

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**KENDİLİĞİNDEN NANOEMÜLSİFİYE OLAN İLAÇ TAŞIYICI
SİSTEMLER**

DOKTORA TEZİ

Şeyda AKKUŞ ARSLAN

Tez Danışmanı
Prof.Dr. Figen TIRNAKSIZ

ANKARA
HAZİRAN 2013

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**KENDİLİĞİNDEN NANOEMÜLSİFİYE OLAN İLAÇ TAŞIYICI
SİSTEMLER**

DOKTORA TEZİ

Şeyda AKKUŞ ARSLAN

Tez Danışmanı
Prof.Dr. Figen TIRNAKSIZ

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
02/2010-47 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
HAZİRAN 2013

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

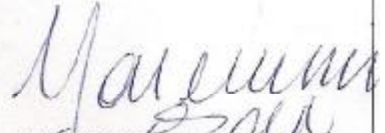
Tez Savunma Tarihi : 10/07/2013



Prof.Dr.Nevin Çelebi
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı



Prof.Dr.Figen Tırnaksız
Gazi Üniversitesi



Prof.Dr.Yasemin Yazan
Anadolu Üniversitesi



Prof.Dr.Füsün Acartürk
Gazi Üniversitesi



Doç.Dr.R. Neslihan Gürsoy
Hacettepe Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

Kabul ve Onay	I
İçindekiler	II
Şekiller	IX
Tablolar	XIII
Görüntüler	XXI
Eşitlikler	XXII
Semboller ve Kısaltmalar	XXIII

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Lipit Temelli Taşıyıcı Sistemler/Lipit Formülasyonlar	5
2.1.1. Lipit Formülasyonlar İçin Yardımcı Madde Seçimi	6
2.1.1.1. Yağlar	7
2.1.1.2. Yüzey Etkin Maddeler	8
2.1.1.3. Yardımcı Yüzey Etkin Maddeler	10
2.1.1.4. Diğer Yardımcı Maddeler	10
2.2. Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturan Sistemler (Self Emulsifying Drug Delivery Systems – SEDDS)	11
2.2.1. Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturma Mekanizması	13
2.2.2. Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturan Sistemlerin Hazırlanması	13
2.2.3. Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturan Sistemlerde Yapılan Kontroller	14
2.3. Lipoliz	15
2.4. Oral Emilimde Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturan Sistemlerin Rolü	17
2.5. İlaç Taşıyıcı Sistemler Olarak Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturan Formülasyonlar	21
2.5.1. Oral Uygulama	21
2.5.2. Dermal Uygulama	23

2.5.3. Diğer Uygulamalar	23
2.6. Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturan Sistemlerin Ticari Preparatları	24
2.7. Tez Çalışmasında Geliştirilen Formülasyonlarda Kullanılan Yardımcı Bileşenler Hakkında Bilgi	26
2.8. Aseklofenak	27
2.8.1. Aseklofenağın Dozu ve Uygulaması	30
2.8.2. Aseklofenağın Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri	31
2.8.3. Aseklofenağın İlaç Şekilleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	33
2.8.3.1. Çözünürlüğün İyileştirilmesi ve Çözünme Hızının Artırılması İçin Yapılan Çalışmalar	33
2.8.3.2. Oral Kontrollü Salım Sistemleri İçin Yapılan Çalışmalar	37
2.8.3.3. Topikal Sistemler İçin Yapılan Çalışmalar	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM	43
3.1. Gereç	43
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	43
3.1.2. Kullanılan Alet ve Malzemeler	45
3.2. Yöntem	47
3.2.1. Aseklofenak İle Yapılan İn Vitro Çalışmalar	47
3.2.1.1. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı	47
3.2.1.2. Aseklofenağın, Formülasyonda Kullanılan Bileşenlerin, Formülasyonların ve Formülasyonlarla Oluşturulan Nanoemülsiyonların FT-IR Spektrumu	48
3.2.1.3. Aseklofenağın Farklı Çözünme Ortamlarında UV Spektrumu	49
3.2.1.4. Aseklofenağın Spektrofotometrik Miktar Tayini, Standart Doğrunun Hazırlanması ve Validasyon	49
3.2.1.5. Aseklofenağın Çözünürlüğünün Saptanması	52
3.2.1.6. Aseklofenağın Yağ/Su Partisyon Katsayısının Saptanması	53

3.2.2. Formülasyon Çalışmaları	54
3.2.2.1. Lipoliz Çalışması	55
3.2.2.2. Sindirilen ve Sindirilmeyen Bileşenlerle Formülasyon Geliştirme Çalışması	58
3.2.2.3. Geliştirilen Formülasyonlarda Yapılan Kontroller	64
3.2.2.4. Geliştirilen Formülasyonların Dayanıklılıklarının İncelenmesi	72
3.2.3. Piyasada Bulunan Aseklofenak Tabletinde (Biofenac®) Yapılan Kontroller	73
3.2.3.1. Sertlik (Hardness)	73
3.2.3.2. Çap-Kalınlık (Diameter-Thickness)	73
3.2.3.3. Ağırlık Sapması (Weight Variation)	73
3.2.3.4. Ufalanma-Aşınma (Friability)	74
3.2.3.5. Dağılma Süresi (Disintegration Time)	74
3.2.3.6. İçerik tekdüzeliği (Content Uniformity)	75
3.2.3.7. Salım (Dissolution)	75
3.2.4. Aseklofenak İle Yapılan İn Vivo Çalışmalar	75
3.2.4.1. Deney Hayvanları Hakkında Bilgi	75
3.2.4.2. Deney Grupları	76
3.2.4.3. İn Vivo Pençe Ödemi Yöntemi	77
3.2.4.4. Mortalite ve Ülserojenik Aktivite Ölçümü	79
3.2.5. İstatistiksel Analiz	80
3.2.5.1. İn Vitro Çalışmalarda Kullanılan İstatistiksel Analiz Yöntemi	80
3.2.5.1. İn Vivo Çalışmalarda Kullanılan İstatistiksel Analiz Yöntemi	80
4. BULGULAR	81
4.1. Aseklofenağın, Formülasyonda Kullanılan Bileşenlerin, Formülasyonların ve Formülasyonlarla Oluşturulan Nanoemülsiyonların FT-IR Spektrumuna Dair Bulgular	81
4.2. Aseklofenağın Farklı Çözünme Ortamlarındaki UV Spektrumu Bulguları	85

4.3. Aseklofenağın Spektrofotometrik Miktar Tayini ve Standart Doğrunun Hazırlanmasına Dair Bulgular	85
4.4. Aseklofenağın Spektrofotometrik Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu	94
4.4.1. Doğrusallık (Linearity)	94
4.4.2. Doğruluk (Trueness)	98
4.4.3. Kesinlik (Precision)	101
4.4.4. Duyarlılık Sınırı (Limit of Detection, LOD) ve Saptama Sınırı (Limit of Quantification, LOQ)	102
4.4.5. Özgünlük-Seçicilik (specificity-selectivity)	103
4.4.6. Dayanıklılık	104
4.5. Aseklofenağın pH 1.2; 4.5 ve 6.8 Tamponlardaki Çözünürlüğünün Saptanmasına Ait Bulgular	107
4.6. Aseklofenağın Yağ/Su Partisyon Katsayısının Saptanması	110
4.7. Oluşturulan Formülasyonlara Ait Bulgular	112
4.7.1. Lipoliz Çalışması	112
4.7.2. Sindirilen ve Sindirilmeyen Bileşenlerle Formülasyon Geliştirme Çalışması	114
4.7.3. Geliştirilen Formülasyonlarda Yapılan Kontroller	124
4.7.3.1. Sistemlerin Görüntüleri	124
4.7.3.2. Sistemlerin Karakterizasyonları	125
4.7.3.2.1. Viskozite Ölçümleri	127
4.7.3.2.2. Santrifüj ve Dondurma-Çözme Çalışması	130
4.7.3.2.3. Damlacık Büyüklüğüne pH'nın Etkisi	132
4.7.3.2.4. Damlacık Büyüklüğüne Sıvı Hacminin Etkisi	132
4.7.3.2.5. Salım Çalışmasında Kullanılan Diyaliz Membran İçin Yapılan Adsorpsiyon Çalışması	134
4.7.3.2.6. Salım Çalışması	135

4.7.3.2.7. Formülasyonlardaki Aseklufenak Dozunun Piyasa Dozu Olan 100 mg Kullanıldığında Elde Edilen Damlacık Büyüklüğü ve Zeta Potansiyel Değerleri	140
4.7.3.2.8. Kendiliğinden Nanoemülsifiye Olan Sistemlerin Fiziksel Dayanıklılıklarının İncelenmesi	142
4.7.4. Piyasada Bulunan Aseklufenak Tabletinde (Biofenac®) Yapılan Kontroller	144
4.7.4.1. Sertlik (Hardness) ve Çap-Kalınlık (Diameter-Thickness)	144
4.7.4.2. Ağırlık Sapması (Weight Variation)	145
4.7.4.3. Ufalanma-Aşınma	146
4.7.4.4. Dağılma Süresi (Disintegration Time)	146
4.7.4.5. İçerik Tekdüzeliliği (Content Uniformity)	147
4.7.4.6. Salım (Dissolution)	147
4.8. İn Vivo Çalışmalar	147
4.8.1. İn Vivo Pençe Ödemi	147
4.8.2. Mortalite ve Ülserojenik Aktivite Ölçümü	166
5. TARTIŞMA	168
5.1. Aseklufenanın, Formülasyonda Kullanılan Bileşenlerin, Formülasyonların ve Formülasyonlarla Oluşturulan Nanoemülsiyonların FT-IR Spektrumu	168
5.2. Aseklufenanın Farklı Çözünme Ortamlarında UV Spektrumu	171
5.3. Aseklufenanın Spektrofotometrik Miktar Tayini ve Standart Doğrunun Hazırlanması	171
5.4. Aseklufenanın Spektrofotometrik Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu	172
5.4.1. Doğrusallık (Linearity)	172
5.4.2. Doğruluk (Accuracy)	172
5.4.3. Kesinlik (Precision)	172

5.4.4. Duyarlılık Sınırı (Limit of Detection, LOD) ve Saptama Sınırı (Limit of Quantification, LOQ)	173
5.4.5. Özgünlük-Seçicilik (Specificity-Selectivity)	173
5.4.6. Dayanıklılık	173
5.5. Aseklofenağın pH 1.2, pH 4.5 ve pH 6.8 Ortamlarındaki Çözünürlüğünün Saptanmasına Ait Bulgular	174
5.6. Aseklofenağın Yağ/Su Partisyon Katsayısının Saptanması	175
5.7. Lipoliz Çalışması	177
5.8. Formülasyon Çalışmaları	179
5.9. Geliştirilen Formülasyonlarda Yapılan Kontroller	181
5.9.1. Sistemlerin Görüntüleri, Bulanıklık, Damlacık Büyüklüğü ve Polidispersite İndeksi Tayinleri	181
5.9.2. Nanoemülsiyonların Zeta Potansiyel Ölçümleri	183
5.9.3. Formülasyonların Viskozite Ölçümleri	185
5.9.4. Formülasyonların ve Nanoemülsiyonların Dansite Ölçümleri	186
5.9.5. Nanoemülsiyonlarda Sıvı Kristal Oluşup Oluşmadığının Gözlenmesi	186
5.9.6. Santrifüj ve Dondurma-Çözme Çalışması	188
5.9.7. Damlacık Büyüklüğüne pH'nın ve Sıvı Hacminin Etkisi	189
5.9.8. Salım Çalışması	194
5.9.9. Formülasyonlardaki Aseklofenak Dozunun Artırılmasının Oluşan Nanoemülsiyonun Damlacık Büyüklüğü Ve Zeta Potansiyeli Üzerine Etkisi	199
5.9.10. Kendiliğinden Nanoemülsifiye Olan Sistemlerin Fiziksel Dayanıklılıklarının İncelenmesi	200
5.10. Piyasada Bulunan Aseklofenak Tabletinde (Biofenac®) Yapılan Kontroller	201
5.11. İn Vivo Çalışmalar	202
5.11.1. İn Vivo Pençe Ödemi Çalışmalarının Değerlendirilmesi	202

Sayfa No

5.11.2. Sıçanlarda Mortalite ve Ülserojenik Aktivitenin Değerlendirilmesi	205
6. SONUÇ	207
7. ÖZET	209
8. SUMMARY	210
9. KAYNAKLAR	211
10. EKLER	233
11. ÖZGEÇMİŞ	239

ŞEKİLLER

Şekil No	Sayfa No
1. İnce bağırsakta lipit sindirimi ve nanoemülsiyonun oluşumu	17
2. Oral ilaç emilimini etkileyen kritik basamaklar	19
3. Oral alımdan sonra suda çözünürlüğü zayıf olan bir ilacın geçireceği potansiyel aşamalar	20
4. Aseklofenağın kimyasal yapısı	28
5. Lipoliz çalışmasının şematik gösterimi	57
6. FT-IR analiz sonuçları	81
7. Aseklofenağın farklı ortamlardaki UV spektrumu ve $\lambda_{\text{maksimum}}$ değeri	86
8. Aseklofenağın sudaki kalibrasyon doğrusu	87
9. Aseklofenağın pH 1.2 çözeltisindeki kalibrasyon doğrusu	88
10. Aseklofenağın pH 4.5 tampondaki kalibrasyon doğrusu	89
11. Aseklofenağın pH 6.8 tampondaki kalibrasyon doğrusu	90
12. Aseklofenağın FaSSIF ortamındaki kalibrasyon doğrusu	91
13. Aseklofenağın FeSSIF ortamındaki kalibrasyon doğrusu	92
14. Aseklofenağın etanoldeki kalibrasyon doğrusu	93
15. pH 1.2; 4.5; 6.8, su, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında her bir derişim (y) ile artık değerler (y- $\hat{y}$) arasındaki ilişki	97
16. Etanolde her bir derişim (y) ile artık değerler (y- $\hat{y}$) arasındaki ilişki	98
17. Labrasol®'ün, Cremophor® RH40'ın ve Brij® O10'un sudaki çözeltileri için UV spektrumu	104
18. Aseklofenağın su ve pH 1.2 ortamlarında 24 saat süresince izlenen % değişim değerleri	105
19. Aseklofenağın pH 4.5, pH 6.8 tamponda ve FaSSIF ortamında 24 saat süresince izlenen % değişim değerleri	106

Şekil No**Sayfa No**

20. Aseklofenağın FeSSIF ortamında 24 saat süresince izlenen % değişim değerleri	107
21. Aseklofenağın 37°C'de su ve pH 1.2 ortamlarındaki çözünürlüğü	108
22. Aseklofenağın 37°C'de pH 4.5; 6.8 tamponlarındaki, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarındaki çözünürlüğü	109
23. Labrafac™ Lipophile WL1349/su partisyon katsayısı deneyinde kullanılan su fazının aseklofenak derişimindeki değişim grafiğı	111
24. Maisine®35-1/su partisyon katsayısı deneyinde kullanılan su fazının aseklofenak derişimindeki değişim grafiğı	111
25. Sindirilen bileşenlerle ve bu bileşenlerle hazırlanan formülasyonla yapılan lipoliz çalışması sonucunda zamana karşı sarf edilen NaOH miktarı	113
26. Sindirilmeyen bileşenlerle ve bu bileşenlerle hazırlanan formülasyonla yapılan lipoliz çalışması sonucunda zamana karşı sarf edilen NaOH miktarı	114
27. Labrafac™ Lipophile WL1349, Labrasol®, Capmul®MCM C8 karışımlarının berrak olduğı bölgeye ait faz diyagramı	115
28. Sindirilen bileşenlerle K _m 1:1; 2:1, 4:1 ve 8:1 oranlarında oluşturulan faz diyagramları	116
29. Sindirilen bileşenlerle K _m 8:1 oranında oluşturulan faz diyagramı (FD-1)	117
30. Sindirilmeyen bileşenlerle K _m 8:1 oranında oluşturulan faz diyagramı (FD-2)	118
31. Sindirilen bileşenler kullanılarak oluşturulan nanoemülsiyonlar için damlacık büyüklüğü dağılımı	120
32. Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenler kullanılarak oluşturulan nanoemülsiyonlar için damlacık büyüklüğü dağılımı	123

Şekil No**Sayfa No**

- 33.** Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerden oluşan formülasyonlara 250 mL su eklenmesiyle elde edilen nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) damlacık büyüklüğü dağılımları 126
- 34.** Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerden oluşan formülasyonlara 250 mL su eklenmesiyle elde edilen nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) zeta potansiyel grafikleri 127
- 35.** Aseklofenak içeren ve içermeyen sindirilen formülasyonların viskozitelerinin artan kayma hızı ile değişimi 127
- 36.** Aseklofenak içeren ve içermeyen sindirilmeyen formülasyonların viskozitelerinin artan kayma hızı ile değişimi 128
- 37.** Aseklofenak içeren ve içermeyen sindirilen formülasyonlar için Oswald de Waele eşitliğinin çıkarılması amacıyla çizilmiş grafik 129
- 38.** Aseklofenak içeren ve içermeyen sindirilmeyen formülasyonlar için Oswald de Waele eşitliğinin çıkarılması amacıyla çizilmiş grafik 129
- 39.** Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerden oluşturulan nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) santrifüj çalışmasından sonraki damlacık büyüklüğü dağılımları 131
- 40.** Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerden oluşturulan nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) dondurma-çözme çalışmasından sonraki damlacık büyüklüğü dağılımları 131
- 41.** Sindirilen formülasyondan (D4) salımlar 136
- 42.** Sindirilmeyen formülasyondan (ND1) salımlar 136
- 43.** Sindirilen formülasyona su eklenmesiyle oluşturulan nanoemülsiyondan (D4-NE) salımlar 137
- 44.** Sindirilmeyen formülasyona su eklenmesiyle oluşturulan nanoemülsiyondan (ND1-NE) salımlar 137

Şekil No	Sayfa No
45. Aseklofenağın ticari tabletten pH 6.8 tampondaki salımı	138
46. 10 mL'sinde 100 mg aseklofenak içeren formülasyona (D4) 250 mL su eklenmesi ile oluşturulan nanoemülsiyonun (D4-NE) damlacık büyüklüğü dağılımı	141
47. 10 mL'sinde 100 mg aseklofenak içeren formülasyona (ND1) 250 mL su eklenmesi ile oluşturulan nanoemülsiyonun (ND1-NE) damlacık büyüklüğü dağılımı	142
48. Aseklofenak içermeyen grupların karragenin ile indüklenen pençe ödemi üzerine etkilerinin zamansal değişimi	161
49. Aseklofenak içermeyen grupların karragenin enjeksiyonundan sonra 180. dakikada oluşan sıçan pençe ödemi üzerine olan etkileri	162
50. Aseklofenak içeren grupların karragenin ile indüklenen pençe ödemi üzerine etkilerinin zamansal değişimi	163
51. Aseklofenak içeren grupların, kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak karagenin enjeksiyonundan 90 dakika sonra oluşan sıçan pençe ödemi üzerine olan etkileri	164
52. Aseklofenak içeren grupların, kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak karagenin enjeksiyonundan 180 dakika sonra oluşan sıçan pençe ödemi üzerine olan etkileri	164
53. Aseklofenak içeren grupların, kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak karagenin enjeksiyonundan 270 dakika sonra oluşan sıçan pençe ödemi üzerine olan etkileri	165
54. Aseklofenak içeren grupların, kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak karagenin enjeksiyonundan 360 dakika sonra oluşan sıçan pençe ödemi üzerine olan etkileri	165

TABLolar

Tablo No	Sayfa No
1. Lipit Formülasyonu Sınıflandırma Sistemi (LFSS)	6
2. Kendiliğinden emülsifiyon oluşturan olan sistem şeklinde hazırlanan ticari preparatların içeriği	25
3. Piyasada bulunan diğer ticari preparatlar	25
4. Aseklofenağın özellikleri	28
5. Aseklofenağın farklı ortamlardaki çözünürlük değerleri	29
6. Aseklofenağın ticari preparatları	30
7. Aseklofenağın farklı tek seferlik oral dozları olan ticari preparatları	31
8. pH 1.2 (0.1 N HCl) çözelti formülü	47
9. pH 4.5 tampon formülü	48
10. pH 6.8 tampon formülü	48
11. FaSSIF için fosfat tamponu ve FaSSIF çözeltisi	48
12. FeSSIF için asetat tamponu ve FeSSIF çözeltisi	48
13. Formülasyonlarda kullanılan maddeler ve özellikleri	54
14. Yapay sindirim ortamının bileşimi	55
15. Sindirilen bileşenlerin (yağ, YEM, YYEM) birbirleriyle tektür karışım oluşturduğu alanın belirlenmesi için kullanılan üçgen faz diyagram verileri	59
16. Sindirilen bileşenlerin (yağ+YEM+YYEM) çözebildiği su oranlarını gösteren üçgen faz diyagramına ait veriler	60
17. Sindirilen bileşenler kullanılarak oluşturulmuş nanoemülsiyonların içerikleri	61
18. Sindirilen bileşenler kullanılarak hazırlanan D4, D5, D6, D10 ve D14 formülasyonlarının içerikleri	62
19. Sindirilmeyen bileşenler kullanılarak hazırlanan ND1, ND2 ve ND3 formülasyonlarının içerikleri	62

Tablo No**Sayfa No**

20. Sindirilmeyen bileşenler kullanılarak hazırlanan ND1, ND2 ve ND3 formülasyonlarının, üçgen faz diyagramında bulunan ve su içeren nanoemülsiyonlarının içerikleri	63
21. Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerle hazırlanan formülasyonların içerikleri	63
22. Tabletlerin ağırlıklarının değerlendirilmesi için yararlanılan veriler	74
23. İn vivo deneyler için kullanılan hayvan grupları	76
24. Aseklofenağın suda verdiği absorbans değerleri	87
25. Aseklofenağın sudaki kalibrasyon denklemine ait parametreler	87
26. Aseklofenağın pH 1.2 çözeltisinde verdiği absorbans değerleri	88
27. Aseklofenağın pH 1.2 çözeltisindeki kalibrasyon denklemine ait parametreler	88
28. Aseklofenağın pH 4.5 tamponda verdiği absorbans değerleri	89
29. Aseklofenağın pH 4.5 tampondaki kalibrasyon denklemine ait parametreler	89
30. Aseklofenağın pH 6.8 tamponda verdiği absorbans değerleri	90
31. Aseklofenağın pH 6.8 tampondaki kalibrasyon denklemine ait parametreler	90
32. Aseklofenağın FaSSIF ortamında verdiği absorbans değerleri	91
33. Aseklofenağın FaSSIF ortamındaki kalibrasyon denklemine ait parametreler	91
34. Aseklofenağın FeSSIF ortamında verdiği absorbans değerleri	92
35. Aseklofenağın FeSSIF ortamındaki kalibrasyon denklemine ait parametreler	92
36. Aseklofenağın etanolde verdiği absorbans değerleri	93
37. Aseklofenağın etanoldeki kalibrasyon denklemine ait parametreler	93
38. pH 1.2; 4.5 ve 6.8 ortamlarında her bir derişim (y) için hesaplanan şapka ($\hat{y}$) değerleri, y ile ($y - \hat{y}$) arasındaki regresyon sonuçları	95

Tablo No**Sayfa No**

39. Suda, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında her bir derişim (y) için hesaplanan şapka ($\hat{y}$) değerleri, y ile (y- $\hat{y}$) arasındaki regresyon sonuçları	96
40. Etanolde her bir derişim (y) için hesaplanan şapka ($\hat{y}$) değerleri, y ile (y- $\hat{y}$) arasındaki regresyon sonuçları	98
41. Aseklofenağın analizine ait doğruluk sonuçları (Çözünme ortamı: su)	99
42. Aseklofenağın analizine ait doğruluk sonuçları (Çözünme ortamı: pH 1.2)	99
43. Aseklofenağın analizine ait doğruluk sonuçları (Çözünme ortamı: pH 4.5)	99
44. Aseklofenağın analizine ait doğruluk sonuçları (Çözünme ortamı: pH 6.8)	100
45. Aseklofenağın analizine ait doğruluk sonuçları (Çözünme ortamı: FaSSIF)	100
46. Aseklofenağın analizine ait doğruluk sonuçları (Çözünme ortamı: FeSSIF)	100
47. Aseklofenağın analizine ait doğruluk sonuçları (Çözünme ortamı: Etanol)	101
48. pH 1.2; 4.5 ve 6.8 ortamlarında aseklofenağa ait kesinlik sonuçları	101
49. Suda, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında aseklofenağa ait kesinlik sonuçları	102
50. Etanolde aseklofenağa ait kesinlik sonuçları	102
51. Analitik yöntemin duyarlılık sınırı ve saptama sınırı değerleri	103
52. Aseklofenağın farklı ortamlardaki dayanıklılığını gösteren % değişim değerleri	105
53. Aseklofenağın 37°C'de farklı ortamlarda yapılan çözünürlük çalışmasına ait veriler	108

Tablo No	Sayfa No
54. Aseklofenağın 37°C'de farklı ortamlardaki çözünürlük değerleri	110
55. Aseklofenağın yağ/su partisyon katsayısı değerleri	111
56. Sindirilen bileşenlerle ve bu bileşenlerle hazırlanan formülasyonla yapılan lipoliz çalışması sonucunda her bir zaman aralığında kümülatif olarak harcanan NaOH miktarları	112
57. Sindirilmeyen bileşenlerle ve bu bileşenlerle hazırlanan formülasyonla yapılan lipoliz çalışması sonucunda her bir zaman aralığında kümülatif olarak harcanan NaOH miktarları	113
58. Sindirilen bileşenler kullanılarak oluşturulan nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü değerleri	119
59. Sindirilmeyen bileşenler kullanılarak oluşturulan nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü değerleri	120
60. Aseklofenak içeren sindirilen ve sindirilmeyen sistemlerin karakterizasyonları	126
61. Aseklofenak içeren ve içermeyen formülasyonların hesaplanan K ve n değerleri	130
62. Santrifüj ve dondurma-çözme çalışmalarından önceki ve sonraki damlacık büyüklükleri	130
63. pH 1,2; 4,5; 6,8, FaSSIF ve FeSSIF ortamları ile hazırlanan nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ve polidispersite indeksleri	132
64. Formülasyonların farklı ortamlar ile 1:5; 1:15 ve 1:28 oranlarında karıştırılması sonrasında oluşan nanoemülsiyonların damlacık boyutları	134
65. Salım çalışmasında kullanılan diyaliz membran için yapılan adsorpsiyon çalışması sonucu	135
66. Sindirilen bileşenlerle hazırlanan formülasyonun (D4) farklı ortamlardaki 6 saatlik salım kinetiklerine ait veriler	138

Tablo No**Sayfa No**

67. Sindirilmeyen bileşenlerle hazırlanan formülasyonun (ND1) farklı ortamlardaki 6 saatlik salım kinetiklerine ait veriler	139
68. Nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) farklı ortamlardaki 6 saatlik salım kinetiklerine ait veriler	139
69. Ticari tabletin pH 6.8 tamponundaki 6 saatlik salım kinetiklerine ait veriler	140
70. 10 mL'sinde 100 mg aseklofenak içeren formülasyonlara (D4 ve ND1), 250 mL su eklenmesi ile oluşturulan nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) damlacık büyüklüğü ve zeta potansiyel değerleri	141
71. Formülasyonların dayanıklılık testine ait damlacık büyüklüğü, PDI ve zeta potansiyel değerleri	143
72. Formülasyonların dayanıklılık testine ait viskozite değerleri ve formülasyonlardaki aseklofenak miktarları	144
73. Tablet sertliği ve çap-kalınlık denetimi ölçüm sonuçları	145
74. Ağırlık sapması denetimi sonuçları	146
75. Kontrol grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	147
76. pH 6.8 tampon grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	148
77. pH 6.8 tampon+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	148
78. Distile su grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	148
79. Distile su+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	149
80. Maisine grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	149

Tablo No	Sayfa No
81. Maisine+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	149
82. Labrafac grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	150
83. Labrafac+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	150
84. ND1 grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	150
85. ND1+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	151
86. D4 grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	151
87. D4+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	151
88. ND1-NE grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	152
89. (ND1-NE)+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	152
90. D4-NE grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	152
91. (D4-NE)+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri	153
92. Kontrol grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri	153
93. pH 6.8 tampon grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri	154
94. pH 6.8 tampon+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri	154

Tablo No**Sayfa No**

95. Distile su grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödeme hacimleri	154
96. Distile su+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödeme hacimleri	155
97. Maisine grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödeme hacimleri	155
98. Maisine+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödeme hacimleri	155
99. Labrafac grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödeme hacimleri	156
100. Labrafac+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödeme hacimleri	156
101. ND1 grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödeme hacimleri	156
102. ND1+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödeme hacimleri	157
103. D4 grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödeme hacimleri	157
104. D4+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödeme hacimleri	157
105. ND1-NE grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödeme hacimleri	158
106. (ND1-NE)+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödeme hacimleri	158
107. D4-NE grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödeme hacimleri	158
108. (D4-NE)+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödeme hacimleri	159

Tablo No**Sayfa No**

109.	Her bir zaman aralığı için sağ pençede oluşın ödem hacimleri	160
110.	Grupların midedeki ülserasyon oranları	166

GÖRÜNTÜLER

Görüntü No	Sayfa No
1. Lipoliz çalışması için oluşturulan düzenek	57
2. Salım deneyinde palete bağlanan diyaliz torba sistemi	70
3. Oral gavaj ile sıçanlara madde gruplarının verilmesi	77
4. Sıçan pençelerine intraplanter olarak enjeksiyonların yapılışı	78
5. Pletismometre ile sıçan pençe hacminin ölçülmesi	78
6. Sıçanların midelerinin çıkartılması	79
7. Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenler kullanılarak oluşturulan Formülasyonların (D4 ve ND1) ve bu formülasyonlara su eklenmesiyle oluşturulan nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) görüntüleri	125
8. Peteşi gözlenen mide görüntüleri ve kanama noktaları	167

EŞİTLİKLER

Eşitlik No	Sayfa No
1. Duyarlılık ve saptama sınırı değerlerinin hesaplanmasında kullanılan eşitlikler	51
2. Partisyon katsayısı hesabında kullanılan eşitlik	54
3. Dansite hesabının yapılmasında kullanılan eşitlik	66
4. Ostwald de Waele eşitliği	67

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

Abs: Absorbans

BCS: Biyofarmasötik sınıflandırma sistemi (Biopharmaceutical Classification System)

LFSS: Lipit formülasyonu sınıflandırma sistemi

FaSSIF: Açlık durumundaki bağırsak sıvısı (Fasted State Simulated Intestinal/Gastric Fluid)

FeSSIF: Tokluk durumundaki bağırsak sıvısı (Fed State Simulated Intestinal Fluid)

GA: Güven aralığı

HLB: Hidrofilik lipofilik denge (Hydrophilic Lipophilic Balance)

μm : Mikrometre

nm: Nanometre

NSAIDs: Nonsteroidal antiinflamatuar ilaçlar (NonSteroidal Antiinflammatory Drugs)

NTU: Bulanıklık birimi (Nephelometric Turbidity Unit)

Ort: Ortalama

R^2 : Determinasyon katsayısı

SEDDS: Kendiliğinden emülsiyon oluşturan ilaç taşıyıcı sistem (Self Emulsifying Drug Delivery System)

SH: Standart hata

SMEDDS: Kendiliğinden mikroemülsiyon oluşturan ilaç taşıyıcı sistem (Self Microemulsifying Drug Delivery System)

SNEDDS: Kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan ilaç taşıyıcı sistem (Self Nanoemulsifying Drug Delivery System)

SS: Standart sapma

$\bar{X}$: Değerlerin ortalaması

YEM: Yüzey etkin madde

YYEM: Yardımcı yüzey etkin madde

%BS: Yüzde bağıl sapma

1. GİRİŞ

Son yıllarda lipofilik etkin maddelerin oral biyoyararlanımını geliştirmek için lipit temelli formülasyonlar önem kazanmıştır. Lipit temelli formülasyonlardan biri olan kendiliğinden emülsiyon oluşturan formülasyonların içine etkin maddeyi dahil etmenin en önemli nedenlerinden biri, bu sistemlerin çok az bir su varlığında mide-bağırsak kanalı koşullarında kendi kendine yağ/su tipi nanoemülsiyon oluşturabilme özelliğine sahip olmalarıdır¹. Bu sistemler in vitro veya in vivo koşullarda sulu fazla temas etmeleri sonucunda hafif bir karıştırma ile kendi kendine yağ/su emülsiyonu oluşturabilmektedir^{2,3}. Nanoemülsiyonun oluşması için mide-bağırsak kanalının hareketliliği yeterli olmaktadır⁴. Hazırlanan sistem belirli özelliklere sahip olan yağ fazı, yüzey etkin madde (YEM) ve yardımcı yüzey etkin madde (YYEM) içeren, sıvı veya yarı katı özellikte olan, su içermeyen bir karışımdır. Bu sistemin organizmaya verilmesini sağlamak için yumuşak ya da sert jelatin kapsüllerin kullanılabileceği bildirilmiştir¹. Bunun yanı sıra bu karışımın tabletleri veya pelletlerinin de hazırlanabileceği ifade edilmiştir⁵.

Kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan sistemler etkin maddeyi yüksek oranda çözme kapasitesine sahip sistemlerdir. Yüksek plazma derişimi sağlarlar. Uzun dönem saklama sürecinde su içermemeleri nedeniyle iyi bir fiziksel dayanıklılığa sahiptirler^{3,4}. Etkin maddenin oral emilim oranını ve hızını artırdıkları belirtilmiştir⁶.

Bu sistemlerle, etkin maddenin in vivo koşullarda her zaman çözünmüş şekilde kalması sağlanır². Mide-bağırsak kanalında oluşan nanometre boyutundaki küçük yağ damlacıkları vasıtasıyla etkin maddenin emiliminin artması genellikle iki mekanizma ile birlikte gerçekleşir. Bunlardan birincisi formülasyonda kullanılan yağın özelliklerine bağlı olarak nanometre (nm) boyutundaki yağ damlacıklarının mide-bağırsak kanalında genellikle trigliseritleri hidrolize eden lipaz enzimi ile

parçalanması; bu sırada ortamda bulunan safra tuzlarının oluşan gliseritlerle beraber açığa çıkan etkin maddeyi miselleri içine alması, sonuçta miseller emilirken etkin maddenin de emilmesidir^{2,7}. Bu olay gıda ile alınan yağların emilimindekine benzer bir mekanizma ile gerçekleşir. İkinci mekanizma ise mide-bağırsak kanalında kendiliğinden oluşan nanoemülsiyonun iç fazını oluşturan nm boyutundaki yağ damlacıklarının içlerindeki etkin madde ile beraber olduğu gibi emilmesidir.

Bu sistemlerde kullanılan yağ bileşenleri genellikle yağ asidi esterleri veya orta/uzun zincirli, doymuş/doymamış, oda sıcaklığında katı/yarı katı olan hidrokarbonlardır. Özellikle oral veriliş için noniyonik YEM'lerin ve orta zincirli trigliseritlerin geniş kullanımı vardır⁴. Bunlar, formülasyondaki en önemli yardımcı maddelerdir. Çünkü kendi kendine emülsiyon oluşumunu kolaylaştırır ve mide-bağırsak kanalından emilimi artırarak bağırsak lenfatik sistem yoluyla taşınan lipofilik ilacın oranını artırır. Farklı doymunluk derecesine sahip olan uzun zincirli trigliseritler ve orta zincirli trigliseritler, modifiye ya da hidrolize bitkisel yağlar bu sistemlerde kullanılır⁸.

Kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan ilaç taşıyıcı sistemlerin özelliklerini iyileştirmek için, birkaç YEM'nin birlikte kullanımı tercih edilen bir uygulamadır². Temel olarak oral kullanım için uygun olan ve farmakopelere girmiş orta zincirli trigliseritler, yağ asitleri ve noniyonik YEM'lerden oluşan yardımcı maddeler kullanılır^{4,9}. Kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemlerin dayanıklı olarak hazırlanabilmesi için YEM'lerin formülasyonda kullanılan oranları genellikle %30-60 (a/a) arasındadır⁸.

Formülasyonda kullanılan YYEM'ler ise hidrofobik etkin maddeyi ve hidrofilik YEM'leri lipit temelli sistemde yüksek oranda çözmeye yardımcı olur. Bu amaçla propilen glikol, glikol monoetil eter,

propilen karbonat gibi maddeler kullanılabilir⁸.

Literatürde kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan sistem şeklinde hazırlanmış etkin maddelerden bazıları şunlardır; Vitamin A, oleanolik asit, ubikinon, indometazin, siklosporin A, protein/peptidler, sefpodoksim proksetil, tamoksifen sitrat, anetol tritiyon^{1,2,10-15}.

Bu çalışmada kullanılacak olan aseklofenak nonsteroidal antienflamatuvar ilaç sınıfına dahildir¹⁶. Düşük çözünürlük ve yüksek geçirgenlik gösteren (**Biopharmaceutics Classification System–BCS Sınıf 2**) bir etkin maddedir¹⁷. Güçlü bir siklooksijenaz enzim inhibitörüdür¹⁸. Suda çözünmemesinin sonucu olarak oral uygulama sonrası düşük biyoyararlanım gösterir^{19,20}.

Hızlı veya yavaş salım yapan sistemlerle karşılaştırıldığında, aseklofenağın kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan ilaç taşıyıcı sistem içinde hazırlanmasının en önemli avantajı çözünme hızının artırılmasıdır. Bu şekilde yiyecek etkisinin azaltılması veya tamamen ortadan kalkması da mümkün olabilecektir¹.

Piyasada yumuşak jelatin kapsül şeklinde hazırlanmış olan ve mide-bağırsak kanalında kendiliğinden emülsiyon oluşturan 4 ticari ürün bulunmasına rağmen (siklosporin içeren Sandimmun® ve Sandimmun Neoral®, ritonavir içeren Norvir®, saquinavir içeren Fortovase®), ilaç pazarında aseklofenak içeren bu tipte bir ilaç şekli bulunmamaktadır. Bunun yanısıra yapılan literatür araştırması sonucunda aseklofenağın kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan formülasyonu üzerine herhangi bir çalışma yapılmadığı da görülmüştür. Yapılan bu çalışma bu açıdan da bir ilk olacaktır.

Bu çalışmada, suda çözünmeyen bir etkin maddenin mide-bağırsak kanalı koşullarında kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturacak lipit temelli formülasyonunu geliştirmek ve bu şekilde çözünürlüğünü artırmak amaçlanmıştır. Çalışmada etkin madde olarak aseklofenak kullanılması planlanmıştır. Bu formülasyon temelde suda çözünürlüğü düşük ancak mide-bağırsak kanalından emilimi iyi olan ilaçlar için çok uygun bir taşıyıcı sistemdir. Bu formülasyon şekli ile suda çözünürlüğü çok az olmasına rağmen geçirgenliğı yüksek olan aseklofenağın mide-bağırsak ortamında çözünür duruma gelmesi ve verilen dozun tümünün kısa sürede emilmesi sağlanmaya çalışılacaktır.

Böyle bir sistemin oral olarak uygulanmasından hemen sonra, etkin madde midede kendiliğinden oluşan nanometre boyutundaki yağ damlacıkları içinde çözünmüş durumda bulunacaktır. Dolayısıyla bu ilaç şekli ile etkin maddenin, alınan gıda içindeki yağda çözünerek emiliminin artması durumu da ortadan kalkmakta ve gıda alımından bağımsız bir emilim sağlanabilmektedir.

Bu çalışmadaki formülasyonların hazırlanmasında mide-bağırsak kanalında “sindirilen” ve “sindirilmeyen” tipte bileşenleri içerecek şekilde iki ayrı formülasyon geliştirilecektir. Sindirilen bileşenlerin kullanıldığı bir formülasyon geliştirilmesinin nedeni, mide-bağırsak kanalında oluşan nanoemülsiyonun lipit parçalayan enzimler ile lipolizden ne derece korunduğunu anlamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lipit Temelli Taşıyıcı Sistemler/Lipit Formülasyonlar

Lipid formülasyonların yapıları ve özellikleri 1960 yılından bu yana araştırma konusu olmuştur²¹. Lipit formülasyonlar, basit yağlı çözeltilerden, yağ+YEM ve YYEM'lerin karışımlarına, kendiliğinden emülsiyon/mikroemülsiyon/nanoemülsiyon oluşturan sistemlere kadar değişen bir aralıkta yer almaktadır^{22,23}. Lipit formülasyonlar 2000'li yıllar itibarıyla İngiltere, Amerika ve Japonya'daki ilaç ürünü piyasasının %2-4'ünü oluşturmaktadır^{24,25}. Lipit formülasyonlarla etkin maddelerin biyoyararlanımı daha iyi hale getirilir. Bu nedenle bu formülasyonlar özellikle suda zayıf çözünen etkin maddeler için kullanılır^{25,26}.

Lipit formülasyonlar 'Lipit Formülasyonu Sınıflandırma Sistemi'ne (LFSS) göre 4 gruba ayrılmıştır. Biyoyararlanımı artırmak için, suda çözünürlüğü zayıf olan ilaçların kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemlerde kullanımı ilk defa Pouton²³ tarafından 1982 yılında bir tez çalışmasında bildirilmiştir. Çalışmada Miglyol®812 (orta zincirli trigliserit) ve Tween®85 (polioksietilen 20 sorbitan trioleat) kullanılarak kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistem geliştirilmiştir. Daha sonra bu sistem Pouton²⁶ tarafından 2000 yılında literatürde tanımlanmıştır. 2006 yılında yine Pouton²⁷ tarafından ekstra bir formülasyon tipi daha sınıflandırma sistemine eklenmiştir. Tanımlanan tüm sistemler Tablo 1'de verilmiştir.

Bu sınıflandırmanın yapılmasının amacı;

- Kullanılacak ilaçlar için en uygun formülasyonun oluşturulmasını sağlamak²².
- Formülasyon geliştirme aşamasında çalışmanın verimini artırarak maddi harcamaları azaltmaktır²⁸

Bu kısımdan itibaren “kendiliğinden emülsiyon, mikroemülsiyon veya nanoemülsiyon oluşturan sistemler” ifadelerinin yerine aşağıda belirtilen kısaltmalar kullanılacaktır.

SEDDS: Kendiliğinden emülsiyon oluşturan ilaç taşıyıcı sistem (Self Emulsifying Drug Delivery System)

SMEDDS: Kendiliğinden mikroemülsiyon oluşturan ilaç taşıyıcı sistem (Self Microemulsifying Drug Delivery System)

SNEDDS: Kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan ilaç taşıyıcı sistem (Self Nanoemulsifying Drug Delivery System)

Tablo 1: Lipit Formülasyonu Sınıflandırma Sistemi (LFSS)²⁷

Formülasyon tipi	Tip 1	Tip 2	Tip 3		Tip 4
			Tip 3A	Tip 3B	
Bileşim	Yağlı çözelti	SEDDS	SEDDS	SMEDDS/SNEDDS	Yağsız çözelti
Gliserit	%100	%40-80	%40-80	<%20	-
YEM	HLB<12	-	%20-60	-	%0-20
	HLB>12	-	%20-40	%20-50	%30-80
Hidrofilik YYEM	-	-	%0-40	%20-50	%0-50
Özellikleri	*YEM İçermez *Dispersiyon yok/sınırlı * Sindirim gereklidir	* Suda çözünen bileşen yok * Hızlı disperse olur * Sindirilebilir	* Suda çözünen YEM/YYEM içerir * Hızlı disperse olur * Sindirim gerekli değildir	* Transparan dispersiyon oluşur	* Suda çözünen YEM/YYEM içerir * Miseller çözelti oluşur * Sınırlı sindirim vardır
Ticari Preparatları	Rocaltrol® (Roche)	Sandimmune® (Novartis)	Neoral® (Novartis)	Aptivus® (Boehringer Ingelheim)	Agenerase® (Galaxosmithkline)

2.1.1. Lipit Formülasyonlar İçin Yardımcı Madde Seçimi

Genel Seçim Kriterleri

Formülasyon bileşenleri mide-bağırsak kanalında ilaçların emilim miktarının ve hızının belirlenmesinde başrol oynar²⁹. Bu nedenle formülasyonda kullanılacak olan yardımcı madde seçimi önem taşır. Yardımcı madde seçiminde göz önünde bulundurulması gereken özellikler; karışabilirlik, çözme kapasitesi, iritanlık, toksisite, saflık, sindirilebilirlik, kimyasal dayanıklılık, kendiliğinden emülsiyon oluşturabilme

özelliği ve erime noktası gibi fizikokimyasal özelliklerdir²².

2.1.1.1. Yağlar

Hidrofobik etkin maddelerin çözünmesinde ve etkin maddenin bağırsak lenfatik geçişiyle ilişkili olması nedeniyle yağlar, kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemler için kritik bir rol oynar. Yağların emülsiyon oluşturma özellikleri, yağın moleküler yapısıyla ilişkilidir³⁰. Tip 3 lipit formülasyonu için genellikle farklı doygunluk derecesindeki uzun ve orta zincirli trigliseritler kullanılır. Lipofilik ilaçları çözme yetenekleri zayıf olduğu için, gıda olarak kullanılan yağlar bu sistemlerde sık kullanılmaz. İlaçları çözme yeteneklerinin iyi olması nedeniyle ve oral uygulamada değişik YEM'ler ile iyi bir emülsiyon sistemi oluşturdıkları için hidrojene bitkisel yağların geniş kullanımı vardır. Yarı sentetik ve YEM özellikli amfifilik bileşenler de SEDDS'lerde yağ fazı olarak kullanılabilir³¹.

Kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemlerde kullanılan yağlar şu kategorilerde sınıflandırılabilir;

Orta zincirli trigliseritler: Doymuş, dayanıklı, sıvı, iyi çözücü, tamamen sindirilebilir ve emilebilir özelliktedirler. Orta zincirli trigliseritler, uzun zincirli trigliseritlerden daha yüksek çözme kapasitesine sahiptir. Oksidasyona maruz kalmadıkları için tercih edilirler. Bu tip yağlara örnek olarak kaprilik/kaprik trigliserit (Miglyol® 810–812), kaprilik/kaprik/linoleik trigliserit (Miglyol® 818), gliseril trikaprilat/trikaprat (Captex® 300–355), gliseril trikaprilat/kaprat/linoleat (Captex® 810D), kaprilik/kaprik trigliserit (Neobee® M5), orta zincirli trigliserit (Labrafac™ Lipophile WL1349) verilebilir^{22,32}.

Orta zincirli mono ve digliseritler: Genellikle kaprik (C₁₀) ve kaprilik (C₈) yağ asitlerinin mono ve digliseritleridir. Bu tip yağlara örnek olarak orta zincirli mono ve digliserit (Capmul® MCM), gliseril monokaprilat (Capmul®

MCM C8), gliseril monokaprat (Capmul® MCM C10), kaprik asit mono/digliserit/kaprilik/kaprik gliseriti (Imwitor® 988), kaprilik/kaprik gliserit (Imwitor® 742), mono/digliserit (Imwitor® 928) verilebilir³².

Uzun zincirli trigliseritler: Karışık doymamış uzun zincirli yağ asitlerinin gliserit esterleri olan bitkisel yağlar, genellikle uzun zincirli trigliserit olarak bilinirler. Bilinen örnekleri soya yağı, susam yağı, mısır yağı, zeytinyağı ve fıstık yağıdır²³.

Uzun zincirli mono ve digliserit karışımları: Monogliserit, digliserit ve az miktarda da trigliserit içeren karışımlardır. Tipik örnekler gliseril mono linoleat (Maisine® 35-1) ve gliseril mono oleattır (Peceol®)³².

Propilen glikol esterleri: Bu yağlara örnek olarak propilen glikol monokaprilat (Capryol® 90), propilen glikol monolaurat (Lauroglycol® 90) verilebilir³².

Karışık gliseritler ve polar yağlar: Polar lipitler Tip 2 ve Tip 3 lipit formülasyonlarının temel bileşeni olarak kullanılır. Karışık gliseritlerle benzer fiziksel yapıdadırlar²³. Polar lipitler YYEM gibi davranarak kendiliğinden disperse olabilmeyi artırır ve formülasyona suyun dahil olmasını kolaylaştırır³². Hidrofobik YEM olarak düşünülen bazı yardımcı maddeler de (Örneğin sorbitan yağ asidi esterleri olan Span® 80 ve 85) fiziksel özellik olarak gliserit karışımlarına ve polar yağlara çok benzerdirler²³. Orta zincirli karışık gliseritler yüksek çözme kapasitesine sahip, emülsiyon oluşturmayı kolaylaştırıcı özellikte ve oksidasyona hassas olmayan yardımcı maddelerdir²².

2.1.1.2. Yüzey Etkin Maddeler

Yüzey etkin maddeler bir emülsiyonda yağ ile su ara yüzeyinde bulunan ve emülsiyonun dayanıklılığını sağlayan moleküllerdir.

YEM kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemlerin kritik bileşenidir³². Dayanıklı bir kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistem oluşturmak için kullanılan YEM derişimi genellikle %30-60 (a/a) arasındadır³³.

YEM'ler suda çözünen ve suda çözünmeyen olarak iki ayrı grupta ele alınabilir²². Suda çözünmeyen YEM'lerin HLB değeri 10'dan küçüktür ve yağ-su ara yüzeyine sıkıca adsorbe olurlar. Suda çözünmeyen YEM'lere örnek olarak oleat esterleri (Span® 85), gliseril trioleat (Tagat® TO) verilebilir²³. Genellikle LFSS–Tip 2 sistemlerin formülasyonunda kullanılırlar²². Suda çözünen YEM'ler ise HLB değeri 10'dan büyük olan olan, LFSS–Tip 3 veya Tip 4 sistemlerin formülasyonunda kullanılan maddelerdir^{22,34}. Bu YEM'lere örnek olarak ise hint yağı ürünü olan Cremophor® RH40 veya Cremophor® EL verilebilir. Emülsiyon oluşumunda kullanılan YEM'nin HLB değeri önemlidir. HLB değeri 10'un altında olan YEM'ler ile kendiliğinden emülsiyon oluşumu gerçekleşemez³⁵.

Kendiliğinden emülsiyon oluşturan formülasyonlarda genellikle yüksek HLB değerine sahip olan noniyonik YEM'ler kullanılır. Noniyonik YEM'ler, iyonik YEM'lerden daha az toksiktir ancak bağırsak membranının geçirgenliğini etkileyebilirler^{31,36}. Bunlar, yağ/su emülsiyon damlacıklarını çabucak oluşturabilirler ve oluşan formülasyon, mide-bağırsak kanalının sulu ortamında çabucak dağılır³¹.

HLB değeri 12'den büyük olan bir YEM ile kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistem mide-bağırsak kanalındaki sıvılarda yağ/su nanoemülsiyonuna dönüşür. Lipit temelli ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan YEM'ler genellikle polietoksillenmiş lipit ürünleridir. Polietilen grubu, YEM'ye hidrofilik özellik kazandırır. Bu YEM'lere örnek olarak polietoksillenmiş yağ asidi esteri (Myrj® ve Solutol® HS15), polietoksillenmiş alkil eterleri (Brij®), polietoksillenmiş sorbitan esterleri (Tween®) ve polietoksillenmiş gliseritler (Cremophor® ve Labrasol®)

verilebilir³².

Kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemlerde genel olarak sıklıkla kullanılan YEM'ler, sorbitan esterleri (Tween®), hint yağı türevleri (Cremophor®), kapril kaproil makrogol gliseriti (Labrasol®) ve pluronikler gibi blok kopolimerlerdir³².

2.1.1.3. Yardımcı Yüzey Etkin Maddeler

Yüzey etkin madde içeriği yüksek olduğunda (örneğin $\geq 40\%$), dayanıklı bir dağılım sağlanabilmesi için (damlacık büyüklüğü < 100 nm) ve daha etkin bir sistem elde edilebilmesi için formülasyona YYEM'lerin de eklenmesi gerekir^{3,26}. YYEM'ler $2 < (\log P) < 4$ arası değere sahip olan etkin maddeleri formüle edebilmek için çözme kapasitesini artırmak amacıyla formülasyona eklenebilirler^{22,26}. Çözme kapasitesini artırmak için eklenen YYEM derişimi yüksek olmalıdır. Ancak bu durum formülasyon su ile karşılaştığında nanoemülsiyon haline dönerken ilacın çökmesine de sebep olabilmektedir²². Kendiliğinden emülsiyon oluşturan formülasyonlarda genellikle HLB değeri 10 ile 14 arasında olan YYEM'ler kullanılır³⁷. Ilacın çözünen miktarını artırabilmek için ve kullanılan hidrofilik YEM'yi yağ fazında çözebilmek için oral kullanılan SEDDS'lerde etanol, gliserin, propilen glikol, propilen karbonat, polioksietilen ve polietilen glikol gibi maddeler de yardımcı çözücü olarak kullanılabilir^{22,23,31,32}.

2.1.1.4. Diğer Yardımcı Maddeler

Formülasyona yağda çözünen antioksidanlar eklenebilir. En tipik örnekleri α -tokoferol, β -karoten, bütıl hidroksi toluen, bütıl hidroksi anisol, propil gallat ve askorbil palmitattır²³.

2.2. Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturan Sistemler (Self Emulsifying Drug Delivery Systems – SEDDS)

Kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemler yağ, YEM, YYEM/yardımcı çözücü ve etkin maddeden oluşan izotropik karışımlardır²⁹. Sulu bir ortamla karşılaştıklarında hafif bir karıştırma ile kaba emülsiyon, mikroemülsiyon veya nanoemülsiyon oluşturabilen ilaç şekilleridir²³. Suda çözünürlüğü düşük olan etkin madde bu sistemler ile çözülmüş duruma getirildiği için, oral biyoyararlanımın artması sağlanır. Bu sistemler ile mide-bağırsak kanalında oluşan nanoemülsiyonun küçük damlacık boyutuna bağlı olarak bağırsak membranından geçirgenliği artırılır, yiyecek etkisi azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır^{38,39}. Kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemler genellikle 100 ile 300 nm arasında damlacık büyüklüğüne sahip olan emülsiyonları oluştururlar. 'Kendiliğinden mikroemülsiyon oluşturan' olarak tanımlanan sistemlerin, 'kendiliğinden emülsiyon oluşturan' olarak tanımlanan sistemlerden farklı olarak 50 nm'den daha küçük damlacık büyüklüğü verdiği bildirilmiştir^{23,29,40}. Kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan sistemlerin ise değişik literatürlerde 20-200 nm arası, 200 nanometreden daha küçük, 100 nanometreden daha küçük veya 50 nanometreden daha küçük damlacık büyüklüğü verdiği bildirilmiştir^{38,41-44}. Bir literatürde kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan sistem için damlacık büyüklüğünün tercihen 10-20 nanometreye kadar inebileceği belirtilmiştir⁴⁵. Yapılan çalışmalarda elde edilen damlacık büyüklükleri de bu bilgiyi doğrulamaktadır. Bazı çalışmalarda elde edilen damlacık büyüklükleri sırasıyla 8.7; 11.4; 24.1; 24.1; 17.7 ve 12.4 nm şeklindedir^{39,44,46-48}.

Kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan sistemler, kendiliğinden mikroemülsiyon oluşturan sistemlere benzer özellik gösterirler. Farkları, kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan sistemlerin termodinamik olarak değil, kinetik olarak dayanıklı olmalarıdır²³. Etkin madde kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan sistem içinde, moleküler

halde veya karışık misel şeklinde bulunabilir⁴⁷. Kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan sistemlerin su ile karşılaşması sonucu oluşan sistemler nanoemülsiyon olarak isimlendirilir²⁹.

Bu sistemler özellikle BCS Sınıf 2 ve Sınıf 4 ilaçlar için önem taşır²⁸. Sistemler mide-bağırsak sıvısında nanoemülsiyon oluşması ile kolloidal damlacıklar içinde ilacın çözünmesini sağlayarak suda düşük çözünürlük gösteren etkin maddelerin emilimini ve biyoyararlanımını artırır^{8,29,49}. Ek olarak nanometre boyutundaki yağ damlacıkları, damlacıkları oluşturan lipidlerin pankreatik lipaz tarafından hidrolizi için büyük bir yüzey alanı sağlar. Böylece etkin maddeyi içeren karışık misellerin oluşumu artarak etkin maddenin salım hızı artar²⁹.

Pouton'a²³ göre formülasyondaki yağ/YEM oranındaki küçük değişimler bile oluşan emülsiyonların damlacık büyüklüğü dağılımını belirgin şekilde etkiler. Oluşan emülsiyonun damlacık büyüklüğü, kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemlerin in vitro ilaç salım hızı ve oranının belirlenmesinde önemli bir faktördür.

Bu sistemlerin avantajları şu şekilde sıralanabilir⁵⁰;

- Emilimi artırarak biyoyararlanımda artış sağlaması, buna bağlı olarak uygulanan dozda azaltılmaya gidilmesi
- Mide-bağırsak kanalında özel bölgelerde emilime yönelik olarak ilaçların hedeflenebilmesi
- İlaçların mide ortamından korunması
- Yiyecek etkisini de içeren, ilaç taşıyıcı sistemden kaynaklanan farklılıkların azaltılması
- Bozulmaya karşı hassas ilaçların korunması
- Yüksek ilaç yükleme oranı sağlanması
- Değişik türde sıvı veya katı dozaj şekilleri elde edilebilmesi

2.2.1. Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturma Mekanizması

Kendiliğinden emülsiyon oluşturma, çok az enerji ile veya hiç enerji gerektirmeden emülsiyon oluşturma durumunu tanımlamak için kullanılan bir ifadedir. İşlem kendiliğinden olabilir veya düşük hızda karıştırmaya ihtiyaç duyulabilir²⁸. Bir dispersiyonun entropi değişimi, dispersiyonun yüzey alanını artırmak için gerekli olan enerjiden daha fazla olduğunda emülsiyon kendiliğinden oluşur³¹. Nanoemülsiyon oluşturmak için gerekli olan serbest enerjinin çok düşük olması nedeniyle sistemde kendiliğinden nanometre boyutundaki damlacıklar oluşur³⁹.

Kendiliğinden emülsiyon oluşturma kabiliyeti, sistemde kullanılan yağ ve YEM'nin tipine bağlıdır. Kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemin su ile hafifçe karıştırılması ile yani yağ ve noniyonik YEM karışımının suya eklenmesi sonucunda, yağ ve su fazları arasında bir ara yüzey oluşur. YEM'nin ara yüzeye penetrasyonu sonucunda su, yağ içinde çözünmeye başlar. Ara yüzey bozulur ve damlacık oluşumu sağlanır³¹. Sistemde elde edilen damlacık büyüklüğü, kendiliğinden emülsiyon oluşturma durumu ile ilişkilidir. Sistemin kendiliğinden emülsiyon oluşturabilme özelliği ne kadar iyi ise, sistemde oluşan damlacıklar o derece küçük olur⁵¹.

2.2.2. Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturan Sistemlerin Hazırlanması

Bu sistemler nanometre boyutunda damlacıkların oluşmasını sağlayan dağılımlardır. Bu sistemlerin formülasyonunda etkin maddeyi çözme yeteneğini etkilemesi nedeniyle çok hidrofilik yardımcı maddelerden kaçınmak gerekir. Başarılı bir formülasyon geliştirilebilmesi için uygun yardımcı madde seçimi büyük önem taşır⁴⁹. En uygun formülasyonu belirlemek için faz çalışmaları yapılmalıdır⁵². Uygun bir kendiliğinden emülsiyon oluşturan formülasyon geliştirilmesi, üçgen faz diyagramında saptanan kendiliğinden emülsiyon oluşturan formülasyon bölgesinin saptanmasına ve formülasyonun su ile karşılaşması sonucu

oluşan emülsiyonun damlacık büyüklüğü dağılımına bağlıdır³⁸. Kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemlerin geleneksel hazırlama yönteminde; önce etkin madde yağ veya yağ karışımında çözülür, daha sonra ise diğer bileşenlerle sistem dengeye gelene kadar karıştırılır¹¹. İyi hazırlanmış bir formülasyon su ile karşılaştığında, hafifçe bir karıştırma ile saniyeler içinde damlacıklar oluşmalıdır. Kötü hazırlanmış bir formülasyonda damlacık boyutu ve dağılımı, eklenen su miktarına ve karıştırmaya bağlı olarak değişir²². Formülasyonun uygun olup olmadığının ortaya çıkarılabilmesi için, karışım oluşturulduktan sonra kendiliğinden emülsiyon oluşturan formülasyonda ve formülasyonun su ile karşılaşması sonucunda oluşan nanoemülsiyonda bir takım kontroller yapılmalıdır.

