Discus veya diskhaler) bulunduranlar ve bir toz haznesinde (Turbohaler, Pulvinal) bulunduranlar.

1.5. Kuru Toz İnhaler Formülasyonları

KTI'lerin performansını optimize etme etmede rol oynayan önemli faktörlerden biri ilacın doğru, tutarlı ve etkili dozlarını sağlayan bir toz formülasyonu üretmek için gerekli olan parçacık mühendisliğidir.

FDA ve Avrupa Inhalanda grubu yeni KTI'lerin onaylanması için gereklilikleri belirtmektedir (Inhalanda 1998, FDA 1998). Test yöntemleri için ABD Farmakopesi spesifikasyonları Avrupa Farmakopesi gereklilikleriyle uyumludur (Avrupa Farmakopesi 2012). İnhalasyon sırasında partiküllerin davranışı, ürünün özelliklerine ve dolayısıyla tozun kendisine bağlıdır. Geleneksel aerodinamik optimizasyon partikül boyutunu 5 μm 'den daha küçük boyutlara düşürmeyi amaçlar. Boyut küçültme yöntemleri ilaçları etkileyebilir ve partiküllerin fiziksel özelliklerini değiştirebilir. İnhalasyon için partikül üretmek için gereken stratejilerden biri, inhale edilen partiküllerin boyutunu ve yoğunluğunu manipüle etmektir. 5 μm 'den büyük partiküller alveollere nüfus edebilir ancak partiküllerin yoğunluğu, 0.4 g / cm³'lük yoğunluktan küçük bir yoğunluğa karşılık gelen ortalama 1-5 μm 'lik bir aerodinamik çap verecek şekilde olmalıdır (Telko & Hickey, 2005).

Suda az çözünen veya çözünmeyen ilaçların biyoyararlanımı, birçok farmasötik ürünün geliştirilmesinde iyi bilinen bir zorluktur. NSAİİ'lerin formülasyonu sırasında uygulanan, istenmeyen yan etkilerin azalmasına ve biyoyararlanımın iyileştirilmesine yol açabilecek çözünürlük problemlerini çözmek stratejik olarak önemlidir (Lipinski, 2000). Fizikokimyasal özellikleri değiştirmek ve NSAİİ'lerin çözünme hızını arttırmak için bir dizi gelişmiş teknolojik yöntem mevcuttur. En yaygın teknolojiler parçacık boyutunun küçültülmesi (Shenoy & Sukhorukov, 2004), ko-kristalizasyon (Basavoju et al., 2008), spreyle kurutma (Paudel et al., 2013), siklodekstrin inklüzyon kompleksi (Gainotti et al., 2004), inert suda çözünen ilaçların katı çözeltilerde veya dispersiyonlarda kullanılması, bir çözücünün buharlaştırma yöntemi ile bir süspansiyonun üretilmesi ve nanokristalin veya amorf etkin madde formlarının hazırlanması (Brewster & Loftsson, 2007).

İnhale dozaj formları diğer ilaç veriliş yolları arasında önemli bir konumdadır. Özellikle ilaçların pulmoner verilmesi hem lokal hem de sistemik olarak etkili ilaç maddeleri için önemli bir uygulama yolu olarak kabul edilmektedir. Klinikte ilacın pulmoner olarak uygulanıp istenilen bölgeye ulaşmasını etkileyen ana faktörler; ilaç formülasyonu, cihaz dizaynı ve hastanın inhalasyon profilidir (Lavorini et al., 2017).

İlaç geliştirme sırasında en önemli konulardan biri, uygun bir formülasyon yaklaşımı ve uygun ekspiyanların seçilmesidir (Pilcer & Amighi, 2010). KTİ formülasyonu hazırlanırken formülasyonun homojenliğini sağlamak, akışını kolaylaştırmak ve uygulama sırasında dağılıbilirliğini iyileştirmek için çeşitli ekspiyanlar uygulanabilir: kontrollü salım için en kapsamlı araştırılan sistemler olan lipozomların formülasyonu için dipalmitoilfosfidilkolin gibi lipidler kullanılabilir (Possmayer et al., 2001). Lipitlerin yanı sıra, birkaç alternatif ekspiyan test edilmiştir.

KTİ formülasyonları için hazırlanan tozlar ($<5 \mu\text{m}$) zayıf akış gösterdikleri için laktoz gibi büyük partikül boyutlu taşıyıcılarla karıştırılarak akışın iyileştirilmesi ve aerolizasyonun artırılması amaçlanır (Lavorini et al., 2017). Belirlenmiş bir güvenlik ve stabilite profillerine sahiptirler; saflık ve fiziksel özellikler üzerinde sıkı kontrollerle farklı üretim süreçlerinde üretilirler, farklı kalitelerde kolayca bulunurlar ve ucuzdurlar. Düşük toksisite, düşük higroskopikliğe sahiptirler ve KTİ formülasyonunda önemli stabiliteye sahip, suda çözünürlüğü yüksek bileşikler olarak avantajlıdır (Ashurst et al., 2000). Laktozun dışında mannitol, rafinoz, sorbitol, trehaloz, glikoz gibi taşıyıcılar kullanılabilir (Steckel & Bolzen, 2004).

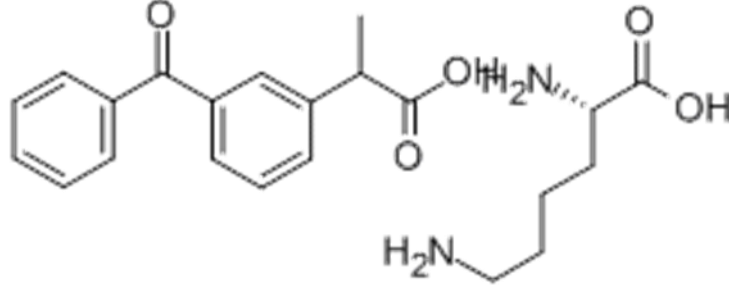
Lösin, glisin ve alanin gibi amino asitlerin higroskopikliği azalttığı ve partiküllerin yüzey aktivitesini ve yük yoğunluğunu artırdığı ve bu nedenle in vitro ve bir vivo birikimini önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir (Basavoju et al., 2008, Li et al., 2005; Newman & Clarke, 1983). Ayrıca KTİ formülasyonlarında oluşan partiküllerin yüzeyleri pürüzlü ve içleri boşluklu yapıdadır (Raula et al., 2010).

Polisorbatlar gibi sürfaktanlar düşük yoğunluklu partikül oluşumu için yeni bir yaklaşımdır (Steckel & Brandes, 2004). Katyonik polisakkaritlerden oluşan kitosan, biyoadezif etkisinin yanı sıra proteinler ve peptitler için bir emilim artırıcı olarak kullanılmıştır (Amidi et al., 2008). Polimerler ilaç mikropartiküllerini oluşturmak için kullanılır; spreyle kurutma sırasında yüzeyine adsorbe ederek mikropartikülün özelliklerine etki ederler. Polivinil alkol ve polivinipirrolidon arayüzlerde adsorbe etme özelliğine sahiptir ve bu nedenle KTİ sistemlerinde mikro ince kaplama malzemeleri ve stabilizatörler olarak kullanılabilir (Buttini et al., 2008, Brown et al., 2013).

Pulmoner uygulama için uygun mikronize toz elde etmek için farklı üretim teknikleri uygulanabilir. Bu teknikler arasında jet öğütme gibi klasik teknikler olduğu gibi spreyle kurutma, spreyle dondurarak kurutma ve süper kritik akışkan ile ekstraksiyon gibi sadece ilaçlar için değil, birçok uygulama için kayda değer diğer daha ileri

yöntemler yer almaktadır (Chow et al., 2007). Optimum verim KTİ cihazı ile toz formülasyonunun entegrasyonuna bağlıdır.

1.6. Ketoprofen Lizinat

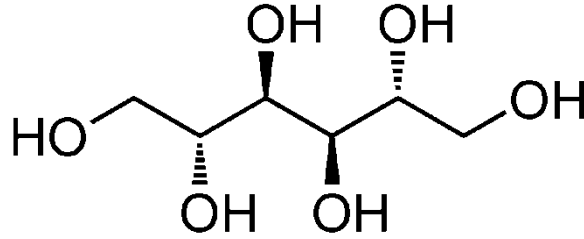


Şekil 5. Ketoprofen lizinat'ın kimyasal yapısı.

KPL, 2-(3-benzoylphenyl) propanoik asit; (2S)-2,6-diaminohegzanoik asit olarak adlandırılır. Kapalı formülü $C_{22}H_{28}N_2O_5$ ($C_{16}H_{14}O_3.C_6H_{14}N_2O_2$) olan KPL'nin kimyasal yapısı (Şekil 5)'de görülmektedir. Moleküler ağırlığı 400.5 g/mol olan KPL'nin yarılanma ömrü 1-2 saattir. Beyaz veya beyaza yakın kristal tozdur, erime noktası 171.05 °C arasındadır (Cerciello et al., 2016).

KPL, ketoprofenin suda çözünen lizinat tuzudur. Analjezik, antiinflamatuvar ve antipiretik etkilidir. Osteoartrit ve romatoid artrit gibi çeşitli kronik enflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılan en yaygın NSAİİ'lerden biridir. Ketoprofen ile karşılaştırıldığında daha iyi emilim oranına ve gelişmiş gastrik toleransa sahiptir (Cerciello et al., 2016).

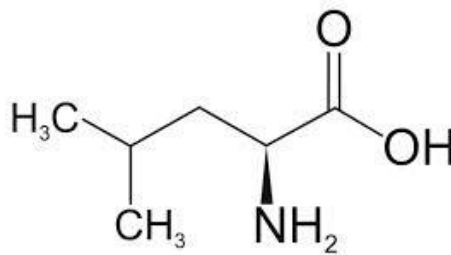
1.7. Mannitol



Şekil 6. Mannitol'ün kimyasal yapısı.

(2R,3R,4R,5R)-Hegzan-1,2,3,4,5,6-hegzol olarak adlandırılan ve molekül ağırlığı 182 g/mol olan mannitol, ilaç endüstrisinde başta tablet formülasyonları olmak üzere bir çok formülasyonda yardımcı madde olarak kullanılır (Shiga et al., 2014). Bronşiyal aşırı duyarlılık tanısında kullanılan bir şeker alkolüdür (Şekil 6) (Brannan et al., 2005). Erime derecesi 165°C'dir (Gombás et al., 2003). Bir ozmotik ajan olan mannitol bronşektazi ve kistik fibrozis vakalarında mukus klerensini arttırmak için de uygulanır. Bu çalışmada mannitol taşıyıcı olarak seçilmiştir çünkü spray dryerdan püskürtmesi kolaydır ve partikül büyüklüğü spreyle kurutma ile kolayca kontrol edilebilir (Chew & Chan, 1999). Mannitol ile hazırlanan KTİ düşük toksisite, düşük higroskopiklik, yüksek kararlılık ve yüksek oranda suda çözünürlüğe sahiptir ayrıca belirgin bir tatlı tada sahiptir (Braun et al., 2010).

1.8. Lösin

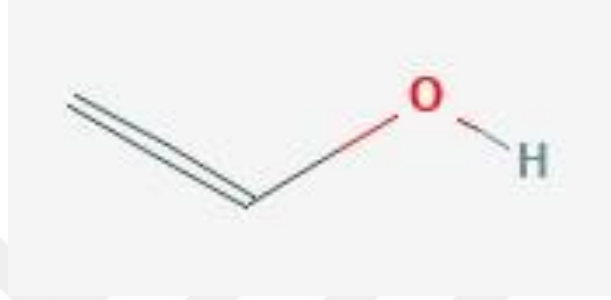


Şekil 7. Lösin'in kimyasal yapısı.

Lösin, kimyasal formülü $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, 2-Amino-4 metilpentanoik asit olarak adlandırılan molekül ağırlığı 131.17 g/mol olan dallı zincirli bir amino asittir (Şekil 7). Alifatik-izobütil yan zincirinden hidrofobik bir amino asit olarak

sınıflandırılır. Şeker ve lipidlerin yanı sıra amino asitler gibi çeşitli alternatif eksipiyenler test edilmiştir (glisin, alanin, lösin ve izolösin). Amino asitlerin higroskopikliği azalttığı ve parçacıkların yüzey aktivitesini ve yük yoğunluğunu geliştirdiği gösterilmiştir. Spreyle kurutma ile elde edilen inhalasyon formülasyonlarına çeşitli amino asitlerin ilave edilmesinin, kuru bir tozun in vitro birikim profilini önemli ölçüde geliştirdiği gösterilmiştir (Seville et al., 2007).

1.9. Polivinil Alkol



Şekil 8. PVA'nın kimyasal yapısı.

Kimyasal formülü C_2H_4O olup molekül ağırlığı 44 g/mol'dür. Polivinil alkol, kokusuz beyaz ila krem renkli granüller veya toz olarak görünür. Saf sulu çözeltiler nötr veya hafifçe asittir. Polivinil asetatlardan asetat gruplarının hidroksil gruplarıyla değiştirilmesi ile elde edilir (Şekil 8). Erime derecesi 212-267 °C arasındadır (Abral et al., 2020).

1.10. Astım

1.10.1. Tanım ve epidemiyoloji

Astım, kronik havayolları inflamasyonu ve bronşiyal aşırı duyarlılıkla göğüste sıkışma hissi, nefes darlığı, öksürük gibi semptomlar gösteren bir hastalıktır. Değişkenlik gösteren ekspiratuvar hava akımı kısıtlaması semptomlarla ilişkilidir. Bunların zaman içindeki değişimi astımı diğer solunum yolu hastalıklarından ayıran tipik ve tamamlayıcı özelliğidir. (Çelik, 2020).

Astımın sıklığı ülkeler ve bölgelerce farklılıklar göstermesi genetik ve çevresel faktörlerin heterojenitesiyle açıklansa bile dünyanın çeşitli yerlerinde saptanan prevalans farklılıklarını açıklamakta yetersiz kalmaktadır (Global Initiative for Asthma, 2020).

Türk Toraks Derneği'nce ülkemizde gerçekleştirilen, 14 ayrı şehirde 25843 kişinin katıldığı geniş çaplı bir araştırmada; astım sıklığı erkeklerde %7.1, kadınlarda %9 olarak görülmektedir (Kurt et al., 2009).

Dünyada 300 milyona yakın kişinin astımdan etkilendiği ve 250.000 kişinin ise öldüğü düşünülmektedir (Global Initiative for Asthma, 2020).

1.10.2. Patofizyoloji

T lenfositler, eozinofiller, dendritik hücreler, nötrofil, makrofaj, epitel, endotel, mast hücreleri, düz kas hücreleri, fibroblastlar, miyofibroblastlar inflamasyona neden olarak astımın gelişiminde rol oynamaktadır. Ayrıca TNF- α , IL-1 β , GM-CSF, IL-4, IL-5 ve IL-13, nitrik oksit, histamin ve prostaglandin D2 astım patogenezinde rol oynayan başlıca medyatörlerdendir (Wenzel, 2003, Miller & Lukacs, 2004).

Ödem, hava yollarındaki duvarlarda meydana gelen kalınlaşma ve düz kasların kontraksiyonu hava yollarında daralmaya neden olmaktadır. Meydana gelen bu daralma klinik ve fizyolojik olayları beraberinde getirir (Black, 2004).

1.10.3. Faktörler

Astımın oluşumundaki risk faktörleri genetik ve çevresel faktörler olarak iki grupta tanımlanabilir. Atopi, bronş aşırı duyarlılığı, cinsiyet ve obezite genetik faktörleri oluştururken allerjenler, ev içi akarları, hayvanlar, küf mantarları, polenler, hava kirliliği, sigara ve mesleki maruz kalınan duyarlılaştırıcılar çevresel faktörleri oluşturmaktadır (Çelik, 2020).

