



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**DOĞAL POLİMERLER KULLANILARAK  
TRİAMSİNOLON ASETONİD KURU TOZ İNHALER  
FORMÜLASYONLARININ HAZIRLANMASI VE  
KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARI**

**Yüksek Lisans Tezi**

Ecz. Bade İNCE

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

İzmir

2019

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**DOĞAL POLİMERLER KULLANILARAK  
TRİAMSİNOLON ASETONİD KURU TOZ İNHALER  
FORMÜLASYONLARININ HAZIRLANMASI VE  
KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARI**

**Yüksek Lisans Tezi**

Ecz. Bade İNCE

Danışman  
Prof. Dr. Mine ÖZYAZICI

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı  
Tezli Yüksek Lisans Programı

İzmir  
2019

**DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ**

**(Adı Soyadı)**

**(İmza)**

|                  |   |                             |
|------------------|---|-----------------------------|
| Adı Soyadı       | : |                             |
| Başkan(Danışman) | : | Prof. Dr. Mine ÖZYAZICI     |
| Üye / İmza       | : | Prof. Dr. Özgen ÖZER        |
| Üye / İmza       | : | Doç. Dr. Zeynep AY ŞENYİĞİT |

Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih: 05.02.2019

## Önsöz

Yüksek lisansımın tüm aşamalarında değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana zaman ayıran, yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mine Özyazıcı'ya,

Katkılarında dolayı Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Özgen Özer'e,

Deneylerim sırasında bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, her zaman her konuda destek ve yardımlarını esirgemeyen tezimin gerçekleşmesinde büyük emeği olan Sayın Doç. Dr. Mesut Arıcı ve Dr. Öğr. Üyesi Aysu Yurdasiper Erdem'e,

Kuru toz inhaler formülasyon çözeltilerinin yüzey gerilimi ölçümlerinde destek olan Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümü Dr. Aykut Evren Yavuz'a,

FABAL'da gerçekleştirdiğim analizlerim sırasındaki yardımlarından dolayı başta Sayın Yüksek Müh. Çiğdem Yengin olmak üzere tüm FABAL çalışanlarına,

Destekleri ile birlikte çalışmayı keyif haline getiren başta Ecz. Yousef HAJYOUSEF ve tüm Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi, asistan ve öğrencilerine, Tezin formatının düzenlenmesinde vermiş olduğu destek ve yardımlarından dolayı Sayın Öğretim Görevlisi Dr. Mehmet Ali Ege ve Tolga Başaran'a,

Benim bugünlere gelmemi sağlayan, hayatımın her aşamasında özveriyle bana her yönden destek olan, fedakarlık ve sevgisini hiçbir zaman eksik etmeyen aileme,

Bu yüksek lisans tezi, TÜBİTAK BİLİMSEL VE TEKNOLOJİK ARAŞTIRMA PROJELERİNİ DESTEKLEME PROGRAMI kapsamında desteklenen 114S523 nolu proje çalışmalarının bir bölümünü içermekte olup, projemize verdiği destekten ötürü TÜBİTAK'a,

Teşekkürlerimi sunarım.

**İzmir, 2019**

**Ecz. Bade İNCE**

## Özet

Astım birçok hücre ve hücre bileşeninin rol oynadığı, solunum yollarının değişik uyaranlar nedeniyle aşırı derecede duyarlı hale gelmesine ve zamanla daralmasına neden olan kronik ve inflamatuvar bir hava yolu hastalığıdır. Astımın gelişmesini ve ortaya çıkmasını sağlayan risk faktörleri karmaşık mekanizmalara sahiptir ve bu mekanizmalar birbirleriyle etkileşim halindedir. Astıma yatkınlık, genlerin hem diğer genlerle hem de çevresel faktörlerle etkileşimi sonucunda belirlenir. Astım tüm dünyada hem çocuk hem de erişkinlerde görülmektedir ve sıklıkla ataklarla seyredir. Son yıllarda astım prevalansı ve insidansının önemli ölçüde arttığı görülmektedir. Prevalansı ve insidansdaki artışa paralel olarak tedavi maliyetlerinde de ülke ekonomisine yük getirmektedir. Ayrıca sosyal anlamda da hastanın yaşam kalitesini düşürmektedir. Dünyadaki astım prevalansı ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Bu prevalans %1 ile %18 arasında değişmektedir. Astım hem hasta hem de toplum açısından maliyeti yüksek olan bir hastalıktır. Astım uygun tedavi ve takip ile kontrol altına alınabilir. İnhalasyon, hava yollarında akım kısıtlamasıyla seyreden kronik hastalıkların tedavisinde ilk tercih edilen yöntemidir. İlaç firmaları da inhaler formülasyonların geliştirilmesine son yıllarda önem vermektedirler.

Astım tedavisinde amaç, klinik semptomları en aza indirmek, atak sıklığını azaltmak, hastanın yaşam kalitesini iyileştirmek, akciğer fonksiyonlarını düzeltmek ve uzun süreli ilaç kullanımına bağlı oluşabilecek yan etkileri azaltmaktır. Bu nedenlerle inhaler steroidler astım tedavisinde en etkili ve en çok tercih edilen antiinflamatuvar ilaçlardır. Kortikosteroid grubu ilaçlar arasında daha önceki yıllarda kullanılmakta olan triamsinolon asetonidin (TA) ölçülü doz inhaler (ÖDİ) ticari preparatı günümüzde itici gaz içermesi nedeni ile piyasadan kaldırılmıştır. ÖDİ'lerde itici gaz olarak kullanılan hidrofloroalkanlar hasta için risk oluşturmaktadır. ÖDİ kullanımı sırasında ilaç ve gazın birbirine karışmaması durumunda, hastanın hava yollarına sadece itici gazın gitmesi sonucunda bronkospazm meydana gelir. Bronkospazm gelişen hastada nefes darlığı şikayeti artar ve tedaviyi olumsuz etkiler. Bu durum hastanın ÖDİ ile tedaviyi bırakmasına da neden olur. Ayrıca ÖDİ'ler el - nefes koordinasyonu gerektirdiği için kullanımı zordur.

ÖDİ'lerin dezavantajlarından dolayı ve dünya ilaç piyasasından kaldırılmasından dolayı tezimizde TA içeren kuru toz inhaler (KTİ) formülasyonlarının geliştirilmesi, etkinliklerinin optimize edilmesi ve güvenle kullanılabilecek bir formülasyon

tasarımının yapılması hedeflenmiştir. Tez çalışmalarımızda, TA yüklü hiyalüronik asit (HA) mikropartiküler KTİ formülasyonları püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlanmıştır. Yardımcı maddeler ve hazırlanan formülasyonlar üzerinde karakterizasyon çalışmaları, akciğerlerde depolanabilme kapasitesi, yeni nesil impaktör cihazı ile *in vitro* aerosol performansı, akış özelliği ve *in vitro* salım kinetik analizleri yapılmıştır.

Bu tezin tüm aşamaları hedeflendiği şekilde tamamlanarak triamsinolon asetonidin HA içeren mikropartiküler KTİ formülasyonları hazırlanarak, astım tedavisi için yenilikçi, etkin ve güvenilir formülasyon tasarlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Triamsinolon asetonid, astım, hyalüronik asit, kuru toz inhaler, püskürterek kurutma.

## **Abstract**

Asthma is a chronic and inflammatory airway disease in which many cells and cell components play a role, causing the airways to become extremely susceptible to varying stimuli and become narrower in time. The mechanisms of risk factors that provide the development and emergence of asthma are complex. These mechanisms interact with each other. The susceptibility to asthma is determined by the interaction of genes with other genes and with environmental factors. Asthma is seen in both children and adults around the world, and frequently followed by attacks. In recent years, the prevalence and incidence of asthma have increased significantly. In parallel with the increase in prevalence and incidence, the costs of treatment also bring burden on the economy of the country. It also reduces the quality of life of the patient in social sense. The prevalence of asthma in the world varies between 1% and 18%. Asthma is a costly disease for the patient and society. Asthma can be controlled by appropriate treatment and follow-up. Inhalation is the first choice method in the treatment of chronic diseases with current limitation in airways. Pharmaceutical companies also give importance to the development of inhaler formulations in recent years.

The aim of asthma treatment is to minimize clinical symptoms, to reduce the frequency of attacks, to improve the quality of life of the patient, to correct lung function and to reduce the side effects that may occur due to long-term drug use. For these reasons, inhaled steroids are the most effective and most preferred anti-inflammatory drugs for the treatment of asthma. Among the corticosteroid group drugs, the commercially available metered dose inhaler (MDI) triamcinolone acetonide (TA), which was used in previous years, was removed from the market because of its propellant. Bronchospasm occurs when the medication and gas do not mix with each other during the use of a metered dose inhaler. In the patient who develops bronchospasm, shortness of breath complaints increases and negatively affects the treatment. This also causes the patient to discontinue treatment with the metered dose inhaler. It is also difficult to use because MDIs require hand - breathing coordination.

Hydrofluoroalkanes which are used as propellant gas in metered dose inhalers pose a risk for the patient. Because of the disadvantages of MDIs and the abolition of the world pharmaceutical market, it is aimed to develop the dry powder inhaler formulations (TA) containing TA in our thesis, to optimize their effectiveness and to make a formulation design that can be used safely. In our thesis, TA loaded hyaluronic

acid (HA) microparticulate dry powder inhaler ( DPI ) formulations were prepared by spray drying method. Characterization studies on the excipients and the prepared formulations, the capacity to store in the lungs, in vitro aerosol performance, flow properties and in vitro release kinetic analyzes with the new generation impulse device were performed.

All the stages of this thesis were completed and the microparticulate KTI formulations containing triamcinolone acetonide were prepared, and an innovative, effective and reliable formulation was designed for the treatment of asthma.

**Keywords:** Triamcinolone acetonide, asthma, dry powder inhaler, spray drying.



## İçindekiler

|                                                                    |           |
|--------------------------------------------------------------------|-----------|
| ÖNSÖZ .....                                                        | i         |
| ÖZET .....                                                         | ii        |
| ABSTRACT .....                                                     | iv        |
| İÇİNDEKİLER.....                                                   | vi        |
| TABLO LİSTESİ.....                                                 | x         |
| ŞEKİL LİSTESİ .....                                                | xii       |
| KISALTMALAR.....                                                   | xiv       |
| GİRİŞ.....                                                         | 1         |
| <b>1 GENEL BİLGİLER .....</b>                                      | <b>2</b>  |
| 1.1 TRIAMSİNOLON ASETONİD .....                                    | 2         |
| 1.1.1 Fizikokimyasal Özellikleri.....                              | 2         |
| 1.1.2 Farmakoloji.....                                             | 3         |
| 1.2 MANNİTOL .....                                                 | 5         |
| 1.3 HYALÜRONİK ASİT .....                                          | 6         |
| 1.4 LÖSİN .....                                                    | 7         |
| 1.5 SOLUNUM SİSTEMİ VE AKCİĞERİN ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ .....    | 8         |
| 1.6 PULMONER İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER .....                         | 13        |
| 1.7 PARTİKÜLLERİN AKCİĞERDE TUTULMA MEKANİZMALARI .....            | 15        |
| 1.7.1 Yerçekimi Sedimentasyonu.....                                | 15        |
| 1.7.2 Eylemsiz Çarpma.....                                         | 16        |
| 1.7.3 Brown Difüzyonu.....                                         | 16        |
| 1.7.4 Alıkonulma (Interception) .....                              | 16        |
| 1.8 ASTİM.....                                                     | 17        |
| 1.8.1 Tanımı .....                                                 | 17        |
| 1.8.2 Fizyopatolojisi.....                                         | 17        |
| 1.8.3 Faktörler.....                                               | 18        |
| 1.8.4 Prevalansı.....                                              | 19        |
| 1.8.5 Tedavisi .....                                               | 20        |
| 1.9 AKCİĞER HASTALIKLARINDA KULLANILAN İNHALER DOZAJ FORMLARI..... | 20        |
| 1.9.1 Nebülizörler.....                                            | 20        |
| 1.9.2 Ölçülü Doz İnhalerler (ÖDİ).....                             | 22        |
| 1.9.3 Kuru Toz İnhalerler (KTİ).....                               | 23        |
| <b>2 KURU TOZ İNHALER HAZIRLAMA YÖNTEMLERİ .....</b>               | <b>25</b> |
| 2.1 ÖĞÜTME.....                                                    | 25        |
| 2.2 PÜSKÜRTEREK DONDURARAK KURUTMA .....                           | 26        |
| 2.3 PÜSKÜRTEREK KURUTMA .....                                      | 27        |

|           |                                                                                                           |           |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.4       | ÇÖZÜCÜ İLE ÇÖKTÜRME TEKNİKLERİ .....                                                                      | 28        |
| 2.5       | SÜPERKRİTİK SIVI TEKNİĞİ .....                                                                            | 29        |
| <b>3</b>  | <b>GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                                                                               | <b>30</b> |
| 3.1       | KULLANILAN MADDELER VE ARAÇ GEREÇLER.....                                                                 | 30        |
| 3.1.1     | <i>Kullanılan Maddeler .....</i>                                                                          | 30        |
| 3.1.2     | <i>Kullanılan Araç Gereçler.....</i>                                                                      | 30        |
| 3.1.3     | <i>Kullanılan Tamponlar.....</i>                                                                          | 31        |
| <b>4</b>  | <b>YÖNTEM VE DENEYLER.....</b>                                                                            | <b>32</b> |
| 4.1       | ETKİN MADDENİN FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ .....                                            | 32        |
| 4.1.1     | <i>Fourier Dönüşüm İnfrared Spektroskopisi (FT-IR) Spektrumu.....</i>                                     | 32        |
| 4.1.2     | <i>Erime Derecesi Tayini.....</i>                                                                         | 32        |
| 4.1.3     | <i>Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) Analizi .....</i>                                              | 32        |
| 4.1.4     | <i>X-Işını Kırınımı (XRD) Analizi.....</i>                                                                | 32        |
| 4.1.5     | <i>Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy-SEM) Analizi .....</i>                      | 33        |
| 4.1.6     | <i>Spektroskopik <math>\lambda_{\text{maximum}}</math> Tayini .....</i>                                   | 33        |
| 4.1.7     | <i>Etkin Maddenin Standart (kalibrasyon) Doğrusunun Çizilmesi.....</i>                                    | 33        |
| 4.1.8     | <i>Analitik Yöntem Validasyonu Çalışmaları .....</i>                                                      | 34        |
| 4.1.8.1   | <i>Doğrusallık .....</i>                                                                                  | 34        |
| 4.1.8.2   | <i>Keskinlik.....</i>                                                                                     | 34        |
| 4.1.8.2.1 | <i>Tekrar Edilebilirlik.....</i>                                                                          | 34        |
| 4.1.8.2.2 | <i>Ara Keskinlik.....</i>                                                                                 | 35        |
| 4.1.8.3   | <i>Saptama Derişimi (Limit of detection, LOD; Dedeksiyon sınırı) .....</i>                                | 35        |
| 4.1.8.4   | <i>Duyarlık veya Analiz Sınırı (Limit of quantification, LOQ; Tayin sınırı) .....</i>                     | 35        |
| 4.1.9     | <i>Çözünürlük Çalışması .....</i>                                                                         | 35        |
| 4.1.10    | <i>Yağ/Su Partisyon (Dağılım) Katsayısı Tayini.....</i>                                                   | 36        |
| 4.2       | KURU TOZ İNHALER FORMÜLASYONLARININ HAZIRLANMASI .....                                                    | 36        |
| 4.2.1     | <i>KTİ Formülasyonlarında Optimizasyon Çalışmaları .....</i>                                              | 37        |
| 4.2.2     | <i>TA ve Yardımcı Madde İçeren KTİ Formülasyonlarının Hazırlanması Çalışmaları .....</i>                  | 38        |
| 4.2.3     | <i>TA, Yardımcı Madde ve Hiyalüronik Asit İçeren KTİ Formülasyonlarının Hazırlanması Çalışmaları.....</i> | 39        |
| 4.3       | KURU TOZ İNHALER FORMÜLASYON ÇÖZELTİLERİNİN KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARI .....                             | 40        |
| 4.3.1     | <i>Çözeltilerde Yüzey Gerilimi Ölçümü .....</i>                                                           | 40        |
| 4.3.2     | <i>Çözeltilerde Viskozite Ölçümü .....</i>                                                                | 41        |
| 4.4       | KURU TOZ İNHALER FORMÜLASYONLARIN KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARI .....                                       | 41        |
| 4.4.1     | <i>Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı .....</i>                                                               | 41        |
| 4.4.2     | <i>Partikül Morfolojisi Çalışmaları.....</i>                                                              | 42        |
| 4.4.2.1   | <i>Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy-SEM) Analizi .....</i>                      | 42        |
| 4.4.2.2   | <i>Atomik Kuvvet Mikroskobu (Atomic Force Microscopy - AFM) Analizi .....</i>                             | 42        |
| 4.4.3     | <i>Partiküllerin Yüzey Yükü Tayini .....</i>                                                              | 42        |
| 4.4.4     | <i>Tozların Sıkıştırılmış Dansite Ölçümü, Akış Özellikleri ve Yığın Açısı Tayini.....</i>                 | 42        |
| 4.4.5     | <i>% Ağırılık Kaybı Tayini.....</i>                                                                       | 43        |

|           |                                                                                                           |           |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.4.6     | <i>Katı Durum Karakterizasyonu Tayini</i> .....                                                           | 43        |
| 4.4.6.1   | X-ışını Kırınımı (XRD) Analizi .....                                                                      | 43        |
| 4.4.6.2   | Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) Analizi .....                                                     | 43        |
| 4.4.6.3   | Fourier Dönüşüm İnfrared Spektroskopisi (FT-IR) Analizi .....                                             | 44        |
| 4.4.7     | <i>Enkapsülasyon Etkinliği Tayini</i> .....                                                               | 44        |
| 4.4.8     | <i>Kuru Toz İnhaler Formülasyonlarının İn Vitro Aerosol Performans Tayini</i> .....                       | 44        |
| 4.4.9     | <i>İN Vitro İlaç Salım Çalışmaları</i> .....                                                              | 48        |
| 4.4.10    | <i>İN Vitro İlaç Salım Kinetiği Analizi</i> .....                                                         | 48        |
| 4.5       | ARAŞTIRMA SONUÇLARININ İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİLMESİ .....                                              | 49        |
| <b>5</b>  | <b>BULGULAR</b> .....                                                                                     | <b>50</b> |
| 5.1       | ETKİN MADDENİN FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİNE AİT BULGULAR ....                              | 50        |
| 5.1.1     | <i>Fourier Dönüşüm İnfrared Spektroskopisi (FT-IR) Spektrumuna Ait Bulgular</i> .....                     | 50        |
| 5.1.2     | <i>Erime Derecesi Tayinine Ait Bulgular</i> .....                                                         | 50        |
| 5.1.3     | <i>Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) Analizine Ait Bulgular</i> .....                               | 50        |
| 5.1.4     | <i>X-ışını Kırınımı (XRD) Analizine Ait Bulgular</i> .....                                                | 51        |
| 5.1.5     | <i>Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy-SEM) Analizine Ait Bulgular</i> .....       | 51        |
| 5.1.6     | <i>Spektroskopik <math>\lambda_{\text{maximum}}</math> Tayinine Ait Bulgular</i> .....                    | 52        |
| 5.1.7     | <i>Etkin Maddenin Standart (kalibrasyon) Doğrusunun Çizilmesine Ait Bulgular</i> .....                    | 53        |
| 5.1.8     | <i>Analitik Yöntem Validasyonu Çalışmalarına Ait Bulgular</i> .....                                       | 54        |
| 5.1.8.1   | Doğrusallık .....                                                                                         | 54        |
| 5.1.8.2   | Keskinlik .....                                                                                           | 54        |
| 5.1.8.2.1 | Tekrar Edilebilirlik .....                                                                                | 54        |
| 5.1.8.2.2 | Ara Keskinlik .....                                                                                       | 55        |
| 5.1.8.3   | Saptama Derişi (Limit of detection, LOD; Dedeksiyon sınırı) .....                                         | 56        |
| 5.1.8.4   | Duyarlık veya Analiz Sınırı (Limit of quantification, LOQ; Tayin sınırı) .....                            | 56        |
| 5.1.9     | <i>Çözünürlük Çalışmasına Ait Bulgular</i> .....                                                          | 56        |
| 5.1.10    | <i>Yağ/Su Partisyon (dağılım) Katsayısı Tayinine Ait Bulgular</i> .....                                   | 57        |
| 5.2       | KTİ FORMÜLASYONLARININ HAZIRLANMASINA AİT BULGULAR .....                                                  | 57        |
| 5.3       | KTİ FORMÜLASYON ÇÖZELTİLERİNİN KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR                                 |           |
|           | 57                                                                                                        |           |
| 5.3.1     | <i>Çözeltilerde Yüzey Gerilimi Ölçümüne Ait Bulgular</i> .....                                            | 57        |
| 5.3.2     | <i>Çözeltilerde Viskozite Ölçümüne Ait Bulgular</i> .....                                                 | 58        |
| 5.4       | KURU TOZ İNHALER FORMÜLASYONLARIN KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR .....                        | 58        |
| 5.4.1     | <i>Partikül Büyüklüğü ve Dağılımına Ait Bulgular</i> .....                                                | 59        |
| 5.4.2     | <i>Partikül morfolojisi çalışmalarına ait bulgular</i> .....                                              | 59        |
| 5.4.2.1   | Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy-SEM) Analizine Ait Bulgular                    | 59        |
| 5.4.2.2   | Atomik Kuvvet Mikroskobu (Atomic Force Microscopy - AFM) Analizine Ait Bulgular ..                        | 60        |
| 5.4.3     | <i>Partiküllerin Yüzey Yükü Tayinine Ait Bulgular</i> .....                                               | 61        |
| 5.4.4     | <i>Tozların Sıkıştırılmış Dansite Ölçümü, Akış Özellikleri ve Yığın Açısı Tayinine Ait Bulgular</i> ..... | 61        |

|         |                                                                                            |           |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.4.5   | % Ağırlık Kaybı Tayinine Ait Bulgular .....                                                | 62        |
| 5.4.6   | Katı Durum Karakterizasyonu Tayinine Ait Bulgular .....                                    | 62        |
| 5.4.6.1 | X-ışını Kırınımı (XRD) Analizine Ait Bulgular .....                                        | 62        |
| 5.4.6.2 | Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) Analizine Ait Bulgular .....                       | 63        |
| 5.4.6.3 | Fourier Dönüşüm İnfrared Spektroskopisi (FT-IR) Analizine Ait Bulgular .....               | 64        |
| 5.4.7   | Enkapsülasyon Etkinliği Tayinine Ait Bulgular .....                                        | 64        |
| 5.4.8   | Kuru Toz İnhaler Formülasyonlarının İn Vitro Aerosol Performans Tayinine Ait Bulgular..... | 65        |
| 5.4.9   | İN Vitro İlaç Salım Çalışmalarına Ait Bulgular .....                                       | 66        |
| 5.4.10  | İN Vitro Salım Kinetiği Analizine Ait Bulgular.....                                        | 67        |
| 5.5     | ARAŞTIRMA SONUÇLARININ İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİLMESİNE AİT BULGULAR .....                | 68        |
| 6       | <b>TARTIŞMA.....</b>                                                                       | <b>69</b> |
| 7       | <b>SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>                                                              | <b>80</b> |

## Tablo Listesi

|                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1. Pulmoner ilaç taşıyıcı sistemlerin avantajları ve dezavantajları.....                                                                | 14 |
| Tablo 2. Kuru toz inhalerlerin avantajları ve dezavantajları.....                                                                             | 25 |
| Tablo 3. Kuru toz inhaler formülasyon bileşenlerine ait bilgiler. ....                                                                        | 37 |
| Tablo 4. TA, mannitol ve lösin içeren KTİ formülasyonlarının bileşenleri ve oranları. ....                                                    | 39 |
| Tablo 5. TA, mannitol, lösin ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyonlarının bileşenleri ve oranları.....                                   | 40 |
| Tablo 6. TA'ın 50 µg/ml konsantrasyonda yapılan tekrar edilebilirlik analiz sonuçları. ....                                                   | 55 |
| Tablo 7. TA'ın ara kesinlik analiz sonuçları.....                                                                                             | 56 |
| Tablo 8. TA çözünürlük çalışmasına ait sonuçlar.....                                                                                          | 57 |
| Tablo 9. TA, mannitol ve lösin içeren KTİ formülasyon hazırlama çözeltilerinin yüzey gerilim ölçümlerine ait sonuçlar.....                    | 57 |
| Tablo 10. TA, mannitol, lösin ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyon hazırlama çözeltilerinin yüzey gerilim ölçümlerine ait sonuçlar..... | 58 |
| Tablo 11. TA, mannitol ve lösin içeren KTİ formülasyon hazırlama çözeltilerinin viskozite ölçümlerine ait sonuçlar.....                       | 58 |
| Tablo 12. TA, mannitol, lösin ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyon hazırlama çözeltilerinin viskozite ölçümlerine ait sonuçlar.....     | 58 |
| Tablo 13. TA, mannitol ve lösin içeren KTİ formülasyonların % verim sonuçları..                                                               | 59 |
| Tablo 14. TA, mannitol, lösin ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyonların % verim sonuçları.....                                          | 59 |
| Tablo 15. İdeal KTİ formülasyonlarının partikül büyüklüğü tayinine ait sonuçlar..                                                             | 59 |
| Tablo 16. TA, mannitol ve lösin içeren KTİ formülasyonlarının yüzey yükü değerleri. ....                                                      | 61 |
| Tablo 17. TA, mannitol, lösin ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyonlarının yüzey yükü değerleri.....                                     | 61 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 18. TA ve yardımcı maddelerin akış özellikleri. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 61 |
| Tablo 19. TA, mannitol ve lösin içeren KTİ formülasyonlarının akış özellikleri.....                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 62 |
| Tablo 20. TA, mannitol, lösin ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyonlarının akış özellikleri.....                                                                                                                                                                                                                                                                | 62 |
| Tablo 21. KTİ formülasyonlarının % ağırlık kaybı tayinine ait sonuçlar. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 62 |
| Tablo 22. TA, mannitol ve lösin içeren KTİ formülasyonlarına ait % enkapsülasyon etkinliği. ....                                                                                                                                                                                                                                                                     | 64 |
| Tablo 23. TA, mannitol, lösin ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyonlarına ait % enkapsülasyon etkinliği. ....                                                                                                                                                                                                                                                   | 65 |
| Tablo 24. TA, mannitol ve lösin içeren KTİ formülasyonlarının ince partikül fraksiyon (Fine particle fraction, FPF), iletilen doz (Emitted dose, ED), solunan doz (Respirable fraction, RF), kütle ortalama aerodinamik çapı (Mass mean aerodynamic diameter, MMAD) ve geometrik standart sapma (Geometric standart deviation, GSD) değerleri. ....                  | 65 |
| Tablo 25. TA, mannitol, lösin ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyonlarının ince partikül fraksiyon (Fine particle fraction, FPF), iletilen doz (Emitted dose, ED), solunan doz (Respirable fraction, RF), kütle ortalama aerodinamik çapı (Mass mean aerodynamic diameter, MMAD) ve geometrik standart sapma (Geometric standart deviation, GSD) değerleri..... | 66 |
| Tablo 26. KTİ formülasyonlarının <i>in vitro</i> salım kinetiği analizine ait determinasyon katsayısı ( $r^2$ ) değerleri. ....                                                                                                                                                                                                                                      | 68 |

## Şekil Listesi

|                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. TA'in kimyasal yapısı .....                                                                                             | 2  |
| Şekil 2. TA'nın 3 boyutlu konfigürasyonu .....                                                                                   | 3  |
| Şekil 3. D-Mannitol'ün kimyasal yapısı .....                                                                                     | 5  |
| Şekil 4. L-Mannitol'ün kimyasal yapısı.....                                                                                      | 6  |
| Şekil 5. Hyalüronik asitin kimyasal yapısı.....                                                                                  | 6  |
| Şekil 11. Astımlı bronşiyol ve normal bronşiyol (147 ) .....                                                                     | 17 |
| Şekil 12. Dünyada astım prevalansı. ....                                                                                         | 19 |
| Şekil 17. KTİ cihazın parçaları .....                                                                                            | 25 |
| Şekil 18: A: Jet Öğütücü, B: Dişli Öğütücü, C: Bilyalı Öğütücü (148).....                                                        | 26 |
| Şekil 19. Püskürterek Kurutma cihazın Fonksiyonel ilkeleri.....                                                                  | 27 |
| Şekil 20. Nano boyutlu püskürterek kurutucu cihazı (Nano Spray Dryer BUCHI, B-90). ....                                          | 38 |
| Şekil 21. Yeni nesil impaktör (Next Generation Impactor, Copley) sistemi. ....                                                   | 45 |
| Şekil 22. Yeni nesil impaktör (Next Generation Impactor, Copley) sisteminin bölümlerinin (stage 1-8) açık görüntüsü. ....        | 45 |
| Şekil 23. Çalışmalarda kullanılan Aerolizer® cihazı a) kapalı görüntüsü b) açık görüntüsü c) NGI başlığına takılı görüntüsü..... | 46 |
| Şekil 24. Yatay çalkalayıcı (Gentle Rocker, Copley). ....                                                                        | 47 |
| Şekil 25. Triamsinolon asetonid FT-IR spektrumu.....                                                                             | 50 |
| Şekil 26. TA'in DSC termogramı. ....                                                                                             | 51 |
| Şekil 27. TA'in XRD spektrumu .....                                                                                              | 51 |
| Şekil 28. TA taramalı elektron mikroskobu görüntüsü (x5.000). ....                                                               | 52 |
| Şekil 29. TA'in pH 7.4 PBS + %1 (w/w) SLS ortamında UV spektrumu.....                                                            | 52 |
| Şekil 30. TA'in mobil fazda UV spektrumu. ....                                                                                   | 53 |
| Şekil 31. TA'in HPLC sisteminde elde edilen pik görüntüsü.....                                                                   | 53 |
| Şekil 32. TA'in mobil faz içerisinde standart doğrusu. ....                                                                      | 54 |

|                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 33. B3 ve B3HA formülasyonuna ait taramalı elektron mikroskobu görüntüsü (x25.000). .....                                            | 60 |
| Şekil 34. B3HA formülasyonunun AFM çalışmalarına ait 3-D görüntüsü.....                                                                    | 60 |
| Şekil 35. B3HA formülasyonuna ait XRD spektrumu. ....                                                                                      | 63 |
| Şekil 36. B3HA formülasyonuna ait DSC termogramı.....                                                                                      | 63 |
| Şekil 37. B3HA formülasyonuna ait FT-IR spektrumu. ....                                                                                    | 64 |
| Şekil 38. B3HA KTİ formülasyonlarının yeni nesil impaktör cihazının her bir bölümündeki (stage 1-8) partiküllere ait dağılım grafiği. .... | 66 |
| Şekil 39. TA, mannitol ve lösin içeren KTİ formülasyonlarından ilaç difüzyonu.....                                                         | 67 |
| Şekil 40. TA, mannitol, lösin ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyonlarından ilaç difüzyonu. ....                                      | 67 |

## Kısaltmalar

|                                         |                 |
|-----------------------------------------|-----------------|
| Triamsinolon asetonid                   | TA              |
| Pulmoner ilaç taşıyıcı sistemler        | PİTS            |
| İnhale kortikosteroidler                | ICS             |
| Öçülü doz inhaler                       | ÖDİ             |
| Kuru toz inhaler                        | KTİ             |
| İnce partikül fraksiyonu                | FPF             |
| Fourier dönüşüm infrared spektrometresi | FT-IR           |
| Diferansiyel taramalı kalorimetresi     | DSC             |
| X-Işını kırınımı                        | XRD             |
| Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi     | HPLC            |
| Taramalı elektron mikroskobu            | SEM             |
| Atomik kuvvet mikroskobu                | AFM             |
| Termal gravimetrik analiz               | TGA             |
| Yeni nesil impaktör                     | NGI             |
| Fosfat tamponu                          | PBS             |
| Determinasyon katsayısı                 | $r^2$           |
| Aritmetik ortalama                      | $\bar{X}_{ort}$ |
| Standart sapma                          | SS              |
| Varyasyon katsayısı                     | VK              |
| Saptama derişimi                        | LOD             |
| Duyarlık veya analiz sınırı             | LOQ             |
| İnce partikül fraksiyon                 | FPF             |
| İletilen doz                            | ED              |
| Solunan doz                             | RF              |
| Geometrik standart sapma                | GSD             |
| Kütle ortalama aerodinamik çap          | MMAD            |
| Sodyum lauril sülfat                    | SLS             |
| Hidroksipropil metil selüloz            | HPMC            |

## Giriş

Astım, birçok uyarana karşı gelişen hava yolu aşırı duyarlılığı sonucu, kronik hava yolu inflamasyonu ile karakterize, sık görülen bir hastalıktır. Öksürük, nefes darlığı, hırıltılı solunum ve göğüste sıkışma gibi semptomlar ve ekspiratuar hava akımı kısıtlılığı ile beraber tanımlanır. Semptomlar özellikle sabah erken saatlerde ya da gece ortaya çıkmaktadır.