2.2.3. Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturan Sistemlerde Yapılan Kontroller

Bu sistemler üzerinde yapılan kontroller/incelemler iki bölümde ele alınır^{3,39,44,52-56}.

a. Yağ+YEM+YYEM ve etkin maddeden oluşan kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturacak sistem üzerinde yapılan kontroller/incelemler

- Organoleptik özellikler (görünüş, renk, koku, tat)
- Dansite
- Bulanıklık
- Viskozite
- FTIR ve DSC ölçümleri
- Termodinamik dayanıklılık testleri
(santrifüjleme, ısıtma-soğutma ve dondurma-çözme döngüleri)
- İn vitro lipoliz çalışması
- İn vitro ilaç salım çalışmaları

b. Sistemlerin su ile temasından sonra oluşan nanoemülsiyon üzerinde yapılan kontroller/incelemler

- Organoleptik özellikler (görünüş, renk, koku, tat)
- Dansite
- Bulanıklık
- Viskozite
- Refraktif indeks
- Yüzey gerilimi ölçümü
- Emülsiyon oluşma süresi
- Emülsiyonun oluşumu üzerine pH'nın etkisi
- Emülsiyonun oluşumu için eklenen su miktarının damlacık büyüklüğüne etkisi
- Formülasyonların bulanıklaşmaya başladığı nokta (üçgen faz diyagramında nanoemülsiyonun oluştuğu alanın saptanması)
- Damlacık büyüklüğü ve zeta potansiyel ölçümü
- İlaç yükleme kapasitesi
- FTIR, DSC, TEM ölçümleri
- Termodinamik dayanıklılık testleri
(santrifüjleme, ısıtma-soğutma ve dondurma-çözme döngüleri)
- İn vitro ilaç salım çalışmaları

2.3. Lipoliz

Midede trigliseritler, lipaz tarafından sindirim ürünleri olarak adlandırılan digliseritlere ve yağ asitlerine hidrolize olur. Mide mukozası tarafından salgılanan lipazın etkili olduğu pH 3 ile 6 arasındadır. Tükrükteki lipazın en etkili olduğu pH ise 4 civarındır, ancak 6 ile 6.5 arasındaki pH'larda da aktiftir. Her iki lipaz da, asit lipazlar olarak adlandırılır. Asit lipazlar orta zincirli trigliseritlere yüksek afinite gösterir,

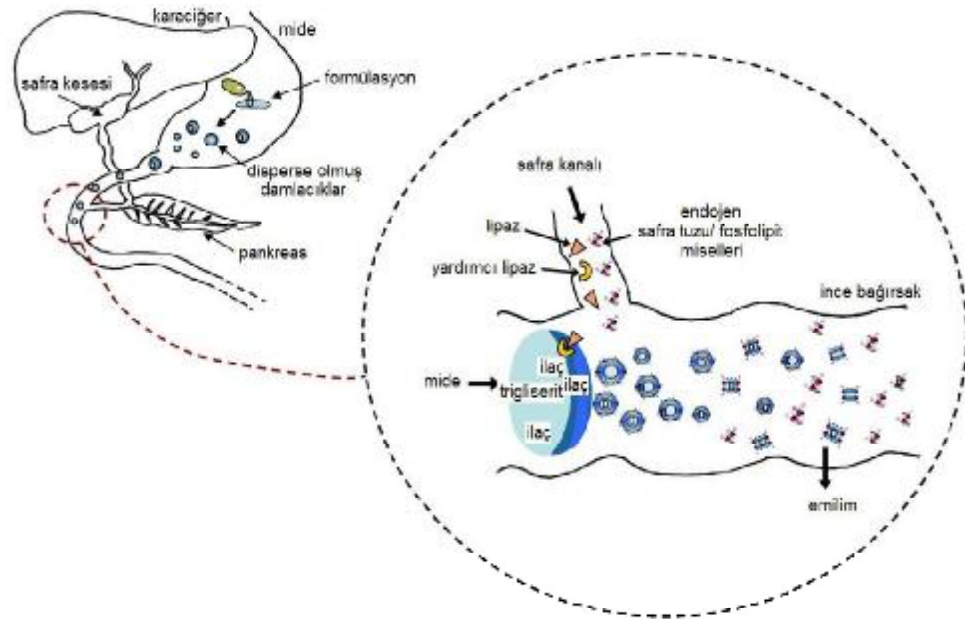
fosfolipitleri ve kolesterol esterlerini ise hidroliz etmez. Sindirim ürünleri olan digliseritler ve yağ asitleri ortamda belirli bir derişimin üzerinde olduğunda asit lipazlar inhibe olur. Bu nedenle asit lipazlarla olan sindirim, tüm sindirim olayının %10 ila 30 kadarını içermektedir. Bu nedenle sindirim olayında insan, fare, sıçan ve tavşan için tükrükte bulunan lipaz büyük önem taşır⁵⁷.

Duodenumdaki lipitlerin varlığı safra kesesinden safra tuzu, fosfolipit (özellikle fosfatidilkolin) ve kolesterol salgılanmasını; pankreastan ise pankreatik sıvıların salgılanmasını uyarır²³. Fosfolipitlerin ve kolesterolün bir kısmı, oluşan yağ damlacıklarının yüzeyine adsorbe olarak trigliseridin sindirim ürünleri ve safra tuzu ile birlikte damlacıkların dayanıklı ve küçük hale gelmesini sağlar.

Lipit sindirimi pankreatik lipaz/yardımcı lipaz bileşiminin aktivitesi ile tamamlanır. Lipaz/yardımcı lipaz bileşimi, yağ damlacıklarının yüzeyine bağlanarak, her bir trigliserit molekülü için bir adet 2-monogliserit molekülü, iki adet de yağ asidi molekülü oluşturur. Kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan lipit formülasyonun oral yolla alınması sonrası olanlar Şekil 1'de şematize edilmiştir. Lipit formülasyonun oral yolla alınmasının ardından formülasyon ilk olarak midede dağılır. Midede lipaz tarafından formülasyondaki lipitlerin sindirimi başlatılır. Mide içeriğinin duodenuma boşaltımından önce, midedeki peristaltik hareketler ve gastrik boşaltma, lipit formülasyondan emülsiyon oluşumunu sağlar. Gastrik boşaltım sonrası ince bağırsakta bulunan pankreatik lipaz gliseritlerin digliserite, monogliserite ve yağ asitlerine yıkımını sağlar. Bu bölgedeki formülasyondan kaynaklanan lipitlerin varlığı da safra tuzu, fosfolipit ve kolesterolü içeren endojen safra lipitlerinin safra kesesinden salgılanmasını uyarır. Safra tuzunun ortamdaki derişiminin artması ile lipit sindirim ürünleri, tek/çok tabakalı veziküller, karışık miseller gibi kolloidal yapılara dahil edilir⁵⁷.

Formülasyondaki bileşenlerin lipolize uğramasının ve sindirilebilirliğinin sistemde kritik bir etkisi vardır³². Formülasyonun, emilim sonrası lipolize uğrayıp uğramadığının anlaşılması için in vitro sindirim testleri (lipoliz çalışmaları) yapılır. Bu in vitro testte, ortamın pH değerinin, insan pankreatik sıvısının pH değerine yakın bir değerde olması gereklidir²³.

Lipoliz çalışması, lipid formülasyondan gerçekleşen etkin madde emiliminin ve yiyecek etkisinin formülasyon üzerine etkisinin belirlenmesi açısından önem taşır²⁵.



Şekil 1: İnce bağırsakta lipid sindirimi ve nanoemülsiyonun oluşumu⁵⁷

2.4. Oral Emilimde Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturan Sistemlerin Rolü

Suda çözünürlüğü zayıf olan ilaçların emiliminin, trigliserit içeren emülsiyonlar, miseller sistemler ve kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemler gibi lipid formülasyonlar ile arttığı bildirilmektedir.

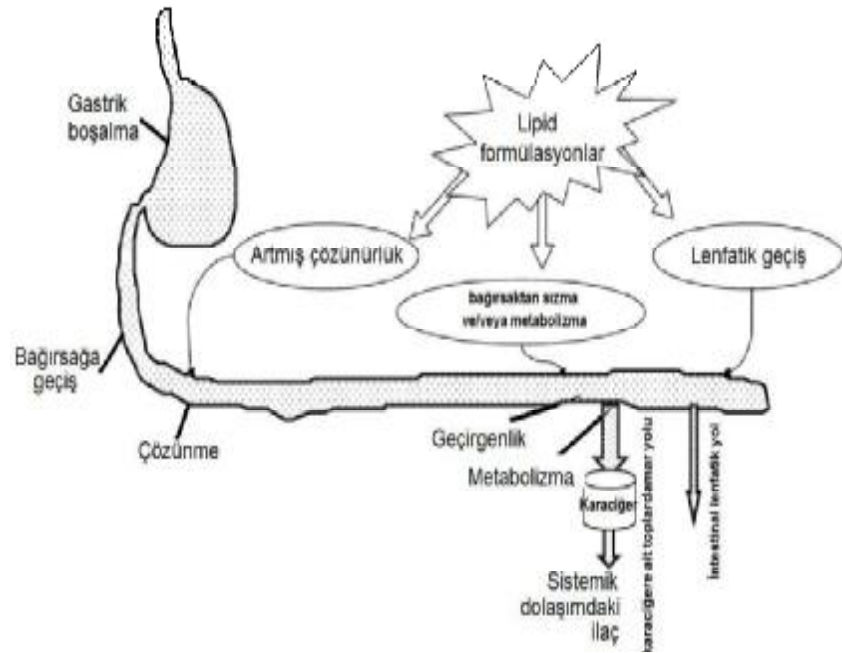
İlaç emilimini artıran olası mekanizmalar^{23,49};

- Çözünmenin artırılması
- Lenfatik geçişin artırılması
- Sitokrom P450 enziminin inhibisyonu ile karaciğerdeki ilaç metabolizasyonunun azaltılması
- Transselüler geçişi kolaylaştıran membran akışkanlığındaki artış
- Küçük emülsiyon damlacıkları tarafından sağlanan büyük yüzey alanı, bu büyük yüzey alanı nedeni ile lipolizde sağlanan artış ve karışık misellerin oluşumu
- Sıkı bağlanma bölgelerinin açılarak paraselüler taşımanın oluşumu
- Lipoprotein/şilomikron üretiminin uyarılması olarak sayılabilir.

Kendiliğinden emülsiyon oluşturan formülasyonlarda emilim, YEM derişimine, formülasyonun su ile karşılaşması sonucu oluşan emülsiyonun damlacık büyüklüğüne ve yüküne bağlıdır⁴⁵. Hidrofobik ilaçların oral biyoyararlanımının değerlendirilmesi amacıyla yapılan birçok in vivo çalışmada yağ/su tipi emülsiyonların daha iyi emilim oluşturduğu belirtilmiştir⁵⁸⁻⁶¹. Hastaya doğrudan emülsiyonun içirilmesi ve emülsiyonun fiziksel dayanıklılığını sağlamanın zor olması, ayrıca içilecek emülsiyon miktarının fazla olması nedeni ile kendiliğinden emülsiyon oluşturan formülasyonların hazırlanması daha iyi bir alternatif olarak belirtilmiştir³³. Yayınlanan bazı çalışmalarda kendiliğinden emülsiyon oluşturan formülasyonlarla hidrofobik ilaçlar çalışılmış ve yüksek biyoyararlanım elde edilmiştir⁶². Emülsiyondaki hidrofobik etkin madde biyoyararlanımının, emilimin artırılması ile artacağı, emilim artışının da damlacık büyüklüğünün küçültülmesi ile sağlanabildiği belirtilmiştir⁶³.

Yağ damlacıklarının endositoz, pasif difüzyon veya pinositoz gibi lipid emilim mekanizmaları ile doğrudan, kolayca emilebildiği bilinmektedir³⁹. Hidroliz olma durumunda ise lipitler önce midede hidrolize olur, daha sonra ince bağırsakta 2-monogliseride ve yağ asitlerine ayrışır. Enterositlerde tekrar emilir ve trigliseritlere esterleşerek şilomikronlara alınır. Şilomikron üretimindeki herhangi bir değişim, lipofilik ilaçların lenfatik geçişi için belirgin bir önem taşır. Çünkü ilacın şilomikronlarla birleşerek lenfatik yolla geçtiği düşünülmektedir⁴⁹. Kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemler, ince bağırsaktaki emici lipoprotein hücresi olan şilomikronların üretimini stimüle ederek lipofilik bileşenlerin lenfatik geçişini artırır⁶⁴.

Oral ilaç emilimini etkileyen kritik basamaklar Şekil 2’de verilmiştir.

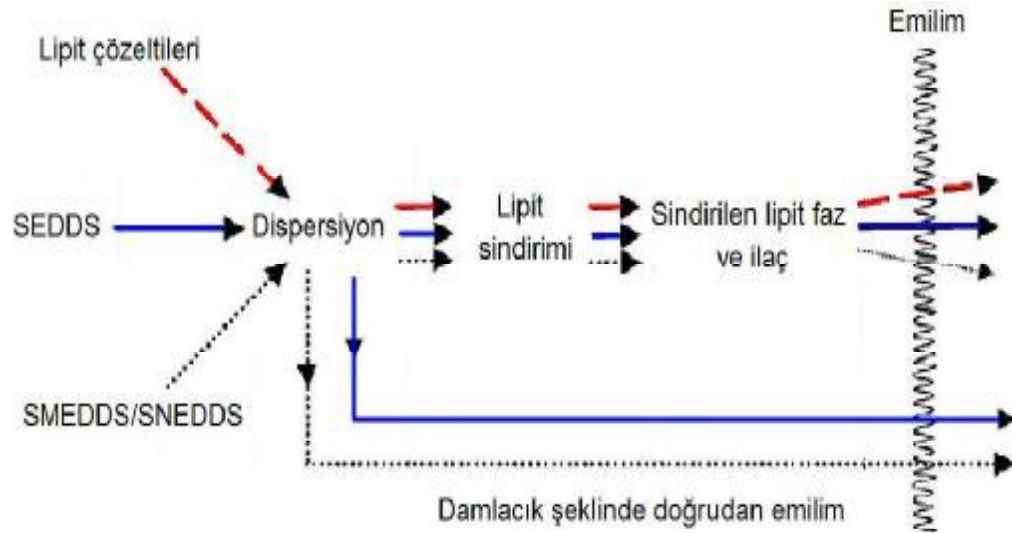


Şekil 2: Oral ilaç emilimini etkileyen kritik basamaklar⁴⁹

Şekil 3’te ise oral alımdan sonra suda çözünürlüğü zayıf olan bir ilacın geçireceği potansiyel aşamalar özetlenmektedir. Basit bir lipid

çözültisi şeklinde olan formülasyonun emilimi için, formülasyonun bileşimindeki yağ fazının sindirimi gereklidir. Kendiliğinden emülsiyon oluşturan bir formülasyonda (SEDDS), emilimin büyük bir kısmı formülasyondaki yağların sindirime uğramasından sonra gerçekleşirken, diğer kısmı formülasyonun emülsiyona dönüşmesinden sonra oluşan damlacıkların doğrudan emilimi şeklinde olmaktadır. SMEDDS/SNEDDS formülasyonlarında ise damlacık büyüklüğü çok daha küçük olduğu için, emilim büyük oranda damlacıkların doğrudan emilimi şeklinde olurken, formülasyonun çok daha az bir kısmı da bileşenlerin sindirime uğrayarak emilmesi şeklinde gerçekleşmektedir.

Sindirime uğrayarak emilme durumu, formülasyonun tipine bağlı olmakla birlikte, formülasyonda kullanılan yardımcı bileşenlerin lipolize uğrayabilme durumuna da bağlıdır⁶⁵.



Şekil 3: Oral alımdan sonra suda çözünürlüğü zayıf olan bir ilacın geçireceği potansiyel aşamalar⁶⁵

2.5. İlaç Taşıyıcı Sistemler Olarak Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturan Formülasyonlar

Kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemlerin hem farmasötik alanda oral, dermal, rektal ilaç şekli olarak, hem de pestisit olarak kullanımları vardır. Kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemlerin toz^{66,67}, kapsül⁵⁰, kontrollü salım tableti⁶⁸, kontrollü salım pelleti^{69,70}, aşırı doymuş pellet formülasyonu⁵³ boncuk⁷¹, nanopartikül⁷², supozituar⁷³, mikroküre⁷⁴, katı dispersiyon⁵⁰ ve implant⁷⁵ haline getirildiği belirtilmektedir.

2.5.1. Oral Uygulama

Date ve Nagarsenker'in¹⁵ yaptığı bir çalışmada suda çözünürlüğü düşük olan ve çözünürlüğü pH'ya bağlı bir antibiyotik olan sefpodoksim proksetil için kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmesi amaçlanmıştır. Formülasyonda Cremophor® EL (YEM), Akoline® MCM (YYEM) ve Capryol® 90 (yağ) kullanılmıştır. Nanoemülsiyon bölgesinin belirlenmesi için üçgen faz diyagramı çizilmiştir. Çalışma sonucunda damlacık büyüklüğü 170 nm olan ve nanoemülsiyon oluşması için sisteme eklenen su fazının pH'sından etkilenmeyen formülasyon geliştirilmiştir. Geliştirilen formülasyon sert jelatin kapsüllere doldurularak salım çalışması yapılmış ve formülasyonun cefpodoksim proksetili, 20 dakika içinde pH'dan bağımsız olarak saldığı bulunmuştur.

Yapılan diğer bir çalışmada ötektik bazlı kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan sistem üzerine çalışılmıştır. Koenzim Q10 etkin maddesi ve yardımcı bileşenler olarak Cremophor® EL (YEM), Capmul® MCM C8 (YYEM), mentol ve esansiyel yağlar (nane yağı, limon yağı, anason yağı) kullanılarak üçgen faz diyagramı yardımıyla kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan bölge belirlenmeye çalışılmıştır. Geliştirilen formülasyonun damlacık büyüklüğü 100 nm olarak tespit edilmiştir. Formülasyonda salım çalışmaları yapılmış ve gecikme zamanı

saptanmıştır. Gecikme zamanının formülasyonun sıvı kristal özelliğine bağlı olduğu düşünülmektedir¹¹.

Thomas ve arkadaşlarının⁵³ yaptığı çalışmada aşırı doymun kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan sistem geliştirilmesi amaçlanmıştır. Formülasyon Captex® 300/Capmul® MCM (orta zincirli yağ) veya Maisine® (uzun zincirli yağ), Cremophor® RH40 (YEM) ve etanolden (yardımcı çözücü) oluşmaktadır. Yağ/YEM/YYEM oranı 55/35/10 a/a şeklindedir. Suda çözünürlüğü düşük olan halofantrin, formülasyon içinde çözünürlüğünün %150 katı kadar bulunmaktadır. Çalışmada formülasyon içinde halofantrinin çökme göstermediği bulunmuştur. Formülasyonun damlacık büyüklüğünün uzun zincirli yağın kullanıldığı formülasyonda yaklaşık 80 nm olduğu görülmüş, orta zincirli yağ karışımı ile hazırlanan formülasyonda ise sistemin bulanık olduğu saptanmıştır. Yapılan in vivo çalışma sonucunda ise biyoyararlanım değerleri hesaplanmış, uzun zincirli yağ ile hazırlanan formülasyonun mutlak biyoyararlanımı %90.9 bulunurken, orta zincirli yağ karışımı ile hazırlanan formülasyonun mutlak biyoyararlanımı %53.2 bulunmuştur.

Yapılan diğer bir çalışmada ibuprofen etkin maddesi kullanılarak kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan sistemler hazırlanmıştır. Çalışmanın amacı geliştirilen sistemle ibuprofenin çözünme hız profilini iyileştirmektir. Formülasyonda yağ olarak metil dekanat, izopropil miristat, metil oleat veya etil oleat kullanılmıştır. YEM olarak Tween ve Span, YYEM olarak da 1,2-oktandiol kullanılmıştır. Bu bileşenlerin farklı oranlarda karıştırılması ile 3 adet formülasyon elde edilmiştir. Formülasyonlara 1:100 oranında su eklenmesi sonrasında elde edilen nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü ve dayanıklılığı incelenmiştir. Damlacık büyüklüklerinin 58-143 nm arasında değiştiği gözlenmiş, salım profillerinde ise ilk 30 dakika içinde kümülatif salım miktarları %95 (damlacık büyüklüğü 58 nm), %90 (damlacık büyüklüğü 96

nm) ve %73 (damlacık büyüklüğü 143 nm) olarak bulunmuştur⁷⁶.

2.5.2. Dermal Uygulama

Soriano ve arkadaşları⁷⁷ kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemlerle bir krem formülasyonu hazırlamış ve nemlendirme etkinliğini incelemişlerdir. Kendiliğinden emülsiyon oluşturan formülasyon içeriği lanolin, dimetikon, sıvı parafin, miristoil, balina yağı, setil oktanoat, stearyl heptanoat, balmumu ve steareth-10 maddelerinden oluşmuştur. Buna ek olarak yağ fazında koruyucu olarak metil/bütil/etil/propil paraben ve fenoksietanol karışımı bulunmaktadır. Emülsiyon oluşumu için formülasyona gliserin, fruktoz, üre, niasinamit, inozitol, sodyum laktat, glisin, biberiye özü ve sudan oluşan sulu faz eklenmiştir. Çalışmada elde edilen krem için organoleptik özellikler, pH, reolojik özellikler, dayanıklılık özellikleri incelenmiş, kremin etkinlik değerlendirmesi yapılmıştır. Sonuç olarak damlacık büyüklüğü 30 µm olan, pH değeri 5.4 olan, psödoplastik akış özelliği gösteren, deride yapısal olarak %43 iyileşme sağlayan, oda sıcaklığında altı ay süresince dayanıklılığını koruyan bir formülün elde edildiği belirtilmiştir.

2.5.3. Diğer Uygulamalar

SNEDDS şeklinde hazırlanan bir pestisit formülasyonunda etkin madde olarak triazophos kullanılmıştır. Etkin madde, polioksietilen eter yapıda ve polioksietilen eter/N-oktil-2-pirolidon yapıda olan iki ayrı YEM kullanılarak formüle edilmiş ve daha sonra bu formülasyonlara su eklenmesiyle nanoemülsiyon oluşumu sağlanmıştır. Formülasyonların 1:100; 1:400 ve 1:800 oranında su ile karıştırılması sonucunda elde edilen nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü ölçümü dinamik ışık saçılımı (dynamic light scattering) yöntemi ile yapılmıştır. Damlacık büyüklükleri 10 ile 200 nm arasında bulunmuştur. Eklenen su miktarı arttıkça, elde edilen damlacık büyüklüğünün de arttığı gözlenmiştir. Çalışmada etkin maddenin değişik pH'larda hidrolize uğrama durumu da incelenmiş, asidik ve nötral

çözeltilerde dayanıklı olduğu, bazik çözeltilerde ise kolaylıkla hidrolize uğradığı bulunmuştur⁷⁸.

Yapılan bir çalışmada rektal olarak uygulanmak üzere kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemler geliştirilmiştir. Çalışmada, suda çözünürlüğü zayıf olan bir etkin madde olan indometazin, kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistem içine eklenerek biyoyararlanımının artırılması amaçlanmıştır. Hazırlanan kendiliğinden emülsiyon oluşturan formülasyon, noniyonik YEM olarak Tween® 85 (%30) ve doymamış yağ asidinden oluşan bir yağ yapısında olan etil oleattan (%70) oluşturulmuştur. Rektal uygulama için jelatin, gliserin ve distile su 4:2:4 (h/h/h) oranlarında karıştırılıp supozituar şekline getirilmiştir. Oyuk boyutu 0.2 cm³ olan supozituar içine 5.6 mg indometazin tozu ya da 0.15 mL kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistem doldurulmuş ve rektal uygulama yapılmıştır. Uygulama sonucunda kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistem ile hazırlanan supozituarın C_{maksimum} değeri belirgin olarak daha fazla bulunmuştur. Bu durumun geliştirilen sistemde bulunan YEM'nin geçirgenliği artırması nedeniyle olabildiği düşünülmüştür⁷³.

2.6. Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturan Sistemlerin Ticari Preparatları

Sandimmune® ve Sandimmune Neoral® (Novartis): Bu iki ticari preparat, immunosupresan etkili siklosporin A'yı kendiliğinden emülsiyon oluşturan lipit taşıyıcı sistem içinde taşımaktadır²³. Daha önce geliştirilen sistem Sandimmune® olmakla beraber, sonradan Sandimmune Neoral® adıyla siklosporin A etkin maddesi ile kendiliğinden mikroemülsiyon oluşturan yeni bir lipit formülasyonu geliştirilmiştir. Damlacık büyüklüğü 100 nm'nin altındadır. Bu yeni formülasyon ilkine kıyasla iki kat daha iyi biyoyararlanım göstermektedir⁷⁹. Preparatların içeriği Tablo 2'de verilmiştir^{34,45,79}. Bunun dışında, kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistem şeklinde geliştirilen ve piyasada bulunan diğer preparatlar

da Tablo 3'te verilmiştir^{43,56,80}.

Tablo 2: Kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistem şeklinde hazırlanan ticari preparatların içeriği

Novartis				
Sandimmune® (Oral Solüsyon)	Sandimmune® (SED DS)		Sandimmune Neoral® (SMED DS)	
Siklosporin A	Siklosporin A	100 mg	Siklosporin A	100 mg
Etanol (Yardımcı çözücü)	Etanol (Yardımcı çözücü)	100 mg	Etanol (Yardımcı çözücü)	100 mg
Labrafil 1944 CS (YEM)	Labrafil 2125 CS (YEM)	300 mg	Propilen glikol (Yardımcı çözücü)	100 mg
Zeytinyağı (Yağ)	Mısır yağı (uzun zincirli trigliserit)	426 mg	Cremophor RH40 (YEM)	380 mg
Oral solüsyon	Yumuşak kapsül dozaj şekli		Maisine (Yağ) (uzun zincirli mono-digliseritler)	320 mg
			Yumuşak kapsül dozaj şekli	
	Kaba emülsiyon, >2 µm		Mikroemülsiyon, ≈30 nm	

Tablo 3: Piyasada bulunan diğer ticari preparatlar

Etkin madde	Ticari isim®	Dozaj şekli
Ritonavir	Norvir	SED DS (yumuşak jelatin kapsül)
Saquinavir	Fortovase	SED DS (yumuşak jelatin kapsül)
Amprenavir	Agenerase	SED DS (yumuşak jelatin kapsül)
Tretinoin	Vesanoid	SED DS (yumuşak jelatin kapsül)
İzotretinoin	Accutane	SED DS (yumuşak jelatin kapsül)
Siklosporin	Panimum bioral	SED DS (kapsül)
Siklosporin A	Gengraf	SED DS (sert jelatin kapsül)
Lopinavir ve Ritonavir	Kaletra	SED DS (yumuşak jelatin kapsül)
Tipranavir	Aptivus	SED DS (yumuşak jelatin kapsül)
İbuprofen	Solufen	SED DS (sert jelatin kapsül)
Fenofibrat	Lipirex	SED DS (sert jelatin kapsül)

2.7. Tez Çalışmasında Geliştirilen Formülasyonlarda Kullanılan Yardımcı Bileşenler Hakkında Bilgi

Labrafac™ Lipophile WL1349: Orta zincirli trigliserit yapıdadır [C₈ (%50-80), C₁₀ (%20-50), C₁₂ (>%3)]³². Oral kullanımı vardır⁸¹. HLB değeri 2'dir⁸². Bu madde USP/NF (The United States Pharmacopeia and The National Formulary), FDA (Food and Drug Administration), EP (European Pharmacopoeia), JSFA (Journal of the Science of Food and Agriculture), JP (Japanese Pharmacopoeia) gibi farmakopelere kayıtlıdır.

Labrasol®: Orta zincirli etoksilat (polietoksilat gliseridi) yapıda noniyonik YEM'dir^{32,83}. HLB değeri 14'tür. Oral kullanımı vardır⁸⁴. Kimyasal ismi kaprilokaproil makrogol-8 gliserittir. Oda sıcaklığında sıvıdır^{85,86}. USP/NF, EP, FDA gibi farmakopelere kayıtlıdır.

Capmul® MCM C8: Kaprilik asidin mono/digliseritleridir. Kimyasal ismi gliseril mono/dikaprilat (1,2,3-Propantriol)'dür. Orta zincirli mono ve digliserit yapıdadır. Monogliserit (%68), digliserit (%27), trigliserit (%3); C₈ (>%95), C₁₀ (%3)^{32,87}. Oda sıcaklığında yarı katıdır. Oral kullanımı vardır^{24,86}. EP'ye kayıtlıdır⁸⁸.

Maisine® 35-1: Uzun zincirli mono ve digliserit karışımlarını içerir. Gliseril monolinoleat yapıdadır. Gliserit içeriği: Monogliserit (%32-52), digliserit (%40-55), trigliserit (%5-20) şeklindedir³². HLB değeri 4'tür ve oral kullanımı vardır⁸⁹. Oda sıcaklığında sıvıdır. USP/NF ve EP gibi farmakopelere kayıtlıdır ve GRAS (Generally Recognized As Safe) özelliktedir.

Cremophor® RH40: Uzun zincirli, polietoksillenmiş gliserit yapıdadır³². Kimyasal ismi polioksil 40 hidrojene hint yağıdır. HLB değeri 14-16 arasındadır^{24,90}. Noniyonik bir YEM'dir⁹¹. Oral kullanımı vardır^{24,86}. Oda sıcaklığında yarı katıdır. USP/NF ve EP farmakopelerine kayıtlıdır.

Brij® O10 (Brij 97): Polietoksillenmiş alkil eteri yapıdadır³². Kimyasal ismi polioksietilen 10 oleoil eter'dir. HLB değeri 12.4'tür⁹². Oral kullanımı vardır⁹³.

2.8. Aseklofenak

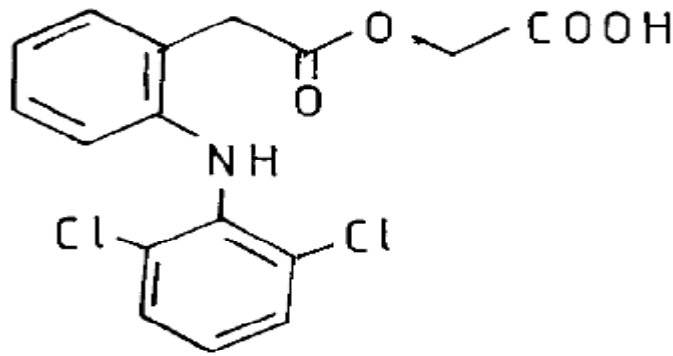
Nonsteroidal antienflamatuvar ilaçlar (NSAIDs-NonSteroidal Antiinflammatory Drugs) analjezik, antipiretik, antienflamatuvar ve trombosit inhibe edici etkileri nedeniyle kullanılırlar⁹⁴. Etki mekanizmaları enflamasyon uyarımında anahtar rol oynayan siklooksijenaz (COX) inhibisyonunun sağlanması ile⁹⁵. COX'un inhibisyonu, enflamasyon sağlayan sitokinlerin ve prostoglandinlerin baskılanmasına dayanır. Uzun dönem tedavide NSAIDs'lerin temel yan etkisi mide-bağırsak kanalına verdiği zararlar¹⁸. Aseklofenak, enflamasyon mediyatörlerinin jenerasyonundan sorumlu olan COX-2'nin seçici, güçlü bir inhibitördür. Romatoid artrit, osteoartrit, ankilozan spondilit ve ağrı tedavisinde analjezik, antipiretik ve antienflamatuvar etkileri ile kullanılır⁹⁵⁻⁹⁹.

Aseklofenak 1991 yılında İspanya'da, Grau ve arkadaşları¹⁰⁰ tarafından mide-bağırsak kanalındaki yan etkilerin azaltılması amacıyla geliştirilmiştir. Diğer NSAIDs'lerle kıyaslandığında mide-bağırsak kanalındaki yan etkisinin daha az olduğu görülmüştür¹⁰¹. Midedeki akut ülserojenik aktivitesinin naproksen, diklofenak ve indometazinden sırasıyla 2; 4 ve 7 kat daha az olduğu bulunmuştur⁹⁷. Aseklofenak, diğer bir NSAIDs olan diklofenak ile yapısal olarak benzerdir⁹⁹. Ancak aseklofenanın terapötik indeksi diklofenaktan 4 kat daha fazladır⁹⁵. Aseklofenak suda çözünmeyen, aseton ve alkolde çözünebilen beyaz, kristalize toz şeklindedir⁹⁸. Moleküler formülü $C_{16}H_{13}Cl_2NO_4$ 'tür ve molekül ağırlığı 354.188'dir⁹⁹. Aseklofenak fenil asetik asit türevidir. Kimyasal formülü [2-{(2,6-diklorofenil)amino}-fenilasetoksiasetik asit] şeklindedir. Kimyasal yapısı Şekil 4'te gösterilmiştir¹⁰². Metanoldeki çözeltisi 275 nm'de en yüksek absorbanans değerini verir¹⁰³. Zayıf asidik bir madde olan

aseklofenağın (pKa 4.7) çözünürlüğü, pH'ya bağlıdır. Bazik ortamlarda çözünürlüğü yüksektir ancak suda ve asidik ortamlarda çözünürlüğü düşüktür.

Aseklofenağın özellikleri Tablo 4'te, çeşitli makalelerden alınarak derlenmiş olan, farklı ortamlardaki çözünürlük değerleri ise Tablo 5'te gösterilmiştir.

Aseklofenak ayrıca, düşük akış ve basılabilirlik özellikleri gösterir^{101,104,105}.



Şekil 4: Aseklofenağın kimyasal yapısı¹⁰²

Tablo 4: Aseklofenağın özellikleri¹⁰⁶

Aseklofenak	
MA	354.19 g/mol
pKa	4.7
Partisyon Katsayısı (P)	16.98
Log P	1.23

Tablo 5: Aseklofenağın farklı ortamlardaki çözünürlük değerleri

Ortam	Çözünürlük	Sıcaklık (°C)	Kaynak No
Su	0.018 g/100 mL	Oda sıcaklığı	107
pH 7.4	0.065 g/100 mL		
pH 8	0.069 g/100 mL		
pH 9	0.075 g/100 mL		
Su	0.053 mg/mL	Oda sıcaklığı	20
0.1 N HCl	0.013 mg/mL		
Su	58.67 µg/mL	37	17
0.1 N HCl	21.93 µg/mL		
pH 4.5	995 µg/mL		
pH 6.8	1538.7 µg/mL		
Su	55.46 µg/mL	37	108
pH 1.2	11.77 µg/mL		
pH 6.8	4962 µg/mL		
Su	0.076 mg/mL	37	109
0.2 N HCl	0.018 mg/mL		
pH 6.8	6.79 mg/mL		
Su	75.59 µg/mL	Oda sıcaklığı	105
0.1 N HCl	15.24 µg/mL		
pH 6.8	10.58 µg/mL		
Capmul® MCM C8	32.8 mg/mL	37	110
Labrafac™	6.32 mg/mL		
Brij® O10	399.6 mg/mL		
Etanol	122.21 mg/mL		
Distile su	0.105 mg/mL	37	111
pH 4	0.139 mg/mL		
pH 5	0.474 mg/mL		
pH 6	1.317 mg/mL		
pH 7.4	5.786 mg/mL		

Aseklofenağı analiz edebilmek için farklı yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemler titrimetrik^{95,112}, voltametrik¹¹³, densitometrik¹¹⁴, kolorimetrik^{114,115}, spektrofotometrik¹¹⁶⁻¹¹⁸,

spektroflorometrik^{115,119}, polarografik yöntemler¹²⁰, HPLC^{113,114,116,117,121}, kapiller elektroforez¹²² ve kütle spektrometrisi¹²³ yöntemleri olarak sayılabilir.

2.8.1. Aseklofenağın Dozu ve Uygulaması

Yetişkin hastalarda aseklofenağın mutlak dozunun oral yolla günde iki defa 100 mg şeklinde olduğu belirtilmiştir^{97,124}. Aseklofenağın kısa yarı ömrü nedeniyle istenen derişimin sürdürülebilmesi için sık dozlama gerekli olabilir¹²⁵. Bu nedenle aseklofenak denetimli salım formülasyonu için ideal bir adaydır^{125,126}. NSAIDs'lere duyarlı olan, peptik ülseri olan ya da mide-bağırsak kanaması olan hastalara verilmemelidir. Hamile ve emziren kadınlarda kullanılması önerilmemektedir¹²⁴.

Aseklofenağın patent sahibi olan üretici firmasının ve Türkiye'deki üretici firmaların ticari preparatları ve özellikleri Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6: Aseklofenağın ticari preparatları

Dozu	Doz şekli	Ticari Adı®	Üretici Firma	Ülke
100 mg	Toz, Tablet	Airtal	Almirall	İspanya
		Gerbin	(Patent sahibi firma)	
	Tablet	Biofenac	Biomeks	Türkiye
		Asec	Münir Şahin	

Aseklofenağın patent sahibi üretici firması olan Almirall firmasının ürettiği tabletin tek seferlik dozunun 100 mg olmasıyla birlikte, tek seferlik oral dozu 25; 50; 70 ve 75 mg olan ticari preparatlar da bulunmaktadır. Bu ticari preparatlar Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7: Aseklöfenağın farklı tek seferlik oral dozları olan ticari preparatları

Doz şekli	Dozu	Ticari Adı®	Üretici Firma	Ülke
Tablet	25 mg	Ji Li Da	SD.LUNAN BEITE PH	Çin
Tablet	25 mg 50 mg	Biofenac	GALENICA	Cezayir
Kapsül	50 mg	Aceclofenac	BYS GUANGHUA PH	Çin
Tablet	50 mg	Al Fen	JS ZJ JIBEIER PHA	Çin
Tablet	50 mg	Bei Su Qing	SHAANXI DONGSHENG	Çin
Kapsül	70 mg	Acetal	SAE HAN	Güney Kore
Uzatılmış salım yapan tablet	75 mg	Biofenac	GALENICA	İsviçre

2.8.2. Aseklöfenağın Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri

Aseklöfenağın mide-bağırsak kanalından emilimi iyidir ve dolaşımda temel olarak değişmemiş ilaç olarak bulunur. Tek bir 100 mg dozun oral olarak alınmasının ardından doruk plazma derişimi ($C_{maksimum}$) 1.25 ila 3 saat içinde 6.8–8.9 mg/L'ye ulaşır^{97,99,124}. Ortalama uzaklaşma yarı ömrü 3-4 saat kadardır. Aseklöfenağın dağılım hacmi (V_d) yaklaşık olarak 25 litredir ve plazmada büyük oranda (>99%) proteinlere bağlı durumda bulunmaktadır^{95,99,124}. Aseklöfenağın 50, 100 ve 150 mg dozlarının verilmesinin ardından $C_{maksimum}$ ve plazma derişimi-zaman eğrisinin altındaki alan (AUC) değerleri doğrusal olarak artar. Aseklöfenak lineer farmakokinetik özellik göstermektedir¹⁶. Bazı kaynaklarda yiyecek varlığının aseklöfenağın farmakokinetik parametrelerini değıştirmediği, bazı kaynaklarda ise yiyecek varlığının emilim hızını azalttığı, $t_{maksimum}$ değerini artırdığı, $C_{maksimum}$ ve AUC değerlerini değıştirmediği belirtilmiştir^{97,124}. Ayrıca $C_{maksimum}$, V_d , yarı ömür ($t_{1/2}$) değerlerinin ve aseklöfenağın emiliminin hastanın yaşından bağımsız olduğu, buna bağılı olarak genç yaştaki ve bebek hastalarda doz azaltılması gerekmediğı belirtilmiştir⁹⁵.

Aseklofenağın farmakokinetiği ve metabolizması türlere göre farklılık gösterir. Sıçanlara oral uygulama sonrası, dolaşımda bulunan aseklofenak hızla kaybolur ($t_{1/2}$: 0.08 saat), insan için $t_{1/2}$ değeri, sıçaninkinden 50 kat daha fazla bulunmuştur. Sıçanlarda aseklofenak, diklofenağın ön ilacı gibi davranır. Oral veriliş sonrası plazmada bulunan aseklofenak miktarı düşük ve kalış süresi çok kısadır¹²⁷. Buna zıt olarak insanlarda aseklofenak daha dayanıklıdır ve hidrolize uğramaksızın genel dolaşıma katılır. Aseklofenak insan hepatositlerinde ve mikrozomlarda temel metabolit olarak 4'-hidroksi aseklofenağa dönüşür^{99,128}. Aseklofenak, 4'-hidroksi aseklofenağın etkisine bağlı olarak romatoid artrit ve osteoartritte terapötik etki gösterir^{129,130}. Verilen dozun %5'ini oluşturan diğer ikincil metabolitler 5-hidroksi aseklofenak, diklofenak, 5-hidroksi diklofenak ve 4'-hidroksi diklofenaktır⁹⁹. Aseklofenak yaklaşık dört saat içinde, renal yol ile elimine edilir¹²⁴. İlacın yaklaşık %70 kadarı aseklofenağın glukronidi ve diklofenak şeklinde idrar ile, %20'si ise feçes ile vücuttan atılır^{97,131}. Aseklofenak antienflamatuvar etkisinin yanı sıra, jinekolojik ağrılarda ve diş, kulak, boğaz ağrıları gibi durumlarda etkin bir analjezi de gösterir. Aseklofenağın analjezik etkisi, diklofenağa benzerdir.

Letzel ve arkadaşları¹³² dismenoresi olan kadınlarda, naproksen ve plasebo ile kıyaslamalı olarak, aseklofenağın 100 mg'lık tek bir oral dozu için analjezik etkinliği araştırmışlardır. Bu çalışmada aseklofenak ile naproksenin etkinlikleri benzer bulunmuştur.

Pareek ve arkadaşları¹³³ da dismenoreli hastalarda aseklofenağa karşılık, aseklofenak-drotaverin kombinasyonunun etkinliğini ve güvenilirliğini araştırmışlardır. Drotaverin, düz kas gevşeticisi olarak kullanılmıştır. Kombinasyonun ağrıyı azaltma gücü, sadece aseklofenak uygulanması ile yapılan tedaviden belirgin olarak yüksek bulunmuştur.

Aseklofenağın etki mekanizması hala tam olarak açıklanabilmiş değildir. Hinz ve arkadaşları¹³⁴ tarafından yapılan çalışmada etki mekanizmasının, aseklofenağın metabolitlerinden biri olan diflofenağın siklooksijenaz enzimini inhibe etmesi yoluyla olduğu bildirilmiştir.

2.8.3. Aseklofenağın İlaç Şekilleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

2.8.3.1. Çözünürlüğün İyileştirilmesi ve Çözünme Hızının Artırılması İçin Yapılan Çalışmalar

Suda çözünürlüğü düşük olan ilaçların biyoyararlanımında temel sorun, oral veriliş sonrası bu ilaçların biyolojik sıvılarda çok düşük çözünürlük göstermeleridir. Aseklofenak da pratik olarak suda çözünmeyen bir ilaç olduğu için, biyoyararlanımını ve terapötik etkinliğini artırmak amacıyla çözünürlüğünün iyileştirilmesi gerekmektedir. Bu durum, farklı yöntemlerle araştırılmıştır.

Çözünürlüğü artırma yaklaşımlarından bazıları, eritme yöntemi ile granülasyon ve yarı katı tekniklerin kullanılmasıdır. Yadav ve arkadaşları¹⁹ polietilen glikol 400, hidroksipropil metil selüloz, farklı seyrelticiler ve dağıtıcılar kullanarak bu yöntemlerle aseklofenak granülleri hazırlamışlardır. Her iki yöntemle de hazırlanan aseklofenak granüllerinin çözünürlüğünde, dağılmasında, ıslanabilirliğinde ve akış özelliklerinde gelişme olduğu gözlenmiştir.

Katı dispersiyon hazırlama, çözünme hızının artırılması için kullanılan yöntemlerden biridir. Bazı araştırmacılar bu tekniği aseklofenağın çözünürlüğü ve çözünme hızının artırılması için kullanmışlardır^{109,135-137}. Üre, mannitol, laktoz, polietilen glikol, Plasdone® S630, polivinil piroidon, jelatin hidrolizatları, β-siklodekstrin, sodyum lauril sülfat, Avicel® 200 gibi hidrofilik taşıyıcılar kullanılarak

aseklofenağın katı dispersiyonları hazırlanmıştır. Aseklofenağın tüm bu taşıyıcılarla hazırlanan katı dispersiyonlarının farklı ortamlardaki çözünme hızının, saf ilaçla kıyaslandığında belirgin olarak arttığı görülmüştür.

Lee ve arkadaşları¹³⁸ püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlanan aseklofenak tozunun yüksek çözünme ve biyoyararlanım gösterdiğini belirtmişlerdir. Püskürterek kurutma yöntemi için kullanılan hidrofilik çözeltiler aseton, etanol, su, polivinil pirolidon ve Tween® 80 ile hazırlanmıştır. Araştırmacılar, elde edilen tozun pellet, granül, tablet veya kapsülle formüle edilebileceğini söylemişlerdir. Oral uygulandığında, 70 mg aseklofenak içeren kapsülle formüle edilen sistemin biyoyararlanımı, 100 mg aseklofenak içeren konvansiyonel tablete kıyasla 2-4 kat artmıştır.

Tran ve arkadaşları¹⁰⁸ aseklofenağın salımı için Gelucire® 44/14 bazlı katı dispersiyonda pH'yı değiştiricilerin (Na₂CO₃) ve Poloxamer® 407'nin çözünmeyi değiştirme mekanizmalarını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda alkali maddelerin Poloxamer® 407 ile kombine edilmesiyle aseklofenak salımında iyileşme olduğu saptanmıştır.

Aseklofenak kristallerinin hazırlanması çözünmenin artırılması için kullanılan diğer bir yöntemdir. Sodyum sitratın çöktürme ajanı olarak kullanılmasıyla aseklofenak kristallerinin çöktürülmesinde, taşıyıcı olarak kitozan kullanılmış ve solvan değişim yöntemi uygulanmıştır²⁰. Hazırlanan aseklofenak-kitozan kristalleri yüksek çözünürlük ve çözünme hızı göstermişlerdir. Farelerde ve sıçanlarda saf ilaca kıyasla yüksek biyoyararlanım elde edilmiştir.

Hidrotroplar da sulu çözeltilerde aseklofenak çözünürlüğünü artırmak için denenmişlerdir. Aseklofenağın sulu enjeksiyon formülasyonunun geliştirilmesi için hidrotropik çözünürleştirme işlemi Maheshwari ve arkadaşları¹⁰⁷ tarafından üre, sodyum sitrat ve bunların

karışımları kullanılarak yapılmıştır. Distile sudaki çözeltisine kıyasla, aseklofenağın çözünürlüğündeki artış %30'luk sodyum sitrat çözeltisinde 5 kat, %30'luk üre çözeltisinde ise 25 kat fazla bulunmuştur. (%20 üre)+(%10 sodyum sitrat) karışımındaki hidrotropik çözeltide ise aseklofenak çözünürlüğü 250 kat fazla bulunmuştur.

Chaudhary¹⁰¹ propilen glikol, polietilen glikol ve opsiyonel olarak etanol içeren gruptan oluşan, sulu olmayan çözücü bileşenlerle aseklofenağın sıvı formülasyonunu hazırlamıştır. Geliştirilen susuz sıvı sistemin aseklofenağın parenteral uygulaması için kullanılabilir olduğu belirtilmiştir.

Suda çözünürlüğü düşük olan ilaçlar için yumuşak kapsüller de çözünürlüğün artırılması ve hızlandırılmış emilim sağlamak için hazırlanabilir^{139,140}. Yong ve arkadaşları¹⁴¹ çözücü olarak etanolamin, Tween® 80 ve polietilen glikol 400 içeren yumuşak kapsül dozaj formu hazırlamışlardır. Kapsül içeriği, yumuşak jelatin kapsüle doldurulmuştur ve çözünme deneyi gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen formülasyon, konvansiyonel tabletten belirgin olarak daha yüksek bir çözünme hızı göstermiştir. Konvansiyonel aseklofenak tabletin ve aseklofenak içeren geliştirilen formülasyonun farmakokinetiği insanlarda değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda aseklofenak yüklü yumuşak kapsül istatistiksel olarak konvansiyonel tabletle aynı plazma derişimini vermekle birlikte, daha düşük $t_{maksimum}$ değeri göstermiştir.

Çözünmüş halde aseklofenak içeren kendiliğinden mikroemülsiyon oluşturan sistemi içeren yumuşak kapsül formülasyonu da diğer bir yaklaşımdır¹⁴⁰. Kendiliğinden mikroemülsiyon oluşturan sistemi hazırlamak için polietilen glikol 400, polietoksilen hidrojene hint yağı, dimetil izosorbid ve orta zincirli yağ asidi kullanılmıştır. Çalışmanın

sonucunda yumuşak kapsül formülasyonunun ilaç çözünürlüğünü konvansiyonel tablete göre belirgin biçimde yükselttiği gösterilmiştir.

Katı ilaç şekillerinde süper dağıtıcıların kullanılması yüzey alanını artırdığı için aseklofenağın konvansiyonel tabletten çözünme hızı artabilir. Setty ve arkadaşları¹³¹ süper dağıtıcılar kullanılarak doğrudan basım yöntemiyle hızlı dağılan tablet hazırlamıştır. Kroskarmelloz sodyum, sodyum nişasta glikolat ve krosprovidon hızlı dağıtıcı ajan olarak kullanılmıştır. Bu tabletlerin geliştirilmesinde, uygun hale getirilmesi gereken en önemli parametre dağılma süresidir. Çalışmada, tüm tabletler 57.5 saniyeden daha kısa bir sürede dağılmıştır. Bir tabletin çözünme işleminin ıslanmaya ve tabletin dağılmasına dayalı olması sebebiyle, hızlı dağılan tabletlerin değerlendirilmesi için ıslanma zamanının ölçülmesi de diğer bir test olarak kullanılmıştır. Tabletlerin ıslanma süreleri şu şekilde sıralanabilir; krosprovidon $\leq$ kroskarmelloz sodyum $\leq$ sodyum nişasta glikolatı. Çalışma sonucunda hızlı dağılan tabletlerin, süper dağıtıcıların herhangi biri ile hazırlanabileceği belirtilmektedir.

Garala ve arkadaşları¹⁴² da hızlı dağılan aseklofenak tableti üzerinde çalışmışlardır. Farklı derişimlerde sodyum nişasta glikolatı, kroskarmelloz sodyum ve prejelatinize nişasta kullanılmıştır. Aseklofenağın hızlı dağılan tabletleri yaş granülasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. Tüm formülasyonların dağılma süresi 89 saniyeden kısadır. Tabletlerden aseklofenak salımının 10 dakika içinde %99.5 olduğu bildirilmiştir.

Diğer bir çalışmada aseton:diklorometan ve su bileşenlerinden oluşan üçlü çözücü sistemi kullanarak küresel kristalizasyon tekniği ile aseklofenak aglomeratları hazırlanmıştır¹⁰⁵. Bu çalışmada amaç aseklofenağın toz özelliklerini iyileştirmek, çözünürlüğünü, çözünme hızını ve biyoyararlanımını artırmaktır. Hidrofilik

polimer olarak hidroksipropil metil selüloz kullanılmıştır. Saf ilaç kristallerine kıyasla, optimize aglomeratlar daha iyi mikromeritik özellik göstermişler ve daha iyi çözünme profili sergilemişlerdir. Aglomeratlar doğrudan basım yöntemi ile tablet olarak basılmıştır. Çözünürlük çalışmalarının sonucu olarak küresel aglomeratların saf ilaca kıyasla çözünürlüğünün arttığı gözlenmiştir. Aseklöfenağın hazırlanan tabletlerden çözünme hızı, konvansiyonel tablete göre daha iyi bulunmuştur. İnsanlarda yapılan in vivo çalışmaların sonucu olarak, konvansiyonel tablete kıyasla farmakokinetik parametrelerin daha iyi olduğu gözlenmiştir.

2.8.3.2. Oral Kontrollü Salım Sistemleri İçin Yapılan Çalışmalar

Aseklöfenağın kısa yarı ömrü nedeniyle, kronik ağrıda analjezik etki seviyesinin en uygun düzeyde tutulması için 12 saatte bir oral dozlama gereklidir. Oral uygulamanın sıklığını azaltmak ve hasta uyuncunu artırmak için günde bir defa verilen, uzatılmış salım dozaj şekilleri dikkat çekicidir. Kontrollü salım dozaj şekilleri sürekli bir salım sağlar ve dozlama sıklığını azaltır. Bu dozaj şekilleri ilacın plazma derişimindeki dalgalanmayı azaltır. Konvansiyonel formülasyonlarla kıyaslandıklarında, kontrollü salım formülasyonlarında yan etkilerde de hafif bir azalma görülür.

Çoklu dozaj şekilleri, kontrollü salım sağlamak için kullanılan önemli şekillerden biridir. Mikropartikül^{96,143}, mikroküre^{125,144,146} veya pellet⁹⁵ gibi çoklu dozaj şekilleri oral ilaç taşıyıcı sistem olarak önem kazanmıştır. Çünkü tekli dozaj şekilleri ile kıyaslandıklarında aseklöfenak için homojen dağılım ve mide-bağırsak kanalında uygun bir emilim gösterirler. Bu nedenle çoklu dozaj şekilleri ile birçok çalışma yapılmıştır. Bu sistemlerin hazırlanması için farklı yöntemler kullanılmıştır.

Laksmana ve arkadaşları¹²⁵ ile Chandiran ve arkadaşları¹⁴⁴ reçine ve polilaktik asit kullanılarak solvan uçurma yöntemi ile aseklöfenak

yüklü mikroküreler hazırlamışlardır. Aseklofenak mikrokürelerinden salım hızı kontrol altına alınmış ve uzatılmıştır. Radhika ve arkadaşları¹⁴⁵ da selüloz asetat ftalat ve hidroksipropil metil selüloz gibi polimerler kullanarak aynı teknikle aseklofenak mikroküreleri hazırlamışlardır ve geliştirilen formülasyon gecikmiş salım göstermiştir. Diğer bir çalışmada karbopol, kitozan ve polikarbofil kullanılarak püskürterek kurutma tekniği ile aseklofenak yüklü mikroküreler hazırlanmıştır¹⁴⁶. Hazırlanan aseklofenak yüklü mikroküreler uzatılmış salım göstermiştir.

Shavi ve arkadaşları¹⁸ ekstrüzyon (püskürterek çıkarma/küreselleştirme) tekniği kullanılarak aseklofenak içeren enterik kaplı pellet geliştirmişlerdir. İlk olarak laktoz, Avicel® pH 101 ve polivinil pirolidon K30 kullanılarak çekirdek pelletler hazırlanmıştır. Daha sonra hazırlanan bu pelletler polimetil akrilat kopolimeri ile kaplanmıştır. Enterik kaplı pelletler, konvansiyonel tabletle kıyaslanmıştır. Pelletlerin konvansiyonel tablete göre midede salınmayı önlediği ve aseklofenak için ideal bir sistem oldukları belirtilmiştir.

Sürekli kan değişimi sağlayabilmek için oral uygulamaya alternatif olarak rektal uygulama da düşünülmüştür. Baria ve arkadaşları¹⁴⁷ tarafından aseklofenak mikroküreleri içeren, sürekli salım yapan supozituarlar hazırlanmıştır. İlacın salımı in vitro çözünme hızı testi ile değerlendirilmiş ve elde edilen veriler konvansiyonel supozituarın verileri ile kıyaslanmıştır. Çalışmada aseklofenak mikroküreleri, etil selüloz kullanılarak çözücü uçurma yöntemi ile hazırlanmıştır. Supozituar sıvağı olarak polietilen glikol 4000, polietilen glikol 6000 ve stearik asit kullanılmıştır. Partikül büyüklüğü, ilacı tutma kapasitesi ve in vitro aseklofenak salımının ilaç:polimer oranından ve karıştırma hızından etkilendiği görülmüştür. Aseklofenak mikroküreleri içeren supozituarların in vitro olarak 8 saat süresince sürekli etkiye sahip oldukları belirtilmiştir.

2.8.3.3. Topikal Sistemler İçin Yapılan Çalışmalar

Topikal uygulama, birçok terapötik ajanın lokal etki sağlaması için kullanılan önemli bir yoldur. Bu yol oral alım sonrasında gelen yan etkilerden kaçınmak ve ilacı doğrudan istenen bölgeye uygulamak gibi avantajlar sunar. Bu nedenle bazı durumlarda topikal dozaj şekilleri oral yola alternatif olarak veya oral yolla birlikte kullanılır. Birçok araştırmacı grup aseklofenak içeren jel, organojel, transdermal yama, veziküler sistem, mikroemülsiyon ve nanoemülsiyon gibi topikal formülasyonlar hazırlamışlardır.

Jeller basit ve temel bir topikal dozaj şeklidir. Dua ve arkadaşları¹⁴⁸ karbopol, hidroksipropil metil selüloz, polietilen glikol 4000 ve polietilen glikol 400 ile jel sistemleri hazırlamışlardır. Hazırlanan jeller arasında en yüksek aseklofenak salımı gösteren; hidroalkolik karbopol jel formülasyonudur. Bu jel formülasyonu için in vitro deri geçişinin de daha iyi olduğu bildirilmiştir. Karbopol jel formülasyonu, karragen ile tetiklenmiş termal hiperaleji ve pençe ödemi yöntemi ile akut deri iritasyonu, antienflamatuvar ve analjezik etkileri açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular sonucunda hidroalkolik karbopol jel formülasyonunun enflamasyonla ilişkili olan hiperalejiyi inhibe etmede daha etkili olduğu gözlenmiştir. Diğer bir çalışmada benzer olarak karbopol, hidroksi propil metil selüloz ve sodyum karboksi metil selüloza ek olarak sodyum aljinat kullanılarak aseklofenağın jel formülasyonu hazırlanmıştır¹⁴⁹. Tüm jel formülasyonları arasından, karbopol ile hazırlanan jel formülasyonunun diğer jel formülasyonlarından daha iyi ilaç salımı gösterdiği belirtilmiştir.

Klasik jel sistemlerinin yanısıra aseklofenak taşıyıcı sistem olarak organojeller de kullanılmıştır. Organojellerin in vitro ve in vivo etkileri, polimer olarak karbopol kullanılması ile hazırlanan hidrojelle kıyaslanmıştır¹⁵⁰. Aseklofenağın organojel formülasyonu lesitin ve etil oleat kullanılarak hazırlanmıştır. İn vitro deri geçiş çalışmaları sonucunda lesitin

organojelinin deriden geçişinin hidrojelden daha iyi olduğu belirtilmiştir. Ayrıca histopatolojik çalışma da yapılmış ve hazırlanan organojelin deriye herhangi bir zarar vermediği gösterilmiştir.

Transdermal yamalar aseklofenağın lokal etki göstermesi için kullanılmıřtır¹¹¹. Formülasyonda polimer olarak Eudragit L100, L100-55, S100, propilen glikol ve polietilen glikol 400 gibi farklı ajanlar kullanılarak in vitro ilaç salımı incelenmiştir. İncelenen yamalar arasındaki in vitro salım sonuçlarına gore Eudragit L100 ile hazırlanan yamanın bir saat sonra gösterdiği ilaç salımının en yüksek olduğu gözlenmiştir. Yama uygulanmış sıçanlarda gözlenen antienflamatuvar aktivite incelendiğinde karragen ile ödem oluşturulan pençede, ilaç uygulanmayan kontrol grubuna kıyasla belirgin derecede inhibisyon gözlenmiştir.

Lipozom, etozom ve niozom gibi veziküler taşıyıcı sistemler topikal uygulama için uygulanan sistemlerdir. Farklı araştırıcı gruplar bu dozaj şekillerini aseklofenağın topikal kullanımı için değerlendirmişlerdir. Nasr ve arkadařları¹⁰⁶ ince film hidrasyon yöntemi ile aseklofenak niozomu ve lipozomu hazırlamışlardır. Aseklofenak lipozomu yumurta fosfatidilkolini ve kolesterol kullanılarak hazırlanmıştır. Niozom formülasyonu için kolesterol, Span[®] 40 veya Span[®] 60 kullanılmıştır. Niozomların lipozomlardan daha dayanıklı oldukları tespit edilmiştir. Her iki veziküler sistem de ticari krem preparatıyla kıyaslandığında, belirgin derecede uzatılmış antienflamatuvar etki oluşturdukları gözlenmiştir. Ayrıca niozomların lipozomlardan daha iyi antienflamatuvar aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Etozomlar, lipozomların farklı bir şeklidir. Lipozomlara zıt olarak bu sistemler ilacın belirli derişiminin derinin alt tabakalarına geçişine izin verir. Lewis ve Dave¹⁵¹ lesitin, etanol ve propilen glikol kullanarak aseklofenak etozomları geliştirmişlerdir. Hazırlanan etozomal sistem,

karbopol jel ile karıştırılarak etozomal jel sistemler elde edilmiştir. Etozomal jel sistemden aseklofenağın in vitro deri geçişini değerlendirmek için fare derisi kullanılmıştır. İlaç geçişi, ticari jel ile kıyaslanmıştır ve etozomların akı özelliklerinin daha iyi olduğu ve etozomlarla uzatılmış salım sağlandığı gösterilmiştir.

Niozomların değişik fiziksel dayanıksızlıklarına bağlı olarak birçok problemleri vardır. Bu problemlerin çözülmesi amacıyla proniozomlar geliştirilmiştir. Bu sistemler, YEM ile kaplı suda çözünen partiküller şeklinde veya toz şeklinde bulunabilirler. Span[®] 60 ve kolesterol kullanılarak aseklofenak içeren proniozomlar geliştirilmiştir¹⁵². Geliştirilen proniozomların yüzeyinin pürüzlü, düzensiz ve kalın olduğu, proniozomlar buzdolabı ve oda sıcaklığında saklandığında içeriğindeki ilaç miktarında anlamlı bir değişim olmadığı gözlenmiştir.

Mikroemülsiyonlar da aseklofenak formülasyonunda kullanılan sistemlerdir. Lee ve arkadaşları¹⁵³ aseklofenağın deriden geçişini artırmak için Labrafil[®] M1944 CS (yağ), Cremophor[®] ELP (YEM) ve etanol (yardımcı çözücü) kullanarak yağ/su tipi mikroemülsiyon sistemi geliştirmişlerdir. Aseklofenağın in vitro transdermal geçiş çalışması için sıçan derisi kullanılmıştır. Çalışma sonucunda aseklofenak mikroemülsiyon sistemi ile gerçekleşen geçişin, taşıyıcısı etanol olan sisteme göre 5-6 kat fazla olduğu bildirilmiştir.

Nanoemülsiyonlar da aseklofenağın topikal ilaç taşıyıcı sistemlerinin geliştirilmesinde kullanılmışlardır. Shakeel ve arkadaşları^{154,155} yağ fazı olarak Labrafil[®] ve Triacetin[®], YEM olarak Tween[®] 80 ve YYEM olarak Transcutol[®] P kullanarak, kendiliğinden emülsiyon oluşturma yöntemiyle aseklofenak nanoemülsiyonu hazırlamışlardır. Nanoemülsiyonların karakteristik özelliklerinin yanı sıra, sıçanların abdominal derisinden aseklofenağın dermal geçişini de

incelemişler ve sonuçları aseklofenağın karbopol jel formülasyonu ile kıyaslamışlardır. İn vivo çalışmalar için seçilen formülasyonların geçiş parametrelerinde belirgin şekilde artış gözlenmiştir. Sıçanlarda karragen ile tetiklenmiş pençe ödemi deneyinde aseklofenak nanoemülsiyonun aseklofenak jel ile kıyaslandığında, pençe ödemindeki inhibisyon değerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Bu formülasyonda deri iritasyonu da gözlenmemiştir.