1.10.4. Tedavi

Astım tedavisinin kronik süreçteki hedefi günlük semptomları kontrol altına almak ve ileride gelişebilecek risklerden korunmaktır (Çelik, 2020).

Astım tedavisinde kullanılan ilaçlar;

- I. Kontrol edici ilaçlar
- II. Semptom giderici ilaçlar
- III. Ağır astımda kullanılan ilave ilaçlar

Kontrol edici ilaçlar, antiinflamatuvar etkilerinden astımı kontrol altında tutmak için kullanılan ilaçlardır. Bunlar; inhale steroid, inhale steroid ve uzun etkili beta2-agonist kombinasyonu ve antilökotrienlerdir.

Semptom giderici ilaçlar, hızla etki göstererek bronkokonstriksiyonu düzelten, semptomları gideren ve gerekli durumlarda kullanılan ilaçlardır. Bunlar; hızlı etkili inhale beta2-agonistler, kısa etkili inhale antikolinergikler, düşük doz inhale steroid ve formeterol kombinasyonu, inhale ve/veya sistemik steroid, magnezyum sülfat ve kısa etkili teofilindir.

İlave tedaviler, yüksek doz kontrol edici tedaviye ve risk faktörlerinin kontrol edilmesine rağmen astım kontrolü sağlanamayan veya atağı olan hastalara verilen ilaçlardır. Bunlar; uzun etkili inhale antikolinergikler, yavaş salınımlı teofilin, uzun süreli düşük doz oral steroid tedavisi, biyolojik ajanlar (anti-IgE, anti-IL5/5R ve anti-IL4R), sistemik steroid dozunun azaltılmasını sağlayan diğer ilaçlar ve allerjenimmünoterapi, bronşiyal termoplasti gibi farmakolojik olmayan işlemlerdir (Çelik, 2020).

1.11. Püskürterek Kurutma Yöntemi

Püskürterek kurutma, çözelti, süspansiyon ya da emülsiyon, lipozom gibi koloidal formülasyonların sprey şeklinde püskürtülerek sıcak hava yardımıyla sıvı kısmından ayrılıp kuru partiküllerin elde edilmesi olayıdır (Pilcer, 2008).

Oldukça hızlı ve kullanışlı olan bu yöntem büyük ölçekli üretimler içinde uygun bir tekniktir (Castelli et al., 1996, Dickinson et al., 1997).

Püskürterek kurutma yöntemiyle küresel şekilli, poröz yapılı ve iyi akışa sahip partiküller üretilir bu sayede taşıyıcı kullanma ihtiyacı azalmış olur. Elde edilen partiküllerin boyutları ve kullanılan yöntemin parametreleriyle kontrol edilebilir (Khassawneh et al., 2008, Wise, 2000). Kullanılan çözücünün buhar basıncı ve kaynama noktası gibi parametreler partiküllerin özelliklerini etkileyeceği gibi giriş sıcaklığı, pompa hızı, hava akış hızı yöntem parametrelerini etkilemektedir.

Püskürterek kurutma işlemi sonucundameydana gelen amorf veya kısmen amorf tozlarda stabilite problemleri görülebilmektedir (Columbano et al., 2002, Grisedale et al., 2011).

2 GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Maddeler ve Araç Gereçler

2.1.1. Kullanılan maddeler

Ketoprofen lizinat	Berko İlaç ve Kimya Sanayi A.Ş.'den temin edildi. (Türkiye)
Mannitol	Roquette (Fransa)
Lösün	SigmaAldrich (ABD)
Polivinil Alkol	Celanese (ABD)
Metanol (U-YBSK Grade)	Merck (Almanya)
Asetonitril (U-YBSK Grade)	Merck (Almanya)
Distile su (U-YBSK Grade)	Merck (Almanya)
Etanol %96 Alkol	Merck (Almanya)
% 96 Alkol	Teksoll (Türkiye)

2.1.2. Kullanılan araç gereçler

FT-IR (ATR ataçmanlı), Perkin Elmer Spectrum 100
DSC, Shimadzu-60
U-YBSK, Thermo Scientific Accela model, ABD
NBPK, Nano Spray Dryer BUCHI, B-90
SEM, Thermo Scientific Apreo S
Sıkıştırılmış Dansite Ölçüm Cihazı, VARIAN 2 Platform
TGA, Perkin Elmer TGA-4000
XRD, Rigaku Corp., Tokyo, Japan
NGI, Next Generation Impactor, Copley
Yatay çalkalayıcı, Gentle Rocker, Copley
Hassas terazi, Sartorius Basic TE 214S
Manyetik karıştırıcı, Velp ScientificaAre2
Santrifüj, NÜVE NF800
Ultrasonik banyo, Transsonic T660/H, Elma
Akış ölçer, Flow Meter DFM 2000, Copley

3 YÖNTEM VE DENEYLER

3.1. Ketoprofen Lizinatın Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi

Çalışmada Ketoprofen lizinat (KPL)'ın fizikokimyasal özelliklerinin analizleri yapıldı.

3.1.1. FTIR spektrumu

KPL'in FTIR spektrumu için, 600-4000 cm^{-1} dalga boyları arasında Perkin Elmer, Spectrum 100 cihazı (ATR: miracle ATR, PIKE TECHNOLOGIES; Software: Spectrum Version 6.3.5.0176; Resolution: 4 cm^{-1} ; Scan number: 4) çalışıldı ve spektrum alındı.

3.1.2. DSC analizi

KPL'in termal davranışını incelemek için DSC analizi gerçekleştirildi. Hassas olarak tartılan numune (2-3 mg) kapaklı alüminyum pan içine konuldu, preslendi ve kapağın sıkıca kapatılması sağlandı. Preslenen pan DSC cihazına yerleştirildi ve 25°C'den 320°C'ye ısıtıldı. Çalışma esnasında sıcaklık artış hızı 10°C/dakika ve azot gazının akış hızı 100 ml/dakika olarak ayarlandı.

3.1.3. XRD analizi

XRD analizi KPL'nin kristal yapısını aydınlatmak için yapıldı. Analiz Rigaku Ultima IV X-Ray Diffractometer (Rigaku Corp., Tokyo, Japan) ile 40 kV voltaj, 36 mA akım şiddeti ve 0.02 deg ilerleme hızında gerçekleştirildi. ($\lambda_{\text{Cu}} = 1.5406 \text{ \AA}$).

3.1.4. Ketoprofen Lizinatın standart doğrusunun çizilmesi

Kromatografik analizlerde PDA dedektör (Thermo Scientific, ABD), pompa (Thermo Scientific 1250 pump, ABD), otomatik örnekleyici (Thermo Scientific, ABD), kolon fırınından ve yazılımdan (Xcalibur 2.0) oluşan U-YBSK kullanıldı.

Analizlerde kolon olarak ODS-Hypersil (250 x 4.6 mm, 5 μm partikül büyüklüğü, (SN:10104112) Thermo Scientific, ABD), mobil faz olarak asetonitril:su (55:45; h/h) karışımı 1 ml/dakika akış hızında kullanıldı ve mobil faz her analiz öncesinde taze hazırlanarak degaze edildi.

Kolon sıcaklığı 25°C'ye ayarlanarak, enjeksiyon hacmi 10 µl olarak kullanıldı. Analizi yapılacak örnekler 25°C'de bekletilerek, 200-600 nm dalga boyu aralığında çalışıldı. Dedektör KPL en yüksek absorbans gösterdiği dalga boyu olan 255 nm'ye ayarlandı. Analiz süresi 10 dakika olarak belirlendi.

KPL'nin 100 µg/ml metanol içinde ana stok çözeltisi hazırlandı. Bu hazırlanan stok çözeltiden 2, 4, 6, 8, 10 ve 12 µg/ml konsantrasyonlarında olacak şekilde metanolle seyreltmeler yapılarak örnekler hazırlandı.

3.1.5. AYV çalışmaları

AYV çalışmaları, KPL miktar tayininde, yöntem güvenilirliği göstermek için çalışmada kullanılan validasyon parametreleri aşağıda gösterilmiştir:

- Doğrusallık (Lineerlik)
- Doğruluk
- Kesinlik
- Özgünlük ve Seçicilik
- Saptama derişimi (LOD)
- Duyarlık sınırı (LOQ)
- Sağlamlık

3.1.5.1. Doğrusallık

Yapılan analiz, örnek ortamındaki analit derişimi ile sinyal arasındaki ilişkinin doğru orantılı olduğu aralığın göstergesidir. Kalibrasyon eğrileri kullanılarak doğrusal aralık belirlenir.

Doğrusallığın tespitinde, KPL metanolde çözündürülmesiyle 100 µg/ml stok çözeltisi hazırlandı. Ana stoktan yola çıkılarak 2, 4, 6, 8, 10 ve 12 µg/ml (sırayla; STD1, STD2, STD3, STD4, STD5 ve STD6) konsantrasyonlarında olacak şekilde metanolle seyreltmeler yapılarak örnekler hazırlandı. Her bir örnekten 3 adet hazırlanarak bu konsantrasyonlara karşılık gelen EAA yardımıyla standart doğrunun denklemi bulundu. Korelasyon katsayısıyla doğrusallık değeri saptandı.

Uygulama Aralığı:

Standart çözelti olarak en alt ve en üst sınırdaki çözeltiler (STD1 ve STD6) kullanıldı, her bir numunenin 3 defa enjeksiyonu yapıldı ve EAA değerleri hesaplandı, kabul olarak $\%RSD \leq \% 2.0$ belirlendi.

3.1.5.2. Doğruluk

Kullanılan yöntem sonucunda elde edilen sonuçların gerçek değere olan yakınlığı analitik yöntemin doğruluğunu gösterir. Sistematik ve gelişigüzel yanlıgıların ölçüm sonucuna olan etkisi doğruluğun kapsamındadır. Gerçeklik ve kesinliğin bileşimidir. Kabul edilebilir bir ölçüm belirsizliğini içermelidir.

Doğruluk, farklı konsantrasyonlar için geri kazanım çalışmaları yapılarak, Eşitlik 1 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Geri Kazanım (\%)} = (\text{Test sonucu bulunan konsantrasyon} / \text{Teorik konsantrasyon}) \times 100$$

Eşitlik 1.

Her konsantrasyon için % geri kazanımın %97-%103 aralığında olması; her bir seviye için elde edilen geri kazanımların ortalama, SD ve %RSD değerlerinin hesaplanması sonucunda %RSD değeri $\leq \%3.0$ olması, kabul kriteri belirlendi.

3.1.5.3. Kesinlik

Bellirli şartlar altında alınan bağımsız ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığıdır. Kesinlik sadece tesadüfi hataların dağılımı ile ilişkilidir, gerçek değerle ilgisi yoktur. Kesinlik, bir yöntemin tekrar edilebilirliğinin bir ölçüsüdür.

Tekrarlanabilirlik (sistem kesinliği) için STD3 çözeltisi kullanılarak 3 enjeksiyon yapıldı. Kabul kriteri olarak %RSD değeri $\leq \%2.0$ alındı. Laboratuvar içi kesinlik değerlerinin elde edilmesi için STD4 çözeltisi kullanılarak 0., 1. ve 2. günlerde tekrarlı ölçümler yapıldı.

Tekrar edilebilirlik, aynı şartlar altında aynı analitin peş peşe ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığıdır.

Laboratuvar içi kesinlik, aynı kişinin, aynı cihazla, aynı yerde, aynı ölçüm yöntemiyle kısa bir zaman aralığında ardışık alınan ölçümleri kapsar.

3.1.5.4. Özgünlük ve seçicilik

Analizin daha önceden belirlenmiş şartlarda aranan analiti örnek matriksindeki diğer maddelerden ayırabilme özelliğidir. Bir analitik yöntemde yetersiz seçicilik durumu, gerçek analitin tayinini bozan girişimcilerle açıklanır.

3.1.5.5. Saptama derişimi

Geliştirilmiş yöntem ile etkin maddenin beklenen derişimleri kolaylıkla ve doğrulukla analiz edebilmelidir. Bir yöntemin saptayabildiği en düşük derişime saptama derişimi (Limit of detection, LOD) denmektedir. Bu derişim çok güvenli olmayıp, gürültü (noise) içerir (Acartürk vd. 2007).

Eşitlik 2 kullanılarak LOD değeri hesaplandı (ICH, 2005).

$$\text{Saptama derişimi (LOD)} = (3.3 \times \text{Standart Sapma}) / \text{Eğim} \quad \text{Eşitlik 2.}$$

3.1.5.6. Duyarlık sınırı

Saptama derişimi (Limit of detection, LOD), çok güvenli olmayıp, gürültü (noise) içerir. Gürültünün daha üzerinde olup da, güvenilebilecek durumda olan derişime de duyarlık veya analiz sınırı (Limit of quantification, LOQ) denir (Acartürk vd. 2007).

Eşitlik 3 kullanılarak LOQ değeri hesaplandı (ICH, 2005). Ölçüm aralığının en düşük sınırı olarak da tanımlanabilir.

$$\text{Tayin sınırı (LOQ)} = (10 \times \text{Standart Sapma}) / \text{Eğim} \quad \text{Eşitlik 3.}$$

3.1.5.7. Sağlamlık

Analitik bir yöntemin sağlamlığı, metot parametrelerinde bilerek yapılan küçük fakat belirgin oynamalara karşı etkilenmeden sonuç verme yeteneğinin bir ölçüsüdür. Bu terim normal kullanım sırasında elde edilen değerlerin güvenilirliği için türetilmiştir.

STD2 çözeltisi kullanıldı ve 3 enjeksiyonla elde edilen EAA, yöntem parametrelerindeki değişiklik olarak belirlenen 20°C, 25°C ve 30°C (sırayla, KSD1, KSD ve KSD2) olmak üzere kolon sıcaklık değişimindeki değerleri ölçüldü. Kabul kriteri olarak, yöntemin sağlamlığı için orijinal yöntem ile değişiklik yapılan yöntem sonuçları arasındaki fark $\leq$ % 3.0 belirlendi.

3.1.6. Çözünürlük çalışması

KPL'ın çözünürlük çalışması distile su ve pH 7.4 PBS içinde 20°C'de yapıldı (USP33-NF28 2010). Bu ortamlardan 5 ml alındı, içerisine aşırı miktar KPL ilave edildi. 24 saat çalkalandı. Süre sonunda 2 ml örnek alınıp, 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi, 0.45 µm filtreden süzüldü. Bu süzüntüden EAA, U-YBSK sisteminde her bir ortam için 6 deneme yapıldı.

3.2. KTİ Formülasyonlarının Hazırlanması

KTİ formülasyonların hazırlanmasında, etken madde olarak KPL, yardımcı madde olarak mannitol, lösin ve PVA (Celvol 523) kullanıldı. Etken madde içermeyen (BF) ve etken madde içeren (F) KTİ formülasyon bileşenlerinin bilgiler Tablo 1-2'de verilmiştir.

Tablo 1. KPL içermeyen KTİ formülasyon bileşenlerinin bilgileri.

Formülasyon kodu	Formülasyon içeriği
BF1	Mannitol ve L-lösinin saf su ile hazırlanan çözeltisinin püskürterek kurutulmasıyla elde edilen KTİ formülasyonları.
BF2	PVA, L-lösin ve mannitolün saf su ve metanol ile hazırlanan çözeltisinin püskürterek kurutulmasıyla elde edilen KTİ formülasyonları.