Hava yollarında akım kısıtlanmasıyla seyreden kronik hastalıkların tedavisinde sahip olduğu avantajlar nedeniyle ilk tercih edilen yöntem inhalasyon yöntemidir. Hastalar ilaçları inhalasyon yoluyla kullandığında etkin madde doğrudan hava yollarına alınır ve verildiği bölgelerde yüksek konsantrasyonlara ulaşır. Ayrıca düşük sistemik yan etkiye sahip olması nedeniyle de tedavide ilk seçenek olarak bu uygulama yolu tercih edilmektedirler. Kuru toz inhaler (KTİ) sistemler itici gaz içermezler. Bu nedenle ilacın uygulanması sırasında hastanın eş zamanlı olarak nefes almasına gerek yoktur. ÖDİ'lere göre KTİ'lere hastanın uyuncu daha fazladır. KTİ dozaj formlarının lipofilik ve hidrofilik etkin maddeler ile formüle edilebilmesi ve taşınabilir olmasından dolayı astım tedavisinde kullanımının hastalara avantajlar sunacağını düşünmekteyiz.

Tüm bu çalışmaların sonuçlarına bağlı olarak, akciğerlerde yüksek miktarda lokalize olabilecek ve tedavide daha güvenle kullanılabilecek HA içeren Triamsinolon asetonid KTİ formülasyonları geliştirilmiştir.

## 1 Genel Bilgiler

### 1.1 Triamsinolon Asetonid

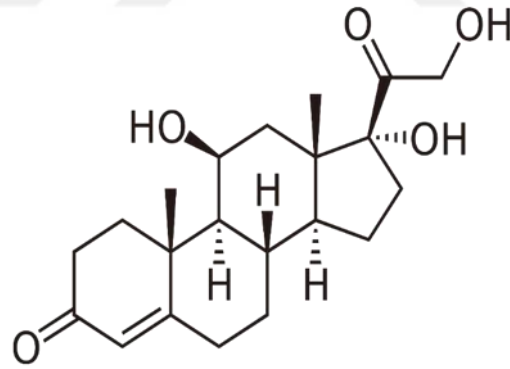
#### 1.1.1 Fizikokimyasal Özellikleri

Triamsinolon asetonid (TA)  $C_{24}H_{31}FO_6$  kapalı formülüne sahip olan Triamsinolon'un daha güçlü sentetik bir türevidir. Triamsinolon ve türevleri antienflamatuvar ve immunosüpresif olarak kullanılan glukokortikoidlerdir. TA, 9-Floro-11 $\beta$ , 21-dihidroksi-16 $\alpha$ , 17- (1-metiletilidenedioksi) pregna-1,4-dien-3,20-dion veya Pregna-1,4-dien-20-dion, 9-floro-11, 21-dihidroksi-16,17-((1-metiletiliden) bis (oksi), (11  $\beta$ , 16  $\alpha$ ) olarak adlandırılır.

TA'nın kimyasal yapısı (Şekil 1)'de gösterilmektedir. TA'nın USP 23'de yer alan kimyasal isimleri;

9 $\alpha$ -Floro-11 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ ,21-tetrahidroksipregna-1,4dien-3,20-dion cyclic-16,17-asetal aseton

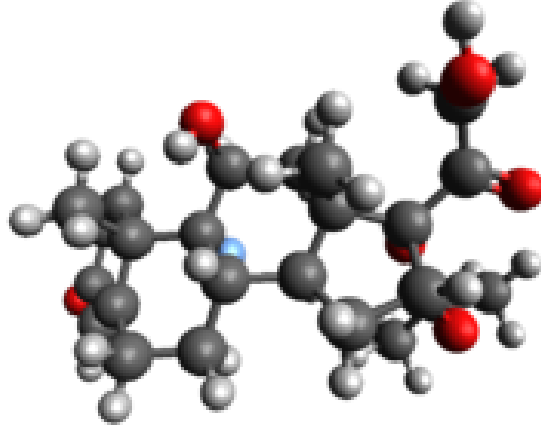
Pregna -1,4-dien-3,20-dion, 9-floro-11,21-dihidroksi-16,17-{(1-metiletiliden)bis(oksi)}-,(11  $\beta$ ,16  $\alpha$ )-.  
CC12CCC3C(C1CC(=O)C=C3C)C(=O)CC(C2)O[C@H]1CC[C@@H](C[C@H]1O)C(=O)CO



Şekil 1. TA'in kimyasal yapısı.

Molekül ağırlığı 434.5 dalton'dur. Triamsinolon asetonid beyaz veya krem-beyaz renkte, kokusuz ve kristalize bir tozdur. Pratik olarak suda çözünmez; alkol ve kloroformda az çözünür; eterde çok hafif çözünür (46, 47). Metanolde çok iyi çözünür. Bazı kaynaklarda 11 kısım aseton, 40 kısım kloroform ve 150 kısım etanolde çözündüğü belirtilmiştir. Oktanol-su partiyon katsayısı 2,53'tür (48). 11 mg Triamsinolon asetonid yaklaşık olarak 10 mg Triamsinolona eşdeğerdir. Erime

derecesi yaklaşık 292-294 °C' dir (49). Polimorfizm gösterir. Ağzı sıkı kapatılmış kaplarda oda sıcaklığında saklanmalı ve ışıktan korunmalıdır (46).



Şekil 2. TA'nın 3 boyutlu konfigürasyonu.

### 1.1.2 Farmakoloji

İnhale kortikosteroidler (ICS) mevcut en etkili antienflamatuar ilaçlardır. Kortikosteroidler, enflamatuvar süreçte rol oynayan çeşitli yollarla etkileşime girebildikleri için astım tedavisinde etkilidir. Kortikosteroidler hücre çekirdeği içerisinde çeşitli pro-enflamatuar gen ürünlerinin transkripsiyonunu kontrol eden regülatörlere bağlanarak bu mediatörlerin neden olduğu enflamasyonu azaltır. Bu sayede astımı kontrol altına almaktadırlar (74). Kortikosteroidlerin etki mekanizmasının hücre membranından difüzyon ve ardından hedef hücrelerin sitoplazmalarında bulunan glukokortikoid reseptörlerine bağlanma ile başladığı düşünülmektedir. Bu bağlanma aktive olmuş glukokortikoid-reseptör-kortikosteroid kompleksinin oluşmasını sağlar. Oluşan bu kompleks çekirdek membranı içerisinde yer değiştirirerek spesifik bağlanır. DNA dizilimlerine bağlanma sonucunda gen transkripsiyonu ve protein sentezinde değişim meydana gelir. Kortikosteroidler hava yollarında bulunan makrofajlar, eozinofiller, lenfositler, mast hücreleri ve dendritik hücreler gibi enflamatuar hücrelerle bağlantılı mediatörlerin üretimini değiştirerek havayolu enflamasyonunu ve aşırı duyarlılığını azaltırlar (75, 76 ).

TA immunosüpresif ve antienflamatuar etkilerinden dolayı kullanılan sentetik bir glukokortikoidtir. Kortikosteroidlerin etki mekanizmaları;

- Enflamasyon bölgesine lökosit akışını baskılar
- Lökosit, fibroblast ve endotel hücre fonksiyonunu etkiler
- İnflamatuar olaylarda etkili olan humoral faktörlerin etkilerini baskılar.

- Dolaşımdaki monositlerin, T hücrelerin, eozinofillerin ve bazofillerin sayılarını azaltır; nötrofillerin sayılarını ise artırır.

Endotel hücrelerinin inflamasyonda önemli görevleri vardır. Kortikosteroidler bu hücrelere etki ederek, damar geçirgenliğinin azaltılmasını sağlarlar. Endotel hücrelerinin adezyon molekül ekspresyonunu azaltarak bu sayede IL-1 ve prostaglandin oluşumu baskılanır. Hem düz kaslarda hem de endotel hücrelerindeki endotelin reseptörlerinin ekspresyonunu inhibe etmektedirler. antiinflamatuvar etkileri kortikosteroidlerin önemli klinik etkilerinden biridir. İnflamasyonun gelişiminde bir sürü humoral faktör rol oynar. Prostaglandinler ve sitokinler bu faktörlerin başında gelmektedir. Glukokortikoidlerin önemli etkileri lipokortin başta olmak üzere bazı proteinlerin sentezini hızlandırarak ortaya çıkar. Lipokortinin antiinflamatuvar etkisi fosfolipaz A2 enziminin inhibe edilmesiye görülür. Fosfolipaz A2 enziminin görevi membrana bağlı fosfolipidlerin araşidonik asite dönüştürülmesidir. Glukokortikoidler; prostaglandinlerin, lökotrinlerin ve oksijen radikallerinin oluşumunu etkiler. Kortikosteroidler, lipokortin oluşumunu uyararak IL-1, IL-2, IL-2 reseptör, INF-alfa, TNF gibi sitokinlerin oluşumunu inhibe eder.

Bu etkiler baz alındığında birçok enflamatuvar maddenin üretimini engelledikleri düşünülmektedir.

Glukokortikoidler lenfatik sistemin fonksiyonunu azaltarak, immünoglobulin konsantrasyonlarını düşürerek, kapiler membrandan immün komplekslerin geçişini inhibe ederek ve antijen antikor bağlanmasıyla etkileşerek bağışıklık sistemini baskırlar (50, 51) .

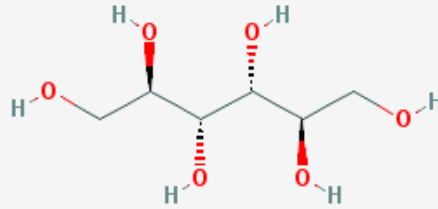
Oral inhalasyonla kullanıldığında kronik bronşiyal astımla ilgili alerjik yanıtların hızlı ve geç fazlarını azalttıkları düşünülmektedir. Bu etkiyi de IgE sentezini azaltarak, lökositlerde bulunan  $\beta$  adrenerjik reseptörlerin sayısını artırarak, ve araşidonik asit metabolizmasını azaltarak salınan prostaglandin ve lökotrien miktarını azaltarak gösterdikleri düşünülmektedir (52) .

Kronik bronşiyal astımda prebronşiyal ödem ve mukus sekresyonu söz konusudur. Kortikosteroid tedavisi sayesinde hava yollarında inflamatuvar hücrelerin toplanmasını önlenerek inflamasyon baskılanır ve epitel hücrelerin yenilenmesi sağlanır. Kortikosteroidler kapiller sızıntıyı engelleyerek hava yollarında ödem oluşmasını engeller.  $\beta$ 2-agonistlerin tedavideki etkinliğini artırır. Bunu ise  $\beta$ 2-

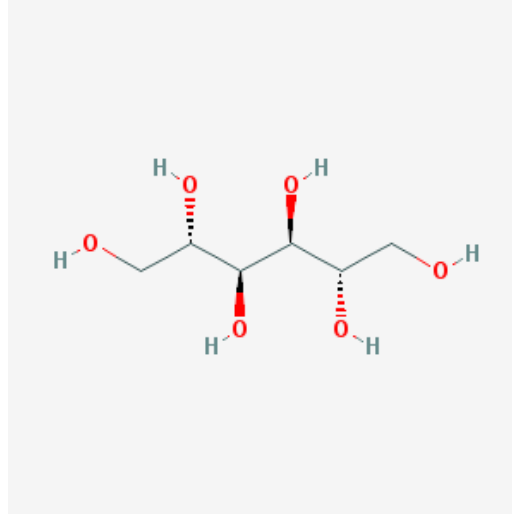
reseptörlerin  $\beta$ 2-agonistlere karşı tolerans geliştirmesini önleyerek yaparlar. Ayrıca mukus sekresyonunu azaltmaktadırlar (53) .

## 1.2 Mannitol

Mannitol, kimyasal olarak 1,2,3,4,5,6-heksanheksol ( $C_6H_8(OH)_6$ ), eşsiz işlevsel özellikleri nedeniyle gıda ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan bir polioldür (şeker alkolü). Özellikle, sükrozun yarısı kadar tatlıdır ve oral olarak alındığında, acı tatları maskelemek için istenen bir soğutucu etkisi vardır. Genellikle özel glikoz şuruplarının hidrojenasyonu ile sentezlenen bir sorbitol izomeridir. Mannitol ticari olarak çeşitli beyaz kristal toz ve granüler formlarda mevcuttur ve bu formların hepsi suda çözünürdür. Mannitolün kimyasal yapısı Şekil 3 ve 4’de görülmektedir.



Şekil 3. D-Mannitol’ün kimyasal yapısı.

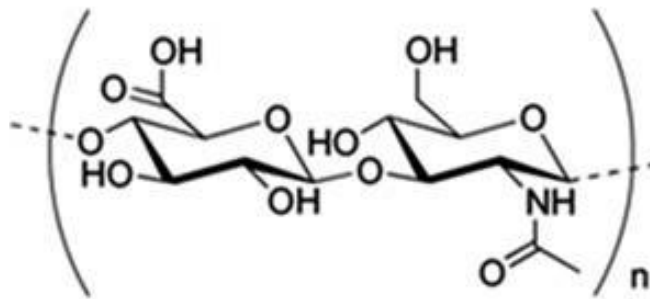


Şekil 4. L-Mannitol'ün kimyasal yapısı.

Mannitol, bronş aşırı duyarlılığının tespiti için inhale şeker alkolü olarak kullanılmıştır. Günümüzde taşıyıcı olarak tercih edilen bir yardımcı maddedir. Ancak hiperosmolar özelliğine bağlı olarak mukusun viskoelastik özelliğini değiştirerek mukosilier klirensin kapasitesini artırdığı için etken madde olarak da kullanılmaktadır. Doğal koheziv özelliğine bağlı olarak mannitol, laktoza göre daha düşük ince partikül oranı vermektedir (54) .

### 1.3 Hyalüronik Asit

Hyalüronan olarak da bilinen hyalüronik asit (HA), doğal olarak  $\beta$ -1,4 ve  $\beta$ -1,3 glikozidik bağlarla D-glukuronik asit ve N-asetil-D-glukosaminden oluşan bir polimerdir (55) .



Şekil 5. Hyalüronik asitin kimyasal yapısı.

Esas olarak hyalüronidaz tarafından metabolize edilen HA, pulmoner çevre için endojen bir maddedir. Memelilerin akciğerlerinden (koyun, kobay, sıçan, sığır ve

insan akciğer parankimi ve plevra) izole edilmiştir. İnsan akciğer sekresyonlarının 34 ila 423 ng / mL aralığında ~66 ng / mL HA içerdiği belirlenmiştir (56, 57).

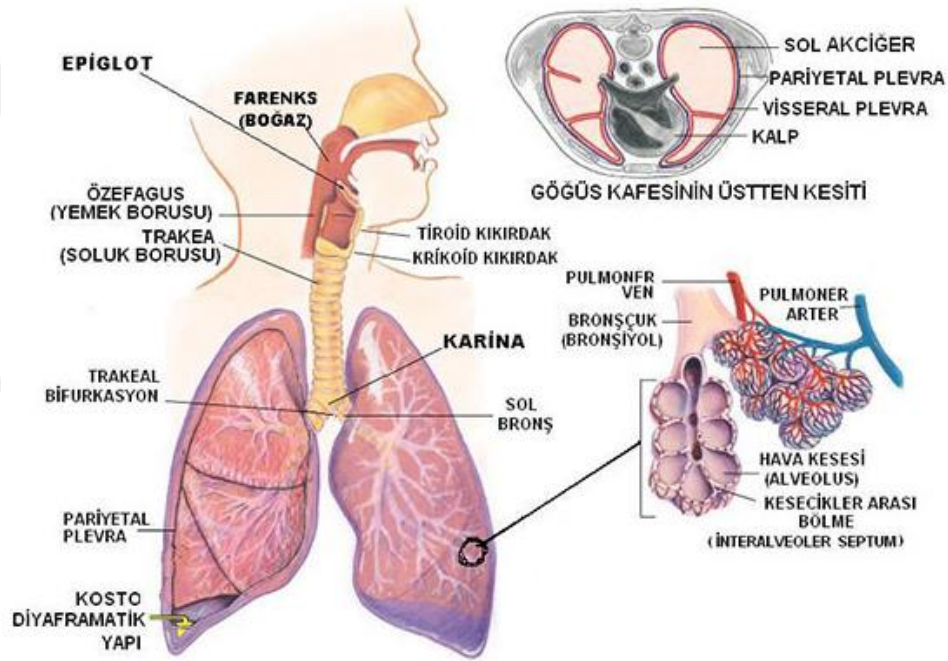
Bu özellikler bir çalışmada değerlendirilmiş ve HA ile inhale edilebilen bovine serum albümin (BSA) mikro-partikülleri hazırlanmıştır. Yapılan bu çalışmada protein salımı ve aerodinamik özellikler değerlendirilmiş ve çalışma sonucunda sodyum hyalüronatın akciğerlerdeki protein / peptidlerin sürekli salınması için uygun olduğu görülmüştür. Bu, hızlı hidrasyonun bir göstergesi olabilir. Hidratasyon yoluyla jelatinimsi bir kütle oluşur ve böylece protein için difüzyon yolu ve uzunluğu belirlenir. Yol uzunluğu arttıkça serbest bırakma oranı düşer. Partiküllerin klerensi mukoadezif özelliklerinin kullanılmasıyla siliyer hareket yoluyla azaltılabilir. Sakagamit ve arkadaşları tarafından, sodyum hiyalüronat kullanılarak geciktirici mukusiliyer klirensin pulmoner absorpsiyonu arttırdığı belirlenmiştir (58).

#### **1.4 Lösın**

Lösın kuru toz inhaler formülasyonlarında en yaygın kullanılan aminoasittir. İnce tozların aerosol haline getirilmesi, oldukça hidrofobik bir aminoasit olan lösınle dış kaplama yapılarak iyileştirilebilir. Lösın bir etken madde ile birlikte püskürtülerek kurutulduğunda; buharlaşma sırasında damlanın büzülme yüzeyinde daha erken aşırı doymuş hale gelebilir bu durum dış yüzeyi lösınle kaplı kuru partiküller elde edilmesiyle sonuçlanır. Lösın inhaler formülasyonlarda kayganlaştırıcı görevi görmektedir. L-Lösın, sıçan ve köpeklerde yapılan çalışmalarda güvenliği olduğu görüldüğü için dağılılabilirlik arttırmada en yaygın kullanılan yardımcı maddelerden biridir; FDA tarafından Genel Olarak Güvenli Olarak Tanınan (GRAS) olduğu saptanmıştır. İlginçtir ki, L-Lösın'ın püskürterek kurutmayla elde edilen formülasyonlarda tozların nemden etkilenmesini azaltmak için kullanılabileceği de belirtilmiştir. Besleme solüsyonuna %10 ( a/a) lösın ilavesi etkin bir şekilde çepere yapışmayı önler, püskürterek kurutma işleminin verimini artırır ve püskürtürülerek kurutma sonucu elde edilen partiküllerin fizikokimyasal ve akış özelliklerini geliştirir. Tozların kekleşmesini önler ve partikül şeklinin korunmasına ve partiküllerin nemden etkilenmemesine yardımcı olur.

### 1.5 Solunum Sistemi ve Akciğerin Anatomisi ve Fizyolojisi

Solunum yolu, burun ile başlar akciğerin derinliklerinde yer alan alveoler keselerde son bulur. Solunum sistemi, üst ve alt solunum yolları olmak üzere iki kısımdan oluşur (Şekil 6). Nazofarinks, orofarinks ve larenkstan oluşan kısım üst solunum yolu olarak adlandırılır. Üst solunum yolu burun deliklerinden başlayarak gırtlak ve soluk borusu (trakea) birleşimine kadar uzanır. Orofarinks; ağızla bağlantılıdır bu nedenle hem yiyecekler için hem de hava için geçit görevi görmektedir. Larinks (gırtlak) farinkse (yutak) trakea (soluk borusu) ile bağlanarak havanın akciğerlere geçişini sağlar. Trakea, bronşlar, bronşiyoller ve akciğerler ise alt solunum yollarını oluşturan yapılardır (1-3).



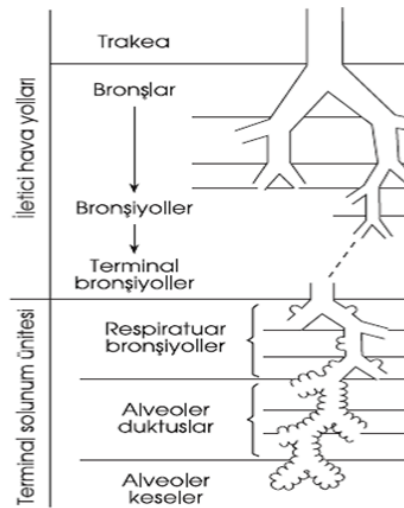
Şekil 6. Solunum sisteminin anatomik yapısının şematik olarak gösterimi (144).

Gittikçe azalan çapa sahip trakea, bronş ve bronşiyoller pulmoner yolu oluşturur. Hava yolları trakeadan başlar ve dallanarak akciğerlerin içine doğru ilerler. En alt kısımda, gaz değişiminden sorumlu olan alveoller bulunmaktadır. Trakeadan sonra ilk dallanan

yapılar bronş, bronşlardan sonra ki daha dar çaplı yapılar ise bronşiyol olarak adlandırılır. Hava yolları ve alveollerde bulunan hücreler arasında belirgin farklılıklar vardır. Hava yolları, pseudostratified columnar epithelium adı verilen hücrelerden oluşurken; alveoller, kolumnar epitelial hücrelerden oluşur. Pseudostratified columnar epithelium; mukus salgılayan goblet hücreleri ve silia hücrelerinden oluşmaktadır. Akciğer surfaktanları kolumnar epitelial bölümde üretilir, alveoler makrofajlar da bu bölümde bulunmaktadır. Havayollarının toplam hacmi 150 mL'dir (4, 5).

Solunum sistemi, üst solunum yolundan başlayarak, akciğerlerdeki alveol keseciklerine kadar ulaşan hava yollarının giderek daralan yapısı nedeniyle solunum ağacı olarak da adlandırılır. Bu anatomik yapı dışarıdan alınan havanın solunum sistemine süzülerek girmesini sağlamaktadır. Bu süzülüşte trake, 1,8 cm; alveoller, 0,04 cm çapındadır. Farinkse kadar olan kısımda 6 µm ve üstü aerodinamik partikül çapına sahip partiküller tutunurken, 4-6 µm arasındaki partiküller terminal bronşiyollerde, 2-4 µm arasındaki partiküller respiratör bronşiyollerde tutunur ve 1-3 µm'ye arasındaki partiküller ise alveollere kadar ulaşır. Ayrıca, 0,5 µm'den daha küçük partiküllerin yaklaşık %50'si nefes verirken geri dışarı atılırlar ( 14-16 ).

Hava yollarının Weibel (Weibel, 1963) (61) tarafından tanımlanan klasik modelinde, her hava yolu iki küçük hava yolu oluşturmak üzere bölünür (Şekil 7). Her dallanmada hava yolu sayısı önceki sayının iki katıdır. Model, toplam 24 hava yolu kuşağının varlığını ileri sürmektedir. Trakea 0, alveol keseleri ise 23. kuşaktır. Gerçekte dallanma simetrik değildir (10).

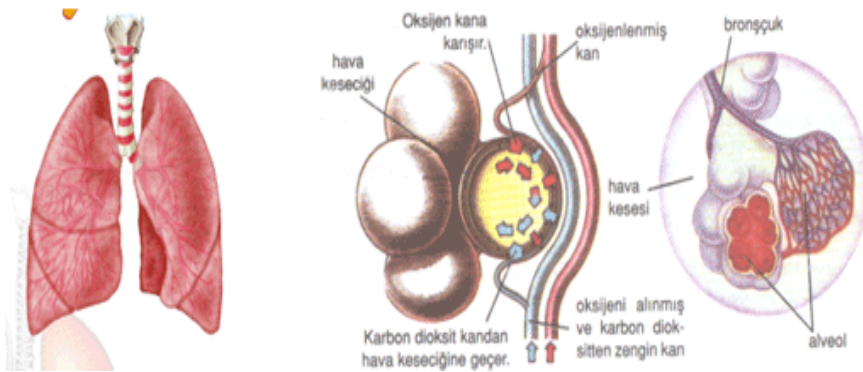


Şekil 7. İnsan hava yollarının şematik gösterimi, Weibel 1963 (61).

Farinksden, respiratuvar bronşiyollerin sonuna kadar bütün havayolu boyunca mukus salgılayan epitelyum hücreleri ile çeşitli bezler bulunur. Epitelyal yüzeyler silia içermektedir. Silialar sürekli olarak farinkse doğru hareket etmektedirler. Siliaların bu hareketi sayesinde solunan havada bulunan toz, mukusa yapışmakta ve silia hareketleriyle farinkse doğru iletilmektedir. Tozlar farinkse geldiğinde yutulur ya da dışarı atılır. Tozların yutulması ya da dışarı atılması işlemi akciğerlerin temiz tutulması açısından çok önemlidir. Solunumla alınan küçük parçacıklar ve bakteriler, havayolu ve alveoller boyunca bulunan fagositler tarafından fagosit edilerek; bu parçacıkların kan dolaşımına ya da diğer akciğer hücrelerine geçmesi engellenmiş olur. Kapiller damarlar ile temas eden alveol yüzeyinin toplam alanı 75 m<sup>2</sup> dir (6, 7).

Alveoller ince hava keseleridir. Alveollerin normal işlevlerini sürdürebilmeleri için sürekli açık tutulmaları ve içlerinin de biraz nemli olması gerekmektedir. Surfaktanlar, alveollerin yüzey gerilimini azaltan maddelerdir. Surfaktanlar yardımı ile alveollerin yüzey gerilimleri azaltılarak büzölmeleri engellenir. Eğer ortamda yeterli miktarda surfaktan yoksa alveollerin içlerinin hava ile dolması zorlaşır (6, 7).

Solunum sistemi, kan ile atmosfer arasında gaz değişimini sağlayabilecek şekilde özelleşmiş bir sistemdir. Solunum sistemindeki gaz değişimi ile atmosferdeki oksijen kana alınırken, hücrelerde metabolizma sonucu oluşan CO<sub>2</sub> atmosfere verilir (Şekil 8). Gaz değişimi; alveoller, alveol keseleri, alveol kanalları ve respiratuvar bronşiyollerde yapılmaktadır. Solunum ile dışarıya ısıtılmış ve nemlendirilmiş hava verilmesinden dolayı sıcaklık ve su buharı kaybı görülür. Hücrelerde ATP sentezi sırasında O<sub>2</sub> tüketilerek CO<sub>2</sub> oluşur. Hücrelerde oluşan CO<sub>2</sub>, difüzyonla kana geçer. Hücrelerde ATP sentezi sonucu CO<sub>2</sub> ile yüklenen venöz kan önce kalbin sağ tarafına gelir daha sonra buradan oksijenlenmek üzere akciğerlere pompalanarak alveollere ulaşır (4, 5).



Şekil 8. Solunum sisteminde gaz değişimi (145).

Akciğer göğüs boşluğunda kalbin yanında diyaframın üstünde bulunan süngerimsi yapıya sahip bir organdır. Sağ ve sol akciğer olmak üzere 2 tanedir. İki akciğer de plevra adı verilen akciğer zarıyla çevrilidir. Sağ ve sol akciğer vücudun sol tarafında kalp bulunması nedeniyle şekil ve büyüklük olarak birbirinden farklılık göstermektedir. Sol akciğer 3 lobdan oluşur. Sağ akciğer ise sol akciğere göre daha küçüktür ve 2 lobdan oluşmaktadır (11). Akciğerin iç yüzeyi birçok kılcıl damar ve alveol olarak bilinen yaklaşık otuz milyon civarında minik keseler içeren süngerimsi dokudan yapılmıştır. Alveoller, terminal bronşiyollerin sonunda bulunan gaz değişimin yapıldığı hava kesecikleridir (Şekil 9). Üzüm salkımına benzeyen bir görünümüne sahiptir. Alveol duvarı kesecik şeklindedir ve içinde elastik lif bulunan tek katlı yassı epitel dokudan oluşmuştur. Etrafı zengin kılcıl damar ağıyla çevrilidir. Zengin kapiller ağ sayesinde gaz alışverişi gerçekleşmektedir. Kapiller damarların endotel hücreleri, alveol endotel hücrelerinden interstisiyel sıvı ve bazal bir membranla ayrılmıştır. Kapiller damarlar ile temas eden alveol yüzeyi alanı büyüktür ve bu nedenle oksijen ile karbondioksit büyük miktarlarda ve hızlı bir şekilde değişmektedir (2).



Şekil 9. Alveol yüzeyinde gaz değişimi (146).

Akciğerler ve akciğerleri içinde barındıran göğüs kafesi elastik yapıdadır. Akciğerler göğüs kafesinin içinde serbest haldedir göğüs kafesi duvarlarına herhangi bir yapıyla bağlı değildir. Akciğerlerin göğüs duvarından ayrılmamalarını sağlayan ve onları göğüs kafesine doğru çeken güç, iki plevra yaprağı arasındaki sıvı ve negatif basınçtır. Plevra göğüs boşluğunu çevreleyen ve akciğerleri örten iki yapraklı bir zardır. Dıştaki yaprağı parietal plevra, içteki yaprağı ise visseral plevra olarak adlandırılır. Parietal plevra göğüs duvarına yapışık durumda bulunurken visseral plevra akciğerlerin üzerini

 evreler. Bu iki zar arasında az miktarda sıvı bulunur. Yapraklar birbirlerine yapışık gibidir ve birbirlerinden ayrılmaları oldukça zordur. Soluk verirken; plevra yaprakları arasındaki negatif basınç, akciğerlerin göğüs kafesinden ayrılmalarına izin vermez ve akciğerlerin tekrar göğüs duvarına doğru çekilmesini sa lar. Akci erlere havanın girişı ile plevra boşluğundaki negatif basınç ortadan kalkar. Plevra boşluğundaki negatif basınç nefes alma esnasında, daha da negatif değere d ş r ld   nden bazı kasların kasılması ile genişleyen göğüs kafesi sayesinde akciğerlerin göğüs duvarına doğru çekilmesi sağlanır. Diyafram solunumun en önemli kasıdır. Diyaframın kasılması ile önce göğüs kafesi genişler ardından akciğerler genişler ve akciğerin iç basıncı düşer. Tüm bu olaylar dışarıdaki havanın akciğerlerin içine  ekilmesiye sonuçlanır. Transportta en önemli bariyeri alveolar epitelial hücreler oluşturur. Alveolar epitelyum hidrofilik etkin maddelere karşı düşük geçirgen bir yapıya sahipken; su, gaz ve lipofilik bileşenlere oldukça geçirgendir (8-10).

Primer bronşların duvarları, trakea gibi, tamamlanmamış kıkırdak halkalar tarafından desteklenmektedir. Akciğerlerde, halkaların yerini, bronşu tamamen çevreleyen düzensiz şekilli kıkırdak plakaları alır ve bronşa trakeanın düzleştirilmiş arka duvarı ile oval şeklinin aksine silindirik bir şekil verir. Daha fazla dallanma ile kıkırdak plakaları giderek küçülür ve sayıları azalır, hava yollarını çevreleyen düz kaslar daha yaygın hale gelir. Kıkırdak solunum yolunun yaklaşık 1 mm çapa ulaştığı noktada kaybolur ve bu noktaya bronşiol denir (2, 3).

Hava yollarının çeşitli seviyeleri işlevsel olarak ya iletken ya da solunum yolları olarak kategorize edilebilir. Gaz alışverişi yapmayan hava yolu, solunum yollarının iletken bölgesini oluşturur ve trakeadan terminal bronşiolle kadar uzanır. Solunum bölgesi, gaz değişimi ile ilgili olan hava yollarını içerir ve respitatuvar bronşioller, alveolar kanallar ve alveolar keselerden oluşur (10, 13).

Bronş ve bronşiyollerin temel görevi havayı soluk borusundan akciğerlere taşımadır. Duvarlarında bulunan düz kas dokusu akciğere giren hava akışının düzenlenmesine yardım eder. Vücudun daha büyük hacimde havaya ihtiya ı olduğu durumlarda örneğin egzersiz sırasında düz kaslar gevşeyerek bronş ve bronşiyollerin dilatasyonunu sa lar. Dilate olan hava yolu hava akışına daha az direnç gösterir ve daha çok havanın akciğerlerin içine girmesine izin verir. Düz kas lifleri dinlenme halinde hiperventilasyonu önlemek amacıyla kasılabilirler. Ayrıca bronş ve bronşiyoller havadan gelen kirlilikleri akci erlerden uzaklaştırmak için epitel tabakalarında bulunan mukus ve siliaları da kullanırlar (11).

Alveoller, hava ile kan arasındaki gerçek gaz değişim yeridir. Her akciğerde yaklaşık 100 milyon alveol bulunur (13).