Sonuç olarak diğer nonsteroidal antienflamatuvar ilaç tedavileri ile kıyaslandığında aseklofenağın oral ve topikal kullanımında hem kronik hem akut enflamasyon, hem de dejeneratif hastalıkların tedavisinde etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bu da enflamasyonlu hastaların tedavisinde aseklofenağın tercih edilen bir ilaç olmasını sağlamıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Aseklofenak.....	Biotrend, Almanya
Disodyum fosfat dihidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).....	Merck, Almanya
FaSSIF* ve FeSSIF** ortamlarını hazırlamak için kullanılan toz karışım (SIF Tozu).....	Phares, İngiltere
Formaldehit.....	Yimka, Türkiye
Gliserol monolinoleat (Maisine® 35-1).....	Gattefosse, Fransa
Kalsiyum klorür ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).....	Merck, Almanya
Kaprilik asit mono/digliseritleri (Capmul® MCM C8).....	ABITEC, ABD
Karragen (Lambda, Type 4, C-3889).....	Sigma, ABD
Orta zincirli trigliserit (Labrafac™ Lipophile WL 1349)....	Gattefosse, Fransa
Pankreatin (Katalog no:P1750).....	Sigma, ABD
PEG-40 hidrojene hint yağı (Cremophor® RH 40).....	BASF, Almanya
Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4).....	Merck, Almanya
Polietoksile kaprilik/kaprik gliserit (Labrasol®).....	Gattefosse, Fransa
Polioksietilen oleil eter (Brij® O10).....	Sigma, ABD
Potasyum klorür (KCl).....	Merck, Almanya
Safra Tuzu (Katalog no:B8756).....	Fluka, Yeni Zelanda
Serum fizyolojik (%0.9 NaCl).....	Haver, Türkiye
Sıçan (Wistar, Albino, erkek, 200-300 g arası).....	GÜDAM (Gazi Üniv. Lab. Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araş. Merkezi)
Sitrik asit monohidrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$).....	Merck, Almanya
Sodyum asetat trihidrat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$).....	Merck, Almanya
Sodyum dihidrojen fosfat (NaH_2PO_4).....	Emir Kimya, Ankara
Sodyum hidroksit (NaOH).....	Merck, Almanya
Sodyum hipofosfit ($\text{NaH}_2\text{PO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$).....	Merck, Almanya
Sodyum klorür (NaCl).....	Merck, Almanya

Yumurta Lesitini (Lipoid® E80).....Lipoid GmbH, Almanya
Ticari aseklofenak tableti (Biofenac®).....Almirall, İspanya
Trizma maleat (Katalog no:T3128).....Sigma, ABD

NOT: Tezin bundan sonraki kısmında formülasyonda kullanılan maddelerin isimlerinin yerine, daha kısa olmaları nedeniyle ticari isimleri kullanılmıştır.

* Açlık durumunu taklit eden bağırsak sıvısı - **Fasted State Simulated Intestinal Fluid**

** Tokluk durumunu taklit eden bağırsak sıvısı - **Fed State Simulated Intestinal Fluid**

3.1.2. Kullanılan Alet ve Malzemeler

Bidistile su cihazı.....	Barnstead Mes UP-1104, Almanya
Cerrahi iplik.....	Prodek DW 9422RS, İngiltere
Çözünme hızı aleti.....	Varian VK 7000, ABD
Dağılma testi aleti.....	DIST 3, Pharma Test, Almanya
Damlacık büyüklüğü ve zeta potansiyel ölçüm aleti.....	ZetaSizer Nano ZS, Malvern Inst., İngiltere
Diyaliz torbası klipsleri (Spectra Por Closures)....	Spectrum Lab., Inc., ABD
Diyaliz torbası (Spectra/Por Dialysis Membrane MWCO: 1000 Dalton).....	Spectrum Lab., Inc., ABD
DSC cihazı.....	PerkinElmer Diamond, ABD
Etüv.....	Heraeus Hanau KT 500, Almanya
Friabilitör.....	Pharma Test PTF E, Almanya
FT-IR cihazı.....	PerkinElmer, Norwalk, ABD
Hassas terazi.....	Shimadzu AW 320, Kolombiya
Isıtıcı karıştırıcı.....	Snijders-Gemini, Hollanda
İklim dolabı (25°C).....	Sanyo Versatile Environmental Test Chamber, ABD
Manyetik karıştırıcı.....	1)Kottermann, Almanya, 2)Labinco 521, Hollanda
Mikrometre (Kumpas).....	Elit, Türkiye
pH-ölçer.....	Jenco 6173 pH, Çin
Pletismometre.....	Ugo Basile 7140, İtalya
Polarize ataşmanlı mikroskop.....	LEICA DMEP, Almanya
Rotasyonel viskozimetre.....	Brookfield DV III + Rheometer, ABD
Santrifüj.....	Mixtasel P Selecta, İspanya
Spektrofotometre kuvvetleri.....	Hellma QS 100, Almanya
UV spektrofotometresi.....	Shimadzu UV 1700, Kolombiya
Tek kullanımlık membran filtre (0.45 µm).....	Sartorius, Almanya
Termostatlı ısıtıcı	Julabo, MP Labotechnik GmbH, Almanya
Ultrasonik banyo.....	Bransonic 221, Almanya
Turbidimetre (Bulanıklık Ölçüm Aleti).....	Velp Turbidimeter, İtalya

Tablet sertliği ölçüm aleti.....CGS HighSpeed Hardness Tester HDT
1V-3, Almanya

3.2. Yöntem

3.2.1. Aseklöfenak İle Yapılan İn Vitro Çalışmalar

Bu çalışmada su, etanol, pH 1.2 çözeltisi, pH 4.5 ve pH 6.8 tamponları, FaSSIF ve FeSSIF çözeltileri kullanılmıştır.

3.2.1.1. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

Hazırlanarak kullanılan tüm çözeltilerin içerikleri Tablo 8-12'de verilmiştir. FaSSIF ve FeSSIF çözeltileri SIF tozunun alındığı firmanın verdiği talimatlara göre hazırlanmıştır¹⁵⁶. Bu talimatlara göre FaSSIF çözeltisi hazırlandıktan sonra iki saat oda sıcaklığında bekletilmiş, hafif bulanık hale geldiğinde ise kullanılmıştır. Hazırlanan çözeltinin tümü 48 saat içinde tüketilmiştir. Oda sıcaklığında, ışıktan uzakta muhafaza edilmiştir. FeSSIF çözeltisi ise hazırlandıktan sonra bekletilmesine gerek olmadan 48 saat içinde kullanılmıştır. Çözelti oda sıcaklığında, ışıktan uzakta muhafaza edilmiştir. Çözeltinin görünüşü berraktır.

Diğer tamponlar ise belirtilen miktardaki maddelerin tartılmasından sonra manyetik karıştırıcıda çözelti oluşana kadar karıştırılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin pH değerleri, pH ölçer kullanılarak kontrol edilmiştir.

Çözücü olarak farklı ortamların kullanılmasının nedeni oral olarak alınacak olan aseklöfenak için mide ve bağırsak ortamlarının taklit edilmek istenmesidir.

Tablo 8: pH 1.2 (0.1 N HCl) çözelti formülü

HCl (%37).....	9.86 mL
Distile su.....	ym 1000 mL

Tablo 9: pH 4.5 tampon formülü¹⁵⁷

CH ₃ COONa.3H ₂ O.....	2.99 g
2N CH ₃ COOH.....	14 mL
Distile su.....	ym 1000 mL

Tablo 10: pH 6.8 tampon formülü¹⁵⁷

0.2M KH ₂ PO ₄	500 mL
0.2M NaOH.....	224 mL
Distile su	ym 2000 mL

Tablo 11: FaSSIF için fosfat tamponu ve FaSSIF çözeltisi

<u>FaSSIF için fosfat tamponu</u>	
NaOH.....	2.1 g
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O.....	19.77 g
NaCl.....	30.93 g
Bidistile su.....	ym 5 L

<u>FaSSIF çözeltisi (pH 6.5)</u>	
SIF tozu.....	2.24 g
FaSSIF için fosfat tamponu...ym	1000 mL

Tablo 12: FeSSIF için asetat tamponu ve FeSSIF çözeltisi

<u>FeSSIF için asetat tamponu</u>	
NaOH pelleti.....	20.2 g
Glasiyel asetik asit...	43.25 g
NaCl.....	59.37 g
Bidistile su.....	ym 5 L

<u>FeSSIF Çözeltisi (pH 5.0)</u>	
SIF tozu.....	11.2 g
FeSSIF için asetat tamponu..ym	1000 mL

3.2.1.2. Aseklofenağın, Formülasyonda Kullanılan Bileşenlerin, Formülasyonların ve Formülasyonlarla Oluşturulan Nanoemülsiyonların FT-IR Spektrumu

Aseklofenağın, formülasyonlarda kullanılan her bir yardımcı maddenin (yağ, YEM, YYEM), aseklofenak içeren formülasyonların ve bu formülasyonlarla oluşturulan nanoemülsiyonların FT-IR spektroskopi ölçümleri, sıvı örneklerin 100 µL'si, aseklofenağın ise 100 mg'ı ATR

kristalinin üzerine konularak $650-4000\text{ cm}^{-1}$ ölçüm aralığında gerçekleştirilmiştir. Örneklerin FT-IR spektrumları transmisyon modunda kaydedilmiştir. Aletin spektral çözünürlüğü 4 cm^{-1} 'dir*.

3.2.1.3. Aseklofenağın Farklı Çözünme Ortamlarında UV Spektrumu

Aseklofenağa ait farklı ortamlarda UV spektrumu alınırken 10 mm'lik kuvarz küvet kullanılmıştır. Çalışmada öncelikle aseklofenağın suda, etanolde, pH 1.2; 4.5; 6.8'de, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltiler 200-400 nm dalga boyu arasında taranarak $\lambda_{\text{maksimum}}$ (maksimum dalga boyu) değerleri saptanmıştır.

3.2.1.4. Aseklofenağın Spektrofotometrik Miktar Tayini, Standart Doğrunun Hazırlanması ve Validasyon

Aseklofenağın UV spektrumunun alındığı ortamlarda 2.5 ile 50 $\mu\text{g/mL}$ arasında değişen derişimlerdeki çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin tespit edilen $\lambda_{\text{maksimum}}$ 'daki absorbands değerleri ölçülmüştür. Her bir çalışma üç defa tekrarlanmış ve ortalama değerler hesaplanmıştır. Aseklofenak derişimine karşı absorbands değerleri grafiklenmiş, daha sonra bu verileri tanımlayan standart doğru denklemi hesaplanmıştır.

Bu çalışmada kullanılan analiz yöntemi basit bir yöntem olmasına rağmen, yöntemin devamlı olarak doğru ve güvenilir bir şekilde beklenen sonuçları verdiğinin kanıtlanması gereklidir. Bu nedenle bu çalışmanın valide edilmesi şarttır. Validasyon işlemi ile yöntemin geçerliliği ve güvenilirliği kanıtlanmış olur. Yöntemin geçerliliğinin kanıtlanması için hesaplanacak olan parametreler 'doğrusallık, doğruluk, kesinlik, duyarlılık ve saptama sınırı, özgünlük ve seçicilik, dayanıklılık' tır.

*Ölçümler Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA)'da, Uzm.Ecz. Ziya Bayrak tarafından yapılmıştır.

Bu parametreler, aseklofenağın çözüldüğü su, etanol, pH1.2; 4.5; 6.8, FaSSIF ve FeSSIF ortamları kullanılarak saptanmıştır.

- Doğrusallık (Linearity)

Bu çalışmada yöntemin doğrusallığını göstermek için aseklofenağın farklı çözücülerdeki farklı derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Derişimlere karşı absorbans değerleri grafiklenip, değerlere doğrusal regresyon uygulanmıştır.

Doğrusallık, hazırlanan numunedeki etkin madde derişimi ile elde edilen yanıtın orantılı olduğunun ifadesidir. Bu doğrusallığı göstermek için aseklofenağın üç farklı stoktan yapılan seyreltmelerle 2.5 ile 50 µg/mL arasında bulunan farklı derişimlerdeki çözeltileri hazırlanmış ve absorbans değerleri okunmuştur. Her bir derişim ve bu derişimlere karşılık gelen absorbans değerlerinden hareketle standart doğru denklemi elde edilmiş ve gerekli istatistiksel parametreler hesaplanmıştır.

- Doğruluk (Accuracy) ve Geri Elde (Recovery)

Doğruluk, saptanan madde miktarının numune içindeki gerçek etkin madde miktarına yakınlığıdır. Miktar tayini yönteminin doğruluğu, geri elde etme yüzdesine bağlıdır. Bu değer %95 olasılıkla daha önceden kabul edilen ölçütler arasında kalması beklenir.

Aseklofenağın düşük, orta ve yüksek olmak üzere üç farklı derişimde çözeltileri hazırlanarak absorbansları okunmuştur. Bulunan absorbans değerleri kalibrasyon denkleminde yerine konularak derişimleri hesaplanmış ve '% geri elde' değerleri hesaplanarak istatistiksel değerlendirme yapılmıştır.

- Kesinlik (Precision)

Miktar tayininde kullanılan spektrofotometrik yöntemde, aynı derişimdeki numunenin birbiri ardına yapılan ölçümlerinin birbirine olan yakınlığı yöntemin kesinliğinin, kesinlik ise tekrar edilebilirliğinin ölçüsüdür. Bu çalışmada kesinlik, aseklofenağın düşük, orta ve yüksek olmak üzere üç farklı derişimdeki çözeltilerinin absorbanlarının ölçülmesi ve standart sapma, standart hata ve %bağıl sapma değerlerinin hesaplanması ile kontrol edilmiştir.

- Duyarlılık ve Saptama Sınırı

(Limit of Detection - LOD, Limit of Quantitation - LOQ)

Kullanılan analiz yönteminin güvenilir bir şekilde saptayabildiği en düşük derişimin belirlenmesi, yöntemin duyarlılığının ve saptama sınırının belirlenmesi demektir.

Duyarlılık ve saptama sınırı değerleri aşağıdaki eşitliklerle hesaplanmıştır:

$$\text{Duyarlılık sınırı (LOD)} = (3.3 \times \sigma) / S$$

$$\text{Saptama sınırı (LOQ)} = (10 \times \sigma) / S$$

Eşitlik 1: Duyarlılık ve saptama sınırı değerlerinin hesaplanmasında kullanılan eşitlikler

σ = Kalibrasyon aralığındaki en düşük derişimin standart sapması

S = Kalibrasyon doğrusunun eğimi

- Özgünlük ve Seçicilik (Specificity and Selectivity)

Kullanılan analiz yönteminin sadece analiz edilmesi istenen maddeyi saptaması gerekmektedir. Bu nedenle numune içinde yer alan diğer maddelerin aynı dalga boyunda pik verip vermediğinin kontrolü yapılmalıdır.

Bu amaçla formülasyonlarda kullanılan suda çözünebilen maddelerin (Labrasol[®], Cremophor[®] RH40 ve Brij[®] O10), aseklofenağın analizinin yapıldığı dalga boyunda ($\lambda_{\text{maksimum}}$, 273 nm) UV taraması yapılmıştır. Sulu ortamda çözünmeyen maddeler (Labrafac[™] Lipophile WL1349, Capmul[®] MCM C8 ve Maisine[®] 35-1) için bu çalışmanın yapılmasına gerek yoktur.

- Dayanıklılık (Stability)

Bu çalışma etkin maddenin analizinin yapıldığı farklı çözünme ortamlarında kimyasal olarak dayanıklı olup olmadığının gösterilmesi için yapılır. Özellikle salım deneyleri sırasında etkin maddenin kimyasal dayanıklılığının korunduğunun gösterilmesi, sonuçların güvenilir olduğunun bir göstergesidir.

Etkin maddenin her çözünme ortamında dayanıklılığını incelemek amacıyla, aseklofenağın 37°C sıcaklıkta sudaki, pH 1.2'deki, pH 4.5'teki, pH 6.8'deki, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarındaki dayanıklılığı incelenmiş, 1.; 2.; 4.; 6.; 7. ve 24. saatlerde numune alınarak derişim değerlerinde bir değişiklik olup olmadığı takip edilmiştir.

3.2.1.5. Aseklofenağın Çözünürlüğünün Saptanması

Aseklofenağın su, pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarındaki çözünürlüğünün saptanabilmesi için, aseklofenak bu ortamlarda süspande edilmiştir. Bu süspande karışımlar, vücut sıcaklığının taklit edilmesi açısından 37±0.5°C sıcaklıktaki su banyosunda manyetik karıştırıcı yardımıyla sürekli karıştırılarak bekletilmiştir. Bekleme süresi pH 1.2 için 80 saat; diğer ortamlar için 24 saat olarak alınmıştır. Örnekler pH 1.2 için 4.; 7.; 24.; 29.; 48.; 72. ve 80. saatlerde, diğer ortamlar için ise 0.5.; 1.; 2.; 4.; 6.; 8.; 10. ve 24. saatlerde gözenek çapı 0.45 µm olan membran filtre kullanılarak ortamdan süzülerek alınmış,

alınan numunelerin absorbanları uygun seyreltmeler yapıldıktan sonra bekletmeden spektrofotometrede okunmuştur. Bu absorbanlara karşılık gelen derişimler saptanmış ve çözünürlük değerleri hesaplanmıştır. Deney sırasında enjektör, filtre tutucu ve örnek kapları, çözünürlük tayini yapılan ortam sıcaklığına getirilmeleri amacıyla 37°C sıcaklıktaki etüvde bekletilmiştir.

3.2.1.6. Aseklofenağın Yağ/Su Partisyon Katsayısının Saptanması

Bu çalışmada aseklofenağın, 37°C'de formülasyonlarda yağ fazı olarak kullanılan Labrafac™ Lipophile WL1349 ve Maisine® 35-1 ile su fazı arasındaki partisyon katsayıları saptanmıştır. Bu sıcaklıkta çalışılmasının nedeni nanoemülsiyonun organizma içinde oluşacak olmasıdır.

Bu amaçla 100 mL yağ fazı (Labrafac™ Lipophile WL1349 veya Maisine® 35-1) ve 100 mL su 37°C'de manyetik karıştırıcı ile 24 saat süresince karıştırılmış, böylece fazların birbiri ile doyması sağlanmıştır. Daha sonra ayırma hunisinde fazlar ayrıştırılmıştır. Bu işlem sonucu elde edilen su fazında, aseklofenağın 50 µg/mL derişimindeki çözeltisi hazırlanmıştır. Altı adet balonjojenin her birine daha önce su ile doyurulmuş 10 mL yağ fazı ve 10 mL aseklofenak çözeltisi konulmuş ve manyetik karıştırıcı kullanılarak karıştırılmıştır. Sırası gelen balonjojedeki karışım 1.; 2.; 4.; 6.; 8. ve 24. saatlerde santrifüj tüplerine alınıp, 4000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenerek fazların ayrışması sağlanmıştır. Daha sonra su fazı ayrılarak spektrofotometrede absorbanı okunmuştur. Hesaplanan derişimlerden hareketle partisyon katsayısı hesabı yapılmıştır. Hesap yapılırken kullanılan eşitlik aşağıda verilmiştir (Eşitlik 2). Kör olarak, yağlar ile doyurulmuş olan su kullanılmıştır. Çalışma üç paralel olacak şekilde yürütülmüştür.

$$\log P = \log 10 \frac{\text{yağdaki aseklofenak derişimi}}{\text{sudaki aseklofenak derişimi}}$$

Eşitlik 2: Partisyon katsayısı hesabında kullanılan eşitlik

3.2.2. Formülasyon Çalışmaları

Yapılan bu çalışmada sindirilen ve sindirilmeyen formülasyonlarda kullanılan bileşenler ve özellikleri Tablo 13'te verilmiştir. Tabloda ayrıca YEM özelliği gösteren maddelerin (Labrasol®, Cremophor® RH40 ve Brij® O10) kritik misel derişimleri (CMC) de gösterilmiştir. YEM'lerden farklı olarak YYEM'ler, miseller gibi kendiliğinden birleşen yapılar üretmedikleri için, YYEM'lerin ve yağların CMC değerine sahip olmadıkları bilinmektedir.

Tablo 13: Formülasyonlarda kullanılan maddeler ve özellikleri

Madde	Adı	HLB	HLB için Kaynak No	Oda Sıcaklığındaki Fiziksel Durumu	CMC	CMC için Kaynak No	
Yağ	Labrafac™ Lipophile WL1349	2	82	Sıvı	-		Sindirilen bileşenler
YEM (Yüzey Etkin Madde)	Labrasol®	14	158	Sıvı	%0.01	83	
YYEM (Yardımcı Yüzey Etkin Madde)	Capmul® MCM C8	5.5	159	Yarı katı ve bulanık. 30°C' ye ısıtıldığında sıvı ve berrak	-		
Yağ	Maisine® 35-1	4	160	Sıvı ve bulanık. 30°C' ye ısıtıldığında sıvı ve berrak	-		Sindirilmeyen bileşenler
YEM	Cremophor® RH40	15	158	Yarı katı ve bulanık. 30°C' ye ısıtıldığında sıvı ve berrak	%0.039 a/h	162	
YYEM	Brij® O10	12.5	161	Yarı katı ve bulanık. 30°C' ye ısıtıldığında sıvı ve berrak	0.22 mM %0.016 a/h	46, 162	

Bu çalışmada ‘formülasyon’ olarak ifade edilen sistem, su ile temas ettiğinde kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan ilaç taşıyıcı sistemdir. Su içermeyen bu sistem ‘yağ+YEM+YYEM’ bileşenlerinin bir karışımıdır. Çalışma boyunca kullanılan ‘nanoemülsiyon’ ifadesi de, bu sistemin sulu çözelti ile karşılaşması sonucu anında oluşan nanoemülsiyon sistemini belirtmektedir.

3.2.2.1. Lipoliz Çalışması

Lipoliz çalışmaları iki grup üzerinde gerçekleştirilmiştir:

- Formülasyonlarda kullanılan bileşenler için yapılan çalışma
- Geliştirilen formülasyonlar için yapılan çalışma

Her iki grup çalışmanın amacı, yapıların in vivo ortamda enzimatik parçalanmaya uğrayıp uğramadığını anlamak ve in vivo koşullarda oluşan nanoemülsiyonun bütünlüğünü koruyup korumadığına yorum getirebilmektir. Bu amaçla in vitro koşullarda yapıların pankreatik lipaz tarafından sindirime uğrayıp uğramadıkları, Fatouros ve arkadaşları¹⁶³ tarafından belirtilen in vitro lipoliz modeline göre incelenmiştir. Çalışma $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta yapay sindirim ortamı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan yapay sindirim ortamının içeriği Tablo 13’te verilmiştir.

Tablo 14: Yapay sindirim ortamının bileşimi

Rx
NaCl.....2.62 g (150 mM)
Safra tuzu.....0.42 g (5 mM)
Lesitin.....0.12 g (1 mM)
CaCl ₂ .2H ₂ O.....0.22 g (5 mM)
Trizma maleat.....0.142 g (2 mM)
Su.....ym 300 mL

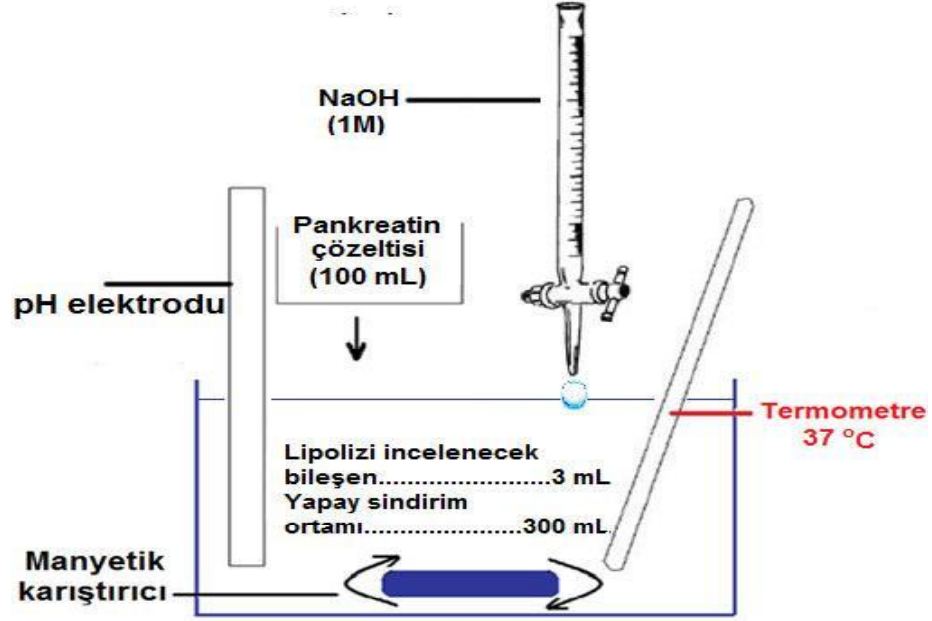
Yapay sindirim ortamına kalsiyum klorür (CaCl_2) konulmasının nedeni, deney süresince lipoliz hızını sabit tutmaktır. Kalsiyum klorür, lipoliz sonucu oluşan yağ asitlerinin suda çözünmeyen sabun molekülüne (yağ asidinin kalsiyum tuzuna) dönüşümünü sağlamaktadır. Kalsiyum klorürün sabuna dönüştüremediği yağ asitleri deney süresince sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi ile titre edilmiştir. Kalsiyum klorürün yanı sıra yapay sindirim ortamına safra tuzu ve lesitin (fosfolipit içeriği %80) konulmasının nedeni ise, mide-bağırsak kanalındaki açlık koşullarını taklit etmek ve ince bağırsaktaki safra karışımına benzer bir karışım oluşturabilmektir.

Yapay sindirim ortamı hazırlanırken ilgili kimyasal maddeler $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ sıcaklıkta, lesitin tümüyle çözünene kadar (yaklaşık bir saat) karıştırılmış, daha sonra ortamın pH'sı 1M NaOH ile 6.5'e getirilmiştir. Sindirim ortamına, lipolizi incelenecek olan madde (yağ, YEM, YYEM veya aseklofenak içermeyen formülasyon) eklenmiştir. Bu karışımın pH değeri yeniden kontrol edilmiş ve eğer değişim varsa, 1M NaOH ile pH tekrar 6.5'e getirilmiştir. Ortamın pH değerinin 6.5'e getirilmesinin nedeni; ince bağırsak pH'sının 6.2-8.1 arası olması ve pankreatik lipazın pH 6.5-9 arasında en yüksek aktivitede olduğunun belirtilmesidir¹⁶⁴⁻¹⁶⁶.

Bu çalışmada kullanılacak olan enzim çözeltisini hazırlamak için 10 g pankreatin 110 mL suda dağıtılmıştır. Sistem 37°C sıcaklıkta 15 dakika karıştırılmış ve 4000 rpm'de 7 dakika santrifüjlenmiştir. Berrak kısmın 100 mL'si yapay sindirim ortamına eklenmiştir. Denatürasyondan sakınmak için enzim çözeltisi deneyden hemen önce hazırlanıp kullanılmıştır.

Deney süresi boyunca, açığa çıkan yağ asitleri ortam pH'sını düşürmektedir. Sistemin pH'sını 6.5'te tutmak için 15.; 30.; 60.; 90. ve 120. dakikalarda harcanan 1M NaOH çözeltisi miktarı kaydedilmiştir. Deneye,

NaOH tüketimine gerek olmayıncaya kadar devam edildi. Harcanan NaOH miktarından hareketle, incelenen örneğin lipoliz olup olmadığına karar verilmiştir. Lipoliz çalışması şematik olarak Şekil 5'te gösterilmiştir. Lipoliz çalışması için oluşturulan düzenek ise Görüntü 1'de verilmiştir.



Şekil 5: Lipoliz çalışmasının şematik gösterimi



Görüntü 1: Lipoliz çalışması için oluşturulan düzenek

3.2.2.2. Sindirilen ve Sindirilmeyen Bileşenlerle Formülasyon Geliştirme Çalışması

Formülasyon geliştirme çalışmaları sırasında hedef, sindirilen ve sindirilmeyen yardımcı maddeleri kullanarak sindirilen ve sindirilmeyen özellikte olan iki farklı formülasyon hazırlamaktır. İlk aşamada sindirilebilir olduğu bilinen bileşenlerin kullanılmasıyla, mide-bağırsak kanalında sindirilme olasılığı yüksek olan bir formülasyon hazırlanmıştır. İkinci aşamada ise sindirilmediği bilinen bileşenlerin kullanılmasıyla, mide-bağırsak kanalında büyük olasılıkla sindirilemeyecek olan bir formülasyon hazırlanmıştır. Oda sıcaklığında katı veya yarı katı olan maddeler, kullanılmadan önce 30°C'ye ısıtılmıştır. Literatür bilgisinde maddeler için uygulanan ısıtma işlemlerinin 40°C ve 50°C olduğu verilmiştir^{67,167-169}.

Formülasyonların hazırlanması için kullanılan bileşenler Tablo 13'te verilmiştir.

Üçgen Faz Diyagramlarının Çıkarılması

Bu çalışmada üzerinde çalışılan sistem, yağ+YEM+YYEM karışımından oluşan, sulu ortamla temas ettiğinde kendiliğinden nanoemülsiyona dönüşen bir sistemdir. Bu özellikteki bir formülasyonun sistemdeki yağ oranının %20'nin altında kullanılmasıyla hazırlanabileceği bildirilmiştir²⁷. Geriye kalan en az %80'lik kısım temel olarak YEM ve YYEM'den oluşmaktadır.

Bu çalışmada da bu oranlar temel alınarak gerekli üçgen faz diyagramlarının çıkarılmasında aşağıdaki aşamalar takip edilmiştir:

1. Adım: Formülasyonda kullanılacak yağ, YEM ve YYEM'nin birbiriyle karışabilme ve berrak bir karışım (çözelti) oluşturma durumunun belirlenmesinde üçgen faz diyagramından yararlanılmıştır. Bunun için

farklı makaleler incelenmiş, kullanılan YEM ve YYEM miktarları ve birbirlerine oranları belirlenmiştir^{11,39,41,48,55,170-172}.

YEM+YYEM karışımları ilgili yağ fazı ile titre edilerek YEM, YYEM ve yağdan oluşan üçgen faz diyagramları oluşturulmuş ve berrak alan oluşturan bölge belirlenmiştir (Tablo 15). Tabloda belirtilen %yağ değerleri, toplam %(YEM+YYEM) oranında çözünebilen en yüksek yağ yüzdesini vermektedir.

Tablo 15: Sindirilen bileşenlerin (yağ, YEM, YYEM) birbirleriyle tektür karışım oluşturduğu alanın belirlenmesi için kullanılan üçgen faz diyagram verileri

%Yağ (Labrafac Lipophile WL 1349®)	%YEM (Labrasol®)	%YYEM (Capmul MCM C8®)
34.8	21.7	43.5
35.5	32.2	32.3
34.8	43.5	21.7
46.7	40	13.3
37.5	50	12.5
40	50	10

Sindirilmeyen maddelerin birbirleriyle karışabilme durumunun belirlenmesi için yapılan çalışmada da aynı yöntem izlenmiştir. Sindirilmeyen yağ, YEM ve YYEM'nin her oranda birbirleriyle karışabilir olduğu bulunmuştur.

2. Adım: Sindirilen yağ, YEM ve YYEM'den oluşan faz diyagramlarında berrak alanın belirlenmesinin ardından, bu alan içindeki üçlü karışımlara su eklendiğinde nanoemülsiyonun oluşabildiğini gösteren çalışmanın yapılması gereklidir. Bu amaçla, ilgili makaleler incelenerek YEM:YYEM

oranının 1:1; 2:1; 4:1 ve 8:1 olarak kullanıldığı karışımlar hazırlanmıştır^{12,47,54,173}. Hazırlanan bu karışımlar belirli oranlarda yağ ile karıştırıldıktan sonra su ile titre edilmiştir (Tablo 16). Böylece nanoemülsiyon alanı olarak bilinen berrak bölgenin sınırları saptanmıştır.

Tablo 16: Sindirilen bileşenlerin (yağ+YEM+YYEM) çözebildiği su oranlarını gösteren üçgen faz diyagramına ait veriler

K _m 1:1			K _m 2:1		
%Yağ (Labrafac™ Lipophile WL 1349)	%(YEM+YYEM) (Labrasol®+Capmul® MCM C8)	%Su	%Yağ (Labrafac™ Lipophile WL 1349)	%(YEM+YYEM) (Labrasol®+Capmul® MCM C8)	%Su
38.5	57.7	3.8	37	55.6	7.4
28.9	67.3	3.8	27.8	63.9	8.3
24.0	72.1	3.9	16.7	66.7	16.6
18.9	75.5	5.6	8.6	77.6	13.8
14.6	82.9	2.5	4.2	79.2	16.6
K _m 4:1			K _m 8:1		
%Yağ (Labrafac™ Lipophile WL 1349)	%(YEM+YYEM) (Labrasol®+Capmul® MCM C8)	%Su	%Yağ (Labrafac™ Lipophile WL 1349)	%(YEM+YYEM) (Labrasol®+Capmul® MCM C8)	%Su
38.5	57.7	3.8	37	55.5	7.5
28.2	64.8	7.0	27.8	64.8	7.4
17.2	68.9	13.9	20.5	61.5	18
			14.8	59.2	26
8.9	80.4	10.7	8.8	50	41.2
			5.6	41	53.4
4.4	82.6	13.0	2.9	26.5	70.6
			0.1	1.7	98.2

Sindirilen yağ, YEM, YYEM ve suyun kullanıldığı çalışma sonunda elde edilen faz diyagramlarından, berrak alanı en büyük olan ve YEM:YYEM (K_m) oranı 8:1 olan faz diyagramı seçilmiştir. Bu berrak alan

içinde yağ oranı %2 ile %18 arasında olan bir dizi nanoemülsiyon saptanmıştır. Saptanan nanoemülsiyonların içerikleri ve tarafımızdan hesaplanan HLB değerleri Tablo 17’de verilmiştir.

Tablo 17: Sindirilen bileşenler kullanılarak oluşturulmuş nanoemülsiyonların içerikleri

Formülasyon	%Yağ (Labrafac™ Lipophile WL 1349)	%YEM (Labrasol®)	%YYEM (Capmul® MCM C8)	%Su	HLB
D1-NE	2	17.8	2.2	78	12.1
D2-NE	2	22.2	2.8	73	12.2
D3-NE	2	26.7	3.3	68	12.4
D4-NE	4	44.4	5.6	46	12.2
D5-NE	4	53.3	6.7	32	12.4
D6-NE	4	62.2	7.8	26	12.5
D7-NE	6	71.1	8.9	14	12.3
D8-NE	8	71.1	8.9	12	12.0
D9-NE	10	71.1	8.9	10	11.8
D10-NE	10	62.2	7.8	20	11.7
D11-NE	10	53.3	6.7	30	11.5
D12-NE	12	71.1	8.9	8	11.6
D13-NE	18	71.1	8.9	2	11.0
D14-NE	18	64	8	10	10.8

Bu nanoemülsiyonların öncelikle damlacık büyüklükleri ve damlacık büyüklüğü dağılımları (PDI) incelenmiştir. Damlacık büyüklüğü dağılım değeri yüksek olan ve çoklu pik gösteren nanoemülsiyonlar (D1-NE, D2-NE, D3-NE, D7-NE, D8-NE, D9-NE, D11-NE, D12-NE ve D13-NE) elenmiştir. Geriye kalan nanoemülsiyonlar (D4-NE, D5-NE, D6-NE, D10-NE ve D14-NE) damlacık büyüklüğü dağılım değeri 0.2’nin altında olan ve tek pik veren nanoemülsiyonlardır.

Sonraki aşamada bu nanoemülsiyonların oluşturulmasında kullanılan yağ+YEM+YYEM karışımlarının (Tablo 18), 250 mL su eklenmesi ile nanoemülsiyon oluşturup oluşturmayacağı incelenmiştir. Sıvı hacmi olarak 250 mL kullanılmasının nedeni esas alınan EMA (European Medicines Agency) kılavuzunda, ilacın bir seferlik dozu 250 mL hacmindeki pH 1.2; 4.5 ve 6.8 ortamlarında çözünüyorsa, ilacın çözünürlüğünün yüksek kabul edilmesidir¹⁷⁴. Bu amaçla 0.5 ile 10 mL arasındaki hacimlerde D4, D5, D6, D10, D14 formülasyonları (Tablo 18) 250 mL su ile karıştırılmış ve nanoemülsiyon oluşturup oluşturmadıkları incelenmiştir. Bu formülasyonlar arasından D4, D5 ve D6 kodlu formülasyonların 10 mL'sinin 250 mL su ile nanoemülsiyon oluşturabildiği saptanmıştır. Oluşan nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü ölçülmüştür. Bu formülasyonlardaki yağ, YEM, YYEM oranları esas alınarak sindirilmeyen bileşenler ile ND1, ND2 ve ND3 formülasyonları hazırlanmıştır (Tablo 19). Bu formülasyonların da 10 mL'sine 250 mL su eklenmesi ile nanoemülsiyonun oluştuğu belirlenmiş ve elde edilen bu nanoemülsiyonların da (Tablo 20) damlacık büyüklükleri saptanmıştır.

Tablo 18: Sindirilen bileşenler kullanılarak hazırlanan D4, D5, D6, D10 ve D14 formülasyonlarının içerikleri

%	D4	D5	D6	D10	D14
Yağ (Labrafac™ Lipophile WL 1349)	7.4	6.2	5.4	12.5	20
YEM (Labrasol®)	82.2	83.3	84.1	77.8	71.1
YYEM (Capmul® MCM C8)	10.4	10.5	10.5	9.7	8.9

Tablo 19: Sindirilmeyen bileşenler kullanılarak hazırlanan ND1, ND2 ve ND3 formülasyonlarının içerikleri

%	ND1	ND2	ND3
Yağ (Maisine® 35-1)	7.4	6.2	5.4
YEM (Cremophor® RH40)	82.2	83.3	84.1
YYEM (Brij® O10)	10.4	10.5	10.5

Tablo 20: Sindirilmeyen bileşenler kullanılarak hazırlanan ND1, ND2 ve ND3 formülasyonlarının, üçgen faz diyagramında bulunan ve su içeren nanoemülsiyonlarının içerikleri

%	ND1-NE	ND2-NE	ND3-NE
Yağ (Maisine® 35-1)	4	4	4
YEM (Cremophor® RH40)	44.4	53.3	62.2
YYEM (Brij® O10)	5.6	6.7	7.8
Su	46	36	26
HLB	13.9	14.1	14.1

Bu çalışmada 50 mg aseklofenak kullanılmıştır. Ancak daha sonra sindirilen ve sindirilmeyen formülasyonun 10 mL'sinde kullanılan aseklofenak dozu, Türkiye'deki piyasa dozu olan 100 mg'a çıkartılarak su ile oluşturulan nanoemülsiyonun damlacık büyüklüğü ve zeta potansiyeli ölçülmüştür. Bu çalışma ile doz farkının damlacık büyüklüğünü ve zeta potansiyel değerlerini etkileyip etkilemediği incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları 'Bulgular – 4.7.3.2.7' numaralı bölümde verilmiştir.

Sonuç olarak üçü sindirilen (D4, D5 ve D6), üçü de sindirilmeyen (ND1, ND2 ve ND3) bileşenlerle hazırlanmış ve 250 mL su ile nanoemülsiyon oluşturabilen altı adet formülasyon elde edilmiştir (Tablo 21).

Tablo 21: Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerle hazırlanan formülasyonların içerikleri

Formülasyon	ND1	D4	ND2	D5	ND3	D6
%Yağ (Labrafac™ Lipophile WL 1349 veya Maisine® 35-1)	7.4		6.2		5.4	
%YEM (Labrasol® veya Cremophor® RH40)	82.2		83.3		84.1	
%YYEM (Capmul MCM C8® veya Brij® O10)	10.4		10.5		10.5	

Her bir formülasyon için kullanılan yağ, YEM ve YYEM isimleri ve özellikleri Tablo 13'te belirtilmiştir.

Hazırlanan tüm formülasyonlarla oluşturulan nanoemülsiyonların dış fazının su olduğunun doğrulanması için “dış faz ile seyreltme” ve “metilen mavisi ile boyama” yöntemleri kullanılmıştır.

İn vivo çalışmalar için Tablo 21’de içerikleri verilen altı adet formülasyon arasından biri sindirilen ve biri sindirilmeyen bileşenlerden oluşmak üzere, YEM+YYEM miktarı en düşük olan iki formülasyon seçilmiştir (sırasıyla D4 ve ND1). Bu formülasyonlar 50 mg aseklofenak içerecek şekilde hazırlanmıştır. Aseklofenak içeren formülasyonların hazırlanması amacıyla, önce 50 mg aseklofenak yağda çözülmüş, sonra bu çözelti YEM+YYEM karışımına eklenmiştir.

Bu aşamadan sonra yapılan her türlü kontrol aseklofenak içeren (50 mg), D4 ve ND1 formülasyonları (10 mL) üzerinde yapılmıştır.

3.2.2.3. Geliştirilen Formülasyonlarda Yapılan Kontroller

Bu çalışmada ‘yağ+YEM+YYEM’ den oluşan aseklofenak içeren formülasyonlar (D4 ve ND1) için aşağıda belirtilen kontroller yapılmıştır:

- Dansite
- Bulanıklık
- Viskozite
- FT-IR analizi
- Dondurma-çözme çalışması
- Lipoliz çalışması
- Salım çalışması

- Salım çalışmasında kullanılan diyaliz membran için yapılan adsorbsiyon çalışması
- Aseklofenak miktar tayini

Yağ, YEM ve YYEM'den oluşan formülasyonların nanoemülsiyona dönüşmesi için eklenen su miktarları çeşitli literatürlerde 1:50, 1:100, 1:250, 1:400, 1:800, 1:1000 (formülasyon:su) olarak bildirilmiştir^{1,3,54,78,175,176}. Bu çalışmada, esas alınan EMA kılavuzuna paralellik sağlaması açısından aseklofenak içeren her bir 10 mL formülasyona 250 mL su eklenmesiyle oluşturulan nanoemülsiyonlarda (D4-NE ve ND1-NE) ise aşağıda belirtilen kontroller yapılmıştır:

- Damlacık büyüklüğü
 - Damlacık büyüklüğüne pH'nın ve sıvı hacminin etkisi
- Sıvı kristal faz oluşup oluşmadığının gözlenmesi
- Zeta potansiyel
- Bulanıklık
- Dondurma-çözme çalışması
- FT-IR analizi
- Santrifüj çalışması
- Salım çalışması

Formülasyonlarda (D4 ve ND1) ve nanoemülsiyonlarda (D4-NE ve ND1-NE) yapılan her bir kontrol tek başlık altında toplanarak aşağıda verilmiştir.

a. Dansite

Dansite ölçümleri aseklofenak içeren formülasyonlar için piknometre kullanılarak $25\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Piknometre kurutularak sabit tartıma getirilmiştir. Boşken kütlesine bakılarak darası alınmıştır. Ölçülecek sıvı tepeleme doldurulup taşırmalı kapağı

kapatılmıştır. Fazla hacim dışarıya taşmış, akan bu hacim kurutulmuş ve brüt kütle tartılmıştır. Dansite hesabı Eşitlik 3'te gösterilen şekilde yapılmıştır.

$$\text{Net sıvı kütlesi} = \text{Brüt kütle} - \text{Dara}$$

$$\text{Dansite} = \text{Net sıvı kütlesi} / \text{Sıvı hacmi}$$

Eşitlik 3: Dansite hesabının yapılmasında kullanılan eşitlik

b. Bulanıklık

Bulanıklık ölçümleri aseklofenak içeren formülasyonlar ve nanoemülsiyonlar için $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Ölçümler 0–200 NTU aralığında yapılmıştır. Çalışma üç paralel olarak gerçekleştirilmiş ve her ölçümde küvetten kaynaklanacak farklılıkları ortadan kaldırmak için aynı küvet kullanılmıştır. Her defasında 5 mL örnek ile ölçüm yapılmıştır.

c. Viskozite

Aseklofenak içeren ve içermeyen formülasyonların viskozite ölçümleri için rotasyonel koni plaka viskozimetresi kullanılmıştır. Bu çalışmada her bir ölçüm %dönme momenti (%torque) değeri 10–100 arasında olacak şekilde yapılmıştır.

Kullanılan viskozimetrenin yazılım programının (Rheocalc V2.4) verdiği kayma hızı ve kayma geriliminden hareketle aşağıda belirtilen grafikler çizilmiş ve ilgili regresyon hesapları yapılmıştır.

a) İlk grafik, viskozitenin kayma hızının artışına bağlı olarak nasıl değiştiğini göstermektedir. Karıştırma ile sistemin viskozitesinin nasıl değiştiği bu grafik ile izlenmiştir.

x eksen: Kayma hızı (1/s)

y eksen: Viskozite (mPa.s)

- b) İkinci grafik, 'Ostwald de Waele' eşitliği veya 'Power Law' eşitliğinin (Eşitlik 4) çıkarılacağı grafiktir. Bu çalışmada, incelenen emülsiyonların viskozite değeri olarak bu eşitlikten elde edilen akış yoğunluğu indeksinin (K) kullanılmasına karar verilmiştir¹⁷⁷.

$$\ln \eta = \ln K + (n-1) \cdot \ln \dot{\gamma}$$

Eşitlik 4: Ostwald de Waele eşitliği

η : Viskozite (mPa.s)

K: Akış yoğunluğu indeksi (consistency index) (mPa.s)

n: Akış davranışı indeksi (power law index)

(n-1): eğim ('-' işaretli)

$\dot{\gamma}$: Kayma hızı (1/s)

$0 < n < 1$ ise sistemin viskozitesinin karıştırma ile azalan (shear thinning) özellik gösterdiği yorumu getirilir.

Aseklofenağın formülasyonların viskozitesi üzerine etkisi olup olmadığı da bu çalışmada incelenmiştir.

d. FTIR Analizi

Analiz, 'Gereç ve Yöntem – 3.2.1.2' numaralı bölümde anlatıldığı şekilde yapılmıştır.

e. Dondurma-Çözme Çalışması

Bu çalışma aseklofenak içeren formülasyonlar ve nanoemülsiyonlar için termodinamik dayanıklılığı değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. Sistemler üç defa dondurma-çözme döngüsüne tabi tutulmuştur. Bir döngü (-10)°C sıcaklıkta 24 saat dondurma işlemi ve (+40)°C sıcaklıkta 24 saat çözme işlemi içermektedir¹⁷⁸. Çalışma sonucunda aseklofenağın kristal oluşumu gösterip göstermediğinin

belirlenmesi için, formülasyonlar polarize mikroskopla incelenmiştir. Nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü dondurma-çözme döngüsünden sonra kontrol edilmiştir.

f. Lipoliz Çalışması

Formülasyonlar üzerinde yapılan bu çalışma 'Gereç ve Yöntem – 3.2.2.1' numaralı bölümde anlatılan şekilde gerçekleştirilmiştir.

g. Salım Çalışmasında Kullanılan Diyaliz Torba İçin Yapılan Adsorpsiyon Çalışması

Bu çalışmada aseklofenağın, salım deneyinde kullanılan membrana (molecular weight cut off: 1000 Dalton) adsorbe olup olmadığı incelenmiştir. Bu amaçla aseklofenağın pH 6.8 tamponda 4 mg/mL derişimindeki çözeltisi hazırlanmış ve absorbansı okunmuştur. Daha sonra bu çözelti içine salım deneyinde kullanılan alana sahip olan (76.9 cm²) diyaliz torba konulmuştur. Manyetik karıştırıcıda 24 saat karıştırılarak bekletilmiştir. Süre sonunda spektrofotometrede absorbans değeri tekrar okunmuştur. Okunan ilk ve son absorbans değerleri kıyaslanmıştır.

h. Salım Çalışması

Salım çalışması 37±0.5°C sıcaklıkta, 900 mL hacminde farklı çözünme ortamlarında palet yöntemi kullanılarak 100 rpm'de yapılmıştır. Çözünme ortamı olarak su, pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF veya FeSSIF kullanılmıştır.

Salım çalışması yapılan sistemler:

- Formülasyonlar (D4 ve ND1)
- Formülasyonlara (10 mL), su eklenmesiyle (250 mL) oluşturulan nanoemülsiyonlar (D4-NE ve ND1-NE)
- Ticari tablet (Biofenac®)

Formülasyonlardan yapılan salım çalışmaları için MWCO (molecular weight cut off) değeri 1000 Dalton olan diyaliz membran kullanılmıştır⁸³. Diyaliz torbanın alt ve üstteki açık olan kısımları, membran kapatıcı klipsler ile sıkı bir şekilde kapatılmış ve polipropilen ipliklerle paletin demir borusuna bağlanmıştır. Alttan 2.5 cm yükseklikte olacak şekilde palete tutturulmuş olarak ortam içine daldırılan diyaliz torbasının uzunluğu 5 cm, yarıçapı 1.8 cm ve toplam yüzey alanı 76.9 cm²'dir (Görüntü 2). Diyaliz torba içine 5 mg/mL derişiminde olan 5 mL örnek konulmuştur. Ticari tablet ise ortam içine doğrudan konulmuş ve tablet için salım deneyi sadece pH 6.8'de yapılmıştır.

Deney süresince çözünme ortamından 0.25.; 0.5.; 0.75.; 1.; 1.5.; 2.; 3.; 4.; 5.; 6. ve 24. saatlerde 5'er mL örnek alınmış ve alınan örnek yerine aynı miktarda taze ortam konulmuştur. Alınan örnekler, eğer gerekli ise, seyreltme yapılarak spektrofotometrede 273 nm'de okunmuştur.

Nanoemülsiyonlar için ise dikey Franz difüzyon hücresi kullanılmıştır. Nanoemülsiyonun 2 mL'si donör faz olarak kullanılmıştır. Reseptör faza 15 mL ortam konulmuştur. Aradaki membran olarak MWCO değeri 1000 Dalton olan diyaliz membran kullanılmıştır. Membranın yüzey alanı 3.8 cm²'dir.

Ticari tablet için salım deneyinin incelenmesi amacıyla, tabletler doğrudan salımı incelenecek ortam olan pH 6.8'e konulmuştur. Çalışmanın diğer kısımları formülasyonlardan yapılan salım çalışmasının koşullarında yapılmıştır.

Salım çalışması sonucunda elde edilen salım verilerinin değerlendirilebilmesi için doğrusal olmayan profillerin doğrusallaştırılması amacıyla kinetik matematiksel modeller olan sıfırıncı derece, birinci derece ve $Q\sqrt{t}$ kinetik modelleri kullanılmıştır. Buradaki amaç, aseklofenağın

formülasyonlardan veya nanoemülsiyonlardan salım mekanizmasının incelenmesi değil, ürünün kalite kontrolünde kullanılacak salım parametresinin belirlenmesi ve bu salım parametresi ile formülasyonlar arasında salım açısından farklılık olup olmadığının araştırılmasıdır.



Görüntü 2: Salım deneyinde palete bağlanan diyaliz torba sistemi

i. Aseklofenak Miktar Tayini

Formülasyonlardaki aseklofenak miktar tayini sindirilen bileşenlerle oluşturulan formülasyon (D4) için; 0.1 mL formülasyona 2.93 mL etanol eklenmesi ile yapılmıştır. Sindirilmeyen bileşenlerle oluşturulan formülasyon (ND1) için ise; 0.1 mL formülasyona 4.44 mL etanol eklenmesi ile yapılmıştır. Kullanılan etanol miktarlarının farklı olmasının nedeni, hazırlanan örneği aletin okuma sınırlarına getirecek seyreltmenin bu miktarlarda yapılmasıdır. Formülasyondaki aseklofenak miktarının tayini spektrofotometrik yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kör olarak aseklofenak içermeyen formülasyonların etanol ile karıştırılması sonucu elde edilen çözeltiler kullanılmıştır.

j. Damlacık Büyüklüğü

Aseklofenak içeren formülasyonlara 250 mL su eklenmesiyle oluşturulan nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü ölçümleri Malvern Zetasizer Nano ZS ile $25\pm0.5^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla tek kullanımlık küvetler kullanılmış, çalışma üç paralel yapılmıştır. Çalışma sonunda ortalama damlacık büyüklüğü değeri ve polidispersite indeksi (PDI) elde edilmiştir.

Ölçüm yapılan aletin (Malvern Zetasizer Nano ZS) standart çalışma prosedürü bilgisine göre PDI değerleri aşağıdaki şekilde yorumlanır;

- 0 – 0.05: Damlacıkların büyüklüğü tamamen aynıdır ve damlacıklar monodispers olarak dağılmıştır.
- 0.05 – 0.08: Damlacıkların büyüklüğü birbirine yakındır ve dağılımı monodispers dağılıma yakındır.
- 0.08 – 0.7: Damlacıkların dağılımı, tek pik vermekle birlikte orta derecede polidispersite gösterebilir. Yoğunluk dağılımına göre yapılan ölçümlerde (intensity size distribution) PDI değeri genellikle bu aralıkta çıkar.
- >0.7: Tam olarak polidispers dağılımı verir. Ölçülen örnek bu ölçme tekniği için uygun değildir.

j.1. Damlacık Büyüklüğüne pH'nın Etkisi

Bu çalışmada kullanılan sulu çözeltinin pH değişiminin, damlacık büyüklüğü üzerine etkisi incelenmiştir. Formülasyonlar (50 mg aseklofenak içeren 10 mL formülasyon) su, pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF ve FeSSIF ortamları (250 mL) ile karıştırılmıştır. Hazırlanan nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü ölçülmüştür. pH değişiminin, damlacık büyüklüğü oluşumuna etkisi incelenmiştir.

j.2. Damlacık Büyüklüğüne Sıvı Hacminin Etkisi

Bu çalışmada formülasyonlar (50 mg aseklofenak içeren 10 mL formülasyon) su, pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF ve FeSSIF ortamları ile 1:5; 1:15; 1:25; 1:28 ve 1:550 h/h oranlarında karıştırılmıştır. Hazırlanan nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ölçülmüştür. Damlacık büyüklükleri, EMA kılavuzu esas alındığında oluşturulan nanoemülsiyonlar ile kıyaslanmıştır. Ayrıca hazırlanan nanoemülsiyonlarda sıvı kristal faz oluşup oluşmadığına da polarize mikroskop ile bakılmıştır.

k. Zeta Potansiyel

Aseklofenak içeren formülasyonlara 250 mL su, pH 1.2, pH 4.5 ve pH 6.8 eklenmesiyle oluşturulan nanoemülsiyonların zeta potansiyel ölçümleri Malvern Zetasizer Nano ZS ile $25\pm0.5^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla tek kullanımlık zeta hücreleri kullanılmıştır. Damlacıklar arası etkileşimi en aza indirmek için örnekler mümkün olduğunca (1:280 h/h) seyreltilmiştir. Çalışmalar üç paralel yapılmıştır. Çalışma sonunda ortalama zeta potansiyel değeri elde edilmiştir.

I. Santrifüj Çalışması

Bu çalışmada aseklofenak içeren nanoemülsiyonlar 5000 rpm'de 30 dakika santrifüj edilmiştir¹⁷². Daha sonra faz ayrışması olup olmaması açısından nanoemülsiyonlar görsel olarak kontrol edilmiştir. Ayrıca nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü santrifüj öncesi ve sonrası kontrol edilmiştir.

3.2.2.4. Geliştirilen Formülasyonların Dayanıklılıklarının İncelenmesi

Bu amaçla sindirilen ve sindirilmeyen formülasyonlar dayanıklılık takibi yapılmak üzere 4°C için buzdolabına, 25°C için iklim dolabına ve 40°C için etüve konulmuştur. Çalışma aralıkları 0; 1; 2; 3 ve 4 ay olarak belirlenmiştir.

Her bir zaman aralığında dayanıklılık ölçümleri süresince belirtilen sıcaklıklarda bekletilen formülasyonlar, kontroller yapılmadan önce oda sıcaklığına getirilmiş ve aşağıdaki kontroller yapılmıştır:

- Formülasyonların viskozite ölçümleri ve reogramlarının oluşturulması
- Formülasyonlarda aseklofenak miktar tayini
- Polarize mikroskop kullanılarak aseklofenağın formülasyonlarda kristallenip kristallenmediğinin tespiti
- Formülasyonların 1:25 oranında su ile karıştırılmasından sonra oluşan nanoemülsiyonların
 - Damlacık büyüklüğünün
 - Polidispersite indeksinin
 - Zeta potansiyelinin değişip değişmediğinin takibi

3.2.3. Piyasada Bulunan Aseklofenak Tabletinde (Biofenac®) Yapılan Kontroller

3.2.3.1. Sertlik (Hardness)

Ticari tabletten 10 tanesinin sertliği, tablet sertlik ölçüm aleti ile ölçülmüştür. Ölçümler Newton (N) cinsinden belirlenmiştir. Sonuçlar X_{ort} (değerlerin ortalaması), SS (standart sapma), SH (standart hata) ve %BS (%bağıl sapma) ile değerlendirilmiştir.

3.2.3.2. Çap-Kalınlık (Diameter-Thickness)

Duyarlılığı 0.01 cm olan mikrometre ile 10 tabletin çap ve kalınlığı ölçülmüştür. Değerler X_{ort} , SS, SH ve %BS ile değerlendirilmiştir.

3.2.3.3. Ağırlık Sapması (Weight Variation)

Film kaplı tabletlerden 20 tanesi teker teker tartılmış ve ortalama ağırlık hesaplanmıştır¹⁷⁹. Değerlendirme 'tartılan 20 tabletten en

fazla iki tabletin ağırlığı Tablo 22’de verilen ortalama ağırlıktan farklı olmalıdır’ şeklinde yapılmıştır.

Tablo 22: Tabletlerin ağırlıklarının değerlendirilmesi için yararlanılan veriler

Ortalama Tablet Ağırlığı (mg)	% Farklılık
≤ 130	10
$130 < x < 324$	7.5
> 324	5

3.2.3.4. Ufalanma-Aşınma (Friability)

Miktarı 650 mg’dan az olan tabletler için toplamı yaklaşık 6.5 g olacak kadar tablet ile işlem yapılmıştır¹⁷⁹. Bu amaçla tabletlerin tozu giderilmiş ve 31 adet tablet tartılıp aletin döner silindrine yerleştirilmiştir. Aletin döner silindiri 25 devir/dakika hızda 4 dakika (100 kez) çalıştırılmıştır. Süre sonunda tabletler döner silindirden çıkarılmıştır. Çıkarılan tabletler, yumuşak bir fırça yardımıyla üzerlerindeki tozlarından arındırılıp tartılmıştır. Değerlendirme ‘tabletlerin ağırlık kaybı, toplam ağırlığın %1’inden fazla olmamalıdır’ şeklinde yapılmıştır.

3.2.3.5. Dağılma Süresi (Disintegration Time)

Deney $37 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıkta, su içinde gerçekleştirilmiştir^{179,180}. Dağılma süresini tespit eden alet, yaklaşık 30 defa 5.5 cm’ye inip çıkan, 6 adet, 9 cm boyunda ve 20 mm iç çapında cam borudan yapıli, üst kısmı açık ve alt kısmı 2 mm genişlikte delikleri olan paslanmaz çelik elek ile kapatılmış sepetlerden oluşmuştur. Dağılma testi aletinin 6 adet cam sepetinin her birine kontrolü yapılacak olan ticari tabletten bir adet yerleştirilmiştir. Tabletlerin yüzmesini önlemek için, üzerleri disk ile kapatılmıştır. Tüm tabletlerin tam olarak dağılmaları için geçen süre ölçülmüş ve saptanan dağılma sürelerinin X_{ort} , SS, SH, %BS değerleri hesaplanmıştır.

3.2.3.6. İçerik tekdüzeliği (Content Uniformity)

Tabletlerin 10 tanesi havanda toz haline getirilmiştir. Bu toz karışımından bir tablet ağırlığına eşdeğer miktar (213.8 mg) tartıldıktan sonra pH 6.8 tamponda 100 mL'ye seyreltilmiştir. Manyetik karıştırıcıda çözünmesi için 24 saat bekletilmiş ve gerekli seyreltmeler yapılarak spektrofotometrik miktar tayini yapılmıştır.

3.2.3.7. Salım (Dissolution)

Çalışma 'Gereç ve Yöntem – 3.2.2.3 numaralı bölümde anlatılan şekilde yapılmıştır.

3.2.4. Aseklfenak ile Yapılan İn Vivo Çalışmalar

3.2.4.1. Deney Hayvanları Hakkında Bilgi

Deneylerde Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edilen 200-300 g arasındaki ağırlıklarda, Wistar, albino erkek sıçanlar kullanılmıştır.

Deney hayvanları deneye alınmadan en az bir hafta önce sıcaklığın (20-24 °C), nemin (%55±10) ve aydınlık periyodunun (12'şer saat aydınlık ve karanlık) ayarlandığı odalarda tutularak senkronize edilmiştir. Deney boyunca sıçanlar standart pellet diyet ve su ile serbest olarak beslenmiştir.

Deneylerde kullanılan hayvanlar, deney süresince Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (İzin No: G.Ü.ET-13.037) gözlemi altında, laboratuvar hayvanlarını korumaya yönelik uluslararası etik kurallar kılavuzuna uygun olarak barındırılmış ve deney protokolleri uygulanmıştır.

3.2.4.2. Deney Grupları

Deneylerde kullanılan hayvanlar 17 gruba ayrılmıştır. Her bir deney grubunda kullanılan hayvan sayısı 6'dır. Sıçanla yapılan in vivo çalışmalar için kullanılan aseklofenak dozu 10 mg/kg'dır¹⁴⁶. Sıçanlara verilen hacim ise 100 g sıçana 0.5 mL olacak şekildedir.