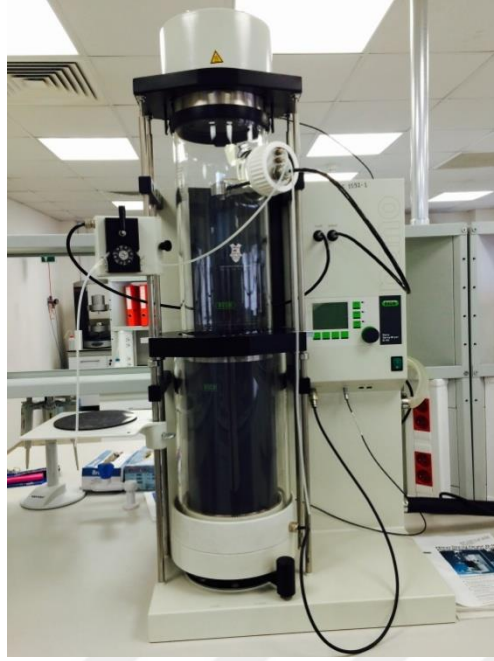
Tablo 2. KPL içeren KTİ formülasyon bileşenlerinin bilgileri.

Formülasyon kodu	Formülasyon içeriği
F1	KPL, mannitol, lösin ve saf su ile hazırlanan çözeltisinin püskürterek kurutulmasıyla elde edilen KTİ formülasyonları.
F2	KPL, mannitol, PVA, lösin, saf su ve metanol ile hazırlanan çözeltisinin püskürterek kurutulmasıyla elde edilen KTİ formülasyonları.
F3	KPL, mannitol, lösin ve saf su ile hazırlanan çözeltisinin püskürterek kurutulmasıyla elde edilen KTİ formülasyonları.
F4	KPL, mannitol, PVA, lösin, saf su ve metanol ile hazırlanan çözeltisinin püskürterek kurutulmasıyla elde edilen KTİ formülasyonları.
F5	KPL, mannitol, lösin ve saf su ile hazırlanan çözeltisinin püskürterek kurutulmasıyla elde edilen KTİ formülasyonları.
F6	KPL, mannitol, PVA, lösin, saf su ve metanol ile hazırlanan çözeltisinin püskürterek kurutulmasıyla elde edilen KTİ formülasyonları.

3.2.1. KTİ formülasyonlarında çalışmalar

Formülasyonların hazırlanmasında Tablo 1 ve 2 de verilen bileşenlerin değişik oranları kullanılarak KTİ formülasyonları hazırlandı.

1-5 µm partikül büyüklüğünde KPL içeren KTİ formülasyonlarını elde etmek için, NBPK ile ön denemeler yapıldı. 5.5 µm püskürtme başlıkları kullanılarak istenen partikül büyüklüğü – dağılım aralığı elde edildi (Şekil 9).



Şekil 9. NBPK.

KTİ formülasyonlarının hazırlanmasında taşıyıcı mannitol, yapışmayı önleyici lösün ve stabilizan ajan olarak PVA kullanıldı.

Formülasyonların hazırlanmasında kullanılan NBPK’da giriş sıcaklığı (Inlet temperature), sprej oranı, sıvı akış hızı gibi işlem parametreleri değiştirilerek 1-5 µm partikül büyüklüğünde KTİ formülasyonları hazırlandı.

3.2.2. Ketoprofen Lizinat içermeyen KTİ formülasyonlarının hazırlanması çalışmaları

Etkin madde (KPL) içermeyen KTİ formülasyonlarının bilgileri Tablo 3’de verilmiştir.

BF1 için Tablo 3’teki miktarlarda mannitol ve lösün distile suda çözündürüldü, manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. NBPK’da püskürtülerek KTİ formülasyonları hazırlandı.

BF2 için Tablo 3’teki miktarlarda mannitol, lösün ve PVA distile suda çözündürüldü, metanol eklendi, manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. NBPK’da püskürtülerek KTİ formülasyonları hazırlandı.

Tablo 3.KPL içermeyen KTİ formülasyon bilgileri.

Formülasyon kodu	KPL %	Mannitol %	Lösün %	PVA %	Saf su ml	Metanol ml
BF1	-	71.5	28.5	-	100	-
BF2	-	62.5	25	12.5	100	20

BF1 ve BF2 kodlu KTİ formülasyonlarının hazırlanmasında kullanılan NBPK çalışma şartları:

Püskürtme başlığı (Nozzle)	: 5.5 µm'lik mesh
Giriş sıcaklığı (Inlet temperature)	: 100°C
Çıkış sıcaklığı (Outlet temperature)	: 44-55°C
Sprey oranı	: %100
Gaz akış hızı	: 120-123 l/dk
Basınç	: 41-42 mBar
Pompa	: 4-1

3.2.3. Ketoprofen Lizinat içeren KTİ formülasyonlarının hazırlanması çalışmaları

KPL, içeren KTİ formülasyonlarının bilgileri Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. KPL içeren KTİ formülasyon bilgileri.

Formülasyon kodu	KPL %	Mannitol %	Lösün %	PVA %	Saf su ml	Metanol ml
F1	20	57.2	22.8	-	100	-
F2	20	45.8	22.8	11.4	80	20
F3	20	64.3	15.7	-	100	-
F4	20	52.9	15.7	11.4	80	20
F5	25	52.2	22.8	-	100	-
F6	25	40.8	22.8	11.4	100	20

Tablo 4’te verilen miktarlarda F1, F3, F5 formülasyonlarının hazırlanmasında; KPL, mannitol ve lösin distile suda           , manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. NBPK’da püskürtülerek KT  formülasyonları hazırlandı.

F1, F3, F5 kodlu KT  formülasyonlarının hazırlanmasında NBPK  alışma şartları:

Püskürtme başlığı (Nozzle)	: 5.5 �m’lik mesh
Giriş sıcaklığı (Inlet temperature)	: 100�C
�ıkış sıcaklığı (Outlet temperature)	: 40-56�C
Sprey oranı	: %100
Gaz akış hızı	: 119-122 l/dk
Basınç	: 40-42 mBar
Pompa	: 4-1

Tablo 4’te verilen miktarlarda F2, F4, F6 formülasyonlarının hazırlanmasında; KPL, mannitol, lösin ve PVA distile suda           , metanol eklendi, manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. NBPK’da püskürtülerek KT  formülasyonları hazırlandı.

F2, F4, F6 kodlu KT  formülasyonlarının hazırlanmasında kullanılan NBPK  alışma şartları:

Püskürtme başlığı (Nozzle)	: 5.5 �m’lik mesh
Giriş sıcaklığı (Inlet temperature)	: 100�C
�ıkış sıcaklığı (Outlet temperature)	: 42-57�C
Sprey oranı	: %100
Gaz akış hızı	: 120-125 l/dk
Basınç	: 40-43 mBar
Pompa	: 4-1

3.3. KTİ Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları

Tablo 3-4 de verilen bileşenler ile hazırlanan formülasyon çözeltileri 5.5 µm mesh'lik püskürtme başlığı kullanılarak NBPK'da püskürtüldü ve KTİ formülasyonları elde edildi. Elde edilen KTİ formülasyonların % verimleri Eşitlik 4 kullanılarak hesaplandı.

%verim =

[pratikte elde edilen ürün (g) / püskürtülen sıvıdaki katı madde miktarı (g)] x 100

Eşitlik 4.

Hazırlanan KTİ formülasyonlarının aerolizasyon etkinliği ve buna bağlı olarak akciğerde depolanma özelliklerinin incelenebilmesi amacıyla aşağıdaki taylorlar yapıldı.

3.3.1. Partikül büyüklüğü - dağılımı

KTİ formülasyonlarının partikül büyüklüğü tayini için, lazer ışık kırınımı prensibi esaslı (Malvern Mastersizer 3000, kuru ölçüm esaslı) sistem kullanıldı (n=6) (Alhalaweh et al., 2009, Bérard et al., 2002).

3.3.2. SEM analizi

Hazırlanan KTİ formülasyonlarının morfolojisinin tayini SEM kullanıldı. Örnekler stub'a konularak kaplama ünitesine yerleştirildi. Leica EM ACE600 cihazında 1.5 dakika 15 mA altın ile kaplandı.

3.3.3. Tozların akış özellikleri

Hazırlanan KTİ formülasyonlarının akış özelliklerinin incelenmesinde “Carr sıkışabilirlik indeksi” ve “Hausner oranı” Eşitlik 5-6 ile hesaplandı.

$$\text{Carr sıkışabilirlik indeksi (\%)} = \frac{\text{Sıkıştırılmış dansite} - \text{Küme dansitesi}}{\text{Sıkıştırılmış dansite}} \times 100$$

Eşitlik 5.

Hausner oranı = Sıkıştırılmış dansite / Küme dansitesi

Eşitlik 6.

Akış özelliklerinin incelenmesi için yapılan çalışmalarda sıkıştırılmış dansite ölçüm cihazı (VARIAN 2 Platform) kullanıldı. Tozların küme ve sıkıştırılmış dansite ölçümleri için, 5 ml'lik bir mezür içerisine, 5 ml hacmine kadar toz dolduruldu, miktar g olarak tartıldı ve kaydedildi (küme dansitesi: 5 ml). Daha sonra değişim gözlenmeyinceye kadar süren vurma işlemi bitince toz hacmi tekrar kaydedildi. Vurma sayısı 300 ve 500 kez olarak çalışıldı. Vurma işleminde hacim sabit kaldığı 500 vuruş kaydedildi (sıkıştırılmış dansite). Ölçümler 6 kez tekrarlandı.

3.3.4. % Ağırlık kaybı tayini

Hazırlanan KTİ formülasyonlarının % ağırlık kaybı, TGA kullanılarak, 30-300°C arasında, 10°C/dk termogravimetrik tayin edildi (Román et al., 2012). Ölçümler 3 defa tekrarlandı.

3.3.5. Katı durum karakterizasyonu tayini

3.3.5.1. DSC analizi

DSC analizi KTİ formülasyonlarının termal davranışını incelemek üzere yapıldı. Hazırlanan KTİ formülasyonları yaklaşık 2-3 mg olacak şekilde hassas olarak tartıldı. Kapaklı alüminyum pan içine konuldu, preslendi ve kapağın sıkıca kapatılması sağlandı. Preslenen pan, DSC cihazına yerleştirildi ve 25°C'den 300°C'ye ısıtıldı. Çalışmada sıcaklık artış hızı 10°C/dakika ve azot gazının akış hızı 100 ml/dakika'dır.

3.3.5.2. XRD analizi

Hazırlanmış olduğumuz KTİ formülasyonların kristal yapısını incelemeye XRD analizi yapıldı. X-ışını kırınımı analizleri, Rigaku Ultima IV X-Ray Diffractometer (Rigaku Corp., Tokyo, Japan) ile 40 kV voltaj, 36 mA akım şiddeti ve 0.02 deg ilerleme hızında gerçekleştirildi. ($\lambda_{Cu} = 1.5406 \text{ \AA}$).

3.3.5.3. FTIR analizi

KTİ formülasyonlarının FTIR, 600-400 cm⁻¹ dalga boyları arasında Perkim Elmer, Spectrum 100 cihazı (ATR: miracle ATR, PIKE TECHNOLOGIES; Software: Spectrum Version 6.3.5.0176; Resolution: 4 cm⁻¹; Scan number: 4) kullanıldı.

3.3.6. EE tayini

Hazırlanan KTİ formülasyonların enkapsülasyon etkinliğini belirlemek amacıyla, hazırlanan KTİ formülasyonlarından 10 mg tartıldı, 10 ml distile su içerisinde 24 saat süre ile oda sıcaklığında çalkalandı ve 0.45 µm membran filtreden süzülde. Süzüntüdeki KPL miktarı U-YBSK kullanılarak tayin edildi.

Enkapsülasyon etkinliği, Eşitlik 7 kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Enkapsülasyon etkinliği(\%)} = \frac{\text{Pratikte bulunan etkin madde miktarı}}{\text{Teorik etkin madde miktarı}} \times 100$$

Eşitlik 7.

3.3.7. KTİ formülasyonlarının *in vitro* aerosol performans tayini

NGI sistemi kullanılarak, akış özelliklerinden dolayı ideal olarak seçilen F5 KTİ formülasyonunun aerosol performans özellikleri *in vitro* olarak incelendi (Şekil 10-11). Bu amaçla ticari olarak piyasada bulunan 3 farklı inhaler cihazının (C1, C2, C3) F5 formülasyonunun aerosolizasyon özellikleri üzerine etkileri değerlendirildi (Şekil 12-14).

Seçilen 3 farklı inhaler cihazının (C1, C2, C3) akış hızı değerleri, NGI sistemine bağlanan akış ölçer (Flow Meter) cihazı yardımı ile tayin edildi.

İnhaler cihazların F5 formülasyonunun aerosolizasyon özellikleri üzerine etkilerini değerlendirmek için, tek dozluk KTİ formülasyonu içeren 3 nolu kapsül (hidroksipropil metilselüloz bazlı kapsül) inhaler cihazlarına yerleştirildi (Şekil 12-14). Her bir inhaler cihazı, kendine özgü özel olarak COPLEY tarafından imal edilen ağızlık yardımı ile NGI sistemine takıldı. Çalışma oda şartlarında gerçekleştirildi. Tozlar 100 l/dk standart akış hızı ile dağıtılarak çalışıldı. Her denemede 20 kapsül kullanıldı. Deneme sonunda cihaz açılıp, silikonlanmış bölümler (stage 1-8) tepsiden çıkartıldı, içine belli miktarlarda distile su eklendi. Ayrıca ağızlık, boğazlık

(induction port), preseparator ve kapsüller üzerine de belli miktarlarda distile su ilave edildi. Kaplar, sistemin özel yatay çalkalayıcısında 24 saat 40 rpm’de çalkalandı (Şekil 15) ve çözücünden etken madde (KPL) miktar tayini U-YBSK ile yapıldı. Çalışmalar 3 kez tekrarlandı.

Bulunan miktar tayini sonuçları kullanılarak, ince partikül fraksiyon (Fine particle fraction, FPF), iletilen doz (Emitted dose, ED), solunan doz (Respirable fraction, RF) ve geometrik standart sapma (Geometric standart deviation, GSD), kütle ortalama aerodinamik çap (Mass mean aerodynamic diameter, MMAD) değerleri, Avrupa Farmakopesi 6.0’da Bölüm 2.9.18 ve geometrik standart sapma (GSD) ise Amerikan Farmakopesi 33 Bölüm 601’deki (USP33-NF28 2010) açıklamalara göre hesaplandı.



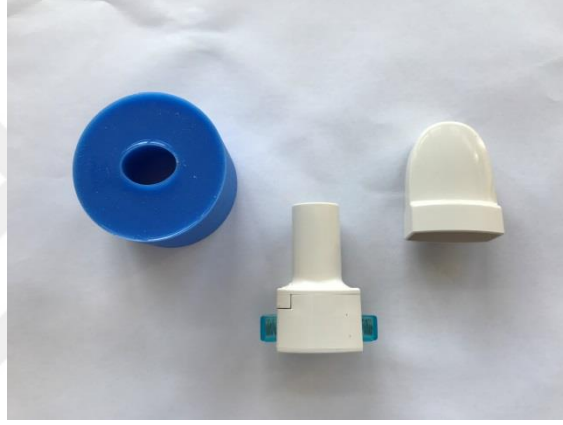
Şekil 10. NGI sistemi.



Şekil 11. NGI sistem bölümlerinin açık görüntüsü.



Şekil 12. Çalışmada kullanılan C1 görüntüsü.



Şekil 13. Çalışmada kullanılan C2 görüntüsü.



Şekil 14. Çalışmada kullanılan C3 görüntüsü.



Şekil 15. Yatay çalkalayıcı.