Her bir alveol yaklaşık 0.2 mm çaplı ince çeperli çok yüzlü bir odacıktır. Her bir alveol, bir noktada bir alveolar kanal ve bir alveol kesesi aracılığıyla solunum yolu bronşiol ile birleşir. Bitişik alveolar hava boşlukları arasındaki doku alveolar septum olarak adlandırılır. Alveollerdeki gazlar hava-kan bariyerini geçerken, alveoler epitel, kılcal endotel ve bazal membranlardan kana ulaşmadan geçmelidir ve bu mesafe yaklaşık olarak 500 nm'dir (10).

### **1.6 Pulmoner İlaç Taşıyıcı Sistemler**

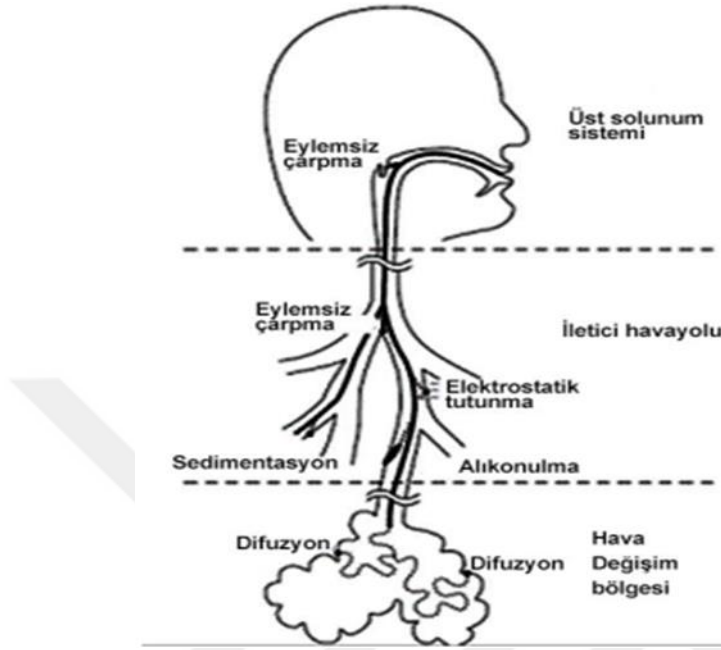
Pulmoner ilaç taşıyıcı sistemler (PİTS) ncelikle solunum yolu hastalıklarının tedavisinde kullanılan sistemlerdir. İlaçlar doğrudan etki bölgesine verilerek bölgesel etki sağlanmaktadır. İlaçlar akciğeri etkileyen durumların lokal tedavisi için doğrudan akciğere verilebilir. Pulmoner yol ile ilaç uygulaması parenteral ve oral yola alternatif olması nedeniyle son dönemlerde oldukça önem kazanmıştır. Pulmoner yöntemin önem kazanmasının sebebi; akciğerlerin zengin damar ağına sahip olması, enzimatik aktivitesinin düşük olması, ince alveoler epitelyuma (0.1-0.2  $\mu\text{m}$ ) ve geniş yüzey alanına (100 m<sup>2</sup>) sahip olmasıdır (17, 18). Alveoler epitelyum ince (0.5-1  $\mu\text{m}$ ) olduğu için uygulanan ilaç kan damarlarına kolay bir şekilde ulaşabilmektedir. Sağlıklı bir insanda akciğerlerin ağırlığı ortalama 0.6 kg'dır ancak oldukça hızlı kan akışı (5700 mL/dk) görülmektedir. Akciğerlerde kan akış hızı, mide ve barsakları da içeren portal sisteme göre (1125 mL/dk) yaklaşık beş kat daha hızlıdır (19). İlaçların pulmoner epitelyumdan pasif ve aktif transport yoluyla beraber lenfatik sistem tarafından da emilimleri gerçekleşir (20, 21). Pulmoner yol ile ilaç uygulaması, en çok bölgesel olarak etkili olan etkin maddeler için tercih edilmektedir. Astım (22), kistik fibrozis (23), akciğer kanseri (24) ve tüberkuloz (25, 26) tedavisinde lokal olarak pulmoner yolla ilaç verilebilmektedir. Örneğin bronkodilatörler, antibiyotikler, antiproteazlar, kemoterapi ilaçları, peptit/proteinler, akciğer surfaktanları, aşılar, gen tedavisinde kullanılan etkin maddeleri içeren ilaç taşıyıcı sistemler pulmoner yol ile uygulanabilmektedir (19, 27). Pulmoner ilaç taşıyıcı sistemlerin avantaj ve dezavantajları Tablo 1' de belirtilmiştir.

Tablo 1. Pulmoner ilaç taşıyıcı sistemlerin avantajları ve dezavantajları.

| <b>Avantajları</b>                                                                                 | <b>Dezavantajları</b>                                                                                                                                 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Pulmoner yolla ilaç verildiğinde ilacın karaciğerden ilk geçiş etkisine uğraması engellenmiş olur. | İlaçların orofarinkste birikmesi sonucu bölgesel yan etkilerin ortaya çıkması                                                                         |
| Akciğerler absorpsiyon için uygun geniş bir yüzey alanına sahiptir                                 | Hastanın pulmoner ilaç cihazlarını doğru bir şekilde kullanamaması                                                                                    |
| Akciğerlerin düşük enzimatik aktiviteye ve zengin damarlanma yapısına sahip olması                 | İlaç emilimi mukus tabakasının fiziksel bariyeri ile sınırlanabilir                                                                                   |
| Hızlı absorpsiyon ve etkinin hızlı başlaması                                                       | Fizyolojik ve farmasötik engeller gibi çeşitli faktörler akciğerlere ilaç verilisinin tekrarlanabilirliğini etkiler                                   |
| Mide pH'ının etkilerinden kaçınma ve gastrointestinal rahatsızlıkların önlenmesi                   | Akciğerler, ilaç uygulama kompleksi için sadece erişilebilir yüzey değildir, aynı zamanda ilaç uygulama cihazları da ilaç hedeflemesi için gereklidir |
| Eşdeğer terapötik etkileri elde etmek için oral yoldan daha küçük dozlar gereklidir.               |                                                                                                                                                       |

PİTS'lerin biyoyararlanımını etkileyen faktörler; partikülün çapı, şekli, dansitesi, çözünürlüğü, yükü, hidroskopiesitesi, pH'sı ve yüzey özellikleridir. Biyoyararlanımda tek başına pulmoner yol ile uygulanan ilaç şekillerinin özellikleri etkili değildir. Bunların yanı sıra hastanın yaşı, cinsiyeti, anatomisi, akciğer hacmi ve hastalık durumu da etkin maddenin biyoyararlanımını etkileyen diğer etmenlerdir (5, 28, 29). Yapılan çalışmalarda katyonik ve hidrofobik küçük moleküllü etkin maddeler akciğerlere verilmiş ve bu maddelerin uzun süre kanda kaldığı, etkin maddenin yarı ömrünün uzadığı görülmüştür (30). Ayrıca etkin maddenin akciğerlerden sistemik dolaşıma geçmesinde molekül ağırlığı da oldukça etkili bir faktördür (31).

## 1.7 Partiküllerin Akciğerde Tutulma Mekanizmaları



Şekil 10. Partiküllerin akciğerde tutulma mekanizmaları.

Akciğere hedeflenen partiküllerin solunum yollarında tutulmasında etkili olan beş mekanizma vardır. Bu mekanizmalar; yerçekimi sedimentasyonu, eylemsiz çarpma, Brown difüzyonu, alıkonulma (interception) ve elektrostatik çökmedir. Genellikle 1-5  $\mu\text{m}$ 'den daha büyük partiküllerin tutunmasında eylemsiz çarpma ile sedimentasyon etkiliyken, 0,1  $\mu\text{m}$ 'den daha küçük partiküllerin tutunmasında ise difüzyon etkilidir. 0,1-1  $\mu\text{m}$  arasında boyuta sahip partiküller için ise hem sedimentasyon hem de difüzyon önemlidir (14, 32).

### 1.7.1 Yerçekimi Sedimentasyonu

Sedimentasyon; akciğerlerin içinde daha düşük hava akımında gerçekleşen, partiküllerin yer çekimi etkisi ile yerleştiği, zamana bağlı bir süreçtir. Partiküllerin çökmesine daha fazla zaman tanıyan solunum hareketleri (nefes tutma gibi) akciğerdeki partikül birikimini arttırabilir. Bundan dolayı hastaların soluk aldıktan sonra bir süre nefeslerini tutmaları gerekmektedir (34). Sedimentasyon, hava akış hızının düşük olduğu küçük ileten hava yollarında, parçacıkların 0,5  $\mu\text{m}$ 'nin üzerinde ve 5  $\mu\text{m}$ 'nin

altında olduğu durumlardaki birikim için önemli bir mekanizmadır. Sedimentasyon partikül boyutu, yoğunluğu ve solunum yollarında kalma süresi arttıkça artmakta ve nefes alma oranının artmasıyla azalmaktadır (33).

### **1.7.2 Eylemsiz Çarpma**

Bir partikülün hava yolu yüzeyinde eylemsizlik prensibiyle birikmesi eylemsiz çarpma olarak adlandırılır. Genellikle hava akış hızlarının yüksek olduğu ve toplu hava akışı yönündeki hızlı değişimlerin sıklıkla gerçekleştiği yerlerde büyük ölçüde eylemsizlik kuvveti oluşturan ekstratorasik ve geniş iletken hava yollarında meydana gelir. Çarpma olasılığı, artan hava hızı, solunum hızı, parçacık boyutu ( $> 5\mu\text{m}$ ) ve yoğunluk arttıkça artmaktadır (33). Birikim miktarı hava akışına ve hastalık durumuna göre değişiklik gösterir. Örneğin; bronkokonstrüksiyon veya iltihaplanma gibi nedenlerin hava yolunun daraltması üst havayollarında ki çarpışmayı arttırır. Artmış bir hava akımı boğaz ve üst hava yollarında çarpmanın artmasına neden olacaktır. Bundan dolayı hastalara yavaşça ve derin nefes almaları söylenmektedir (34).

### **1.7.3 Brown Difüzyonu**

Difüzyon göreceli olarak daha yavaş bir işlemdir (34). Yeterince küçük boyuttaki partiküllerin tutulmasında difüzyon etkili olabilmektedir. Difüzyon ile tutulma, küçük aerosol partikülleri ile gaz partiküllerinin sürekli rastgele çarpışması sonucu meydana gelen Brownian hareketine bağlıdır. İn hale edilen ilacın partikül boyutunun azalması ile difüzyonla partikülün tutulması artar. Hastanın nefesini tutma süresinin artmasına bağlı olarak partikülün hava yolunda kalma süresi uzar ve difüzyon artar (35). Submikrometre büyüklüğündeki parçacıklar (özellikle  $<0.5\ \mu\text{m}$ ), çevredeki hava moleküllerinin etkisiyle rastgele bir hareket kazanır. Bu Brown hareketi daha sonra, özellikle toplu hava akışının çok düşük olduğu küçük hava yolları ve alveollerde, difüzyon yoluyla parçacık birikimine neden olabilir (33).

### **1.7.4 Alıkonulma (Interception)**

Alıkonulma ve elektrostatik tutunma mekanizmaları, partikülün boyutundan bağımsız ancak partikülün fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak gerçekleşir. Alıkonulan partiküller genellikle ince uzun partiküllerdir. Elektrostatik tutunma, yüklü

partiküllerde meydana gelir. Partikül hava yolunun duvarı ile temas ettiğinde, kütle merkezi akışkan içinde kalabilmesine rağmen birikim oluşabilir (35).

## 1.8 Astım

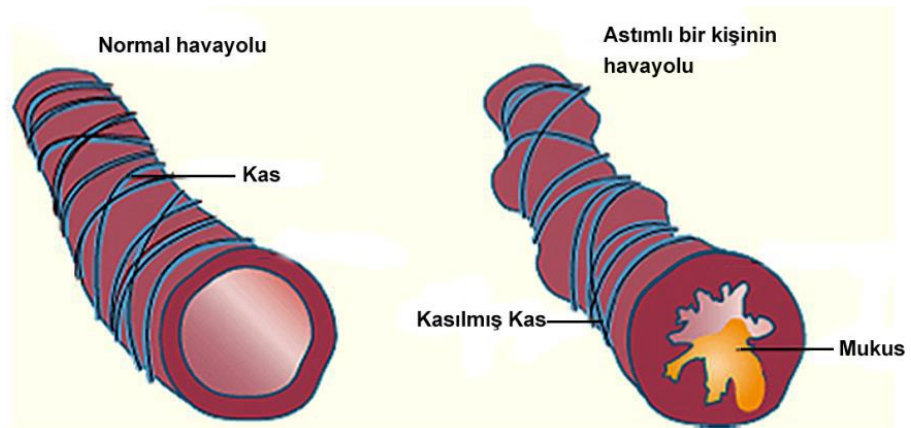
### 1.8.1 Tanımı

Astım yaygın görülen ve her yaş grubunu etkileyen, başta mast hücreleri olmak üzere eozinofiller, T-lenfositler gibi birçok hücrenin rol oynadığı kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Bu kronik hava yolu inflamasyonu duyarlı kişilerde özellikle geceleri veya sabahın erken saatlerinde olmak üzere bronş hiperreaktivitesi ve nöbetler şeklinde öksürük, dispne, hışıltılı/hırıltılı solunum, göğüste sıkışma yakınmalarının bir veya birkaçı ile seyreden ataklara neden olur (59) .

Astım, diffüz, değişken genellikle geri dönüşümlü hava yolu obstrüksiyonudur. Havayollarının daralmasına dış ortamda bulunan çeşitli alerjenler, bazı ilaçlar veya nöral mekanizmalar sebep olabilir. Bu etkenlere karşı vücudun savunma mekanizması olarak, akciğerlerde eş zamanlı şekilde mast hücreleri, eozinofiller ve T-lenfositleri başta olmak üzere çeşitli hücrelerin yer aldığı kronik inflamasyon oluşur (60, 61) .

### 1.8.2 Fizyopatolojisi

Astım patogenezi tam olarak açıklanamamakla beraber temel mekanizmanın hava yolu duvarındaki inflamasyon ve bunun sebep olduğu hava yolu aşırı duyarlılığı ve hava yolu obstrüksiyonu olduğu öne sürülmektedir.



Şekil 61. Astımlı bronşiyol ve normal bronşiyol (147).

Hava yolu obstrüksiyonuna neden olan 3 mekanizma vardır. Bu mekanizmalar;

Bronş duvarlarındaki düz kasların kasılması sonucu oluşan bronkokonstrüksiyon, damar dışına protein ve su sızması sonucu gerçekleşen mukoza ödemi ve mukus salgısının artmasıdır.

### 1.8.3 Faktörler

Astımı semptomlarını tetikleyen ve astımın gelişmesine neden olan risk faktörlerinin birincisi; genetik faktörler, obezite, cinsiyet gibi kişisel faktörleri ikincisi ise alerjenler, mesleki duyarlılaştırıcılar, sigara, enfeksiyonlar, ilaçlar ve besinler, hava kirliliği gibi çevresel faktörleri kapsar (68) .

En önemli astım risk faktörünün atopi olduğu ileri sürülmektedir. Atopi, herhangi bir alerjene karşı fazla miktarda IgE (İmmunoglobulin E) sentezlenmesi şeklinde tanımlanabilir. Atopik kişilerde astım gelişme ihtimali daha fazladır. Atopik dermatitli ya da alerjik rinitli hastalarda astımının yüksek oranlarda (%40-70) görülmesi atopinin astımda önemli bir risk faktörü olduğunu gösterir. Bu hastalar antijenik uyarıma B lenfositlerden spesifik IgE salınımı ile reaksiyon verirler. Oluşan reaksiyon mast hücreleri, bazofiller ve makrofajlarda önceden oluşmuş histamin ve eozinofilik kemotaktik faktör gibi mediatörlerin salınımına yol açar. Sonuç, bronkokonstrüksiyon ve hava yollarında mukus artışı ve ödemdir.

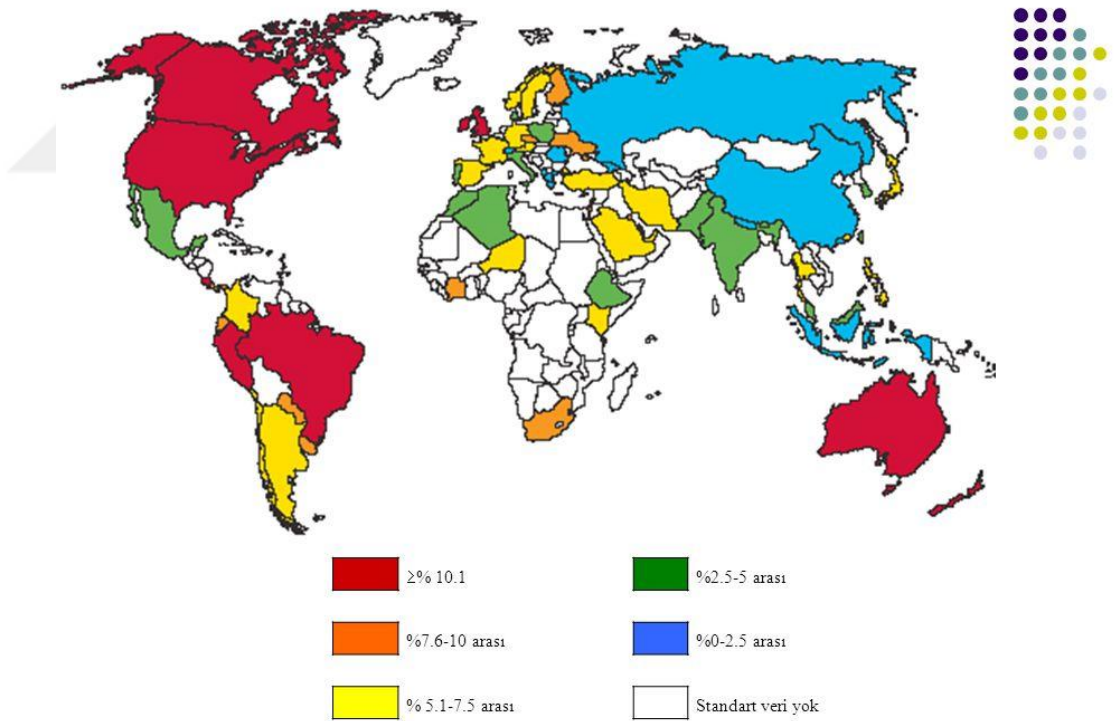
Astım, alerjik (ekstrinsik) ve idiyosenkratik (intrinsik) astım olmak üzere nöbetleri tetikleyen faktörlere göre ikiye ayrılır. Alerjik astımda hastanın öyküsünde ürtiker, rinit, egzema gibi alerjik hastalıklar bulunmaktadır. En kolay tanınan astım fenotipi alerjik astımdır. Alerjik astım genellikle çocukluk çağında başlar. Hastaların büyük kısmında egzama, alerjik rinit ya da gıda veya ilaç allerjisi gibi alerjik hastalıklara yönelik aile öyküsü bulunmaktadır. Bu hastaların tedavi öncesi uyarılmış balgam incelenmesi genellikle eozinofilik hava yolu inflamasyonunu gösterir. Alerjik astıma sahip hastaların çoğu inhale kortikosteroidler ile yapılan tedaviye olumlu cevap verir (69) .

İdiyosenkratik astımda ise hastanın öyküsünde alerjik bir durum olması gerekmez hastalık genelde orta yaşlarda başlamaktadır. Bu hastaların yaklaşık %10 nunda aspirin veya diğer antiinflatuar analjezikler astım krizini alerjik olmayan bir mekanizmayla tetikler. Genel olarak hastalık erken yaşta başlıyorsa alerjik astım, geç başlıyorsa alerjik olmayan astım ya da bu iki tipin karması olduğu söylenebilir (70) .

#### 1.8.4 Prevalansı

Astımın dünyada yaklaşık olarak 300 milyon kişiyi etkilediği düşünülmektedir (Şekil 12) (62) . Son yıllarda hem çocuklarda hem de yetişkinlerde görülen yaygın bir hastalık haline gelmiştir. Astım prevalansındaki artış ile dünyadaki atopik duyarlılık artışı arasında ilişki olduğu düşünülmektedir. Alerjik, rinit ve egzama gibi diğer allerjik hastalıklardaki artış ile astım görülme sıklığındaki artış birbirine paraleldir (63) .

Ülkemizdeki bölgesel prevalans çalışmaları sonuçları astım prevalansının çocuklarda %2-16 arasında dağılıma sahip olduğunu göstermektedir. Ulusal düzeyde yapılan çalışmalarda ise çocuklarda astım prevalansı %6-15 arasındadır (64, 65). Erişkinlerde yapılan bölgesel prevalans sonuçları %2-17 arasında değişmektedir. Çok merkezli PARFAIT çalışmasında kırsal alanlarda kadınlarda ve erkeklerde astım görülme sıklığı sırasıyla %11.2 ve %8.5 olarak bildirilmiştir. Kentsel alanlarda bu oran kadınlarda %7.5, erkeklerde ise %6.2'dir (66, 67).



Şekil 72. Dünyada astım prevalansı.

### 1.8.5 Tedavisi

Astım tedavisinde kullanılan ilaçlar kontrol edici ve rahatlatıcı ilaçlar olarak ikiye ayrılır.

Kontrol edici ilaçlar her gün ve uzun süre kullanılan ilaçlardır. Antiinflamatuvar etkileri sayesinde astımın kontrol altında tutulmasını sağlarlar. İn hale ve sistemik steroidler, inhale steroidler ile birlikte kullanılan uzun etkili inhale beta2-agonistler, lökotrien antagonistleri, yavaş salınan teofilin, uzun etkili antikolinerjikler, anti-IgE ve sistemik steroid dozunun azaltılmasını sağlayan ilaçlar kontrol edici ilaçlar grubunda yer almaktadır. Günümüzde kullanılan en etkili kontrol edici ilaçlar inhale steroidlerdir.

Rahatlatıcı ilaçlar gerektiği zaman kullanılmaktadır. Bu ilaçlar hızlı bir şekilde etki ederek bronkokonstrüksiyonu düzeltir ve astım semptomlarını giderirler. İnhalasyon yoluyla uygulanan hızlı etkili beta2-agonistler, kısa etkili antikolinerjik ilaçlar, kısa etkili teofilin ve kısa etkili oral beta2-agonistler bu gruba dahil edilirler. Acil durumlarda bunlara ilave olarak magnezyum ve sistemik steroidler de tedavide kullanılmaktadır (62, 71).

### 1.9 Akciğer Hastalıklarında Kullanılan İnhaler Dozaj Formları

İyi bir inhalasyon cihazı ideal olarak 0,5 - 5 µm aralığında uygun bir aerosol ve tekrarlanabilir ilaç dozu üretmelidir. İlaç formülasyonunun fiziksel ve kimyasal stabilitesini korumalı, basit, kullanışlı, ucuz ve taşınabilir olmalıdır (36).

Akciğer hastalıklarında kullanılan inhaler dozaj formları, nebulizörler (nebulizatörler), ölçülü doz inhalerleri (ÖDİ'ler) ve kuru toz inhalerleri (KTİ'ler) olmak üzere üç ana kategoride incelenmektedir.

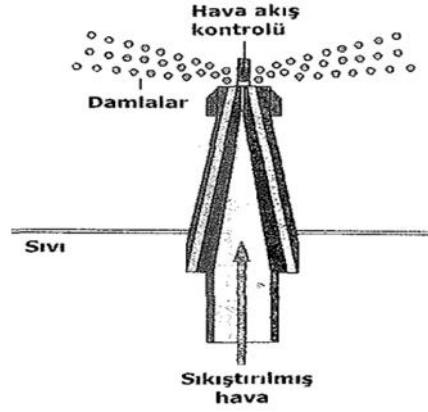
#### 1.9.1 Nebulizörler

Nebulizörler, ÖDİ'ler ve KTİ'ler gibi sistemlerle verilemeyen büyük hacimdeki sıvıların ve süspansiyonların verilmesi için uygun sistemlerdir. Yüksek basınçla ya da ses dalgaları ile büyük hacimli çözelti veya süspansiyonları buhar haline getirerek akciğere ulaşmasını sağlarlar. Nebulizörlerde kullanılacak formülasyonlar, su, yardımcı çözücü (etanol, gliserin, propilen glikol) ve yüzey etkin madde içermektedir. Özellikle yüksek terapötik dozda kullanılan proteinler için uygun sistemlerdir (37, 15).

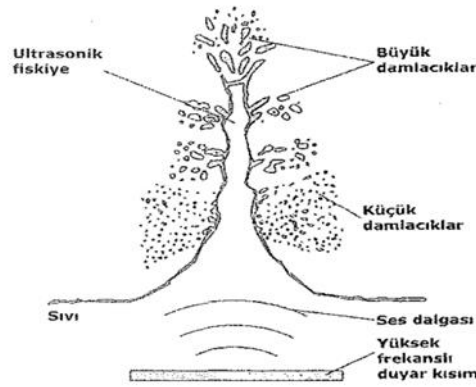
Piyasada jet nebulizörler (yüksek basınçla) (Şekil 13) ve ultrasonik nebulizörler (ses dalgalarıyla) (Şekil 14) olmak üzere iki tip nebulizör bulunmaktadır. Nebülizörler inhalasyon tedavisinde piyasaya sunulan ilk cihazlardır. Jet nebulizörlerde aerosol, ince bir sıvı çözeltisi tabakasına karşı yönlendirilen basınçlı bir kaynaktan yüksek hızlı hava akımı ile oluşturulmaktadır. Ultrasonik nebulizörlerde ise, çözeltiyi aerosol haline getiren mekanizma piezoelektrik bir kristalin titreşmesi yoluyla aktive olmaktadır. Nebülizörler ile akciğerlere ÖDİ veya KTİ'ye göre daha fazla ilaç taşınabilir (38).

Nebulizasyon işlemine genellikle peptit/protein yapılı etkin maddeler dayanıklıdır. Ancak ultrasonik nebulizörlerde, kullanım sırasında sıcaklıkta artış oluşabilmektedir. Bu da özellikle peptit ve proteinlerin stabilitesinde sorun yaratmaktadır. Piyasada, nebulizatörlerde kullanılmak üzere etken maddenin çözelti ve/veya süspansiyon halini içeren flakon, ampul veya nebüller mevcuttur. Bu preparatlar nebulizatördeki sıvı haznesine (rezervuara) damlatılarak veya boşaltılarak hastanın solumasına hazır hale getirilir (37).

Hastalıkların akut atakları esnasında yüksek dozda ilaç verilmesi gerektiğinde, hastaların inhaler cihazları doğru kullanamamaları durumunda, yaşlılarda ve çocuklarda nebulizörler kullanılabilir. 'El-tipi' inhalatörler, inhalasyon yoluyla ilaç kullanmak için yaygın olarak kabul görmüş tek doz ilaç sağlayan cihazlardır. Bu cihazların kullanımında hasta-cihaz koordinasyonu çok önemlidir. İnhaler cihazlar farklı çaplardaki partiküllerden oluşan aerosol bulutu oluştururken nebulizörler ise belli partikül çapında üretim yaparlar. Farklı çaplardaki partiküllerden oluşan aerosol bulutu oluşturan inhaler cihazlarda, ilacın etki edeceği akciğer bölümünü seçme olanağı kısıtlıdır. Günümüzde inhaler cihazlarla verilebilecek ilaçlar sınırlı iken hemen her ilaç nebulizör ile verilebilmektedir. Yüksek doz ilaç uygulamamasında genellikle nebulizörler tercih edilir. Kullanılacak ilacın inhaler formunun bulunmaması (rh-DNAase, antibiyotikler v.b.), akciğerin daha çok terminal ünitelerine ulaşmak istenmesi ve hastanın 'el-tipi' inhaler cihazları kullanamayacak durumda olması gibi durumlarda kesinlikle nebulizör kullanılması gereklidir. Yüksek doz gereksinimi ya da hastanın uyumu hastaya göre değerlendirilebilecek göreceli durumlardır. Kullanımından sonra cihazın parçalarının temizlenmesi de kullanımını zorlaştıran, enfeksiyon riskini arttıran dezavantajlardan biridir (39, 40).



Şekil 13. Jet nebulizör sistemde damlacık dağılım mekanizması.



Şekil 14. Ultrasonik nebulizörde damlacık dağılım mekanizması.

### 1.9.2 Ölçülü Doz İnhalerler (ÖDİ)

Ölçülü doz inhaler (ÖDİ), gaz içerisinde, çözelti veya süspansiyon şeklinde, katı veya sıvı haldeki etken maddelerin itici bir gaz ile cihazdan püskürtülmesi esasına dayanarak oluşturulan bir farmasötik şekildir. Püskürtme ile soluma aynı anda yapılmalıdır. Çok dozluk preparatlardır. Taşınması kolay ve ucuz olması gibi avantajlarının yanında, itici gaz içermesi ve kullanımında el-ağız koordinasyonu gerektirmesi gibi dezavantajları da bulunmaktadır.

Basınçlı inhalerler, 1944 yılından beri, basınçlı ölçülü doz inhalerler ise 1955 yılından beri kullanılmaktadır. ÖDİ'lerin en büyük avantajı maliyetlerinin düşük olmasıdır. ÖDİ'ler ile 200'ün üzerinde dozlama yapılabilir ve uygulanan dozlar tekrarlanabilir ve homojendir. Ayrıca ÖDİ'ler etkin maddeyi oksidasyon ve mikrobiyolojik bozunmaya karşı korur. Bu ÖDİ'lerin en büyük avantajlarından biridir. ÖDİ ve KTİ'lerin

avantajları yanında dezavantajları da bulunmaktadır. En büyük sorun, ilacın akciğerlerin derinlerine kadar ulaşamamasıdır. Yapılan sintigrafik çalışmalarla da bu durum gösterilmiştir (37, 41, 42). Bazı durumlarda ilaç yutma veya öksürme ile atılarak akciğerlerin derinlerine kadar ulaşamaz. Bu gibi durumlarda biyoyararlanımda düşüş görülebilmektedir (43).

Genellikle bir ÖDİ sistemi, aktive edici bir kısım, ölçülü bir valf, mikronize ilacı veya çözeltiyi içeren basınçlı bir taşıyıcı kap ve püskürtücü içermektedir. Formülasyon, çözelti veya süspansiyon şeklinde olabilir (Şekil 15). Formülasyonda etkin maddenin yanında yüzey etkin madde, koku verici ajanlar, çözücü, kompleksleşme ajanları, itici gazlar ve antimikrobiyal koruyucular bulunmaktadır. ÖDİ'lerin çalışması için itici gazlar kullanılmaktadır. En çok kullanılan itici gazlar; triklorofluorometan (CFC-11), diklorodifluorometan (CFC-12) ve diklorotetrafluorometan (CFC-114)dır (15).



Şekil 15. Ölçülü Doz İnhaler.

ÖDİ'lerde kullanılan kloroflorokarbon (CFC) türü itici gazlar, ozon tabakası üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı Montreal Protokolü (1989) ile yasaklanmıştır. Batı ülkelerinde hidrofloroalkanlar (HFA-134a ve HFA 227) alternatif itici gazlar olarak kullanılmaya başlanmıştır (34).

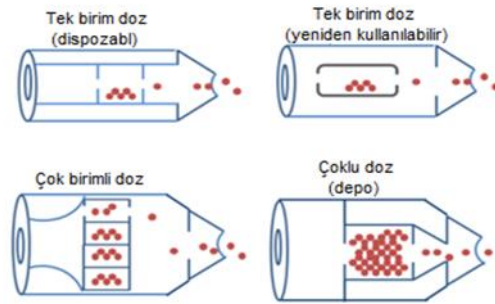
### 1.9.3 Kuru Toz İnhalerler (KTİ)

KTİ'ler, katı partiküllerin bir depolama alanında, kapsülde veya bilister içinde hapsedilmesiyle oluşturulmuş ve hastanın soluması ile aktive olan farmasötik şekillerdir (Şekil 16). Etkin maddenin tek tek kapsül veya bilister içerisinde olması,

kesin dozaj sağlaması açısından depolama alanı içerisinde olmasına tercih edilir. İtici gaz içermemesi ve el-ağız koordinasyonuna gerektirmemesi KTİ'lerin avantajlarıdır. Kuru toz inhaler ilaç taşıyıcı sistemlerin avantaj ve dezavantajları Tablo 2'de açıklanmaktadır. Tek doz ve çok dozlu preparatları bulunmaktadır.

İlk kuru toz inhaler (KTİ) sistem, ÖDİ sistemlere alternatif olarak 1960-1970 yıllarında, kloroflorokarbon (CFC) itici gazlarının ozon tabakasına vermiş olduğu zarardan dolayı geliştirilmiştir (15, 42). KTİ'ler etkin maddeyi ince partikül bulutu şeklinde verirler. İnhalasyon cihazına ilacı toz şeklinde içeren inhaler kapsüller konulmaktadır. KTİ'lerin diğer aerosol sistemlerine göre birçok avantajı bulunmaktadır. Peptit/protein yapılı ilacın pulmoner uygulaması için uygun sistemlerdir. Taşınması, uygulanması kolaydır. Ucuz sistemlerdir. Ozon tabakasına zarar vermezler ve formülasyonların stabilitesi yüksektir. Ayrıca KTİ'ler ile 10 µg - 20 mg dozlama aralığında ilaç verilebilmektedir. KTİ'lerin ticari pazarlanan birçok türü bulunmaktadır (44).