Kullanılan gruplar Tablo 23'te verilmiştir.

Tablo 23: İn vivo deneyler için kullanılan hayvan grupları

	Grup	Hayvan Sayısı	Doz
Kontrol Grupları	Kontrol grubu (Sıçanlara oral gavaj ile sadece serum fizyolojik verilmiştir)	6	10 mg/kg
	pH 6.8 tampon grubu		
	Distile su grubu		
	Maisine (sindirilmeyen yağ) grubu		
	Labrafac (sindirilen yağ) grubu		
	ND1 grubu		
	D4 grubu		
	ND1-NE grubu		
	D4-NE grubu		
Aseklofenak Grupları	pH 6.8 tampon+Aseklofenak grubu (Çözelti)	6	10 mg/kg
	Distile su+Aseklofenak grubu (Süspansiyon)		
	Maisine+Aseklofenak grubu (Çözelti)		
	Labrafac+Aseklofenak grubu (Çözelti)		
	ND1+Aseklofenak grubu (SNEDDS formülasyonu)		
	D4+Aseklofenak grubu (SNEDDS formülasyonu)		
	(ND1-NE)+Aseklofenak grubu (Nanoemülsiyon)		
	(D4-NE)+Aseklofenak grubu (Nanoemülsiyon)		

3.2.4.3. İn Vivo Pençe Ödemi Yöntemi

Antienflamatuvar aktivitenin belirlenebilmesi için fizyolojik tuzlu suda (serum fizyolojik) çözölmüş karragen (10 mg/mL) ile oluşturulmuş pençe ödemi modeli kullanılmıştır.

Antienflamatuvar etkinliği ölçölmek istenen madde grupları, sıçanlara (100 g ağırlığındaki sıçana 0.5 mL olacak şekilde) oral gavaj ile verilmiştir (Görüntü 3).



Görüntü 3: Oral gavaj ile sıçanlara madde gruplarının verilmesi

Verilişten bir saat sonra her sıçanın sağ pençesine intraplantar olarak 10 mg/mL derişimindeki serum fizyolojik içerisinde taze hazırlanan karragen çözeltisinden 0.1 mL enjekte edilmiştir¹⁵⁰. Her sıçanın kendi kontrolü için, sol arka pençesine intraplantar olarak aynı hacimde (0.1 mL) serum fizyolojik enjekte edilmiştir (Görüntü 4).

Enjeksiyonların yapılmasından hemen sonra sıçanların pençe hacimleri pletismometre ile ölçülmüş (0. dakika), daha sonraki ölçümler ise 90.; 180.; 270. ve 360. dakikalarda yapılmıştır (Görüntü 5). Sağ ve sol pençe arasındaki hacim farkı 'pençe ödem hacmi'ni vermektedir.



Görüntü 4: Sıçan pençelerine intraplantar olarak enjeksiyonların yapılışı



Görüntü 5: Pletismometre ile sıçan pençe hacminin ölçülmesi

3.2.4.4. Mortalite ve Ülserojenik Aktivite Ölçümü

Mortalite çalışmasında, deneylerden sonra 48 saat süre ile tüm sıçanların mortalite kayıtları tutulmuş ve sıçanlarda mortalite yönünden akut toksik etki olup olmadığına bakılmıştır.

Ülserojenik aktivite ölçümü için antienflamatuvar aktivite deneylerinden bir hafta sonra hayvanlara tekrar oral gavaj ile gruptaki maddeler verilmiştir (100 g sıçana 0.5 mL olacak şekilde). Maddelerin verilisinden dört saat sonra onaylı etik kurul raporuna göre öldürülen tüm sıçanların mideleri önce 5–6 mL kadar %10'luk formaldehit ile doldurulmuş, sonra özafagus ve duodenumları bağlanarak çıkartılıp formaldehite konulmuştur¹⁸¹ (Görüntü 6). Yaklaşık 15–20 dakika beklendikten sonra mideler büyüteçle incelenerek peteşi (kanama noktası) olup olmadığına bakılmıştır.



Görüntü 6: Sıçanların midelerinin çıkartılması

3.2.5. İstatistiksel Analiz

3.2.5.1. In Vitro Çalışmalarda Kullanılan İstatistiksel Analiz Yöntemi

Aseklöfenak ile yapılan in vitro çalışmalardaki istatistiksel analiz için kalibrasyon denklemleri kullanılarak her bir derişim (y) için derişim şapka ($\hat{y}$) ve artık derişim ($y - \hat{y}$) değerleri hesaplanıp, y değerlerine karşılık ($y - \hat{y}$) değerleri grafiğe geçirilmiştir. Grafikteki noktaların "+" veya "-" yönde bir eğilim gösterip göstermediğinin anlaşılabilmesi için y ve ($y - \hat{y}$) değerleri arasında lineer regresyon uygulanmıştır. Regresyon sonucunda bulunan eğim, eğimin standart hatasına bölünmüştür. Bu değer n-2 serbestlik derecesi için Student-t tablosundan bulunan değer ile karşılaştırılmıştır. Hesapla bulunan t değerleri, tablodan okunan t değerlerinden küçük olursa, doğruların eğimi %975 olasılıkla (çift yönlü olduğu için) 0 kabul edilir.

Diğer istatistiksel analizler için SPSS programı (versiyon 16.0), nonparametrik test, Chi-Square (χ^2 ; Ki-Kare), ($\alpha=0.05$) kullanılmıştır.

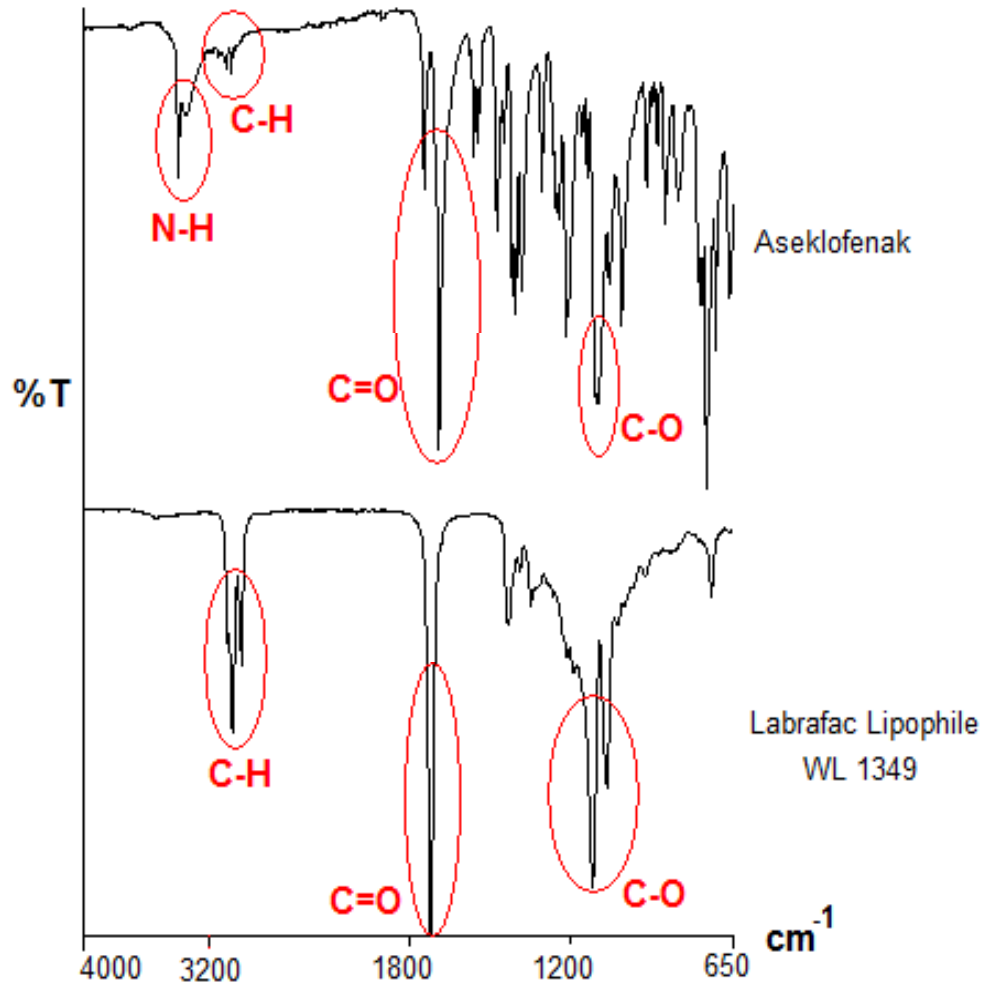
3.2.5.1. In Vivo Çalışmalarda Kullanılan İstatistiksel Analiz Yöntemi

Tek yönlü varyans analizi (One way ANOVA), Post-Hoc, Dunnett testi kullanılmıştır (*GraphPad Prism version 5.00 for Window; GraphPad Software, San Diego, California, Amerika*) ve 'student t testi' kullanılmıştır (*GraphPad Prism version 5.00 for Window; GraphPad Software, San Diego, California, Amerika*).

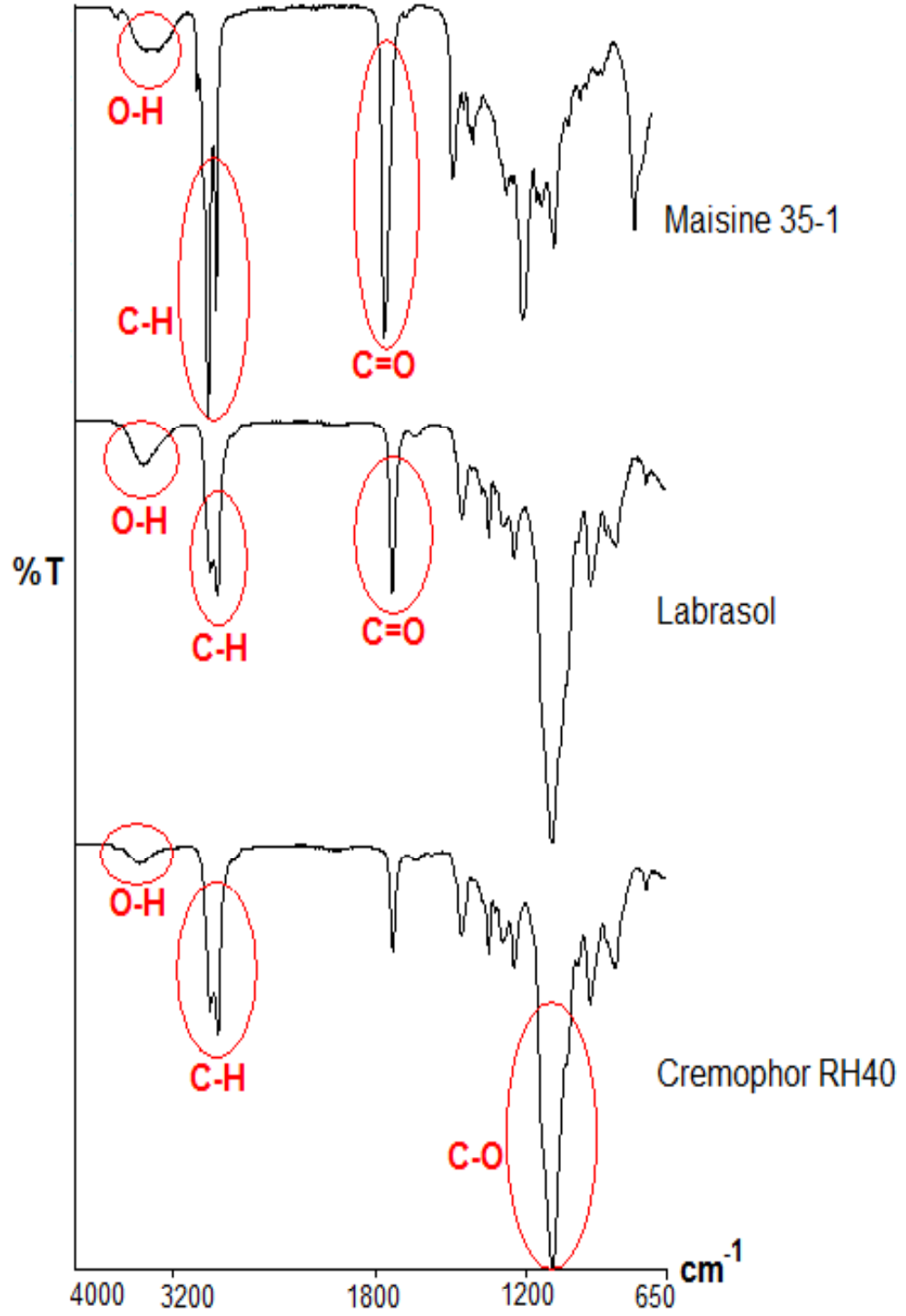
4. BULGULAR

4.1. Aseklofenağın, Formülasyonda Kullanılan Bileşenlerin, Formülasyonların ve Formülasyonlarla Oluşturulan Nanoemülsiyonların FT-IR Spektrumuna Dair Bulgular

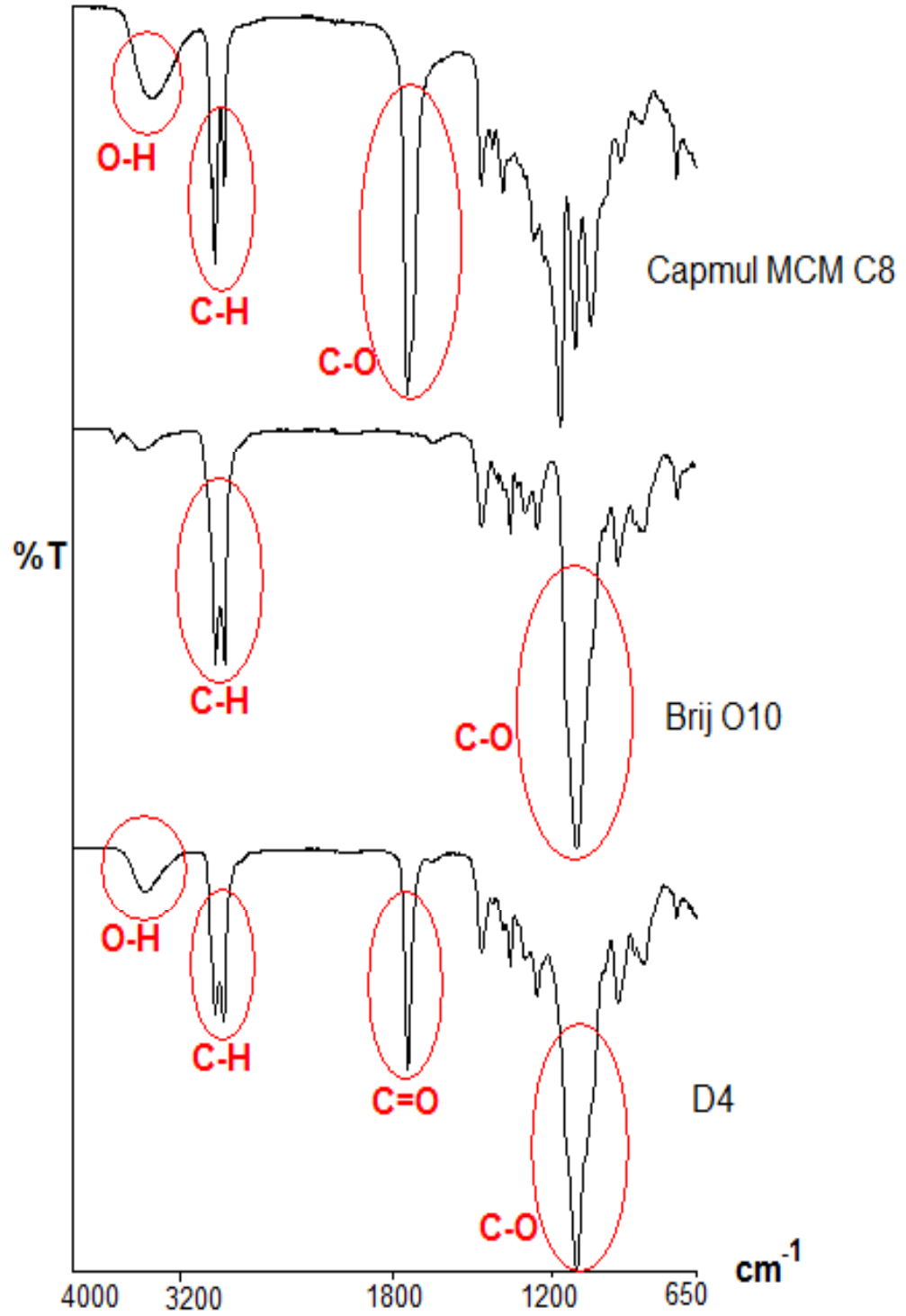
Aseklofenağın, formülasyonda kullanılan her bir bileşenin, aseklofenak içeren formülasyonların ve bu formülasyonlarla oluşturulan nanoemülsiyonların FT-IR spektrum çalışmaları 'Gereç ve Yöntem – 3.2.1.2' numaralı bölümde anlatıldığı gibi yapılmıştır. Analiz sonuçları Şekil 6'da verilmiştir.



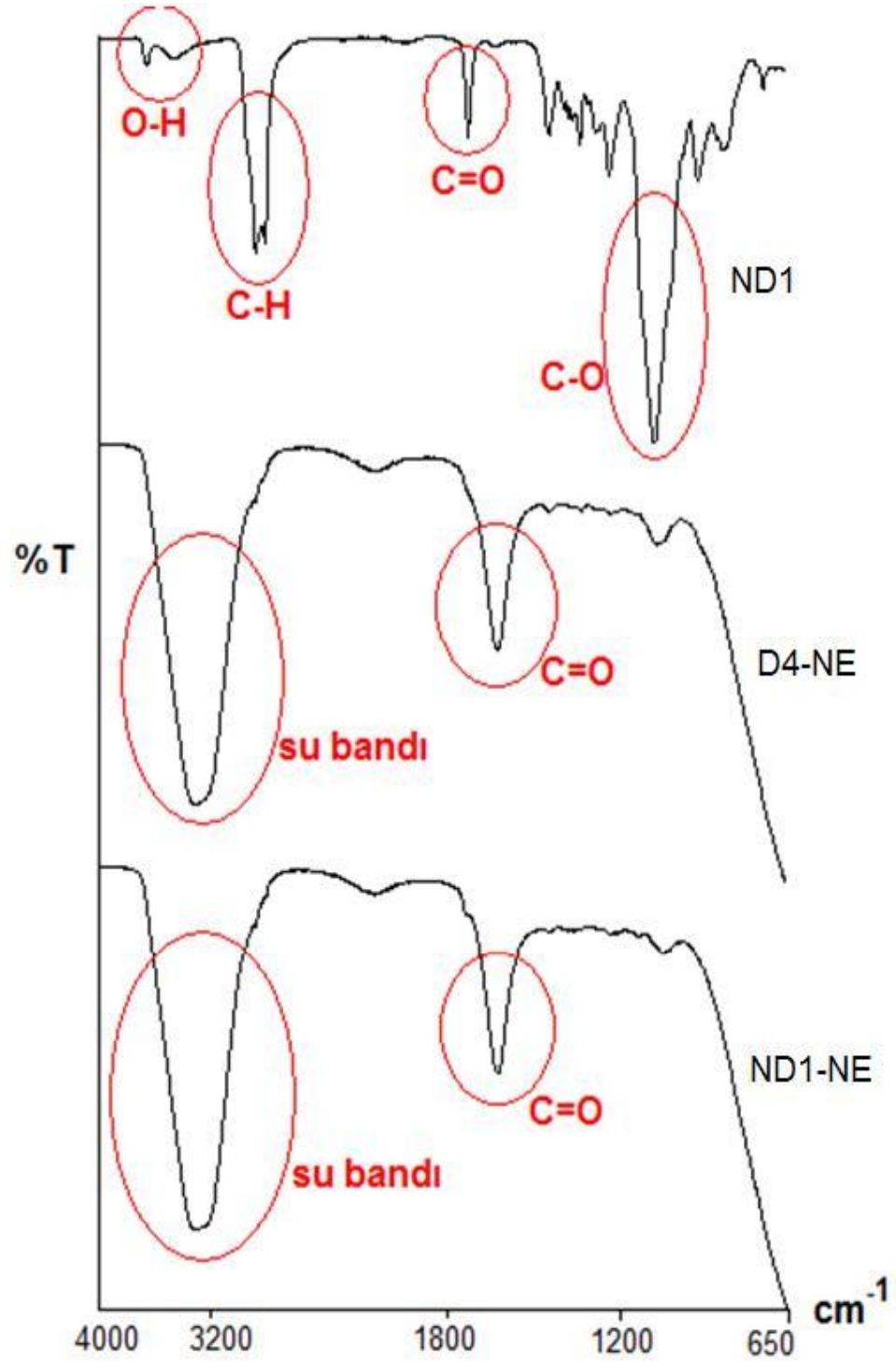
Şekil 6: FT-IR analiz sonuçları



Şekil 6 (devamı): FT-IR analiz sonuçları



Şekil 6 (devamı): FT-IR analiz sonuçları



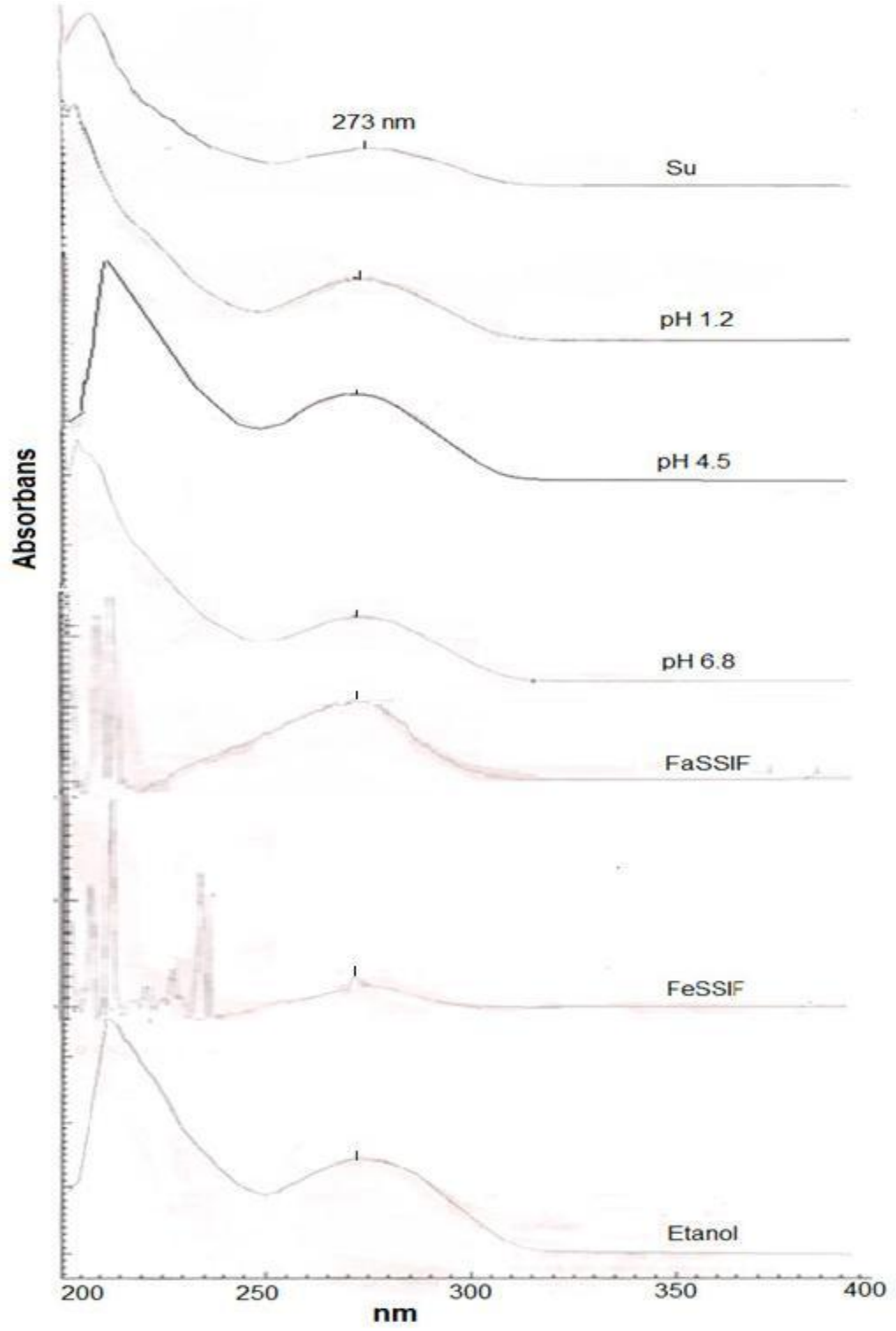
Şekil 6 (devamı): FT-IR analiz sonuçları

4.2. Aseklofenağın Farklı Çözünme Ortamlarındaki UV Spektrumu Bulguları

Aseklofenağın UV spektrumu ve standart doğrunun çıkarılması çalışmaları 'Gereç ve Yöntem – 3.2.1.3' numaralı bölümde anlatıldığı gibi yapılmıştır. Aseklofenağın su, etanol, pH 1.2; 4.5; 6.8, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında 200-400 nm dalga boyları arasında oluşturduğu UV spektrumları ve maksimum absorbans verdiği dalga boyu ($\lambda_{\text{maksimum}}$) belirlenmiştir. Aseklofenağın çalışılan ortamlardaki $\lambda_{\text{maksimum}}$ değeri 273 nm olarak saptanmıştır (Şekil 7).

4.3. Aseklofenağın Spektrofotometrik Miktar Tayini ve Standart Doğrunun Hazırlanmasına Dair Bulgular

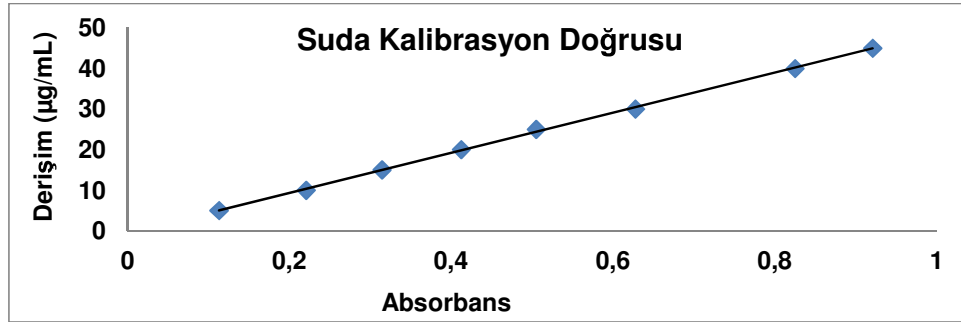
Aseklofenağın su, pH 1.2; 4.5; 6.8, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında ve etanolde 2.5 ile 50 $\mu\text{g/mL}$ arasında değişen derişimlerde hazırlanan çözeltilerinin 273 nm'de ($\lambda_{\text{maksimum}}$), hazırlanan derişimlere karşılık gelen absorbans değerleri okunmuştur. Her bir ortam için çalışma üç defa tekrarlanmış ve ortalama değerler hesaplanmıştır. Aseklofenak derişimine karşı absorbans değerleri Tablo 24, 26, 28, 30, 32, 34 ve 36'da gösterilmiştir. Daha sonra bu verileri tanımlayan standart doğru denklemleri bulunmuştur (Şekil 8-14). Grafiklerde her bir deney noktasına ait olan standart sapma değerlerinin küçük olması nedeniyle, bu değerlerle hesaplanan hata çubukları grafiklerde görülememektedir. Elde edilen kalibrasyon denkleminde ait parametreler ise Tablo 25, 27, 29, 31, 33, 35 ve 37'de verilmiştir.



Şekil 7: Aseklufenagın farklı çözünme ortamlarındaki UV spektrumu ve $\lambda_{\text{maksimum}}$ değeri

Tablo 24: Aseklöfenağın suda verdiği absorbans değerleri

Derişim (µg/mL)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Ort Abs	SS	SH	%BS	±GA
5	0.112	0.114	0.112	0.113	0.001	0.001	1.025	0.003
10	0.220	0.221	0.220	0.220	0.001	0.001	0.262	0.001
15	0.316	0.314	0.312	0.314	0.002	0.001	0.637	0.003
20	0.411	0.413	0.412	0.412	0.001	0.001	0.243	0.002
25	0.506	0.504	0.504	0.505	0.001	0.000	0.229	0.001
30	0.628	0.629	0.625	0.627	0.002	0.002	0.332	0.006
40	0.824	0.826	0.824	0.825	0.001	0.001	0.140	0.003
45	0.920	0.920	0.922	0.921	0.001	0.001	0.125	0.003



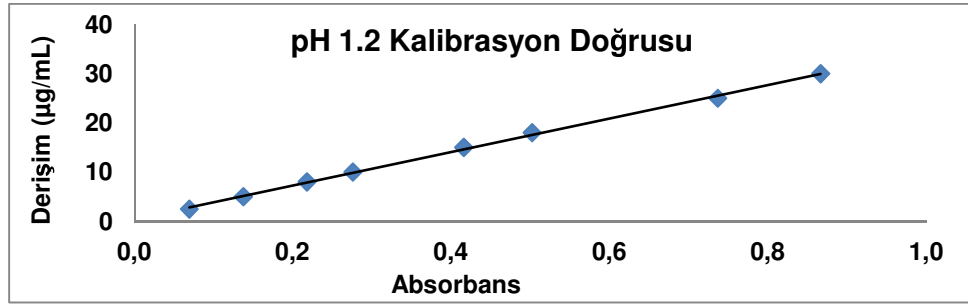
Şekil 8: Aseklöfenağın sudaki kalibrasyon doğrusu (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Tablo 25: Aseklöfenağın sudaki kalibrasyon denklemine ait parametreler

Derişim (µg/mL)= 49.4*Absorbans – 0.548
R^2 (Determinasyon katsayısı)= 0.999 Regresyonun standart hatası= 0.358
Eğim= 49.4 Standart hata= 0.5 Alt sınır= 48.2 Üst sınır= 50.5
Kesişim= - 0.548 Standart hata= 0.266 Alt sınır= - 1.198 Üst sınır= 0.103

Tablo 26: Aseklöfenağın pH 1.2 çözeltisinde verdiği absorbans değerleri

Derişim (µg/mL)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Ort Abs	SS	SH	%BS	±GA
2.5	0.070	0.069	0.068	0.069	0.001	0.001	1.450	0.002
5	0.137	0.137	0.138	0.137	0.001	0.001	0.420	0.001
8	0.217	0.218	0.218	0.218	0.001	0.000	0.265	0.001
10	0.276	0.275	0.276	0.276	0.001	0.001	0.209	0.001
15	0.415	0.416	0.416	0.416	0.001	0.000	0.139	0.001
18	0.502	0.501	0.503	0.502	0.001	0.001	0.199	0.003
25	0.736	0.736	0.737	0.736	0.001	0.001	0.078	0.001
30	0.866	0.867	0.866	0.866	0.001	0.001	0.066	0.001



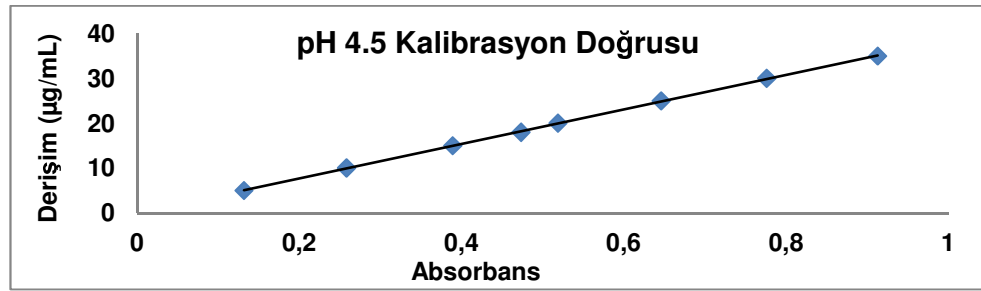
Şekil 9: Aseklöfenağın pH 1.2 çözeltisindeki kalibrasyon doğrusu (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Tablo 27: Aseklöfenağın pH 1.2 çözeltisindeki kalibrasyon denkleminde ait parametreler

Derişim (µg/mL)= 34.0*Absorbans + 0.491
R^2 (Determinasyon katsayısı)= 0.999 Regresyonun standart hatası= 0.362
Eğim= 34.0 Standart hata= 0.5 Alt sınır= 32.9 Üst sınır= 35.2
Kesişim= 0,491 Standart hata= 0.231 Alt sınır= - 0.075 Üst sınır= 1.06

Tablo 28: Aseklöfenağın pH 4.5 tamponda verdiği absorbans değerleri

Derişim (µg/mL)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Ort Abs	SS	SH	%BS	±GA
5	0.131	0.132	0.132	0.132	0.000	0.000	0.438	0.001
10	0.257	0.258	0.260	0.258	0.001	0.001	0.591	0.003
15	0.388	0.389	0.390	0.389	0.001	0.001	0.257	0.002
18	0.476	0.474	0.470	0.473	0.003	0.000	0.645	0.005
20	0.518	0.518	0.520	0.519	0.001	0.001	0.223	0.002
25	0.644	0.647	0.647	0.646	0.002	0.001	0.268	0.003
30	0.778	0.775	0.775	0.776	0.002	0.001	0.223	0.003
35	0.912	0.913	0.913	0.913	0.001	0.000	0.063	0.001



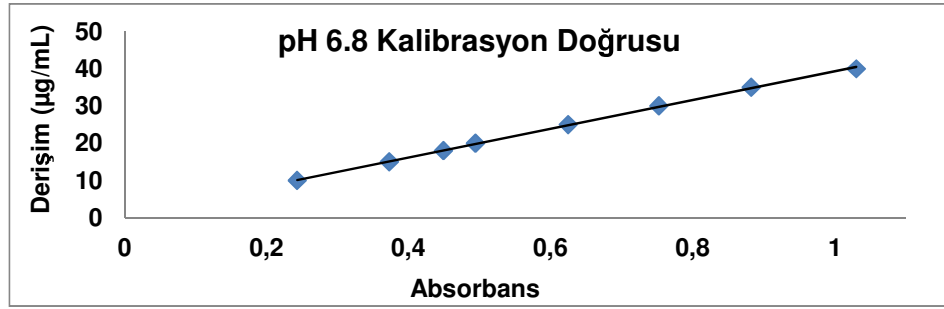
Şekil 10: Aseklöfenağın pH 4.5 tampondaki kalibrasyon doğrusu (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Tablo 29: Aseklöfenağın pH 4.5 tampondaki kalibrasyon denklemine ait parametreler

Derişim (µg/mL)= 38.5*Absorbans - 0.0231
R^2 (Determinasyon katsayısı)= 0.999 Regresyonun standart hatası= 0.135
Eğim= 38.5 Standart hata= 0.2 Alt sınır= 38.0 Üst sınır= 39.0
Kesişim= - 0,0231 Standart hata= 0.111 Alt sınır= - 0.295 Üst sınır= 0.249

Tablo 30: Aseklöfenağın pH 6.8 tamponda verdiği absorbans değerleri

Derişim (µg/mL)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Ort Abs	SS	SH	%BS	±GA
10	0.245	0.242	0.241	0.243	0.002	0.001	0.858	0.004
15	0.370	0.375	0.373	0.373	0.002	0.001	0.675	0.004
18	0.447	0.451	0.449	0.449	0.002	0.001	0.445	0.003
20	0.497	0.490	0.495	0.494	0.004	0.002	0.730	0.006
25	0.620	0.627	0.627	0.625	0.004	0.002	0.647	0.007
30	0.755	0.750	0.752	0.752	0.003	0.001	0.335	0.004
35	0.880	0.871	0.896	0.882	0.013	0.007	1.435	0.021
40	1.000	1.010	1.080	1.030	0.043	0.025	4.209	0.073



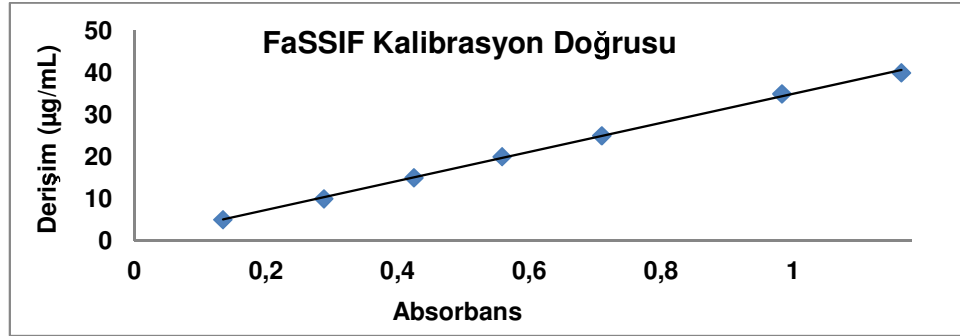
Şekil 11: Aseklöfenağın pH 6.8 tampondaki kalibrasyon doğrusu (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Tablo 31: Aseklöfenağın pH 6.8 tampondaki kalibrasyon denklemine ait parametreler

Derişim (µg/mL)= 38.5*Absorbans + 0.816
R^2 (Determinasyon katsayısı)= 0.999 Regresyonun standart hatası= 0.268
Eğim= 38.5 Standart hata= 0.4 Alt sınır= 37.5 Üst sınır= 39.4
Kesişim= 0,816 Standart hata= 0.248 Alt sınır= 0.209 Üst sınır= 1.423

Tablo 32: Aseklöfenağın FaSSIF ortamında verdiği absorbans değerleri

Derişim (µg/mL)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Ort Abs	SS	SH	%BS	±GA
5	0.135	0.137	0.132	0.135	0.003	0.001	1.870	0.004
10	0.288	0.291	0.285	0.288	0.003	0.002	1.040	0.005
15	0.424	0.426	0.424	0.425	0.001	0.001	0.272	0.002
20	0.565	0.546	0.564	0.558	0.011	0.006	1.920	0.018
25	0.708	0.711	0.710	0.710	0.002	0.001	0.215	0.003
35	0.984	0.985	0.980	0.983	0.003	0.002	0.269	0.004
40	1.150	1.170	1.170	1.160	0.012	0.007	0.995	0.020



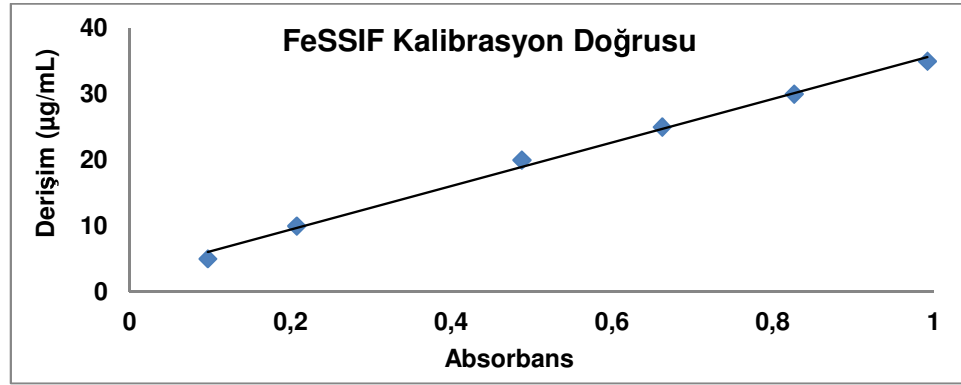
Şekil 12: Aseklöfenağın FaSSIF ortamındaki kalibrasyon doğrusu (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Tablo 33: Aseklöfenağın FaSSIF ortamındaki kalibrasyon denklemine ait parametreler

Derişim (µg/mL)= 34.6*Absorbans + 0.355
R^2 (Determinasyon katsayısı)= 0.999 Regresyonun standart hatası= 0.444
Eğim= 34.6 Standart hata= 0.5 Alt sınır= 33.4 Üst sınır= 35.9
Kesişim= 0.355 Standart hata= 0.342 Alt sınır= - 0.525 Üst sınır= 1.235

Tablo 34: Aseklöfenağın FeSSIF ortamında verdiği absorbans değerleri

Derişim (µg/mL)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Ort Abs	SS	SH	%BS	±GA
5	0.099	0.095	0.097	0.097	0.002	0.001	2.060	0.003
10	0.206	0.209	0.208	0.208	0.002	0.001	0.736	0.003
20	0.489	0.488	0.486	0.488	0.002	0.001	0.313	0.003
25	0.662	0.664	0.661	0.662	0.002	0.001	0.231	0.003
30	0.829	0.826	0.825	0.827	0.002	0.001	0.252	0.004
35	0.993	0.994	0.990	0.992	0.002	0.001	0.210	0.004



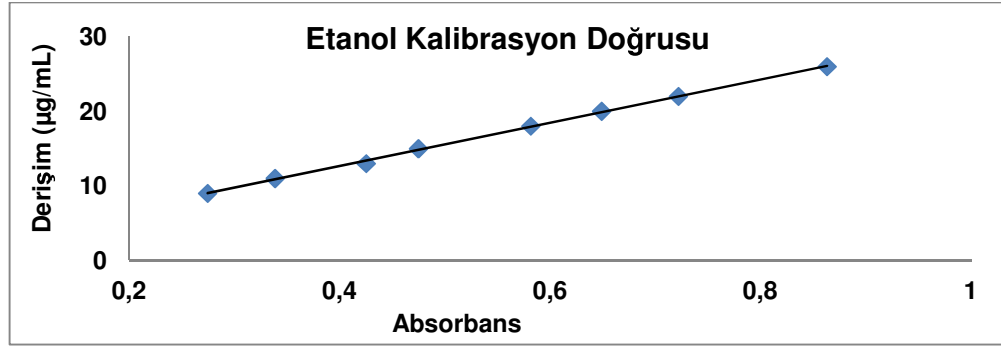
Şekil 13: Aseklöfenağın FeSSIF ortamındaki kalibrasyon doğrusu (n=3, $\bar{X} \pm SS$).

Tablo 35: Aseklöfenağın FeSSIF ortamındaki kalibrasyon denklemine ait parametreler

Derişim (µg/mL)= 33.1*Absorbans + 2.79
R^2 (Determinasyon katsayısı)= 0.996 Regresyonun standart hatası= 0.831
Eğim= 33.1 Standart hata= 1.1 Alt sınır= 30.1 Üst sınır= 36.0
Kesişim= 2.79 Standart hata= 0.67 Alt sınır= 0.93 Üst sınır= 4.66

Tablo 36: Aseklöfenağın etanolde verdiği absorbans değeri

Derişim (µg/mL)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Ort Abs	SS	SH	%BS	±GA
9	0.275	0.272	0.277	0.275	0.003	0.001	0.916	0.004
11	0.339	0.337	0.340	0.339	0.002	0.001	0.451	0.003
13	0.425	0.426	0.425	0.425	0.001	0.000	0.136	0.001
15	0.475	0.477	0.473	0.475	0.002	0.001	0.421	0.003
18	0.580	0.583	0.582	0.582	0.002	0.001	0.263	0.003
20	0.649	0.647	0.651	0.649	0.002	0.001	0.308	0.003
22	0.722	0.723	0.721	0.722	0.001	0.001	0.138	0.002
26	0.872	0.872	0.873	0.872	0.001	0.000	0.066	0.001



Şekil 14: Aseklöfenağın etanoldeki kalibrasyon doğrusu (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Tablo 37: Aseklöfenağın etanoldeki kalibrasyon denkleminde ait parametreler

Derişim (µg/mL)= 29.0*Absorbans + 1.05
R^2 (Determinasyon katsayısı)= 0.999 Regresyonun standart hatası= 0.194
Eğim= 29.0 Standart hata= 0.367 Alt sınır= 28.1 Üst sınır= 29.9
Kesişim= 1.05 Standart hata= 0.210 Alt sınır= 0.536 Üst sınır= 1.56

4.4. Aseklofenağın Spektrofotometrik Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

Aseklofenağa ait analitik yöntem validasyonu yapılmış ve miktar tayini yöntemi doğrusallık, doğruluk, kesinlik, saptama sınırı, özgünlük-seçicilik, dayanıklılık açısından incelenmiştir.

4.4.1. Doğrusallık (Linearity)

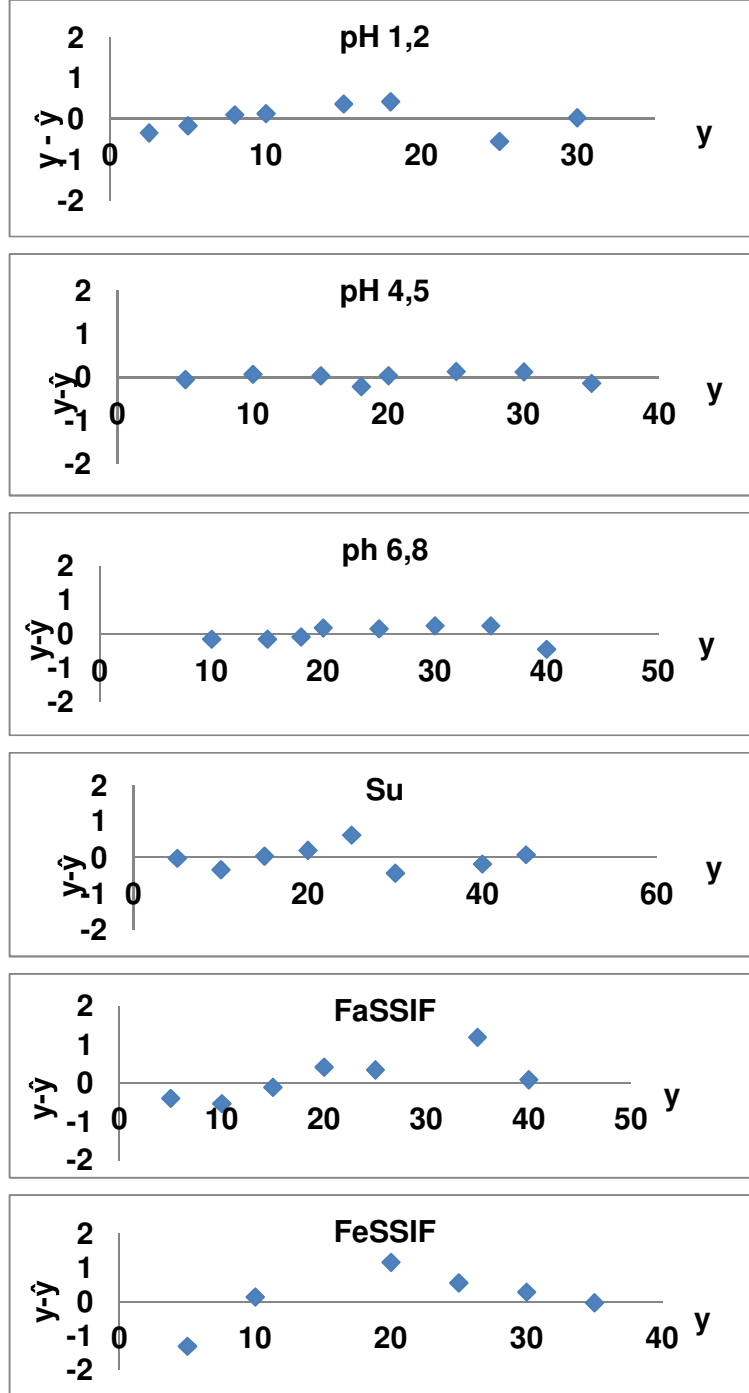
‘Gereç ve Yöntem – 3.2.1.4’ numaralı bölümde anlatıldığı gibi, aseklofenağın su, pH1.2; 4.5; 6.8, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarındaki ve etanoldeki kalibrasyon eşitliği, derişimlere karşı okunan absorbans değerleri ile hesaplanmıştır. Yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 38-40’ta ve Şekil 15, 16’da verilmiştir. Grafiklerden de anlaşılacağı gibi bütün noktalar doğru çevresinde rastgele dağılmış durumdadır. Hesapla bulunan t değerleri, tablodan okunan t değerlerinden küçük olduğu için, bu doğruların eğiminin %975 olasılıkla (çift yönlü olduğu için), "0" kabul edilebileceğine karar verilmiştir. Kısaca y ile ($y - \hat{y}$) değerleri arasında herhangi bir korelasyon olmadığı saptanmıştır. Bu bize regresyonun doğrusal olduğunu göstermiştir.

Tablo 38: pH 1.2; 4.5 ve 6.8 ortamlarında her bir derişim (y) için hesaplanan şapka ($\hat{y}$) değerleri, y ile ($y - \hat{y}$) arasındaki regresyon sonuçları

pH 1.2			pH 4.5			pH 6.8		
y ($\mu\text{g/mL}$)	$\hat{y}$	$y - \hat{y}$	y ($\mu\text{g/mL}$)	$\hat{y}$	$y - \hat{y}$	y ($\mu\text{g/mL}$)	$\hat{y}$	$y - \hat{y}$
2.5	2.84	-0.339	5	5.05	-0.0497	10	10.1	-0.150
5	5.16	-0.164	10	9.93	0.0700	15	15.1	-0.150
8	7.90	0.102	15	15.0	0.0357	18	18.1	-0.0857
10	9.87	0.129	18	18.2	-0.213	20	19.8	0.183
15	14.6	0.365	20	20.0	0.0399	25	24.8	0.158
18	17.6	0.427	25	24.9	0.134	30	29.8	0.247
25	25.5	-0.546	30	29.9	0.125	35	34.8	0.247
30	30.0	0.0303	35	35.1	-0.140	40	40.4	-0.446
Eğim = 0.00120			Eğim = 0.000166			Eğim = 0.000605		
Standart Hata = 0.0141			Standart Hata = 0.00508			Standart Hata = 0.00983		
$t_{\text{hesap}} = 0.000957$			$t_{\text{hesap}} = 0.327$			$t_{\text{hesap}} = 0.615$		
$t_{\text{tablo}} = 2.4469$			$t_{\text{tablo}} = 2.4469$			$t_{\text{tablo}} = 2.4469$		
Serbestlik derecesi = 6			Serbestlik derecesi = 6			Serbestlik derecesi = 6		

Tablo 39: Suda, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında her bir derişim (y) için hesaplanan şapka ($\hat{y}$) değerleri, y ile ($y - \hat{y}$) arasındaki regresyon sonuçları

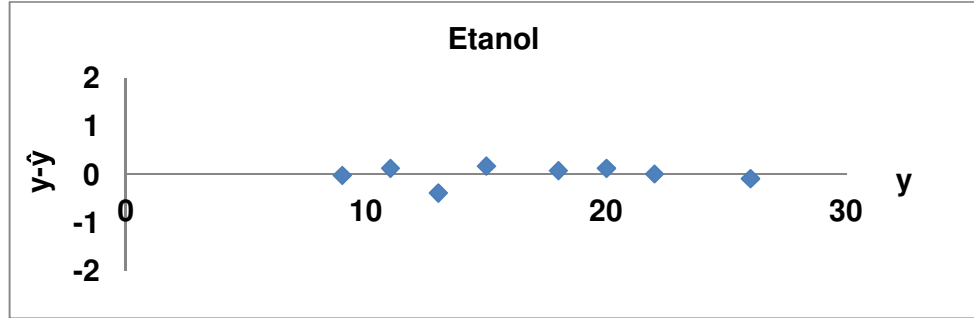
Su			FaSSIF			FeSSIF		
y (µg/mL)	$\hat{y}$	y- $\hat{y}$	y (µg/mL)	$\hat{y}$	y- $\hat{y}$	y (µg/mL)	$\hat{y}$	y- $\hat{y}$
5	5.02	-0.0158	5	5.39	-0.394	5	6.30	-1.30
10	10.3	-0.332	10	10.5	-0.530	10	9.85	0.146
15	15.0	0.0423	15	15.1	-0.109	20	18.8	1.16
20	19.8	0.203	20	19.6	0.413	25	24.4	0.561
25	24.4	0.627	25	24.6	0.343	30	29.7	0.289
30	30.4	-0.430	35	33.8	1.18	35	35.0	-0.0249
40	40.2	-0.174	40	39.9	0.0880			
45	44.9	0.0851						
Eğim = 0.000581			Eğim = 0.032			Eğim = 0.0339		
Standart Hata =0.00961			Standart Hata = 0.0142			Standart Hata = 0.0311		
$t_{\text{hesap}} = 0.0605$			$t_{\text{hesap}} = 2.26$			$t_{\text{hesap}} = 1.09$		
$t_{\text{tablo}} = 2.4469$			$t_{\text{tablo}} = 2.5706$			$t_{\text{tablo}} = 2.7764$		
Serbestlik derecesi = 6			Serbestlik derecesi = 5			Serbestlik derecesi = 4		



Şekil 15: pH 1.2; 4.5; 6.8, su, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında her bir derişim (y) ile artık değerler ($y - \hat{y}$) arasındaki ilişki

Tablo 40: Etanolde her bir derişim (y) için hesaplanan şapka ($\hat{y}$) değerleri, y ile ($y - \hat{y}$) arasındaki regresyon sonuçları

Etanol		
Y	$\hat{y}$	$y - \hat{y}$
9	9.02	-0.0153
11	10.9	0.129
13	13.4	-0.385
15	14.8	0.175
18	17.9	0.08167
20	19.9	0.129
22	22.0	0.012
26	26.1	-0.0867
Eğim = 0.00127		
Standart Hata = 0.0126		
$t_{\text{hesap}} = 0.100$		
$t_{\text{tablo}} = 2.4469$		
Serbestlik derecesi = 6		



şekil 16: Etanolde her bir derişim (y) ile artık değerler ($y - \hat{y}$) arasındaki ilişki

4.4.2. Doğruluk (Accuracy)

Analitik yöntemin doğruluğu ve geri kazanımına ait sonuçlar Tablo 41-47’de gösterilmiştir.

Tablo 41: Aseklöfenağın analizine ait doğruluk sonuçları (Çözünme ortamı: su)

Teorik Derişimler								
5 µg/mL			25 µg/mL			45 µg/mL		
Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde	Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde	Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde
0.112	4.98	99.6	0.506	24.4	97.8	0.920	44.9	99.7
0.114	5.08	101.6	0.504	24.3	97.4	0.920	44.9	99.7
0.112	4.98	99.6	0.504	24.3	97.4	0.922	45.0	100
Ortalama Derişim = 5.02			Ortalama Derişim = 24.4			Ortalama Derişim = 44.9		
SS = 0.06			SS = 0.1			SS = 0.1		
SH = 0.03			SH = 0.0			SH = 0.0		
%BS = 1.14			%BS = 0.234			%BS = 0.127		

Tablo 42: Aseklöfenağın analizine ait doğruluk sonuçları (Çözünme ortamı: pH 1.2)

Teorik Derişimler								
2.5 µg/mL			15 µg/mL			30 µg/mL		
Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde	Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde	Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde
0.07	2.87	114.9	0.415	14.6	97.4	0.866	29.9	99.9
0.069	2.84	113.6	0.416	14.6	97.6	0.867	29.9	99.9
0.068	2.80	112.2	0.416	14.6	97.6	0.866	29.9	99.9
Ortalama Derişim = 2.84			Ortalama Derişim = 14.6			Ortalama Derişim = 30.0		
SS = 0.03			SS = 0.0			SS = 0.0		
SH = 0.02			SH = 0.0			SH = 0.0		
%BS = 1.20			%BS = 0.134			%BS = 0.066		

Tablo 43: Aseklöfenağın analizine ait doğruluk sonuçları (Çözünme ortamı: pH 4.5)

Teorik Derişimler								
5 µg/mL			20 µg/mL			35 µg/mL		
Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde	Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde	Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde
0.131	5.02	100.5	0.518	19.9	99.7	0.912	35.1	100.3
0.132	5.06	101.2	0.518	19.9	99.7	0.913	35.2	100.4
0.132	5.06	101.2	0.520	20.0	100.1	0.913	35.2	100.4
Ortalama Derişim = 5.05			Ortalama Derişim = 20.0			Ortalama Derişim = 35.1		
SS = 0.02			SS = 0.0			SS = 0.0		
SH = 0.01			SH = 0.0			SH = 0.0		
%BS = 0.440			%BS = 0.222			%BS = 0.0633		

Tablo 44: Aseklöfenağın analizine ait doğruluk sonuçları (Çözünme ortamı: pH 6.8)

Teorik Derişimler								
10 µg/mL			25 µg/mL			40 µg/mL		
Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde	Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde	Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde
0.245	10.2	102.4	0.627	24.9	99.7	1.01	39.8	99.4
0.242	10.1	101.2	0.627	24.9	99.7	1.01	39.7	99.2
0.241	10.1	100.8	0.624	24.8	99.2	1.02	39.8	99.6
Ortalama Derişim = 10.1			Ortalama Derişim = 24.9			Ortalama Derişim = 39.8		
SS = 0.1			SS = 0.1			SS = 0.1		
SH = 0.0			SH = 0.0			SH = 0.0		
%BS = 0.789			%BS = 0.268			%BS = 0.193		

Tablo 45: Aseklöfenağın analizine ait doğruluk sonuçları (Çözünme ortamı: FaSSIF)

Teorik Derişimler								
5 µg/mL			25 µg/mL			40 µg/mL		
Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde	Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde	Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde
0.135	5.40	108.1	0.708	24.6	98.4	1.151	40.2	100.4
0.137	5.47	109.4	0.711	24.7	98.8	1.172	40.9	102.3
0.132	5.30	106.1	0.710	24.7	98.7	1.170	40.8	102.1
Ortalama Derişim = 5.39			Ortalama Derişim = 24.7			Ortalama Derişim = 40.6		
SS = 0.08			SS = 0.1			SS = 0.4		
SH = 0.05			SH = 0.0			SH = 0.2		
%BS = 1.56			%BS = 0.208			%BS = 0.987		

Tablo 46: Aseklöfenağın analizine ait doğruluk sonuçları (Çözünme ortamı: FeSSIF)

Teorik Derişimler								
5 µg/mL			25 µg/mL			50 µg/mL		
Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde	Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde	Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde
0.099	6.37	127.3	0.829	29.8	119.1	0.993	35.6	101.9
0.095	6.24	124.7	0.826	29.7	118.7	0.994	35.7	101.9
0.097	6.30	126.0	0.825	29.6	118.6	0.990	35.6	101.6
Ortalama Derişim = 6.30			Ortalama Derişim = 29.7			Ortalama Derişim = 35.6		
SS = 0.06			SS = 0.1			SS = 0.1		
SH = 0.04			SH = 0.0			SH = 0.0		
%BS = 1.02			%BS = 0.225			%BS = 0.193		

Tablo 47: Aseklöfenağın analizine ait doğruluk sonuçları (Çözünme ortamı: Etanol)

Teorik Derişimler								
9 µg/mL			18 µg/mL			26 µg/mL		
Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde	Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde	Absorbans	Pratik Derişim (µg/mL)	%Geri Elde
0,275	9.03	100.3	0.580	17.9	99.2	0.862	26.0	100.2
0,272	8.94	99.3	0.583	17.9	99.8	0.865	26.1	100.5
0,277	9.08	100.9	0.582	17.9	99.6	0.863	26.1	100.3
Ortalama Derişim = 9.01			Ortalama Derişim = 17.9			Ortalama Derişim = 26.1		
SS = 0.07			SS = 0.0			SS = 0.0		
SH = 0.04			SH = 0.0			SH = 0.0		
%BS = 0.809			%BS = 0.247			%BS = 0.170		

4.4.3. Kesinlik (Precision)

Aseklöfenağa ait kesinlik çalışmasında elde edilen sonuçlar

Tablo 48-50'de gösterilmiştir.

Tablo 48: pH 1.2; 4.5 ve 6.8 ortamlarında aseklöfenağa ait kesinlik sonuçları

pH 1.2				pH 4.5			pH 6.8		
Derişim (µg/mL)	2.5	15	30	5	20	35	10	25	40
Absorbans	0.07	0.415	0.866	0.131	0.518	0.912	0.242	0.627	1.01
	0.069	0.416	0.867	0.132	0.518	0.913	0.241	0.627	1.08
	0.068	0.416	0.866	0.132	0.52	0.913	0.243	0.626	1.03
Ortalama Absorbans	0.069	0.416	0.866	0.132	0.519	0.913	0.242	0.627	1.04
SS	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.04
SH	0.001	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.001	0.000	0.02
%BS	1.45	0.138	0.0666	0.438	0.223	0.0633	0.413	0.0921	3.47

Tablo 49: Suda, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında aseklofenağa ait kesinlik sonuçları

	Su			FaSSIF			FeSSIF		
Derişim (µg/mL)	5	25	45	5	25	40	5	25	35
Absorbans	0.112	0.506	0.920	0.135	0.708	1.15	0.099	0.662	0.993
	0.114	0.504	0.920	0.137	0.711	1.17	0.095	0.664	0.994
	0.112	0.504	0.922	0.132	0.710	1.17	0.097	0.661	0.990
Ortalama Absorbans	0.113	0.505	0.921	0.135	0.710	1.16	0.097	0.662	0.992
SS	0.001	0.001	0.001	0.003	0.002	0.0116	0.002	0.002	0.00208
SH	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.00669	0.001	0.001	0.00120
%BS	1.02	0.229	0.125	1.87	0.215	0.995	2.06	0.231	0.210

Tablo 50: Etanolde aseklofenağa ait kesinlik sonuçları

Etanol			
Derişim (µg/mL)	9	18	26
Absorbans	0.275	0.580	0.862
	0.272	0.583	0.865
	0.277	0.582	0.863
Ort. Abs.	0.275	0.582	0.863
SS	0.003	0.002	0.002
SH	0.001	0.001	0.001
%BS	0.916	0.263	0.177

4.4.4. Duyarlılık Sınırı (Limit of Detection, LOD) ve Saptama Sınırı (Limit of Quantification, LOQ)

Analitik yöntemin duyarlılık sınırının ve saptama sınırının belirlenmesi için 'Gereç ve Yöntem – 3.2.1.4' numaralı bölümde anlatılan yöntem uygulanmıştır. Sonuçlar Tablo 51'de verilmiştir.