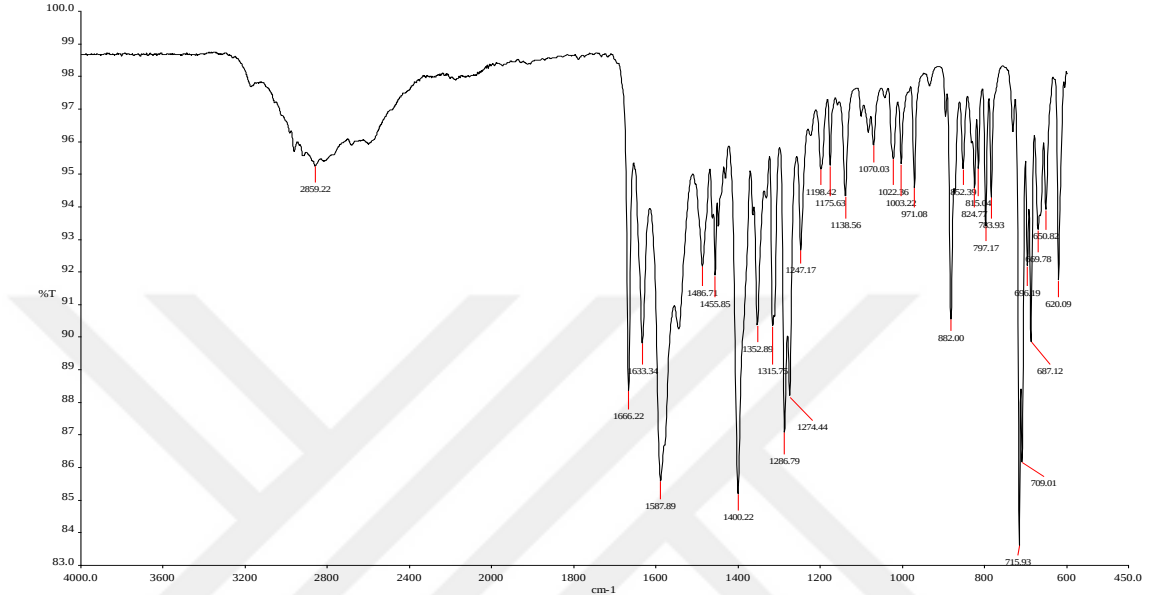
3.3.8. Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi

Tüm sonuçlar “ortalama” ve “ortalama $\pm$ standart sapma” olarak verildi.

4 BULGULAR

4.1. Ketoprofen Lizinatın Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi Bulguları

4.1.1. FTIR spektrum bulguları

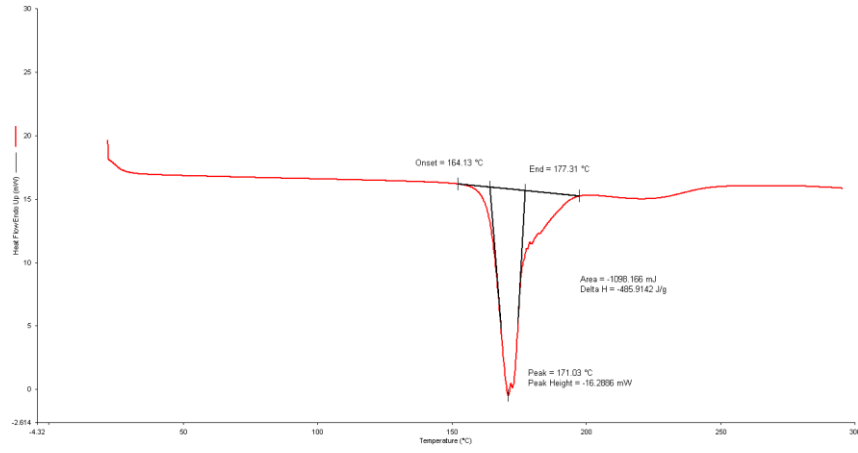


Şekil 16. KPL'nin FTIR spekturumu.

Şekil 16'daki KPL'nin FTIR spektrumunda 2859, 1666, 1588, 1400, 1287, 1274, 882, 715, 709 cm⁻¹ absorpsiyon bantları görülmektedir. Bulunan değerler literatür ile uyumludur (Elmaskaya et al., 2019).

4.1.2. DSC analiz bulguları

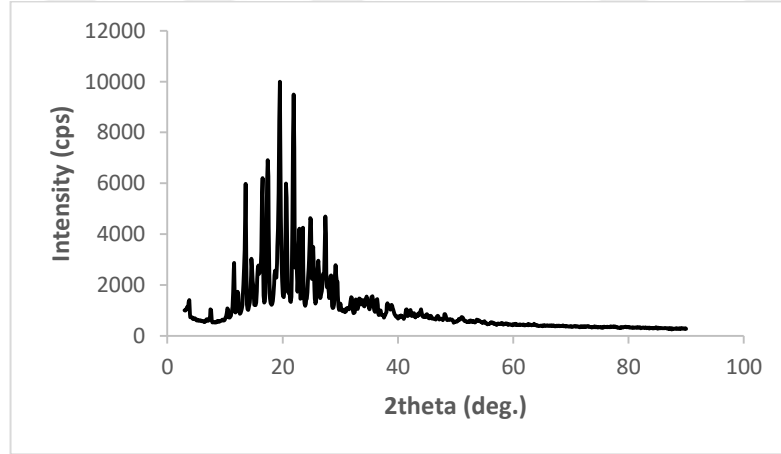
KPL'nin DSC analizinde 171.03 °C'de endotermik pik görüldü. Görülen pik etkin madde KPL'nin erime derecesine ait olup, bulunan değer literatür ile uyumludur (Cerciello et al., 2016). KPL'nin DSC analizi sonucu elde edilen termogram Şekil 17'de sunulmuştur.



Şekil 17. KPL'in DSC termogramı.

4.1.3. XRD analiz bulguları

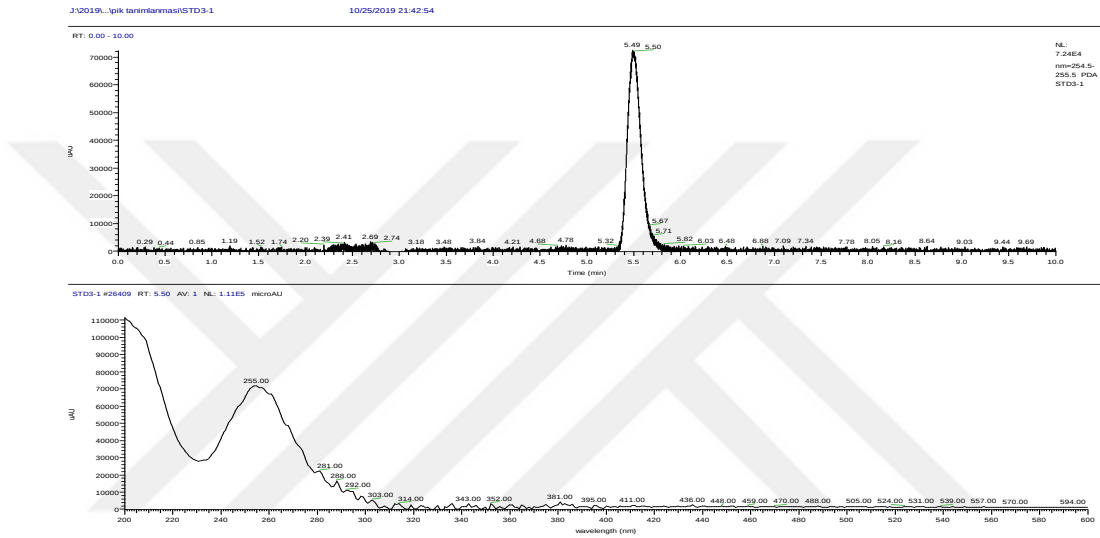
KPL'nin XRD sonucu elde edilen spektrum Şekil 18'de görülmektedir. Elde edilen spektrum literatür ile uyumlu bulunmuş etkin maddenin saf olduğu görülmüştür (Öztürk et al., 2019).



Şekil 18. KPL'nin XRD spektrumu.

4.1.4. Ketoprofen Lizinatın standart doğrusu çizilmesi bulguları

Mobil faz olarak asetonitril:su (55:45; h/h) karışımı, 1 ml/dakika akış hızında kullanıldı ve her analiz öncesinde taze hazırlanarak degaze edildi. Kolon sıcaklığı 25°C ve enjeksiyon hacmi 10 µl olarak ayarlandı. Örnekler analiz boyunca 25°C’de bekletildi. Analizler 200-600 nm dalga boyu aralığında yapıldı. Dedektör KPL en yüksek absorbans gösterdiği dalga boyu olan 255 nm ve analiz süresi 10 dakika olarak belirlendi. Elde edilen pik görüntüsü Şekil 19’de verilmiştir.



Şekil 19. KPL’ın HPLC sisteminde elde edilen pik görüntüsü.

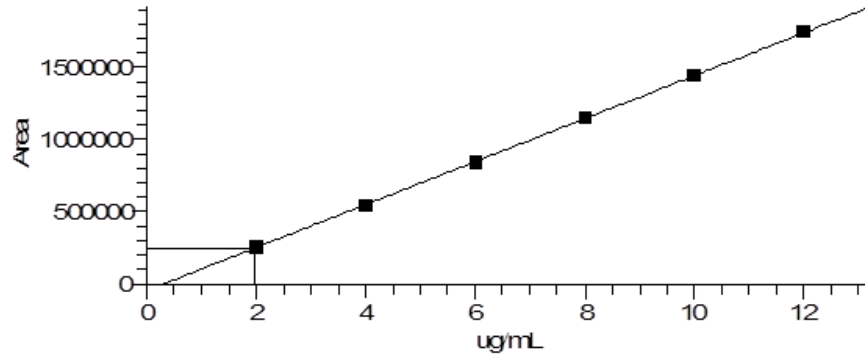
2, 4, 6, 8, 10 ve 12 µg/ml KPL konsantrasyonlarına karşılık gelen EAA kullanılarak, standart doğrusu çizildi ve regresyon analizi ile doğru denklemi hesaplandı (Şekil 20).

Korelasyon katsayısı $r^2=0.9996$ olarak bulunmuştur.

$$y = 148514 x + 39848.6$$

y = EAA değeri

x = konsantrasyon (µg/ml)



Şekil 20. KPL'nin mobil faz içerisinde standart doğrusu.

4.1.5. AYV bulguları

KPL miktar tayininde kullanılan yöntem güvenilirliği için validasyon çalışmasına ait bulgular aşağıda gösterilmiştir.

4.1.5.1. Doğrusallık

U-YBSK yöntemi ile elde edilen bilinen konsantrasyonlara karşılık gelen EAA değerleri Tablo 5'de verilmiştir. KPL için standart doğru denklemi $y = 148514x + 39848.6$ ve korelasyon katsayısı (r^2) 0.9996 olarak bulunmuştur.

Tablo 5. Doğrusallık parametresinin sonuçlarına ait değerler.

Standart Konsantrasyon Seviyesi µg/ml		EAA değeri	Ortalama±S.D.
STD1-1	2 µg/ml	253815	253552.333±1750.840
STD1-2		251685	
STD1-3		255157	
STD2-1	4 µg/ml	543251	545550.333±2396.822
STD2-2		545366	
STD2-3		548034	
STD3-1	6 µg/mL	840589	842060±2856.322
STD3-2		840239	
STD3-3		845352	
STD4-1	8 µg/ml	1147092	1148536.333±1717.186
STD4-2		1148082	
STD4-3		1150435	
STD5-1	10 µg/ml	1448293	1445322±2715.909
STD5-2		1442967	
STD5-3		1444706	
STD6-1	12 µg/ml	1745976	1750183±3649.048
STD6-2		1752490	
STD6-3		1752083	

Uygulama Aralığı:

Hesaplanan EAA değerleri için kabul kriteri $\%RSD \leq \% 2.0$ değerine uygun bulunmuş olup, sonuçlar Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6. Uygulama aralığı parametresinin sonuçlarına ait değerler.

Enjeksiyon sayısı	Standart Çözelti	
	Alt Seviye EAA (STD1; 2 µg/ml)	Üst Seviye EAA (STD6; 12 µg/ml)
1	253815	1745976
2	251685	1752490
3	255157	1752083
Ortalama	253552.333	1750183
S.D.	1750.840	3649.048
%RSD	0.7	0.2

4.1.5.2. Doğruluk

Tablo 7’de doğruluk çalışmasına ait sonuçlar verilmiştir. %RSD değerinin ≤ 3.0 olması, kabul kriteri olarak belirlendi.

Kabul kriteri olarak belirlenen $\%RSD \leq 3.0$ değerine uygun bulunmuştur.

Tablo 7. Doğruluk parametresinin sonuçlarına ait değerler.

Test konsantrasyonu	Teorik konsantrasyon (µg/ml)	Deneysel konsantrasyon (µg/ml)	Geri kazanım (%)
STD2-1	4 µg/ml	4.04	101.02
STD2-2		4.04	100.99
STD2-3		4.01	100.37
Ortalama			100.79
SD			0.36
%RSD			0.36
STD3-1	6 µg/ml	5.95	99.32
STD3-2		5.94	99.07
STD3-3		5.97	99.53
Ortalama			99.31
SD			0.234
%RSD			0.235
STD4-1	8 µg/ml	8.00	100.02
STD4-2		7.98	99.83
STD4-3		8.01	100.12
Ortalama			99.99
SD			0.15
%RSD			0.15

4.1.5.3. Kesinlik

Kesinlik parametresi için tekrarlanabilirlik ve laboratuvar içi kesinlik çalışmalarına ait elde edilen sonuçlar Tablo 8-9 da verilmiştir.

EAA değerleri, konsantrasyon, aritmetik ortalama (x_{ort}), standart sapma (SS) ve regresyon katsayısı (RSD) Tablo 8’de verilmiştir. Hesaplanan %RSD değerleri %2’den küçük olması yöntemin kesinliğini göstermektedir.

Tablo 8. KPL tekrarlanabilirlik analiz sonuçları.

Enjeksiyon Sayısı	Standart Çözeltisi	
	EAA	Pik alıkonma zamanı (RT)
1	850744	5.52
2	850509	5.52
3	851053	5.52
4	844608	5.51
5	851414	5.50
6	856310	5.50
Ortalama	850773	5.5
SD	3721.1	0.0
%RSD	0.4	0.2

Tablo 9. KPL laboratuvar içi kesinlik analiz sonuçları.

0. gün	Test çözeltisi	
Enjeksiyon Sayısı	Derişim	%
Paralel 1	7.999	99.982
Paralel 2	8.000	99.998
Paralel 3	8.022	100.276
Ortalama	8.0	100.1
SD	0.0	0.2
%RSD	0.2	0.2
1. gün	Test Çözeltisi	
Enjeksiyon Sayısı	Derişim	%
Paralel 1	8.003	100.032
Paralel 2	8.007	100.083
Paralel 3	8.018	100.231
Ortalama	8.0	100.1
SD	0.0	0.1
%RSD	0.1	0.1
2. gün	Test Çözeltisi	
Enjeksiyon Sayısı	Derişim	%
Paralel 1	8.009	100.119
Paralel 2	8.026	100.319

Paralel 3	8.030	100.374
Ortalama	8.0	100.3
SD	0.0	0.1
%RSD	0.1	0.1

4.1.5.4. Özgünlük ve seçicilik

Pik tanımlanması, kör ve plasebo etkisine ait sonuçlar Tablo 10’da verilmiştir.

Tablo 10. Pik tanımlanması, kör ve plasebo etkisine ait sonuçlar.

Örnek	Pik çıkış zamanı (RT)
Kör	-
Plasebo	-
Standart	5.50

4.1.5.5. Saptama derişimi

Eşitlik 2 kullanılarak LOD değeri hesaplandı (ICH 2005). LOD değeri 0.056 µg/ml olarak bulundu.