KTİ'lerin hazırlanmasında püskürterek kurutma işlemi kullanılabilir. Hazırlanmalarında yardımcı madde olarak mannitol ve laktoz sıklıkla kullanılmaktadır. Bu yardımcı maddelerin toksik olmaması ve uygulandıktan sonra parçalanabilmesi nedeniyle pulmoner yolla kullanılabilirliği FDA tarafından da onaylanmıştır (45).



Şekil 16. Doz sayısına göre sınıflandırılan KTİ cihazları.



Şekil 87. KTİ cihazın parçaları.

Tablo 2. Kuru toz inhalelerin avantajları ve dezavantajları.

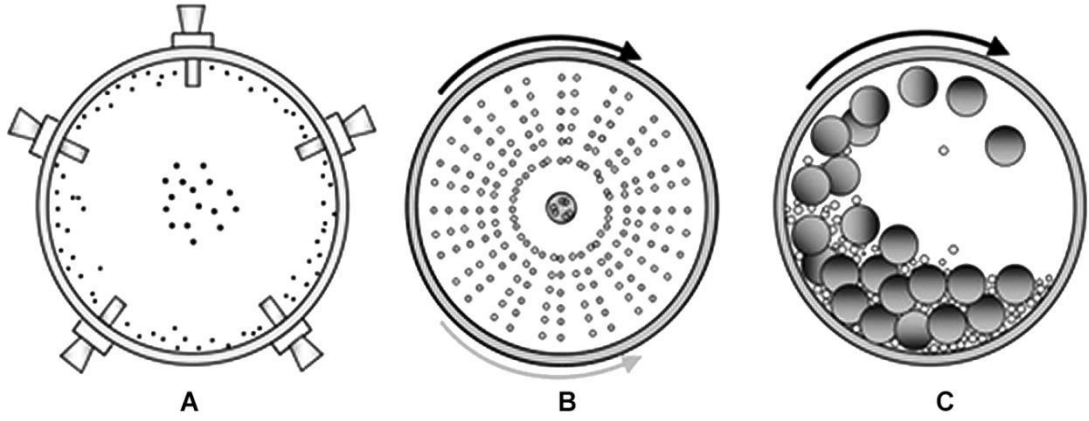
| Avantajları                                             | Dezavantajları                                                       |
|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Çevresel sürdürülebilirlik, itici gaz içermemesi        | Birikme verimliliğinin hastanın solunumsal hava akışına bağlı olması |
| Az ya da hiç hasta koordinasyonuna ihtiyaç göstermemesi | Doz tekdüzeliği problemleri için potansiyel oluşturması              |
| Formülasyon stabilitesi                                 | Daha karmaşık / pahalı geliştirme ve üretim                          |

## 2 Kuru Toz İnhaler Hazırlama Yöntemleri

İnhaler sistemler, öğütme, püskürterek kurutma, püskürterek sondurarak kurutma, çözücü ile çöktürme teknikleri ile süperkritik sıvı tekniği ve bu yöntemlerin bir arada kullanılması ile üretilmektedir. Püskürterek kurutma saydığımız yöntemler arasında en çok kullanılan yöntemdir.

### 2.1 Öğütme

Partikül boyutunun küçültülmesi için kullanılan birçok öğütme yöntemi vardır. Ancak bunlardan sadece birkaçı partikül büyüklüğünü, akciğerler için uygun olan 2-5  $\mu\text{m}$  arasına küçültebilmektedir. Etkin maddenin partikül boyutunun küçültülmesinde kullanılan jet öğütücü, dişli öğütücü ve bilyalı öğütücü olmak üzere üç çeşit öğütücü vardır. Bu öğütücüler Şekil 18’de gösterilmiştir (148).



Şekil 9: A: Jet Öğütücü, B: Dişli Öğütücü, C: Bilyalı Öğütücü (148).

Jet öğütücü yüksek hızda partikül-partikül çarpışması ile partikül boyutunun küçültülmesini sağlar. Diğer öğütme yöntemlerinden daha etkili bir yöntemdir. Öğütülecek partiküller öğütücü çemberinin içine yerleştirildikten sonra çemberin çevresindeki deliklerden içeriye yüksek basınçlı nitrojen verilir. Bu sayede partiküller ses hızına gelerek çarpışıp parçalanırlar. Nitrojen basıncına ve toz besleme hızına bağlı olarak çapı 1  $\mu\text{m}$ 'ye kadar olan partiküller elde edilebilir (148, 149).

Dişli öğütücüde partikül boyutunu küçültmek için mekanik çarpıştırma yöntemi kullanılır. Partikül-partikül çarpışması ve partikül-dişli çarpışması sayesinde daha küçük partiküller elde edilir. Bir dişli öğütücü, dönen bir rotor ve sabit stator plakası üzerine yerleştirilmiş bir dizi eş merkezli monte edilmiş dişliyle donatılmıştır. Öğütülmüş partiküller öğütücünün alt kısmından toplanır. Dişli öğütücüden yaklaşık 1  $\mu\text{m}$  boyutundan partiküller elde edilebilir ancak elde edilen partiküller jet öğütücüden elde edilenler kadar küçük değildir. Dişli öğütücünün enerji tüketimi jet değirmenin enerji tüketiminden daha düşüktür (148)

Bilyalı öğütücüde döner silindirler ortama konan partikülleri ezerek partikül boyutunu küçültmektedir. Bilyalı öğütme işlemi çok yavaştır ve ölçeklenebilir değildir bu nedenle sadece laboratuarda kullanılmaktadır (148).

## 2.2 Püskürterek Dondurarak Kurutma

Püskürterek dondurarak kurutma yönteminde, ilaç çözeltisi argon, nitrojen ya da oksijen gibi dondurucu sıvı içeren bir kaba püskürtülerek partiküllerin donması sağlanır. Püskürterek kurutma ile karşılaştırıldığında, bu işlem gelişmiş aerosol



### ***Püskürterek Kurutma Yönteminin Üstünlükleri:***

Püskürterek kurutma yöntemi saatte 1-2 kilogramdan 100 tona kadar çalışılabilen besleme hızı nedeniyle günümüzde en yaygın kullanılan kurutma yöntemidir. Kurutucunun kapasitesi ve ürünün ısıya karşı hassasiyetinden bağımsız çalışır. Bu etmenlerden bağımsız olarak mikron boyutunda ve düşük nem içeriğinde toz partiküller elde edilebilen başka bir kurutma yöntemi yoktur.

Ürün kalitesinin homojen olması, tam otomatik olarak kontrol edilebilmesi ve ısıl dirence sahip her türlü ürün için uygulanabilir olması da yöntemin avantajları arasında sayılabilir. Eczacılıktan, madencilığe kadar geniş bir kullanım alanı vardır.

### ***Püskürterek Kurutma Yönteminin Sakıncaları:***

Püskürterek kurutma sistemleri yüksek montaj maliyetine sahiptir. Endüstrideki diğer kurutuculara göre fiziksel olarak daha çok yer kapladığı için bu durum fabrikasyonunu zorlaştıran bir faktördür. Kurutucular tek başlarına ele alındığında bu sistemler yüksek verimli sistemler değildir.

## ***2.4 Çözücü ile Çöktürme Teknikleri***

Çözücü ile çöktürme tekniği sonokristalizasyon ve mikro çöktürme tekniklerini kapsamaktadır.

Sonokristalizasyon tekniğinde anti-çözücüler kullanılarak sulu çözeltilerden hızlı bir şekilde çöktürülerek solunabilir partiküller elde edilir. Bununla birlikte, çekirdeklenme hızındaki dağılma ve kristal büyümesi nedeniyle, aerosol iletimi için mikron aralığında yeniden üretilebilir bir şekilde parçacık büyüklüğü oluşturmak zordur. Çöktürme işlemini kontrol etmek için ultrasonik radyasyon uygulanmaktadır. Mikro çöktürme tekniğinde ise, küçük bir bölmeye monte edilmiş iki karşıt filtreden gelen bir anti-çözücü jetine karşı gelen bir ilaç çözeltisi jeti ile oluşturulan aşırı turbülans ve yoğun karıştırma sağlanarak çöktürme sonucu partikül elde edilir. Yöntemi etkileyen en önemli parametreler, sıvı püskürtücülerin hızı ve ilaç çözeltisinin konsantrasyonudur. Hızın ve derişimin yüksek olması daha iyi partikül edilmesini sağlarken daha fazla solvent artığına neden olur (150).

## **2.5 Süperkritik Sıvı Tekniği**

Süper kritik sıvı, sıvı gibi yoğunluğa sahip olan ama aynı zamanda gazların transport özelliğini de taşıyan tek fazlı bir sistemdir. Süperkritik akışkanlar ortam basıncını değiştirerek çözünmüş olan maddelerin tekrar kristallendirilmesini sağlarlar. Bu sayede mikron boyutta partikül eldesi sağlanmış olur (148). Süperkritik akışkan teknolojisi, kristalizasyon, partikül büyüklüğü küçültme, ilaç dağıtım hazırlığı, kaplama ve ürün sterilizasyonu dahil olmak üzere çeşitli farmasötik endüstriyel işlemlerde kullanılmaktadır (150).



### 3 Gereç ve Yöntem

#### 3.1 Kullanılan Maddeler ve Araç Gereçler

##### 3.1.1 Kullanılan Maddeler

|                          |                    |
|--------------------------|--------------------|
| Triamsinolon asetonid    | SigmaAldrich (ABD) |
| Mannitol                 | Roquette (Fransa)  |
| Lösün                    | SigmaAldrich (ABD) |
| n-oktanol                | SigmaAldrich (ABD) |
| Metanol (HPLC Grade)     | Merck (Almanya)    |
| Asetonitril (HPLC Grade) | Merck (Almanya)    |
| Distile su (HPLC Grade)  | Merck (Almanya)    |
| Monobazik potasyumfosfat | Merck (Almanya)    |
| Sodyum hidroksit         | Merck (Almanya)    |
| Asetik asit              | Merck (Germany)    |
| Sodyum lauril sülfat     | Merck (Almanya)    |
| Tween 20                 | Merck (Almanya)    |
| Tween 80                 | Merck (Almanya)    |
| %96 Alkol                | Teksoll (Türkiye)  |
| Etanol                   | Merck (Almanya)    |

##### 3.1.2 Kullanılan Araç Gereçler

Fourier dönüşüm infrared spektrometresi (FT-IR) (Perkin Elmer Spectrum 100) (ATR ataçmanlı)

Elektrotermal erime derecesi tayin cihazı (Barnstead Electrothermal 9100)

Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) (Shimadzu-60)

X-Işını kırınımı (XRD) (Philips X'Pert Pro)

UV-VIS Spektrofotometre (Shimadzu UV-VIS, 1601)

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) (Hewlett Packard Agilent 1100)

Wilhelmy plate tipi tensiyometre (Tensiometer EasyDyne, Krüss)

Viskozimetre (AND Vibro Viscometer SV-10)

Nano boyutlu püskürterek kurutucu cihazı (Nano Spray Dryer BUCHI, B-90)

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Scanning Electron Microscopy Quanta 250 FEG)

Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) (BRUKER TAP150 - Bruker Nanoscope IV)

Zetametre (Zetasizer Nano S Model, Malvern)

Partikül büyüklüğü ölçüm cihazı (Malvern Mastersizer 3000)

Sıkıştırılmış Dansite Ölçüm Cihazı (VARIAN 2 Platform)

Termal Gravimetrik Analiz Cihazı (TGA) (Perkin Elmer TGA-4000)

Yeni nesil impaktör (NGI) (Next Generation Impactor, Copley)

Yatay çalkalayıcı (Gentle Rocker, Copley)

pH-metre (NEL Mod.821)

Hassas terazi (Sartorius Basic TE 214S)

Sıcaklık kontrollü manyetik karıştırıcılı su banyosu (Variomag Electronicrührer Rühr Badthermostat)

Manyetik karıştırıcı (Velp ScientificaAre2)

Santrifüj (NÜVE NF800)

Ultrasonik banyo (Transsonic T660/H, Elma)

### 3.1.3 Kullanılan Tamponlar

pH 7.4 Fosfat tamponu (PBS)

|                                                        |              |
|--------------------------------------------------------|--------------|
| Monobazik potasyum fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) | 6.805 g      |
| Sodyum hidroksit (NaOH)                                | 1.564 g      |
| Saf su                                                 | k.m. 1000 ml |

pH = 7.4 PBS hazırlanması için; öncelikle monobazik potasyum fosfat ve sodyum hidroksit bir miktar saf suda çözündürülüp, saf su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

## 4 Yöntem ve Deneyler

### 4.1 Etkin Maddenin Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi

Bu amaçla, etkin madde olarak kullanılan Triamsinolon asetonid'in (TA) fizikokimyasal özelliklerinin analizleri yapıldı.

#### 4.1.1 Fourier Dönüşüm İnfrared Spektroskopisi (FT-IR) Spektrumu

TA'in FT-IR spektrumu, 600-4000  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyları arasında Perkin Elmer, Spectrum 100 cihazı (ATR: miracle ATR, PIKE TECHNOLOGIES; Software: Spectrum Version 6.3.5.0176; Resolution: 4  $\text{cm}^{-1}$ ; Scan number: 4) kullanılarak alındı.

#### 4.1.2 Erime Derecesi Tayini

TA'in erime derecesi tayini Barnstead elektrotermal erime derecesi tayin cihazı (Barnstead Electrothermal 9100, IA, USA) ile yapıldı. Bunun için bir miktar madde kılcal boruya dolduruldu ve kılcal borunun ucu alevle kapatıldı. Daha sonra kılcal boru erime derecesi apareyine yerleştirildi ve sıcaklık artışı ile etkin maddenin eridiği an tespit edildi.

#### 4.1.3 Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) Analizi

Bu analiz, TA'in termal davranışını incelemek üzere gerçekleştirildi. Hassas olarak tartılan numune (2-3 mg) kapaklı alüminyum pan içine konularak preslendi ve kapağın sıkıca kapatılması sağlandı. Preslenen pan, DSC cihazına (Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Shimadzu DSC-60) yerleştirilerek 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.

#### 4.1.4 X-Işını Kırınımı (XRD) Analizi

Bu analiz, TA'in kristal yapısını aydınlatmak üzere yapıldı. TA'in X-Işını kırınımı analizi, Philips X'Pert Pro difraktometresi kullanılarak 45 kV voltaj, 40 mA akım şiddeti ve 0.139°. $\text{sec}^{-1}$  ilerleme hızında yapılmıştır ( $\lambda_{\text{Cu}}= 1.5406 \text{ \AA}$ ) (Sabzevari vd. 2013).

#### **4.1.5 Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy-SEM) Analizi**

TA formülasyonlarının morfolojisinin tayini, taramalı elektron mikroskobu (Quanta250 FEG, Scanning Electron Microscopy-SEM) kullanılarak gerçekleştirildi. Örnekler stub'a konularak kaplama ünitesine yerleştirildi. Emitech k-550X cihazında 1.5 dakika 15 mA altın-platinyum ile kaplandı. TA'ya ait taramalı elektron mikroskobu görüntüsü alındı.

#### **4.1.6 Spektroskopik $\lambda_{\text{maximum}}$ Tayini**

Çalışmamızda *in vitro* salım ortamı olarak kullanılan pH 7.4 fosfat tamponu (PBS) + %1 (w/w) sodyum lauril sülfat (SLS) ve mobil faz (asetonitril:su; 40:60) ortamlarında etkin maddenin (TA) UV spektrumları alındı.

100 µg/ml konsantrasyonda olmak üzere 100 ml TA stok çözelti hazırlandı. Bu çözeltiden uygun seyreltmeler yapılarak çözeltiler hazırlandı ve bu çözeltilerin maksimum absorbansları, kör denemeye karşı 1 cm'lik kuvartz küvetlerde, Shimadzu UV 1601 spektrofotometresi kullanılarak, 200-800 nm dalga boyları arasında taranarak saptandı.

#### **4.1.7 Etkin Maddenin Standart (kalibrasyon) Doğrusunun Çizilmesi**

Çalışmamızda mobil faz olarak asetonitril:su (40:60) kullanıldı. Bu amaçla TA'in stok çözeltisi, asetonitril:su (40:60) ile hazırlandı. Standart doğru, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazında çalışılarak çizildi.

Etkin madde miktar tayininde kullanılmak üzere TA'in mobil faz içerisinde standart doğrusu çizildi. Bunun için, 100 µg/ml TA stok çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltiden uygun seyreltmeler yapılarak 1, 5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin eğri altı alan değerleri HPLC sisteminde (Hewlett Packard, Agilent Series 1100; UV detektörü 236 nm dalga boyunda; 1.0 ml/dk akış hızında; C<sub>18</sub> Hypersil ODS 250x4.6 mm kolon) her bir konsantrasyon için 6 deneme yapılarak elde edildi (100).

Etkin madde konsantrasyonuna karşı gelen eğri altı alan değerleri kullanılarak standart doğrusu çizildi ve regresyon analizi ile doğru denklemi hesaplandı.

#### 4.1.8 Analitik Yöntem Validasyonu Çalışmaları

Analitik yöntem validasyonu, TA miktar tayininde kullanılan yöntemin güvenilirliğini göstermek için yapılmıştır (101). Bu amaçla, çalışmamızda kullanılan validasyon parametreleri aşağıda gösterilmiştir:

- Doğrusallık (Linearity)
- Kesinlik (Precision)
  - ✓ Tekrar edilebilirlik (Repeatability)
  - ✓ Ara kesinlik (Interday precision)
- Saptama derişimi (Limit of detection, LOD; Dedeksiyon sınırı)
- Duyarlık veya analiz sınırı (Limit of quantification, LOQ; Tayin sınırı)

##### 4.1.8.1 Doğrusallık

Örnekteki maddenin belli sınırlar içindeki konsantrasyonu ile elde edilen yanıtın orantılı olduğunun göstergesidir. Bu amaçla, TA'ın mobil faz içerisindeki stok çözeltisi hazırlandı. Stok çözeltilerden farklı oranlarda mobil faz ile seyreltme yapılarak, 6 farklı konsantrasyonda çözelti elde edildi. Herbir konsantrasyona karşılık gelen eğri altı alan değerleri yardımıyla standart doğrunun denklemi ve determinasyon katsayısı ( $r^2$ ) bulundu.

##### 4.1.8.2 Kesinlik

Miktar tayininde kullanılan yöntemin birbirini takip eden ölçümleri arasındaki yakınlık derecesidir. Standart sapma ve varyasyon katsayısı (bağıl sapma) ile ifade edilir. Kesinlik, bir yöntemin tekrar edilebilirlik, tekrar elde edilebilirlik ve ara kesinlik derecelerinin de bir ölçüsüdür. Analitik yöntemin kesinliği için istatistiksel açıdan yeterli değerlendirmenin yapılacağı sayıda aynı konsantrasyondaki örnek ardarda ölçülerek aritmetik ortalama ( $x_{ort}$ ), standart sapma (SS) ve varyasyon katsayısı (VK) hesaplanarak değerlendirildi.

##### 4.1.8.2.1 Tekrar Edilebilirlik

TA'ın 50  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonda hazırlanan örnekleri HPLC'de 236 nm dalga boyunda 6 kez ardarda okundu. Bu ölçümlerde okunan eğri altı alan değerleri,

konsantrasyon, aritmetik ortalama ( $x_{ort}$ ), standart sapma (SS) ve varyasyon katsayısı (VK) hesaplandı.

#### 4.1.8.2.2 Ara Kesinlik

Etkin madde için standart doğru çiziminde hazırlanan stok çözeltiden alınan 50 µg/ml konsantrasyondaki örneğin ardarda 6 defa HPLC sisteminde 236 nm dalga boyunda analizi yapıldı. Aynı işlem farklı bir günde tekrarlandı. Bu analizler sonucunda bulunan eğri altı alan değerleri, konsantrasyon, aritmetik ortalama ( $x_{ort}$ ), standart sapma (SS) ve varyasyon katsayısı (VK) hesaplandı.

#### 4.1.8.3 Saptama Derişimi (Limit of detection, LOD; Dedeksiyon sınırı)

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 (88).

Eşitlik 1 kullanılarak LOD değeri hesaplandı (101).

$$\text{Saptama derişimi (LOD)} = (3.3 \times \text{Standart Sapma})/\text{Eğim} \quad \text{Eşitlik 1.}$$

#### 4.1.8.4 Duyarlık veya Analiz Sınırı (Limit of quantification, LOQ; Tayin 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 (88).

Eşitlik 2 kullanılarak LOQ değeri hesaplandı (101).

$$\text{Tayin sınırı (LOQ)} = (10 \times \text{Standart Sapma})/\text{Eğim} \quad \text{Eşitlik 2.}$$

#### 4.1.9 Çözünürlük Çalışması

Etkin maddenin (TA) çözünürlük çalışması aşağıdaki ortamlarda 20°C’de yapıldı (94).

- 1) Distile su
- 2) pH 7.4 fosfat tamponunda (PBS)
- 3) pH 7.4 fosfat tamponunda (PBS) + %1 (w/w) sodyum lauril sülfat

- 4) pH 7.4 fosfat tamponunda (PBS) + %2 (w/w) Tween 80
- 5) pH 7.4 fosfat tamponunda (PBS) + %2 (w/w) Tween 20

Yukarıda belirtilen ortamlardan 5 ml alındı, içerisine aşırı miktar TA ilave edildi. 24 saat çalkalandı. Süre sonunda 2 ml örnek alınıp, 10.000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi ve 0.45 µm filtreden süzüldü. Bu süzüntüden eğri altı alan değerleri HPLC sisteminde her bir ortam için 6 deneme yapılarak okundu.

#### 4.1.10 Yağ/Su Partisyon (Dağılım) Katsayısı Tayini

TA’in partisyon katsayısını tayin etmek için yağ fazı olarak n-oktanol, su fazı olarak ise distile su ve pH 7.4 PBS kullanıldı.

Hazırlanacak ortam için, 1 gün boyunca n-oktanol ile distile su ve pH 7.4 PBS tamponu ayrı ayrı kuvvetli bir şekilde çalkalanarak doyuruldu. TA’ın iki ayrı ortamdaki çözeltisinden 2 ml alınıp üzerine 2 ml doyurulmuş n-oktanol ilave edildi. 24 saat 250 rpm hızında çalkalandı. 24 saatin sonunda 14.000 rpm 20°C’de 10 dakika santrifüj edilerek iki faz ayrıldı (77). Sulu fazdan 1 ml alınarak HPLC sisteminde 236 nm’de TA miktarı tayin edildi. Sonuçlar Eşitlik 3 kullanılarak hesaplandı (78).

$$P = (A_0 - A_1) / A_1$$

Eşitlik 3.

P = yağ/su partisyon katsayısı

A<sub>0</sub> = İlk konsantrasyon (sulu fazdaki)

A<sub>1</sub> = Son konsantrasyon (sulu fazdaki)

#### 4.2 Kuru Toz İnhaler Formülasyonlarının Hazırlanması

KTİ formülasyonların hazırlanmasında kullanılan maddeler aşağıda verilmiştir:

- Etkin madde olarak,
  - Triamsinolon asetonid
- Yardımcı madde olarak,
  - mannitol
  - lösün
- Polimer (doğal polimerler) olarak,
  - düşük molekül ağırlıklı hiyalüronik asit sodyum tuzu (HA, 100-230 kDa)

Kuru toz inhaler KTİ formülasyonlarının hazırlanmasında kullanılan bileşenlere ait bilgiler Tablo 3'te verilmiştir (79-80).

Tablo 3. Kuru toz inhaler formülasyon bileşenlerine ait bilgiler.

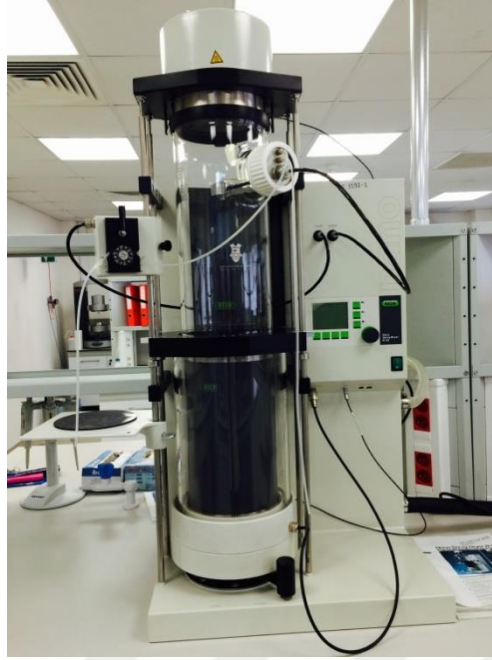
| <b>Formülasyon kodu</b>  | <b>Formülasyon içeriği</b>                                                                                                                                            |
|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>B formülasyonu</b>    | Etkin madde (Triamsinolon asetonid) ve yardımcı maddelerin (mannitol ve lösin) birlikte püskürtülerek kurutulmasıyla hazırlanan KTİ formülasyonları                   |
| <b>B HA formülasyonu</b> | Etkin madde (Triamsinolon asetonid), yardımcı maddeler (mannitol ve lösin) ve hiyalüronik asidin birlikte püskürtülerek kurutulmasıyla hazırlanan KTİ formülasyonları |

#### **4.2.1 KTİ Formülasyonlarında Optimizasyon Çalışmaları**

Formülasyon bileşenlerinin değişik oranlarda kullanılması ve püskürterek kurutma işlem parametrelerinin (püskürtme başlığı boyutu, giriş sıcaklığı, sıvı akış hızı ve sprej oranı) değiştirilmesiyle formülasyonların optimizasyonu sağlandı.

Çalışmada istenen partikül büyüklüğünde (1-5 µm) TA içeren KTİ formülasyonlarını elde etmek için, nano boyutlu (Nano Spray Dryer BUCHI, B-90) püskürterek kurutucu cihazında ön denemeler yapıldı (79).

Nano boyutlu püskürterek kurutucu cihazında (Nano Spray Dryer BUCHI, B-90) 4 µm, 5.5 µm ve 7 µm'lik püskürtme başlıkları kullanılarak püskürtmeler yapıldı. İstenen partikül büyüklüğü ve dağılım aralığı 5.5 µm mesh'lik püskürtme başlığı kullanılarak elde edildi. Bundan sonraki tüm formülasyonlar 5.5 µm mesh'lik püskürtme başlığı takılı nano boyutlu püskürterek kurutucu cihazı kullanılarak hazırlandı (Şekil 20).



Şekil 11. Nano boyutlu püskürterek kurutucu cihazı (Nano Spray Dryer BUCHI, B-90).

Polimer olarak düşük molekül ağırlıklı hiyalüronik asit sodyum tuzunun (HA, 100-230 kDa) değişik konsantrasyonları kullanılarak kuru toz inhaler formülasyonları hazırlandı (80, 81).

KTİ formülasyonlarının hazırlanmasında taşıyıcı olarak mannitol kullanıldı. Farklı miktarlarda mannitol formülasyonlara ilave edilerek hazırlandı (79).

Yapışmayı önleyici olarak KTİ formülasyonlarının hazırlanmasında lösin kullanıldı. Nano boyutlu püskürterek kurutucu cihazındaki (Nano Spray Dryer BUCHI, B-90) ön çalışmalarda; giriş sıcaklığı (Inlet temperature), sprej oranı, sıvı akış hızı gibi işlem parametreleri ve çeşitli formülasyon parametreleri üzerinden istenilen partikül büyüklüğüne sahip (2-5  $\mu\text{m}$ ) KTİ formülasyonları hazırlandı.

#### **4.2.2 TA ve Yardımcı Madde İçeren KTİ Formülasyonlarının Hazırlanması Çalışmaları**

TA ve yardımcı maddeleri içeren KTİ formülasyonlarının bileşenleri ve oranları Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4'te verilen miktarlarda mannitol ve lösin distile suda çözündürüldü. Üzerine metanolde çözündürülmüş TA ilave edildi ve manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Nano boyutlu püskürterek kurutucu cihazında püskürtülerek KTİ formülasyonları hazırlandı.

Cihazın optimum çalışma şartları:

|                                      |                   |
|--------------------------------------|-------------------|
| Püskürtme başlığı (Nozzle)           | : 5.5 µm'lik mesh |
| Giriş sıcaklığı (Inlet temperature)  | : 100°C           |
| Çıkış sıcaklığı (Outlet temperature) | : 47-50°C         |
| Sprey oranı                          | : %100            |
| Gaz akış hızı                        | : 114-122 l/dk    |
| Basınç                               | : 31-44 mBar      |
| Pompa                                | : 1-4             |

Tablo 4. TA, mannitol ve lösin içeren KTİ formülasyonlarının bileşenleri ve oranları.

| Formülasyon kodu | % TA | % Mannitol | % Lösin | Distile su (ml) | Metanol (ml) |
|------------------|------|------------|---------|-----------------|--------------|
| B1               | 0.1  | 89.9       | 10      | 25              | 0.4          |
| B2               | 0.1  | 79.9       | 20      | 35              | 0.4          |
| B3               | 0.1  | 69.9       | 30      | 50              | 0.4          |

#### 4.2.3 TA, Yardımcı Madde ve Hiyalüronik Asit İçeren KTİ

##### Formülasyonlarının Hazırlanması Çalışmaları

TA, yardımcı maddeler ve hyalüronik asit (HA) içeren KTİ formülasyonlarının bileşenleri ve oranları Tablo 5’de verilmiştir. Tablo 5’de verilen miktarlarda mannitol ve lösin distile suda çözündürüldü. Bu çözeltiye HA ilave edilip manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Üzerine metanolde çözündürülmüş TA eklenip manyetik karıştırıcıda karıştırmaya devam edildi. Nano boyutlu püskürterek kurutucu cihazında püskürtülerek HA içeren KTİ formülasyonları hazırlandı. Farklı HA konsantrasyonlarında birçok formülasyon denendi. Tablo 5’de B4HA koduyla belirttiğimiz formülasyon en yüksek miktarda HA içeren formülasyondur. Bu oranın üzerine çıkarak hazırladığımız formülasyon püskürtme başlığından püskürtülememiştir.

Cihazın optimum çalışma şartları:

|                                      |                   |
|--------------------------------------|-------------------|
| Püskürtme başlığı (Nozzle)           | : 5.5 µm'lik mesh |
| Giriş sıcaklığı (Inlet temperature)  | : 100°C           |
| Çıkış sıcaklığı (Outlet temperature) | : 47-50°C         |
| Sprey oranı                          | : %100            |
| Gaz akış hızı                        | : 114-122 l/dk    |
| Basınç                               | : 31-44 mBar      |
| Pompa                                | : 1-4             |

Tablo 5. TA, mannitol, lösin ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyonlarının bileşenleri ve oranları.

| Formülasyon kodu | % TA | % Mannitol | % Lösin | % HA | Distile su (ml) | Metanol (ml) |
|------------------|------|------------|---------|------|-----------------|--------------|
| B1 HA            | 0.1  | 89         | 10      | 0.9  | 25              | 0.4          |
| B2 HA            | 0.1  | 79         | 20      | 0.9  | 35              | 0.4          |
| B3 HA            | 0.1  | 66         | 30      | 3.9  | 50              | 0.4          |
| B4 HA            | 0.1  | 55         | 25      | 19.9 | 83.5            | 0.4          |

#### 4.3 Kuru Toz İnhaler Formülasyon Çözeltilerinin Karakterizasyon Çalışmaları

Püskürterek kurutma uygulanacak sıvıların yüzey gerilimi ve viskozitesi elde edilecek partiküllerin şekil ve yüzey özelliklerini etkilemektedir. Bu amaçla, püskürtülecek sıvılarda yüzey gerilimi ve viskozite ölçümleri gerçekleştirildi (54).

##### 4.3.1 Çözeltilerde Yüzey Gerilimi Ölçümü

Püskürterek kurutma işlemine tabi tutulan sıvıların yüzey gerilimi Wilhelmy plate tipi tensiyometre (Tensiometer EasyDyne, Krüss, Almanya) kullanılarak ölçüldü (54, 83). Ölçümler yapılmadan önce, tensiyometrenin kapları yıkanıp, kurutuldu. Daha sonra bu kaplara, Tablo 4 ve Tablo 5'te içerikleri verilen çözeltiler ilave edildi. Ölçümler  $21\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de yapıldı ve altı defa tekrarlandı.

Bu yöntemde ince bir levha (Wilhelmy plate) ölçümü yapılacak olan 15 ml hacimdeki çözeltilerin içerisine 3 ml'ye karşılık gelecek derinlikte daldırıldı. Levhanın sıvıdan

kopmaya karşı gösterdiği çekme kuvveti ölçüldü, yüzey gerilimi miliNewton/metre (mN/m) cinsinden belirlendi.