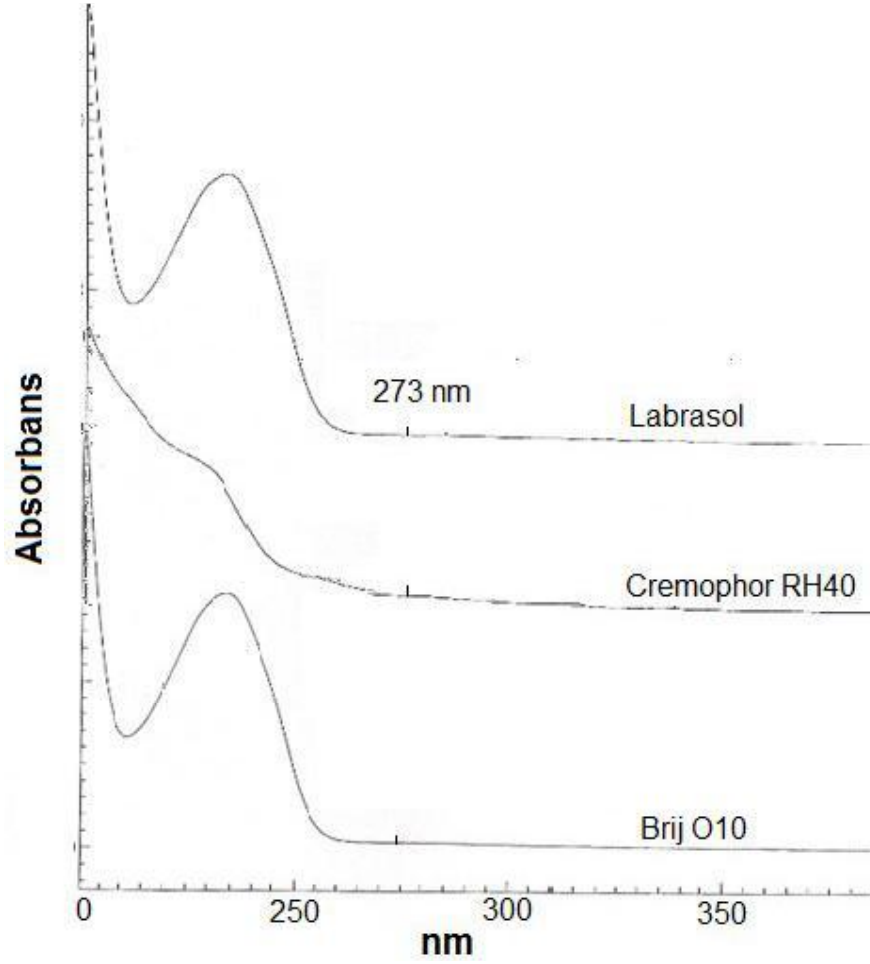
Tablo 51: Analitik yöntemin duyarlılık sınırı ve saptama sınırı değerleri

Ortam	Kalibrasyon denklemi	Ortamda aseklofenak yokken okunacak teorik absorbans	Saptama sınırı (µg/mL)	Duyarlılık sınırı (µg/mL)
Su	$\mu\text{g/mL}=49.4 \cdot \text{Abs}-0.548$	0.0117	0.0115	0.00381
pH 1.2	$\mu\text{g/mL}=34.0 \cdot \text{Abs}+0.491$	-0.0144	0.00999	0.00330
pH 4.5	$\mu\text{g/mL}=38.5 \cdot \text{Abs}-0.0231$	0.0006	0.00577	0.00191
pH 6.8	$\mu\text{g/mL}=38.5 \cdot \text{Abs}+0.816$	-0.0212	0.00577	0.00191
FaSSIF	$\mu\text{g/mL}=33.5 \cdot \text{Abs}+0.882$	-0.0263	0.00664	0.00219
FeSSIF	$\mu\text{g/mL}=32.1 \cdot \text{Abs}+3.19$	-0.0994	0.00577	0.00191
Etanol	$\mu\text{g/mL}=29.0 \cdot \text{Abs}+1.05$	-0.0362	0.0252	0.00831

4.4.5. Özgünlük-Seçicilik (Specificity-Selectivity)

Spektrofotometrik miktar tayini yönteminin, sadece analiz edilmesi istenen yapıyı saptadığını göstermek için, sulu ortamda çözünen Labrasol® (sindirilen YEM), Cremophor® RH40 (sindirilmeyen YEM) ve Brij® O10'un (sindirilmeyen YYEM) spektrumları incelenmiştir.

Aseklofenağın maksimum dalga boyunda (273 nm), bu yardımcı maddelerin herhangi bir pik vermediği ve yöntemin etkin maddeye özgü olduğu bulunmuştur (Şekil 17).



Şekil 17: Labrasol®'ün, Cremophor® RH40'ın ve Brij® O10'un sudaki çözeltileri için UV spektrumu

4.4.6. Dayanıklılık (Stability)

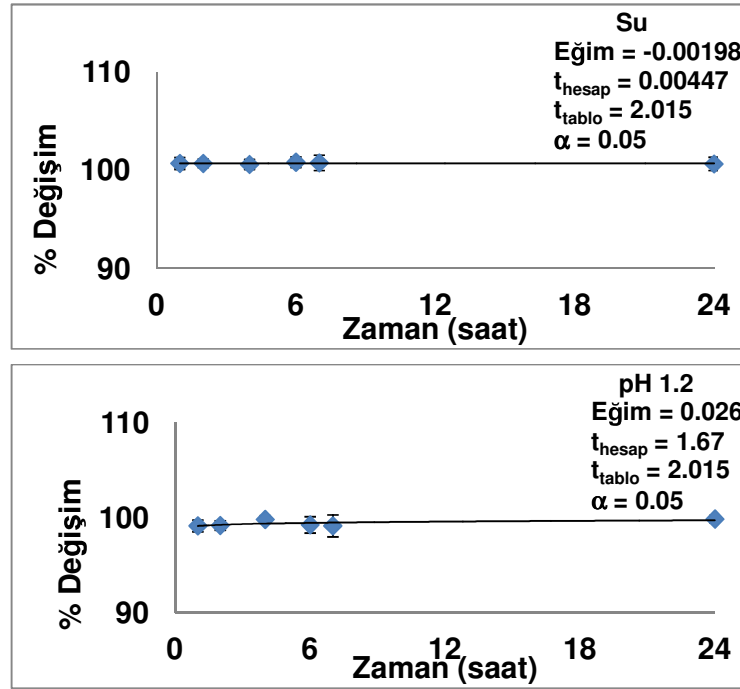
Aseklöfenağın dayanıklılığını incelemek amacı ile 'Gereç ve Yöntem – 3.2.1.4' numaralı bölümde anlatılan yöntem uygulanmıştır. Zamana karşılık derişim değeri ve derişim değeriindeki % değışimler hesaplanmıştır (Tablo 52).

Zamana karşı % değışim değeriini gösteren grafikler çizilmiş ve bulunan % değışim değeriinin zamanla değışmediğini

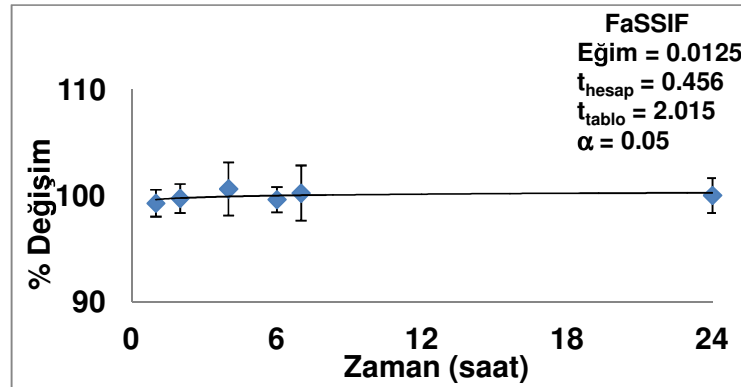
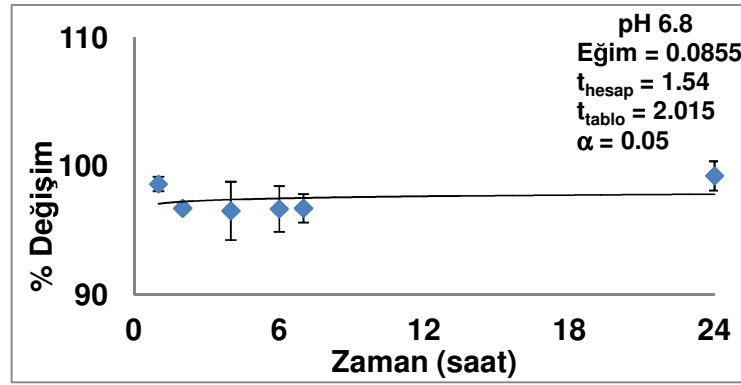
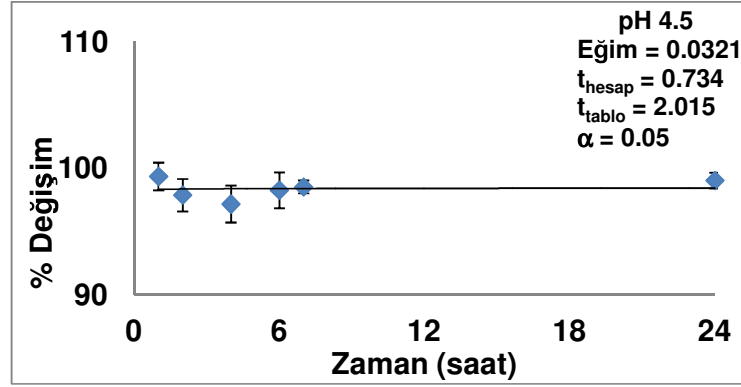
göstermek için, bu grafiklerin eğimlerinin sıfırdan farklı olup olmadığı istatistiksel açıdan incelenmiştir (Şekil 18-20).

Tablo 52: Aseklöfenağın farklı ortamlardaki dayanıklılığını gösteren % değişim değerleri (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

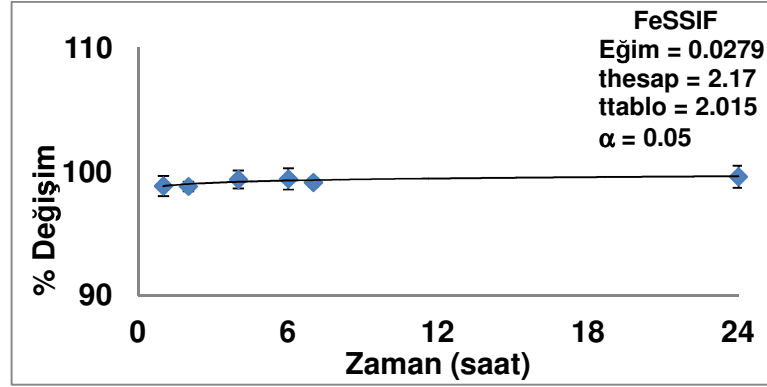
Başlangıçta kullanılan derişimler ($\mu\text{g/mL}$)	30	30	20	50	20	30
Zaman (saat)	Derişimlerdeki % değişim değerleri					
	Su	pH 1.2	pH 4.5	pH 6.8	FaSSIF	FeSSIF
1	100.7 $\pm$ 0.6	99.1 $\pm$ 0.6	101.9 $\pm$ 2.0	97.4 $\pm$ 2.2	101.0 $\pm$ 3.8	98.8 $\pm$ 0.8
2	100.7 $\pm$ 0.4	99.2 $\pm$ 0.5	97.0 $\pm$ 4.1	96.7 $\pm$ 0.3	101.4 $\pm$ 3.8	98.8 $\pm$ 0.4
4	100.6 $\pm$ 0.5	99.8 $\pm$ 0.4	97.9 $\pm$ 2.7	96.5 $\pm$ 2.3	100.7 $\pm$ 2.5	99.4 $\pm$ 0.7
6	100.8 $\pm$ 0.5	99.3 $\pm$ 0.9	101.3 $\pm$ 3.9	96.7 $\pm$ 1.8	100.8 $\pm$ 3.0	99.4 $\pm$ 0.9
7	100.8 $\pm$ 0.8	99.1 $\pm$ 1.2	104.9 $\pm$ 4.4	96.7 $\pm$ 1.1	101.0 $\pm$ 2.9	99.1 $\pm$ 0.3
24	100.7 $\pm$ 0.7	99.9 $\pm$ 0.4	102.2 $\pm$ 1.1	99.2 $\pm$ 1.1	101.7 $\pm$ 3.3	99.6 $\pm$ 0.9



Şekil 18: Aseklöfenağın su ve pH 1.2 ortamlarında 24 saat süresince izlenen % değişim değerleri (n=3, $\bar{X} \pm SS$)



Şekil 19: Aseklufenagolün pH 4.5, pH 6.8 tamponunda ve FaSSIF ortamında 24 saat süresince izlenen %değişim değerleri (n=3, $\bar{X} \pm SS$)



Şekil 20: Aseklofenağın FeSSIF ortamında 24 saat süresince izlenen %değişim değerleri (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

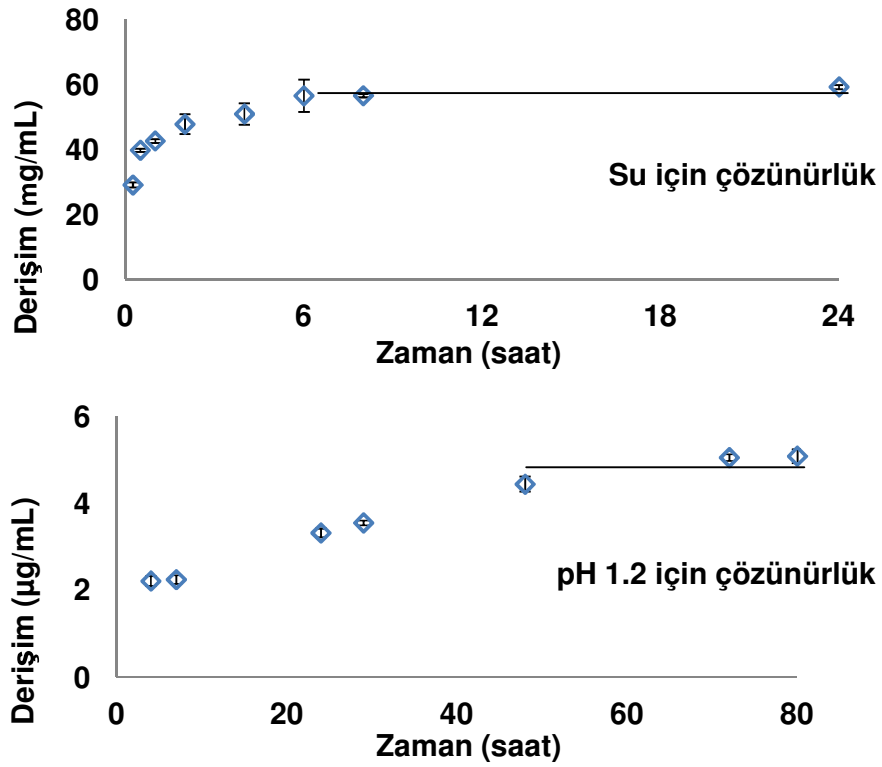
4.5. Aseklofenağın pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF ve FeSSIF Ortamlarındaki Çözünürlüğünün Saptanmasına Ait Bulgular

Aseklofenağın sudaki, pH 1.2; 4.5; 6.8, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarındaki çözünürlüğü 'Gereç ve Yöntem – 3.2.1.5' numaralı bölümde anlatıldığı gibi yapılmıştır. Çözünürlük değerlerinin saptanması için önce derişim–zaman grafiğinde, x eksenine paralel devam eden noktalar saptanmıştır. Çalışılan ortamlar için son üç noktanın grafiklerde x eksenine paralel olduğu yani değişmediği gözlenmiştir. Çözünürlük deneyinde bulunan değerler Tablo 53'te, çizilen grafikler ise Şekil 21, 22'de verilmiştir.

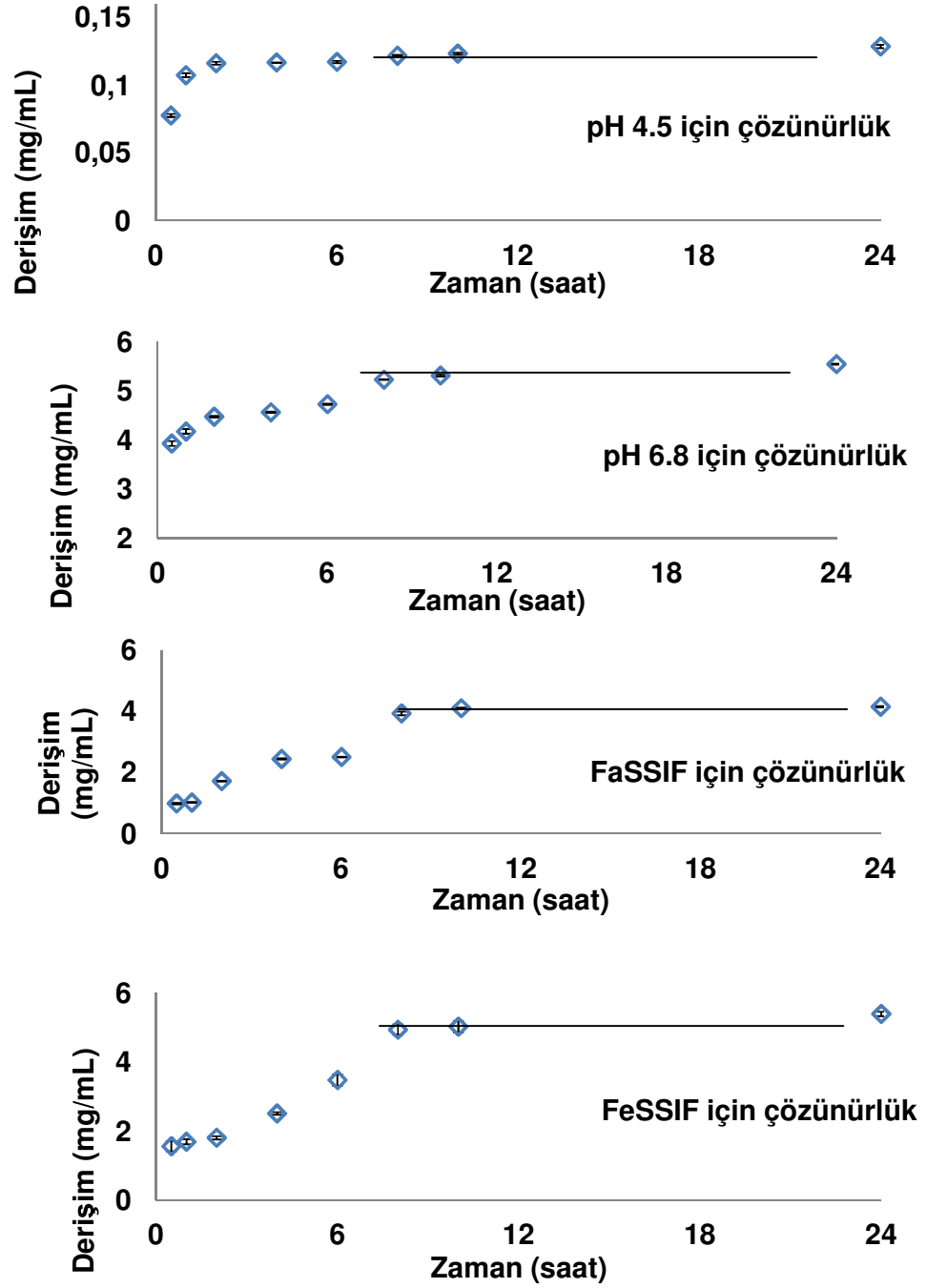
Tablo 54'te gösterilen çözünürlük değerleri son üç noktanın ortalaması alınarak bulunan değerlerdir.

Tablo 53: Aseklöfenağın 37°C’de farklı ortamlarda yapılan çözünürlük çalışmasına ait veriler (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Saat	Derişimler (mg/mL)					Saat	Derişimler (µg/mL)
	Su	pH 4.5	pH 6.8	FaSSIF	FeSSIF		pH 1.2
0.5	29.1±0.8	0.078±0.001	3.93±0.05	0.989±0.027	1.56±0.15	4	2.2±0.1
1	39.8±0.5	0.107±0.002	4.18±0.05	1.03±0.01	1.70±0.07	7	2.3±0.1
2	42.7±0.6	0.116±0.001	4.48±0.02	1.72±0.01	1.81±0.05	24	3.3±0.1
4	47.9±3.1	0.117±0.000	4.56±0.01	2.45±0.02	2.51±0.04	29	3.6±0.1
6	51.0±3.3	0.117±0.001	4.73±0.01	2.51±0.01	3.48±0.17	48	4.4±0.2
8	56.6±5.0	0.122±0.001	5.23±0.01	3.94±0.06	4.94±0.15	72	5.1±0.1
10	56.6±0.6	0.123±0.001	5.31±0.02	4.11±0.02	5.03±0.16	80	5.1±0.2
24	59.3±0.6	0.129±0.001	5.54±0.01	4.16±0.02	5.40±0.06		



Şekil 21: Aseklöfenağın 37°C’de su ve pH 1.2 ortamlarındaki çözünürlüğü (n=3, $\bar{X} \pm SS$)



Şekil 22: Aseklufenagolün 37°C'de pH 4.5; 6.8 tamponlarındaki, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarındaki çözünürlüğü (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

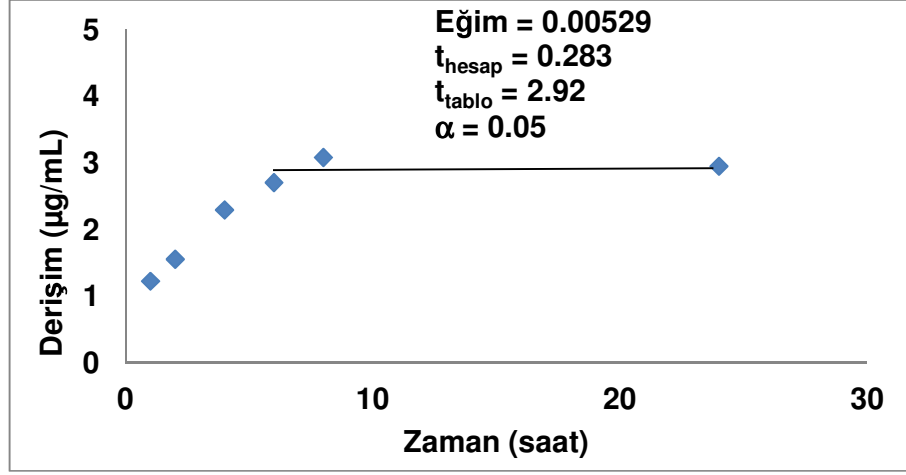
Tablo 54: Aseklofenağın 37°C’de farklı ortamlardaki çözünürlük değerleri (n=3)

Ortam	Su	pH 1.2	pH 4.5	pH 6.8	FaSSIF	FeSSIF
Çözünürlük (µg/mL)	57.5	4.87	124.6	5361.6	4067.6	5124.9
SS	1.6	0.36	3.7	164.2	115.7	241.9
%BS	2.7	7.45	2.87	3.06	2.84	4.72

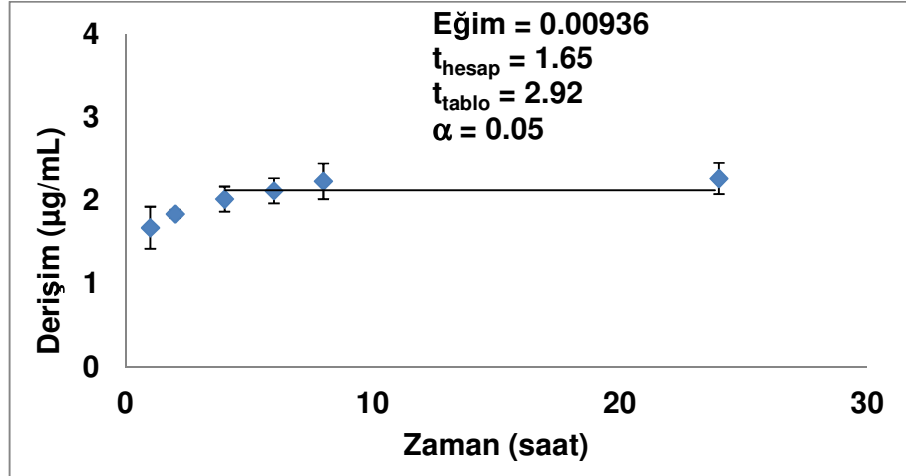
4.6. Aseklofenağın Yağ/Su Partisyon Katsayısının Saptanması

Aseklofenağın Labrafac™ Lipophile WL1349/su ve Maisine® 35-1/su partisyon katsayılarının saptanması için yapılan işlemlerin sonucunda zamana karşılık su fazının aseklofenak derişimi grafiğe geçirilmiştir (Şekil 23, 24). Çalışılan ortamlar için grafiklerdeki son üç noktanın x eksenine paralel olduğu yani değişmediği gözlenmiştir. Bu noktaların oluşturduğu doğrunun eğiminin sıfırdan farklı olmadığı istatistiksel olarak da gösterilmiştir.

Labrafac™ Lipophile WL1349/su partisyon katsayısı için son üç noktanın ortalaması alınarak, Maisine® 35-1/su partisyon katsayısı için son dört noktanın ortalaması alınarak bulunan partisyon katsayısı değerleri Tablo 55’te verilmiştir.



Şekil 23: Labrafac™ Lipophile WL 1349/su partision katsayısı deneyinde kullanılan su fazının aseklofenak derişimindeki değişim grafiği (n=3, $\bar{X} \pm SS$)



Şekil 24: Maisine® 35-1/su partision katsayısı deneyinde kullanılan su fazının aseklofenak derişimindeki değişim grafiği (n=3, $\bar{X} \pm SS$).

Tablo 55: Aseklofenağın yağ/su partision katsayısı değerleri (37°C), (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Yağ/Su	P	log P
Labrafac™ Lipophile WL 1349 / Su	87.1±1.07	1.94±0.03
Maisine® 35-1 / Su	114.8±1.05	2.06±0.02

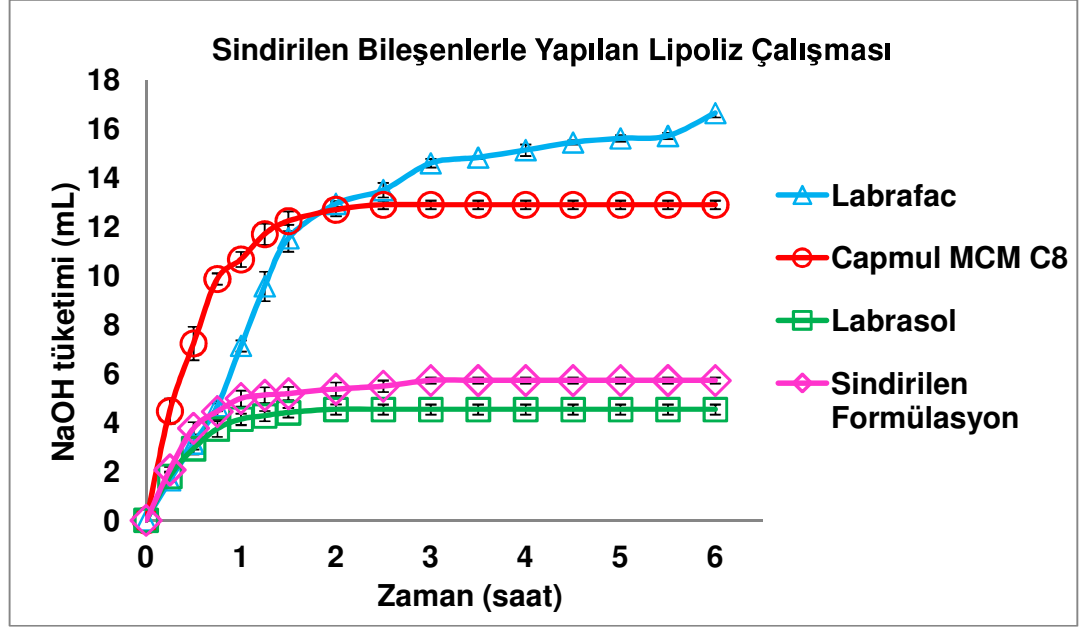
4.7. Oluşturulan Formülasyonlara Ait Bulgular

4.7.1. Lipoliz Çalışması

Yapılan çalışma sonucunda sindirilen ve sindirilmeyen bileşenler ve formülasyonlar için harcanan NaOH miktarı zamana karşı grafiğe geçirilmiştir (Tablo 56 ve 57, Şekil 25 ve 26).

Tablo 56: Sindirilen bileşenlerle ve bu bileşenlerle hazırlanan formülasyonla yapılan lipoliz çalışması sonucunda her bir zaman aralığında kümülatif olarak harcanan NaOH miktarları (n=3 $\bar{X} \pm SS$)

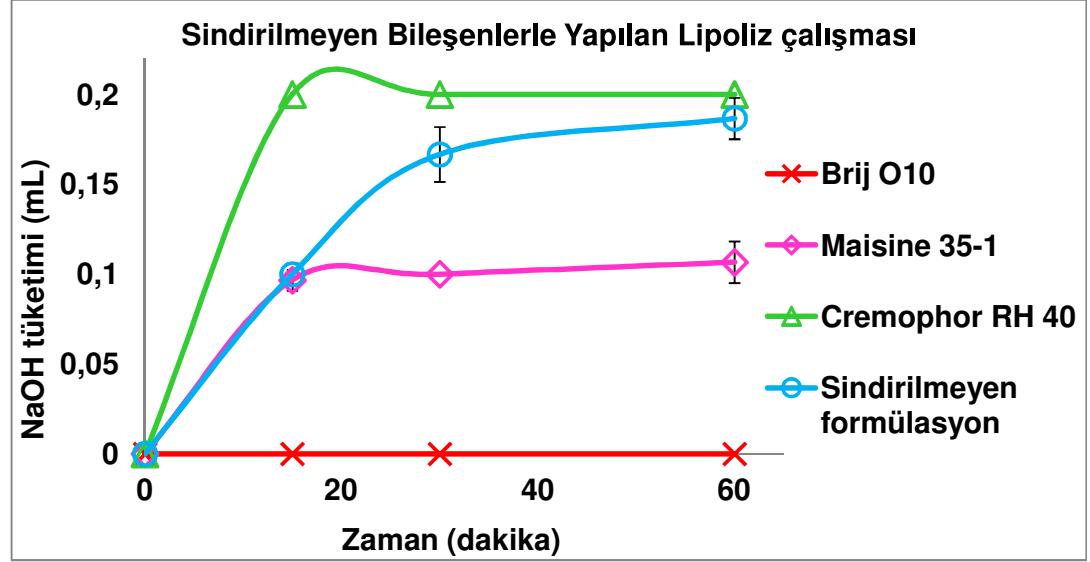
Dakika	Labrafac™ Lipophile WL 1349 (Yağ)	Capmul® MCM C8 (YEM)	Labrasol® (YYEM)	Sindirilen formülasyon
	Harcanan NaOH miktarları (mL)			
0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
15	1.63±0.06	4.47±0.50	1.8±0.2	2.07±0.12
30	3.13±0.23	7.23±0.68	2.93±0.23	3.77±0.25
45	4.67±0.21	9.87±0.23	3.73±0.32	4.45±0.33
60	7.13±0.23	10.7±0.3	4.13±0.23	4.98±0.33
75	9.57±0.60	11.7±0.4	4.27±0.21	5.12±0.33
90	11.5±0.55	12.2±0.4	4.40±0.20	5.18±0.28
120	12.9±0.1	12.7±0.3	4.53±0.21	5.37±0.28
150	13.5±0.3	12.9±0.2	4.53±0.21	5.48±0.24
180	14.6±0.2	12.9±0.2	4.53±0.21	5.72±0.13
210	14.8±0.1	12.9±0.2	4.53±0.21	5.72±0.13
240	15.1±0.2	12.9±0.2	4.53±0.21	5.72±0.13
270	15.5±0.1	12.9±0.2	4.53±0.21	5.72±0.13
300	15.6±0.1	12.9±0.2	4.53±0.21	5.72±0.13
330	15.7±0.1	12.9±0.2	4.53±0.21	5.72±0.13
360	16.7±0.2	12.9±0.2	4.53±0.21	5.72±0.13



Şekil 25: Sindirilen bileşenlerle ve bu bileşenlerle hazırlanan formülasyonla yapılan lipoliz çalışması sonucunda zamana karşı sarf edilen NaOH miktarı (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Tablo 57: Sindirilmeyen bileşenlerle ve bu bileşenlerle hazırlanan formülasyonla yapılan lipoliz çalışması sonucunda her bir zaman aralığında kümülatif olarak harcanan NaOH miktarları (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Dakika	Maisine® 35-1 (Yağ)	Cremophor® RH 40 (YEM)	Brij® O10 (YYEM)	Sindirilmeyen formülasyon
	Harcanan NaOH miktarları (mL)			
0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
15	0.097±0.006	0.2±0.0	0.0±0.0	0.1±0.0
30	0.1±0.0	0.2±0.0	0.0±0.0	0.167±0.015
60	0.107±0.012	0.2±0.0	0.0±0.0	0.187±0.012

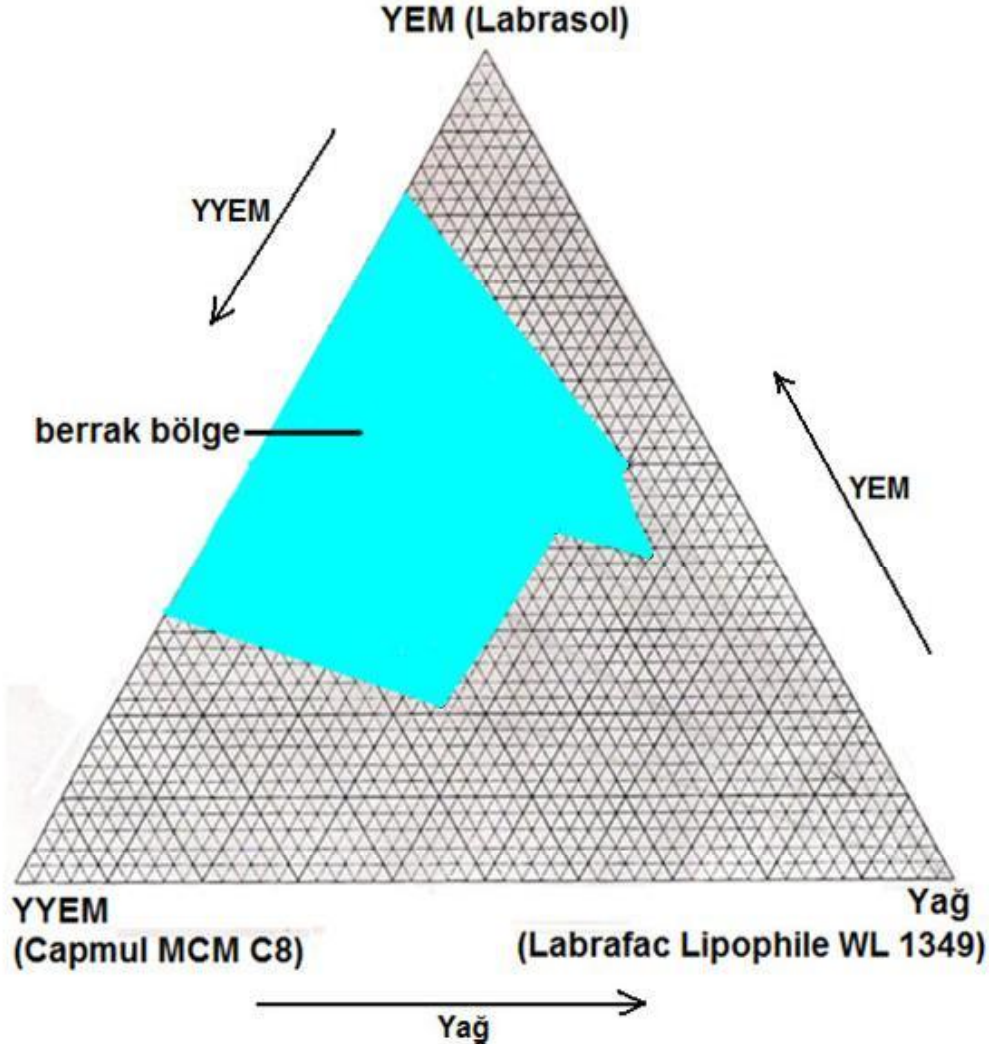


Şekil 26: Sindirilmeyen bileşenlerle ve bu bileşenlerle hazırlanan formülasyonla yapılan lipoliz çalışması sonucunda zamana karşı sarf edilen NaOH miktarı (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

4.7.2. Sindirilen ve Sindirilmeyen Bileşenlerle Formülasyon Geliştirme Çalışması

1.Adım: Sindirilebilir özellikteki yağ (Labrafac™ Lipophile WL1349, HLB:2); YEM (Labrasol®, HLB:14) ve YYEM (Capmul® MCM C8, HLB:5.5) kullanılarak üçgen faz diyagramlarının çıkarılması işlemi ‘Gereç ve Yöntem – 3.2.2.2’ numaralı bölümde anlatıldığı gibi yapılmıştır. Böylece bu üç maddenin berrak olarak bir karışım oluşturabildiği alan tespit edilmiştir (Şekil 27).

Sindirilmeyen maddelerin birbirleriyle karışabilirlik durumunun belirlenmesi için, sindirilebilir bileşenlerin üçgen faz diyagramı çıkarılışına benzer oranlarda hazırlanan karışımlar ile Maisine® 35-1, Cremophor® RH40 ve Brij® O10 bileşenlerinin birbiriyle karışabilirlik durumu gözlenmiştir. Bu üç bileşenin birbirleriyle her oranda karışabilir olduğu bulunmuştur.



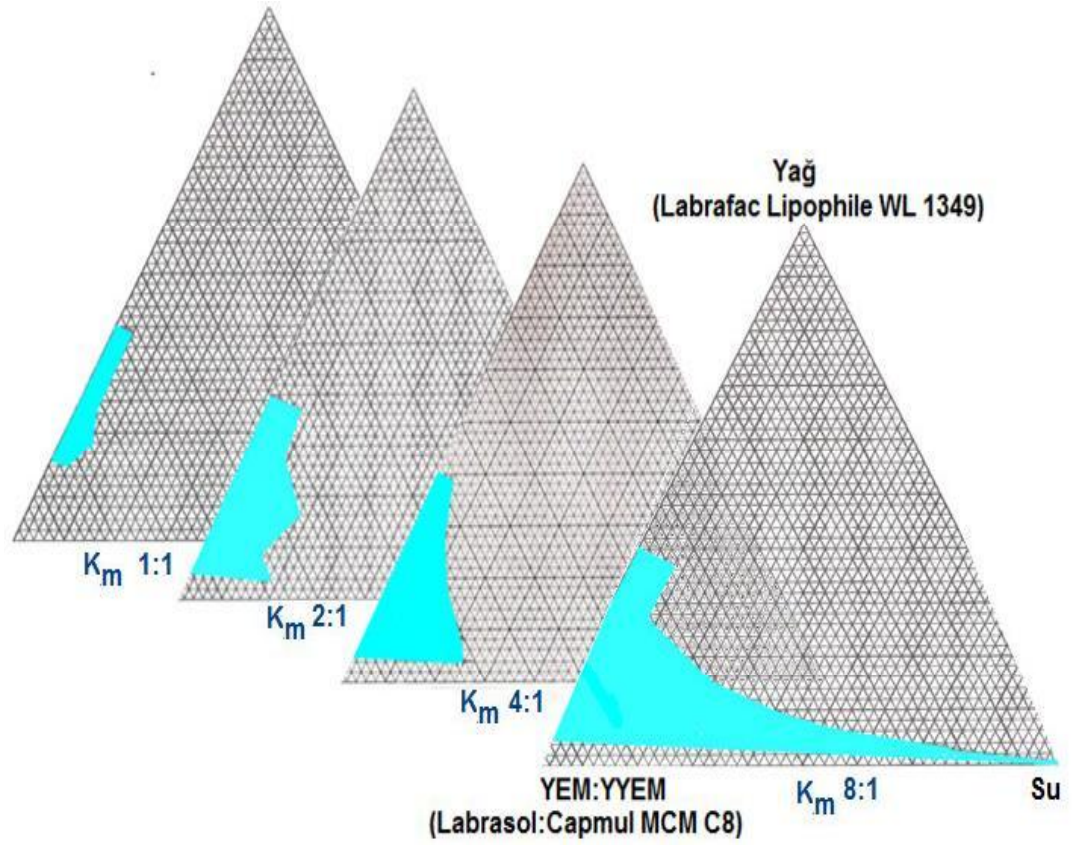
Şekil 27: Labrafac™ Lipophile WL 1349, Labrasol®, Capmul® MCM C8 maddelerinin karışımlarının berrak olduğu bölgeye ait faz diyagramı

2.Adım: Sindirilen yağ, YEM ve YYEM'den oluşan üçlü karışımın berrak alan tespitinin ardından, sisteme su girişi ile ne olacağı gözlenmiştir.

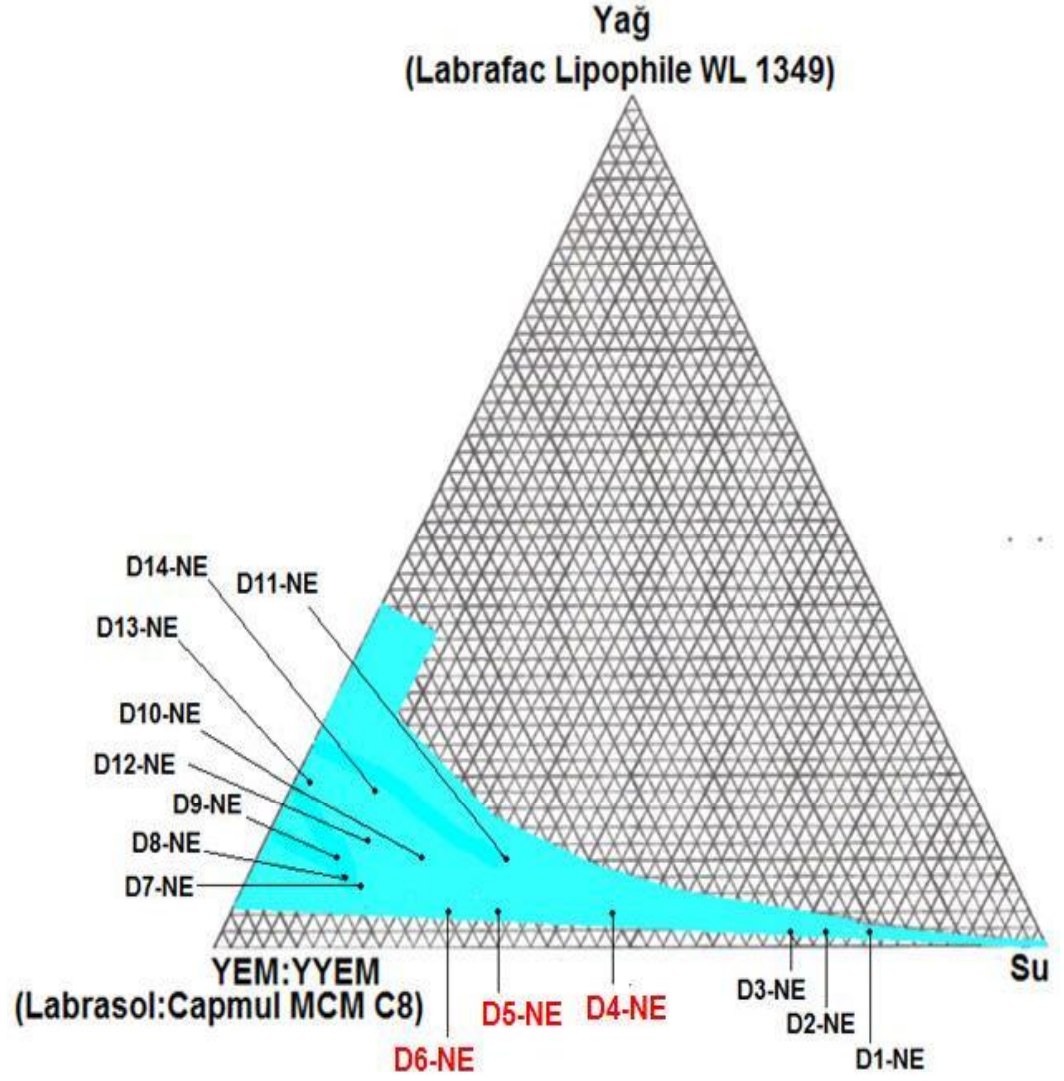
Bu amaçla sindirilen YEM ve YYEM bileşenlerle dört farklı K_m oranı (1:1; 2:1; 4:1 ve 8:1) kullanılmıştır. İlgili K_m oranlarında çalışılarak hazırlanan karışımların su ile titre edilmesi sonucu üçgen faz diyagramları oluşturulmuştur (Şekil 28). Formülasyon çalışmaları için oluşturulan bu faz

diyagramlarından berrak bölge alanı en büyük olan K_m 8:1 oranı seçilmiştir (Şekil 29).

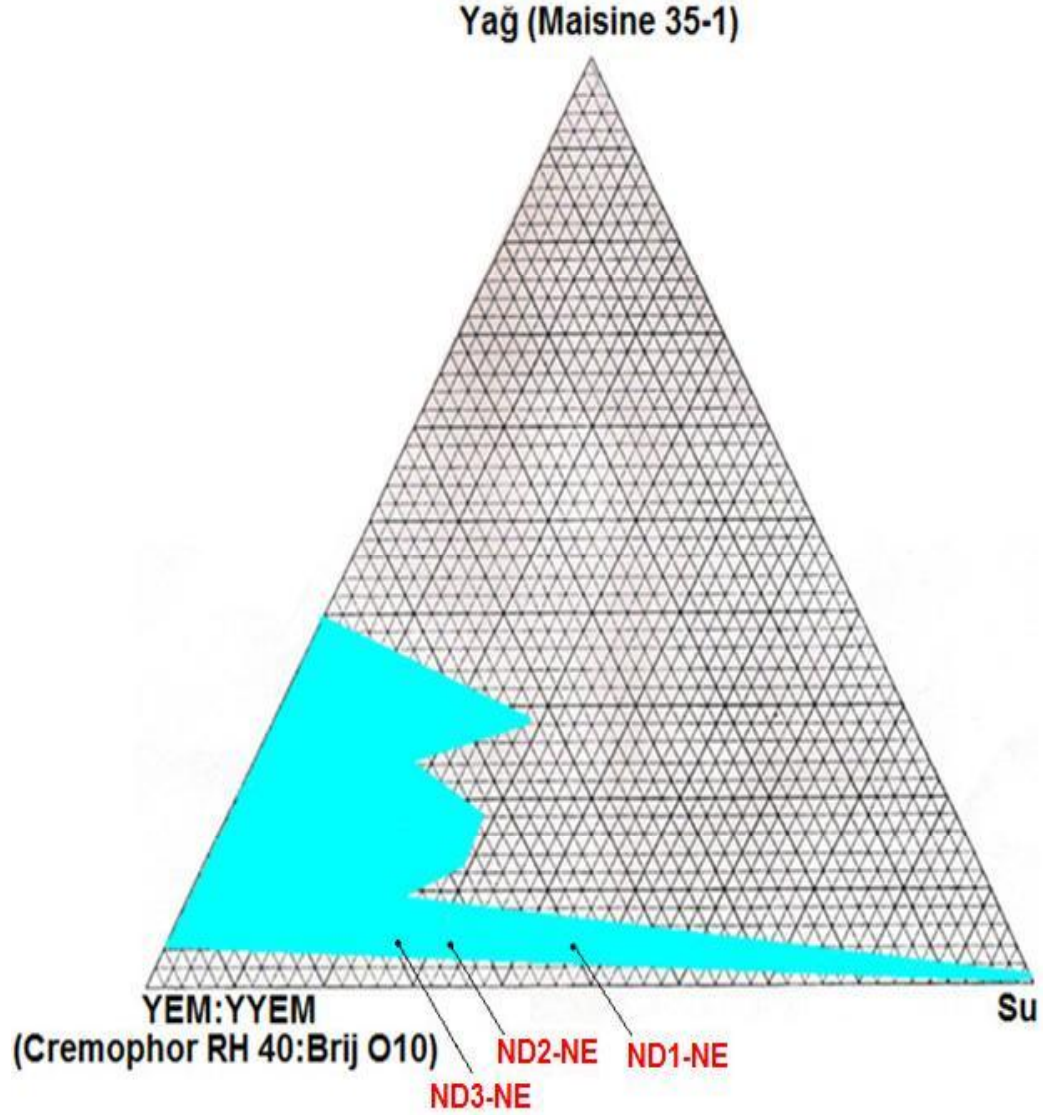
Sindirilmeyen bileşenler için ise, yukarıdaki çalışmaya benzer olması açısından K_m 8:1 oranının kullanıldığı faz diyagramı oluşturulmuştur (Şekil 30).



Şekil 28: Sindirilen bileşenlerle K_m 1:1; 2:1, 4:1 ve 8:1 oranlarında oluşturulan faz diyagramları



Şekil 29: Sindirilen bileşenlerle K_m 8:1 oranında oluşturulan faz diyagramı (FD-1)



Şekil 30: Sindirilmeyen bileşenlerle K_m 8:1 oranında oluşturulan faz diyagramı (FD-2)

Sindirilen bileşenler için K_m 8:1 oranının kullanılarak çizilen FD-1 kodlu faz diyagramında oluşturulan berrak bölge içinde D1-NE, D2-NE, D3-NE, D4-NE, D5-NE, D6-NE, D7-NE, D8-NE, D9-NE, D10-NE, D11-NE, D12-NE, D13-NE ve D14-NE olarak adlandırılan noktadaki nanoemülsiyonların damlacık büyüklüklerine bakılmıştır (Tablo 58, Şekil 31 ve 32).

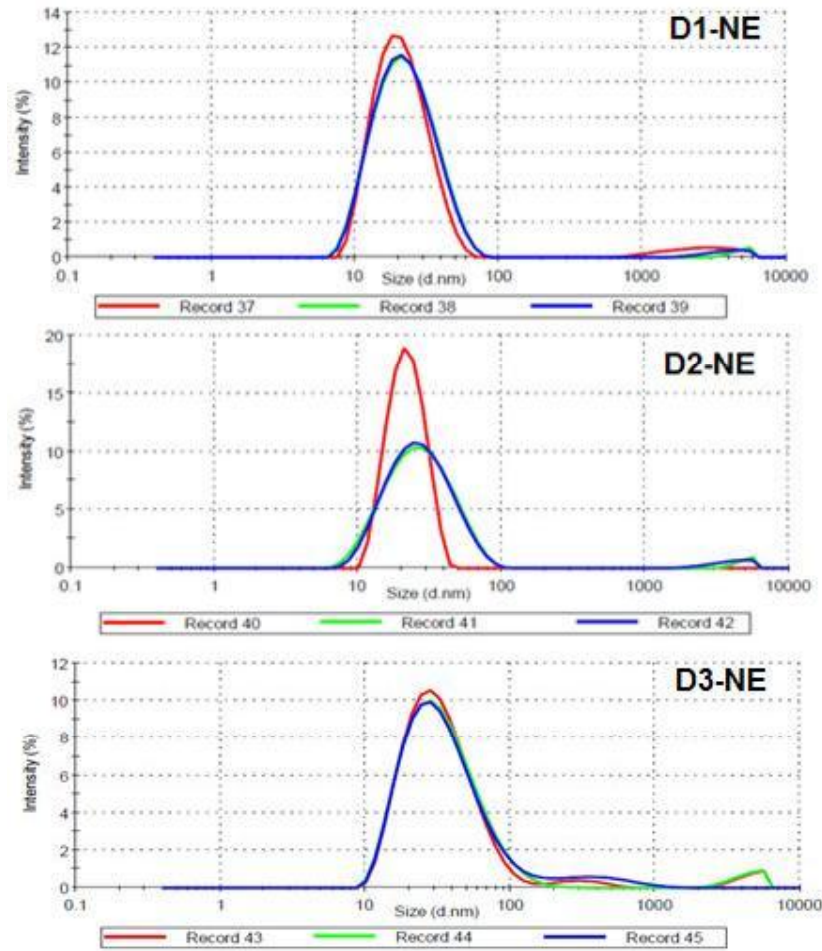
Sindirilen bileşenlerle oluşturulan nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü ve dağılımlarının değerlendirmesinin yapılmasının ardından, sindirilemeyen bileşenler için K_m değeri 8:1 olan FD-2 kodlu faz diyagramında, sindirilebilir bileşenler için seçilen nanoemülsiyonlara paralel olarak ND1-NE, ND2-NE ve ND3-NE kodlu nanoemülsiyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan bu nanoemülsiyonların damlacık büyüklüklerine bakılmıştır (Tablo 59, Şekil 32).

Tablo 58: Sindirilen bileşenler kullanılarak oluşturulan nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü değerleri (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

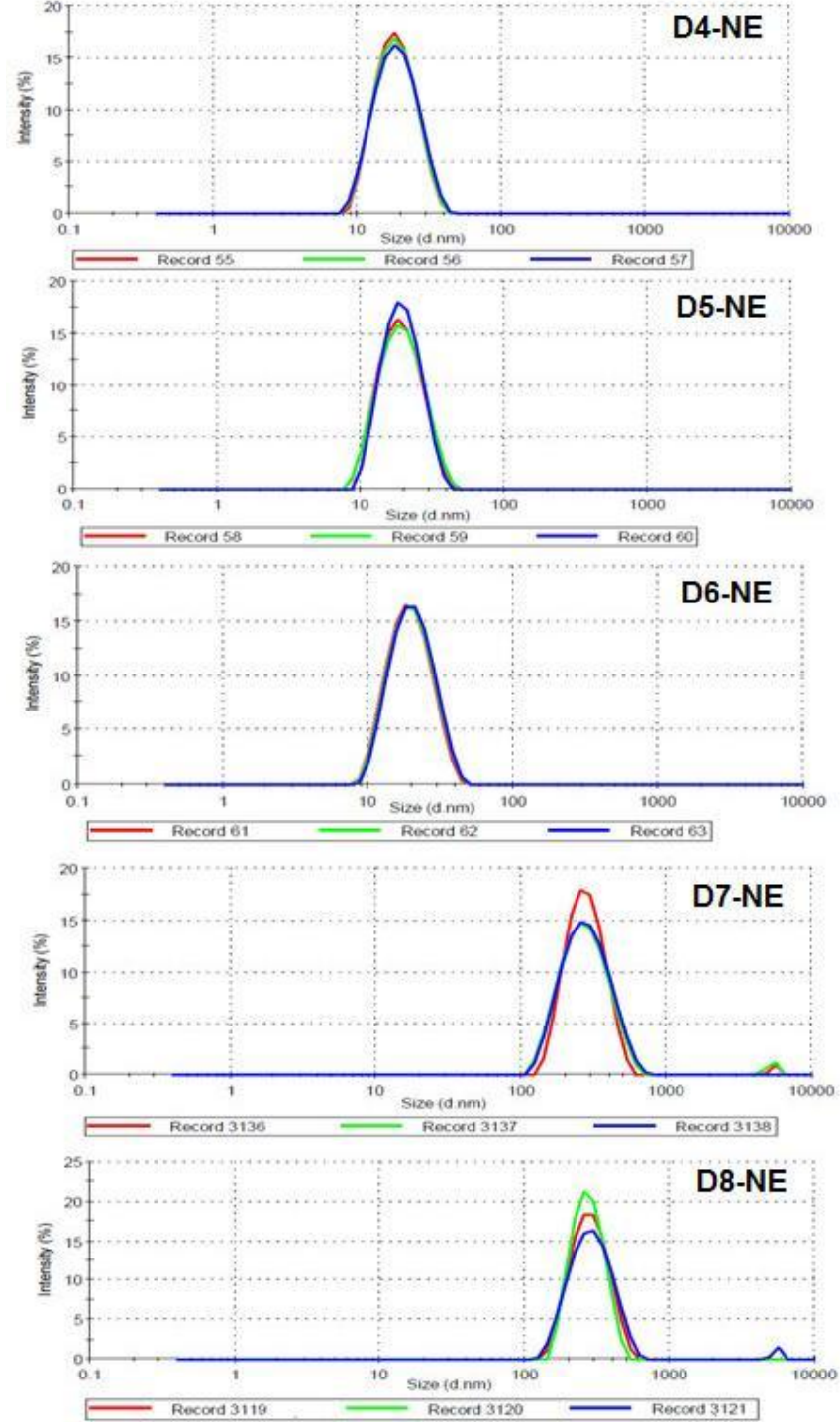
Formülasyon	Damlacık Büyüklüğü (nm) $\bar{X} \pm SS$	PDI $\bar{X} \pm SS$
D1-NE	20.2±0.1	0.214±0.004
D2-NE	28.7±6.9	0.203±0.069
D3-NE	29.6±0.2	0.262±0.004
D4-NE	17.5±0.1	0.085±0.000
D5-NE	17.9±0.4	0.090±0.016
D6-NE	18.5±0.3	0.092±0.005
D7-NE	242.3±12.3	0.301±0.032
D8-NE	270.7±5.9	0.404±0.026
D9-NE	701,0±234.7	0.897±0.113
D10-NE	309.7±12.5	0.156±0.029
D11-NE	141.7±5.5	0.236±0.027
D12-NE	672.7±191.0	0.826±0.152
D13-NE	226.3±25.9	0.413±0.082
D14-NE	733.7±26.7	0.161±0.051

Tablo 59: Sindirilmeyen bileşenler kullanılarak oluşturulan nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü değerleri (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

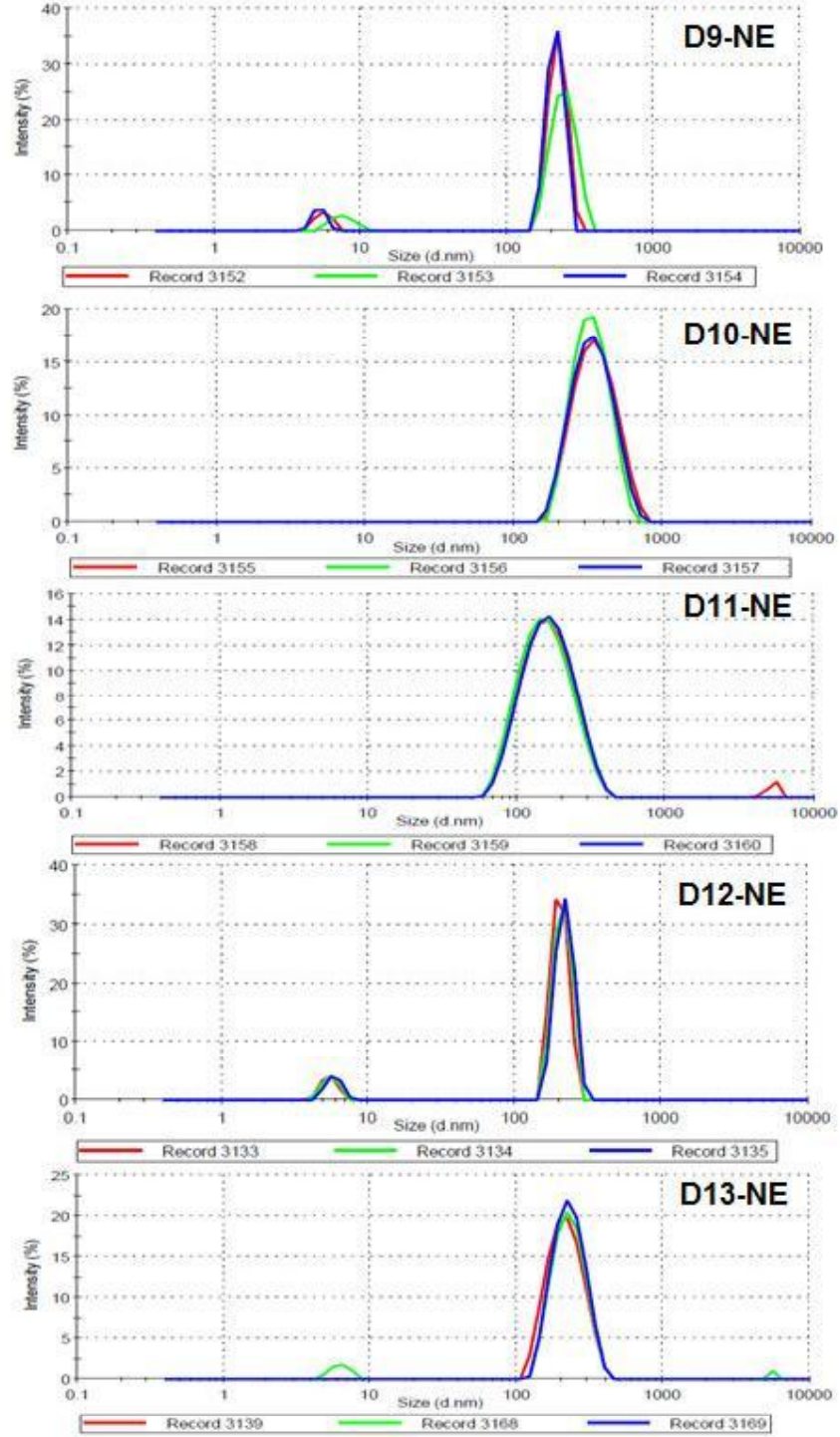
Formülasyon	Damlacık Büyüklüğü (nm) $\bar{X} \pm SS$	PDI $\bar{X} \pm SS$
ND1-NE	14.2±0.1	0.086±0.013
ND2-NE	15.5±0.7	0.190±0.003
ND3-NE	60.8±4.8	0.245±0.054



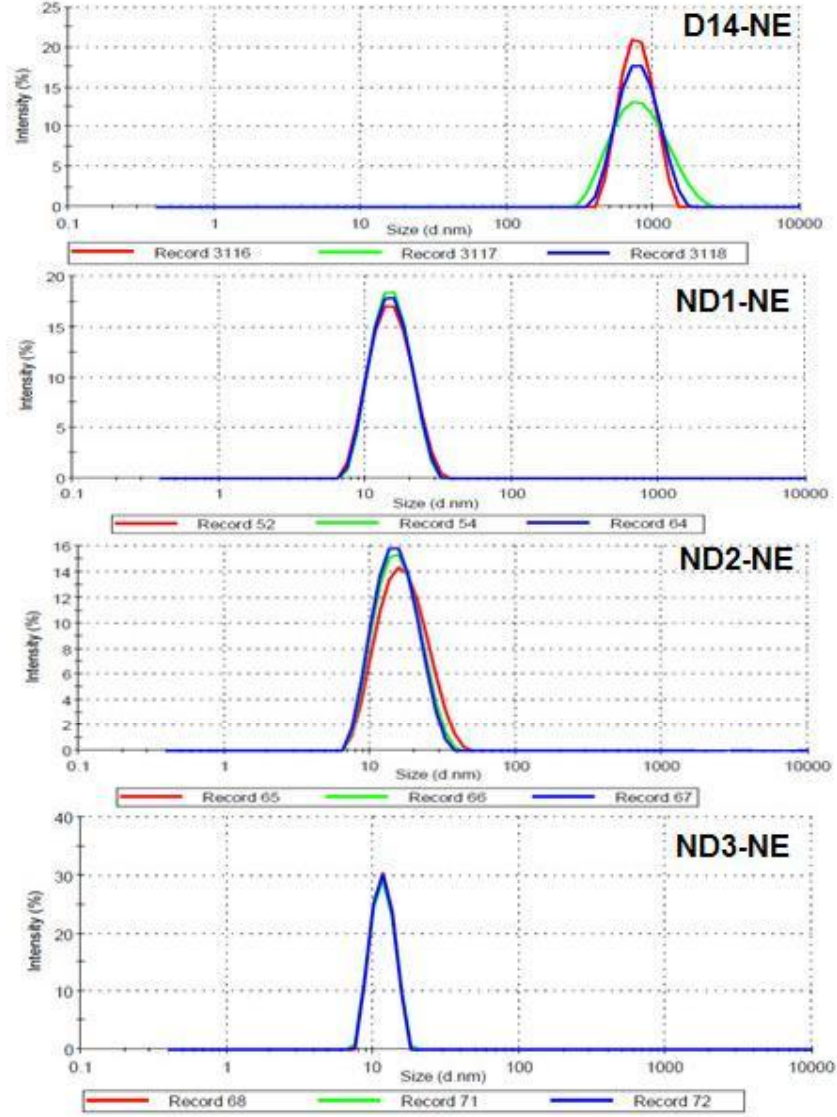
Şekil 31: Sindirilen bileşenler kullanılarak oluşturulan nanoemülsiyonlar için damlacık büyüklüğü dağılımı (n=3)



Şekil 31 (devamı): Sindirilen bileşenler kullanılarak oluşturulan nanoemülsiyonlar için damlacık büyüklüğü dağılımı (n=3)



Şekil 31 (devamı): Sindirilen bileşenler kullanılarak oluşturulan nanoemülsiyonlar için damlacık büyüklüğü dağılımı (n=3)



Şekil 32: Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenler kullanılarak oluşturulan nanoemülsiyonlar için damlacık büyüklüğü dağılımı (n=3)

Sonuç olarak “sindirilen” ve “sindirilmeyen” bileşenlerle hazırlanmış olan iki adet faz diyagramında (FD-1 ve FD-2) tek pik veren, ortalama damlacık büyüklüğü 100 nm’nin altında olan, damlacık büyüklüğü dağılımı en dar olan (polidispersite indeksi en küçük olan) nanoemülsiyonlar saptanmıştır. Bu nanoemülsiyonları oluşturan yağ+YEM+YYEM karışımları aynı zamanda 250 mL su ile rahatça

nanoemülsiyon oluşturabilen karışımlardır. Çalışmalara devam edilecek formülasyon olarak, YEM ve YYEM miktarları daha az olan D4 ve ND1 kodlu formülasyonlar ve bunlara 250 mL su eklenmesi ile oluşturulan D4-NE ve ND1-NE kodlu nanoemülsiyonlar belirlenmiştir.