4.1.5.6. Duyarlık veya analiz sınırı

Eşitlik 3 kullanılarak LOQ değeri hesaplandı (ICH 2005). LOQ değeri 0.113 µg/ml olarak bulundu.

4.1.5.7. Sağlamlık

Yöntemin sağlamlığı, orijinal ile değışiklik yapılan yöntem sonuçları arasındaki farkın $\leq$ % 3.0 olması kabul kriteri olarak belirlendi. Sonuçlar Tablo 11’de verildi.

Tablo 11. Sağlamlık analiz sonuçları.

KSD	Standart çözeltisi			
Enjeksiyon Sayısı	Alan	Pik Alıkonma Zamanı (RT)	Deneyisel Konsantrasyon (µg/ml)	%
1	553679	5.50	3.996	99.911
2	555606	5.48	4.009	100.236
3	554181	5.53	4.000	99.996
Ortalama	554488.5	5.5	4.0	100.0
SD	1000.0	0.0	0.0	0.2
%RSD	0.18	0.40	0.17	0.2
KSD1	Standart Çözeltisi			
Enjeksiyon Sayısı	Alan	Pik Alıkonma Zamanı (RT)	Deneyisel Konsantrasyon (µg/ml)	%
STD8-1	555077	5.72	4.006	100.146
STD8-2	551461	5.72	3.982	99.538
STD8-3	549058	5.73	3.965	99.133
Ortalama	551865.2	5.7	4.0	99.6
SD	3029.7	0.0	0.0	0.5
%RSD	0.5	0.0	0.5	0.5
KSD2	Standart Çözeltisi			
Enjeksiyon Sayısı	Alan	Pik Alıkonma Zamanı (RT)	Deneyisel Konsantrasyon (µg/ml)	%
1	552304	5.33	3.987	99.680
2	551448	5.33	3.981	99.536
3	555942	5.33	4.012	100.292
Ortalama	553231.4	5.3	4.0	99.8
SD	2386.4	0.0	0.0	0.4
%RSD	0.4	0.0	0.4	0.4

KSD-KSD1 Sonuç Değerlendirme		
Standart çözeltisi	% Fark	Alanlar arası % RSD
Ketoprofen lizinat	0.44	-0.37
KSD-KSD2 Sonuç Değerlendirme		
Standart çözeltisi	% Fark	Alanlar arası % RSD
Ketoprofen lizinat	0.21	-0.25

4.2. Çözünürlük Çalışması Bulguları

KPL'in çözünürlük çalışması distile su ve pH 7.4 PBS içinde 20°C'de yapıldı. Yapılan çalışmada, çözünürlük oranı her iki çalışmada da 1'den düşük bulunmuştur. Bu durum KPL'in çok çözünür olduğunu göstermektedir. 1 kısım katı maddenin çözüneceği sıvı miktarı, 1 kısımdan az ise, çok çözünür olarak değerlendirilir (USP33-NF28 2010). Bulunan sonuç literatür ile uyumludur (Öztürk et al., 2019).

4.3. KTİ Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışma Bulguları

Yöntem ve Deneyler 3.3 de anlatıldığı şekilde hazırlanan KTİ formülasyonlarına ait % verim sonuçları Tablo 12'de verilmiştir.

Tablo 12. Hazırlanan KTİ formülasyonlarına ait % verim sonuçları.

Formülasyon kodu	% verim±SD
BF1	91.15±3.81
BF2	56.71±2.98
F1	88.01±4.47
F2	77.27±4.36
F3	85.98±3.19
F4	73.09±2.63
F5	89.63±2.44
F6	74.05±4.36

4.3.1. Partikül büyüklüğü - dağılımı bulguları

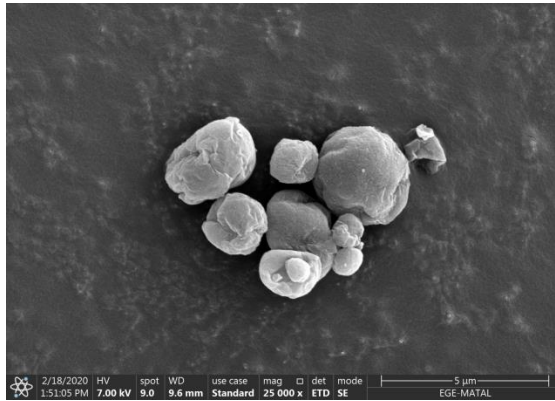
FPF sonuçlarından ideal olan KTİ formülasyonlarının partikül büyüklüğü-dağılımı sonuçları Tablo 13’de verilmiştir.

Tablo 13. KTİ formülasyonlarının partikül büyüklüğü sonuçları.

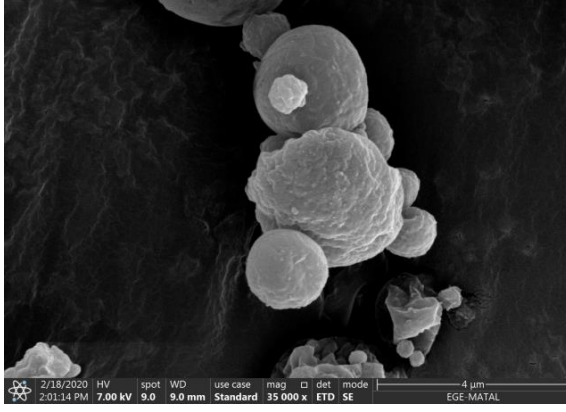
Formülasyon kodu	$d_{50} \pm SD$ (μm)
BF1	3.18 ± 0.75
BF2	3.87 ± 0.44
F1	3.76 ± 0.76
F2	4.20 ± 0.88
F3	3.93 ± 1.25
F4	3.73 ± 1.11
F5	3.91 ± 1.32
F6	4.25 ± 1.11

4.3.2. Partikül morfolojisi bulguları

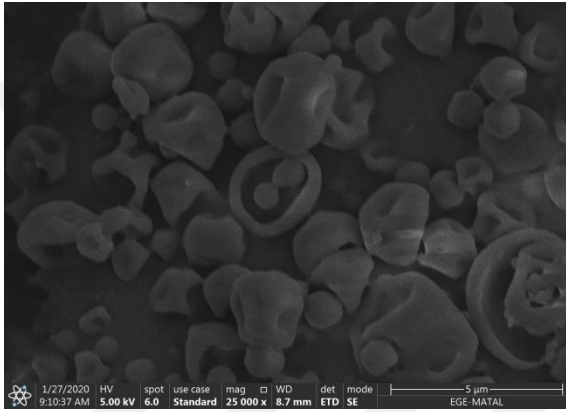
KTİ formülasyonlarının SEM görüntüleri Şekil 21-28’de verilmiştir.



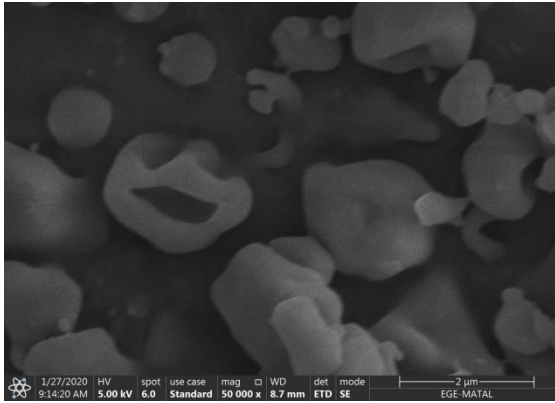
Şekil 21. BF1 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x25.000).



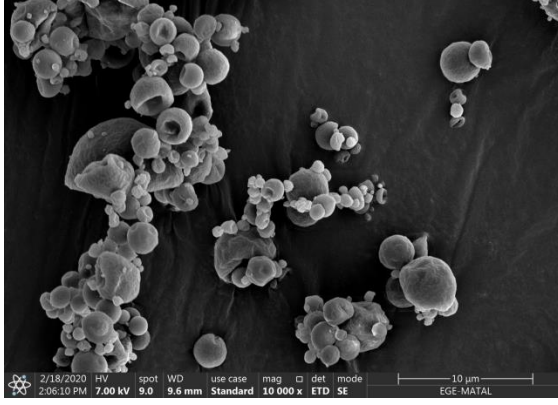
Şekil 22. BF2 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x35.000).



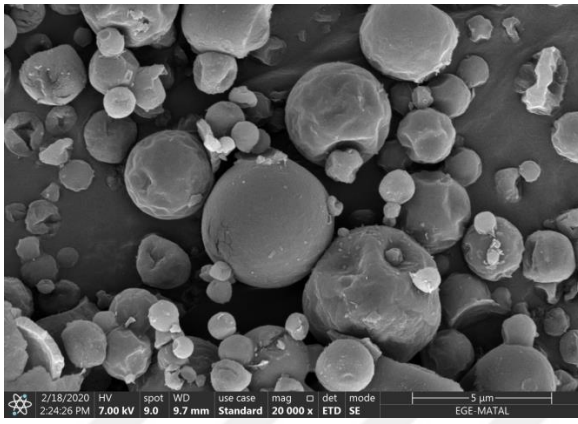
Şekil 23. F1 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x25.000).



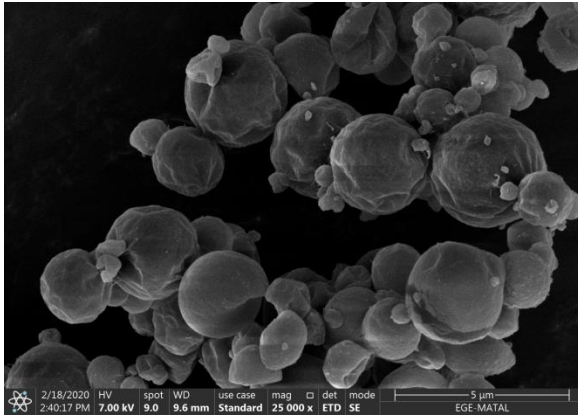
Şekil 24. F2 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x50.000).



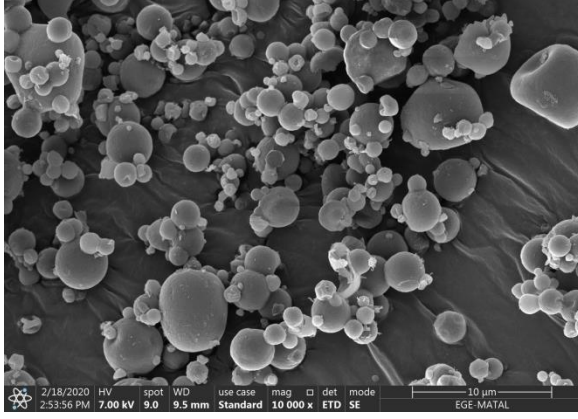
Şekil 25. F3 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x10.000).



Şekil 26. F4 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x20.000).



Şekil 27. F5 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x25.000)



Şekil 28. F6 formülasyonuna ait SEM görüntüsü (x10.000).

4.3.3. Tozların akış özellikleri bulguları

Sonuçlar Tablo 14’de verilmiş, Carr sıkışabilirlik indeksin %25’den ve Hausner oranının 1.25’den küçük olduğundan toz akışı iyi akış göstermektedir (Kaialy vd. 2010).

Tablo 14. KTİ akış özellikleri.

Formülasyon kodu	“Carr indeks±SD” (%)	“Hausner oranı±SD”
F1	21.26±0.30	1.27±0.01
F2	30.26±0.46	1.43±0.01
F3	26.13±0.80	1.35±0.01
F4	36.66±0.57	1.57±0.01
F5	19.20±0.72	1.23±0.01
F6	28.33±0.57	1.39±0.01

4.3.4. % Ağırlık kaybı tayin bulguları

Hazırlanan KTİ formülasyonlarının % ağırlık kaybı tayini sonuçları Tablo 15’de verilmiştir.

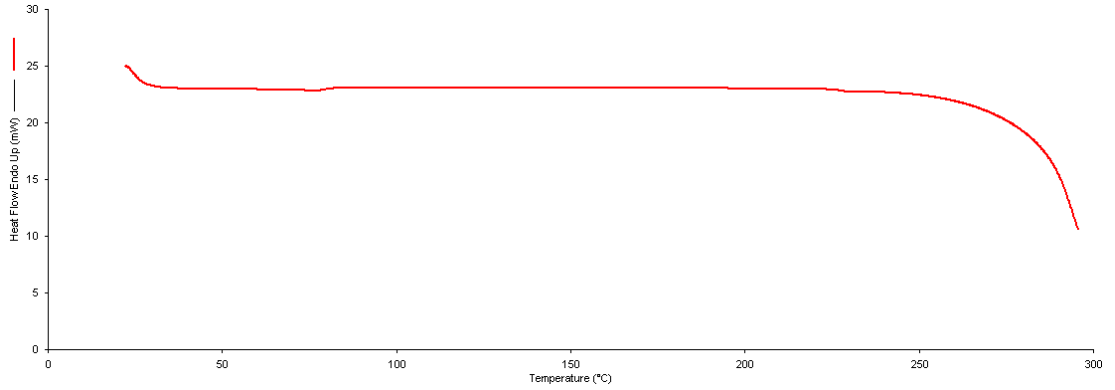
Tablo 15. KTİ formülasyonlarının % ağırlık kaybı tayin sonuçları.

Formülasyon kodu	Ağırlık kaybı±SD (%)
F1	4.37±0.33
F2	3.18±0.21
F3	4.62±0.38
F4	3.74±0.47
F5	3.45±0.54
F6	2.98±0.18

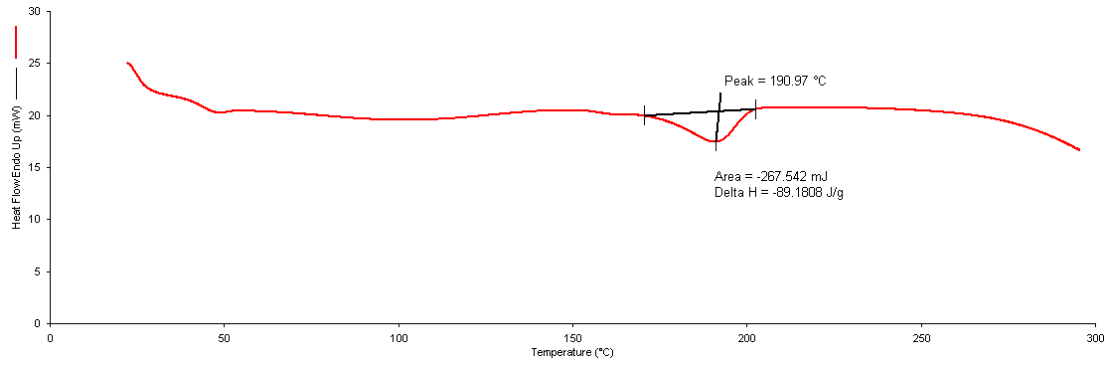
4.3.5. Katı durum karakterizasyonu tayin bulguları

4.3.5.1. DSC analiz bulguları

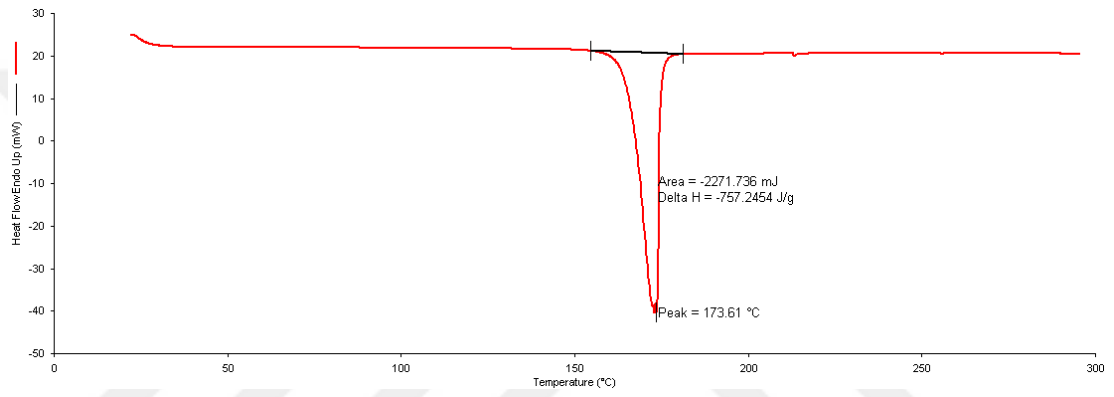
İdeal olarak seçilen F5 KTİ formülasyonun ve bileşenlerinin DSC sonucundaki termogramlar Şekil 29-32’de görülmektedir. Mannitol 173.61°C’de erime piki göstermiştir. Lösin, PVA termogramlarında ise pikler mevcut değildir. Literatür ile uyum oldukları görülmüştür.