#### 4.3.2 Çözeltilerde Viskozite Ölçümü

Püskürterek kurutma işlemine tabi tutulacak Tablo 4 ve Tablo 5'te içerikleri verilen çözeltilerin viskozite ölçümleri tek noktalı AND Vibro Viscometer SV-10 model viskozimetresi kullanılarak gerçekleştirildi. Ölçümler  $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 'de yapıldı ve altı defa tekrarlandı (54).

#### 4.4 Kuru Toz İnhaler Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları

Çalışmada hazırlanan çözeltiler 5.5 µm mesh'lik püskürtme başlığı ile nano boyutlu püskürterek kurutucu cihazında püskürtülerek KTİ formülasyonları elde edildi. Elde edilen KTİ formülasyonların % verimleri Eşitlik 4 ile hesaplandı.

$$\% \text{verim} = [\text{pratikte elde edilen ürün (g)} / \text{püskürtülen sıvıdaki katı madde miktarı (g)}] \times 100 \quad \text{Eşitlik 4.}$$

Hazırlanan KTİ formülasyonlarının partikül büyüklüğü, morfoloji ve dansitesi, tozların aerosolizasyon etkinliği üzerinde önemli bir rol oynamakta ve buna bağlı olarak akciğerlerdeki depolanmayı yüksek oranda etkilemektedir. Bu amaçla, hazırlanan KTİ formülasyonlarında aşağıdaki tayinler yapıldı (84).

##### 4.4.1 Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı

Kuru toz inhaler formülasyonlarının partikül büyüklüğü, lazer ışık kırınımı prensibi esaslı sistem (Malvern Mastersizer 3000, kuru ölçüm esaslı) kullanılarak belirlendi (n=6) (92, 93). Span değerleri (partikül boyut dağılımı göstergesi) Eşitlik 5'e göre hesaplandı (85).

$$\text{span} = \frac{[d(0.9) - d(0.1)]}{d(0.5)} \quad \text{Eşitlik 5.}$$

#### 4.4.2 Partikül Morfolojisi Çalışmaları

##### 4.4.2.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy-SEM)

###### Analizi

Hazırlanan kuru toz inhaler formülasyonlarının morfolojisinin tayini, taramalı elektron mikroskobu (Quanta250 FEG, Scanning Electron Microscopy-SEM) kullanılarak gerçekleştirildi (85).

Örnekler stub'a konularak kaplama ünitesine yerleştirildi. Emitech k-550X cihazında 2 dakika 20 mA altın ile kaplandı.

##### 4.4.2.2 Atomik Kuvvet Mikroskobu (Atomic Force Microscopy - AFM) Analizi

Hazırlanan kuru toz inhaler formülasyonlarında yapılan *in vitro* performans analizi çalışmalarının sonuçlarına göre ideal formülasyonlar üzerinde Atomik Kuvvet Mikroskobu (BRUKER TAP150 - Bruker Nanoscope IV, Cambridge, UK) ile ölçümler yapıldı. Görüntüler BRUKER (1 ohm; T:1.85 µm; L:125 µm; W:48-52 µm; f<sub>0</sub>:150 kHz; k:5 N/m) tapping modda, 1 Hz hızında ve 512 çözünürlükte alındı. Örnekler 5 µm x 5 µm alanından tarandı (86-87).

#### 4.4.3 Partiküllerin Yüzey Yükü Tayini

Kuru toz inhaler formülasyonlarının yüzey yüklerinin ölçümleri zetametre (Zetasizer Nano S Model, Malvern) yardımıyla miliVolt (mV) olarak saptandı (80, 81). Bunun için hazırlanan formülasyonlar n-butanol içerisinde özel kuvvetler içine konuldu. Ölçümler 25±0.5°C'de yapıldı ve altı kez tekrarlandı.

#### 4.4.4 Tozların Sıkıştırılmış Dansite Ölçümü, Akış Özellikleri ve Yığın Açısı Tayini

Tozların dansitesi azaldıkça püskürtülebilme potansiyeli ve buna bağlı olarak akciğerlerde depolanabilme potansiyeli artmaktadır. Tozların akış özelliklerinin incelenmesinde *Carr sıkışabilirlik indeksi* ve *Hausner oranı* kullanılmıştır. Bu parametreler tozların küme ve sıkıştırılmış dansite ölçüm bilgilerine dayanılarak hesaplanmıştır (Eşitlik 6 ve 7) (79, 82).

$$\text{Carr sıkıştırılabilirlik indeksi (\%)} = \frac{\text{Sıkıştırılmış dansite} - \text{Küme dansitesi}}{\text{Sıkıştırılmış dansite}} \times 100 \quad \text{Eşitlik 6.}$$

$$\text{Hausner oranı} = \text{Sıkıştırılmış dansite} / \text{Küme dansitesi} \quad \text{Eşitlik 7.}$$

Çalışmalar, sıkıştırılmış dansite ölçüm cihazında (VARIAN 2 Platform) yapıldı. Tozların küme ve sıkıştırılmış dansite ölçümlerinde, 5 ml'lik bir mezür içerisine, mezurun 5 ml hacmine kadar toz dolduruldu ve miktar g olarak tartılarak kaydedildi (küme dansitesi: 5 ml). Ardından 300 kez vurma işlemi uygulandı ve hacim tekrar kaydedildi (sıkıştırılmış dansite). Ölçümler altı kez tekrarlandı.

#### 4.4.5 % Ağırlık Kaybı Tayini

Hazırlanan kuru toz inhaler formülasyonlarında yapılan *in vitro* performans analizi çalışmalarının sonuçlarına göre ideal formülasyonların % ağırlık kaybı, Termal Gravimetrik Analiz cihazı (Perkin Elmer TGA-4000) kullanılarak, 30-250°C arasında, 10°C/dk olacak şekilde termogravimetrik olarak tayin edildi (88, 89). Ölçümler üç defa tekrarlandı.

#### 4.4.6 Katı Durum Karakterizasyonu Tayini

##### 4.4.6.1 X-ışını Kırınımı (XRD) Analizi

Hazırlanan kuru toz inhaler formülasyonlarında yapılan *in vitro* performans analizi çalışmalarının sonuçlarına göre ideal formülasyonların kristal yapısını aydınlatmak üzere XRD analizi yapıldı (90). X-Işını kırınımı, Philips X'Pert Pro difraktometresi kullanılarak 45 kV voltaj, 40 mA akım şiddeti ve 0.139°.sec<sup>-1</sup> ilerleme hızında yapılmıştır ( $\lambda_{\text{Cu}} = 1.5406 \text{ \AA}$ ).

##### 4.4.6.2 Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) Analizi

Termal stabilitenin ve kristal durumda herhangi bir değişikliğin varlığının belirlenmesi, diferansiyel taramalı kalorimetre kullanılarak gerçekleştirildi (91).

Bu analiz, kuru toz inhaler formülasyonlarının termal davranışını incelemek üzere uygulandı. Hazırlanan kuru toz inhaler formülasyonlar üzerinde yapılan *in vitro* aerosol performans analizi çalışmalarının sonuçlarına göre ideal formülasyonlardan hassas olarak tartılan numuneler (2-3 mg) kapaklı alüminyum pan içine konularak preslendi ve kapağın sıkıca kapatılması sağlandı. Preslenen pan, DSC cihazına (Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Shimadzu DSC-60) yerleştirilerek 30°C'den 350°C'ye kadar ısıtıldı. Çalışma esnasında sıcaklık artış hızı 10°C/dakika ve azot gazının akış hızı 100 ml/dakika'dır.

#### **4.4.6.3 Fourier Dönüşüm İnfrared Spektroskopisi (FT-IR) Analizi**

Hazırlanan kuru toz inhaler formülasyonlarında yapılan *in vitro* aerosol performans analizi çalışmalarının sonuçlarına göre ideal formülasyonun FT-IR spektrumu, 600-4000 cm<sup>-1</sup> dalga boyları arasında Perkin Elmer, Spectrum 100 cihazı (ATR: miracle ATR, PIKE TECHNOLOGIES; Software: Spectrum Version 6.3.5.0176; Resolution: 4 cm<sup>-1</sup>; Scan number: 4) kullanılarak alındı.

#### **4.4.7 Enkapsülasyon Etkinliği Tayini**

Enkapsülasyon etkinliğini belirlemek amacıyla 50 mg kuru toz inhaler formülasyon 5 ml metanol içerisinde 24 saat süre ile oda sıcaklığında çalkalandı ve 0.45 µm membran filtreden süzüldü. Süzüntüdeki TA miktarı yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile tayin edildi.

Enkapsülasyon etkinliği, pratik olarak bulunan etkin madde miktarının, teorik olarak yüklenecek etkin maddeye yüzde olarak oranlanması ile belirlendi (Eşitlik 8) (80, 81).

$$\text{Enkapsülasyon etkinliği}(\%) = \frac{\text{Pratikte bulunan etkin madde miktarı}}{\text{Teorik etkin madde miktarı}} \times 100 \quad \text{Eşitlik 8.}$$

#### **4.4.8 Kuru Toz Inhaler Formülasyonlarının İn Vitro Aerosol Performans Tayini**

Yeni nesil impaktör (Next Generation Impactor, NGI, Copley) sistemi kullanılarak inhaler formülasyonların aerosol performansı *in vitro* olarak belirlendi (Şekil 21-22) (84, 92, 93).



Şekil 12. Yeni nesil impaktör (Next Generation Impactor, Copley) sistemi.



Şekil 13. Yeni nesil impaktör (Next Generation Impactor, Copley) sisteminin bölümlerinin (stage 1-8) açık görüntüsü.

Formülasyonlara ait aerodinamik  $\text{çap}$ , iletilen doz (inhaler cihazından yayılan ya da saçılan toz kütlesinin cihazdaki toplam toz kütlesine oranı) ve ince partikül fraksiyon (tozun akciğerlerde dağılım etkinliğinin bir ölçüsü olup akciğerlerde depolanacak olan  $1\text{-}5\text{ }\mu\text{m}$  aralığındaki tozun oranı) değerleri belirlendi.



a)



b)



c)

Şekil 14. Çalışmalarda kullanılan Aerolizer® cihazı a) kapalı görüntüsü b) açık görüntüsü c) NGI başlığına takılı görüntüsü.

Bu amaçla, tek dozluk kuru toz inhaler formülasyonu içeren 3 nolu kapsül (belirli miktar kuru toz içeren hidroksipropil metilselüloz bazlı kapsül) inhaler cihazına (Aerolizer®) yerleştirildi (Şekil 23). Aerolizer®, yeni nesil impaktör sistemine bir ağızlık yardımıyla monte edildi. Test işlemleri oda koşullarında gerçekleştirildi. Tozlar

100 l/dk standart akış hızı ile dağıtıldı. Her deneme 5 kapsül ile yapıldı. Deneme sonunda impaktör açılıp, silikonlanmış kaplar (stage 1-8) tepside çıkarılıp içine belli miktarlarda metanol eklendi. Ayrıca ağızlık, boğazlık (induction port), preseparator ve kapsüller üzerine de belli miktarlarda metanol ilave edildi. Kaplar, sistemin özel yatay çalkalayıcısında (Gentle Rocker, Copley) 24 saat 40 rpm’de çalkalandı (Şekil 24) ve çözücünden etkin madde (TA) miktar tayini HPLC ile yapıldı (46, 94). Çalışmalar 3 kez tekrarlanmıştır.



Şekil 15. Yatay çalkalayıcı (Gentle Rocker, Copley).

İnce partikül fraksiyon (Fine particle fraction, FPF), iletilen doz (Emitted dose, ED), solunan doz (Respirable fraction, RF) ve geometrik standart sapma (Geometric standart deviation, GSD) değerleri Eşitlik 9-12’ye göre hesaplanmıştır (90). Kütle ortalama aerodinamik çap (Mass mean aerodynamic diameter, MMAD) hesaplamaları, Avrupa Farmakopesi 6.0’da Bölüm 2.9.18’de verilen açıklamaya göre yapılmıştır. Geometrik standart sapma (GSD) ise, Amerikan Farmakopesi 33 Bölüm 601’deki (94) açıklamalara göre hesaplanmıştır.

$$\text{İnce partikül fraksiyon (FPF)} = \frac{\text{Bölüm 2-7’de tutulan toz miktarı (Stage 2-7)}}{\text{Uygulanan toplam toz miktarı}} \times 100$$

Eşitlik 9.

$$\text{İletilen doz (ED)} = \frac{\text{Uygulanan toplam toz miktarı} - \text{Kapsülde kalan toz miktarı}}{\text{Uygulanan toplam toz miktarı}} \times 100$$

Eşitlik 10.

$$\text{Solunan doz (RF)} = \frac{\text{Bölüm 2 – 7'de tutulan toz miktarı (Stage 2 – 7)}}{\text{Bölüm 1 – 8'de tutulan toz miktarı (Stage 1 – 8)}} \times 100$$

Eşitlik 11.

$$\text{Geometrik standart sapma (GSD)} = \sqrt{\frac{d(84.13)}{d(15.87)}}$$

Eşitlik 12.

#### 4.4.9 *In Vitro* İlaç Salım Çalışmaları

Hazırlanan kuru toz inhaler formülasyonları yeni nesil impaktör cihazından geçirildikten sonra alınan örnekler üzerinde ilaç serbestleşmesi tayini amacıyla difüzyon çalışmaları gerçekleştirildi. Difüzyon ortamı olarak 20 ml pH 7.4 fosfat tamponu (PBS) + %1 (w/w) sodyum lauril sülfat ve membran olarak Spectra/Por marka 2 nolu Rejenere Selüloz Diyaliz (12.000-14.000 MWCO, Sigma Aldrich) kullanıldı. Isıtıcı ve karıştırıcı su banyosunda 350 devir/dakika hızda ve 37±0.5°C sıcaklıkta çalışıldı. 24 saat boyunca belirli zaman aralıklarında örnek alınarak difüze olan ilaç miktarı HPLC yöntemi ile tayin edildi. Her çalışma altı örnekle gerçekleştirildi. Zamana karşı % difüze olan TA miktarı grafiğe geçirildi (95).

#### 4.4.10 *In Vitro* İlaç Salım Kinetiği Analizi

Hazırlanan kuru toz inhaler formülasyonlarında yapılan *in vitro* aerosol performans analizi çalışmalarının sonuçlarına göre ideal formülasyonlar üzerinde *in vitro* salım kinetiği analizi gerçekleştirildi.

*In vitro* ilaç salım çalışmalarından elde edilen veriler istatistiksel bir yazılım kullanılarak çeşitli matematiksel modellere (Sıfırıncı derece, Birinci derece, Higuchi ve Hixon-

Crowell kinetiği) uygulandı (96) ve her bir model için determinasyon katsayısı ( $r^2$ ) değeri hesaplandı.

#### **4.5 Araştırma Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirilmesi**

Tüm veriler ortalama ve ortalamanın  $\pm$  standart hatası (Ort.  $\pm$  O.S.H.) şeklinde veridi.

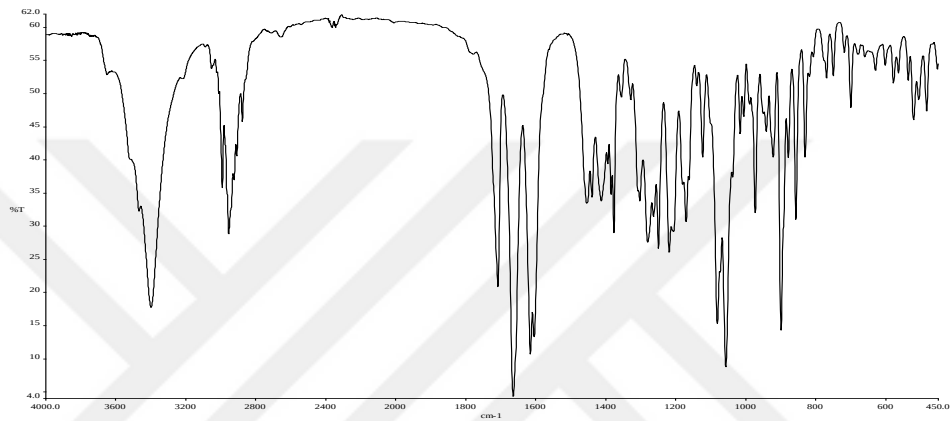


## 5 Bulgular

### 5.1 Etkin Maddenin Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesine Ait Bulgular

#### 5.1.1 Fourier Dönüşüm İnfrared Spektroskopisi (FT-IR) Spektrumuna Ait Bulgular

TA'e ait FT-IR spektrumu Şekil 24'de verilmiştir.



Şekil 16. Triamsinolon asetonid FT-IR spektrumu.

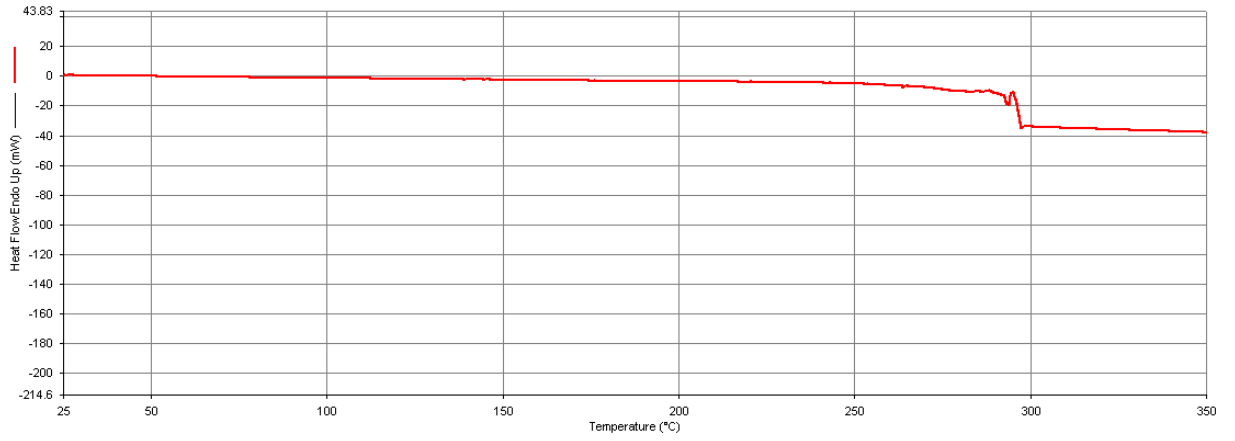
Şekil 24'deki TA'in FT-IR spektrumunda 3300, 2950, 1670, 1650, 1610, 1090, 1080, 500  $\text{cm}^{-1}$  absorpsiyon bantları görülmektedir. Bulunan değerler literatür ile uyumludur (47).

#### 5.1.2 Erime Derecesi Tayinine Ait Bulgular

Erime derecesi tayininde TA'in  $298 \pm 1$  °C'de eridiği görüldü. Erime derecesi literatür verilerinde 293-300 °C olarak belirtilmektedir. Bulunan değer literatür ile uyumludur (97, 98).

#### 5.1.3 Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) Analizine Ait Bulgular

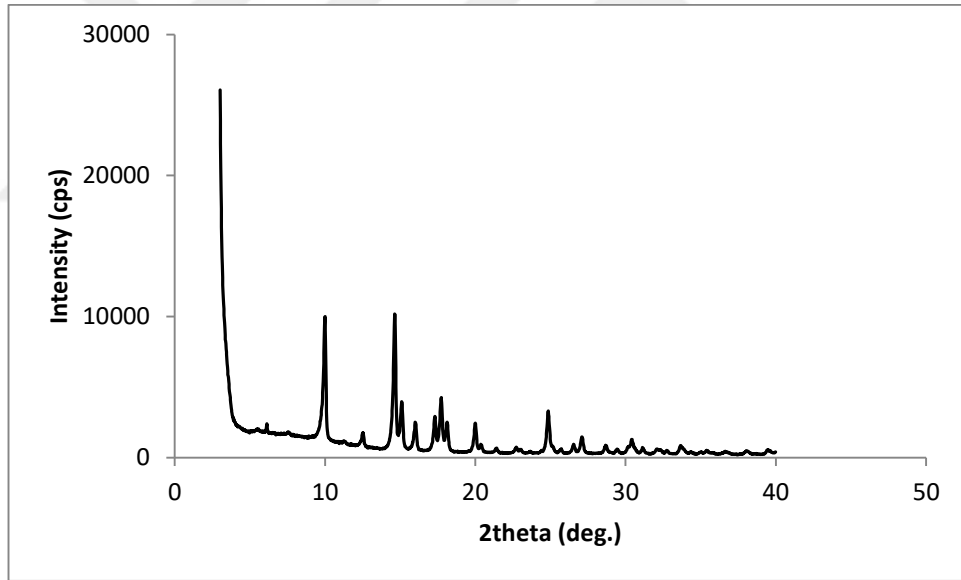
TA'in DSC analizinde 298 °C'de bir endotermik pik görülmektedir. Görülen pik maddenin erimesine ait olup literatür ile uyumludur (97, 99). TA'in DSC analizi sonucu elde edilen termogramı Şekil 26'da görülmektedir.



Şekil 17. TA'in DSC termogramı.

#### 5.1.4 X-Işını Kırınımı (XRD) Analizine Ait Bulgular

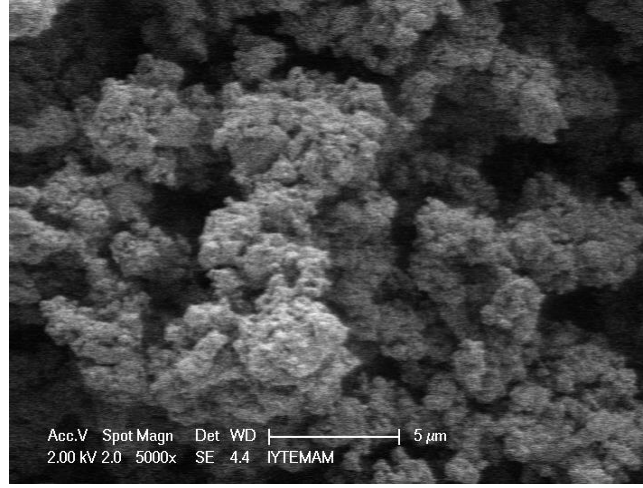
TA'in XRD analizi sonucu elde edilen spektrum Şekil 27'de görülmektedir.



Şekil 18. TA'in XRD spektrumu

#### 5.1.5 Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy-SEM) Analizine Ait Bulgular

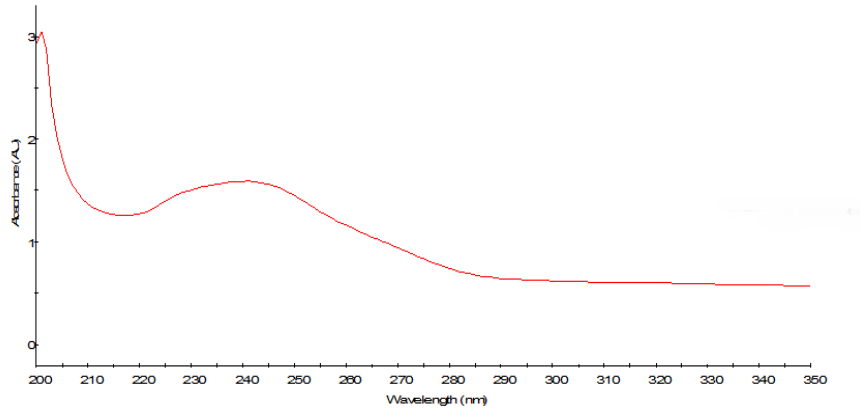
TA'ya ait taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü Şekil 28'de verilmiştir.



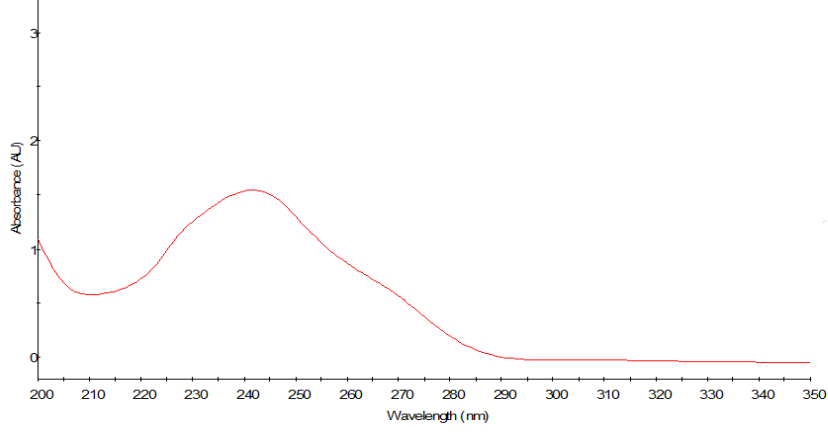
Şekil 19. TA taramalı elektron mikroskobu görüntüsü (x5.000).

### 5.1.6 Spektroskopik $\lambda_{\text{maximum}}$ Tayinine Ait Bulgular

pH 7.4 PBS + %1 (w/w) SLS ve mobil fazda çekilen UV spektrumlarında 236 nm’de pik görüldü. Bulunan  $\lambda_{\text{max}}$  değerlerinin literatürlerde belirtilen dalga boyu ile uyumlu olduğu görülmüştür (100). TA’nın UV spektrumu Şekil 29-30’da verilmiştir.



Şekil 20. TA’ın pH 7.4 PBS + %1 (w/w) SLS ortamında UV spektrumu.

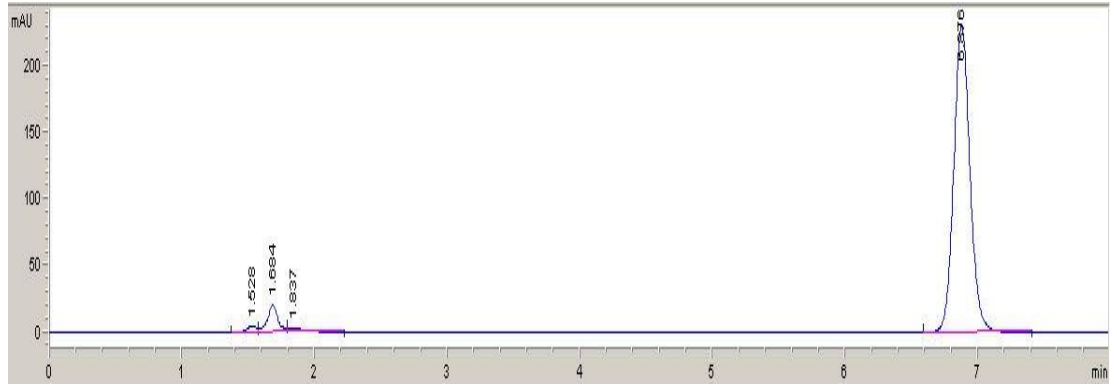


Şekil 21. TA'in mobil fazda UV spektrumu.

### 5.1.7 Etkin Maddenin Standart (kalibrasyon) Doğrusunun Çizilmesine

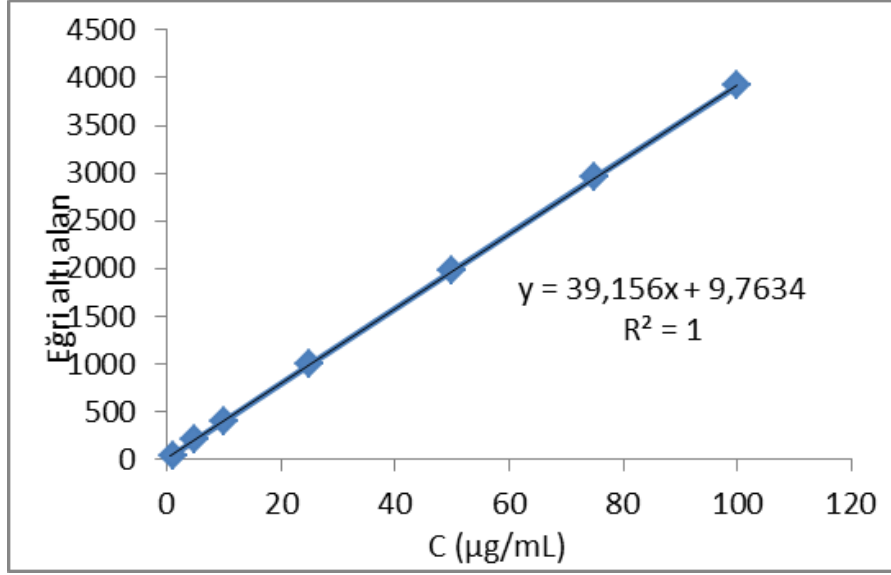
#### Ait Bulgular

TA'in stok çözeltisi, asetonitril:su (40:60) ortamında hazırlanmıştır. HPLC sisteminden (Hewlett Packard, Agilent Series 1100; UV detektörü 236 nm dalga boyunda; C<sub>18</sub> Hypersil ODS 250 x 4.6 mm) elde edilen pik görüntüsü Şekil 31'de verilmiştir.



Şekil 22. TA'in HPLC sisteminde elde edilen pik görüntüsü.

Etkin madde konsantrasyonuna karşı gelen eğri altı alan değerleri kullanılarak, standart doğrusu çizildi ve regresyon analizi ile doğru denklemi hesaplandı (Şekil 32).



Şekil 23. TA'nın mobil faz içerisinde standart doğrusu.

#### 5.1.8 Analitik Yöntem Validasyonu Çalışmalarına Ait Bulgular

Analizi yapılacak olan etkin maddenin (TA) miktar tayininde kullanılan yöntemin güvenilirliğini göstermek için yapılan validasyon çalışmasına ait bulgular aşağıda gösterilmiştir (101).

##### 5.1.8.1 Doğrusallık

HPLC yöntemi ile elde edilen eğri altı alan değerleri kullanılarak etkin madde konsantrasyonuna karşı kalibrasyon doğrusu çizildi ve doğru denklemi hesaplandı. TA için determinasyon katsayısı ( $r^2$ ) 1 olarak bulundu. Elde edilen standart doğru denklemi ve determinasyon katsayısı ( $r^2$ ) Şekil 31'de gösterilmiştir.

##### 5.1.8.2 Kesinlik

###### 5.1.8.2.1 Tekrar Edilebilirlik

Çalışmamızdaki ölçümlerde okunan eğri altı alan değerleri, konsantrasyon, aritmetik ortalama ( $x_{ort}$ ), standart sapma (SS) ve varyasyon katsayısı (VK) Tablo 6'da verilmiştir. Hesaplanan VK'nın %2'den küçük olması (%0.185), yöntemin tekrar edilebilir olduğunu göstermektedir.

Tablo 6. TA'ın 50 µg/ml konsantrasyonda yapılan tekrar edilebilirlik analiz sonuçları.

| Örnek No           | Konsantrasyon<br>(µg/ml) | Eğri altı alan değeri | Konsantrasyon<br>(µg/ml) |
|--------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|
| 1                  | 50                       | 1967.40               | 49.996                   |
| 2                  | 50                       | 1974.70               | 50.182                   |
| 3                  | 50                       | 1977.60               | 50.256                   |
| 4                  | 50                       | 1973.40               | 50.149                   |
| 5                  | 50                       | 1976.80               | 50.236                   |
| 6                  | 50                       | 1972.90               | 50.136                   |
| X <sub>ort</sub> : |                          |                       | 50.159                   |
| SS :               |                          |                       | 0.093                    |
| VK :               |                          |                       | %0.185                   |

#### 5.1.8.2.2 Ara Kesinlik

Çalışmamızdaki analizler sonucunda bulunan eğri altı alan değerleri, konsantrasyon, aritmetik ortalama ( $x_{ort}$ ), standart sapma (SS) ve varyasyon katsayısı (VK) Tablo 7'de verilmiştir. Hesaplanan VK'nın %2'den küçük olması (%0.209), yöntemin ara kesinlik parametresine uygun olduğunu göstermektedir.

Tablo 7. TA'ın ara kesinlik analiz sonuçları.

| Örnek No | 1.gün okunan<br>eğri altı alan<br>değeri | 2.gün okunan<br>eğri altı alan<br>değeri | 1.gün okunan<br>konsantrasyon<br>(µg/ml) | 2.gün okunan<br>konsantrasyon<br>(µg/ml) |
|----------|------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|
| 1        | 1970.40                                  | 1967.40                                  | 50.072                                   | 49.996                                   |
| 2        | 1975.20                                  | 1974.70                                  | 50.195                                   | 50.182                                   |
| 3        | 1979.80                                  | 1977.60                                  | 50.313                                   | 50.256                                   |
| 4        | 1982.70                                  | 1973.40                                  | 50.387                                   | 50.149                                   |
| 5        | 1975.60                                  | 1976.80                                  | 50.205                                   | 50.236                                   |
| 6        | 1983.80                                  | 1972.90                                  | 50.415                                   | 50.136                                   |
|          |                                          |                                          | X <sub>ort</sub> :                       | 50.212                                   |
|          |                                          |                                          | SS :                                     | 0.106                                    |
|          |                                          |                                          | VK :                                     | %0.209                                   |

#### 5.1.8.3 Saptama Derişimi (Limit of detection, LOD; Dedeksiyon sınırı)

Eşitlik 1 kullanılarak LOD değeri hesaplandı (106). Sonuç 0.307 µg/ml olarak bulundu.