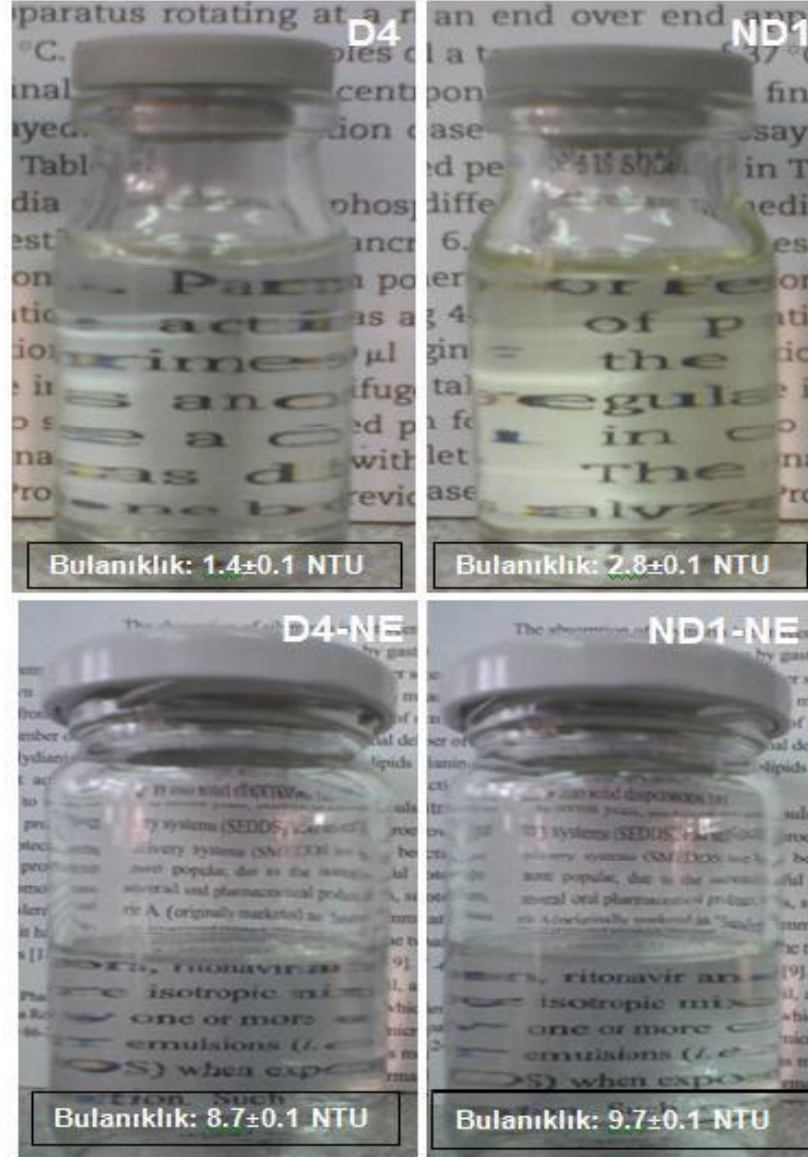
Belirlenen sindirilen ve sindirilmeyen formülasyonlar ile oluşturulan nanoemülsiyonların seyreltme ve boyama testleri ile yapılan dış faz tespiti sonucunda, nanoemülsiyonların tümünün yağ/su tipinde olduğu doğrulanmıştır.

Buradan itibaren yapılan tüm kontroller yukarıda belirtilen kriterlere göre seçilen, sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerden oluşan, 5 mg/mL derişiminde aseklofenak içeren, sırasıyla D4 ve ND1 kodlu iki formülasyon ve bu formülasyonlara 250 mL su eklenmesi sonucu oluşan nanoemülsiyonlar (D4-NE ve ND1-NE) üzerinde gerçekleştirilmiştir.

4.7.3. Geliştirilen Formülasyonlarda Yapılan Kontroller

4.7.3.1. Sistemlerin Görüntüleri

Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerle oluşturulan formülasyonların (D4 ve ND1) ve bu formülasyonlara su eklenmesiyle oluşturulan nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) görüntüleri Görüntü 7'de verilmiştir.



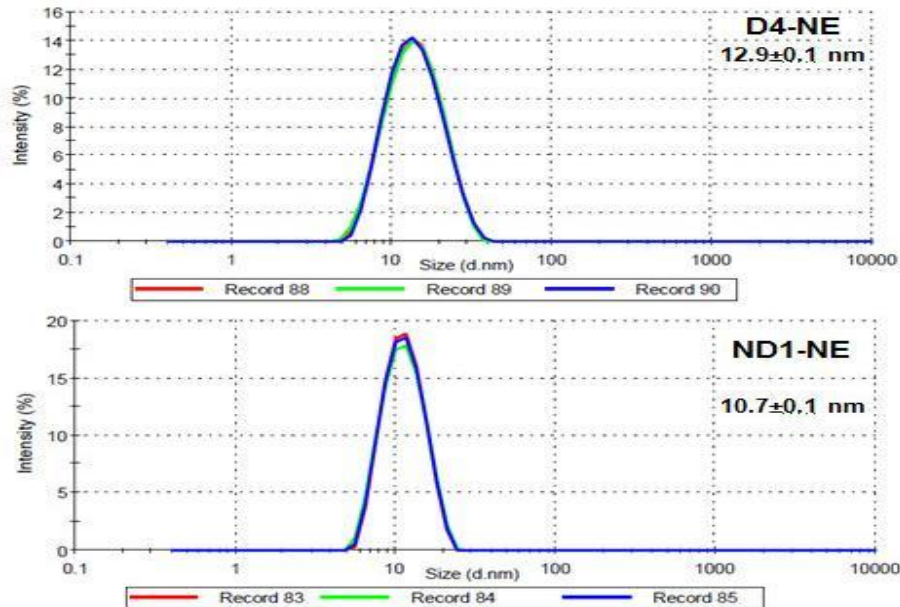
Görüntü 7: Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenler kullanılarak oluşturulan formülasyonların (D4 ve ND1) ve bu formülasyonlara su eklenmesiyle oluşturulan nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) görüntüleri

4.7.3.2. Sistemlerin Karakterizasyonları

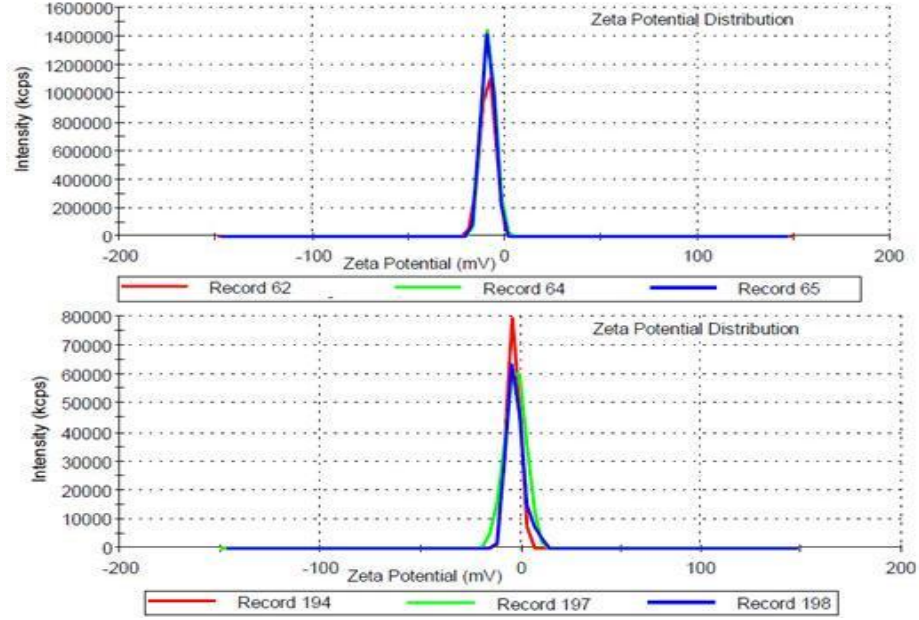
Aseklöfenak içeren sindirilen ve sindirilmeyen formülasyonlara ve bu formülasyonlara 250 mL su eklenmesiyle oluşturulan nanoemülsiyonlara ait kontroller Tablo 60'ta, damlacık boyutu dağılımları ve zeta potansiyel grafikleri ise Şekil 33 ve 34'te verilmiştir.

Tablo 60: Aseklfenak içeren sindirilen ve sindirilmeyen sistemlerin karakterizasyonları (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Karakterizasyonlar (n=3, $\bar{X} \pm SS$)	Sistem	Sindirilen Sistemler (D4 ve D4-NE)		Sindirilmeyen Sistemler (ND1 ve ND1-NE)	
Damlacık Boyutu (nm)	NE	12.9±0.1		10.7±0.1	
Polidispersite indeksi	NE	0.123±0.006		0.075±0.005	
Zeta potansiyel (mV)	NE	Su ile	-8.59±0.22	Su ile	-3.34±0.60
		pH 1.2 ile	6.82±1.01	pH 1.2 ile	-2.13±11.73
		pH 4.5 ile	-2.79±0.1	pH 4.5 ile	-2.75±1.15
		pH 6.8 ile	-1.38±0.60	pH 6.8 ile	-4.86±1.82
Bulanıklık (NTU)	NE	8.7±0.1		9.7±0.1	
	Formülasyon	1.4±0.1		2.8±0.1	
	Bidistile su	0.7±0.0			
Dansite (g/mL)	NE	1.00±0.00		1.00±0.00	
	Formülasyon	0.97±0.01		0.95±0.01	
	Bidistile su	1.00±0.00			
Sistemde sıvı kristal varlığı	NE	yok		yok	



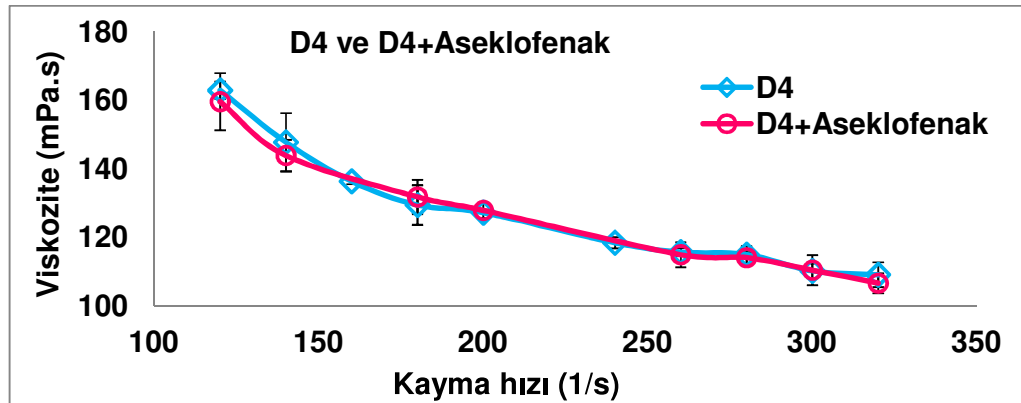
Şekil 33: Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerden oluşan formülasyonlara 250 mL su eklenmesiyle elde edilen nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) damlacık büyüklüğü dağılımları (n=3)



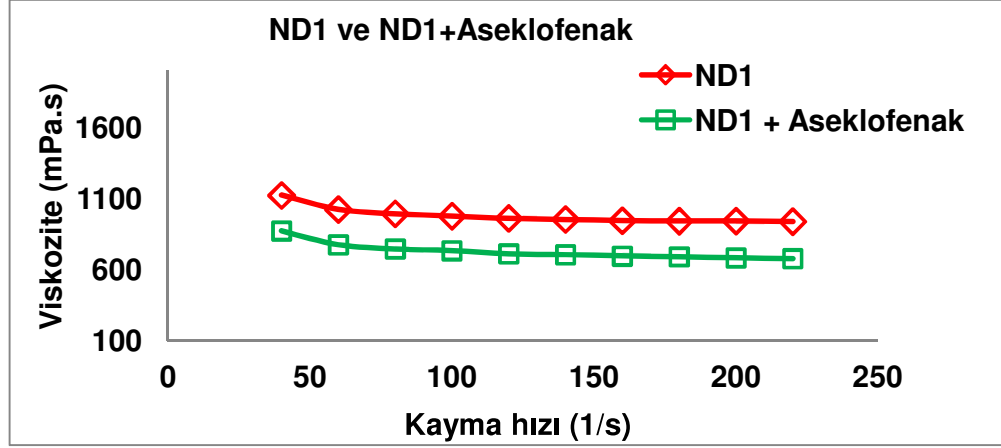
Şekil 34: Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerden oluşan formülasyonlara 250 mL su eklenmesiyle elde edilen nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) zeta potansiyel grafikleri (n=3)

4.7.3.2.1. Viskozite Ölçümleri

Viskozite ölçümleri sonucunda aseklofenak içeren ve içermeyen D4 ve ND1 formülasyonlarının artan kayma hızı ile viskozitelerinde azalma olduğu saptanmıştır. Bu bulgulara ait reogramlar Şekil 35 ve 36'da verilmiştir.



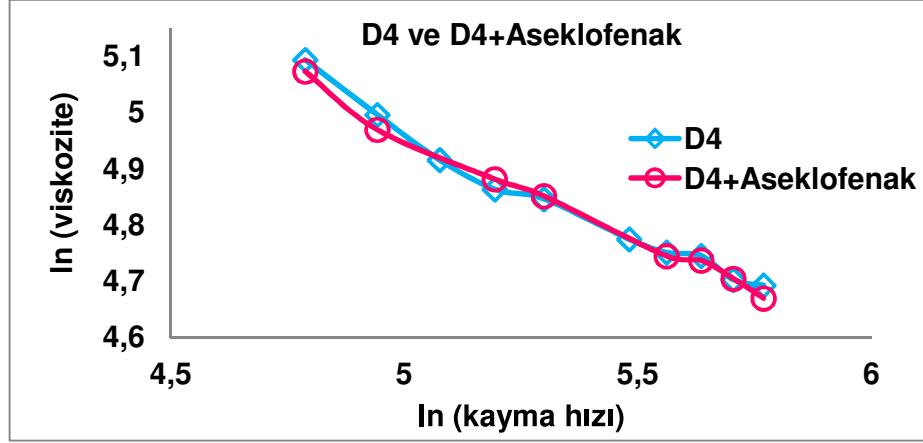
Şekil 35: Aseklofenak içeren ve içermeyen sindirilen formülasyonların viskozitelerinin artan kayma hızı ile değişimi (n=3, $\bar{X} \pm SS$)



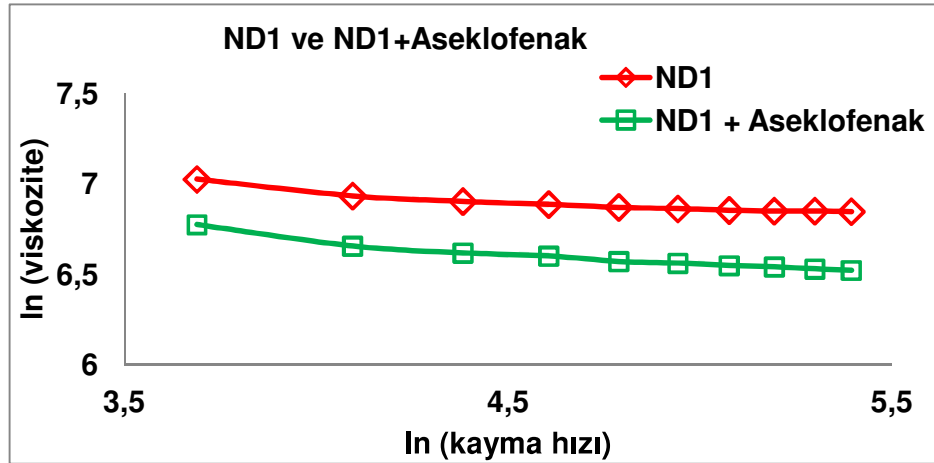
Şekil 36: Aseklofenak içeren ve içermeyen sindirilmeyen formülasyonların viskozitelerinin artan kayma hızı ile değişimi (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Bu durum formülasyonların doğrusal olmayan akış özelliğine uyduğunu ve her bir formülasyon için sabit bir viskoziteden bahsedilemeyeceğini göstermektedir. Bu nedenle, formülasyonları tamamıyla tanımlayabilecek bir viskoziteden bahsedebilmek için Ostwald de Waele eşitliğinden yararlanılmıştır¹⁷⁷.

Bu amaçla, $\ln$ (kayma hızı) – $\ln$ (viskozite) değerleri grafiğe geçirilmiştir. (Şekil 37 ve 38) bu verilere lineer regresyon uygulanarak akış yoğunluğu indeksi (K, mPa.s) bulunmuş ve bu değer her bir formülasyonun viskozite değeri olarak tanımlanmıştır.



Şekil 37: Aseklofenak içeren ve içermeyen sindirilen formülasyonlar için Oswald de Waele eşitliğinin çıkarılması amacıyla çizilmiş grafik



Şekil 38: Aseklofenak içeren ve içermeyen sindirilmeyen formülasyonlar için Oswald de Waele eşitliğinin çıkarılması amacıyla çizilmiş grafik

Bu eşitlik yardımıyla ayrıca matematiksel değeri 0 ile 1 arasında olan ve akış davranışı indeksi (n) olarak tanımlanan parametre de hesaplanmıştır. Bu parametrenin 0'a yaklaşması sistemin karıştırıldıkça viskozitesi azalan bir sistem olduğunu (shear thinning), bu durumun tersi de sistemin karıştırıldıkça viskozitesi artan (shear thickening) bir sistem olduğunu göstermektedir. Bulunan K ve n değerleri Tablo 61'de verilmiştir.

Tablo 61: Aseklofenak içeren ve içermeyen formülasyonların hesaplanan K ve n değerleri

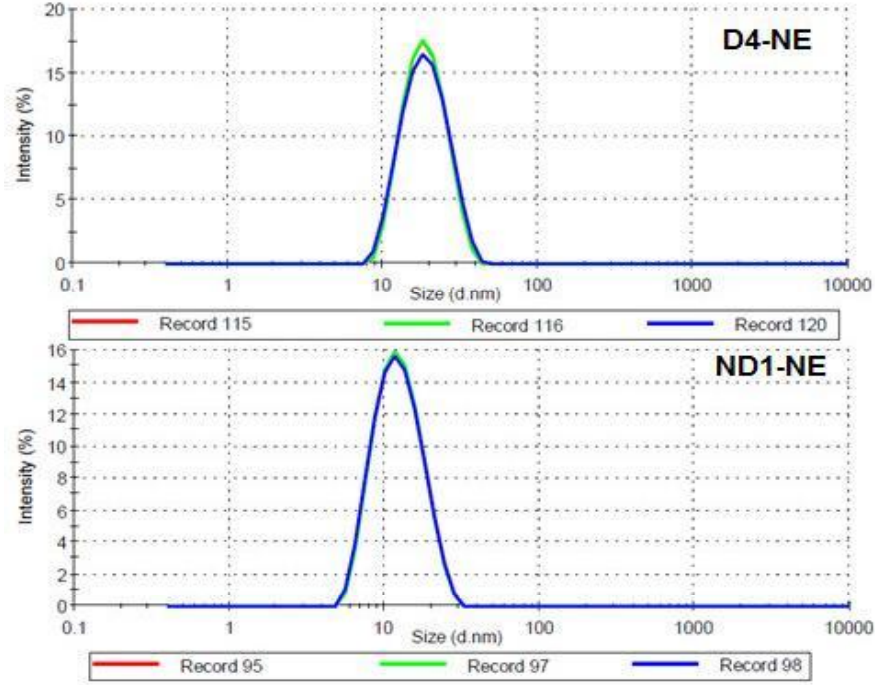
Formülasyon	K (mPa.s)	n	R ²
D4	984.4	0.616	0.972
D4+Aseklofenak	975.6	0.617	0.990
ND1	1963.4	0.856	0.873
ND1+Aseklofenak	1302.9	0.878	0.951

4.7.3.2.2. Santrifüj ve Dondurma-Çözme Çalışması

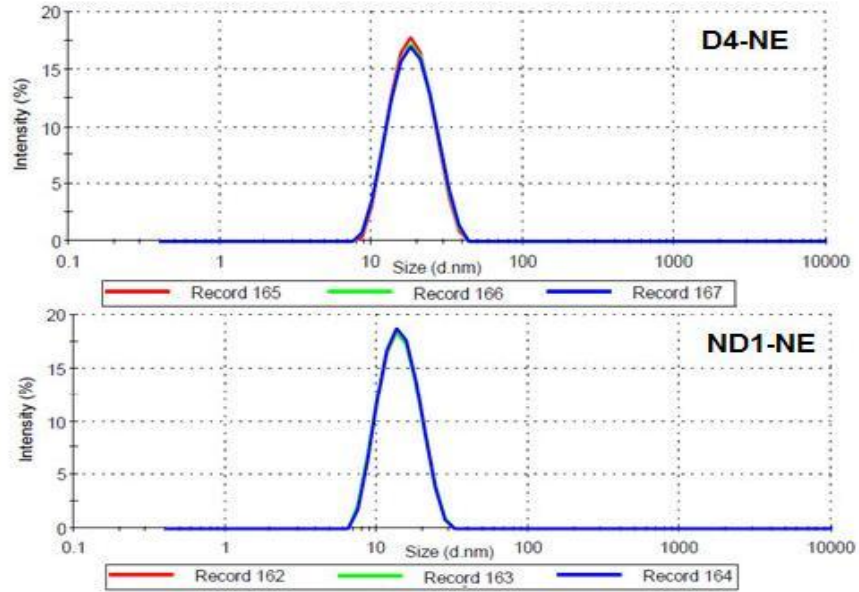
Yapılan santrifüj çalışması ve dondurma-çözme çalışması sonucunda formülasyonlarda görsel olarak faz ayrışması olmadığı görülmüştür. Nanoemülsiyonların santrifüjden ve dondurma-çözme çalışmalarından önceki ve sonraki damlacık büyüklükleri Tablo 62’de verilmiştir. Damlacık büyüklüğü dağılımları ise Şekil 39 ve 40’ta gösterilmiştir.

Tablo 62: Santrifüj ve dondurma-çözme çalışmalarından önceki ve sonraki damlacık büyüklükleri (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Çalışma Adı	Çalışmanın Yapılma Zamanı	İncelenen Kontrol	Sindirilen Nanoemülsiyon (D4-NE)	Sindirilmeyen Nanoemülsiyon (ND1-NE)
Santrifüj Çalışması	Önce	Damlacık büyüklüğü (nm)	12.9±0.1	10.7±0.1
		PDI	0.123±0.006	0.075±0.005
	Sonra	Damlacık büyüklüğü (nm)	17.7±0.1	11.6±0.0
		PDI	0.086±0.005	0.129±0.004
Dondurma-Çözme Çalışması	Önce	Damlacık büyüklüğü (nm)	12.9±0.1	10.7±0.1
		PDI	0.123±0.006	0.075±0.005
	Sonra	Damlacık büyüklüğü (nm)	17.6±0.1	13.5±0.1
		PDI	0.077±0.011	0.075±0.005



Şekil 39: Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerden oluşturulan nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) santrifüj çalışmasından sonraki damlacık büyüklüğü dağılımları ($n=3$, $\bar{X} \pm SS$)



Şekil 40: Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerden oluşturulan nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) dondurma-çözme çalışmasından sonraki damlacık büyüklüğü dağılımları ($n=3$, $\bar{X} \pm SS$)

4.7.3.2.3. Damlacık Büyüklüğüne pH'nın Etkisi

Bu çalışmada formülasyonların su, pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF (pH 6.5) ve FeSSIF (pH 5.0) ortamları ile 1:25 oranında (10 mL formülasyon+250 mL ortam) karıştırılması sonucu oluşan nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü ölçümleri Tablo 63'te verilmiştir.

Tablo 63: pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF ve FeSSIF ortamları ile hazırlanan nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ve polidispersite indeksleri (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Ortam	Sindirilen nanoemülsiyon (D4-NE) (10 mL D4 + 250 mL ortam)		Sindirilmeyen nanoemülsiyon (ND1-NE) (10 mL ND1 + 250 mL ortam)	
	Damlacık Büyüklüğü (nm)	PDI	Damlacık Büyüklüğü (nm)	PDI
Su	12.9±0.1	0.123±0.006	10.7±0.1	0.075±0.005
pH 1.2	14.5±0.1	0.096±0.017	13.8±0.1	0.052±0.002
pH 4.5	18.6±0.3	0.100±0.016	13.7±0.0	0.057±0.010
pH 6.8	20.3±0.1	0.129±0.015	13.4±0.1	0.048±0.007
FaSSIF	16.8±0.1	0.126±0.007	14.2±0.5	0.116±0.006
FeSSIF	22.6±0.2	0.218±0.005	11.5±0.1	0.145±0.009

4.7.3.2.4. Damlacık Büyüklüğüne Sıvı Hacminin Etkisi

Hazırlanan formülasyonların su, pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF ve FeSSIF ortamları ile 1:5; 1:15; 1:25 ve 1:28 oranlarında karıştırılması sonrasında elde edilen nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri Tablo 64'te verilmiştir.

Bu çalışmada özellikle sindirilmeyen formülasyonun kaç mL su ile temasa geldiğinde bulanmaya başlayacağı merak edilmiş, bu nedenle formülasyon 1:550 oranında su ile karıştırılmıştır. Bu kadar yüksek oranda su ile karıştırma sonucu elde edilen damlacık büyüklüğü ve damlacık büyüklüğü dağılımı değerleri sırasıyla 14.2±0.0 nm ve 0.046±0.007 olarak saptanmıştır. Elde edilen nanoemülsiyonun damlacık

büyükülüğü, diğer oranlar ile hazırlanan nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ile kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir.

Kullanılan seyreltme oranları içinde bu tez çalışması için önemli olan 1:25 oranıdır. Bunun nedeni hastanın 10 mL formülasyonu 250 mL su ile karıştırıldıktan sonra içmesinin planlanmasıdır.

Farklı pH değerlerindeki tamponların, FaSSIF ve FeSSIF çözeltilerinin kullanılmasının nedeni de, in vivo ortam ile karşılaşılması durumunda oluşacak nanoemülsiyonun bu ortamlardan etkilenip etkilenmediğinin araştırılmak istenmesidir.

Tablo 64: Formülasyonların farklı ortamlar ile 1:5; 1:15; 1:25 ve 1:28 oranlarında karıştırılması sonrasında oluşan nanoemülsiyonların damlacık boyutları (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Ortam	Sindirilen Formülasyon (D4)			Sindirilmeyen Formülasyon (ND1)		
	Hazırlama Oranı	Damlacık Büyüklüğü (nm)	PDI	Hazırlama Oranı	Damlacık Büyüklüğü (nm)	PDI
Su	1:5	18.9±0.1	0.151±0.006	1:5	12.6±0.0	0.191±0.001
	1:15	17.1±0.1	0.097±0.011	1:15	12.8±0.1	0.087±0.003
	1:25	12.9±0.1	0.123±0.006	1:25	10.7±0.1	0.075±0.005
	1:28	17.6±0.1	0.090±0.009	1:28	13.5±0.1	0.042±0.006
pH 1.2	1:5	16.8±0.1	0.147±0.003	1:5	12.5±0.1	0.166±0.002
	1:15	23.2±0.6	0.130±0.010	1:15	12.8±0.1	0.069±0.013
	1:25	14.5±0.1	0.096±0.017	1:25	13.8±0.1	0.052±0.002
	1:28	29.9±0.2	0.218±0.002	1:28	13.4±0.1	0.049±0.009
pH 4.5	1:5	17.5±0.1	0.152±0.011	1:5	12.3±0.1	0.140±0.007
	1:15	15.6±0.1	0.088±0.004	1:15	12.8±0.0	0.057±0.007
	1:25	18.6±0.3	0.100±0.016	1:25	13.7±0.0	0.057±0.010
	1:28	15.6±0.1	0.091±0.004	1:28	13.3±0.2	0.054±0.009
pH 6.8	1:5	22.7±0.0	0.163±0.008	1:5	12.7±0.0	0.164±0.006
	1:15	19.2±0.2	0.114±0.010	1:15	13.0±0.2	0.079±0.006
	1:25	20.3±0.1	0.129±0.015	1:25	13.4±0.1	0.048±0.007
	1:28	21.4±0.1	0.168±0.003	1:28	13.3±0.1	0.052±0.017
FaSSIF (pH 6.5)	1:5	16.8±0.1	0.133±0.005	1:5	14.0±0.5	0.155±0.006
	1:15	16.8±0.1	0.135±0.013	1:15	13.8±0.5	0.082±0.008
	1:25	16.8±0.1	0.126±0.007	1:25	14.2±0.5	0.116±0.006
	1:28	16.9±0.1	0.132±0.005	1:28	14.0±0.3	0.093±0.028
FeSSIF (pH 5.0)	1:5	14.0±0.2	0.222±0.008	1:5	14.0±0.2	0.266±0.013
	1:15	22.8±0.1	0.227±0.007	1:15	10.4±0.7	0.230±0.069
	1:25	22.6±0.2	0.218±0.005	1:25	11.5±0.1	0.145±0.009
	1:28	22.8±0.2	0.210±0.007	1:28	11.7±0.2	0.132±0.005

4.7.3.2.5. Salım Çalışmasında Kullanılan Diyaliz Membran İçin Yapılan Adsorpsiyon Çalışması

Çalışma sonucu spektrofotometrede okunan ilk ve son absorbans değerlerine karşılık gelen derişimler (mg/mL) Tablo 65'te verilmiştir.

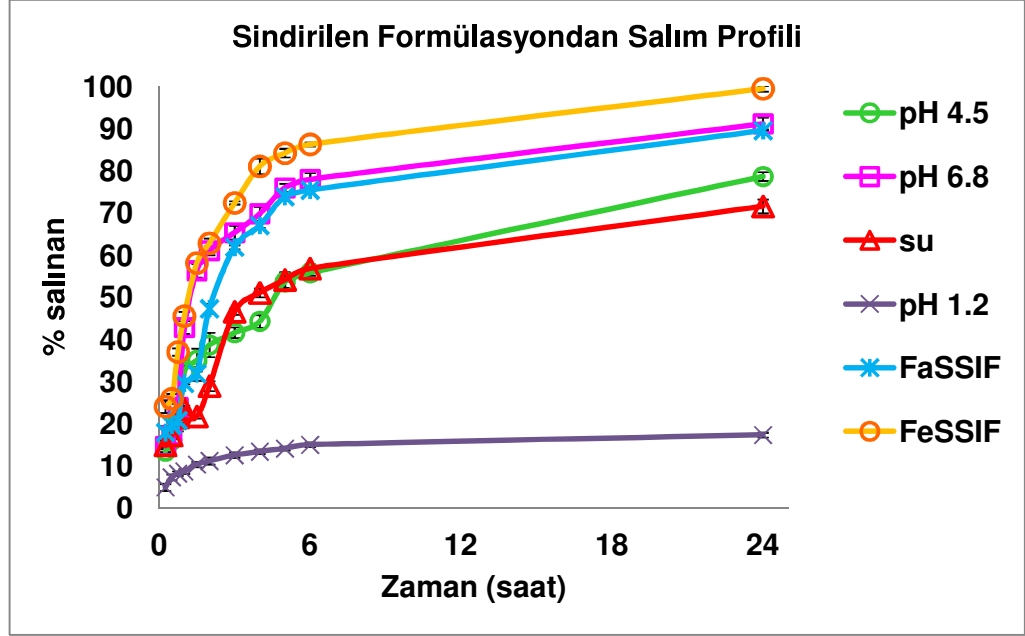
Tablo 65: Salım çalışmasında kullanılan diyaliz membran için yapılan adsorpsiyon çalışması sonucu (n=3)

Hazırlanan Derişim (mg/mL)	Çalışma öncesi spektrofotometrede okunan derişim (mg/mL) ($\bar{X} \pm SS$)	Çalışma sonrası spektrofotometrede okunan derişim (mg/mL) ($\bar{X} \pm SS$)
4	4.02±0.02	3.99±0.02

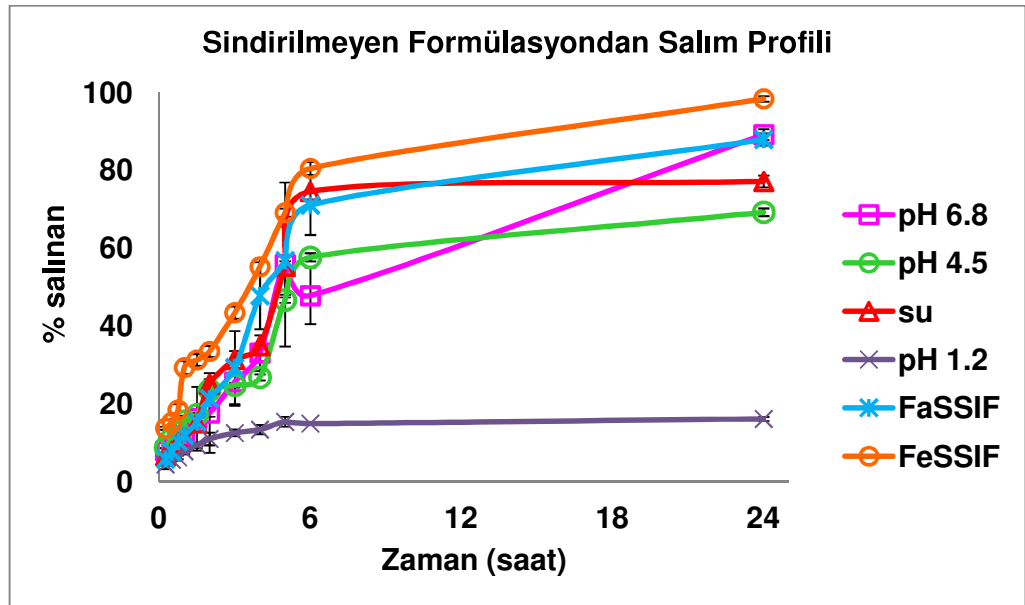
4.7.3.2.6. Salım Çalışması

Sistemlerin salım özelliklerinin incelenmesi ‘Gereç ve Yöntem – 3.2.2.3’ numaralı bölümde anlatılan şekilde ve koşullarda yapılmıştır. Salım grafikleri Şekil 41-45’te verilmiştir. Salım kinetikleri ilk 6 saat için hesaplanmış ve grafiklerden hareketle bulunan ‘saatteki %salınan’ değerleri Tablo 66-69’da verilmiştir.

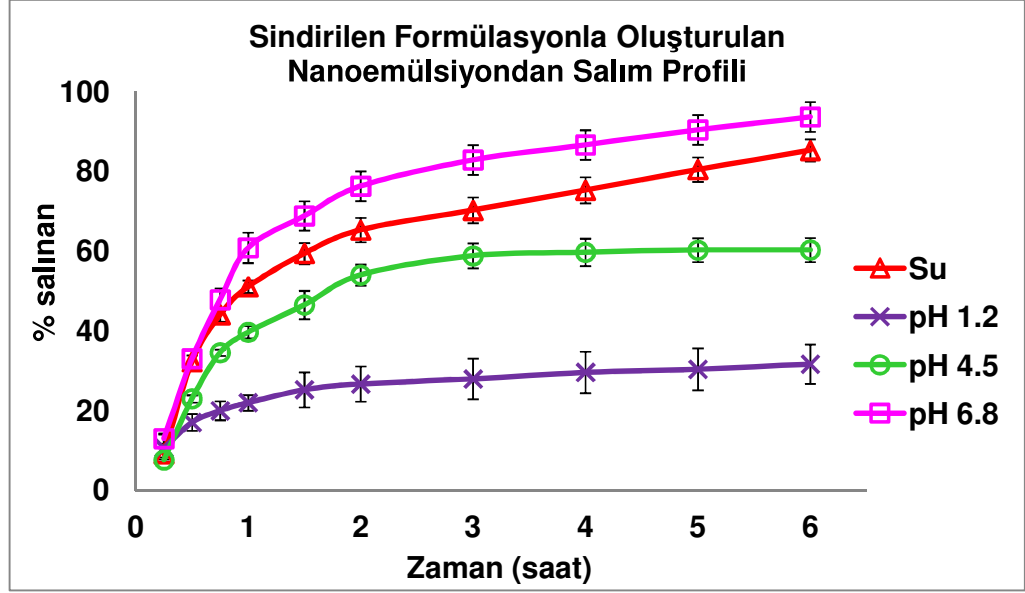
Formülasyondan gerçekleştirilen salımlar temel olarak hazırlanan ürünün in vitro kalitesinin kontrolü için yapılmıştır. Bu formülasyonlardan olan salım, kesinlikle in vivo koşulları taklit etmemektedir. Çünkü formülasyon (10 mL) hasta tarafından 250 mL su ile beraber içilecektir.



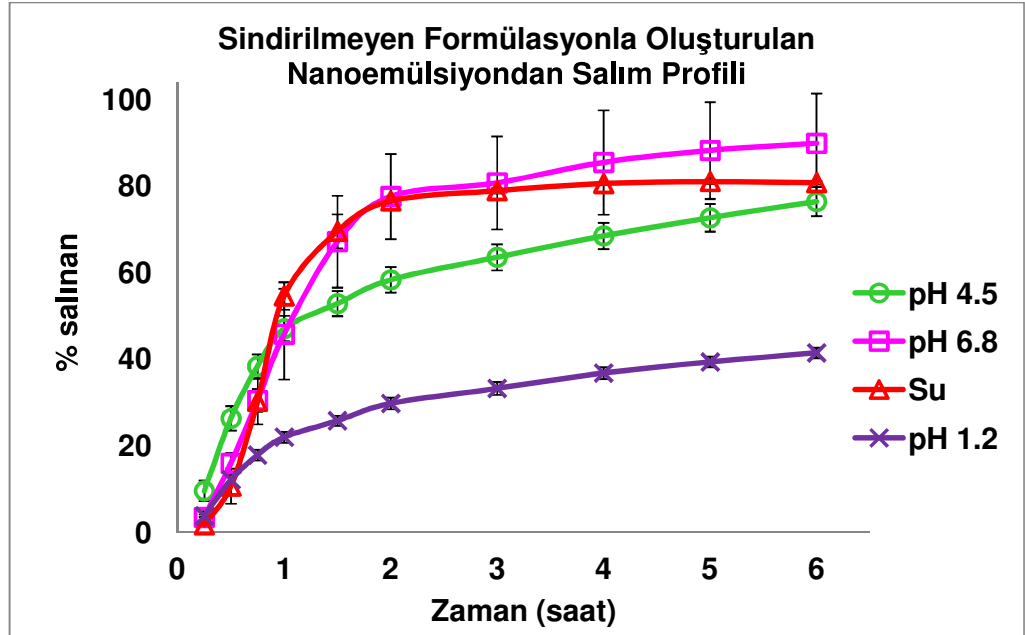
Şekil 41: Sindirilen formülasyondan (D4) salımlar ($n=3$, $\bar{X} \pm SS$)
(Salım alanı: 76.9 cm²)



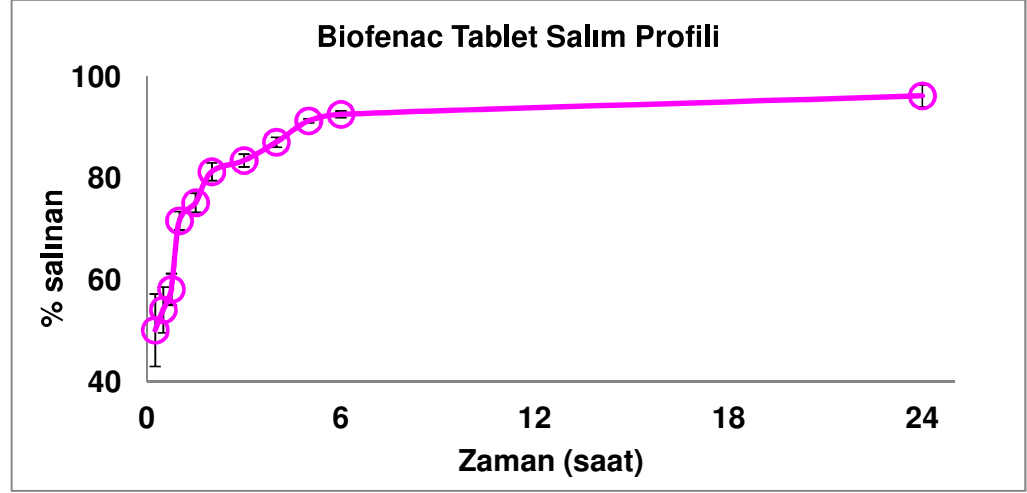
Şekil 42: Sindirilmeyen formülasyondan (ND1) salımlar ($n=3$, $\bar{X} \pm SS$)
(Salım alanı: 76.9 cm²)



Şekil 43: Sindirilen formülasyona su eklenmesiyle oluşturulan nanoemülsiyondan (D4-NE) salımlar ($n=3$, $\bar{X} \pm SS$) (Salım alanı: 3.8 cm^2)



Şekil 44: Sindirilmeyen formülasyona su eklenmesiyle oluşturulan nanoemülsiyondan (ND1-NE) salımlar ($n=3$, $\bar{X} \pm SS$) (Salım alanı: 3.8 cm^2)



Şekil 45: Aseklöfenanın ticari tablettten pH 6.8 tampondaki salımı (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Tablo 66: Sindirilen bileşenlerle hazırlanan formülasyonun (D4) farklı ortamlardaki 6 saatlik salım kinetiklerine ait veriler

D4 formülasyonu							
		pH 1.2	pH 4.5	pH 6.8	FaSSiF (pH 6.5)	FeSSiF (pH 5.0)	Su
0.derece	Eğim (%salınan/cm ² /saat)	0.402	1.80	2.81	2.94	2.88	2.09
	Kesişim (%salınan/cm ²)	1.84	4.94	6.56	4.67	8.31	3.84
	r ²	0.884	0.877	0.787	0.933	0.869	0.939
1.derece	Eğim [(ln%salınan)/cm ² /saat]	0.0398	0.0557	0.0669	0.0696	0.0542	0.0626
	Kesişim [(ln%salınan)/cm ²]	0.513	0.778	0.832	0.795	0.913	0.745
	r ²	0.764	0.746	0.653	0.863	0.757	0.900
√ t	Eğim (%salınan/cm ² /√saat)	1.26	5.63	9.02	9.02	9.08	6.32
	Kesişim (%salınan/cm ²)	1.01	1.31	0.564	-1.00	2.39	-0.0720
	r ²	0.967	0.946	0.895	0.966	0.956	0.947
6.saatte %salınan/cm ²		3.97	14.7	20.5	19.8	22.7	15.0
24.saatte %salınan/cm ²		4.58	20.7	24.0	23.6	26.2	18.8
6.saatte %salınan (Alan: 76.9 cm ²)		15.1	55.9	78.0	75.5	86.3	56.9
24.saatte %salınan (Alan: 76.9 cm ²)		17.4	78.7	91.2	89.6	99.5	71.6

Tablo 67: Sindirilmeyen bileşenlerle hazırlanan formülasyonun (ND1) farklı ortamlardaki 6 saatlik salım kinetiklerine ait veriler

ND1 formülasyonu							
		pH 1.2	pH 4.5	pH 6.8	FaSSIF (pH 6.5)	FeSSIF (pH 5.0)	Su
0.derece	Eğim (%salınan/cm ² /saat)	0.493	2.01	2.13	2.98	2.97	2.89
	Kesişim (%salınan/cm ²)	1.48	1.63	1.10	0.150	3.14	0.219
	R ²	0.906	0.928	0.929	0.988	0.986	0.959
1.derece	Eğim [(ln%salınan)/cm ² /saat]	0.0517	0.0768	0.0888	0.111	0.0766	0.106
	Kesişim [(ln%salınan)/cm ²]	0.462	0.613	0.552	0.520	0.737	0.532
	R ²	0.812	0.943	0.964	0.953	0.912	0.951
√ t	Eğim (%salınan/cm ² /√saat)	1.54	5.82	6.24	8.71	8.82	8.39
	Kesişim (%salınan/cm ²)	0.486	-1.77	-2.61	-4.99	-2.20	-4.70
	R ²	0.974	0.862	0.883	0.930	0.960	0.892
6.saatte %salınan/cm ²		3.94	15.2	12.6	18.7	21.2	19.6
24.saatte %salınan/cm ²		4.25	18.2	23.5	23.1	25.9	20.3
6.saatte %salınan (Alan: 76.9 cm ²)		15.0	57.7	47.8	71.1	80.5	74.6
24.saatte %salınan (Alan: 76.9 cm ²)		16.1	69.3	89.2	88.0	98.4	77.2

Tablo 68: Nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) farklı ortamlardaki 6 saatlik salım kinetiklerine ait veriler

		D4-NE				ND1-NE			
		pH 1.2	pH 4.5	pH 6.8	Su	pH 1.2	pH 4.5	pH 6.8	Su
0.derece	Eğim (%salınan/cm ² /saat)	0.754	1.93	2.98	2.69	1.47	2.46	3.56	3.13
	Kesişim (%salınan/cm ²)	4.53	7.04	10.0	8.59	3.39	7.63	6.85	7.36
	R ²	0.745	0.663	0.727	0.760	0.832	0.770	0.719	0.598
1.derece	Eğim [(ln%salınan)/cm ² /saat]	0.0346	0.0579	0.0578	0.0608	0.0708	0.0602	0.0954	0.105
	Kesişim [(ln%salınan)/cm ²]	0.740	0.823	0.927	0.882	0.645	0.857	0.759	0.705
	R ²	0.598	0.461	0.514	0.486	0.559	0.524	0.474	0.397
√ t	Eğim (%salınan/cm ² /√saat)	2.46	6.44	9.74	8.72	4.69	7.95	11.7	10.6
	Kesişim (%salınan/cm ²)	2.87	2.59	3.42	2.73	0.288	2.30	-1.11	-0.0359
	R ²	0.873	0.813	0.860	0.881	0.936	0.890	0.854	0.750
6.saatte %salınan/cm ²		8.32	15.8	24.6	22.4	10.9	20.1	23.7	21.3
6. saatte %salınan (Alan: 3.8 cm ²)		31.6	60.3	93.6	85.2	41.5	76.5	89.9	80.9

Tablo 69: Ticari tabletin pH 6.8 tamponundaki 6 saatlik salım kinetiklerine ait veriler

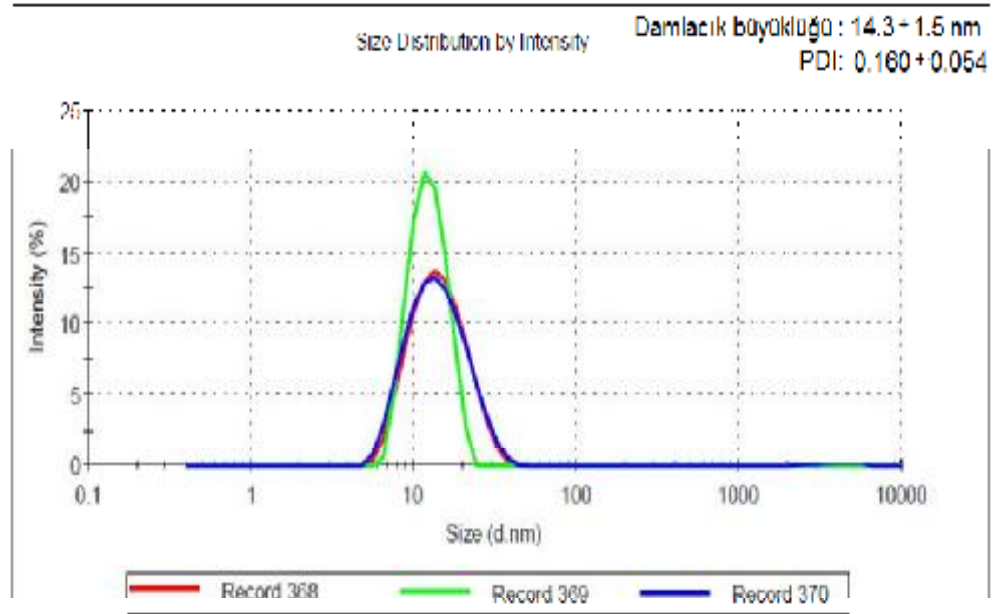
Ticari tablet		
pH 6.8		
0.derece	Eğim (%salınan/cm ² /saat)	6.92
	Kesişim (%salınan/cm ²)	57.9
	R ²	0.804
1.derece	Eğim [(ln%salınan)/cm ² /saat]	0.0965
	Kesişim [(ln%salınan)/cm ²]	4.06
	R ²	0.745
√ t	Eğim (%salınan/cm ² /√saat)	22.2
	Kesişim (%salınan/cm ²)	43.2
	R ²	0.910
6. saatte %salınan		92.6
24. saatte %salınan		96.2

4.7.3.2.7. Formülasyonlardaki Aseklofenak Dozunun Piyasa Dozu Olan 100 mg Kullanıldığında Elde Edilen Damlacık Büyüklüğü ve Zeta Potansiyel Değerleri

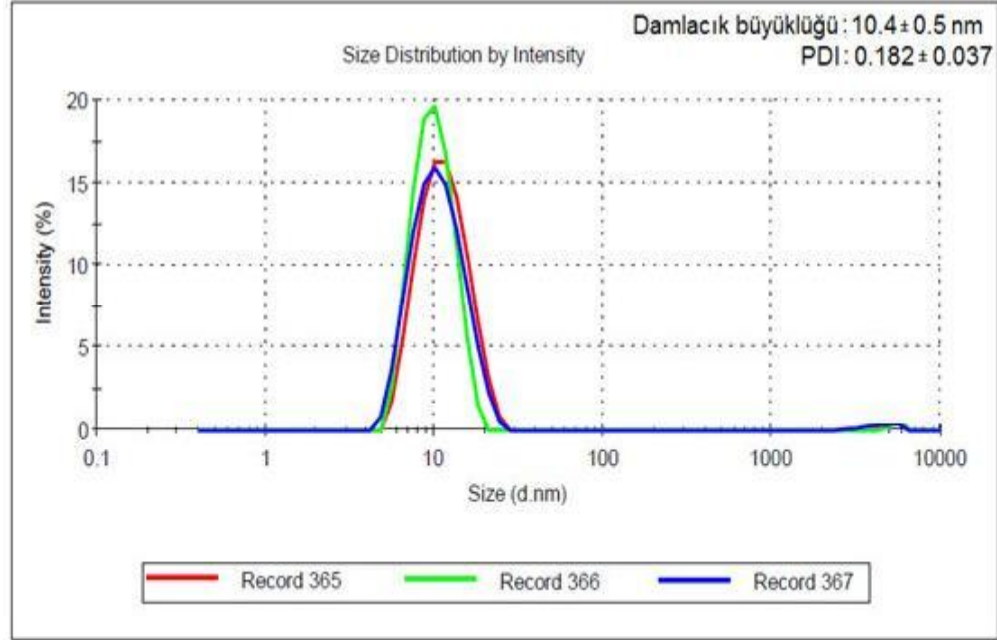
Bu çalışmada sindirilen (D4) ve sindirilmeyen (ND1) formülasyonların 10 mL'sinde kullanılan 50 mg aseklofenağın dozu, Türkiye'deki piyasa dozu olan 100 mg'a çıkartılarak, aseklofenak içeren bu formülasyona 250 mL su eklenmesi ile oluşturulan sindirilen (D4-NE) ve sindirilmeyen (ND1-NE) nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü ve zeta potansiyeli ölçülmüştür. Doz farkının damlacık büyüklüğünü ve zeta potansiyel değerlerini etkileyip etkilemediği incelenmiştir. Damlacık büyüklüğü ve zeta potansiyel değerleri Tablo 70'de, damlacık büyüklüğü dağılımları ise Şekil 46 ve 47'de verilmiştir.

Tablo 70: 10 mL’inde 100 mg aseklofenak içeren formülasyonlara (D4 ve ND1), 250 mL su eklenmesi ile oluşturulan nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) damlacık büyüklüğü ve zeta potansiyel değerleri

Karakterizasyonlar (n=3, $\bar{X} \pm SS$)	D4-NE	ND1-NE
Damlacık Boyutu (nm)	14.3±1.5	10.4±0.5
Polidispersite indeksi (PDI)	0.160±0.054	0.182±0.037
Zeta potansiyel (mV)	-5.61±0.63	-1.60±0.77



Şekil 46: 10 mL’inde 100 mg aseklofenak içeren formülasyona (D4) 250 mL su eklenmesi ile oluşturulan nanoemülsiyonun (D4-NE) damlacık büyüklüğü dağılımı (n=3)



Şekil 47: 10 mL'sinde 100 mg aseklofenak içeren formülasyona (ND1) 250 mL su eklenmesi ile oluşturulan nanoemülsiyonun (ND1-NE) damlacık büyüklüğü dağılımı (n=3)

4.7.3.2.8. Kendiliğinden Nanoemülsifiye Olan Sistemlerin Fiziksel Dayanıklılıklarının İncelenmesi

Formülasyonların belirtilen aylar süresince incelenen özelliklerine ait veriler Tablo 71 ve 72'de verilmiştir.

Formülasyonların ve nanoemülsiyonların hiçbirinde, 4 ay süresince sıvı kristal varlığı gözlenmemiştir.

Fiziksel dayanıklılık çalışması devam etmektedir.

Tablo 71: Formülasyonların dayanıklılık testine ait damlacık büyüklüğü, PDI ve zeta potansiyel değerleri (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Ölçümler	NE	0.ay	°C	1.ay	2.ay	3.ay	4.ay
Damlacık büyüklüğü (nm)	D4-NE	12.9±0.1	4	14.4±0.1	14.3±0.2	12.2±0.06	25.3±0.2
			25	14.1±0.1	15.0±0.2	14.6±0.1	14.9±0.2
			40	14.2±0.1	15.1±0.1	15.1±0.2	42.0±18.2
	ND1-NE	10.7±0.1	4	12.2±0.1	12.3±0.1	12.2±0.2	12.8±0.2
			25	15.6±1.6	14.7±0.1	14.2±0.1	14.2±0.1
			40	12.5±0.3	14.8±0.3	14.0±0.2	15.1±0.1
PDI	D4-NE	0.123±0.006	4	0.077±0.017	0.056±0.034	0.101±0.022	0.236±0.002
			25	0.367±0.495	0.066±0.009	0.087±0.013	0.037±0.013
			40	0.083±0.004	0.092±0.032	0.087±0.017	0.250±0.056
	ND1-NE	0.075±0.005	4	0.199±0.009	0.09±0.02	0.140±0.050	0.102±0.049
			25	0.151±0.020	0.07±0.02	0.099±0.020	0.075±0.010
			40	0.175±0.014	0.08±0.01	0.116±0.033	0.038±0.008
Zeta potansiyel (mV)	D4-NE	-8.59±0.22	4	-0.89±0.23	-5.40±0.63	-7.14±0.52	-8.74±0.70
			25	-0.59±0.34	-6.38±0.00	-6.11±1.88	-8.95±1.98
			40	-2.09±0.06	-2.24±1.40	-3.45±0.57	-9.23±2.94
	ND1-NE	-3.34±0.60	4	-4.30±0.20	-4.66±3.56	-11.7±4.0	-7.04±2.74
			25	-2.91±0.51	-7.88±1.39	-4.03±2.88	-5.68±1.67
			40	-1.86±0.18	-6.86±2.10	-11.4±3.1	-11.5±3.11

Tablo 72: Formülasyonların dayanıklılık testine ait viskozite değerleri ve formülasyonlardaki aseklofenak miktarları (n=3, $\bar{X} \pm SS$)

Aylar	Formülasyon	°C	Aseklofenak miktarı (%değer $\pm$ SS)	K değeri (mPa.s)	R ²
0.ay	D4	-	99.9 $\pm$ 0.2	975.6	0.990
	ND1		99.9 $\pm$ 0.4	1302.9	0.951
1.ay	D4	4	99.6 $\pm$ 0.3	3810.4	0.953
		25	99.0 $\pm$ 1.0	2144.6	0.993
		40	99.7 $\pm$ 0.5	2724.1	0.990
	ND1	4	99.7 $\pm$ 0.7	1013.7	0.989
		25	99.8 $\pm$ 0.7	1696.3	0.967
		40	99.9 $\pm$ 1.0	1109.2	0.912
2.ay	D4	4	98.6 $\pm$ 0.4	4212.9	0.986
		25	99.4 $\pm$ 0.4	3401.6	0.947
		40	99.3 $\pm$ 0.4	3050.0	0.955
	ND1	4	99.2 $\pm$ 2.1	1024.5	0.984
		25	99.5 $\pm$ 0.7	1747.6	0.976
		40	99.2 $\pm$ 0.8	1082.9	0.952
3.ay	D4	4	98.3 $\pm$ 1.8	4287.6	0.817
		25	99.4 $\pm$ 0.3	5469.8	0.947
		40	99.7 $\pm$ 0.2	4867.3	0.963
	ND1	4	99.4 $\pm$ 0.5	995.3	0.939
		25	99.2 $\pm$ 0.8	1695.3	0.972
		40	100.0 $\pm$ 0.8	1217.8	0.961
4.ay	D4	4	99.6 $\pm$ 0.3	1350.2	0.803
		25	99.4 $\pm$ 0.4	3388.0	0.963
		40	99.3 $\pm$ 0.5	3133.8	0.882
	ND1	4	98.7 $\pm$ 0.5	1037.7	0.856
		25	99.6 $\pm$ 0.5	1810.8	0.956
		40	99.3 $\pm$ 0.9	1222.9	0.959

4.7.4. Piyasada Bulunan Aseklofenak Tabletinde (Biofenac®) Yapılan Kontroller

4.7.4.1. Sertlik (Hardness) ve Çap-Kalınlık (Diameter-Thickness)

Sertlik için Biofenac® 100 mg aseklofenak film kaplı tabletten 10 tanesinin sertliği, tablet sertlik ölçüm aleti ile ölçülmüştür. Ölçümler Newton (N) cinsinden belirlenmiştir.