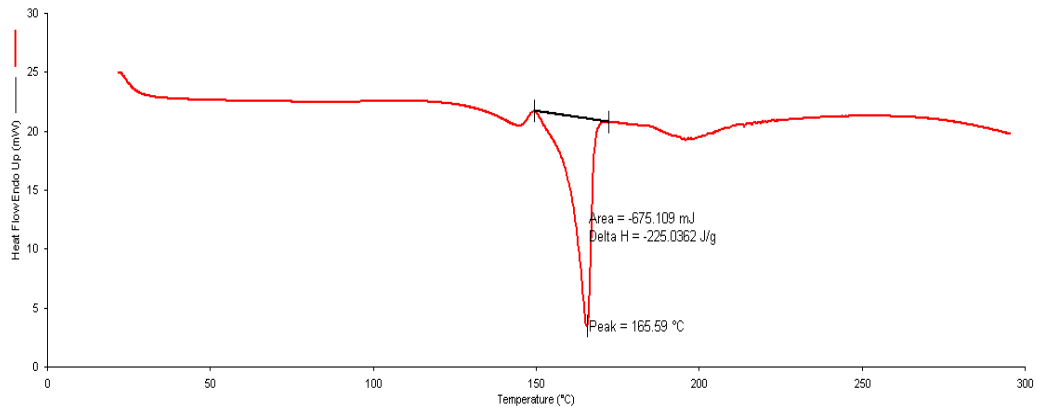
Şekil 29. Lösin DSC termogramı.



Şekil 30. PVA DSC termogramı.



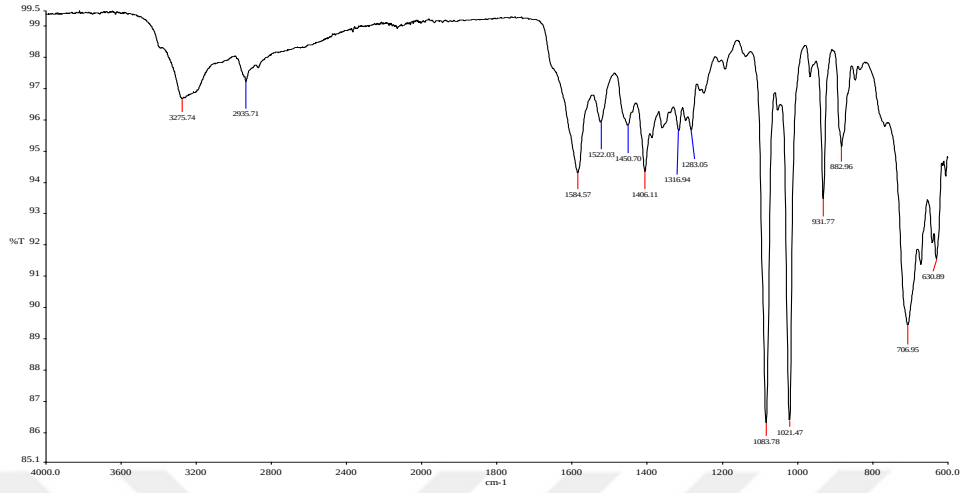
Şekil 31. Mannitol DSC termogramı.



Şekil 32. F5 formülasyonu DSC termogramı.

4.3.5.2. FTIR analiz bulguları

İdeal F5 KTİ formülasyonunun FTIR spektrumu Şekil 33’de verilmiştir.

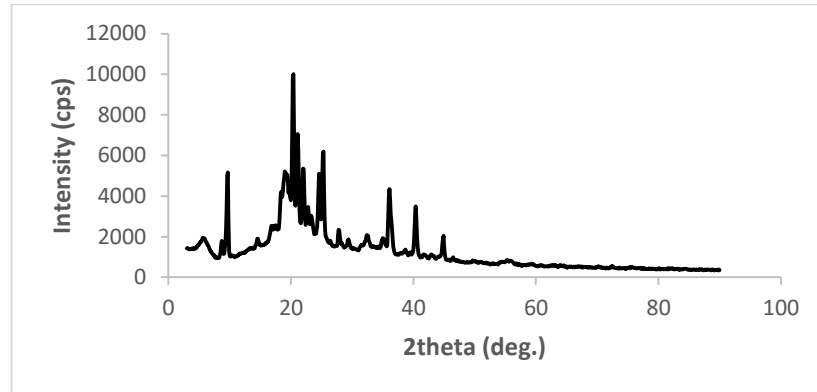


Şekil 33. F5 formülasyonu FTIR spektrumu.

F5 formülasyonunun FTIR spektrumunda 3275, 2936, 1584, 1406, 1084, 1021, 932, 883, 707 cm⁻¹ absorpsiyon bantları görülmektedir (Şekil 33).

4.3.5.3. XRD analiz bulguları

İdeal F5 KTİ formülasyonunun XRD analiz spektrumu Şekil 34’te görülmektedir.



Şekil 34. F5 formülasyonu XRD spektrumu

4.3.6. EE tayin bulguları

Hazırlanan KTİ formülasyonlarının % enkapsülasyon etkinliği sonuçları Tablo 16’da verilmiştir.

Tablo 16. KTİ formülasyonlarının % EE sonuçları.

Formülasyon kodu	% EE±SD
F1	94.33±4.90
F2	91.98±4.78
F3	92.86±4.76
F4	95.80±4.44
F5	98.39±5.86
F6	95.37±4.11

4.3.7. KTİ formülasyonlarının *in vitro* aerosol performans tayin bulguları

Hazırlanan KTİ formülasyonlardan akış özellikleri sonuçlarına göre F5 ideal formülasyon olarak seçildi. Daha sonra F5 formülasyonu kullanılarak, 3 farklı inhaler cihazının aerosol performans özellikleri incelendi. Bu amaçla NGI sistemi kullanıldı.

In vitro aerosol performans testlerine başlamadan önce, C1, C2 ve C3 inhaler cihazlarının akış hızı değerleri tayin edildi. Bulunan değerleri Tablo 17’de sunuldu.

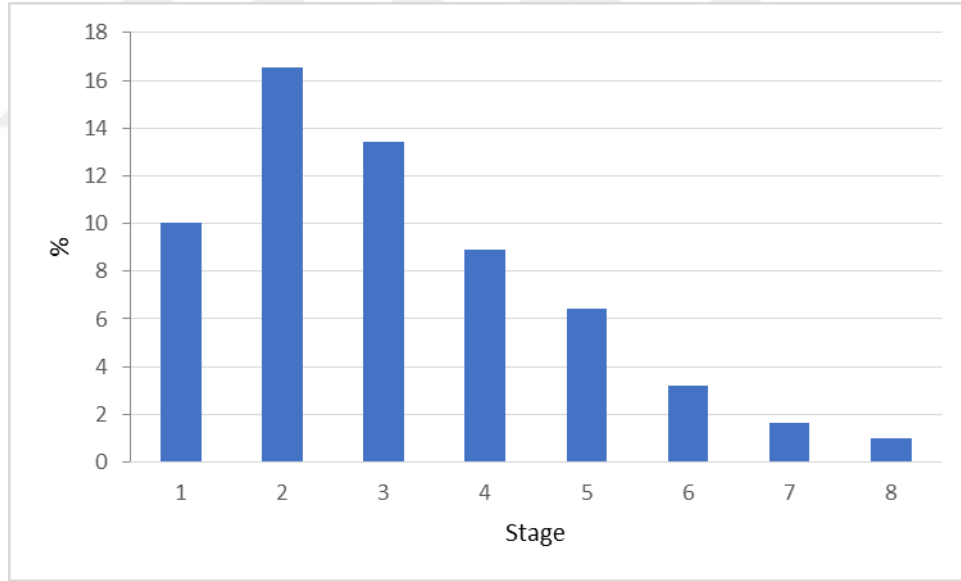
Tablo 17. Kullanılan inhaler cihazların direnç değerleri.

Cihaz kodu	Akış hızı değeri	Direnç sınıfı
C1	104.70 lt/dk	Düşük dirençli
C2	72.50 lt/dk	Orta dirençli
C3	50.14 lt/dk	Yüksek dirençli

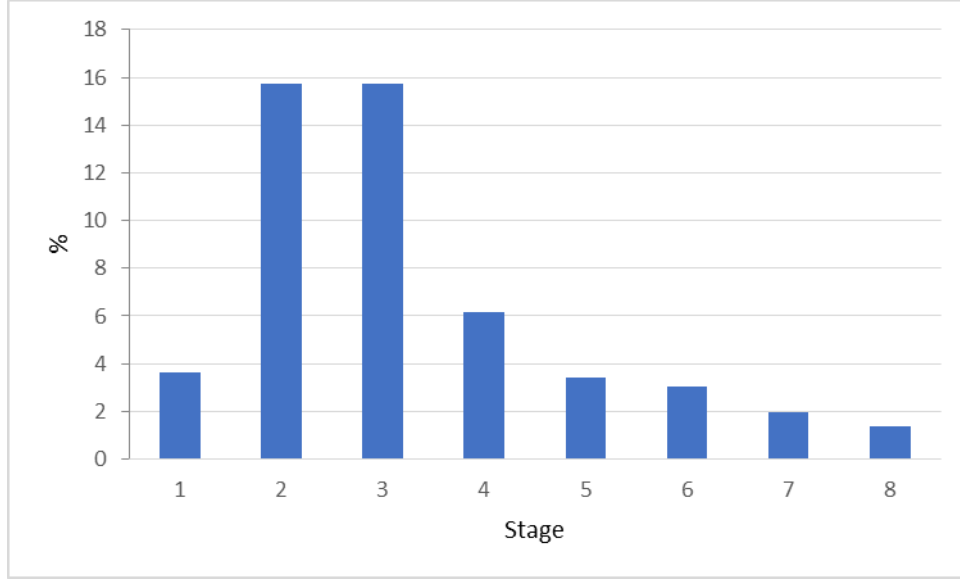
NGİ sistemi ile F5 KTİ formülasyonunda yapılan *in vitro* performans testlerinde, ince partikül fraksiyon (Fine particle fraction, FPF), iletilen doz (Emitted dose, ED), solunan doz (Respirable fraction, RF), geometric standart sapma (Geometric standart deviation, GSD) ve kütle ortalama aerodinamik çap (Mass mean aerodynamic diameter, MMAD) değerleri hesaplandı. Tablo 18’de, NGI her bir bölümlerindeki (stage 1-8) partikül % dağılım grafikleri Şekil 35-37’de verildi.

Tablo 18. F5 KTİ formülasyonunun farklı inhaler cihazlar ile uygulanması sonucu bulunan değerler.

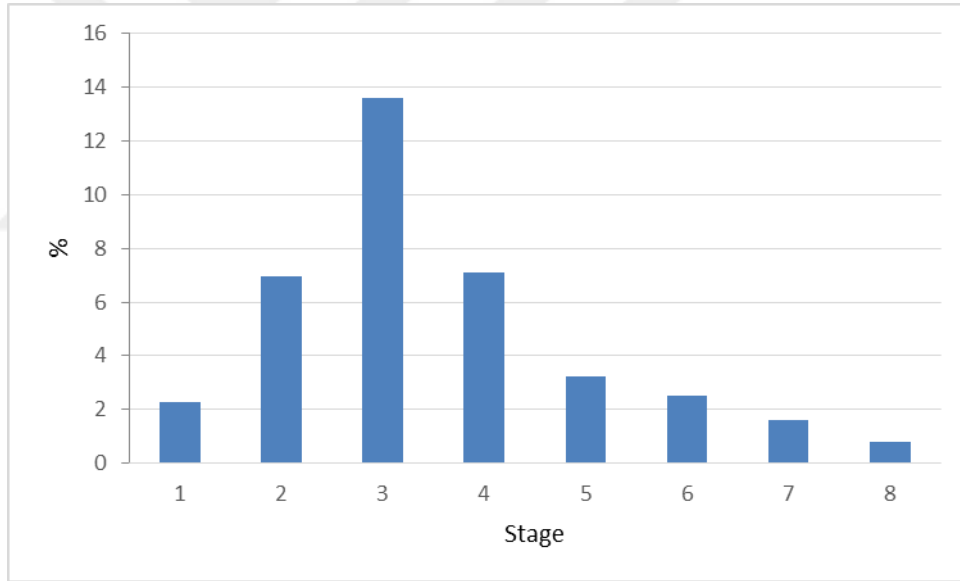
İnhaler cihaz kodu	FPF (%)	ED (%)	RF (%)	MMAD (µm)	GSD
C1	50.05	98.55	81.91	3.21	1.99
C2	46.02	98.30	90.20	3.12	2.20
C3	35.02	98.20	91.98	2.76	2.06



Şekil 35. F5 formülasyonunun C1 inhaler cihazı ile uygulandığında NGI bölümlerindeki partikül % dağılım grafiği.



Şekil 36. F5 formülasyonunun C2 inhale cihazı ile uygulandığında NGI bölümlerindeki partikül % dağılım grafiği.



Şekil 37. F5 formülasyonunun C3 inhale cihazı ile uygulandığında NGI bölümlerindeki partikül % dağılım grafiği.

5 TARTIŞMA

Bu çalışmada model etkin madde olarak KPL kullanılarak kuru toz inhaler (KTİ) formülasyonlarının geliştirilmesi; geliştirilen formülasyonların fizikokimyasal özelliklerinin incelenmesi, karakterizasyon çalışmalarının yapılması ve formülasyonların farklı kuru toz inhaler cihazları kullanılarak aerolizasyon performanslarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla ilk olarak KPL'nin fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir.

KPL'nin FT-IR spektrumu için, 600-4000 cm^{-1} dalga boylarında (Perkin Elmer, Spectrum 100 cihazı (ATR: miracle ATR, PIKE TECHNOLOGIES; Software: Spectrum Version 6.3.5.0176; Resolution: 4 cm^{-1} ; Scan number: 4) çalışıldı ve spektrum alındı. FT-IR spektrumunda görülen karakteristik pikler, maddenin saf olduğunu göstermiştir (Şekil 16).

KPL'nin DSC termogramı, diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) (Shimadzu-60) cihazında 25°C'den 300°C'ye ısıtılarak alınmıştır. Çalışmada sıcaklık artış hızı 10°C/dakika ve azot gazının akış hızı 100 ml/dakika ayarlandı. DSC analiz sonucunda görülen endotermik pik KPL'nin erime derecesine ait olup maddenin saf olduğunu göstermiştir (Şekil 17).

KPL'nin XRD spektrumu Rigaku Ultima IV X-Ray Diffraktometre cihazı, 40 kV voltaj, 36 mA akım şiddeti ve 0.02 deg ilerleme hızında gerçekleştirildi. Elde edilen spektrum literatür ile uyumlu bulunmuş etkin maddenin saf olduğu görülmüştür (Şekil 18).