#### 5.1.8.4 Duyarlık veya Analiz Sınırı (Limit of quantification, LOQ; Tayin sınırı)

Eşitlik 2 kullanılarak LOQ değeri hesaplandı (106). Sonuç 0.929 µg/ml olarak bulundu.

### 5.1.9 Çözünürlük Çalışmasına Ait Bulgular

Yapılan çalışmalarda bulunan çözünürlük değerleri Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. TA çözünürlük çalışmasına ait sonuçlar.

| Ortam                                                          | Çözünürlük (µg/ml) |
|----------------------------------------------------------------|--------------------|
| Distile su                                                     | 17.28              |
| pH 7.4 fosfat tamponu (PBS)                                    | 18.76              |
| pH 7.4 fosfat tamponu (PBS) + %1<br>(w/w) sodyum lauril sülfat | 833.41             |
| pH 7.4 fosfat tamponu (PBS) + %2<br>(w/w) Tween 80             | 162.23             |
| pH 7.4 fosfat tamponu (PBS) + %2<br>(w/w) Tween 20             | 51.32              |

#### 5.1.10 Yağ/Su Partisyon (dağılım) Katsayısı Tayinine Ait Bulgular

Yapılan çalışmada, TA'in yağ/su partisyon katsayısı  $\log P = 2.47 \pm 0.16$  olarak hesaplandı. Bulunan değer literatür ile uyumludur (102).

#### 5.2 KTİ Formülasyonlarının Hazırlanmasına Ait Bulgular

#### 5.3 KTİ Formülasyon Çözeltilerinin Karakterizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

##### 5.3.1 Çözeltilerde Yüzey Gerilimi Ölçümüne Ait Bulgular

Hazırlanan formülasyonların çözeltilerinde yüzey gerilimi ölçümü için yapılan çalışmalara ait sonuçlar Tablo 9-10'da verilmiştir.

Tablo 9. TA, mannitol ve lösün içeren KTİ formülasyon hazırlama çözeltilerinin yüzey gerilim ölçümlerine ait sonuçlar.

| Formülasyon kodu | Yüzey gerilim $\pm$ SD (mN/m) |
|------------------|-------------------------------|
| B1               | 62.2 $\pm$ 1.8                |
| B2               | 62.8 $\pm$ 2.4                |
| B3               | 63.7 $\pm$ 2.2                |

Tablo 10. TA, mannitol, lösın ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyon hazırlama çözeltilerinin yüzey gerilim ölçümlerine ait sonuçlar.

| Formülasyon kodu | Yüzey gerilim $\pm$ SD (mN/m) |
|------------------|-------------------------------|
| B1 HA            | 60.1 $\pm$ 2.2                |
| B2 HA            | 62.5 $\pm$ 2.7                |
| B3 HA            | 65.4 $\pm$ 1.7                |
| B4 HA            | 63.9 $\pm$ 1.9                |

### 5.3.2 Çözeltilerde Viskozite Ölçümüne Ait Bulgular

Hazırlanan formülasyonların çözeltilerinde viskozite ölçümü için yapılan çalışmalara ait sonuçlar Tablo 11-12’de verilmiştir.

Tablo 11. TA, mannitol ve lösın içeren KTİ formülasyon hazırlama çözeltilerinin viskozite ölçümlerine ait sonuçlar.

| Formülasyon kodu | Viskozite $\pm$ SD (cp) |
|------------------|-------------------------|
| B1               | 15.4 $\pm$ 0.4          |
| B2               | 15.8 $\pm$ 0.3          |
| B3               | 15.9 $\pm$ 0.9          |

Tablo 12. TA, mannitol, lösın ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyon hazırlama çözeltilerinin viskozite ölçümlerine ait sonuçlar.

| Formülasyon kodu | Viskozite $\pm$ SD (cp) |
|------------------|-------------------------|
| B1 HA            | 16.1 $\pm$ 0.4          |
| B2 HA            | 15.9 $\pm$ 0.8          |
| B3 HA            | 16.4 $\pm$ 0.7          |
| B4 HA            | 18.9 $\pm$ 0.3          |

### 5.4 Kuru Toz İnhaler Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

Yapılan çalışmalardaki formülasyonlara ait % verim sonuçları Tablo 13-14’te verilmiştir. Formülasyonlardaki Hyalüronik asit oranı arttıkça verimde azalma gözlenmiştir.

Tablo 13. TA, mannitol ve lösın içeren KTİ formülasyonların % verim sonuçları.

| Formülasyon kodu | % verim |
|------------------|---------|
| B1               | 73.13   |
| B2               | 76.37   |
| B3               | 68.63   |

Tablo 14. TA, mannitol, lösın ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyonların % verim sonuçları.

| Formülasyon kodu | % verim |
|------------------|---------|
| B1 HA            | 69.12   |
| B2 HA            | 70.62   |
| B3 HA            | 77.35   |
| B4 HA            | 66.92   |

#### 5.4.1 Partikül Büyüklüğü ve Dağılımına Ait Bulgular

İnce partikül fraksiyon sonuçlarına göre ideal olarak seçilen KTİ formülasyonlarının partikül büyüklüğü ve dağılımına ait ölçüm sonuçları Tablo 15'e verilmiştir.

Tablo 15. İdeal KTİ formülasyonlarının partikül büyüklüğü tayinine ait sonuçlar.

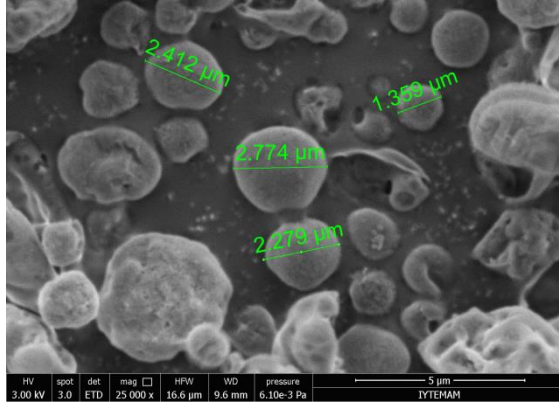
| Formülasyon kodu | $d_{50} \pm SD$ ( $\mu m$ ) |
|------------------|-----------------------------|
| B3               | $2.35 \pm 0.17$             |
| B3 HA            | $3.21 \pm 0.12$             |

#### 5.4.2 Partikül morfolojisi çalışmalarına ait bulgular

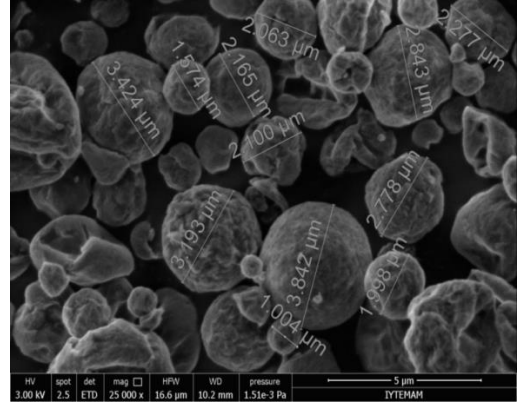
##### 5.4.2.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy-SEM)

##### *Analizine Ait Bulgular*

Hazırlanan KTİ formülasyonlarına ait taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 32'de verilmiştir.



B3



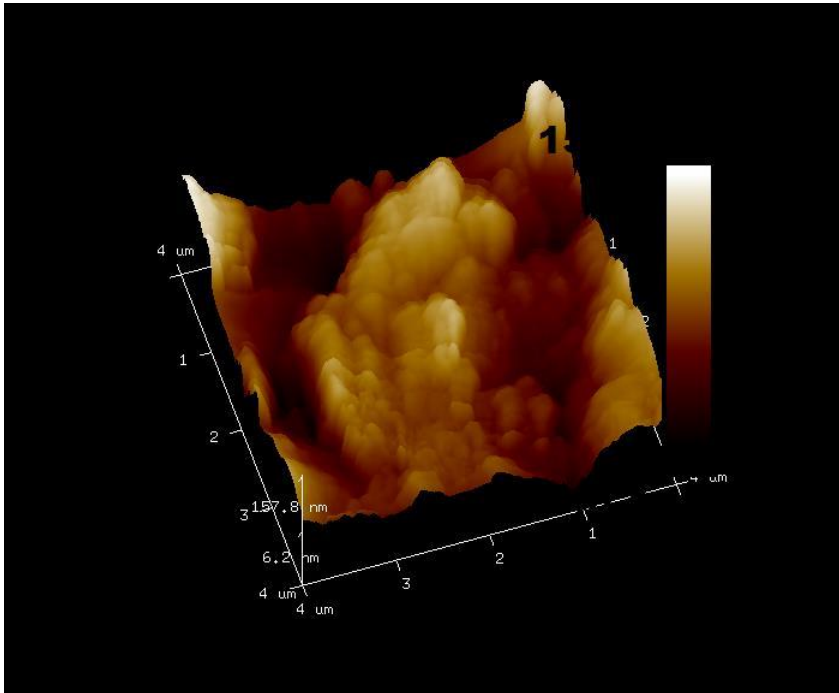
B3HA

Şekil 24. B3 ve B3HA formülasyonuna ait taramalı elektron mikroskobu görüntüsü (x25.000).

#### 5.4.2.2 Atomik Kuvvet Mikroskobu (Atomic Force Microscopy - AFM) Analizine

##### Ait Bulgular

Atomik kuvvet mikroskobu (Atomic Force Microscopy - AFM) analizinden elde edilen görüntüler Şekil 33'de 3-D olarak verilmiş olup partiküllerinin yüzeyinin pürüzlü olduğu görülmektedir.



Şekil 25. B3HA formülasyonunun AFM çalışmalarına ait 3-D görüntüsü.

#### 5.4.3 Partiküllerin Yüzey Yükü Tayinine Ait Bulgular

Partiküllerin yüzey yükü tayin çalışmalarından elde edilen sonuçlar Tablo 16-17’de verilmiştir.

Tablo 16. TA, mannitol ve lösün içeren KTİ formülasyonlarının yüzey yükü değerleri.

| Formülasyon kodu | Yüzey yükü $\pm$ SD (mV) |
|------------------|--------------------------|
| B1               | -14.7 $\pm$ 1.1          |
| B2               | -13.2 $\pm$ 1.2          |
| B3               | -11.1 $\pm$ 1.6          |

Tablo 17. TA, mannitol, lösün ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyonlarının yüzey yükü değerleri.

| Formülasyon kodu | Yüzey yükü $\pm$ SD (mV) |
|------------------|--------------------------|
| B1 HA            | -16.1 $\pm$ 1.3          |
| B2 HA            | -18.2 $\pm$ 1.7          |
| B3 HA            | -20.8 $\pm$ 1.4          |
| B4 HA            | -24.8 $\pm$ 1.8          |

#### 5.4.4 Tozların Sıkıştırılmış Dansite Ölçümü, Akış Özellikleri ve Yığın Açısı Tayinine Ait Bulgular

Bulunan değerler Tablo 18-20’de verilmiştir. Carr sıkışabilirlik indeks değerinin %25’den ve Hausner oranının 1.25 değerinden küçük olması tozların iyi akışa sahip olduğunu göstermektedir (87).

Tablo 18. TA ve yardımcı maddelerin akış özellikleri.

| Madde ismi | Carr indeks $\pm$ SD (%) | Hausner oranı $\pm$ SD |
|------------|--------------------------|------------------------|
| TA         | 44.61 $\pm$ 3.65         | 1.80 $\pm$ 0.14        |
| Mannitol   | 14.28 $\pm$ 1.05         | 1.16 $\pm$ 0.16        |

Tablo 19. TA, mannitol ve lösin içeren KT  formülasyonlarının akış  zellikleri.

| Formülasyon kodu | Carr indeks SD (%) | Hausner oranı SD |
|------------------|--------------------|------------------|
| B1               | 23.07 1.29         | 1.31 0.04        |
| B2               | 20.02 1.34         | 1.25 0.07        |
| B3               | 23.82 1.65         | 1.31 0.02        |

Tablo 20. TA, mannitol, lösin ve hiyalüronik asit içeren KT  formülasyonlarının akış  zellikleri.

| Formülasyon kodu | Carr indeks SD (%) | Hausner oranı SD |
|------------------|--------------------|------------------|
| B1 HA            | 20.80 1.23         | 1.26 0.11        |
| B2 HA            | 21.73 1.87         | 1.27 0.16        |
| B3 HA            | 22.72 1.82         | 1.29 0.09        |
| B4 HA            | 26.92 2.67         | 1.36 0.21        |

#### 5.4.5 % Ağırlık Kaybı Tayinine Ait Bulgular

 nce partikül fraksiyon sonuçlarına (*in vitro* aerosol performans çalışmaları) göre ideal olarak seçilen KT  formülasyonlarının % ağırlık kaybı tayini çalışmasından elde edilen sonuçlar Tablo 21’de verilmiştir.

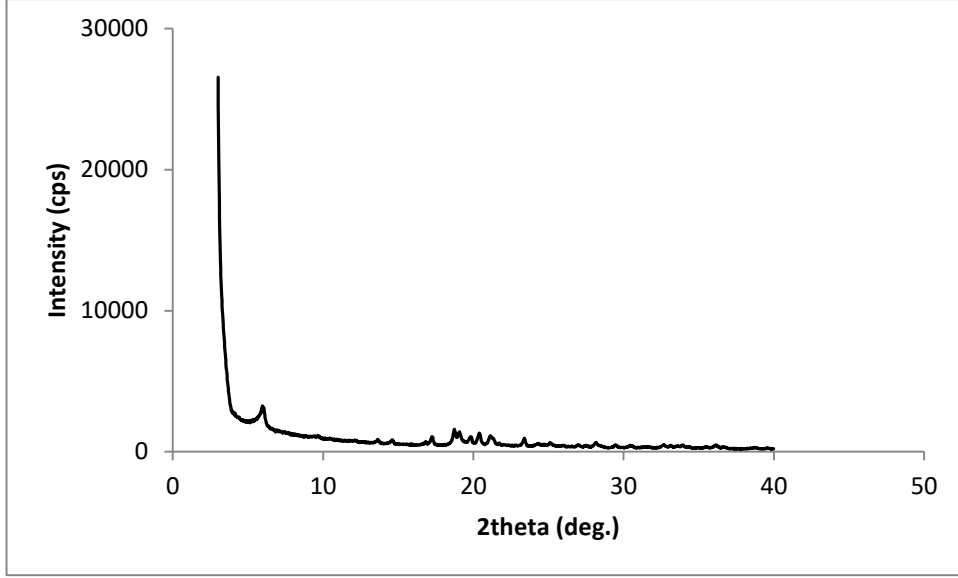
Tablo 21. KT  formülasyonlarının % ağırlık kaybı tayinine ait sonuçlar.

| Formülasyon kodu | Ağırlık kaybı   SD (%) |
|------------------|------------------------|
| B3HA             | 0.11 0.01              |

#### 5.4.6 Katı Durum Karakterizasyonu Tayinine Ait Bulgular

##### 5.4.6.1 X-ışını Kırınımı (XRD) Analizine Ait Bulgular

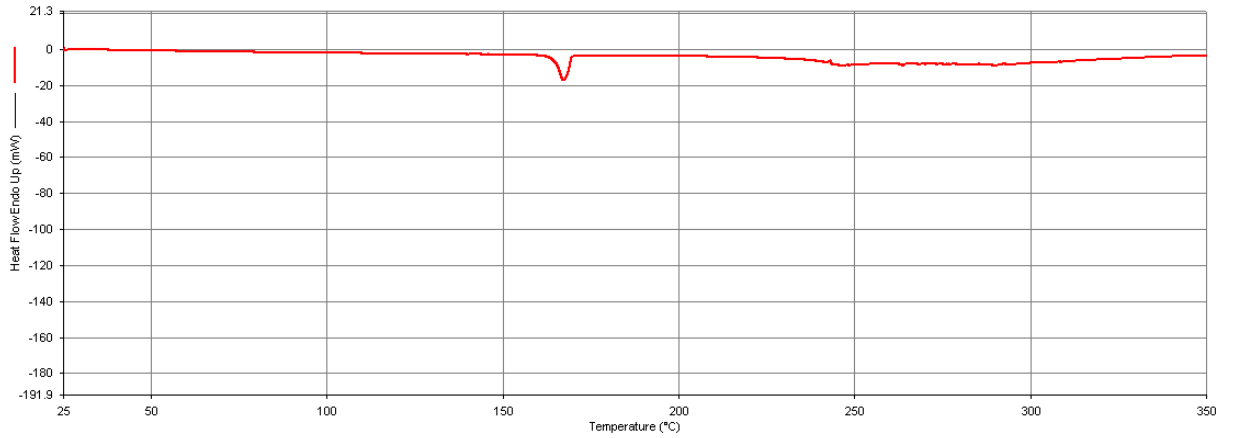
 nce partikül fraksiyon sonuçlarına (*in vitro* aerosol performans çalışmaları) göre ideal olarak seçilen KT  formülasyonunun XRD analizi sonucunda elde edilen spektrumlar şekil 35’de görülmektedir.



Şekil 26. B3HA formülasyonuna ait XRD spektrumu.

#### 5.4.6.2 Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) Analizine Ait Bulgular

İnce partikül fraksiyon sonuçlarına (*in vitro* aerosol performans çalışmaları) göre ideal olarak seçilen KTİ formülasyonunun DSC analizi sonucu elde edilen termogramları Şekil 36’da görülmektedir.

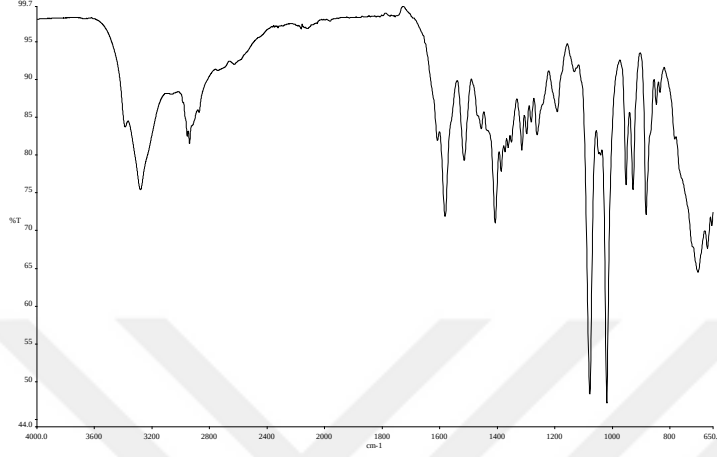


Şekil 27. B3HA formülasyonuna ait DSC termogramı.

#### 5.4.6.3 Fourier Dönüşüm İnfrared Spektroskopisi (FT-IR) Analizine Ait

##### Bulgular

İnce partikül fraksiyon sonuçlarına (*in vitro* aerosol performans çalışmaları) göre ideal olarak seçilen KTİ formülasyonlarının FT-IR spektrumları Şekil 37’de verilmiştir.



Şekil 28. B3HA formülasyonuna ait FT-IR spektrumu.

B3HA formülasyonunun FT-IR spektrumunda 3280, 2939, 1581, 1515, 1407, 1314, 1079, 1019, 952, 883 cm<sup>-1</sup> absorpsiyon bantları görülmektedir (Şekil 37).

#### 5.4.7 Enkapsülasyon Etkinliği Tayinine Ait Bulgular

Hazırlanan kuru toz inhaler formülasyonların % enkapsülasyon etkinliğine ait sonuçlar Tablo 22-23’te verilmiştir.

Tablo 22. TA, mannitol ve lösin içeren KTİ formülasyonlarına ait % enkapsülasyon etkinliği.

| Formülasyon kodu | % Enkapsülasyon etkinliği |
|------------------|---------------------------|
| B1               | 79.8±2.3                  |
| B2               | 89.6±1.4                  |
| B3               | 83.1±1.1                  |

Tablo 23. TA, mannitol, lösın ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyonlarına ait % enkapsülasyon etkinliği.

| Formülasyon kodu | % Enkapsülasyon etkinliği |
|------------------|---------------------------|
| B1 HA            | 81.3±1.2                  |
| B2 HA            | 80.5±1.7                  |
| B3 HA            | 86.8±1.4                  |
| B4 HA            | 88.3±2.1                  |

#### 5.4.8 Kuru Toz İnhaler Formülasyonlarının İn Vitro Aerosol

##### Performans Tayinine Ait Bulgular

Çeşitli formülasyonların ince partikül fraksiyon (Fine particle fraction, FPF), iletilen doz (Emitted dose, ED), solunan doz (Respirable fraction, RF), geometrik standart sapma (Geometric standart deviation, GSD) ve kütle ortalama aerodinamik çap (Mass mean aerodynamic diameter, MMAD) değeri Tablo 24-25'te verilmiştir.

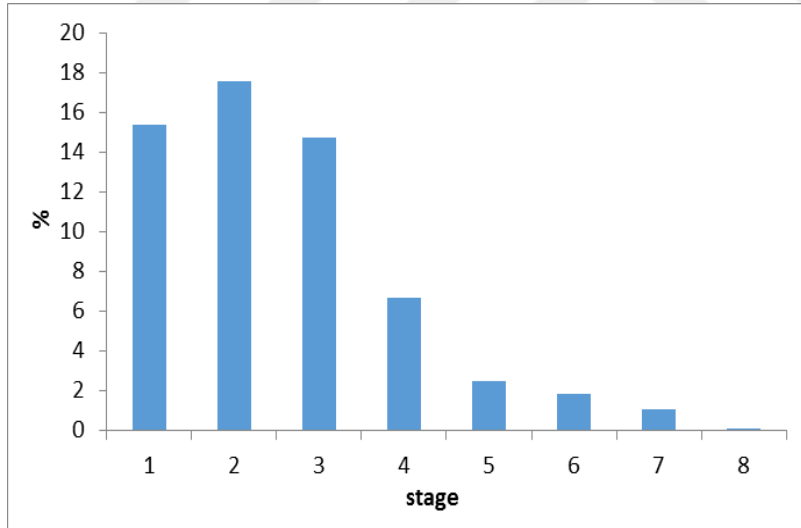
Tablo 24. TA, mannitol ve lösın içeren KTİ formülasyonlarının ince partikül fraksiyon (Fine particle fraction, FPF), iletilen doz (Emitted dose, ED), solunan doz (Respirable fraction, RF), kütle ortalama aerodinamik çapı (Mass mean aerodynamic diameter, MMAD) ve geometrik standart sapma (Geometric standart deviation, GSD) değeri.

| Formülasyon kodu | FPF (%)    | ED (%)     | RF (%)     | MMAD (µm) | GSD       |
|------------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|
| B1               | 36.60±0.76 | 96.46±0.14 | 75.20±0.89 | 3.94±0.21 | 1.97±0.09 |
| B2               | 47.53±0.83 | 98.20±0.08 | 72.82±0.78 | 4.58±0.12 | 1.79±0.09 |
| B3               | 48.20±0.99 | 97.93±0.20 | 74.61±1.13 | 3.97±0.23 | 1.76±0.10 |

Tablo 25. TA, mannitol, lösin ve hiyalüronik asit içeren KT  formülasyonlarının ince partikül fraksiyon (Fine particle fraction, FPF), iletilen doz (Emitted dose, ED), solunan doz (Respirable fraction, RF), kütle ortalama aerodinamik  ap  (Mass mean aerodynamic diameter, MMAD) ve geometrik standart sapma (Geometric standart deviation, GSD) değerleri.

| Formülasyon kodu | FPF (%)    | ED (%)     | RF (%)     | MMAD ( m) | GSD       |
|------------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|
| B1 HA            | 34.40 0.89 | 97.20 0.04 | 70.10 0.21 | 4.25 0.34 | 1.67 0.17 |
| B2 HA            | 41.53 0.90 | 95.94 0.07 | 73.72 0.96 | 3.95 0.37 | 1.59 0.12 |
| B3 HA            | 44.13 0.73 | 96.93 0.11 | 75.91 1.08 | 3.59 0.28 | 1.53 0.03 |
| B4 HA            | 33.06 0.88 | 95.53 0.05 | 69.27 0.91 | 4.22 0.39 | 1.67 0.16 |

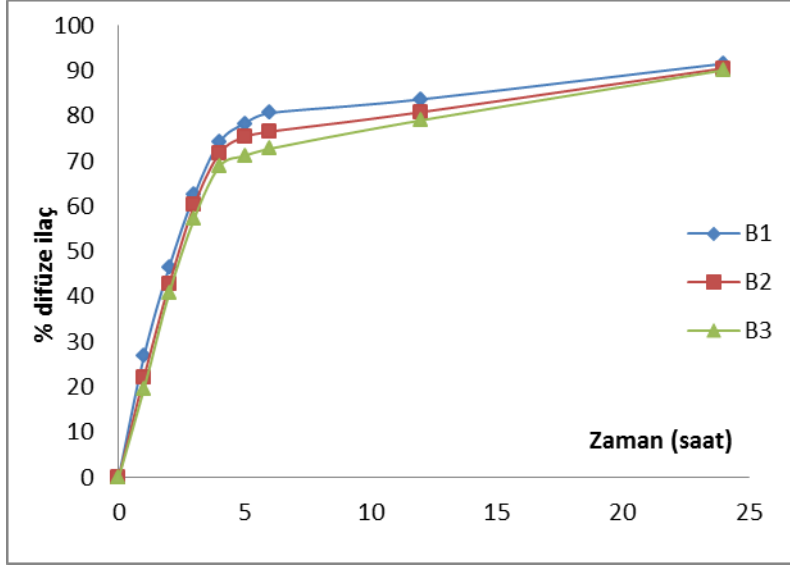
Kuru toz inhaler formülasyonlar üzerinde yapılan *in vitro* aerosol performans testlerinde yeni nesil impakt r n her bir bölümündeki (stage 1-8) partiküllere ait % dağılım grafikleri  ekil 38’te verilmiştir.



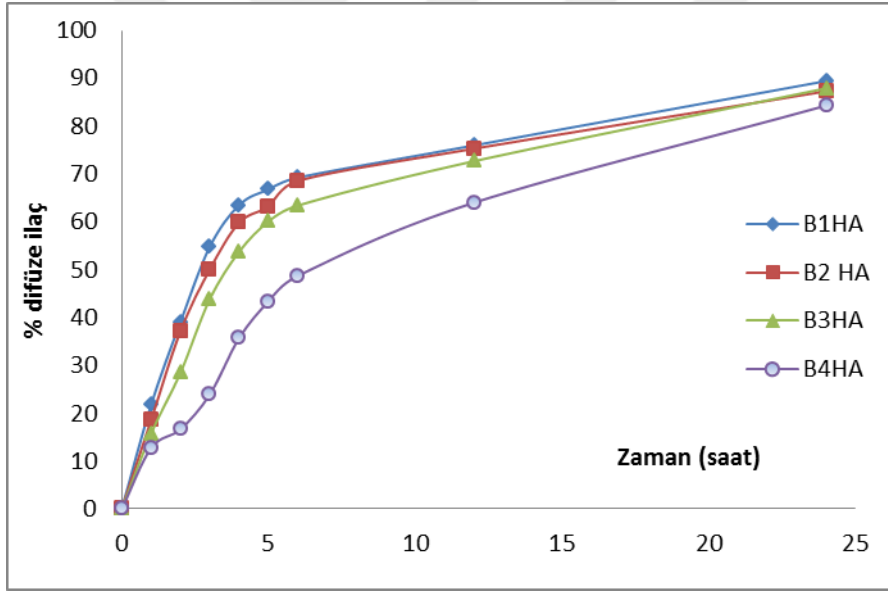
Şekil 29. B3HA KT  form lasyonlar n n yeni nesil impakt r  cihaz n n her bir bölümündeki (stage 1-8) partiküllere ait dağılım grafiği.

#### 5.4.9 * n Vitro* İlaç Salım  alı malarına Ait Bulgular

Hazırlanan kuru toz inhaler formülasyonlarından ilaç difüzyonuna ait grafikler  ekil 39-40’da verilmiştir.



Şekil 30. TA, mannitol ve lösün içeren KTİ formülasyonlarından ilaç difüzyonu.



Şekil 31. TA, mannitol, lösün ve hiyalüronik asit içeren KTİ formülasyonlarından ilaç difüzyonu.

#### 5.4.10 *In Vitro* Salım Kinetiği Analizine Ait Bulgular

Her bir model için determinasyon katsayısı ( $r^2$ ) değerleri Tablo 26'da verilmiştir. Determinasyon katsayısı ( $r^2$ ) değerleri açısından formülasyonlardan ilaç salımının birinci derece kinetiğine uygun olduğu görülmüştür.

Tablo 26. KTİ formülasyonlarının *in vitro* salım kinetiği analizine ait determinasyon katsayısı ( $r^2$ ) değerleri.

| Formülasyon kodu | Birinci derece                    | Sıfıncı derece | Hixson-Crowell | Higuchi |
|------------------|-----------------------------------|----------------|----------------|---------|
|                  | determinasyon katsayısı ( $r^2$ ) |                |                |         |
| B3               | 0.84                              | 0.55           | 0.74           | 0.72    |
| B3HA             | 0.89                              | 0.73           | 0.84           | 0.87    |

### 5.5 Araştırma Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirilmesine Ait Bulgular

Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi ve bulunan sonuçlar arasındaki farklılık ya da benzerlikler  $p < 0.05$  anlamlılık seviyesinde yorumlandı.

## 6 Tartışma

GINA'ya (Global Initiative for asthma: Küresel Astım Önleme ve Tedavi Girişimi Rehberi) ve Türk Toraks Derneği Astım Tanı ve Tedavi Rehberi'ne göre astım hastalığı şu şekilde tanımlanmaktadır:

*"Astım, hava yolu inflamasyonu ile karakterize zaman içinde sıklığı ve ağırlığı değişen hırıltı, nefes darlığı, göğüste sıkışma-baskı hissi ve öksürük yakınmaları ile tanımlanmış değişken ekspiratuar hava akımı kısıtlılığı bulunan heterojen bir hastalıktır."*

Astım hastalığı dünyada yaklaşık 300 milyon kişiyi ve ülkemizde de yaklaşık 3.5 milyon kişiyi etkilediği bildirilen kronik bir hastalıktır (72). Son yıllarda astım prevalans ve insidasında büyük artış görülmektedir. Prevalans ve insidansda görülen bu artışlarda genetik faktörlerin yanı sıra değişen çevre koşullarının da etkili olduğu bilinmektedir. Artışın en belirgin oldu dönem çocukluk çağıdır ve çocukluk çağında en sık görülen astım türü ise bronşiyal astımdır (72, 73).

Astım tedavisinde en çok tercih edilen tedavi yöntemi inhale kortikosteroidlerle yapılan tedavidir. Bu sayede astım semptomları kontrol altına alınarak hastanın yaşam kalitesi arttırılır. Triamsinolon ve türevleri antienflamatuvar ve immünosüpresif özellikte sentetik glukokortikoidlerdir. Yapılan bu tezde, triamsinolon asetonid (TA)'in kuru toz inhaler formülasyonları hazırlanıp, *in vitro* etkinlikleri araştırılmış ve değerlendirilmiştir. Bu amaçla öncelikle etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir.

TA'in FT-IR spektrumu, 600-4000  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayıları arasında Perkin Elmer, Spectrum 100 cihazı (ATR: miracle ATR, PIKE TECHNOLOGIES; Software: Spectrum Version 6.3.5.0176; Resolution: 4  $\text{cm}^{-1}$ ; Scan number: 4) kullanılarak alınmıştır. FT-IR spektrumunda kimyasal yapıya bağlı olan karakteristik pikler görülmüştür. Bu pikler maddenin saf olduğunu göstermektedir (Şekil 25).

Erime derecesi, Barnstead elektrotermal (Barnstead Electrothermal 9100, IA, USA) tayin cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemle belirlenen erime derecesi  $298 \pm 1^\circ\text{C}$ 'dir. Bu değer literatür ile uyumludur (97, 98).

TA'in pH 7.4 fosfat tamponunda (PBS) + %1 (w/w) SLS içerisinde UV spektrumu, Shimadzu UV 1601 spektrofotometresi kullanılarak alınmıştır.  $\lambda_{\text{max}}$  değeri 236 nm olarak bulunmuştur. Bulunan  $\lambda_{\text{max}}$  değerinin literatürlerde belirtilen dalga boyu ile uyumlu olduğu görülmüştür (Şekil 29) (94).

Etkin maddenin  $\lambda_{\max}$  değerinin literatür ile uyumlu olduğu belirlendikten sonra HPLC (Hewlett Packard, Agilent Series 1100; UV dedektörü 236 nm dalga boyunda; C<sub>18</sub> Hypersil ODS 25 mm x 4 mm) sistemi ile miktar tayini çalışmaları yapıldı. Mobil faz olarak asetonitril:sulu faz (40:60) karışımı seçildi. Çünkü etkin madde en iyi pikleri asetonitril:sulu faz (40:60) mobil fazında vermektedir. Miktar tayininde kullanılmak üzere TA'nın mobil faz içerisinde stok çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltiden gerekli seyreltmeler yapılarak 236 nm dalga boyunda, UV dedektör ile eğri altı alan değerleri okundu (94). Eğri altı alan değerleri ile konsantrasyon arasında doğrusal bir bağlantı elde edildi ve miktar tayinlerinde kullanılmak üzere standart doğru denklemi " $y = 39.156x + 9.7634$ " olarak bulundu (Şekil 32).