Duyarlılığı 0.01 cm olan mikrometre ile 10 tabletin çap ve kalınlığı ölçülmüş, sonuçlar $\bar{X}$, SS ve %BS ile değerlendirilmiştir. lm sonuçları Tablo 73'te verilmiştir.

Tablo 73: Tablet sertliği ve çap-kalınlık denetimi ölçüm sonuçları

Tablet No	Sertlik (Newton)	%Bağıl Sapma	ap (cm)	Kalınlık (cm)
1	90.2	0.210	0.78	0.35
2	91.1	0.785	0.77	0.35
3	89.2	1.316	0.78	0.34
4	90.5	0.121	0.78	0.34
5	90.2	0.210	0.78	0.34
6	91.6	1.33	0.78	0.35
7	87.1	3.63	0.78	0.34
8	91.8	1.56	0.78	0.35
9	92.5	2.33	0.78	0.34
10	89.7	0.763	0.78	0.35
$\bar{X}$:90.39			$\bar{X}$:0.78	$\bar{X}$:0.35
SS: 1.53			SS:0.00	SS:0.01
			%BS:0.41	%BS:1.53

4.7.4.2. Ağırlık Sapması (Weight Variation)

Tartılan 20 tabletin tek tek ağırlıkları, ortalama ağırlık ve farklar Tablo 74'te verilmiştir.

Tablo 74: Ağırlık sapması denetimi sonuçları

Tablet No	Tablet Ağırlığı (mg)	Tablet No	Tablet Ağırlığı (mg)
1	213.6	11	213.1
2	212.2	12	212.5
3	213.8	13	214.9
4	214.8	14	211.7
5	211.3	15	214.1
6	214.8	16	211.0
7	214.2	17	212.8
8	214.5	18	213.4
9	213.2	19	209.5
10	211.7	20	211.3
Ortalama: 213.8			
Standart Sapma: 1.49			
%Bağıl Sapma: 0.699			

4.7.4.3. Ufalanma-Aşınma

Yapılan çalışma sonucunda çıkarılan tabletlerden kırılan veya çatlayan tablet olmadığı görülmüştür.

İlk Tartım = 6.6100 g

Son tartım = 6.6078 g

Toz kaybı = 0.0022 g

%Toz Kaybı = %0.033

4.7.4.4. Dağılma Süresi (Disintegration Time)

Deney sonucunda 720 saniyede (12 dakika) 6 tabletin tam olarak dağıldığı görülmüştür.

4.7.4.5. İçerik Tekdüzeliği (Content Uniformity)

Ticari tablette belirtilen aseklofenak içeriği 100 mg'dır. Deney sonucunda hesaplanan aseklofenak içeriği ise 99.3 mg'dır ve %99.3'e karşılık gelmektedir.

4.7.4.6. Salım (Dissolution)

Yapılan alışma sonucunda elde edilen, zamana karşılık, ortalama %salınan miktar grafiği şekil 45'te gösterilmiştir.

4.8. İn Vivo alışmalar

4.8.1. İn Vivo Pençe Ödemi

Tüm deney grupları için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri Tablo 75-91'de gösterilmiştir.

Tablo 75: Kontrol grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	257	1.67	1.64	1.88	1.26	2.43	1.30	2.72	1.27	2.29	1.25
2	258	1.66	1.67	1.77	1.40	2.40	1.25	2.71	1.37	2.10	1.24
3	288	1.60	1.59	1.85	1.26	2.25	1.13	2.10	1.21	1.96	1.13
4	296	1.80	1.79	2.05	1.59	2.36	1.60	2.30	1.38	2.19	1.20
5	256	1.65	1.61	2.31	1.52	2.90	1.28	3.06	1.15	2.48	1.04
6	245	1.56	1.50	1.90	1.47	2.39	1.38	2.16	1.21	1.96	1.05
Ortalama	266.7	1.66	1.63	1.96	1.42	2.46	1.32	2.51	1.27	2.16	1.15

Tablo 76: pH 6.8 tampon grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	230	1.34	1.40	1.92	1.46	2.50	1.50	3.00	1.47	2.47	1.30
2	240	1.65	1.55	1.92	1.46	2.28	1.23	2.42	1.42	2.17	1.18
3	250	1.33	1.36	1.64	1.23	2.27	1.22	2.41	1.40	2.29	1.06
4	240	1.20	1.30	1.80	1.36	2.27	1.34	2.45	1.18	2.05	1.12
5	225	1.50	1.44	1.55	1.40	2.40	1.20	2.40	1.15	2.03	1.07
6	230	1.44	1.40	1.66	1.23	2.29	1.18	2.33	1.18	2.22	1.15
Ortalama	235.8	1.41	1.41	1.75	1.36	2.34	1.28	2.50	1.30	2.21	1.15

Tablo 77: pH 6.8 tampon+Aseklöfenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	245	1.50	1.45	1.59	1.53	1.65	1.33	2.38	1.49	2.40	1.50
2	230	1.34	1.30	1.58	1.16	1.75	1.30	2.31	1.37	2.00	1.12
3	230	1.61	1.56	1.50	1.16	1.95	1.20	2.64	1.36	2.69	1.30
4	260	1.43	1.45	1.76	1.48	1.94	1.26	2.04	1.33	2.20	1.14
5	235	1.51	1.60	1.32	1.17	1.51	1.23	1.78	1.43	2.08	1.12
6	235	1.40	1.35	1.64	1.12	2.24	1.29	2.92	1.06	2.41	1.11
Ortalama	239.2	1.47	1.45	1.57	1.27	1.84	1.27	2.35	1.34	2.30	1.22

Tablo 78: Distile su grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	245	1.44	1.35	1.65	1.35	1.72	1.40	2.36	1.36	2.14	1.25
2	235	1.58	1.44	1.80	1.24	2.25	1.10	2.62	1.27	2.57	1.02
3	260	1.67	1.64	1.84	1.16	2.50	1.50	2.72	1.33	2.53	1.21
4	240	1.51	1.56	2.06	1.26	2.25	1.37	2.26	1.08	2.08	1.00
5	220	1.20	1.14	1.40	0.94	1.76	0.93	2.10	1.12	2.20	1.15
6	250	1.59	1.50	2.10	1.40	2.50	1.19	2.64	1.30	2.65	1.29
Ortalama	241.7	1.50	1.44	1.81	1.23	2.16	1.25	2.45	1.24	2.36	1.15

Tablo 79: Distile su+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	230	1.32	1.24	1.48	1.13	2.09	1.10	2.48	1.26	2.37	1.32
2	240	1.32	1.30	1.40	1.24	1.60	1.40	2.38	1.06	2.24	1.13
3	210	1.20	1.30	1.66	1.33	1.50	1.00	1.86	1.11	2.03	1.09
4	215	1.44	1.50	1.86	1.15	1.69	1.02	2.07	1.25	2.05	1.40
5	250	1.34	1.44	1.43	1.21	1.92	1.12	2.14	1.25	2.20	1.15
6	240	1.42	1.30	1.78	1.23	1.63	1.20	2.42	1.26	2.37	1.02
Ortalama	230.8	1.34	1.35	1.60	1.22	1.74	1.14	2.23	1.20	2.21	1.19

Tablo 80: Maisine grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	230	0.94	1.01	1.59	1.51	1.66	1.40	1.80	1.15	1.99	1.39
2	240	0.97	0.96	2.00	1.36	1.92	1.13	1.90	1.24	2.11	1.35
3	250	0.92	1.06	1.14	1.12	1.49	1.20	1.48	0.98	2.09	1.17
4	260	1.09	1.26	1.95	1.52	2.13	1.37	2.27	1.11	2.35	1.15
5	250	0.96	0.98	1.47	1.00	2.12	0.98	2.14	0.97	2.21	1.10
Ortalama	246.0	0.98	1.05	1.63	1.30	1.86	1.22	1.92	1.09	2.15	1.23

Tablo 81: Maisine+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	230	1.05	0.99	1.28	1.15	1.32	1.40	1.26	1.23	1.30	1.21
2	260	1.21	1.14	1.40	1.10	1.72	1.22	1.93	1.08	1.95	1.10
3	230	1.07	1.18	1.42	1.08	1.41	1.15	1.95	1.02	2.09	1.00
4	260	1.18	1.07	1.34	1.13	1.67	1.26	1.39	1.15	1.78	1.33
5	290	1.33	1.35	1.33	1.13	1.74	1.42	1.63	1.31	1.95	1.38
6	240	1.03	1.05	1.37	1.11	1.75	1.10	1.89	1.08	1.82	0.95
Ortalama	251.7	1.15	1.13	1.36	1.12	1.60	1.26	1.68	1.15	1.82	1.16

Tablo 82: Labrafac grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	265	1.15	1.20	1.50	1.38	2.07	1.10	2.04	1.36	2.10	1.41
2	250	1.07	1.16	1.22	1.19	1.39	1.22	2.35	1.27	2.46	1.25
3	235	1.03	1.06	1.42	1.01	1.80	1.17	1.99	0.94	1.84	1.15
4	250	1.12	1.22	1.78	1.25	2.27	1.35	2.35	1.16	2.56	1.30
5	275	1.08	1.10	1.87	1.00	2.06	0.94	2.18	1.01	1.96	1.05
6	280	1.15	1.20	1.46	1.37	1.58	1.10	1.88	1.23	1.97	1.26
Ortalama	259.2	1.10	1.16	1.54	1.20	1.86	1.15	2.13	1.16	2.15	1.24

Tablo 83: Labrafac+Aseklöfenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	255	1.30	1.35	1.97	1.20	2.17	1.25	2.47	1.30	2.50	1.31
2	275	1.25	1.28	1.38	1.10	1.80	1.17	2.06	1.17	2.38	1.29
3	250	1.27	1.25	1.42	1.13	1.84	1.13	2.18	1.42	2.18	1.18
4	255	1.20	1.25	1.36	1.23	1.47	1.22	1.67	1.22	1.74	1.14
5	310	1.30	1.40	1.28	1.30	1.60	1.30	1.74	1.31	2.05	1.38
6	230	0.97	1.08	1.40	1.33	1.68	1.22	1.91	1.23	2.20	1.13
Ortalama	262.5	1.22	1.27	1.47	1.22	1.76	1.22	2.01	1.28	2.18	1.24

Tablo 84: ND1 grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	275	1.38	1.28	1.53	1.21	2.10	1.19	2.15	1.15	1.75	1.10
2	300	1.57	1.53	1.71	1.35	2.50	1.54	2.30	1.48	2.00	1.23
3	290	1.56	1.42	1.43	1.30	2.00	1.29	1.91	1.13	1.94	1.13
4	282	1.73	1.70	1.95	1.24	2.71	1.40	2.75	1.40	2.19	1.27
5	260	1.66	1.65	1.50	1.25	2.15	1.27	2.28	1.29	2.27	1.20
6	268	1.66	1.60	1.54	1.16	2.23	1.19	2.45	1.30	2.22	1.38
Ortalama	279.2	1.59	1.53	1.61	1.25	2.28	1.31	2.31	1.29	2.06	1.22

Tablo 85: ND1+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	262	1.46	1.48	1.41	1.39	1.51	1.29	2.20	1.27	2.01	1.05
2	235	1.50	1.39	1.49	1.05	1.65	1.24	2.20	1.23	1.77	0.98
3	276	1.50	1.51	1.45	1.24	1.61	1.17	1.98	1.16	1.77	1.11
4	259	1.50	1.51	1.44	1.28	1.68	1.28	2.04	1.26	1.91	1.08
5	259	1.42	1.48	1.44	1.27	1.44	1.24	1.52	1.11	1.65	1.05
6	252	1.44	1.40	1.26	1.02	1.77	1.03	1.97	1.12	1.80	1.01
Ortalama	257.2	1.47	1.46	1.42	1.21	1.61	1.21	1.99	1.19	1.82	1.05

Tablo 86: D4 grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	290	1.48	1.38	1.48	1.04	1.95	1.37	2.18	1.33	1.73	1.02
2	268	1.27	1.22	1.27	1.00	1.66	1.02	2.04	1.02	1.50	0.90
3	250	1.39	1.39	1.38	1.13	1.58	1.18	1.77	1.05	1.27	0.91
4	258	1.56	1.53	1.67	1.20	2.36	1.12	2.44	1.40	1.98	0.91
5	258	1.67	1.58	1.79	1.39	2.66	1.12	2.45	1.25	1.96	1.22
6	245	1.52	1.42	1.78	1.02	2.01	1.14	2.27	1.13	1.95	1.04
Ortalama	261.5	1.48	1.42	1.56	1.13	2.04	1.16	2.19	1.20	1.73	1.00

Tablo 87: D4+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	263	1.20	1.20	1.51	1.30	1.94	1.30	2.34	1.37	1.97	1.23
2	239	1.16	1.14	1.41	1.15	1.64	1.13	1.86	1.14	1.89	1.05
3	258	1.45	1.37	1.87	1.26	2.08	1.40	2.05	1.40	2.01	1.27
4	249	1.28	1.23	1.53	1.09	1.89	1.15	1.96	1.15	1.82	0.90
5	270	1.28	1.38	1.42	1.29	1.40	1.18	1.49	1.15	1.42	1.27
6	270	1.25	1.30	1.50	1.46	1.54	1.30	1.88	1.27	1.89	1.15
Ortalama	258.2	1.27	1.27	1.54	1.26	1.75	1.24	1.93	1.25	1.83	1.15

Tablo 88: ND1-NE grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	261	1.31	1.27	1.69	1.25	2.06	1.18	2.37	1.01	2.47	1.04
2	286	1.58	1.62	1.77	1.59	2.46	1.44	2.55	1.40	2.24	1.18
3	268	1.61	1.70	1.68	1.50	2.28	1.38	2.22	1.03	2.28	1.27
4	258	1.23	1.26	1.39	1.40	1.90	1.39	2.42	1.13	2.65	1.17
5	270	1.40	1.38	1.68	1.42	2.22	1.27	2.67	1.22	2.67	1.14
6	264	1.49	1.40	1.61	1.38	1.96	1.27	2.45	1.23	2.30	1.26
Ortalama	267.8	1.44	1.44	1.64	1.42	2.15	1.32	2.45	1.17	2.44	1.18

Tablo 89: (ND1-NE) + Aseklfenak grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	234	1.40	1.40	1.61	1.30	1.60	1.18	1.91	1.17	1.58	0.93
2	277	1.67	1.72	1.77	1.52	1.73	1.42	2.47	1.28	2.05	1.16
3	258	1.35	1.28	1.56	1.39	1.79	1.22	2.20	1.16	1.95	0.90
4	225	1.30	1.35	1.31	1.20	1.40	1.10	1.75	1.41	1.95	1.14
5	249	1.48	1.42	1.52	1.38	1.77	1.25	2.27	1.16	2.21	1.12
6	260	1.57	1.58	1.56	1.45	2.10	1.28	2.57	1.19	2.30	1.08
Ortalama	250.5	1.46	1.46	1.56	1.37	1.73	1.24	2.20	1.23	2.01	1.06

Tablo 90: D4-NE grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	254	1.53	1.57	1.57	1.44	2.20	1.30	2.44	1.26	2.46	1.30
2	244	1.52	1.58	1.53	1.27	2.22	1.15	2.25	1.13	1.97	1.20
3	258	1.77	1.77	1.67	1.57	2.03	1.44	2.01	1.38	1.50	1.12
4	271	1.57	1.56	1.65	1.40	2.05	1.30	2.35	1.32	2.08	1.30
5	285	1.50	1.51	1.80	1.51	1.98	1.30	2.43	1.15	1.90	1.03
6	260	1.51	1.51	2.28	1.45	2.69	1.32	2.85	1.27	2.60	1.25
Ortalama	262.0	1.57	1.58	1.75	1.44	2.20	1.30	2.39	1.25	2.09	1.20

Tablo 91: (D4-NE) + AC grubu için her bir zaman aralığında ölçülen sağ ve sol pençe hacimleri

Sıçan No	Ağırlık (g)	Pençe Hacimleri (mL)									
		0.dakika		90.dakika		180.dakika		270.dakika		360.dakika	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
1	212	1.37	1.43	1.50	1.28	1.52	1.26	1.75	1.02	1.75	0.75
2	305	1.62	1.68	2.10	1.61	2.07	1.47	2.63	1.26	2.77	1.16
3	272	1.65	1.68	1.64	1.51	1.52	1.27	1.99	1.33	2.00	1.01
4	273	1.28	1.34	1.87	1.39	2.32	1.27	2.78	1.33	2.20	1.09
5	255	1.27	1.27	1.42	1.30	1.54	1.25	2.26	1.16	2.18	0.95
6	274	1.38	1.42	1.51	1.29	1.64	1.22	1.80	1.12	1.77	0.92
Ortalama	265.2	1.43	1.47	1.67	1.40	1.77	1.29	2.20	1.20	2.11	0.98

Sağ ve sol pençe hacimleri arasındaki farktan hareketle, sağ pençede oluşan ödem hacimleri hesaplanmıştır. Sonuçlar Tablo 92-108'de verilmiştir.

Tablo 92: Kontrol grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

Kontrol					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	0.03	0.62	1.13	1.45	1.04
2	-0.01	0.37	1.15	1.34	0.86
3	0.01	0.59	1.12	0.89	0.83
4	0.01	0.46	0.76	0.92	0.99
5	0.04	0.79	1.62	1.91	1.44
6	0.06	0.43	1.01	0.95	0.91
Ortalama	0.023	0.543	1.132	1.243	1.012
SH	0.01	0.06	0.11	0.16	0.09
SS	0.03	0.15	0.28	0.40	0.22

Tablo 93: pH 6.8 tampon grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

pH 6.8					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	-0.06	0.46	1.00	1.53	1.17
2	0.10	0.46	1.05	1.00	0.99
3	-0.03	0.41	1.05	1.01	1.23
4	-0.10	0.44	0.93	1.27	0.93
5	0.06	0.15	1.20	1.25	0.96
6	0.04	0.43	1.11	1.15	1.07
Ortalama	0.002	0.392	1.057	1.20	1.06
SH	0.03	0.05	0.04	0.08	0.05
SS	0.08	0.12	0.09	0.20	0.12

Tablo 94: pH 6.8 tampon+Aseklöfenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

pH 6.8+AC					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	0.05	0.06	0.32	0.89	0.90
2	0.04	0.42	0.45	0.94	0.88
3	0.05	0.34	0.75	1.28	1.39
4	-0.02	0.28	0.68	0.71	1.06
5	-0.09	0.15	0.28	0.35	0.96
6	0.05	0.52	0.95	1.86	1.30
Ortalama	0.013	0.295	0.572	1.005	1.08
SH	0.02	0.07	0.11	0.21	0.09
SS	0.06	0.17	0.26	0.52	0.22

Tablo 95: Distile su grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

Distile su					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	0.09	0.30	0.32	1.00	0.89
2	0.14	0.56	1.15	1.35	1.55
3	0.03	0.68	1.00	1.39	1.32
4	-0.05	0.80	0.88	1.18	1.08
5	0.06	0.46	0.83	0.98	1.05
6	0.09	0.70	1.31	1.34	1.36
Ortalama	0.06	0.583	0.915	1.21	1.21
SH	0.03	0.07	0.14	0.07	0.10
SS	0.07	0.18	0.34	0.18	0.24

Tablo 96: Distile su+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

Distile su+AC					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	0.08	0.35	0.99	1.22	1.05
2	0.02	0.16	0.20	1.32	1.11
3	-0.10	0.33	0.50	0.75	0.94
4	-0.06	0.71	0.67	0.82	0.65
5	-0.10	0.22	0.80	0.89	1.05
6	0.12	0.55	0.43	1.16	1.35
Ortalama	-0.007	0.387	0.598	1.03	1.02
SH	0.04	0.08	0.11	0.10	0.09
SS	0.09	0.21	0.28	0.24	0.23

Tablo 97: Maisine grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

Maisine					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	-0.07	0.08	0.26	0.65	0.60
2	0.01	0.64	0.79	0.66	0.76
3	-0.14	0.02	0.29	0.50	0.92
4	-0.17	0.43	0.76	1.16	1.20
5	-0.02	0.47	1.14	1.17	1.11
Ortalama	-0.078	0.328	0.648	0.828	0.918
SH	0.03	0.12	0.17	0.14	0.11
SS	0.08	0.27	0.37	0.31	0.25

Tablo 98: Maisine+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

Maisine+AC					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	0.06	0.13	-0.08	0.03	0.09
2	0.07	0.30	0.50	0.85	0.85
3	-0.11	0.34	0.26	0.93	1.09
4	0.11	0.21	0.41	0.24	0.45
5	-0.02	0.20	0.32	0.32	0.57
6	-0.02	0.26	0.65	0.81	0.87
Ortalama	0.015	0.240	0.343	0.530	0.653
SH	0.03	0.03	0.10	0.15	0.15
SS	0.08	0.08	0.25	0.38	0.36

Tablo 99: Labrafac grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

Labrafac					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	-0.05	0.12	0.97	0.68	0.69
2	-0.09	0.03	0.17	1.08	1.21
3	-0.03	0.41	0.63	1.05	0.69
4	-0.10	0.53	0.92	1.19	1.26
5	-0.02	0.87	1.12	1.17	0.91
6	-0.05	0.09	0.48	0.65	0.71
Ortalama	-0.057	0.342	0.715	0.970	0.912
SH	0.01	0.13	0.14	0.10	0.11
SS	0.03	0.33	0.36	0.24	0.26

Tablo 100: Labrafac+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

Labrafac+AC					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	-0.05	0.77	0.92	1.17	1.19
2	-0.03	0.28	0.63	0.89	1.09
3	0.02	0.29	0.71	0.76	1.00
4	-0.05	0.13	0.25	0.45	0.60
5	-0.10	-0.02	0.30	0.43	0.67
6	-0.11	0.07	0.46	0.68	1.07
Ortalama	-0.053	0.253	0.545	0.730	0.937
SH	0.02	0.11	0.10	0.11	0.10
SS	0.05	0.28	0.26	0.28	0.24

Tablo 101: ND1 grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

ND1					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	0.10	0.32	0.91	1.00	0.65
2	0.04	0.36	0.96	0.82	0.77
3	0.14	0.13	0.71	0.78	0.81
4	0.03	0.71	1.31	1.35	0.92
5	0.01	0.25	0.88	0.99	1.07
6	0.06	0.38	1.04	1.15	0.84
Ortalama	0.063	0.358	0.968	1.015	0.843
SH	0.02	0.08	0.08	0.09	0.06
SS	0.05	0.19	0.20	0.21	0.14

Tablo 102: ND1+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

ND1+AC					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	-0.02	0.02	0.22	0.93	0.96
2	0.11	0.44	0.41	0.97	0.79
3	-0.01	0.21	0.44	0.82	0.66
4	-0.01	0.16	0.40	0.78	0.83
5	-0.06	0.17	0.20	0.41	0.60
6	0.04	0.24	0.74	0.85	0.79
Ortalama	0.008	0.207	0.402	0.793	0.772
SH	0.02	0.06	0.08	0.08	0.05
SS	0.06	0.14	0.19	0.20	0.13

Tablo 103: D4 grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

D4					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	0.10	0.44	0.58	0.85	0.71
2	0.05	0.27	0.64	1.02	0.60
3	0.00	0.25	0.40	0.72	0.36
4	0.03	0.47	1.24	1.04	1.07
5	0.09	0.40	1.54	1.20	0.74
6	0.10	0.76	0.87	1.14	0.91
Ortalama	0.062	0.432	0.878	0.995	0.732
SH	0.02	0.08	0.18	0.07	0.10
SS	0.04	0.18	0.43	0.18	0.25

Tablo 104: D4+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

D4+AC					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	0.00	0.21	0.64	0.97	0.74
2	0.02	0.26	0.51	0.72	0.84
3	0.08	0.61	0.68	0.65	0.74
4	0.05	0.44	0.74	0.81	0.92
5	-0.10	0.13	0.22	0.34	0.15
6	-0.05	0.04	0.24	0.61	0.74
Ortalama	0.00	0.282	0.505	0.683	0.688
SH	0.03	0.09	0.09	0.09	0.11
SS	0.07	0.21	0.23	0.21	0.27

Tablo 105: ND1-NE grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

ND1-NE					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	0.04	0.44	0.88	1.36	1.43
2	-0.04	0.18	1.02	1.15	1.06
3	-0.09	0.18	0.90	1.19	1.01
4	-0.03	-0.01	0.51	1.29	1.48
5	0.02	0.26	0.95	1.45	1.53
6	0.09	0.23	0.69	1.22	1.04
Ortalama	-0.002	0.213	0.825	1.28	1.26
SH	0.03	0.06	0.08	0.05	0.10
SS	0.06	0.15	0.19	0.11	0.25

Tablo 106: (ND1-NE)+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

(ND1-NE)+AC					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	0.00	0.31	0.42	0.74	0.65
2	-0.05	0.25	0.31	1.19	0.89
3	0.07	0.17	0.57	1.04	1.05
4	-0.05	0.11	0.30	0.34	0.81
5	0.06	0.14	0.52	1.11	1.09
6	-0.01	0.11	0.82	1.38	1.22
Ortalama	0.003	0.182	0.490	0.967	0.952
SH	0.02	0.03	0.08	0.15	0.08
SS	0.05	0.08	0.19	0.37	0.21

Tablo 107: D4-NE grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

D4-NE					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	-0.04	0.13	0.90	1.18	1.16
2	-0.06	0.26	1.07	1.12	0.77
3	0.00	0.10	0.59	0.63	0.38
4	0.01	0.25	0.75	1.03	0.78
5	-0.01	0.29	0.68	1.28	0.87
6	0.00	0.83	1.37	1.58	1.35
Ortalama	-0.017	0.310	0.893	1.14	0.885
SH	0.01	0.11	0.12	0.13	0.14
SS	0.03	0.27	0.29	0.31	0.34

Tablo 108: (D4-NE)+Aseklofenak grubu için her bir zaman aralığında hesaplanan ödem hacimleri

(D4-NE)+AC					
Dakika	0'	90'	180'	270'	360'
Sıçan No	Fark	Fark	Fark	Fark	Fark
1	-0.06	0.22	0.26	0.73	1.00
2	-0.06	0.49	0.60	1.37	1.61
3	-0.03	0.13	0.25	0.66	0.99
4	-0.06	0.48	1.05	1.45	1.11
5	0.00	0.12	0.29	1.10	1.23
6	-0.04	0.22	0.42	0.68	0.85
Ortalama	-0.042	0.277	0.478	0.998	1.13
SH	0.01	0.07	0.13	0.15	0.11
SS	0.02	0.17	0.31	0.36	0.27

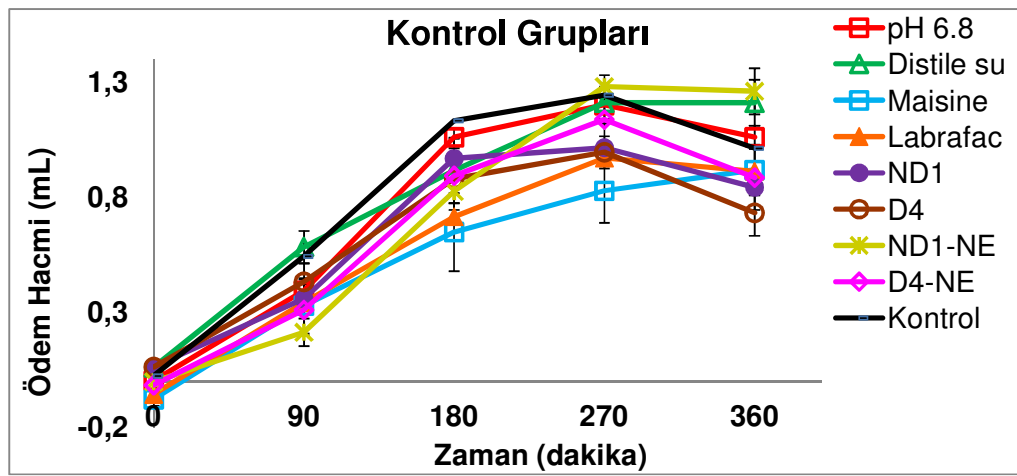
Her bir zaman aralığı için, sağ pençede oluşan ödem hacimleri verilerin ortalaması şeklinde Tablo 109'da toplu halde verilmiştir.

Tablo 109: Her bir zaman aralığı için sağ pençede oluşan ödem hacimleri

SAĞ PENÇEDE OLUŞAN ÖDEM HACMİ (SAĞ PENÇE - SOL PENÇE)																
Dk	pH 6.8		pH 6.8 + AC		Distile su		Distile su + AC		Maisine		Maisine + AC		Labrafac		Labrafac + AC	
	Ort (n=6)	SH	Ort (n=6)	SH	Ort (n=6)	SH	Ort (n=6)	SH	Ort (n=5)	SH	Ort (n=6)	SH	Ort (n=6)	SH	Ort (n=6)	SH
0	0.002	0.03	0.013	0.02	0.060	0.03	-0.007	0.04	-0.078	0.03	0.015	0.03	-0.057	0.01	-0.053	0.02
90	0.392	0.05	0.295	0.07	0.583	0.07	0.387	0.08	0.328	0.12	0.240	0.03	0.342	0.13	0.253	0.11
180	1.060	0.04	0.572	0.11	0.915	0.14	0.598	0.11	0.648	0.17	0.343	0.10	0.715	0.14	0.545	0.10
270	1.200	0.08	1.005	0.21	1.210	0.07	1.030	0.10	0.828	0.14	0.530	0.15	0.970	0.10	0.730	0.11
360	1.060	0.05	1.082	0.09	1.210	0.10	1.030	0.09	0.918	0.11	0.653	0.15	0.912	0.11	0.937	0.10
Dk	ND1		ND1 + AC		D4		D4 + AC		ND1-NE		(ND1-NE) + AC		D4-NE		(D4-NE) + AC	
	Ort (n=6)	SH	Ort (n=6)	SH	Ort (n=6)	SH	Ort (n=6)	SH	Ort (n=6)	SH	Ort (n=6)	SH	Ort (n=6)	SH	Ort (n=6)	SH
0	0.063	0.02	0.008	0.02	0.062	0.02	0.000	0.03	-0.002	0.03	0.003	0.02	-0.017	0.01	-0.042	0.01
90	0.358	0.08	0.207	0.06	0.432	0.08	0.282	0.09	0.213	0.06	0.182	0.03	0.310	0.11	0.277	0.07
180	0.968	0.08	0.402	0.08	0.878	0.18	0.505	0.09	0.825	0.08	0.490	0.08	0.893	0.12	0.478	0.13
270	1.015	0.09	0.793	0.08	0.995	0.07	0.683	0.09	1.280	0.05	0.967	0.15	1.137	0.13	0.998	0.15
360	0.843	0.06	0.772	0.05	0.732	0.10	0.688	0.11	1.260	0.10	0.952	0.08	0.885	0.14	1.130	0.11

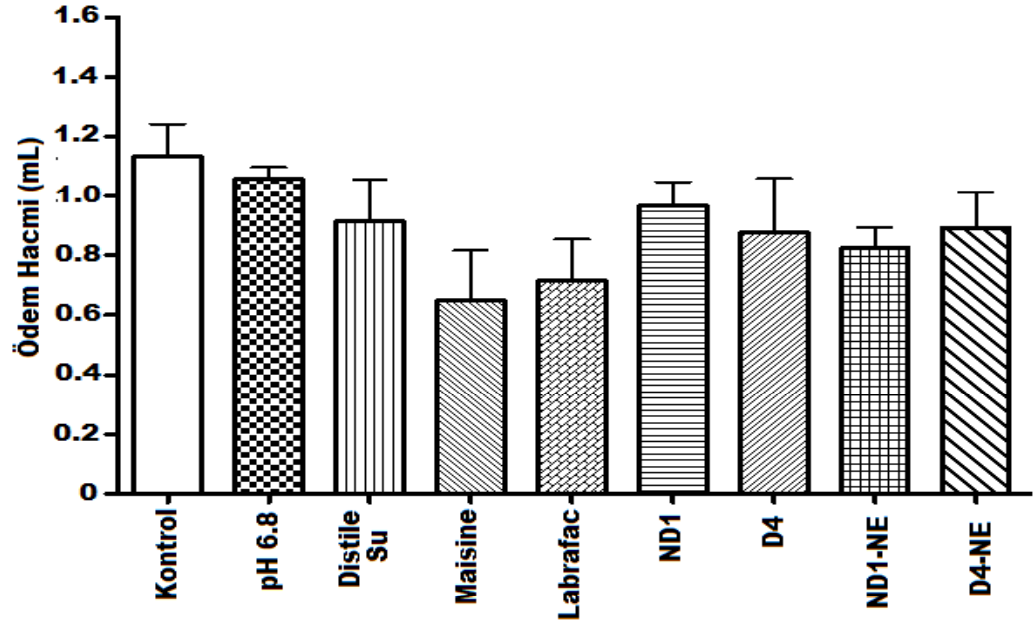
Kontrol		
Dk	Ort (n=6)	SH
0	0.023	0.01
90	0.543	0.06
180	1.132	0.11
270	1.243	0.16
360	1,012	0.09

Tablolardan elde edilen değerlere göre sonuçların daha açık olarak görülebilmesi için grafikler oluşturulmuştur. Grafiklerde sağ pençede oluşan ödem hacminin zamansal değişimi gözlenmektedir. Oluşturulan grafikler Şekil 48 ve 50’de verilmiştir.



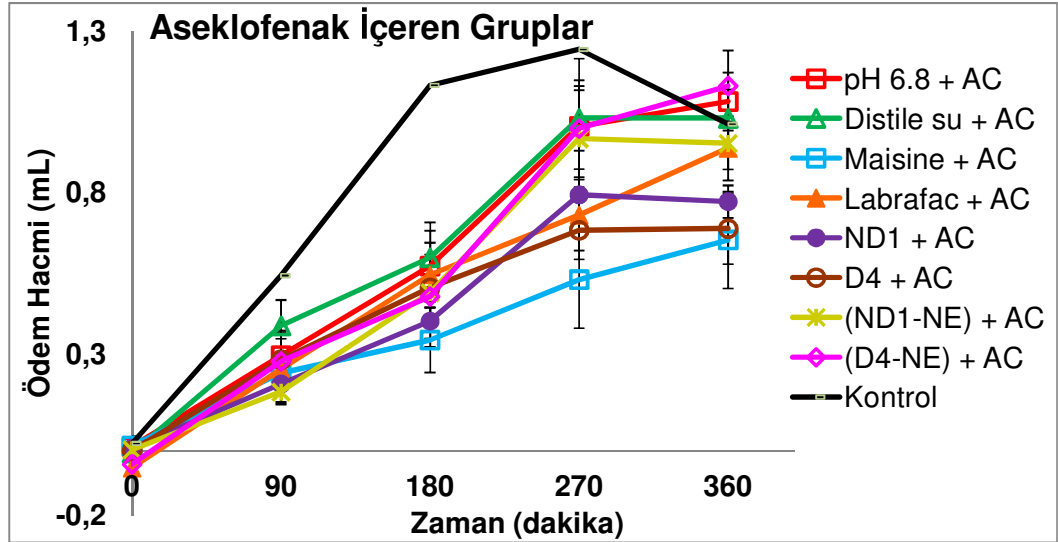
Şekil 48: Aseklofenak içermeyen grupların karragenin ile indüklenen pençe ödemi üzerine etkilerinin zamansal değişimi (n=6, $\bar{X} \pm SH$).

Şekil 49’da verilen 180. dakikaya ait sütun grafiğinde, pençe ödeminin inhibe edilmesinde aseklofenak içermeyen tüm grupların kontrol grubundan bir farkının olup olmadığı istatistiksel olarak incelenmiştir (Post-Hoc, Dunnett).



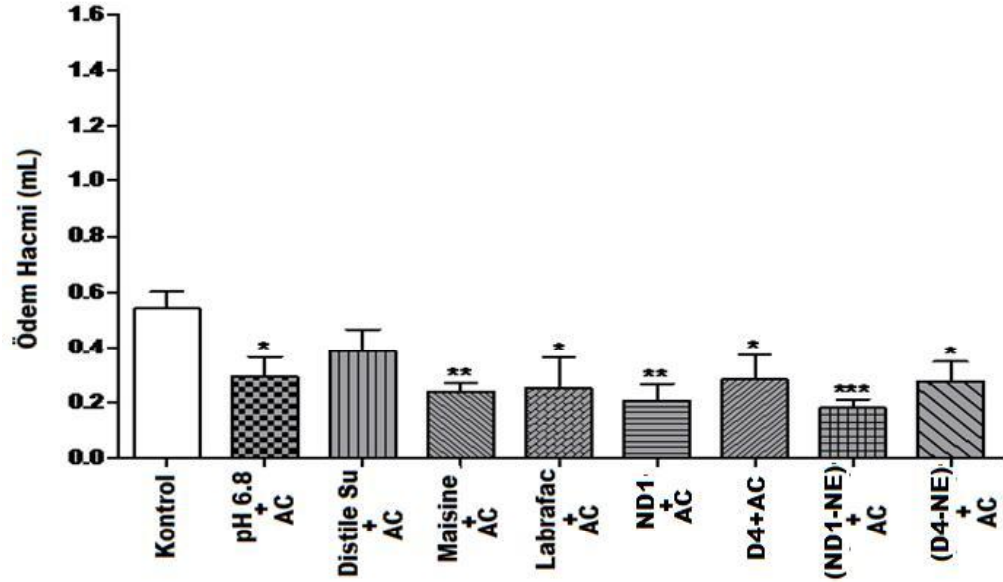
Şekil 49: Aseklofenak içermeyen grupların karragenin enjeksiyonundan sonra 180. dakikada oluşan sıçan pençe ödemi üzerine olan etkileri (n=6, $\bar{X} \pm SH$).

Aseklofenak içeren tüm grupların, tüm zaman aralıklarında sağ pençe ödemin üzerinde oluşturdukları inhibisyon incelendiğinde, kontrol grubuna kıyasla en fazla inhibisyonun 180. dakikada olduğu görülmektedir (Tablo 109 ve Şekil 50). Buradan yola çıkılarak aseklofenanın en yüksek etkinliği gösterdiği dakikanın 180. dakikada olduğu bulunmuştur.

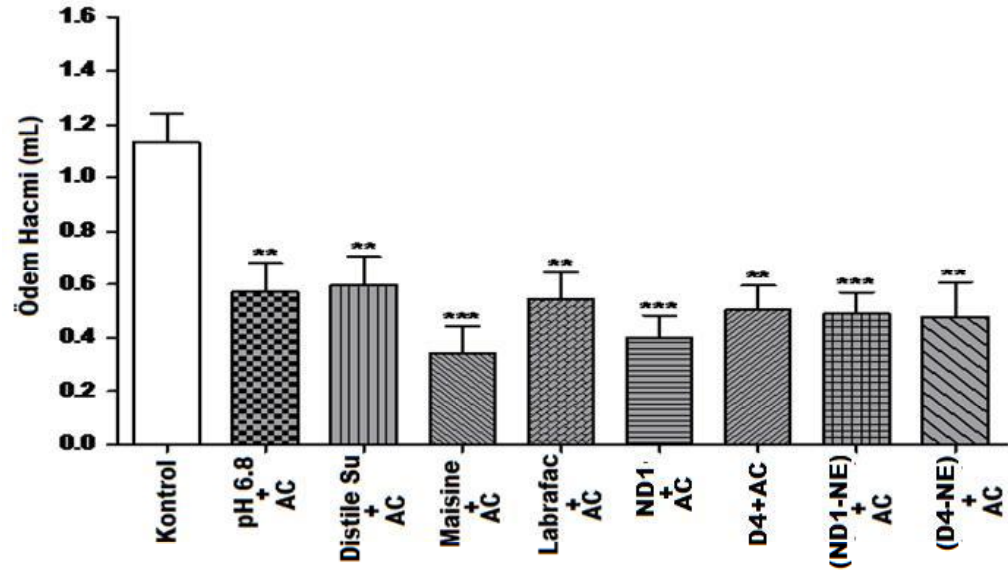


Şekil 50: Aseklöfenak içeren grupların karragenin ile indüklenen pençe ödemi üzerine etkilerinin zamansal değışimi (n=6, $\bar{X} \pm SH$). (AC: Aseklöfenak)

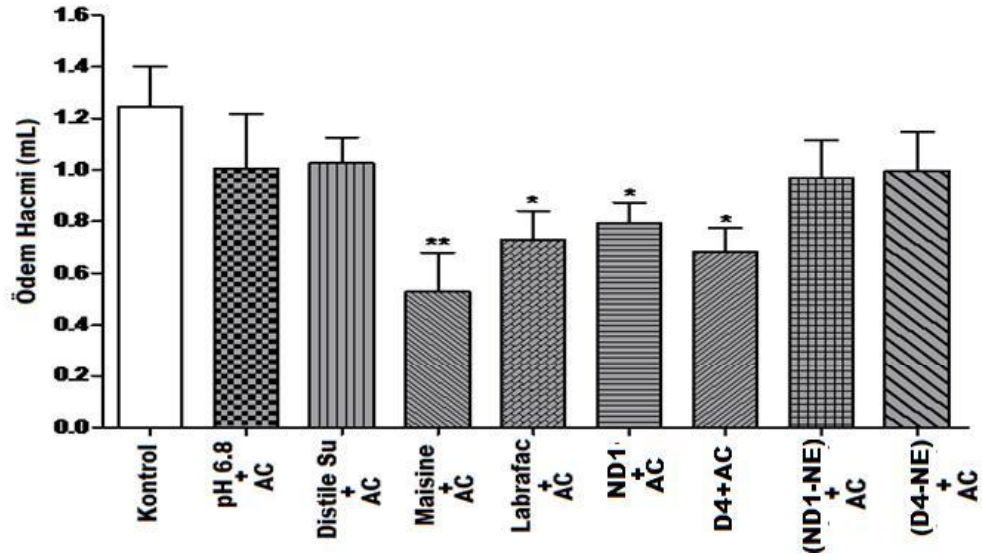
Aseklöfenak içeren formülasyonların etkilerinin zamana göre daha ayrıntılı olarak görülebilmesi ve değeriendirilebilmesi için, her bir zaman aralığında (90, 180, 270 ve 360. dakikalarda), gözlenen inhibisyonların sütun grafikleri çizilmiştir (Şekil 51-54). Bu grafiklerde sonuçlar 'ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası' şeklinde gösterilmiştir (Student-t).



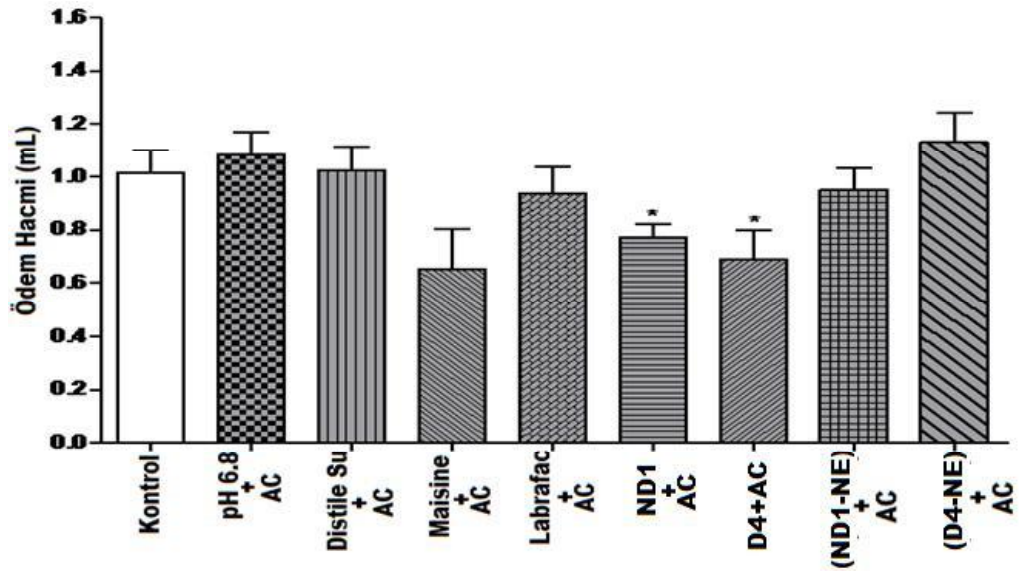
Şekil 51: Aseklfenak içeren grupların, kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak karragenin enjeksiyonundan 90 dakika sonra oluşan sıçan pençe ödemi üzerine olan etkileri (n=6, $\bar{X} \pm SH$), (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.0001).



Şekil 52: Aseklfenak içeren grupların, kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak karragenin enjeksiyonundan 180 dakika sonra oluşan sıçan pençe ödemi üzerine olan etkileri (n=6, $\bar{X} \pm SH$), (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.0001).



Şekil 53: Aseklöfenak içeren grupların, kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak karragenin enjeksiyonundan 270 dakika sonra oluşan sıçan pençe ödemi üzerine olan etkileri (n=6, $\bar{X} \pm SH$), (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.0001).



Şekil 54: Aseklöfenak içeren grupların, kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak karragenin enjeksiyonundan 360 dakika sonra oluşan sıçan pençe ödemi üzerine olan etkileri (n=6, $\bar{X} \pm SH$), (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.0001).

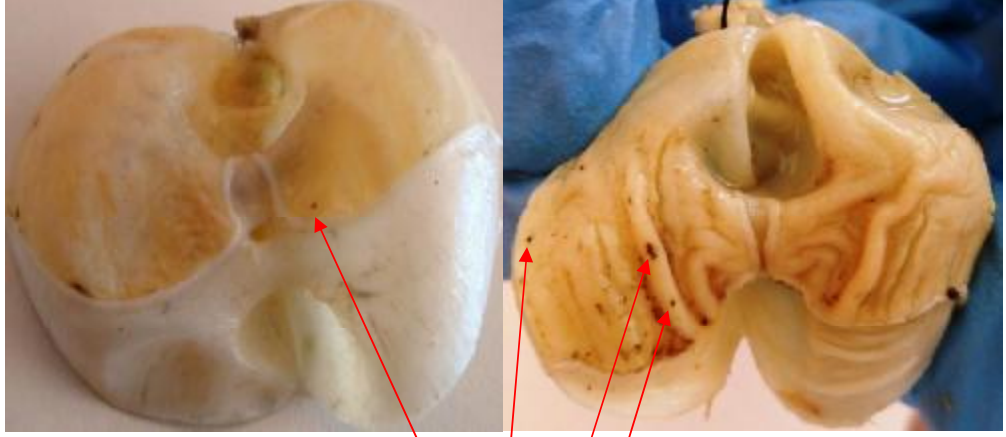
4.8.2. Mortalite ve Ülserojenik Aktivite Ölçümü

Ülserojenik aktivite ölçüm sonuçları Tablo 110'da verilmiştir. Tabloda her bir grup için kullanılan 6 adet sıçan midesinin kaçında peteşi gözleendiği görülmektedir. 'pH 6.8 tampon + Aseklofenak' grubu için midede gözlenen peteşi görüntüleri ve kanama noktaları Görüntü 8'de verilmiştir.

Tablo 110: Grupların midedeki ülserasyon oranları

Kullanılan Gruplar	Aseklofenak içermeyen gruplarda peteşi gözlenen sıçan sayısı	Aseklofenak içeren gruplarda peteşi gözlenen sıçan sayısı
Kontrol	0/6	
pH 6.8 tampon	0/6	4/6
Maisine® 35-1 (Sindirilmeyen yağ)	0/5*	0/6
Labrafac™ Lipophile WL 1349 (Sindirilen yağ)	1/6	0/6
ND1	0/6	0/6
D4	0/6	0/6
ND1-NE	Bu grupta çalışma yapılmamıştır	0/6
D4-NE	Bu grupta çalışma yapılmamıştır	0/6

* Deney sırasında grupta bulunan 6 adet sıçandan 1 tanesi deney dışı kalmıştır. Bu nedenle sadece bu grup için 5 adet sıçan ile peteşi taraması yapılmıştır.



Görüntü 8: Peteşi gözlenen mide görüntüleri ve kanama noktaları

Kanama noktaları

Mortalite çalışmasının sonucunda ise, sıçanların hiçbirinde mortalite yönünden akut toksik etki olmadığı görülmüştür.

5. TARTIŞMA

5.1. Aseklofenağın, Formülasyonda Kullanılan Bileşenlerin, Formülasyonların ve Formülasyonlarla Oluşturulan Nanoemülsiyonların FT-IR Spektrumu

Aseklofenak için çekilen FT-IR spektrumunda, 3200 cm^{-1} civarı görülen sivri pik, aseklofenak yapısındaki N-H grubunu göstermektedir. Bu pikin hemen yanında 3000-2900 arası görülen kısa pik ise C-H pikidir. Spektrumda $1800\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ arası gözlenen uzun pikler C=O yapısını vermektedir. Bu yapı, enerjiyi çok iyi absorbe etmesi nedeniyle spektrumda uzun pikler şeklinde görülmektedir¹⁸². Ayrıca aseklofenak spektrumunda 1200 cm^{-1} civarında C-O yapısı da gözlenmektedir.

Yapılan bir çalışmada aseklofenak için FT-IR spektrumu incelenmiştir. Çalışma sonucunda 3319.3 cm^{-1} 'de N-H gerilim bandı, 1716.5 cm^{-1} 'de C=O bandı, 2970.2 ve 2935.5 cm^{-1} 'de O-H bandı görülmüştür¹⁰⁹. Diğer bir çalışmada aseklofenak için 3027.73 ve 2936.75 cm^{-1} 'de C-H gerilim bandı, 1717 cm^{-1} 'de C=O gerilim bandı, 3319.64 cm^{-1} 'de N-H piki gözlenmiştir²⁰⁶.

Aseklofenağın FT-IR spektrumu için, literatürde elde edilen sonuçlar ile yapılan bu çalışmadaki sonuçlar birbirini doğrulamaktadır.

Etkin maddeden ayrı olarak, tek tek kullanılan yardımcı maddelerin (yağ, YEM, YYEM) FT-IR spektrumları alınarak yapıları ve hangi dalga sayısında hangi pik verdikleri çalışılmış ve yorumlanmıştır.

$3200\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen C-H piki sindirilen yağ olan Labrafac™ Lipophile WL1349, sindirilmeyen yağ olan Maisine® 35-1,

sindirilen YEM olan Labrasol[®], sindirilmeyen YEM olan Cremophor[®] RH40, sindirilen YYEM olan Capmul[®] MCM C8 ve sindirilmeyen YYEM olan Brij[®] O10'da görülmektedir. Kullanılan iki yağın (Labrafac[™] Lipophile WL1349 ve Maisine[®] 35-1) yapılarında gözlenen C-H pikleri oldukça uzundur. Pikin büyüklüğü ne kadar fazla ise, yapıda o kadar uzun zincir olduğu yorumu getirilir. 1800-1700 cm⁻¹ civarında gözlenen C=O piki Labrafac[™] Lipophile WL1349, Maisine[®] 35-1, Labrasol[®] ve Capmul[®] MCM C8 maddelerinin spektrumunda gözlenmektedir. 1100-1200 cm⁻¹ civarında tipik polietoksil yapısı olan C-O piki Labrafac[™] Lipophile WL1349, Cremophor[®] RH40 ve Brij[®] O10 maddelerinde gözlenmektedir. Yayvan ve kısa bir pik olarak gözlenen O-H gerilim bandı ise 3700-3200 cm⁻¹ civarında Maisine[®] 35-1, Labrasol[®], Cremophor[®] RH40 ve Capmul[®] MCM C8 yapılarında gözlenmektedir.

Labrasol[®]'ün FT-IR spektrumunun çekildiği bir çalışmada 3400 cm⁻¹, 2800 cm⁻¹ ve 1800 cm⁻¹ civarında pikler elde edilmiştir²⁰⁷. Literatürde Labrasol[®] için bulunan pikler, yapılan bu çalışmada elde edilen pikler ile uyumludur.

Capmul[®] MCM C8'in FT-IR spektrumunun çekildiği bir çalışmada 3400 cm⁻¹, 2800 cm⁻¹ ve 1800 cm⁻¹ civarında pikler elde edilmiştir. Literatürde Capmul[®] MCM C8 için bulunan pikler, yapılan bu çalışmada elde edilen pikler ile uyumludur²⁰⁷.

Aseklofenağın yapısında O-C=O bağlarından oluşan ester yapısı bulunmaktadır. Molekülün en zayıf halkası burasıdır. Dayanıklılığında bir sorun olduğunda veya herhangi bir etkileşim varlığında, aseklofenak ilk olarak bu yapıdan parçalanmaya uğrar. Parçalanma veya etkileşim durumunda, ilk kaybolacak pik, aseklofenak spektrumunda gözlenen C=O pikidir. Bu bilgiden yola çıkılarak etkin ve

yardımcı maddelerin bir araya gelmesiyle oluşturulan formülasyonlar yorumlanabilir.

Sindirilen bileşenlerle oluşturulmuş formülasyon olan D4'ün spektrumunda 3600 cm^{-1} civarı sadece YEM ve YYEM'den kaynaklanan O-H piki, $3000\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ civarı aseklofenak, yağ, YEM ve YYEM'den kaynaklanan C-H piki, $1800\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ arasında ise aseklofenak, yağ, YEM ve YYEM'den kaynaklanan C=O piki varlığını korumaktadır. 1100 cm^{-1} civarında yağdan ve aseklofenaktan kaynaklanan C-O pikinin olduğu söylenebilir. Spektrumda YEM ve YYEM'den kaynaklanan O-H piki, aseklofenağın 3200 cm^{-1} civarında görülen N-H pikini baskılamıştır. Bu nedenle belirgin bir N-H piki görülememektedir.

Sindirilmeyen bileşenlerle oluşturulmuş formülasyon olan ND1 için spektrum incelendiğinde (Şekil 14), 3000 cm^{-1} civarında küçük bir O-H piki, onun hemen yanında $3600\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ arasında NH ve O-H yapılarından kaynaklanan pikler, 2800 cm^{-1} civarında C-H piki, 1800 cm^{-1} civarında C=O piki ve 1100 cm^{-1} civarında C-O pikinin olduğu görülmektedir. Her iki formülasyonda C-O ve C=O piklerinin aynı dalga sayısında ve %Geçirgenlik (%T) değerinde varlığını sürdürmesi, etkileşim olmadığının en büyük göstergesidir.

Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerle oluşturulan nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) FT-IR spektrumları beraber değerlendirilecek olursa, $3600\text{-}3200$ arasında çok belirgin bir O-H bandının olduğu görülmektedir. Bu bant su pikidir ve O-H gerilim bandının çok büyük olması bize yapıda büyük oranda su bulunduğu bilgisini vermektedir. Nanoemülsiyonların içeriklerine bakıldığında '10 mL formülasyon+250 mL su' karışımından oluşturuldukları görülmektedir. Bu durum dikkate alındığında spektrumdan elde edilen bilginin, nanoemülsiyonların içeriklerini doğruladığı görülmektedir. Spektrumda

gözlenen diğer bir pik ise 1600 civarı gözlenen C=O pikidir. Bu pik incelenecek olursa, pikin yerini yani dalga sayısını korumakla beraber, kısaldığı yani büyüklüğünün azaldığı görülmektedir. Bu durum, sistemin enerjisinin azalmış olduğu bilgisini vermektedir. Sistem içindeki ve sistemin su ile arasında bulunan H bağları, enerji bandının azalmasına neden olmuştur. Sistem enerjisinin azalması, yapıda bir yuvarlaklaşma oluştuğunun en büyük kanıtıdır. Yuvarlaklaşma ise damlacık oluşumunun göstergesidir.

5.2. Aseklöfenağın Farklı Çözünme Ortamlarında UV Spektrumu

Bu çalışmada farklı çözünme ortamları kullanılmış ve her biri için ayrı ayrı UV spektrumu alınmıştır. Bulgular kısmında da verildiği gibi, aseklöfenağın her bir ortamda verdiği $\lambda_{\text{maksimum}}$ değeri 273 nm olarak bulunmuştur. Çözücünün su, tampon veya farklı bir çözünme ortamı olması, dalga boyunu ve şeklini etkilememiş olduğu görülmüştür.

Elde edilen pikin şeklinin ve dalga boyunun, literatür bilgisi ile benzer olduğu saptanmıştır. Farklı kaynaklarda aseklöfenak için $\lambda_{\text{maksimum}}$ değerinin sırasıyla 273 nm^{19,117}, 274 nm^{96,106,183,184}, 276 nm¹⁴⁵, 275 nm^{18,107,111,146,135}, 277 nm¹⁸⁵ olduğu görülmüştür.

5.3. Aseklöfenağın Spektrofotometrik Miktar Tayini ve Standart Doğrunun Hazırlanması

Elde edilen tüm regresyon eşitliklerine ait standart hatalar düşük değerlerdir. Elde edilen %BS (%bağıl sapma) değerlerinin, sadece ilk veriler olan düşük derişimler için daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular, kullanılan yöntemin güvenilir olduğunu göstermektedir.

5.4. Aseklöfenağın Spektrofotometrik Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

Validasyon yapılırken su, pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında çalışılmış ve ilgili parametreler hesaplanmıştır.

5.4.1. Doğrusallık (Linearity)

Elde edilen deneysel verilerin doğrusallıklarının saptanması, lineer regresyon eşitlikleri çıkarılarak yapılmıştır. Bulunan R^2 değerleri ve regresyonun standart hatası verilerin doğrusal olduğunu göstermektedir. Bunun yanı sıra ilgili regresyon eşitliği kullanılarak her üç veri takımı için derişim değerlerine (y) karşılık hesapla bulunan artık değerler ($y-\hat{y}$) grafiğe geçirilmiştir. İstatistik inceleme sonucunda altı doğrunun da doğrusal olduğu bu şekilde gösterilmiştir¹⁸⁶.

5.4.2. Doğruluk (Accuracy)

Kullanılan analitik yöntemin doğruluğu geri kazanım değerleri hesaplanarak bulunmuştur. Elde edilen verilerde düşük, orta ve yüksek derişimdeki değerlerin %BS değerlerinin %1'den küçük olduğu saptanmıştır. Sadece FaSSIF ve FeSSIF ortamlarındaki düşük derişimler için %BS değerleri %1'den büyük bulunmuştur. Tüm %BS değerlerinin %2'den daha az olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu bilgi, kullanılan analitik yöntem ile derişimlerin istenen doğrulukta okunabileceğini göstermektedir.

5.4.3. Kesinlik (Precision)

Yöntemin kesinliği aseklöfenağın düşük, orta ve yüksek derişimlerdeki çözeltileri kullanılarak saptanmıştır. Elde edilen verilerde düşük, orta ve yüksek derişimdeki değerlerin %BS değerlerinin ortamlardaki bazı derişimler için %2'den az olduğu saptanmıştır. Bu bilgi, spektrofotometre ile ortamlardaki absorbansların istenen kesinlikte okunabileceğini göstermektedir.

5.4.4. Duyarlılık Sınırı (Limit of Detection, LOD) ve Saptama Sınırı (Limit of Quantification, LOQ)

Bu çalıřmada bu deęerler, kullanılan spektrofotometre ile okunabilecek en dūřuk deriřim deęerini gōstermektedir. Verilen deęerler incelendięinde aseklofenaęın ortamlardaki ōzeltilerinin analizinde saptanabilecek en dūřuk aseklofenak deriřimi su, pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF, FeSSIF ortamları ve etanol için sırasıyla 0.0115; 0.00999; 0.00577; 0.00577; 0.00664; 0.00577 ve 0.0252 μg/mL olarak bulunmuřtur. Bulunan bu sonuçlara gōre aseklofenaęın en dūřuk deriřiminin, kullanılan tūm ortamlar içinde etanolde saptandıęı gōrūlmektedir.

5.4.5. Őzgūnlūk-Seçicilik (Specificity-Selectivity)

Bu alıřma özellikle salım deneyleri sūresince salım ortamına salınabilecek olan formūlasyondaki herhangi bir bileřenin, aseklofenaęın UV sahadaki spektrofotometrik analizini bozup bozmayacaęını tespit etmek açısından önemlidir. Salım alıřmaları boyunca, salım ortamına sadece suda ōzūnebilen formūlasyon maddeleri geçebilir. Bunlar da Labrasol[®], Cremophor[®] RH40 ve Brij[®] O10'dur. Bu yardımcı maddelerin UV sahada, özellikle aseklofenaęın maksimum dalga boyunda herhangi bir pik vermedięi ve okunan absorbanların sadece aseklofenaęa ait olduęu bulunmuřtur.

Formūlasyonlarda kullanılan ancak suda ōzūnmeyen Labrafac[™] Lipophile WL1349, Maisine[®] 35-1 ve Capmul[®] MCM C8 için bu çalıřma gerçekleřtirilmemiřtir.

5.4.6. Dayanıklılık (Stability)

Dayanıklılık alışmaları aseklofenağın çalışılan ortamlarda ve çalışılan sıcaklıklarda, en azından çalışma sūresi olan 24 saat boyunca bozulmadan kaldığını ispatlamak için yapılmıştır. Aseklofenağın dayanıklılığı suda, pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF ve FeSSIF

ortamlarında 37°C sıcaklıkta incelenmiş ve aseklofenağın çalışılan ortamlardaki çözeltilerinin derişimlerinin değışmediğı istatistiksel olarak saptanmıştır. Sonuç olarak aseklofenağın dayanıklı bir madde olduğı ve bu durumun, bu çalışmada uygulanan koşullar için de geçerli olduğı ispatlanmıştır.

Aseklofenağın piyasada birçok ticari preparatı bulunmaktadır. Yani kimyasal dayanıklılığı ispatlanmıştır. Bu bilginin yanı sıra yapılan dayanıklılık çalışmalarından biri aşağıda verilmiştir.