KPL pikinin en iyi şekilde asetonitril:su (55:45; h/h) karışımı mobil faz oranında ayrılabilceği saptandıktan sonra U-YBSK (Thermo Scientific Accela model; UV dedektörü 255 nm dalga boyunda; ODS-Hypersil 250 x 4.6 mm) sistemi ile miktar tayininde kullanılmak üzere mobil faz içerisinde stok çözeltisi hazırlandı, gerekli seyreltmeler yapıldı (USP33-NF28 2010). 255 nm dalga boyunda, UV dedektör kullanılarak okunan EAA ile konsantrasyon arasında doğrusal bağlantı elde edildi ve miktar tayininde kullanılmak üzere standart doğru denklemi " $y = 148514 x + 39848.6$ " olarak bulundu (Şekil 20).

U-YBSK ile yapılan miktar tayini yönteminin geçerliliğinin kanıtlanması için ICH kriterleri esas alınarak AYV çalışmalarında, doğrusallık, doğruluk, kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar edilebilirlik), özgünlük, saptama derişimi, duyarlık veya analiz sınırı ve sağlamlık/tutarlılık parametreleri incelendi (Guy, 2014).

Doğrusallık çalışmalarında, konstrasyon-EAA ilişkisinin doğrusal olduğu görüldü. Bu doğrusallığın göstergesi kabul edilen r^2 0.9996 olarak bulundu.

Doğruluk tayininde, her konsantrasyon için % geri kazanım %99-%101 aralığında olması ve %RSD değerinin $\leq$ % 3.0 olması yöntemin doğruluğunu kanıtladı.

Keskinlik tayininde, etkin maddenin standart doğru çiziminde kullanılan çözeltiden belirli konsantrasyonlarda alınarak tekrar edilebilirlik ve ara keskinlik parametreleri uygulandı. Varyasyon katsayıları %2'nin altında bulunarak yöntemin keskinliği kanıtlandı.

Özgünlük ve seçicilik tayininde sadece standartın 5.5'te pik vermesi, kör ve plasebonun vermemesi yöntemin özgünlük ve seçiciliğini kanıtlamıştır.

Saptama derişimi değeri 0.056 $\mu\text{g/ml}$, duyarlık veya analiz sınırı değeri 0.113 $\mu\text{g/ml}$ olarak bulundu.

Geliştirilen yöntemin sağlamlığını kanıtlamak amacıyla, kolon sıcaklığı değiştirilerek (20°C, 25°C ve 30°C) ölçümler yapıldı. Original yöntem ile değişiklik yapılan yöntem sonuçları arasındaki fark $\leq$ %3 bulundu.

Çözünürlük çalışmasında KPL'in çözünürlük çalışması distile su ve pH 7.4 PBS içinde 20°C'de yapıldı. Bulunan sonuçlar maddenin her iki ortamda iyi çözündüğünü göstermiştir (USP33-NF28 2010).

Pulmoner yolla uygulanan ilacın etkinliği solunum yollarında depolanan ilaç miktarı ile orantılıdır. 2-5 μm arasındaki büyüklüğe sahip partiküller terapötik uygulama bölgesi olarak adlandırılan intratorasik bölgeye ulaşırlar. 2 μm 'den küçük büyüklüğe sahip olanlar alveollere ulaşır ve buradan emilirler. 7-10 μm arasındakiler üst hava yollarında birikirken 10 μm 'den büyük olanlar ağızda birikirler. (Lavorini et al., 2017). Hazırlanan partiküllerin istenilen bölgeye ulaşması ve burada etkin maddenin yardımcı maddelerden ayrılıp etki göstermesi gerekmektedir. Bu sebeple KTİ formülasyonlarının hazırlanma prosesleri çok önemlidir.

KTİ formülasyonların hazırlanmasında polimerler yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Hazırlanacak formülasyona uygun polimerin seçilmesi ve özelliklerinin iyi bilinmesi önemlidir.

Tez çalışmamızda kullanılan yardımcı maddelerden biri de lösindir. Aerolizasyon performansını iyileştirmek için dispersiyon arttırıcı olarak kullanılmıştır. Lösün kullanılarak oluşturulan püskürterek kurutulmuş partiküllerin dış yüzeyleri pürüzlü, porlu ve içi boştur. Dansitileri düşüktür ve iyi akış gösterirler. Yapılan araştırmada yüksek oran lösün kullanılan formülasyonlarda ürün veriminin yüksek, partikül

boyutunun istenilen boyutlarda olduğu, iyi akış gösterdiği bulunmuştur (Seville et al., 2007). Hazırladığımız ideal formülasyonda lösin % 22.8 oranında kullanılmıştır.

Tez çalışmamızda kullandığımız diğer bir yardımcı madde PVA'dır. Aerolizasyon performansını iyileştirmek için ve stabilizatör olarak kullanılmıştır. Yapılan araştırmada PVA kullanılarak hazırlanan ve pulmoner yolla verilen formülasyonda PVA'nın ilacın emilimini kontrol ettiği gözlenmiştir (Psimadas et al., 2012).

İlk olarak karakterizasyon çalışmalarına yardımcı olması için etkin madde içermeyen KTİ formülasyonları hazırlanmıştır. Daha sonra etkin madde içeren formülasyonların PVA içeren ve PVA içermeyen KTİ formülasyonları hazırlandı. Bu formülasyonlar ile deneme yapılarak ideal formülasyonun bulunması planlandı.

Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilen son ürünün özellikleri püskürtme başlığının çapı, giriş sıcaklığı, akış hızı gibi birçok değişkene bağlıdır (Rassu et al., 2008). Proje kapsamında kullanılan NBPK'da 5.5 µm meshlik başlık kullanıldı.

Püskürterek kurutma yöntemiyle hazırlanan PVA içermeyen etkin maddeli KTİ formülasyonlarının verimleri %85.98-%89.63 arasında bulunmuştur. PVA yardımcı maddesi ile hazırlanan KTİ formülasyonlarının verimleri %73.09-%77.27 arasında bulunmuş olup PVA varlığında verimin düştüğü gözlenmiştir (Tablo 12).

İlacın akciğerde depolandığı bölge partiküllerin boyutuna bağlıdır. Terapötik yanıt oluşturacak miktarda ilacın pulmoner yolda yayılabilmesi için partiküllerin boyutunun 5 µm'den küçük olması gerekmektedir (Lavorini et al., 2017). Büyüklüğü 5-10 µm arasında olan partiküller bronş ağacının ilk 6 dallanmasında birikim gösterirken 2-5 µm arasında olan partiküller ise son 6 dallanmada birikirler. 1 µm'den küçük olan partiküller alveollerden difüze olurlar. 0.5 µm'den küçük partiküller ise emilmeden uzaklaştırılır (O'Donnell & Smyth, 2011). KTİ formülasyonlarının partikül büyüklükleri "lazer ışık kırınımı prensibi esaslı sistem" kullanılarak ölçülmüştür. Formülasyonların ortalama partikül büyüklüğü 5 µm'den küçük bulunmuştur (Tablo 13).

Partikül boyutu verilerinin doğrulanması ve morfolojik veriler elde etmek amacıyla SEM ile görüntülemeler yapılmıştır. SEM aracılığı ile yapılan partikül boyutu ölçümlerinden elde edilen veriler lazer ışık kırınımı prensibi esaslı sistemdeki verilerle uyumlu bulunmuştur (Şekil 21-28). Ayrıca partiküllerin küresel şekilde oldukları saptanmıştır.

Tozların dansitesi azaldıkça püskürtülebilirliği kolaylaşmakta ve böylece akciğerlerde dopalanabilme potansiyeli artmaktadır. Carr sıkışabilirlik indeksi ve

Hausner oranı kullanılarak formülasyonların akış özellikleri incelenmiştir (Kaialy et al., 2010). PVA içermeyen KTİ formülasyonlarının Carr sıkışabilirlik indeksi değerleri 19.20 ± 0.72 - 26.13 ± 0.80 , Hausner oranları 1.23 ± 0.01 - 1.35 ± 0.01 aralığında bulunmuştur. PVA içeren KTİ formülasyonlarının Carr sıkışabilirlik indeksi değerleri 28.33 ± 0.57 - 36.66 ± 0.57 arasında bulunmuştur. Tüm formülasyonların Hausner oranları 1.23 ± 0.01 - 1.57 ± 0.01 aralığında bulunmuştur (Tablo 14). F5, Carr indeks 19.20 ± 0.72 ve Hausner oranı 1.23 ± 0.01 ile en iyi akışı göstermiştir. Formülasyona PVA eklenmesi akışı azaltmıştır. Carr sıkışabilirlik indeksi değerinin %25'den ve Hausner oranının 1.25 değerinden küçük olması tozların iyi akışa sahip olduğunu göstermektedir (Kaialy et al., 2010).

Hazırlanan KTİ formülasyonlarının % ağırlık kaybı tayini çalışması TGA cihazı kullanılarak, 30-300°C arasında, 10°C/dk olacak şekilde termogravimetrik olarak tayin edildi (Román et al., 2012). F5 formülasyonuna ait % ağırlık kaybı 3.45 ± 0.54 bulunmuştur (Tablo 15).

F5 formülasyonuna ait FT-IR spektrumunda görülen kimyasal yapıya ait karakteristik pikler formülasyon içinde bulunan etkin maddenin saf olduğunu göstermiştir (Şekil 33).

F5 için DSC analizinden elde edilen termogram Şekil 32'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar formülasyona giren maddelerin erime derecelerinin değişmediğini göstermektedir.

F5 için XRD analizinden elde edilen spektrumlar Şekil 34'te görülmektedir. Elde edilen sonuçlar formülasyonun amorf yapıya döndüğünü göstermektedir.

F5 formülasyonunun taramalı electron mikroskobu (Thermo Scientific Apreo S, Scanning Electron Microscopy-SEM) ile yapılan görüntülemeleri sonucunda küresel, pürüzlü ve yeryer çökük alanların olduğu gözlenmiştir (Şekil 27). PVA içeren formülasyonların partikül boyutları arasındaki farkın arttığı görülmüştür (Şekil 24, 26, 28).

PVA içermeyen KTİ formülasyonlarına ait % enkapsülasyon etkinliği 92.86 ± 4.76 - 98.39 ± 5.86 değerleri arasındadır. PVA içeren KTİ formülasyonlarına ait % enkapsülasyon etkinliği 91.98 ± 4.78 - 95.37 ± 4.11 arasında bulunmuştur (Tablo 16). Elde edilen bu yüksek değerler seçilen yöntemin uygun ve yeterli bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Tez çalışmasında ideal formülasyon olarak seçilen F5 formülasyonunun C1, C2 ve C3 cihazlarındaki performansları *in vitro* olarak NGI sistemi kullanılarak incelendi (Item, 2005).

F5 formülasyonun C1, C2 ve C3 cihazları kullanılarak elde edilen ince partikül fraksiyon (FPF) değerleri sırasıyla %50.05, %46.02 ve %35.02 olarak bulunmuştur (Tablo 18). Kullanılan cihazların akış hızları arttıkça FPF oranlarının yükseldiği görülmüştür (Tablo 17).

F5 formülasyonun C1, C2 ve C3 cihazları kullanılarak elde edilen Aerodinamik çap (mass median aerodynamic diameter, MMAD) değerleri sırasıyla 3.21 μm , 3.12 μm ve 2.76 μm 'dir (Tablo 18). Elde edilen bu değerler formülasyonun tüm cihazlar ile akciğerin derinliklerine ulaştığı görülmektedir.

6 SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmasından elde edilen sonuç ve öneriler;

- U-YBSK ile Ketoprofen lizinat'ın kantitatif analizi başarıyla gerçekleştirildiği,
- Püskürterek kurutma yöntemiyle elde edilen tozların uygun partikül büyüklüğünde ve inhalasyon için elverişli olduğu,
- Üretim parametreleri değiştirilerek partikül büyüklükleri ve dağılımlarının, partikül morfolojisi ve nem çekme özelliklerinin değişebildiği,
- Polimerin eklenmesiyle %verimin ve enkapsülasyon etkinliğinin azaldığı,
- Polimerin damlacık büyüklüğünü arttırdığı böylelikle partikül boyutunun da arttığı,
- Polimerin yapışmayı arttırdığı ve akışı kötüleştirdiği,
- Farklı direnç ve akış özelliklerine sahip cihazlar kullanıldığında aerosol performans çalışmasında NGI cihazını farklı katmanlarında farklı oranlarda birikim elde edildiği,
- Çalışmada kullanılan 3 farklı inhaler cihazı ile yapılan değerlendirmeler sonucunda, cihazların kuru toz inhaler formülasyonlarının kullanımına uygun olduğu,
- Tedaviye sunulmak üzere hazırlanan kuru toz inhaler formülasyonların akciğerlerin istenilen bölgesine hedeflenmesi için uygun cihaz seçiminin yapılabileceği görülmüştür.

7 KAYNAKLAR

- Abral, H., Atmajaya, A., Mahardika, M., Hafizulhaq, F., Kadriadi, Handayani, D., Sapuan, S. M., & Ilyas, R. A. (2020). Effect of ultrasonication duration of polyvinyl alcohol (PVA) gel on characterizations of PVA film. *Journal of Materials Research and Technology*, 9(2). <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2019.12.078>
- Alhalaweh, A., Andersson, S., & Velaga, S. P. (2009). Preparation of zolmitriptan-chitosan microparticles by spray drying for nasal delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 38(3). <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2009.07.003>
- Amidi, M., Pellikaan, H. C., de Boer, A. H., Crommelin, D. J. A., Hennink, W. E., & Jiskoot, W. (2008). Preparation and physicochemical characterization of supercritically dried insulin-loaded microparticles for pulmonary delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68(2). <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.05.007>
- Ashurst, I., Malton, A., Prime, D., & Sumby, B. (2000). Latest advances in the development of dry powder inhalers. In *Pharmaceutical Science and Technology Today* (Vol. 3, Issue 7). [https://doi.org/10.1016/S1461-5347\(00\)00275-3](https://doi.org/10.1016/S1461-5347(00)00275-3)
- Basavoju, S., Boström, D., & Velaga, S. P. (2008). Indomethacin-saccharin cocrystal: Design, synthesis and preliminary pharmaceutical characterization. *Pharmaceutical Research*, 25(3). <https://doi.org/10.1007/s11095-007-9394-1>
- Bérard, V., Lesniewska, E., Andrès, C., Pertuy, D., Laroche, C., & Pourcelot, Y. (2002). Dry powder inhaler: Influence of humidity on topology and adhesion studied by AFM. *International Journal of Pharmaceutics*, 232(1–2). [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(01\)00913-9](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(01)00913-9)
- Black, J. L. (2004). Asthma - More muscle cells or more muscular cells? In *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* (Vol. 169, Issue 9). <https://doi.org/10.1164/rccm.2402024>
- Brannan, J. D., Anderson, S. D., Perry, C. P., Freed-Martens, R., Lassig, A. R., Charlton, B., Hurwitz, M., Furler, J., Sunderland, J., Tourniea, W., Nogrady, S., Young, I., Briffa, P., Kippelen, P., Turton, J., McNamara, S., Peters, M., Rogers, P., Plowman, L., ... Rodwell, L. (2005). The safety and efficacy of inhaled dry powder mannitol as a bronchial provocation test for airway hyperresponsiveness: A phase 3 comparison study with hypertonic (4.5%) saline. *Respiratory Research*, 6. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-6-144>
- Braun, D. E., Maas, S. G., Zencirci, N., Langes, C., Urbanetz, N. A., & Griesser, U. J. (2010). Simultaneous quantitative analysis of ternary mixtures of d-mannitol polymorphs by FT-Raman spectroscopy and multivariate calibration models. *International Journal of Pharmaceutics*, 385(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.10.019>