HPLC ile yapılan miktar tayini yönteminin geçerliliğinin kanıtlanması için analitik yöntem validasyonu çalışmaları yapıldı. Validasyon için yapılan çalışmalarda doğrusallık, kesinlik (tekrar edilebilirlik ve ara kesinlik), saptama derişimi (Limit of detection, LOD; Dedeksiyon sınırı), duyarlık veya analiz sınırı (Limit of quantification, LOQ; Tayin sınırı) parametreleri incelendi (101).

Yapılan doğrusallık çalışmalarında, çalışılan konsantrasyon aralığında konsantrasyon-eğri altı alan ilişkisinin doğrusal olduğu görüldü. Bu doğrusallığın göstergesi olan determinasyon katsayısı ( $r^2$ ) 1 olarak bulundu.

Kesinlik tayininde, etkin maddenin standart doğru çiziminde kullanılan ortamdan hazırlanan belirli bir konsantrasyondaki çözeltisi seçilerek tekrar edilebilirlik ve ara kesinlik parametreleri uygulandı. Varyasyon katsayıları %2'nin altında bulunarak yöntemin kesinliğini kanıtlandı.

Saptama derişimi (Limit of detection, LOD; Dedeksiyon sınırı) ve duyarlık veya analiz sınırı (Limit of quantification, LOQ; Tayin sınırı) değerleri de sırasıyla 0.307 µg/ml ve 0.929 µg/ml olarak bulundu.

TA'in PBS (pH 7.4) %1 (w/w) SLS ortamdaki çözünürlük çalışması gerçekleştirildi. Yapılan çalışmada, çözünürlük oranı 833.41 µg/ml olarak bulundu. TA suda çözünürlüğü düşük olan bir etkin maddedir (46, 47). Bulunan çözünürlük oranı da TA'nın suda az çözünür olduğunu desteklemektedir (Tablo 8).

Lipit/su partisyon katsayısı, etkin maddenin çözücü ve su arasında nasıl bir dağılım gösterdiğini ifade etmektedir. Etkin maddenin partisyon katsayısı ile molekül ağırlığı, emilimi ve membranlardan geçiş arasında yakın ilişki olmasından dolayı formülasyon içinde bulunan etkin maddenin etkinliği partisyon katsayısından önemli ölçüde etkilenir. Yapılan çalışmalar sonucunda, TA'in lipit/su partisyon katsayısı  $\log P = 2.47$

$\pm 0.16$  olarak hesaplanmıştır. Bulunan sonuç etkin maddenin lipofilik bir etkin madde olduğunu dolayısıyla suda çözünürlüğünün düşük olduğunu göstermektedir. Bulunan sonuç literatürler ile uyumludur. (94, 103).

Pulmoner yol, akciğerlerdeki düşük enzimatik aktivite, yüksek damarlanma, ince alveoler epitelyum ve geniş yüzey alanı gibi avantajlar sağlaması nedeniyle tercih edilen bir ilaç uygulama yoludur. İlaçlar oral yolla verildiği zaman karaciğerde ilk geçiş etkisine uğrarken pulmoner ilaç uygulamasında böyle bir durum söz konusu değildir. Bu nedenle ilaçların sistemik ve lokal verilmesi için pulmoner yolun uygun bir yöntem olduğu düşünülmektedir. İlaçların pulmoner yolla verilmesinde, karaciğerden ilk geçiş etkisi önlenmesi için, biyoyararlanımlarında artış görülmektedir. Akciğerlere uygulanan taşıyıcı sistemlerde akciğerde tutulan ve dağılan dozun belirlenmesinde etkili en önemli özellik, partikül büyüklükleridir. Pulmoner yolla uygulanan ilaçlar solunum yollarında partikül büyüklüklerine göre depolanarak klinik etkilerini gösterir. Partiküllerin akciğerlerin derinlerine ilerleyebilmesi için partikül boyutunun 5  $\mu\text{m}$ 'den küçük olması gerekmektedir. Solunum yollarında maksimum depolanma için partikül çap dağılımı 2-5  $\mu\text{m}$  arasında olmalıdır. 2  $\mu\text{m}$ 'den küçük çaplı partiküller alveollerde depolanırken 10  $\mu\text{m}$ 'den büyük partiküller ağızda birikir. 7-10  $\mu\text{m}$  arasındakiler ise üst hava yollarında kalmaktadır.

Yaklaşık olarak 0.5  $\mu\text{m}$  çapa sahip partiküllerin respiratuar bölgede tutulması minimum düzeydedir. Bu çapta tüm tutulma mekanizmaları etkisizdir. Aerodinamik partikül çapı 3  $\mu\text{m}$  olduğunda maksimum alveoler tutulmaya ulaşılmaktadır. Partikül çapının artması ile bronşiyal tutulumun artması, daha az partikülün alveoler bölgeye ulaşmasına ve bunun sonucunda alveoler bölgedeki tutulumun azalmasına neden olmaktadır. Partikül büyüklüğü 8  $\mu\text{m}$ 'nin üzerine çıktığında alveoler tutulma ihmal edilmekte, bronşiyal tutulum ise maksimuma ulaşmaktadır. Aerosol partiküllerinin ağız ve boğazdaki çarpması ile, çok az partikül bronşiyal ve alveoler bölgeye ulaşabilmektedir. Özetlenecek olursa; 1-5  $\mu\text{m}$  çapa sahip partiküller esas olarak intratorasik solunum yollarında tutulurken, çapı >5  $\mu\text{m}$  olan partiküller için çarpma önemli bir rol oynamakta ve ekstratorasik tutulma artarken intratorasik tutulma azalmaktadır (104).

Akciğerlere etkin bir iletim için kuru toz inhaler formülasyonları solunduğunda kolayca dağılabilmelidir (105). Bununla birlikte partiküller arası kohezif kuvvetler akciğerler için uygun partikül büyüklüğü olan 5  $\mu\text{m}$ 'den küçük iyi mikronize tozlarda daha baskındır. Bu kuvvetler, mikronize kuru tozların akıcılığını, dağılmasını ve

dolayısıyla kuru toz formülasyonlarının aerolizasyon özelliklerini ve verimini etkilemektedir (106). Bunun için partiküllerin birbirlerini güçlü bir şekilde tutabileceği kadar stabil bir karışım hazırlanmalı fakat hazırlanan bu karışımındaki partiküller solunarak akciğerlere alındığında birbirinden ayrılabilmelidir (107). Eğer ilaç partikülleri taşıyıcıdan ayıramaz ise boğaz bölgesinde ve üst solunum yollarında depolanır. Partiküllerin bu bölgelerde depolanması istenen bir durum olmamakla birlikte tedavinin etkinliğini de azaltmaktadır (108).

Farmasötik uygulamalar için, homojen bir partikül büyüklüğü dağılımı oldukça önemli bir parametredir. Etkin maddenin akciğerlerde istenilen bölgeye hedeflenmesi için partikül büyüklüğü ve dağılımı önemlidir. Püskürterek kurutma yöntemi homojen ve istenilen büyüklükte partiküller elde etmek için uygun bir yöntemdir (151). Püskürtme başlığı delik çapı, sprej akış hızı, giriş hava sıcaklığı, atomizasyon basıncı gibi parametreler değiştirilerek istenilen büyüklükte partiküller ve istenilen özellikle KTİ formülasyonları elde edilebilir. Püskürterek kurutma yöntemi düşük maliyetli, basit, uyarlanabilir ve ölçeklenebilir olması nedeniyle sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir (126). Yapılan bir çalışmada poli-(D, L-laktid-ko-glikolid) (PLGA) çözeltileri kullanılmış ve partiküller sulu PLGA nanosüspansiyonlarından nano Sprej Drier B-90 kullanılarak hazırlanmış ve besleme çözeltisinin konsantrasyonunun yanı sıra püskürtme başlığının çapının elde edilen partikül boyutuna etkisi incelenmiştir. Formülasyonlar 4.0, 5.5 ve 7.0  $\mu\text{m}$ 'lik püskürtme başlıkları kullanılarak hazırlanmış ve 5.5  $\mu\text{m}$  çaplı püskürtme başlığı kullanılarak hazırlanan partiküllerin uygun partikül boyutuna sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca bu püskürtme başlığı ile hazırlanan partiküllerde organik fazdaki polimer miktarı arttıkça partikül boyutunun da arttığı gözlenmiştir (127). Bütün bu parametreler dikkate alındığında püskürterek kurutma yöntemi ile mikropartikül hazırlanmasının çalışmamız için en uygun yöntem olduğuna karar verilmiştir. Projede nano boyutlu püskürterek kurutucu cihazı (Nano Spray Dryer BUCHI, B-90) ve 4  $\mu\text{m}$ , 5.5  $\mu\text{m}$  ve 7  $\mu\text{m}$  mesh'lik püskürtme başlıkları kullanılarak mikropartiküler toz formülasyonları hazırlandı. En uygun (ideal) partikül büyüklüğüne ve dağılımına sahip mikropartiküller 5.5  $\mu\text{m}$  mesh'lik püskürtme başlığı kullanılarak elde edildi.

Mikropartiküller, partikül boyutu bir mikrondan birkaç mm'ye kadar değişebilen ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Konvansiyonel dozaj formlarıyla kıyaslandığında düşük dozda ilaç kullanımına olanak sağlayarak etkin maddenin etkinliğini arttırması, toksisitesinin az olması, etkin maddenin biyoyararlanımını arttırması, yan etkileri en aza indirmesi,

artmış hasta uyumu ve etkin maddenin stabilitesini arttırması gibi çeşitli avantajlara sahiptir (109, 110). Akciğerler vücudun dış ortama açılan ana kapısıdır. Solunumla dış ortamdaki yabancı maddeler doğrudan akciğerlere girer. Yabancı maddelerin akciğerlere girmesini önlemek için akciğerler çoklu temizleme mekanizmalarına sahiptir. Bu temizleme mekanizmaları akciğerin sterilitesini korurken diğer yandan inhale edilen ilaçların terapötik etkinliğinin önündeki engeller olarak da işlev görebilir. Partikül bazlı ilaç dağıtım sistemleri, akciğer temizleme mekanizmalarını atlatmak, gelişmiş terapötik verim ve kontrollü ilaç salımı sağlamak için geleneksel inhale ilaçlara yenilikçi ve umut verici bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır (112). Yapılan çalışmalar mikropartiküllerin pulmoner yol ile ilaç uygulamasında iyi bir taşıyıcı sistem olduğunu göstermiştir (111, 113). Bu sayılan avantajlardan dolayı çalışmamızda kuru toz inhaler formülasyonlarının geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda polimer olarak hyalüronik asit kullanıldı. Hyalüronik asit kuru toz inhalerlerde kullanılan hidrofilik ve mukozaya yapışan (mukoadezif) doğal polimerdir. Hyalüronan olarak da bilinen hyalüronik asit (HA),  $\beta$ -1,4 ve  $\beta$ -1,3 glikozidik bağlarla D-glukuronik asit ve N-asetil-D-glukosaminden oluşan bir polimerdir (114). Esas olarak hyalüronidaz tarafından metabolize edilen HA, akciğer yapısı için endojen bir maddedir (115). Doğal polimerler akciğer ortamıyla etkileşime girerek akciğerde daha uzun süre formülasyonların kalmasını sağlarlar (116, 117). Memelilerin akciğerlerinden izole edilen HA ile yapılan çalışmalar, insan akciğer sekresyonlarının, 34 ila 423 ng/mL aralığında yaklaşık olarak 66 ng/mL HA içerdiğini göstermektedir (115,118). Yapılan başka bir çalışmada ise inhale edilebilen sığır serum albümini (BSA) mikropartikülleri HA ile hazırlanmış ve protein salınımı ile aerodinamik özellikler değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçları, sodyum hyalüronatın akciğerdeki proteinlerin/peptitlerin sürekli salınımı için uygun olduğunu ortaya koymuştur (58). Kumar ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada HA kullanılarak insülinin KTİ ve çinko/hidroksilpropil selüloz/HA KTİ formülasyonları püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlanmıştır. Bu formülasyonlar erkek Beagle köpeklerinin akciğerlerinde insülinin kontrollü salınımını sağlamak için köpeklere uygulanmıştır. Formülasyonlar karşılaştırıldığında insülinin akciğerlerdeki ortalama kalış süresi, AUC/doz ve insülin  $t_{max}$ 'ında artış olduğu görülmüştür (119). Biz de yapılan bu çalışmalara dayanarak tezimizde polimer olarak hyalüronik asiti tercih ettik.

Tezimizde yardımcı madde olarak ise mannitol ve lösün kullanılmıştır.

Püskürterek kurutma yöntemi ile mikropartikül eldesinde lösin en çok kullanılan yardımcı maddelerden biridir. Lösin ilavesi KT  formülasyonlarının dağılabirliğini ve aerosol etkinliğini arttırırken aynı zamanda kohezif özelliği düşük partiküller elde edilmesine olanak sağladığı da yapılan çalışmalarda görülmüştür (83). Pulmoner yol ile uygulanan formülasyonlara ilave edilen lösin sayesinde uygun partikül boyutu ve dağılımına sahip mikropartiküller elde edilebilmektedir. Yapılan çalışmalarda da lösin partikül oluşumunu ve aerosol özelliği arttırıcı ajan olarak kullanılmış olduğu görülmektedir. Hazırlanan formülasyonların SEM ile yapılan morfolojik analizlerinde, artan lösin konsantrasyonuna karşılık, azalmış partikül aglomerasyonu belirgin bir şekilde görülmektedir. X-ışını toz kırınımı (XRD) analiz sonuçlarında da l sinin bir enkapsülasyon ajanı olarak önemli olduğu gösterilmiştir (120). Yapılan başka bir çalışmada püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlanan glisin/alanin/mannitol içeren KT  formülasyonlarına L-lösin ilave edilmesi sonucu formülasyonların verimlerinde artış meydana gelmiştir (121).

Mannitol, proteinler ile Maillard reaksiyonuna girmeyen ve indirgeyici olmayan bir şekerdir. Bu avantajlarına ilaveten mannitol, higroskopik olmadığı için kurutulmuş protein formülasyonlarında stabilize edici bir yardımcı madde olarak da kullanımı çok yaygındır (122, 123) Mannitolün, püskürterek kurutma yöntemiyle hazırlanan formülasyonlarında FPF'leri arttırdığı, ancak fazla miktarda mannitol ilavesinin, aerosolizasyon performansında bir azalmaya neden olduğu yapılan çalışmalarda bulunmuştur (54). Amorf halde bulunan mannitolün, püskürtülerek kurutulmuş proteinlerin stabilize edilmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (124). Mannitolün, laktoz ve glukoz gibi taşıyıcılar ile karşılaştırıldığında nem tutma kapasitesinin düşük olması inhalasyon için hazırlanan tozların akış özellikleri açısından diğer bir avantajdır. Ayrıca mannitol aglomerasyonu da büyük ölçüde önlemektedir (125). Bu sayılan avantajlarından dolayı form lasyonlarımızda mannitol kullanımı tercih edilmiştir.

Çalışmamızda, birinci aşamada etkin madde ve yardımcı maddeleri (mannitol ve lösin) içeren KT  formülasyonları (B1-B3) hazırlanmıştır (Tablo 4). İkinci aşamada ise, doğal polimerlerden olan hyalüronik asit, etkin madde ve yardımcı maddeleri (mannitol ve lösin) içeren mikropartiküler KT  formülasyonları (B1HA-B4HA) hazırlandı (Tablo 5). Bu formülasyonlar ile akciğerlerde etkin maddenin depolanması artırılarak, astım hastalığının tedavisine yenilikçi bir bakış açısı ile çözüm sunulması planlanmıştır.

Püskürterek kurutma yöntemiyle hazırlanan etkin madde olarak itrakonazol, yardımcı madde olarak ise mannitolün kullanıldığı bir çalışmada işlem verimi %40-%60 arasında bulunmuştur (128). Başka bir çalışmada ise aynı yöntem kullanılarak Griseofulvin ve mannitol ile hazırlanan formülasyonların verimi %65-78 olarak hesaplanmıştır (129). Tezimizde püskürtülerek kurutma yöntemiyle polimer içermeyen mannitol yardımcı maddesi ile hazırlanan KTİ formülasyonlarının üretimlerinden elde edilen verimler %68.63-76.37 aralığında bulunmuştur. HA polimeri kullanılarak hazırlanmış olan KTİ formülasyonlarının üretimlerinden elde edilen verimler ise %66.92-77.35 arasında bulunmuş olup, HA oranı arttıkça formülasyon veriminde azalma gözlenmiştir (Tablo 13-14). Çünkü püskürtülecek KTİ formülasyonlarındaki polimer miktarının artışı viskoziteyi arttırdığı için püskürtme başlığından püskürtülebilirliği zorlaştırmış ve formülasyon verimlerinin düşmesine neden olmuştur.

Akciğer sürfaktanları tip II alveoler epitelyal hücreler tarafından salgılanırlar. Alveol duvarını uygun nem seviyesinde tutmak, hava-sıvı tabakasında yüzey gerilimini azaltarak alveollerin stabilizasyonunu sağlamak, ekspirasyon sırasında küçük alveollerin kollapsını ve daha büyük alveollere yapışmasını önlemek ve inhalasyon sonucu alveollere kadar ulaşabilecek küçük partiküllerin emülsifiye edilmesini sağlayarak bunların makrofajlar tarafından fagositozunu kolaylaştırmak gibi görevleri vardır (132). Obstrüktif akciğer hastalıklarında, ilacın birikimi ve dağılımında farklılıklar görülebilir. İnhaler sistemlerde kullanılan sürfaktan bazlı aeresol taşıyıcılar yüzey gerilimi düşürerek doz homojenliği artırır ve havalanmanın yetersiz olduğu bölgelerde de ilaç dağılımını iyileştirir (130, 131).

Püskürtülecek çözeltilerin yüzey gerilimi ile partiküller arası agregasyon, hazırlanan partiküllerinin karakterizasyonu hakkında bilgi edinilmesinde önemlidir. KTİ formülasyonlarının elde edilmesinde kullanılan püskürtülecek çözeltilerin yüzey gerilimleri Wilhelmy plate tipi tensiyometre (Tensiometer EasyDyne, Krüss, Almanya) ve viskoziteleri de tek noktalı AND Vibro Viscometer SV-10 model viskozimetresi ile ölçülmüştür. Mannitol ve lösün ile hazırlanan KTİ formülasyonların yüzey gerilim değerleri  $62.2 \pm 1.8$ - $63.7 \pm 2.2$  mN/m arasındadır (Tablo 9). HA polimeri ilave edilerek hazırlanmış olan KTİ formülasyonların yüzey gerilim değerleri  $60.1 \pm 2.2$ - $65.4 \pm 1.7$  mN/m olarak belirlenmiştir (Tablo 10).

Viskozite bir sıvının akmaya karşı gösterdiği dirençtir. Viskozite arttıkça direnç de artmaktadır (54). Püskürterek kurutma işlemine tabi tutulacak KTİ çözeltilerinin

viskozite değerleri sıvıların Nano-Spray Dryer ile püskürtülebilme potansiyeli açısından incelenmiştir. Polimer içermeyen formülasyonların viskozite değerleri daha düşük bulunmuştur (Tablo 11-12).

Partikül büyüklüğü KTİ formülasyonları açısından oldukça önemlidir. İn hale edilen partiküller akciğerlerde hedeflenen bölgeye partikül boyutuna göre ulaşarak etki gösterir. Hazırladığımız KTİ formülasyonlarının partikül büyüklükleri lazer ışık kırınımı prensibi esaslı sistem (Malvern Mastersizer 3000, kuru ölçüm esaslı) kullanılarak belirlenmiştir. Ortalama partikül büyüklüğü değerleri 5 µm'dan küçük bulunmuştur (Tablo 15).

Partiküllerin morfolojik özelliklerinin incelenmesi taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleme çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla, hazırlanan B3 ve B3HA formülasyonların SEM çekimleri incelendiğinde küresel şekilde oldukları görülmüştür. SEM çalışmalarında elde edilen partikül büyüklüğü ölçümlerinin, lazer ışık saçılımı yöntemi ile yapılan sonuçlarla uyumlu olduğu bulunmuştur (Şekil 33).

Atomik kuvvet mikroskobu, atomik boyutlara kadar sivriltilmiş bir iğne ucu yardımıyla, yüzeyin yüksek çözünürlükte üç boyutlu görüntülenmesini sağlar. İğne ucunun yüzey ile etkileşiminin incelenmesi sonucunda görüntü elde edilir. Atomik kuvvet mikroskobu (Atomic Force Microscopy - AFM) ile yapılan çalışmalarda B3HA partiküllerinin yüzeyinin pürüzlü olduğu görülmüştür (Şekil 34) (86, 87, 108).

Partikülün zeta potansiyeli yüzey yükünün bir ölçüsüdür. Zeta potansiyeli tanecikler arasındaki itme veya çekme değeri ölçümü olarak da ifade edilebilir. Partikülün yüzey yükü, partiküllerin biyomoleküllerle etkileşimini, hücre içine alınımını ve partiküle maruziyet sonrası hücrelerin reaksiyon yolunu etkilemektedir. Yüksek zeta potansiyel elektrostatik itmeyi artırarak partikülleri birbirinden ayrı durmaya zorlar ve stabilizeyi artırır. Hazırlanan KTİ formülasyonlarının yüzey yüklerinin ölçümleri zetametre (Zetasizer Nano S Model, Malvern) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. En yüksek yüzey yükü mannitol ve lösin ile hazırlanan KTİ formülasyonlarında  $-14.7 \pm 1.1$  mv ve HA polimeri ilave edilerek hazırlanmış olan KTİ formülasyonlarında ise  $-24.8 \pm 1.8$  mV olarak bulunmuştur (Tablo 16-17). HA, KTİ formülasyonunun negatif yüzey yük değeri, partiküllerin yüzeyinde bulunan negatif yüklü karboksilik asit ( $\text{COO}^-$ ) hiyalüronik asit zincirlerine dayanmakta olup literatür verileri ile uyumludur (142).

Tozların akciğerlerde depolanabilme potansiyeli arttıkça, dansitesinin azalmakta olduğu bilinmektedir. Bu amaçla, hazırlanan KTİ formülasyonlarının akış özellikleri Carr sıkışabilirlik indeksi ve Hausner oranı kullanılarak incelenmiştir (79, 82). HA

içermeyen mannitol ve lösin yardımcı maddesi ile hazırlanan KTİ formülasyonlarına ait Carr sıkışabilirlik indeks değerleri  $\%20.02 \pm 1.34 - 23.82 \pm 1.65$ , Hausner oranı  $1.25 \pm 0.07 - 1.31 \pm 0.02$  aralığında bulunmuştur. Mannitol ve lösin yardımcı maddesi ile hazırlanan KTİ formülasyonlarının iyi akış gösterdiği belirlenmiştir. HA içeren KTİ formülasyonlarına ait Carr sıkışabilirlik indeks değerleri  $\%20.80 \pm 1.23 - 26.92 \pm 2.67$ , Hausner oranı  $1.26 \pm 0.11 - 1.36 \pm 0.21$  aralığında bulunmuştur (Tablo 18-20). Sonuçlar incelendiğinde, Carr sıkışabilirlik indeks değerlerinin formülasyonların çoğunda  $\%25$ 'in ve Hausner oranının  $1.25$  değerinden küçük olması tozların iyi akışa sahip olduğu görülmektedir (87). HA'nın biyoadeziv özelliğinden dolayı, HA içermeyen formülasyonların daha iyi akış özelliğine sahip olduğu görülmektedir.

Akciğerlerde gaz difüzyonu gerçekleşir ve karbondioksit yoğunluğu fazla olan hava dışarıya verilir. Gaz difüzyonunun gerçekleşmesinde, akciğer yüzeyinin nemli bir yapıya sahip olması önemli bir rol oynamaktadır.    nk  gazlar bu nemli yapı sayesinde     n r ve difüzyon işlemi gerçekleşir. Ayrıca KTİ sistemlerde dozlama inhalasyon hızından etkilenmektedir. Etkili bir inhalasyon için inspirasyon hızı en az  $30 \text{ L/dk}$  olmalıdır. KOAH gibi rahatsızlığı olan hastalarda inhalasyon önemli bir sorundur. Bu hastalarda tekdüze dozlama sağlayabilmek için KTİ'lerin akış özelliklerinin iyileştirilmesi gerekmektedir. Bu nedenlerle tasarlanan KTİ formülasyonlarının akış özellikleri iyileştirilmeli ve yüksek nemde de fiziksel olarak stabil olmaları sağlanmalıdır (104). Termal Gravimetrik Analiz cihazı (Perkin Elmer TGA-4000) kullanılarak,  $30-250^\circ\text{C}$  arasında,  $10^\circ\text{C/dk}$  olacak şekilde KTİ formülasyonlarının ağırlık kayıpları termogravimetrik olarak tayin edilmiştir (70, 89). B3HA formülasyonuna ait ağırlık kaybı  $\%0.11 \pm 0.01$  bulunmuştur (Tablo 21).

B3HA formülasyonlarının FT-IR spektrumlarında, kimyasal yapıya bağlı olan karakteristik pikler ve buna bağlı olarak da formülasyon içerisinde etkin maddenin saf olduğu gösterilmiştir (şekil 37).

Püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlanan salmeterol ksinofat ve kitosan ile yapılan başka bir çalışmada  $\%$  enkapsülasyon etkinliği  $\%70$  civarlarında bulunmuştur (136). Yapılan başka bir çalışmada ise suda     nmeyen ilaçlardan olan Siklosporin A ve deksametazonun, biyolojik olarak parçalanabilen PLGA polimeri ile nano sprey dryer B-90 kullanılarak nanopartikülleri hazırlanmış,  $\%$ enkapsülasyon etkinliği hesaplandığında siklosporin-PLGA nanopartiküllerinde  $\%37.8 - \%41.4$  ve Deksametazon-PLGA nanopartiküllerde ise  $\%62.4 - \%80.7$  bulunmuştur (89). HA içermeyen mannitol ve lösin yardımcı maddesi ile hazırlanan KTİ formülasyonlarına

ait %enkapsülasyon etkinliği  $79.8 \pm 2.3$  -  $83.1 \pm 1.1$  ve HA içeren KTİ Formülasyonlarına ait %enkapsülasyon etkinliği  $81.3 \pm 1.2$  -  $88.3 \pm 2.1$  arasında bulunmuştur (Tablo 22-23). Elde edilen yüksek enkapsülasyon etkinliği, KTİ formülasyonların hazırlanması için seçilen püskürtülerek kurutma yönteminin uygun olduğunu göstermiştir.

KTİ formülasyonlarının partikül boyutu, uygulandıktan sonra akciğerlerin hangi bölgesine tutulacağı ve ilacın kalış zamanının tahmin edilebilmesinde önemlidir (134). Bu amaçla *in vitro* olarak KTİ formülasyonlarının aerosol performans testleri, çok katlı sıvı impinger, Andersen kaskat ve yeni nesil impaktör kullanılarak yapılmaktadır. Partikül boyut dağılımının belirlenmesi için, bölümlerinde toplanan partiküllerdeki etkin madde miktarı analitik yöntemlerle tayin edilir (138). İmpaktörler 7 veya daha fazla katmanın bir araya getirilmesiyle hazırlanmıştır ve inhaler cihazından gelen partiküllerin farklı katmanlarda aerodinamik partikül çaplarına göre ayırımını sağlarlar (139). İmpaktör ile çalışma sonucunda bulunan formülasyonların FPF değerinin yüksek olması, partiküllerin optimum bir akış hızına sahip olduğunu göstermektedir. İyi bir akışın sayesinde, boğaz bölgesinde etkin maddenin birikmesi engellenerek, partiküllerin akciğerlere ulaşması ve istenilen bölgede gerekli miktarda ilacın depolanması sağlanır (140).

Hazırlanan KTİ formülasyonlarının performansı NGİ sistemi kullanılarak *in vitro* olarak değerlendirilmiştir (84, 92, 93). KTİ sistemler hastanın soluk almasıyla aktive olan sistemlerdir. Etkin maddenin akciğerlerde hedeflenen bölgeye ulaşmasında inspirasyon hızının da önemi vardır. Etkili bir inhalasyon için inspirasyon hızı en az 30 L/dk olmalıdır. NGİ bize 15 L/dk ile 100 L/dk inspirasyon hızları aralığında çalışma imkanı sunmaktadır.

HA içermeyen mannitol ve lösin yardımcı maddesi ile hazırlanan KTİ formülasyonlarına ait ince partikül fraksiyon (FPF) değerleri  $36.60 \pm 0.76$  -  $48.2 \pm 0.99$  ve HA içeren KTİ formülasyonlarına ait ince partikül fraksiyon (FPF) değerleri  $33.06 \pm 0.88$  -  $44.13 \pm 0.73$  arasında bulunmuştur (Tablo 24-25).

Yapılan bir çalışmada 30:48:20:2 (ağırlık / ağırlık%) oranında ilaç (Albuterol Sülfat veya Terbutalin Sülfat), mannitol, L-lösin ve poloksamer 188'den oluşan 0.5 mg/ml toplam katı madde konsantrasyonunu içeren %20 etanol su çözeltisi bir Büchi Nano sprey dreyer B-90 kullanılarak püskürterek kurutma yöntemiyle KTİ formülasyonu hazırlanmış ve FPF değerleri 5 µm den küçük partiküller için %95.1, 1 µm den küçük partiküller için ise %31.4 olarak bulunmuş (141).

HA içermeyen yardımcı madde olarak mannitol ve lösün içeren KTİ formülasyonlarından B3, HA içeren KTİ formülasyonlarından B3HA en yüksek FPF değerine sahip formülasyonlar olduğu görülmektedir (Tablo 24-25). KTİ formülasyonlarında lösün oranı arttıkça FPF değerinin arttığı bulunmuştur (Tablo 24-25). HA oranının %5 seviyesine kadar artışı FPF değerini gözle görülür şekilde değiştirmemiş olmasına karşın, HA oranının %5 seviyesinin üzerinde olması durumunda FPF değerinde düşüş gözlenmiştir (Tablo 25).

Tüberküloz tedavisinde kullanılan pirazinamid etkin maddesi ve lösün yardımcı maddesi kullanılarak bir çalışma yapılmış. Bu maddelerin püskürterek kurutma yöntemiyle, Nano Spray Dryer B-90 kullanılarak, KTİ formülasyonları hazırlanmış. Formülasyonlar lösün 0 PZA100, %10 PZA90, %20 PZA80, %50 PZA50, %70 PZA30 oranlarında ilave edilmiş ve formülasyondaki lösün miktarı arttıkça FPF değerlerinin de arttığı gösterilmiştir (141). Bir başka çalışmada ise, gentamisin ve lösün püskürterek kurutma yöntemiyle KTİ formülasyonları hazırlanmış. Gentamisin yalnız olarak ve lösün ile birlikte su, su/etanol ya da su/izopropil alkol gibi çeşitli çözücüler kullanılmış ve FPF değerleri incelendiğinde formülasyonlardaki lösün miktarı artışının %FPF değerlerini de arttırdığı görülmüştür (142).

Hazırlanan KTİ formülasyonlarından ilaç difüzyon çalışmaları diyaliz membran kullanılarak gerçekleştirilmiştir. HA içermeyen yardımcı madde olarak mannitol ve lösün içeren KTİ formülasyonlarından B1 formülasyonunda 24. saatte en yüksek etkin maddenin salımı gözlenmiştir (Şekil 39). HA içeren KTİ formülasyonların TA salım hızı polimer miktarındaki artışa bağlı olarak yavaşlamıştır. Polimer içeren formülasyonlarda etkin madde polimer ile kaplandığı için sistemden difüze olma hızı azalmıştır buna bağlı olarak da salımı yavaşlamıştır. TA salımı; en düşük HA oranı içeren B1HA formülasyonunda 24. saatte  $89.43 \pm 1.7$ 'ye ulaşmışken en yüksek HA oranı içeren KTİ formülasyonunda (B4HA) TA salımı 24. saatte  $84.3 \pm 1.2$ 'dir (Şekil 40). FPF değeri en yüksek bulunan B3 ve B3HA KTİ formülasyonlarındaki TA salımı 24. saatte  $90.11 \pm 1.7$  ve  $87.90 \pm 2.6$  olarak bulunmuştur (Şekil 39-40).

Yapılan bir çalışmada püskürterek kurutma yöntemiyle salbutamol sülfatın KTİ formülasyonları hazırlanmış ve *in vitro* salım çalışmaları diyaliz membrandan difüzyon ortamı olarak pH 7.4 fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) kullanılarak yapılmış. Diyaliz çalışma protokolünde 250 ml difüzyon ortamı ve karıştırma hızı 100 rpm olarak belirtilmiştir. *In vitro* salım çalışması sonucunda 1:1 salbutamol sülfat:PLGA KTİ formülasyonundan 12. saatin sonunda % 92.57 salım gözlenmiştir (143).