- Brewster, M. E., & Loftsson, T. (2007). Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 59, Issue 7). <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.05.012>
- Brown, D. S., Borzelleca, J. F., Robinson, B. V., Schwartz, S. L., & Sullivan, F. M. (2013). PVP: A critical review of the kinetics and toxicology of polyvinylpyrrolidone (povidone). In *Journal of Petrology* (Vol. 369, Issue 1).
- Buttini, F., Soltani, A., Colombo, P., Marriott, C., & Jones, S. A. (2008). Multilayer PVA adsorption onto hydrophobic drug substrates to engineer drug-rich microparticles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 33(1). <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2007.09.008>
- Castelli, F., Conti, B., Conte, U., & Puglisi, G. (1996). Effect of molecular weight and storage times on tolmetin release from poly-D,L-lactide microspheres to lipid model membrane. A calorimetric study. *Journal of Controlled Release*, 40(3). [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(95\)00195-6](https://doi.org/10.1016/0168-3659(95)00195-6)
- Cerciello, A., Auriemma, G., Del Gaudio, P., Cantarini, M., & Aquino, R. P. (2016). Natural polysaccharides platforms for oral controlled release of ketoprofen lysine salt. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 42(12). <https://doi.org/10.1080/03639045.2016.1195401>
- Chew, N. Y. K., & Chan, H. K. (1999). Influence of particle size, air flow, and inhaler device on the dispersion of mannitol powders as aerosols. *Pharmaceutical Research*, 16(7). <https://doi.org/10.1023/A:1018952203687>
- Chow, A. H. L., Tong, H. H. Y., Chattopadhyay, P., & Shekunov, B. Y. (2007). Particle engineering for pulmonary drug delivery. In *Pharmaceutical Research* (Vol. 24, Issue 3). <https://doi.org/10.1007/s11095-006-9174-3>
- Chrystyn, H. (2007). The DiskusTM: A review of its position among dry powder inhaler devices. In *International Journal of Clinical Practice* (Vol. 61, Issue 6). <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2007.01382.x>
- Clarke, S. W., & Newman, S. P. (1984). Therapeutic aerosols 2 - Drugs available by the inhaled route. In *Thorax* (Vol. 39, Issue 1). <https://doi.org/10.1136/thx.39.1.1>
- Columbano, A., Buckton, G., & Wikeley, P. (2002). A study of the crystallisation of amorphous salbutamol sulphate using water vapour sorption and near infrared spectroscopy. *International Journal of Pharmaceutics*, 237(1–2). [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(02\)00038-8](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00038-8)
- Dickinson, P. A., Kellaway, I. W., Taylor, G., Mohr, D., Nagels, K., & Wolff, H. M. (1997). In vitro and in vivo release of estradiol from an intra-muscular microsphere formulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 148(1). [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(96\)04823-5](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(96)04823-5)
- Elmaskaya, A., Öztürk, A., Büyükköroğlu, G., & Yenilmez, E. (2019). Spray-dried ketoprofen lysine-incorporated PLGA nanoparticles; Formulation, characterization, evaluation and cytotoxic profile. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81(4). <https://doi.org/10.36468/pharmaceutical->

- Gainotti, A., Bettini, R., Gazzaniga, A., Colombo, P., & Giordano, F. (2004). Drug- β -cyclodextrin containing pellets prepared with a high-shear mixer. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 30(10), 1061–1068. <https://doi.org/10.1081/DDC-200040247>
- Global Initiative for Asthma. (2020). Global Initiative for Asthma: Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2020). *Revue Francaise d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 36(6). [https://doi.org/10.1016/S0335-7457\(96\)80056-6](https://doi.org/10.1016/S0335-7457(96)80056-6)
- Gombás, Á., Szabó-Révész, P., Regdon Jr, G., & Erős, I. (2003). STUDY OF THERMAL BEHAVIOUR OF SUGAR ALCOHOLS. In *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* (Vol. 73).
- Gonda, I. (2000). The ascent of pulmonary drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 89(7). [https://doi.org/10.1002/1520-6017\(200007\)89:7<940::AID-JPS11>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1520-6017(200007)89:7<940::AID-JPS11>3.0.CO;2-B)
- Grisedale, L. C., Jamieson, M. J., Belton, P. S., Barker, S. A., & Craig, D. Q. M. (2011). Characterization and quantification of amorphous material in milled and spray-dried salbutamol sulfate: A comparison of thermal, spectroscopic, and water vapor sorption approaches. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 100(8). <https://doi.org/10.1002/jps.22484>
- Guy, R. C. (2014). International Conference on Harmonisation. *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*, 2(June 1995), 1070–1072. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00861-7>
- Hetzel, M. R., & Clark, T. J. H. (1977). Comparison of salbutamol Rotahaler with conventional pressurized aerosol. *Clinical & Experimental Allergy*, 7(6). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.1977.tb01486.x>
- Heyder, J., Gebhart, J., Rudolf, G., Schiller, C. F., & Stahlhofen, W. (1986). Deposition of particles in the human respiratory tract in the size range 0.005-15 μm . *Journal of Aerosol Science*, 17(5). [https://doi.org/10.1016/0021-8502\(86\)90035-2](https://doi.org/10.1016/0021-8502(86)90035-2)
- Islam, N., & Gladki, E. (2008). Dry powder inhalers (DPIs)-A review of device reliability and innovation. In *International Journal of Pharmaceutics* (Vol. 360, Issues 1–2). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.04.044>
- Item, C. (2005). INHALATION: AERODYNAMIC ASSESSMENT OF FINE PARTICLES Fine particle dose and particle size distribution. *Connect*, i(1), 287–300.
- Kaialy, W., Martin, G. P., Ticehurst, M. D., Momin, M. N., & Nokhodchi, A. (2010). The enhanced aerosol performance of salbutamol from dry powders containing engineered mannitol as excipient. *International Journal of Pharmaceutics*, 392, 178–188. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.03.057>
- Khassawneh, B. Y., Al-Ali, M. K., Alzoubi, K. H., Batarseh, M. Z., Al-Safi, S. A., Sharara, A. M., & Alnasr, H. M. (2008). Handling of inhaler devices in actual

- pulmonary practice: Metered-dose inhaler versus dry powder inhalers. *Respiratory Care*, 53(3), 324–328.
- Köbrich, R., Rudolf, G., & Stahlhofen, W. (1994). A mathematical model of mass deposition in man. *Annals of Occupational Hygiene*, 38(inhaled_particles_VII). https://doi.org/10.1093/annhyg/38.inhaled_particles_VII.15
- Kurt, E., Metintas, S., Basyigit, I., Bulut, I., Coskun, E., Dabak, S., Deveci, F., Fidan, F., Kaynar, H., Uzaslan, E. K., Onbasi, K., Ozkurt, S., Karakis, G. P., Sahan, S., Sahin, U., Oguzulgen, K., Yildiz, F., Mungan, D., Yorgancioglu, A., ... Kalyoncu, A. F. (2009). Prevalence and risk factors of allergies in turkey (PARFAIT): Results of a multicentre cross-sectional study in adults. *European Respiratory Journal*, 33(4), 724–733. <https://doi.org/10.1183/09031936.00082207>
- Lavorini, F. (2013). The Challenge of Delivering Therapeutic Aerosols to Asthma Patients. *ISRN Allergy*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/102418>
- Lavorini, F., Pistolesi, M., & Usmani, O. S. (2017). Recent advances in capsule-based dry powder inhaler technology. *Multidisciplinary Respiratory Medicine*, 12(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s40248-017-0092-5>
- Le Brun, P. P. H., De Boer, A. H., Frijlink, H. W., & Heijerman, H. G. M. (2000). A review of the technical aspects of drug nebulization. In *Pharmacy World and Science* (Vol. 22, Issue 3). <https://doi.org/10.1023/A:1008786600530>
- Li, H. Y., Seville, P. C., Williamson, I. J., & Birchall, J. C. (2005). The use of amino acids to enhance the aerosolisation of spray-dried powders for pulmonary gene therapy. *Journal of Gene Medicine*, 7(3). <https://doi.org/10.1002/jgm.654>
- Lipinski, C. A. (2000). Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 44(1). [https://doi.org/10.1016/S1056-8719\(00\)00107-6](https://doi.org/10.1016/S1056-8719(00)00107-6)
- Lippmann, M. (1990). Effects of fiber characteristics on lung deposition, retention, and disease. *Environmental Health Perspectives*, 88, 311–317. <https://doi.org/10.1289/ehp.9088311>
- Lourenço, R. V., & Cotromanes, E. (1982). Clinical Aerosols: I. Characterization of Aerosols and their Diagnostic Uses. *Archives of Internal Medicine*, 142(12). <https://doi.org/10.1001/archinte.1982.00340250127019>
- Miller, A. L., & Lukacs, N. W. (2004). Chemokine receptors: Understanding their role in asthmatic disease. In *Immunology and Allergy Clinics of North America* (Vol. 24, Issue 4 SPEC. ISS., pp. 667–683). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2004.06.004>
- Newman, S. P., & Busse, W. W. (2002). Evolution of dry powder inhaler design, formulation, and performance. In *Respiratory Medicine* (Vol. 96, Issue 5). <https://doi.org/10.1053/rmed.2001.1276>
- Newman, S. P., & Clarke, S. W. (1983). Therapeutic aerosols 1-Physical and practical considerations. *Thorax*, 38, 881–886. <https://doi.org/10.1136/thx.38.12.881>

- Newman, Stephen P. (2005). Principles of metered-dose inhaler design. *Respiratory Care*, 50(9).
- O'Donnell, K. P., & Smyth, H. D. C. (2011). Macro- and Microstructure of the Airways for Drug Delivery. In *Controlled Pulmonary Drug Delivery*. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9745-6_1
- Öztürk, A., Çinar, N. İ., & Yenilmez, E. (2019). Development of nano-sized ketoprofen lysine incorporated Eudragit® S100 nanomedicine by double emulsion solvent evaporation and in vitro characterization. *Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research*, 7(1), 47–58.
- Paudel, A., Worku, Z. A., Meeus, J., Guns, S., & Van Den Mooter, G. (2013). Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. In *International Journal of Pharmaceutics* (Vol. 453, Issue 1). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.07.015>
- Pilcer, G. (2008). *New Highly Effective Dry Powder Tobramycin Formulations for Inhalation in the Treatment of Cystic Fibrosis*.
- Pilcer, G., & Amighi, K. (2010). Formulation strategy and use of excipients in pulmonary drug delivery. In *International Journal of Pharmaceutics* (Vol. 392, Issues 1–2). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.03.017>
- Possmayer, F., Nag, K., Rodriguez, K., Qanbar, R., & Schürch, S. (2001). Surface activity in vitro: Role of surfactant proteins. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 129(1). [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(01\)00317-8](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(01)00317-8)
- Psimadas, D., Georgoulas, P., Valotassiou, V., & Loudos, G. (2012). Molecular Nanomedicine Towards Cancer : *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 101(7), 2271–2280. <https://doi.org/10.1002/jps>
- Rassu, G., Gavini, E., Spada, G., Giunchedi, P., & Marceddu, S. (2008). Ketoprofen spray-dried microspheres based on eudragit® RS and RL: Study of the manufacturing parameters. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 34(11). <https://doi.org/10.1080/03639040801974303>
- Raula, J., Thielmann, F., Naderi, M., Lehto, V. P., & Kauppinen, E. I. (2010). Investigations on particle surface characteristics vs. dispersion behaviour of l-leucine coated carrier-free inhalable powders. *International Journal of Pharmaceutics*, 385(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.10.036>
- Román, M. S. S., Holgado, M. J., Salinas, B., & Rives, V. (2012). *Drug release from layered double hydroxides and from their polylactic acid (PLA) nanocomposites*. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2012.10.014>
- Scheuch, G., & Stahlhofen, W. (1988). Particle Deposition of Inhaled Aerosol Boluses in the Upper Human Airways. *Journal of Aerosol Medicine: Deposition, Clearance, and Effects in the Lung*, 1(1). <https://doi.org/10.1089/jam.1988.1.29>
- Seville, P. C., Learoyd, T. P., Li, H. Y., Williamson, I. J., & Birchall, J. C. (2007).

- Amino acid-modified spray-dried powders with enhanced aerosolisation properties for pulmonary drug delivery. *Powder Technology*, 178(1), 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2007.03.046>
- Shenoy, D. B., & Sukhorukov, G. B. (2004). Engineered microcrystals for direct surface modification with layer-by-layer technique for optimized dissolution. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 58(3). <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2004.05.008>
- Shiga, H., Joreau, H., Neoh, T. L., Furuta, T., & Yoshii, H. (2014). Encapsulation of alcohol dehydrogenase in mannitol by spray drying. *Pharmaceutics*, 6(1). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics6010185>
- Steckel, H., & Bolzen, N. (2004). Alternative sugars as potential carriers for dry powder inhalations. *International Journal of Pharmaceutics*, 270(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2003.10.039>
- Steckel, H., & Brandes, H. G. (2004). A novel spray-drying technique to produce low density particles for pulmonary delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 278(1). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.03.010>
- Telko, M. J., & Hickey, A. J. (2005). Dry powder inhaler formulation. *Respiratory Care*, 50(9), 1209–1227.
- Traini, D. (2013). Inhalation Drug Delivery. In *Inhalation Drug Delivery: Techniques and Products* (pp. 1–14). <https://doi.org/10.1002/9781118397145.ch1>
- Weibel, E. R. (1965). Morphometry of the Human Lung. *Anesthesiology*, 26(3). <https://doi.org/10.1097/00000542-196505000-00023>
- Wenzel, S. (2003). Mechanisms of severe asthma. In *Clinical and Experimental Allergy* (Vol. 33, Issue 12). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2003.01799.x>
- Wise, D. L. (2000). Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology. In *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. <https://doi.org/10.1201/9781482289985>
- Wong, W., Crapper, J., Chan, H. K., Traini, D., & Young, P. M. (2010). Pharmacopeial methodologies for determining aerodynamic mass distributions of ultra-high dose inhaler medicines. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(4). <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.10.011>
- Yeh, H. C., Phalen, R. F., & Raabe, O. G. (1976). Factors influencing the deposition of inhaled particles. *Environmental Health Perspectives*, Vol.15. <https://doi.org/10.1289/ehp.7615147>

8 TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmalarında değerli bilgilerini benimle paylaşan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mine ÖZYAZICI'ya,

Katkılarında dolayı Eczacılık Teknolojisi Bölüm Başkanı ve Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Özgen ÖZER'e,

Çalışmalarım sırasında bigi ve tecrübeleriyle bana her zaman yol gösteren, Sayın Doç. Dr. Mesut ARICI ve Dr. Öğr. Üyesi Aysu YURDASİPER ERDEM'E,

Tezin yazımı aşamasında ihtiyaç duyduğum yazılımsal ve donanımsal destek ve yardımlarından dolayı Sayın Öğretim Görevlisi Dr. Mehmet Ali EGE'ye,

Destekleri için Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi ve yardımcılara,

Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde FABAL'da gerçekleştirdiğim analizlerim sırasındaki yardımlarından dolayı Sayın Dr. Çiğdem YENGİN olmak üzere tüm FABAL çalışanlarına,

Beni bugünlere getiren, bana her konuda destek olan ve sevgisini hiçbir zaman eksik etmeyen tüm Aile'm,

Her zaman yanımda olan, yardımını hiçbir zaman esirgemeyen bana güç ve huzur veren Sevgili eşim Merve ATİKER ARAS'a

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İzmir, 2021

Ecz. Mehmet Taylan ARAS

9 ÖZGEÇMİŞ

Lisans

Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2009-2015)

Yabancı Dil

İngilizce