İdeal olarak seçilen B3 ve B3HA KTİ formülasyonları üzerinde *in vitro* salım kinetiği analizi yapılmıştır. *In vitro* ilaç salım çalışmalarından elde edilen veriler istatistiksel yazılım programı kullanılarak çeşitli matematiksel modellere (Sıfırıncı derece, Birinci derece, Higuchi ve Hixon-Crowell kinetiği) uygulanmış (92) ve her bir model için determinasyon katsayısı ( $r^2$ ) değeri hesaplanmıştır. B3 ve B3HA formülasyonlarından elde edilen salım profilinin birinci dereceden kinetik modeline uyum sağladığı görülmüştür (Tablo 26). Birinci derece kinetiğe göre, birim zamanda salınan etkin madde miktarı, doğrudan sistemdeki etkin madde miktarı ile orantılıdır ve zamanla üssel olarak azalmaktadır.

## 7 Sonuç ve Öneriler

Yaptığımız çalışmaların sonucunda, bu çalışmanın tüm aşamaları planlandığı şekilde tamamlanmış, astım tedavisinde kullanılmak üzere TA yüklü mikropartiküler hazırlanmış ve klinik öncesi *in vitro* çalışmaları tamamlanmıştır.

### Kaynaklar

1. Solunum sistemi (2018, 6 Eylül) Erişim Adresi:  
<http://www.solunumsistemi.com/solunum-sistemi-anatomisi.html>.
2. Parks W.R. 1994. Morphology of the respiratory tract. In Occupational lung disorders, 3. Baskı Butterworth-Heinemann, Oxford, s. 1-17.
3. Ross M.H., Romrell L.J., Kaye G.I. 1995. Respiratory system. In Histology – A text and Atlas, 3. Baskı Williams ve Wilkins, s. 530-557.
4. Cryan SA, Carrier-based strategies for targeting protein and peptide drugs to the lungs. AAPS J 2005; 7: 20–41
5. Scheuch G, Kohlhaeufel MJ, Siekeier PBR. Clinical perspectives on pulmonary systemic and macromolecular delivery. Adv Drug Delivrev 2006; 58: 996–1008
6. Oberdorster G, Cox C, Gelein R. Intratracheal instillation versus, intratracheal-inhalation of tracer particles for measuring lung clearance function. Exp Lung Res 1997; 23: 17–34
7. Schreier H, Gonzalez-Rothi RJ, Stecenko AA. Pulmonary delivery of liposomes. J Cont Rel 1993; 24: 209–23.
8. Taylor KMG, Farr SJ. Liposomes for pulmonary drug delivery. In: Gregoriadis G, Florence AT, Patel HM, editors. Liposomes in drug delivery, 1993. s.95-109.
9. Juliano RL. Drugs and the respiratory system. In: Ihler GM, editor. Methods of drug delivery. Oxford: Pergamon Pres; 1986. s.141-149.
10. Altieri RJ, Thompson DC. Physiology and pharmacology of the airways In: Hickey, AJ, editor. Inhalation Aerosols, New York: Marcel Dekker; 1996. s.85-127.
11. Taylor T. Lungs (2018, 10 Haziran) Erişim Adresi:  
[www.innerbody.com/anatomy/respiratory/lungs](http://www.innerbody.com/anatomy/respiratory/lungs).
12. Adjei A.L., Ciu Y., Gupta P.K. 1996. Bioavailability and pharmacokinetics of inhaled drugs: In:Hickey AJ (Ed), Inhalation aerosols, Physical and

- biological basis for therapy, vol. 94, Marcel Dekker, New york, NY, s. 197-231.
13. Stone K.C, Mercer R.R., Gehr P., Stockstill B., Crapo J.D. 1992. Allometric relationships of cell numbers and size in the mammalian lung. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 6: 235-243.
  14. Abramson H.A. 1950. Aerosols II The Role of Particle Size in Inhalation Therapy by Atomization and Penicillin Dusts,. *Chest*, 18: 435-449.
  15. Çelebi N. (2002). Ed:Gürsoy A. Z. Kontrollü Salım Sistemleri. Kontrollü salım sistemleri derneği yayını No:1, İstanbul, s. 217-234.
  16. Mitchell J.P., Nagel M.W. 2004. Particle Size Analysis Of Aerosols From Medicinal Inhalers. *KONA*, 22: 32-65.
  17. Patton JS, Fishburn CS, Weers JA. The lungs as a portal of entry for systemic drug delivery. *Proc Am Thorac Soc* 2004; 1: 338–44.
  18. Bivas-Benita M, Zwier R, Junginger HE, Borchard G. Non-invasive pulmonary aerosol delivery in mice by the endotracheal route. *Eur J Pharm Biopharm* 2005; 61: 214–8.
  19. Okamoto H, Danjo K. Application of supercritical fluid to preparation of powders of high-molecular weight drugs for inhalation. *Adv Drug Del Rev* 2008; 60: 433–46.
  20. Kim KJ, Borok Z, Crandall ED. A useful in vitro model for transport studies of alveolar epithelial barrier. *Pharm Res* 2001; 183: 253–5.
  21. Gumbleton M, Hollins AJ, Omid Y, Campbell L, Taylor G. Targeting caveolae for vesicular drug transport. *J Cont Rel* 2003; 87: 139– 151.
  22. Hardy JG, Chadawick TS. Sustained release drug delivery to the lungs. *Clin Pharmacokinet* 2000; 39: 1–4.
  23. Garcia-Contreras L, Hickey AJ. Pharmaceutical and biotechnological aerosols for cystic fibrosis therapy. *Adv Drug Del Rev* 2002; 54: 1491–1504.
  24. Rao R, Markovic S, Anderson P. Aerosol therapy for malignancy involving the lungs. *Curr Cancer Drug Targets* 2003; 3: 239–50.

25. Pandey R, Khuller GK. Antitubercular inhaled therapy: opportunities, progress and challenges. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55: 430–5.
26. Zahoor A, Sharma S, Khuller GK. Inhalable alginate nanoparticles as antitubercular drug carriers against experimental tuberculosis. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 26: 298–303.
27. Cryan SA, Sivadas N, Garcia-Contreras L. In vivo animal models for drug delivery across the lung mucosal barrier. *Adv Drug Del Rev* 2007; 59: 1133–51.
28. Taylor G, Kellaway I. Pulmonary drug delivery, In: Hillery A, Lloyd A, Swarbrick J, editors. *Drug Delivery and Targeting*. New York: Taylor & Francis; 2001. s. 269–300.
29. Heyder J. Deposition of inhaled particles in the human respiratory tract and consequences for regional targeting in respiratory drug delivery. *Proc Am Thorac Soc* 2004; 14: 315–20.
30. Patton JS, Byron PR. Inhaling medicines: delivering drugs to the body through the lungs. *Nat Rev Drug Discov* 2007; 61: 67–74.
31. Patton JS. Mechanisms of macromolecule absorption by the lungs. *Adv Drug Del Rev* 1996; 19: 3–36.
32. Zhang J, Wu L., Chan H.K., Watanabe W. (2011) Formation characterization, and fate of inhaled drug nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63: 441-455
33. Martonen T.B. and Yang Y. 1996. Deposition mechanics of pharmaceutical particles in human airways: In:Hickey AJ (Ed), *Inhalation aerosols, Physical and biological basis for therapy*, vol. 94, Marcel Dekker, New york, NY, s. 3-27.
34. Wright P. *Inhalation Dosage Forms*. Gibson M. (Ed.)*Pharmaceutical Preformulation and Formulation* second edition s. (348-366) Loughborough, Leicestershire, U.K.

35. Crowder T.M., Hickey A.J., Louey M.D., Orr N. 2003. A Guide to Pharmaceutical Particulate Science. Interpharm/CRC. Boca Raton, London, New York, Washington D.C., Chapter 9
36. Dolovich M.B., Ahrens R.C., Hess D.R., Anderson P., Dhand R., Rau J.L., Smaldone G.C., Guyatt G. 2005. Device selection and outcomes of aerosol therapy: evidence-based guidelines. *Chest*. 127: 335-371.
37. Shoyele AS, Slowey A. Prospects of formulating proteins/peptides as aerosols for pulmonary drug delivery. *Int J Pharm* 2006; 314: 1-8.
38. Adjei A, Qiu Y, Gupta PK. Bioavailability and pharmacokinetics, In: Hickey, AJ, editor. *Inhalation Aerosols*, New York: Marcel Dekker; 1996. p.197-231.
39. Muers MF. Overview of nebuliser treatment. *Thorax* 1997;52 (Suppl 2) 25-30.
40. Muers MF. The rational use of nebulisers in clinical practice. *Eur Res Rev* 1997;7:44 189-197
41. Sorkness RL, Remus JL, Rosenthal LA. Systemic and pulmonary effects of fluticasone administered through a metered-dose inhaler in rats. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114 :1027–32.
42. Takka S. Aerosoller, Modern Farmasötik Teknoloji, Fersa Matbaacılık; 2007. s.317-332.
43. Davis SS. Delivery of peptide and non-peptide drugs through the respiratory tract. *PSTT* 1999; 2: 450–6.
44. Timsina MP, Martin GP, Marriott C, Ganderton D, Yianneskis M. Drug delivery to the respiratory tract using dry powder inhalers. *Int J Pharm* 1994; 101: 1–13.
45. Bosquillon C, Lombry C, Preat V, Vanbever R. Influence of formulation excipients and physical characteristics of inhalation dry powders on their aerosolization performance. *J Cont Rel* 2001; 70: 329–39.
46. European Pharmacopoeia. 2009. (6. Basım). Council of Europe, Strasbourg.

47. Moffatt AC. Clarke's isolation and identification of drugs. Second Edition. Pharmaceutical Press: London. 1986.
48. Alvarez Nunez, FA, Yalkowsky, SH. Correlation between log P and ClogP for Some Steroids, Journal of Pharmaceutical Sciences, 10:1187-1189, 1997.
49. Araújo J., Gonzalez-Mira E., Egea M.A., Garcia M.L., Soutob E.B. Optimization and physicochemical characterization of a triamcinolone acetone-loaded NLC for ocular antiangiogenic applications. International Journal of Pharmaceutics 2010; 393:167-175
50. Peng, C., Liu, C., Tang, X. (2010). Determination of physicochemical properties and degradation kinetics of triamcinolone acetone palmitate in vitro, Drug development and industrial pharmacy, 36:12, 1469-1476.
51. Lemke TL, Williams DA. Pingyangmycin with triamcinolone acetone effective for treatment of lymphatic malformations in the oral and maxillofacial region, Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery, 41: 345-349, Foye's Principles of Medicinal Chemistry, sixth edition: 898, 1254. 2008
52. Üstünes, L. 2019. Rx Media Pharma İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı, İzmir.
53. (2017, 9 Kasım) Erişim Adresi:  
[http://ichastaliklaridergisi.org/managete/fu\\_folder/2005-03/html/2005-12-3-130-137.htm](http://ichastaliklaridergisi.org/managete/fu_folder/2005-03/html/2005-12-3-130-137.htm)
54. Pilcer G., Amighi K. 2010. Formulation strategy and use of excipients in pulmonary drug delivery. International Journal of Pharmaceutics, 392: 1-19
55. Sheth, P.; Myrdal, P.B. Polymers for pulmonary drug delivery. In Controlled Pulmonary Drug Delivery; Symth, H.D.C., Hickey, A.J., Ed.; Springer; New York, 2011; 265–282.
56. Dentener, M.A.; Vernooy, J.H.J.; Hendriks, S.; Wouters, E.F.M. Enhanced levels of hyaluronan in lungs of patients with COPD: Relationship with lung function and local inflammation. Thorax 2005, 60 (2), 114–119.
57. Rouse, J.J.; Whateley, T.L.; Thomas, M.; Eccleston, G.M. Controlled drug delivery to the lung: Influence of hyaluronic acid solution conformation on

its adsorption to hydrophobic drug particles. *Int. J. Pharm.* 2007, 330 (1–2), 175–182.

58. Yurdasiper A., Arici M., Azizoglu E., Özyazıcı M. “Inhaler Systems, Dry Powder”, In: M.K. Mishra, ed. *Encyclopedia of Biomedical Polymers and Polymeric Biomaterials*. Philadelphia: CRC Press Taylor & Francis Group. 2015.
59. Global Initiative for Asthma 1995. Global strategy for asthma management and prevvention. NHLBI/WHO workshop report, March 1993 National Institutes of Health, National Hearth, Lung and Blood Institue publication number 95-3659,1995
60. Mitchell J.P., Nagel M.W. 2004. Particle Size Analysis Of Aerosols From Medicinal Inhalers. *KONA*, 22: 32-65
61. Hickey A.J., Thompson D.C. 2004. *Physiology of the airways*. Ed.: Anthony J. Hickey. *Pharmaceutical Inhalation Aerosol Technology*. Second Edition. Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
62. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Update 2015). Erişim Adresi: [http://www.ginasthma.org/local/uploads/files/GINA\\_Report\\_2015.pdf](http://www.ginasthma.org/local/uploads/files/GINA_Report_2015.pdf)
63. Massoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. Global Initiative for Asthma (GINA) Program. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy* 2004;59:469-78
64. Ece A, Ceylan A, Saraçlar Y, Saka G, Gürkan F, Haspolat K. 2001 Prevalence of asthma and other allergic disorders among school children in Diyarbakır, Turkey. *Turk J Pediatr* 43:286-92.
65. Demir AU, Çelikel S, Karakaya G, Kalyoncu AF. Asthma and allergic diseases in school children from 1992 to 2007 with incidence data. *J Asthma* 2010;47:1128-35.
66. Çelik G, Mungan D, Bavbek S, Sin B, Ediger D, Demirel Y, ve ark. The prevalence of allergic diseases and atopy in Ankara, Turkey: a two-step population-based epidemiological study. *J Asthma* 1999;36:281-90.

67. Kurt E, Metintaş S, Başığit İ, Bulut İ, Coşkun E, Dabak S, ve ark. Prevalence and risk factors of allergies in Turkey (PARFAIT): Results of Adults of a Multicentric-Cross Sectional Study. *Eur Respir J* 2009;33:724-33.
68. OBER C. (2005). Perspectives on the past decade of asthma genetics. *J Allergy Clin Immunol*, 116: 274–278.
69. Kılınç O., Akgün M. Turkish Thoracic Journal: Türk toraks derneği astım tanı ve tedavi rehberi 2016 güncellemesi. Supplement 1 October 2016 volume 17.
70. Kayaalp, S.O., Tıbbi Farmakoloji Cilt 2, VIII. Baskı Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti. Ankara, 1998.
71. Toraks Derneği, Ulusal Astım Tanı ve Tedavi Rehberi. *Toraks Dergisi* 2000;1(Ek 1):4-31
72. Global Initiative For Asthma (GINA) Erişim Adresi: <http://www.ginasthma.com/>
73. European Academy of Allergy and Clinical Immunology. Global Atlas of Asthma, 2013. Available at: [www.eaaci.org](http://www.eaaci.org). Accessed August, 2013.
74. Georgitis JW. The 1997 Asthma Management Guidelines and therapeutic issues relating to the treatment of asthma. *Chest* 1999; 115: 210–217.
75. Umland SP, Schleimer RP, Johnston SL. Review of the molecular and cellular mechanisms of action of glucocorticoids for use in asthma. *Pulm Pharmacol Ther* 2002; 15:35–50.
76. Pelaia G, Vatrella A, Cuda G, Maselli R, Marsico SA. Molecular mechanisms of corticosteroid actions in chronic inflammatory airway diseases. *Life Sci* 2003; 72: 1549–1561.
77. Rautio J, Nevalainen T, Taipale H, Vepsäläinen J, Gynther J, Laine K, et al. Piperazinylalkyl prodrugs of naproxen improve in vitro skin permeation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2000;11:157–163.

78. Özyazıcı M, Gökçe EH, Hızarcıoğlu SY, Taner MS, Köseoğlu K, Ertan G. Dissolution and vaginal absorption characteristics of metronidazole and ornidazole. *Die Pharmazie*. 2006;61(10):855-61.
79. Hamishehkar H, Emami J, Najafabadi AR, Gilani K, Minaiyan M, Mahdavi H, Nokhodchi A. Effect of carrier morphology and surface characteristics on the development of respirable PLGA microcapsules for sustained release pulmonary delivery of insulin. *Int J Pharm*. 2010a;389(1-2):74-85.
80. Manca ML, Mourtas S, Dracopoulos V, Fadda AM, Antimisiaris SG. PLGA, chitosan or chitosan-coated PLGA microparticles for alveolar delivery? A comparative study of particle stability during nebulization. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2008b;62(2):220-31.
81. Manca ML, Loy G, Zaru M, Fadda AM, Antimisiaris SG. Release of rifampicin from chitosan, PLGA and chitosan-coated PLGA microparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2008a;67(2):166-70.
82. Pilcer G, Vanderbist F, Amighia K. Preparation and characterization of spray-dried tobramycin powders containing nanoparticles for pulmonary delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009;365:162–9.
83. Lechuga-Ballesteros D, Charan C, Stults CL, Stevenson CL, Miller DP, Vehring R, et al. Trileucine Improves Aerosol Performance and Stability of Spray-Dried Powders for Inhalation. *J Pharm Sci*. 2008;97:287–302.
84. Salama RO, Traini D, Chan HK, Sung A, Ammit AJ, Young PM. Preparation and evaluation of controlled release microparticles for respiratory protein therapy. *J Pharm Sci*. 2009;98(8):2709-17.
85. Alhalaweh A, Andersson S, Velaga SP. Preparation of zolmitriptan-chitosan microparticles by spray drying for nasal delivery. *J Pharm Sci*. 2009;38(3):206-14.
86. Berard V, Lesniewska E, Andres C, Pertuy D, Laroche C, Pourcelot Y. Dry powder inhaler: influence of humidity on topology and adhesion studied by AFM. *Int J Pharm*. 2002;232:213–24.

87. Kaialy W, Martin GP, Ticehurst MD, Momin MN, Nokhodchi A. The enhanced aerosol performance of salbutamol from dry powders containing engineered mannitol as excipient. *Int J Pharm.* 2010;392:178–88.
88. Acartürk F, Ağabeyoğlu İ, Çelebi N, Değim T, Doğanay T, Takka S et al. *Modern Farmasötik Teknoloji*. Ankara: Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını; 2007.
89. Young PM, Sung A, Daniela Traini D, Kwok P, Chiou H, Chan HK. Influence of Humidity on the Electrostatic Charge and Aerosol Performance of Dry Powder Inhaler Carrier based Systems. *Pharmaceutical Research.* 2007;24(5):963- 969.
90. Dhumal RS, Biradar SV, Paradkar AR, York P. Particle engineering using sonocrystallization: Salbutamol sulphate for pulmonary delivery. *Int J Pharm.* 2009; 368:129-37.
91. Sethuraman VV, Hickey AJ. Powder Properties and Their Influence on Dry Powder Inhaler Delivery of an Antitubercular Drug. *AAPS PharmSciTech.* 2002;3(4):E28.
92. Salama RO, Hoe S, Chan HK, Traini D, Young PM. Preparation and characterisation of controlled release co-spray dried drug–polymer microparticles for inhalation 1: Influence of polymer concentration on physical and in vitro characteristics. *Eur J Pharm Biopharm.* 2008a;69:486–95.
93. Salama RO, Traini D, Chan HK, Young PM. Preparation and characterisation of controlled release co-spray dried drug–polymer microparticles for inhalation 2: Evaluation of in vitro release profiling methodologies for controlled release respiratory aerosols. *Eur J Pharm Biopharm.* 2008b;70:145-52.
94. USP33-NF28, 2010. United States Pharmacopeia, The United States Pharmacopeial Convention, US.
95. Umaretiya GM, Patel PR, Patel JK. Formulation and characterization of solid lipid nanoparticles dry powder inhaler containing Triamcinolone acetonide.

International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry.  
2011;1(3):662-673.

96. Ege MA, Karasulu HY, Karasulu E, Ertan G. A computer program designed for in vitro dissolution kinetics, in vitro-in vivo kinetic correlations and routine application. 4th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology, Vienna, Scientia Pharmaceutica Supplement 1 Band. 2001;69:127-8.
97. Araujo J, Gonzalez-Mira E, Egea MA, Garcia ML, Souto EB. Optimization and physicochemical characterization of a triamcinolone acetate-loaded NLC for ocular antiangiogenic applications. *Int J Pharmaceut.* 2010;393(1-2):167-75.
98. García-Millán E, Quintáns-Carballo M, Otero-Espinar FJ. Solid-state characterization of triamcinolone acetate nanosuspensions by X-ray spectroscopy, ATR Fourier transforms infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry analysis. *Data in Brief.* 2017;15:133-7.
99. Ashurst I, Malton A, Prime D, Sumby B. Latest advances in the development of dry powder inhalers. *Pharmaceutical Science & Technology Today.* 2000;3(7):246-56.
100. Arora D, Shah KA, Halquist MS, Sakagami M. In Vitro Aqueous Fluid-Capacity-Limited Dissolution Testing of Respirable Aerosol Drug Particles Generated from Inhaler Products. *Pharmaceutical Research.* 2010;27(5).
101. ICH. 2005. Proceedings of International Conference on Harmonisation, Commission of the European Communities. Validation of Analytical Procedures: Text And Methodology Q2(R1).
102. Xuan X, Xu L, Li L, Gao C, Li N. Determination of drug lipophilicity by phosphatidylcholine-modified microemulsion high-performance liquid chromatography. *International Journal of Pharmaceutics.* 2015;490:258-264.
103. Comer J, Tam K. Pharmacokinetic optimisation. *Drug Research.* Editors: Testa B, Waterbeemd HV, Folkers G, Guy R. Weinheim: Wiley VCH; 2001.

104. Öner L, Şahin S, Çaylı A Y. Kuru Toz İnhalerler: Formülasyonlar ve Aerodinamik Davranışlar Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy Volume 38 / Number 1 / January 2018 / s. 39-52.
105. Forsyth A.J., Hutton S.R., Osborne C.F., Rhodes M.J., Effects of interparticle force on the packing of spherical granular material, *Phys. Rev. Lett.* 87 (2001) 244301.
106. Sou T, Kaminskas LM, Nguyen TH, Carlberg R, McIntosh MP, Morton DA. The effect of amino acid excipients on morphology and solid-state properties of multi-component spray-dried formulations for pulmonary delivery of biomacromolecules *Eur J Pharm Biopharm.* 2013 Feb;83(2):234-43. doi: 10.1016/j.ejpb.2012.10.015. Epub 2012 Nov 23.
107. De Boer AH, Hagedoorn P, Gjaltema D, Goede J, Frijlink HW. Air classifier technology (ACT) in dry powder inhalation. Part 1. Introduction of a novel force distribution concept (FDC) explaining the performance of a basic air classifier on adhesive mixtures. *Int J Pharm.* 2003;260(2):187-200.
108. Wang ZL, Grgic B, Finlay WH. A dry powder inhaler with reduced mouththroat deposition. *Journal of aerosol medicine: The Official Journal of the International Society for Aerosols in Medicine.* 2006;19(2):168-74.
109. Özyazıcı M, Sevgi F, Ertan G. Sustained-release dosage form of nifedipine hydrochloride: Application of factorial design and effect of surfactant on release kinetics. *Drug Dev Ind Pharm.* 1997;23(8):761-70.
110. Kumar B.P, Chandiran I.S, Bhavya B, Sindhuri M, Microparticulate Drug Delivery System: A Review *Indian J Pharm Sci* 2011;1(1):19-37.
111. Tsifansky MD, Yeo Y, Evgenov OV, Bellas E, Benjamin J, Kohane DS. Microparticles for inhalational delivery of antipseudomonal antibiotics. *AAPS J.* 2008;10:254-60.
112. El-Sherbiny I.M, El-Baz N.M, Yacoub M.H, Inhaled nano- and microparticles for drug delivery. *A Qatar Foundation Academic Journal.* 2015:2

113. Yang Y, Bajajc N, Xua P, Ohnd K, Tsifanskye MD, Yeo Y. Development of highly porous large PLGA microparticles for pulmonary drug delivery. *Biomaterials*. 2009;30:1947–53.
114. Sheth ve Myrdal 2011 : Sheth, P. ve Myrdal, P.B. 2011. “Polymers for pulmonary drug delivery”, In: *Controlled Pulmonary Drug Delivery*, Smyth, H.D.C. ve Hickey, A.J., (ed), Springer New York, 265-282.
115. Rouse vd. 2007 : Rouse, J.J., Whateley, T.L., Thomas, M., Eccleston, G.M. 2007. “Controlled drug delivery to the lung: Infl uence of hyaluronic acid solution conformation on its adsorption to hydrophobic drug particles”, *Int J Pharm*, 330 (1–2), 175–182.
116. J. das Neves, M.F. Bahia, M.M. Amiji, B. Sarmiento, Mucoadhesive nanomedicines: characterization and modulation of mucoadhesion at the nanoscale, *Expert Opin Drug Deliv*. 8 (2011) 10851104.
117. Shegokar R., Souto E.B. (Eds.) *Emerging Nanotechnologies in Immunology* In: Yurdasiper A., Arıcı M., Ozyazıcı M., *Nanopharmaceuticals: Application in inhaler system s*.165-201.
118. Dentener, M.A.; Vernooy, J.H.J.; Hendriks, S.; Wouters, E.F.M. Enhanced levels of hyaluronan in lungs of patients with COPD: Relationship with lung function and local inflammation. *Thorax* 2005, 60 (2), 114–119.
119. Islam, N.; Gladki, E. Dry powder inhalers (DPIs)-A review of device reliability and innovation. *Int J Pharm* 2008, 360 (1–2), 1–11.
120. Sou T., Kaminskas L.M., Tri-Hung N., Carlberg R., McIntosh M.P., Morton D.A.V., The effect of amino acid excipients on morphology and solid-state properties of multi-component spray-dried formulations for pulmonary delivery of biomacromolecules, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 83 (2013) 234–243.
121. Sou T., Orlando L., McIntosh M.P., Kaminskas L.M., Morton D.A.V., Investigating the interactions of amino acid components on a mannitol-based spray-dried powder formulation for pulmonary delivery: a design of experiment approach, *Int J Pharm*. 421 (2011) 220–229.

122. Kibbe A.H., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3. Baskı , Pharmaceutical Press, London, 2000.
123. Torrado S., Characterization of physical state of mannitol after freeze-drying: effect of acetylsalicylic acid as a second crystalline cosolute, Chem Pharm Bull. (Tokyo) 50 (2002) 567–570.
124. Costantino H.R., Andya J.D., Nguyen P.A., Dasovich N., Sweeney T.D., Shire S.J., Hsu C.C., Maa Y.F., Effect of mannitol crystallization on the stability and aerosol performance of a spray-dried pharmaceutical protein, recombinant humanized anti-IgE monoclonal antibody, J Pharm Sci. 87 (1998) 1406–1411.
125. Harjunen P., Lankinen T., Salonen H., Lehto V.P., Järvinen K., Effects of carriers and storage of formulation on the lung deposition of a hydrophobic and hydrophilic drug from a DPI International Journal of Pharmaceutics Volume 263, Issues 1–2, 16 September 2003, s. 151-163.
126. Rassa G, Gavini E, Spada G, Giunchedi P, Marceddu S. Ketoprofen spraydried microspheres based on Eudragit RS and RL: study of the manufacturing parameters. Drug Dev Ind Pharm. 2008;34(11):1178-87.
127. Beck-Broichsitter M., Schweiger C., Schmehl T., Gessler T., Seeger W., Kissel T., Characterization of novel spray-dried polymeric particles for controlled pulmonary drug delivery. Journal of Controlled Release 158 (2012) 329–335.
128. Duret C., Wauthoz N., Sebti T., Vanderbist F., Amighi K., Solid dispersions of itraconazole for inhalation with enhanced dissolution, solubility and dispersion properties. Int J Pharm 428 (2012) 103– 113
129. Arpagaus C., Nano Spray Dryer B-90: Literature review and applications
130. Gommers D, Haitsma JJ, Lachmann B. Surfactant as a carrier: influence of immunosuppressive agents on surfactant activity. Clin Physiol Funct Imaging. 2006;26:357–61.

131. Marcinkowski AL, Garoff S, Tilton RD, Pilewski JM, Corcoran TE. Postdeposition dispersion of aerosol medications using surfactant carriers. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2008;21(4):361-70.
132. Durgun Z, Keskin E, Akciğer surfaktan Sistemi, *Vet. Bil. Derg.* (1997), 13,2: 43-52
133. Patton JS. Mechanisms of macromolecule absorption by the lungs. *Adv Drug Deliv Rev.* 1996;19(1):3-36.
134. Mobley C, Hochhaus G. Methods used to assess pulmonary deposition and absorption of drugs. *Drug Discov Today.* 2001;6(7):367–75.
135. Saadat E., Shakor N., Gholami M., Dorkoosh F.A. Hyaluronic acid based micelle for articular delivery of triamcinolone, preparation, in vitro and in vivo evaluation *Int J Phar.* 489 (2015) 218–225
136. Li H., Donga W.F., Zhoua J.Y., Xub X. , Li F., Triggering effect of N-acetylglucosamine on retarded drug release from lectin-anchored chitosan nanoparticles-in-microparticles system *Int J Pharm.* 449 (2013) 37– 43
137. Schafroth N., Arpagaus C., Jadhava U.Y., Maknea S., Douroumisa D., Nano and microparticle engineering of water insoluble drugs using a novel spray-drying process. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 90 (2012) 8–15.
138. Mishra B, Mishra M, Yadav SK Antibacterial Loaded Spray Dried Chitosan Polyelectrolyte Complexes as Dry Powder Aerosol for the Treatment of Lung Infections *Iranian Journal of Pharmaceutical Research.* 2017;16 (1):74-92.
139. Mitchell JP, Nagel MW. Cascade impactors for the size characterization of aerosols from medical inhalers: their uses and limitations. *J Aerosol Med.* 2003;16(4):341-77.
140. Marple VA, Olson BA. Good Laboratory Practice in Particle Measurement Calibration: Cascade Impactor. *KONA Powder and Particle Journal.* 2009;206(27):206-16.

141. Kaewjan K., Srichana T., Nano spray-dried pyrazinamide-l-leucine dry powders, physical properties and feasibility used as dry powder aerosols. Pharmaceutical Development and Technology ISSN: 1083-7450 (Print) 1097-9867
142. Aquino R.P., Prota L., Auriemma G., Santoro A., Mencherini T., Colombo G., Russo P., Dry powder inhalers of gentamicin and leucine: formulation parameters, aerosol performance and in vitro toxicity on CuFi1 cells. Int J Pharm. 426 (2012) 100–107
143. Kumaresan C., Sathishkumar K., Development of an Inhaled Sustained Release Dry Powder Formulation of Salbutamol Sulphate, an Antiasthmatic Drug Indian J Pharm Sci 2016;78(1):136-142
144. Solunum sisteminin anatomik yapısı (2018, 15 Mayıs) Erişim Adresi: <https://www.anatomi.gen.tr/anatomi-solunum-sistemi.html>
145. Solunum sisteminde gaz değişimi (2018, 15 Mayıs) Erişim Adresi: [http://www.fenokulu.net/yeni/Fen-Konulari/Konu/Solunum-Sistemi-Konu-Anlatimi\\_0\\_372.html](http://www.fenokulu.net/yeni/Fen-Konulari/Konu/Solunum-Sistemi-Konu-Anlatimi_0_372.html)
146. Alveol yüzeyinde gaz değişimi Erişim Adresi: <https://bikifi.com/biki/alveol>
147. Astımlı bronşiyol ve normal bronşiyol Erişim Adresi: [https://lookfordiagnosis.com/mesh\\_info.php?term=Bronchoconstriction&lang=1](https://lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Bronchoconstriction&lang=1)
148. Telko M.J., Hickey A.J. 2005. DryPowderInhalerFormulation. Respiratorycare, 50-9: 1209-1227
149. Pilcer G., Wauthoz N., Amighi K. 2011. Lactose characteristics and generation of the aerosol. Advanced Drug Delivery Reviews 64;233-256
150. Chougule M.B., Padhi B.K., Jinturkar K.A., Misra A. 2007. Development of Dry Powder Inhalers. Recent Patents on Drug Delivery & Formulation, 1: 11-21

151. Nano Spray Drying in Laboratory Scale Dr. Cordin Arpagaus, Katja Schmid, Ludwig-Maximilians-University Munich Fine Particles from Small Sample Quantities



## ÖZGEÇMİŞ

ÜNVANI ADI SOYADI : Eczacı Bade İNCE

YAZIŞMA ADRESİ : Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi  
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 35100 Bornova/İZMİR

DOĞUM TARİHİ ve YERİ : 15/12/1990 Ödemiş/İZMİR

E-POSTA : badeince@gmail.com

## AKADEMİK EĞİTİM

Lisans: Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 2009-2014.

Yüksek Lisans: Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji  
Anabilim Dalı, 2014-2019.