Yapılan bir literatür çalışmasında aseklofenağın fiziksel ve kimyasal dayanıklılığı incelenmiştir¹⁰⁷. Fiziksel dayanıklılığın incelenmesi için flakonlara konulan aseklofenak çözeltileri 30 gün süresince farklı sıcaklıklarda ve farklı nem koşullarında (2-8°C, oda sıcaklığı, 40°C–%75 bağıl nem ve 55°C) tutulmuştur. Çözeltilerde renk, pH değeri ve görünüşteki değışimler incelenip, etkin maddenin çözeltide çökme durumu olup olmadığına bakılmıştır. Fiziksel dayanıklılık sonuçlarına göre 30 gün süresince oda sıcaklığında, buzdolabı sıcaklığında (2-8°C), 40°C/%75 bağıl nemde ve 55°C’de fiziksel parametreler olan pH, renk ve çökme durumunda hiçbir değışiklik olmadığı gözlenmiştir. Kimyasal dayanıklılığın incelenmesi için ise flakonlara konulan aseklofenak çözeltileri, belirtilen sıcaklık ve nem koşullarında tutulmuştur. Çözeltideki %aseklofenak miktarı 30 gün süresince HPLC ile tespit edilmiştir. Kimyasal dayanıklılık sonuçlarına göre, oda sıcaklığında tutulan aseklofenak çözeltilerindeki aseklofenak miktarının %89.23 – %100 arasında olduğı görölmüştür.

5.5. Aseklofenağın pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF ve FeSSIF Ortamlarındaki Çözünürlüğünün Saptanmasına Ait Bulgular

Bu çalışmada aseklofenağın su, pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında 37°C sıcaklıktaki çözünürlük değeri saptanmıştır. Çözünürlük değeri sırasıyla 57.5 ± 1.6 ; 4.87 ± 0.36 ;

124.6±3.7; 5361.6±164.2; 4067.6±115.7 ve 5124.9±241.9 µg/mL olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre pH değerinin ve ortam özelliklerinin aseklofenağın çözünürlüğünü büyük ölçüde etkilediği görülmektedir. pH değeri arttıkça, çözünürlük değerleri de artmaktadır.

Zayıf asidik bir madde olan aseklofenağın (pKa: 4.7) çözünürlüğü pH'ya bağlıdır⁹⁹. Bu bilgi esas alınarak aseklofenağın bazik ortamlarda çözünürlüğünün yüksek olduğu ancak suda ve asidik ortamlarda çözünürlüğünün düşük olduğu söylenebilir.

Literatürde bir ilacın suda zayıf çözünür olarak adlandırılması için çözünürlük değerinin 100 µg/mL'den daha az olması gerektiği belirtilmiştir¹⁸⁷. Çalışmada bulunan sudaki çözünürlük değeri 57.5 µg/mL'dir ve bu durumu doğrulamaktadır.

Aseklofenağın farklı ortamlardaki çözünürlükleri için literatür taraması yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 5'te özetlenmiştir. Aseklofenağın su ve farklı pH değerlerindeki ortamlardaki çözünürlüklerinin farklı kaynaklarda birbirine yakın olduğu saptanmıştır.

Yapılan bu çalışmada ise aseklofenağın çeşitli pH değerine sahip ortamlarda 37°C sıcaklık için bulunan çözünürlük değerleri (Tablo 53) literatür bilgisi ile benzerlik göstermektedir. Yapılan literatür taramasında, FaSSIF ve FeSSIF ortamları için yapılan bir çözünürlük çalışmasına ulaşılamamıştır.

5.6. Aseklofenağın Yağ/Su Partisyon Katsayısının Saptanması

Aseklofenağın partisyon katsayısının belirlenmesi, geliştirilmiş olan sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerden oluşan formülasyonlardan salımının yorumlanması açısından önemli bir kıstastır.

Bu çalışmada aseklofenağın partiyon katsayısı 37°C'de, yağ fazı olarak sindirilen yağ olan Labrafac™ Lipophile WL1349 ve sindirilmeyen yağ olan Maisine® 35-1 kullanılması ile yapılmıştır. Labrafac™ Lipophile WL1349 için log P değeri 1.94 ± 0.03 ; Maisine® 35-1 için ise log P değeri 2.06 ± 0.02 olarak bulunmuştur. Bu değerler aseklofenağın su ve yağ fazlarında yaklaşık hangi oranlarda bulunabileceğini gösteren değerlerdir. Yağlar arasındaki farklılığın nedeni, yağların polaritelerinin birbirinden farklı olması olabilir. Sindirilen ve sindirilmeyen yağ birbiri ile kıyaslandığında, aseklofenağın sindirilmeyen yağ olan Maisine® 35-1'de daha çok kaldığı görülmektedir.

Yapılan bu çalışmada kullanılan yağlar olan Labrafac™ Lipophile WL1349 ve Maisine® 35-1 ile aseklofenağın partiyonunu incelemek amacıyla yapılan bir literatür çalışmasına rastlanmamıştır. Ancak bu çalışmada kullanılan yağlar ile elde edilen log P değerlerinin, literatürlerde n-oktanol ile yapılan çalışmalarda elde edilen log P değerleri ile benzerlik gösterdiği görülmektedir.

Literatürde, aseklofenak ile yapılan bir partiyon katsayısı çalışmasında, oktanol ve su arasındaki partiyon katsayısı oda sıcaklığında 1.87 ± 0.53 olarak bulunmuştur¹⁸⁸.

Dave ve Paliwal'in¹⁸⁹ yaptığı bir çalışmada aseklofenağın n-oktanol ve su arasındaki partiyon katsayısı hesaplanmıştır. Çalışma oda sıcaklığında yapılmıştır. Çalışma sonucunda log P değeri 1.86 ± 0.75 bulunmuştur.

Yapılan diğer bir çalışmada, yağ olarak izopropil miristat kullanılmış ve oda sıcaklığında aseklofenağın izopropil miristat ile farklı pH değerlerine sahip ortamlar arasındaki partiyonu incelenmiştir.

Aseklofenağın izopropil miristat ile su, pH 4, pH 5.6, pH 6.0 ve pH 7.4 için hesaplanan partiyon katsayısı değerleri sırasıyla 48.5; 25.3; 10.3; 4.98 ve 3.87 bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre asidik bir ilaç olan aseklofenağın, pH değeri daha az olan ortamlardaki partiyon katsayısının daha fazla olduğu görülmüştür¹¹¹. Aseklofenak pH 7.4'te tamamen iyonize halde olduğu için, partiyon katsayısının bu pH'da daha az olduğu belirtilmiştir.

5.7. Lipoliz Çalışması

Lipoliz çalışmasında açlık koşullarının taklit edilebilmesi için 5 mM safra tuzu kullanılmıştır. Literatür bilgisine göre 2-5 mM arası kullanılan safra tuzu açlık koşullarını, 8-15 mM arası kullanılan safra tuzu ise tokluk koşullarını taklit etmektedir¹⁶⁶.

Yapılan lipoliz çalışmasında sindirilen tüm bileşenler ve bu bileşenlerle hazırlanan formülasyon için harcanan NaOH miktarları, sindirilmeyen bileşenler ve bu bileşenlerle hazırlanan formülasyon için harcanandan çok daha fazladır. Bu sonuç da, sindirilen bileşenlerin deneysel olarak lipolize uğradığını doğrulamaktadır.

Yaptığımız bu çalışma sonucunda lipolizi incelenecek olan bileşenin 3 mL'si için harcanan kümülatif NaOH miktarları çoktan aza doğru Labrafac™ Lipophile WL1349 (sindirilen yağ) için 16.7 mL, Capmul® MCM C8 (sindirilen YYEM) için 12.9 mL, D4 (sindirilen formülasyon) için 5.72 mL, Labrasol® (sindirilen YEM) için 4.53 mL, Cremophor® RH40 (sindirilmeyen YEM) için 0.2 mL, ND1 (sindirilmeyen formülasyon) için 0.187 mL, Maisine® 35-1 (sindirilmeyen yağ) için 0.107 mL ve Brij® O10 (sindirilmeyen YYEM) için 0.0 mL olarak bulunmuştur.

Literatür bilgisine göre ise sıralama ve lipolize uğrama durumları şu şekilde verilmiştir; Labrafac™ Lipophile WL 1349 (~%100,

sindirilebilir yağ), Capmul® MCM C8 (~%90, sindirilebilir YYEM), Labrasol® (%53, sindirilebilir YEM), Maisine® 35-1 (~%25, sindirilmeyen yağ), Cremophor® RH40 (%7.5, sindirilmeyen YEM), Brij® O10 (%0, sindirilmeyen YYEM)^{158,190,191}. Literatür bilgisindeki sıralama ile bu çalışmada elde edilen deneysel sonuçların benzer olduğu görülmektedir.

Ayrıca literatür bilgilerine göre, kullanılan bileşenler için harcanan NaOH miktarları, bizim bulduğumuz değerlere yakın olmakla birlikte, bire bir aynı değildir. Ortama eklenen 3 gram Cremophor® RH40 için yapılan lipoliz çalışmasında 90 dakika sonunda harcanan NaOH miktarı yaklaşık 1 mL bulunmuştur¹⁶³. Labrasol®'ün 1 gramı için harcanan NaOH miktarı yaklaşık olarak 3 mL veya 0.25 gram Labrasol® için harcanan NaOH miktarı 0.5 mL; 1 gram Labrafac™ Lipophile WL1349 için harcanan NaOH miktarı ise 40 mL civarında bulunmuştur^{190,192}. Maisine® 35-1'in 3 gramı için harcanan NaOH miktarı 2.8 mL civarındır¹⁹³. Brij® O10'un ise lipolize uğramadığı belirtilmektedir¹⁵⁸.

Literatüre göre hidrofilik YEM olan Cremophor®'un, lipit sindirimini azaltıcı etkisi vardır⁶⁵. Diğer bir makalede de Cremophor® RH40'ın lipoliz için kuvvetli bir inhibitör olduğu bildirilmiştir¹⁹⁴. Ayrıca Brij® O10'un da lipolizi inhibe edici etkisinin olduğu belirtilmektedir¹⁹⁵. Bu bilgiler de bu çalışmadaki formülasyonda sindirilmeyen YEM olarak kullanılan Cremophor® RH40 için ve sindirilmeyen YYEM olan Brij® O10 için, yapılan bu çalışma ile uyum sağlamaktadır.

Lipoliz ortamında, bulunan yağ, YEM ve YYEM dışında, lipoliz aşaması süresince oluşan bileşenler nedeni ile nanoemülsiyonun damlacık büyüklüğünü lipoliz öncesi ve sonrası ölçerek kıyaslamak mümkün değildir. Ancak, bir çalışmada lipoliz sonrası, damlacık büyüklüğünün küçüldüğü bildirilmiştir¹⁹².

Sindirilmeyen bileşenlerle hazırlanan formülasyon olan ND1, mide-bağırsak kanalında lipolizden korunan formülasyondur. Bu formülasyonun su ile karşılaşması sonrasında oluşan damlacıklar, parçalanmadan bütünlüklerini koruyacaktır. Kaynaklarda bu damlaların doğrudan emildiği belirtilmektedir⁶⁵. İn vivo çalışmalarda sindirilen formülasyon olan D4 ile sindirilmeyen formülasyon olan ND1 arasında antienflamatuvar etkinlik açısından anlamlı bir fark bulunmuştur. Sindirilen formülasyonun daha az etkili olduğu, sindirilmeyen formülasyonun ise etkinliğinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bunun nedeni, D4'ün mide-bağırsak kanalında lipaz enzimi ile parçalanarak damlacıklarının bütünlüğünün bozulması ile aseklofenağın açığa çıkmasına neden olmasıdır. Bu durum, özellikle düşük pH'larda büyük ihtimalle aseklofenağın yeniden kristallenmesine neden olmaktadır. Bu durum da emilimi olumsuz yönde etkilemektedir. ND1 formülasyonu ise aseklofenağı mide-bağırsak kanalında damlacıklar içinde çözünür durumda tutmaktadır. Lipaz enzimi, bu damlacıklar üzerinde parçalayıcı etkisini gösterememektedir. Çünkü bu formülasyonu oluşturan bileşenler sindirilmeyen bileşenlerdir. İn vivo çalışmaların bu bulgularından yola çıkılarak, ND1 formülasyonunda aseklofenağın mide-bağırsak kanalında farklı pH değerine sahip ortamlarla temas etmeden ve damlacıkların içinden çıkmadan olduğu gibi emildiği sonucuna ulaşılmaktadır.

5.8. Formülasyon Çalışmaları

Sindirilen ve Sindirilmeyen Bileşenlerle Formülasyon Geliştirme Çalışması

Bu çalışmada K_m oranı 8:1 olarak alınmasına rağmen, literatürde YYEM miktarının, YEM miktarına kıyasla çoğunlukla daha yüksek oranlarda (1:2 ve 1:4 gibi) kullanıldığı görülmektedir. Ancak literatürde kullanılan bu oranlar bizim çalışmamızda uygun bulunmamıştır. Bunun nedeni, EMA kılavuzunun temel olarak alınması ve kılavuzdaki bilgiye göre, suda çözünürlüğü düşük olan maddelerin, çözünür hale getirilmesi için 250 mL ortam kullanılması gerektiğidir¹⁷⁴.

Yapılan bir çalışmada, simvastatin içeren, Capryol® 90 (yağ), Cremophor® EL (YEM), Carbitol® (YYEM) bileşenlerinden oluşan formülasyonda kullanılan toplam YEM ve YYEM yüzdesinin %60 oranında olması sonucu elde edilen damlacık büyüklüğünün en az olduğu (33 nm) bulunmuştur¹⁹⁶.

Yapılan bu çalışmada ise sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerle oluşturulan formülasyonlar (D4 ve ND1) için toplam YEM ve YYEM yüzdesi %92.6, bu formülasyonların oluşturduğu nanoemülsiyonlar (D4-NE ve ND1-NE) için toplam YEM ve YYEM yüzdesi %50'dir. Damlacık büyüklüğü değerleri sırasıyla 12.9 ± 0.1 nm ve 10.7 ± 0.1 nm bulunmuştur.

Formülasyonda YYEM olarak Capmul® MCM C8 kullanıldığında, bu YYEM'nin, formülasyonda yer alan YEM filminin arasına penetrasyonu sonucunda yüzeyler arası akışkanlığın arttığı, bu durumun da YEM molekülleri arasında boşluklar yarattığı ve emülsiyon oluşumunu kolaylaştırdığı bildirilmiştir. Brij® O10 kullanılarak kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemler üzerinde yapılan çalışma sayısı fazla değildir^{46,158}. Yapılan bu çalışmalarda, Brij® O10'un formülasyona etkisi için herhangi bir yorum getirilmemiştir. Yapılan bu çalışmada ise formülasyonlarda (D4 ve ND1) kullanılan her iki YYEM de (Capmul® MCM C8 ve Brij® O10), nanoemülsiyonların hemen oluşumunu sağlamıştır.

Yapılan bir çalışmada formülasyonda kullanılan orta zincirli trigliseritlerin (bu çalışmada Labrafac™ Lipophile WL1349) büyük nanoemülsiyon alanı verdiği belirtilmiştir. Bu sonuç da orta zincirli trigliseritlerin yüksek olan polaritesine bağlanmıştır¹⁷⁵.

Kendiliğinden emülsiyon oluşturmada, sistemin emülsiyon oluşturma hızı önemli bir parametredir. SNEDDS'ler, ortamla hafif bir

karıştırma ile tamamen ve çabucak disperse olabilmelidirler³⁹. Bu literatür bilgisi ile uyumlu olarak bu çalışmada geliştirilen sindirilen ve sindirilmeyen formülasyonlar da, pH değerleri farklı olabilen ortamlarla karşılaştığı zaman bile anında emülsiyon oluşturmaktadırlar.

5.9. Geliştirilen Formülasyonlarda Yapılan Kontroller

5.9.1. Sistemlerin Görüntüleri, Bulanıklık, Damlacık Büyüklüğü ve Polidispersite İndeksi Tayinleri

Bulanıklık tayininde, bu çalışmada kullanılan turbidimetre ile, distile suyun bulanıklık değeri 0.7 ± 0.0 NTU bulunmuştur. Sindirilen bileşenlerden oluşan D4 formülasyonunun bulanıklık değeri 1.4 ± 0.1 NTU bulunurken, bu formülasyon ile oluşturulan nanoemülsiyon olan D4-NE nanoemülsiyonunun bulanıklık değeri 8.7 ± 0.1 bulunmuştur. Sindirilmeyen bileşenlerden oluşan formülasyon olan ND1 formülasyonunun bulanıklık değeri 2.8 ± 0.1 NTU bulunurken, bu formülasyon ile oluşturulan nanoemülsiyon olan ND1-NE nanoemülsiyonunun bulanıklık değeri 9.7 ± 0.1 NTU bulunmuştur.

Hazırlanan her formülasyon ve nanoemülsiyon sisteminin çıplak gözle bakıldığında berrak oldukları görülmektedir. Ancak sindirilen bileşenlerle oluşturulan formülasyonun ve bu formülasyondan elde edilen nanoemülsiyonun bulanıklık değerinin, sindirilmeyen bileşenlerle oluşturulan sistemlerinkinden daha az olduğu, yani bu sistemlerin daha berrak olduğu gözlenmiştir.

Bulanıklık ölçümlerinin, damlacık büyüklüğü ölçümleri ile uyum sağlamakta olduğu görülmektedir. Damlacık büyüklüğü ölçümleri sonucunda sindirilen bileşenlerle oluşturulan formülasyondan elde edilen D4-NE nanoemülsiyonunun damlacık çapı 12.9 ± 0.1 nm ve bulanıklık değeri 8.7 ± 0.1 NTU iken, sindirilmeyen bileşenlerle oluşturulan formülasyondan elde edilen ND1-NE nanoemülsiyonunun damlacık çapı

10.7±0.1 nm ve bulanıklık değeri 9.7±0.1 NTU olarak bulunmuştur. Nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ve bulanıklık ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığı, ancak anlamsız da olsa var olan farkın nedeninin damlacık büyüklüğü daha küçük olan ND1-NE nanoemülsiyonunun damlacıklarının sayısının, aynı hacimde D4-NE nanoemülsiyonunkinden daha fazla olduğu, bu nedenle daha bulanık çıktığı düşünülmektedir.

Yapılan bu çalışmada oluşan nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) damlacık dağılımının tek pik verdiği ve PDI değerlerinin 0.08 – 0.7 aralığında olduğu görülmektedir.

Yapılan bir çalışmada, içerdiği YEM (Labrasol) oranları farklı olan bir dizi kendiliğinden mikroemülsiyon oluşturan sistem geliştirilmiş ve damlacık büyüklüğü ölçülmüştür. Formülasyonlarda kullanılan YEM miktarı %65 ile %90 arasında değişmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, formülasyonda kullanılan YEM yüzdesi arttıkça, damlacık büyüklüğünün de 15.78 nm civarına kadar küçüldüğü görülmüştür. Ayrıca geliştirilen formülasyonlara su eklenmesi ile elde edilen emülsiyonların PDI değerlerinin 0.13 ile 1.00 arasında değişmekte olduğu bulunmuştur. Elde edilen sistemler polidispers olarak tanımlanan dağılıma yakın bir dağılım göstermektedir¹⁹⁷.

Yapılan bu çalışmada ise D4-NE, D5-NE ve D6-NE nanoemülsiyonları kendi arasında kıyaslandığında, nanoemülsiyonda bulunan toplam YEM ve YYEM miktarının artmasıyla damlacık büyüklüğünde belirgin bir değişim görülmemektedir (Tablo 17 ve 58). Ancak ND1-NE, ND2-NE ve ND3-NE nanoemülsiyonları kendi arasında kıyaslandığında, formülasyonda bulunan toplam YEM ve YYEM miktarının artması ile damlacık büyüklüğünün belirgin olarak fazlalaştığı

görülmektedir. (Tablo 20 ve 59). Sonuç olarak formülasyonda YEM ve YYEM'nin optimum miktarda kullanılması gerektiği görülmektedir.

Oluşturulan emülsiyonun nanometre boyutunda olan damlacık büyüklüğünün, sistemin içerdiği ilacın oral emilimini artıracakı düşünülmektedir. Kaba emülsiyon boyutunda olan damlacık büyüklüğü için ise damlacık büyüklüğünden çok bileşenlerin lipolize uğrama durumu önem kazanır¹⁹². Eğer lipolize uğramıyorlarsa, nanoemülsiyonun nanodamlacık olarak emildiği kabul edilir. Bu bilgiye göre, bizim çalışmamızda olduğu gibi sindirilmeyen bileşenlerle hazırlanmış formülasyonun (ND1) oluşturacağı nanoemülsiyon damlacıklarının olduğu gibi emileceği söylenebilir.

5.9.2. Nanoemülsiyonların Zeta Potansiyel Ölçümleri

Oluşturulan formülasyonlara (D4 ve ND1) 250 mL su, pH 1.2, pH 4.5 ve pH 6.8 eklenmesi ile elde edilen nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) zeta potansiyel değerleri incelendiğinde, değerler sindirilen nanoemülsiyon için sırasıyla -8.59 ± 0.22 ; 6.82 ± 1.01 ; -2.79 ± 0.1 ve -1.38 ± 0.60 olarak bulunmuştur. Sindirilmeyen nanoemülsiyonlar için ise sırasıyla -26.1 ± 0.72 ; -2.13 ± 11.73 ; -2.75 ± 1.15 ve -4.86 ± 1.82 olarak bulunmuştur. Zeta potansiyelin mutlak değerinin ne kadar yüksek olursa o kadar iyi olacağı bilinmektedir. Emülsiyonlar için bu değer genellikle $\pm(30-50)$ mV arasında olması istenir¹⁹⁸.

Bu çalışmada bulunan değerlere bakılırsa, sindirilen ve sindirilmeyen formülasyonlarla oluşturulan nanoemülsiyonların zeta potansiyellerinin, her bir çalışma ortamı için nötre yakın değerlerde olduğu görülmektedir. Bu çalışmada hazırlanan sistem su içermeyen sistem olduğu ve nanoemülsiyon şeklinde olmadığı için, dayanıklılık açısından zeta potansiyel büyük bir önem taşımamaktadır.

Oluşturulan nanoemülsiyonlar için, kullanılan her ortam ile elde edilen zeta potansiyel değerlerinin çoğunlukla negatif çıkmasının sebebinin, kullanılan yardımcı bileşenlerin yapısındaki yağ asitlerinin varlığı nedeniyle olduğu düşünülmektedir (Ör: Labrafil® WL1349). Bu bulguyu literatür bilgileri de doğrulamaktadır^{44,199}.

Bu konuyla ilgili olarak Zhao ve arkadaşlarının²⁰⁰ yaptığı bir çalışmada, etil oleat (yağ), Tween® 80 (YEM) ve Transcutol® P (YYEM)'den bileşenlerinin sırasıyla %38.5; %40.5 ve %21 oranlarında karıştırılmasıyla elde edilen kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan sistem hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonun zeta potansiyel değeri -(35-40) mV arasında bulunmuştur. Değerin negatif çıkmasının sebebinin kullanılan yağ, YEM ve YYEM yapısında bulunan serbest yağ asitlerinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir.

Nanoemülsiyonda bulunan yağ damlacıklarının yüzeyindeki yük, damlacıkların bağırsaktaki mukozal hücreler ile etkileşimini etkiler. Eğer yüzey yükü pozitif olursa, yağ damlacıkları ve mukozal hücreler arasında elektrostatik bir etkileşim oluşur. Bu da emilimin artmasını sağlar. Yaptığımız bu çalışmada sindirilen formülasyonla oluşturulan sistemin pH 1.2 ortamındaki zeta potansiyel değerinin pozitif olduğu görülmektedir. Bu bulgu, literatür bilgisi ile de uyumludur. Literatürde %0.9 NaCl, 0.1 N HCl (pH 1.2), distile su ve ® fosfat tamponu ile hazırlanan formülasyonun sadece pH 1.2 ortamındaki zeta potansiyel değeri pozitif çıkmıştır⁴⁷. Literatüre göre bu sonuç, mide pH'sında formülasyonun pozitif zeta potansiyel vereceğini göstermektedir.

Parmar ve arkadaşlarının¹⁷² yaptığı bir çalışmada ise farklı oranlarda Caproyl® 90 (yağ), Cremophor® EL (YEM) ve Transcutol® HP (YYEM) kullanılarak 8 adet kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan formülasyon hazırlanmış ve bidistile su ile 1:100 oranında karıştırılarak bu

formülasyonların nanoemülsiyonları oluşturulmuştur. Oluşturulan nanoemülsiyonların zeta potansiyelleri incelenmiş ve (-10.26) – (-24.6) mV arasında değerler elde edilmiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada sürfaktin etkin madde olarak kullanılmış ve PEG 3000 (yağ), Gelucire® (YEM) ve Labrasol® (YYEM) yardımcı maddeleri ile kendiliğinden mikroemülsiyon oluşturan sistem geliştirilip zeta potansiyel değerleri incelenmiştir. Zeta potansiyel değerlerinin (-1.07) ile (+0.36) mV arasında değiştiği, genel olarak da nötre yakın değerlerde olduğu bulunmuştur¹⁹⁷.

Yapılan bu çalışmada hazırlanan sistem su içermeyen, yağ, YEM ve YYEM'nin homojen karışımından oluşan bir sistem olduğu için ve farklı iki faz içermediği için, damlacıkların yüzeyindeki elektrostatik değişimlerin, sistemin dayanıklılığını etkilemeyeceği düşünülmektedir. Hasta hazırlanan sistemi içtiği anda, bu sistem hastanın midesinde nanoemülsiyona dönüşeceği için zeta potansiyel değerlerinin sistemin dayanıklılığını etkilemeyeceği sonucuna ulaşılmaktadır.

5.9.3. Formülasyonların Viskozite Ölçümleri

Viskozite ölçümlerinde ilk etapta artan kayma hızı ile sistemin viskozitesinin ne yönde değiştiğine karar verilebilmesi için viskozite-kayma hızı reogramları çizilmiştir. Çizilen bu grafiklere göre, D4 ve ND1 formülasyonlarında artan kayma hızı ile viskozitenin azaldığı gözlenmiştir.

Aseklofenak içeren veya içermeyen her iki formülasyon da (D4 ve ND1) doğrusal olmayan akış özelliği göstermektedir. Bu nedenle formülasyonların viskozite değerlerini hesaplayabilmek için Ostwald de Waele eşitliği kullanılmıştır. Eşitlikten elde edilen n değerlerine bakıldığında (Tablo 61) D4, D4+AC, ND1 ve ND1+AC formülasyonları için n değerlerinin 1'den küçük olduğu görülmektedir. Bu durum,

formülasyonların karıştırıldıkça viskozitelerinin azaldığını göstermektedir. Formülasyonların bu özellikleri, büyük miktarlarda hazırlanma aşamasında üreticiye büyük kolaylık sağlayacaktır. K değerleri incelendiğinde ise, sindirilmeyen bileşenler ile hazırlanan, aseklofenak içeren veya içermeyen formülasyonların (ND1 ve ND1+AC) viskozite değerlerinin, sindirilen bileşenlerle hazırlanan formülasyonunkinden daha fazla olduğu görülmektedir. Bu durum, sindirilmeyen bileşenlerden YEM ve YYEM'nin oda sıcaklığında yarı katı olmasına bağlanabilir.

5.9.4. Formülasyonların ve Nanoemülsiyonların Dansite Ölçümleri

Bulgular kısmında Tablo 60'ta belirtilen sonuçlara göre, kullanılan bidistile suyun ve nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) dansitesi aynı bulunmuştur. Bunun nedeninin, formülasyonların 1:25 oranında su ile karıştırılması sonucu oluşan nanoemülsiyonların, yaklaşık %96'lık bir kısmının sudan oluşması olduğu düşünülmektedir.

Formülasyonların dansite değerleri ise birbirlerine ve suyun dansite değeri olan 1'e yakın olmakla beraber daha az yoğun bulunmuştur. Bu durumun nedeni de, formülasyonda kullanılan bileşenlerin yağ türevi bileşenler olmalarıdır.

Yapılan literatür taramasında, kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan sistemlerin dansitesi hakkında yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır.

5.9.5. Nanoemülsiyonlarda Sıvı Kristal Oluşup Oluşmadığının Gözlenmesi

Kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemlerde, sisteme su eklendiğinde sıvı kristal faz oluşma olasılığı vardır. Ayrıca bu tip sistemlerde ve bu çalışmada yüksek oranda kullanılan YEM'ye bağlı olarak, olası sıvı kristal yapının oluşumu takip edilmelidir. Bu nedenle, geliştirilen sistemden elde edilen nanoemülsiyonlar, sıvı kristalleri

gösterme özelliği bulunan polarize mikroskop ile takip edilmiştir. Yapılan mikroskop çalışmasında, oluşturulan D4-NE ve ND1-NE nanoemülsiyonlarında sıvı kristal varlığı gözlenmemiştir.

Yapılan bir literatür çalışmasında yağ olarak limon, nane ve anason yağı, YEM olarak Cremophor® EL ve YYEM olarak Capmul® MCM C8 kullanılmasıyla kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan formülasyon hazırlanmıştır¹¹. YEM ve YYEM karışımına su eklenmiş ve karışımın sıvı kristal faz oluşturup oluşturmadığı incelenmiştir. Sadece YEM ve YYEM karışımı, sıvı kristal faz oluşumu göstermemiştir. YEM ve su 1:3 oranında karıştırıldığında sıvı kristal faz oluşumu gözlenmiştir. YEM:YYEM:su karışım oranı 1:1:3 olduğunda da sıvı kristal faz oluşumu gözlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada ise oluşan nanoemülsiyonlarda YEM ve su oranları hemen hemen aynıdır. Kullanılan YEM miktarları, kritik misel derişimlerinden çok daha fazladır (Tablo 13 ve 20). Bu koşullarda sıvı kristal faz oluşumunun rahatlıkla gerçekleşebileceği düşünülebilir. Ancak geliştirilen formülasyonlarda YYEM varlığının veya kullanılan YEM'lerin yapısının (Labrasol® ve Cremophor® RH40) bu durumu engellediği görülmektedir. Bir literatür bilgisinde, formülasyonda kullanılan Labrasol®'ün sıvı kristal faz oluşumuna neden olmadığı bildirilmiştir⁸³.

Diğer bir literatürde formülasyonda YEM olarak, yüksek derişimde Cremophor® EL kullanılması sonucunda emülsiyon oluşumunun sekteye uğrayabileceği, çünkü YEM/su arasında viskoz bir sıvı kristal jel yapısının oluşabileceği bildirilmiştir¹³. Aynı literatürde formülasyona Capmul® MCM C8 (YYEM) eklenmesi ile maddenin YEM filminin arasına girerek ara yüzey akışkanlığını artırdığı, böylelikle sıvı kristal yapı oluşumuna izin vermeyip emülsiyon oluşumunu kolaylaştırdığı belirtilmiştir.

Lawrence ve Rees'in¹⁹⁵ yaptıkları bir çalışmada ise yağ ve YEM karışımında gözlenen sıvı kristal fazın sonucu olarak daha etkin bir kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistem olduğu söylenmektedir.

5.9.6. Santrifüj ve Dondurma-Çözme Çalışması

Hazırlanan nanoemülsiyonların ölçülen tüm damlacık büyüklüklerinin santrifüjlemeyle ve yapılan dondurma-çözme çalışmasıyla değişip değişmediği incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre D4-NE ve ND1-NE nanoemülsiyonları zorlama koşul olan santrifüje tabi tutulduktan sonra ölçülen damlacık büyüklükleri istatistiksel olarak, santrifüj öncesi damlacık büyüklüklerinden farklı değildir. Hesaplanan anlamlılık değerleri sırasıyla $p=0.881$ ve $p=0.607$ olarak bulunmuştur ($\alpha=0.05$).

Ayrıca D4-NE ve ND1-NE nanoemülsiyonlarında, dondurma-çözme çalışması yapıldıktan sonra da ölçülen damlacık büyüklükleri çalışma öncesi damlacık büyüklüklerinden istatistiksel olarak farksızdır. Her iki formülasyon için de elde edilen anlamlılık değerleri $p=0.881$ olarak bulunmuştur ($\alpha=0.05$).

Bu çalışmaların sonucu olarak, sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerle geliştirilen nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) zorlanmış koşullarda bile damlacık büyüklüklerinin değişmediği görülmektedir.

Yapılan bir çalışmada Cremophor® EL (YEM), Caproyl® 90 (YYEM), Transcutol® HP (YYEM) ve Maisine® (yağ) kullanılarak farklı K_m oranlarında bir dizi kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan formülasyon elde edilmiştir¹⁷². Öncelikle formülasyonlara su eklenmesi sonucu elde edilen nanoemülsiyonlar 3000 rpm'de 5 dakika santrifüje tabi tutulmuştur. Santrifüj sonrası faz ayrışmasına uğrayan nanoemülsiyonlar çalışmadan çıkarılmıştır. Faz ayrışmasına uğramayan nanoemülsiyonlara her bir sıcaklıkta en az 48 saat tutulmak üzere, dondurma (-21°C) ve çözme

(+25°C) döngüsü uygulanmıştır. Damlacık büyüklüğü 20.01 nm olan nanoemülsiyon, dayanıklı olan sonuç formülasyon olarak seçilmiştir.

Diğer bir çalışmada etkin madde olarak antiviral özelliği olan adefovir dipivoksil kullanılmış, yardımcı maddeler olarak da Capmul® MCM C8 (yağ), Tween® 60 (YEM) ve PEG 200 (YYEM) kullanılarak hazırlanan formülasyona 1:100 oranında su eklenerek 3500 rpm'de, 30 dakika santrifüj edilmiştir⁵⁴. Çalışma sonucunda faz ayrışması olmadığı, ayrıca etkin maddenin çökmediği görülmüştür.

Bandyopadhyay ve arkadaşlarının¹⁷⁵ yaptığı bir çalışmada hazırlanan formülasyondan elde edilen nanoemülsiyonlar 5000 rpm'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Nanoemülsiyonların faz ayrışması veya kremalaşma göstermediği tespit edilmiştir. Ayrıca elde edilen formülasyonlar altı defa dondurma (4°C) ve çözme (40°C) döngüsüne tabi tutulmuştur. Formülasyonlar her bir sıcaklıkta en az 48 saat bekletilmiştir. Çalışma sonrası formülasyonlarda faz ayrışması ve çökme durumları incelenmiş ve olmadığı görülmüştür.

Yapılan bu çalışmada ise nanoemülsiyonlar 5000 rpm'de 30 dakika santrifüje tabi tutulmasına rağmen, damlacık boyutlarında herhangi bir değişim olmadığı saptanmıştır. Bulgularımızın literatür bilgisi ile benzer olduğu görülmüştür.

5.9.7. Damlacık Büyüklüğüne pH'nın ve Sıvı Hacminin Etkisi

Yaptığımız bu çalışmada, sindirilen (D4) ve sindirilmeyen (ND1) formülasyonlardan nanoemülsiyon oluşturmak için, pH değeri birbirinden farklı olan altı ortam kullanılmıştır. Sindirilen ve sindirilmeyen formülasyonlar ayrı ayrı 1:25 oranında farklı pH değerine sahip olan bu ortamlarla karıştırılarak damlacık büyüklükleri ölçülmüştür.

Ayrıca sindirilen (D4) ve sindirilmeyen (ND1) formülasyonlara, farklı oranlarda (1:5; 1:15; 1:25 ve 1:28) su eklenmesiyle oluşan nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri de saptanmıştır.

Damlacık büyüklüğü ile yaptığımız diğer bir çalışma da, kullanılan her bir ortam için (su, pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF ve FeSSIF) formülasyonun o pH değerine sahip ortamın farklı miktarları (1:5; 1:15; 1:25 ve 1:28) ile karıştırılması sonucu damlacık büyüklüğündeki olası değişimin incelenmesidir.

Hazırlanan nanoemülsiyonların ölçülen tüm damlacık büyüklüklerinin pH değeriyle ve formülasyona eklenen ortam miktarı ile değişip değişmediğinin belirlenmesi, ayrıca elde edilen damlacık büyüklüğü değerlerinin birbirinden farklı olup olmadığının bulunması için istatistiksel analiz yapılmıştır (Ki-Kare).

Bulgulara göre sindirilen ve sindirilmeyen formülasyonlara farklı pH değerlerindeki ortamın 250 mL'sinin eklenmesiyle oluşan nanoemülsiyonların (D4-NE ve ND1-NE) ölçülen damlacık büyüklüklerinin istatistiksel olarak birbirinden farklı olmadığı bulunmuştur. Yani, D4 veya ND1 formülasyonu için nanoemülsiyon oluşumu, pH'dan bağımsız olarak gerçekleşmektedir. Formülasyondan nanoemülsiyon oluşturulması için geniş bir pH aralığında olan çeşitli ortamlar kullanılabilir. Elde edilen anlamlılık değerleri D4-NE ve ND1-NE için sırasıyla $p=1.000$ ve $p=0.873$ olarak bulunmuştur ($\alpha=0.05$).

Formülasyonlara eklenen su miktarının, her iki formülasyon için de, elde edilen damlacık büyüklüğünü değiştirmediği istatistiksel olarak kanıtlanmıştır. Yani formülasyonun hangi oranda seyreltildiği veya hastanın kaç mL hacimde su ile formülasyonu içtiği, oluşan nanoemülsiyonun damlacık büyüklüğünü etkilememektedir. Her iki

formülasyon için hesaplanan anlamlılık değerleri de $p=0.920$ bulunmuştur ($\alpha=0.05$).

Bu çalışmada, geliştirilen formülasyonların 1:5 oranında bile su ile nanoemülsiyon oluşturabildiği ve ND1 formülasyonu için, 1:550 oranı gibi aşırı bir seyreltme durumunda bile oluşan damlacıkların bozulmadığı saptanmıştır.

Damlacık büyüklüğü ile ilgili yaptığımız diğer çalışmanın sonucunda, formülasyonlara eklenen farklı pH değerindeki ortamların miktarının da oluşan nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğünü etkilemediği bulunmuştur. Bulunan anlamlılık değerleri D4 formülasyonu için pH 1.2, pH 4.5, pH 6.8, FaSSIF, FeSSIF ortamlarında sırasıyla 0.988; 0.914; 0.934; 0.446 ve 0.549'dur. ND1 formülasyonu için ise bulunan anlamlılık değerleri sırasıyla 0.988; 0.788; 0.856; 0.998 ve 1.000'dir ($\alpha=0.05$).

Bu durumda hasta, geliştirilen formülasyonu asidik veya bazik bir sıvı ile birlikte içebilir. Ayrıca içilen sıvının miktarı da formülasyonun damlacık büyüklüğünü etkilemeyecektir.

Bir literatürde, formülasyon bileşenleri %30 oranında Maisine® 35-1:Labrafac® CC (1:1), %46.7 oranında Cremophor® EL ve %23.3 oranında Transcutol® P'den oluşmuştur. Çalışmada etkin madde olarak oridonin kullanılmıştır. "Formülasyon:formülasyona eklenen ortam" oranı "1:1000" olana kadar elde edilen emülsiyonun damlacık büyüklüğünün değişmediği ve etkin maddeyi çözünür halde tuttuğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada ortamın pH'sının da oluşan emülsiyon damlacıklarının büyüklüğü üzerindeki etkisi incelenmiştir. Ortam olarak distile su, pH 1.2, pH 6.8 ve %0.9 NaCl çözeltisi kullanılmıştır. Sonuç

olarak ortamın pH değerinin elde edilen emülsiyonun damlacık büyüklüğünü etkilemediği belirtilmiştir⁴⁷.

Rao ve Shao'nun²⁰¹ yaptığı bir çalışmada Lauroglükol™ FCC (yağ), Cremophor® EL (YEM) ve Transcutol® (YYEM)'den oluşan bileşenler 5:4:3 oranlarında karıştırılarak kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan formülasyon hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonun damlacık büyüklüğü 20-25 nm arasında bulunmuştur. Hazırlanan formülasyona 1:2; 1:10 ve 1:100 oranlarında ve farklı pH değerlerine sahip olan (deiyonize su, pH 1, pH 5.5 ve pH 7.4) ortamlar eklenmiş ve damlacık büyüklüğünün değişip değişmediği incelenmiştir. Çalışma sonucunda, formülasyona eklenen ortam miktarının ve ortamın pH değerinin, kendiliğinden emülsiyon oluşturma özelliğini etkilemediği ve damlacık büyüklüğünü değiştirmedeği damlacık büyüklüğünün 20-50 nm arasında kaldığı bildirilmiştir.

Ruan ve arkadaşlarının¹⁷⁶ yaptığı çalışmada ise Lauroglükol™ FCC (yağ), Cremophor® EL (YEM) ve Transcutol® HP (YYEM)'den oluşan bileşenler 6:4:1 oranlarında karıştırılarak kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan formülasyon hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyona eklenen farklı pH değerlerindeki ortamların ve formülasyona eklenen ortam miktarının, oluşan nanoemülsiyonun damlacık büyüklüğünü etkileyip etkilemediği incelenmiştir. Ortam olarak deiyonize su, pH 1.0, pH 5.5 ve pH 7.4 tamponları kullanılmıştır. Formülasyon:eklenen ortam oranları da 1:2; 1:5; 1:25; 1:50 ve 1:100 şeklindedir. Sonuç olarak ortam miktarının ve pH değerinin damlacık büyüklüğünü etkilemediği bulunmuştur.

Date ve arkadaşlarının¹⁵ yaptığı bir çalışmada, Cremophor® EL (YEM), Capryol® 90 (yağ) ve Akoline® MCM (YYEM) bileşenlerinden hazırlanan ve etkin madde olarak sefpodoksim proksetil içeren bir formülasyon oluşturulmuştur. Formülasyonun damlacık büyüklüğü 170

nm'dir. Formülasyona eklenen ortam olarak su, pH 1.2, pH 3 ve pH 6.8 kullanılmış ve bu ortamların eklenmesi ile oluşan nanoemülsiyondaki damlacık büyüklüğü incelenmiştir. Sonuç olarak farklı pH değerlerine sahip olan ortamlarla oluşturulan nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğünün değişmediği belirtilmiştir.

Zhao ve arkadaşlarının²⁰⁰ yaptığı bir çalışmada etil oleat (yağ), Tween 80 (YEM) ve Transcutol® P (YYEM)'den bileşenlerinin sırasıyla %38.5, %40.5 ve %21 oranlarında karıştırılmasıyla elde edilen kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturan sistem hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyon farklı pH değerlerine sahip ortamlarla (su, pH 1.2 ve pH 6.8) karıştırılarak nanoemülsiyon elde edilmiştir. Elde edilen nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri sırasıyla 68.3 ± 1.6 ; 62.1 ± 1.4 ve 78.2 ± 1.4 nm bulunmuştur. Ayrıca formülasyon farklı oranlarda (1:50–1:200 arası oranlarda) distile su ile hazırlanmıştır. Sonuç olarak ortam pH değerinin ve miktarının, damlacık büyüklüğünü etkilemediği belirtilmiştir.

Nanoemülsiyon oluşumu için kullanılan sıvı hacminin ve sıvının pH değerinin damlacık büyüklüğüne etkisini inceleyen birçok çalışma vardır. Ancak bu çalışmaların hiçbirinde FaSSIF ve FeSSIF ortamlarının kullanılmadığı görülmektedir. Yapılan bu çalışma ise, in vivo koşulları farklı pH değerlerine sahip ortamlardan çok daha iyi taklit ettiği bilinen FaSSIF ve FeSSIF çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çözeltilerle de damlacık büyüklüğünde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (D4 ve ND1 formülasyonlarından, FaSSIF ve FeSSIF çözeltileri ile nanoemülsiyon oluşturulması sonucu elde edilen damlacık büyüklükleri için p değerleri sırasıyla D4 formülasyonu için 0.446 ve 0.549; ND1 formülasyonu için 0.998 ve 1.000'dir) ($\alpha=0.05$).

5.9.8. Salım Çalışması

Salım çalışması yapılmadan önce, kullanılan diyaliz membran için adsorpsiyon çalışması 'Gereç ve Yöntem – 3.2.2.3' numaralı bölümde belirtildiği gibi yapılmıştır. Çalışmadan önce ve sonra bulunan derişim değerleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığı istatistiksel analiz ile değerlendirilmiştir (Ki-Kare). Uygulanan test sonucuna göre anlamlılık değeri $p=0.955$ olarak bulunmuştur ($\alpha=0.05$). Bu değere göre aseklofenak, salım çalışmasında kullanılan diyaliz membrana adsorbe olmamıştır. Diyaliz membrandan kaynaklanan herhangi bir etkin madde kaybı yoktur.

Bu çalışmada salım deneyleri hem formülasyonlar için (D4 ve ND1), hem de bu formülasyonlardan elde edilen nanoemülsiyonlar için (D4-NE ve ND1-NE) yapılmıştır. Formülasyonlarla yapılan çalışmanın amacı sadece bir kalite kontrol parametresi olarak salım profillerini saptamaktır. Çünkü bu formülasyonlar organizmada derhal nanoemülsiyona dönüşeceklerdir. Etkin madde olan aseklofenak da bu nanoemülsiyon damlacıkları içinde çözünmüş durumda bulunuyor olacaktır. Nanoemülsiyonlarda salım çalışması yapılmasının amacı, biyolojik ortamda oluşan nanoemülsiyondan aseklofenağın ne kadarının mide-bağırsak kanalına çıkacağı hakkında bir fikir sahibi olabilmektir.

Tüm salım profillerini matematiksel olarak birbiri ile kıyaslamak için öncelikle verilerin doğrusallaştırılması üzerinde çalışılmıştır. Bunun için farklı modeller denenmiş ve $Q\sqrt{t}$ modelinin verileri en iyi ifade eden kinetik model olduğu görülmüştür (Tablo 65-68). Bu nedenle salım çalışmasına ait yorumlar, bu kinetik model üzerinden yapılmıştır.

D4 formülasyonuna ait salım hızları incelendiğinde (Tablo 66) en hızlıdan en yavaşa doğru sıralamanın şu şekilde olduğu görülmektedir;

FeSSIF (pH 5.0) > pH 6.8 > FaSSIF (pH 6.5) > Su > pH 4.5 > pH 1.2

D4 formülasyonu için 24 saatteki %salınan miktarlara bakıldığında sıralama şu şekilde olmaktadır;

FeSSIF (pH 5.0) > pH 6.8 > FaSSIF (pH 6.5) > pH 4.5 > Su > pH 1.2

ND1 formülasyonuna ait salım hızları incelendiğinde (Tablo 67) ise sıralama şu şekildedir;

FeSSIF (pH 5.0) > FaSSIF (pH 6.5) > Su > pH 6.8 > pH 4.5 > pH 1.2

ND1 formülasyonu için 24. saatteki %salınan miktarlara bakıldığında sıralama şu şekilde olmaktadır;

FeSSIF (pH 5.0) > pH 6.8 > FaSSIF (pH 6.5) > pH 4.5 > Su > pH 1.2

Her iki formülasyondan aseklofenağın salım hızı ve miktarı birlikte değerlendirildiğinde iki temel parametrenin salım hızı ve miktarında etkili olduğu görülmektedir. Bunlardan birisi salım ortamının pH değeridir. Aseklofenak, yüksek pH değerine sahip ortamlarda yüksek çözünürlük gösterirken, ortamın pH değeri düştükçe aseklofenağın ortamdaki çözünürlük değeri de azalmaktadır. Normalde, yağda çözünen bir etkin madde olan ve formülasyondaki yağ içinde çözülmüş durumda bulunan aseklofenağın, salım çalışmasında yağı terk edip ortama geçme isteği, ortamın pH değeri ile doğrudan ilişkilidir. Bunun dışında etkili olan diğer parametre de ortamın bileşimidir. FaSSIF ve özellikle FeSSIF ortamlarına olan geçiş hızlarının ve geçen toplam aseklofenak miktarlarının yüksek olduğu görülmektedir. Bunun nedeni aseklofenağın çözünürlüğünün, açlık ve tokluk koşullarını taklit eden FaSSIF ve FeSSIF ortamlarının içerdiği taurokolat ve lesitinden kaynaklı olarak, bu ortamlarda artmış olmasıdır. Ayrıca FaSSIF ve FeSSIF ortamlarından formülasyonların ve nanoemülsiyonların salımı incelendiğinde, 24. saatte %salınan miktarların

anlamalı fark oluşturmadığı bilgisine ulaşılmaktadır. Yani geliştirilen formülasyonun açlık-tokluk etkisini ortadan kaldırmış olduğu söylenebilir.

FeSSIF ortamı ile her durumda yüksek salım hızı ve yüksek %salınan değer elde edilmektedir. Bu çözücünün pH değeri 5.0 olmasına rağmen sonucun bu şekilde çıkması ilginç görülmektedir. Ancak, bunun sebebi iki çözelti arasındaki yüzey gerilimi farklılığı olabilir. Şöyle ki; yapılan bir çalışmada FeSSIF çözeltisinin yüzey geriliminin (47.4 mN/m), FaSSIF'e göre (53 mN/m) daha az olduğu bulunmuştur²⁰².

Bir literatür bilgisinde, açlık durumunda duodenum/jejunumdaki safra tuzu derişiminin 3-4 mM olduğu, tokluk durumunda ise safra tuzu derişiminin 10-16 mM olduğu belirtilmektedir. İlacın çözünmesinin artmasının, safra tuzlarının tokluk durumundaki yüksek derişimi nedeniyle olduğu ve suda çözünürlüğü düşük olan ilaçlar için artmış oral biyoyararlanımın, genellikle tokluk durumunda görüldüğü belirtilmektedir⁴⁵.

Nanoemülsiyonlar için salım hızı ve 24.saatteki %salınan miktarlar incelendiğinde (Tablo 68), her iki nanoemülsiyon için de (D4-NE ve ND1-NE) salım hızlarının hızlıdan yavaşa doğru şu şekilde sıralandığı görülmektedir:

pH 6.8 > Su > pH 4.5 > pH 1.2

Nanoemülsiyonlar için salım hızını ve 6. saatteki salınan toplam aseklofenak miktarını etkileyen temel faktörler pH, aseklofenağın yağa partisyonu ve nanoemülsiyonun damlacık büyüklüğüdür. Salım hızları yorumlandığında ise, hızı etkileyen tek parametrenin ortam pH değeri olduğu görülmektedir. pH değeri yüksek olan ortama, aseklofenak çıkışı daha hızlı olmaktadır.

Salım miktarının yorumlanmasında, ortam su olduğunda aseklofenağın D4-NE nanoemülsiyonundan %85.2 salım yaptığı görülürken, ND1-NE nanoemülsiyonundan %80.9 oranında çıkış yaptığı görülmektedir. Bunun nedeni, aseklofenağın, ND1-NE yağ damlacığına partisionunun ($\log P = 2.06 \pm 0.02$), D4-NE nanoemülsiyonunun yağ damlacığına olan partisionundan ($\log P = 1.94 \pm 0.03$) daha fazla olmasıdır. Aseklofenak, partisionunun yüksek olduğu yağdan ayrılmak istemeyecek, bu nedenle salım miktarı düşecektir. Bunun dışında damlacık büyüklüğünün küçük olması da salım miktarında ve hızında etkili rol oynamaktadır. Damlacıklar küçüldükçe etkin madde olan aseklofenağı içeren yağın yüzey alanı artacak ve salım daha hızlı oluşacaktır. Bu nedenle aseklofenak, her bir pH değerindeki ortam ikili olarak birbiri ile kıyaslandığında, ND1-NE nanoemülsiyonundan (10.7 ± 0.1 nm), D4-NE nanoemülsiyonuna kıyasla (12.9 ± 0.1 nm) daha yüksek hızda salınmıştır (Tablo 68).

Bir literatürde de, kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemlerde etkin madde salım hızı ve oranının belirlenmesinde emülsiyonun damlacık büyüklüğünün önemli rol oynadığı, küçük damlacık boyutları ile ilacın sistemden daha çabuk salınmasının beklendiği bildirilmiştir⁶³.

Yapılan bu çalışmada, ticari tabletle yapılan salım deneyinde, salınan miktarın yüksek çıkmasının nedeni (24.saatte %96.2), aseklofenağın iyi çözündüğü bir ortam olan pH 6.8 tamponunun kullanılmasıdır. Ticari tablet başka hiçbir engelle maruz kalmadan, doğrudan salım ortamı olan pH 6.8 ile karşılaşmış ve içeriğindeki aseklofenak bu ortamda hemen ve yüksek miktarda çözünmüştür.

Yapılan bir literatür çalışmasında 11-15 arası HLB değerinde olan ve %5 oranında kullanılan, %17 oranında kaprilik/kaprik monogliseridi

(Capmul® ve Labrasol® gibi) içeren YYEM'lerin, formülasyona kendiliğinden emülsiyon oluşturma özelliği kazandırmada ve çözünme karakteristiklerini iyileştirmede etkili olduğu bildirilmiştir. Literatürde, uygun YEM ve derişimi ile birlikte uygun YYEM ve derişiminin seçilmesinin kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemlerden etkin maddenin in vitro salım profillerinin büyük ölçüde etkilendiği sonucuna ulaşılmıştır²⁰³.

Kendiliğinden emülsiyon oluşturan sistemlerle yapılan salım çalışmaları incelendiğinde, sıvı formülasyonun diyaliz torba yöntemi ile salım çalışmasının yapıldığı görülmüştür.

Bu çalışmalarda sonuçlar yorumlanırken kümülatif %salınan miktar–zaman üzerinden sonuçlar değerlendirilmiştir^{68,196,204}.

Wu ve arkadaşlarının²⁰⁵ yaptıkları bir çalışmada geliştirilen kendiliğinden mikroemülsiyon oluşturan sistem, salım deneyleri için, MWCO değeri 10000 Dalton olan diyaliz torba içine konulmuştur. Diyaliz torba içine, birbiriyle kıyaslanması açısından sadece formülasyon veya çözünme ortamı ile seyreltilmiş olan formülasyon konulmuştur. Deney 37°C sıcaklıkta, 100 rpm dönme hızında, palet yöntemi ile yapılmıştır. Çözünme ortamı olarak 900 mL, %0.5 Tween 80 içeren 0.1M HCl çözeltisi kullanılmıştır. Belirli aralıklarla örnekler alınarak HPLC ile örneklerdeki miktar tayin edilmiştir. Deney süresi olan 16 saat sonunda, sadece formülasyondan örnekteki dozun %15 kadarının salındığı, çözünme ortamı ile seyreltilerek diyaliz torba içine konulan sistemden ise %25 kadarının salındığı gözlenmiştir. Çalışmada sonuçları belirtmek için salım kinetik modelleri kullanılmamış, salınan miktar sadece %salınan miktar olarak belirtilmiştir. Çalışma sonucunda, kendiliğinden mikroemülsiyon oluşturan sıvı sistemler için konvansiyonel bir salım protokolünün uygulanamayacağı belirtilmiştir.

Yapılan başka bir salım çalışmasında, araştırmacıların ‘modifiye edilmiş diyaliz torba yöntemi’ olarak isimlendirdiği yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla MWCO değeri 3500 olan selüloz diyaliz membran içine geliştirilen ve içerik oranları farklı olan bir dizi emülsiyon formülasyonu konulmuştur. Deney sıcaklığı ısıtıcılı karıştırıcı ile 37°C’de tutulmuş ve deney 330 rpm’de, 24 saat boyunca yapılmıştır. Miktar tayini spektrofotometre ile yapılmıştır. Çalışma sonucunda etkin maddenin formülasyondan salımını yorumlayabilmek için 15.dakika ve 24.saat için salım katsayıları hesaplanmıştır. YEM oranı az olan formülasyonlarda salım katsayısının yüksek olduğu bulunmuştur³⁵.

Literatür incelemesi sırasında, bu çalışmada kullanılan yağ, YEM ve YYEM ile oluşturulan bir formülasyona rastlanmamıştır. Ancak, bu çalışmada kullanılan maddelerin başka maddelerle formüle edildiği benzer çalışmalar mevcuttur. Literatürlerde kullanılan maddelerin derişiminin, etkin maddenin in vitro salımı üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmada sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerle hazırlanan formülasyonlar için kullanılan yağ, YEM ve YYEM oranları, her iki formülasyonun kıyaslanabilmesi amacıyla aynı tutulmuştur. Dolayısıyla salımda etkili olacak temel parametreler aseklofenağın partision katsayısı değerleri, ortamın pH değerleri, YEM ve YYEM’nin oluşturduğu film tabakasının özelliğidir.

5.9.9. Formülasyonlardaki Aseklofenak Dozunun Artırılmasının Oluşan Nanoemülsiyonun Damlacık Büyüklüğü Ve Zeta Potansiyeli Üzerine Etkisi

Bu çalışmada formülasyonlarda kullanılan aseklofenak dozu olan 50 mg yerine, piyasa dozu olan 100 mg kullanılsaydı geliştirilen formülasyonlardan elde edilen nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ve zeta potansiyel değerleri arasında anlamlı bir farklılık olup olmayacağının incelenmesi gerekiyordu. Bu amaçla 50 mg aseklofenak ve

100 mg aseklofenak için bulunan damlacık büyüklüğü ve zeta potansiyel değerleri, istatistiksel analize tabi tutulmuştur.

Çıkan sonuçlara göre damlacık büyüklüğü değerleri sindirilen formülasyon olan D4 ve sindirilmeyen formülasyon olan ND1 için $p=0.955$ bulunmuştur. Yani 50 mg ve 100 mg aseklofenak içeren formülasyonların oluşturduğu nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri arasındaki fark anlamsızdır ($\alpha=0.05$).

Zeta potansiyel değerleri de sindirilen formülasyon olan D4 ve sindirilmeyen formülasyon olan ND1 için anlamsız bulunmuştur ($p>0.05$). Yani 50 mg ve 100 mg aseklofenak içeren formülasyonların (D4 ve ND1) zeta potansiyelleri arasındaki fark anlamsızdır (Tablo 70).

Formülasyondaki etkin madde dozunun artmasının, nanoemülsiyon oluşumunu ve özelliklerini etkilemediği sonucuna ulaşılmıştır.

5.9.10. Kendiliğinden Nanoemülsifiye Olan Sistemlerin Fiziksel Dayanıklılıklarının İncelenmesi

Bu değerlendirmenin yapılması için ölçüm yapılan aylar süresince (0.; 1.; 2.; 3. ve 4. ay) formülasyon içindeki aseklofenak miktarı, formülasyonun viskozitesi ve oluşturduğu nanoemülsiyonun özellikleri (damlacık büyüklüğü ve zeta potansiyeli) incelenmiştir.

Çalışmanın yapıldığı her bir ay için, formülasyonlardan oluşturulan nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri değerlendirildiğinde, 4 ve 40°C'de D4-NE formülasyonu için damlacık büyüklüğü değerinin 4. aydan itibaren belirgin şekilde büyümeye başladığı görülmektedir (Tablo 71). ND1-NE formülasyonu için ise damlacık büyüklüğü istatistiksel olarak değişim göstermemekte ve değerlerin zaten birbirine çok yakın olduğu

görülmektedir. Damlacık büyüklüğü dağılımları incelendiğinde 4°C'de bekletilen 4. aydaki D4 formülasyonu dışında, tüm formülasyonların nanoemülsiyonlarının damlacık büyüklüğü dağılımının tek pikli çıkmış olduğu görülmektedir. Bunun sonucu olarak sindirilen formülasyonun oda sıcaklığında saklanması koşuluyla 3 ay için, sindirilmeyen formülasyonun ise tüm sıcaklıklarda, çalışmanın yapıldığı 4 ay süresince nanoemülsiyon oluşturma gücünü koruduğu görülmektedir. Oluşan nanoemülsiyonlarda sıvı kristal faz oluşumu da gözlenmemiştir.

Çalışmanın yapıldığı 4 ay süresince, formülasyonlarda bulunan aseklofenak miktarının değişmediği Tablo 72'den görülmektedir. Bu sonuç, formülasyonlar içinde bulunan aseklofenağın 4 ay süresince herhangi bir bozulmaya uğramadığını göstermektedir.

Zeta potansiyel değerleri incelendiğinde her iki formülasyon için de değerlerin negatif olduğu ve (0) – (-10) mV arasında değiştiği gözlenmiştir. Negatif değerler yapıda bulunan yağ asitlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Viskozite değerleri incelendiğinde, 4 ay süresince 25°C'de ND1 formülasyonunun viskozitesinin değişmediği görülmektedir (Tablo 72). D4 formülasyonunun viskozitesinde ise istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmıştır. Ancak bunun neden kaynaklandığı tespit edilememiştir.

5.10. Piyasada Bulunan Aseklofenak Tabletinde (Biofenac®) Yapılan Kontroller

Sertlik (Hardness) ve Çap-Kalınlık (Diameter-Thickness)

Sertlik ve çap kalınlık deneylerinde elde edilen %BS değeri %2'den küçük olduğu için sonuçlar uygun bulunmuştur.

Ağırlık Sapması (Weight Variation)

Ağırlık sapması deneyinde elde edilen %BS değeri %2'den küçük olduğu için sonuç uygun bulunmuştur.

Ufalanma-Aşınma

Toz kaybı %1' den küçük olduğu için, tabletler kabul edilebilir sınırlar içinde ufalanma-aşınma göstermiştir.

Dağılma Süresi (Disintegration)

Film kaplı tabletler için dağılma süresi 30 dakikadan daha az olduğu için tabletler farmakopeye uygundur.

İçerik Tekdüzeliliği

İçerik tekdüzeliliği deneyinde elde edilen sonuçların %85-115 arasında olması gereklidir. Bu veriye göre miktar tayini sonucu uygun bulunmuştur.

5.11. İn Vivo Çalışmalar

5.11.1. İn Vivo Pençe Ödemi Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Çalışma sonuçlarında Tablo 109 ve Şekil 50'de verilen bulgulara göre, aseklofenağın, karragenle oluşturulmuş olan ödemi en fazla inhibe ettiği zaman 180. dakika olarak bulunmuştur. Bu da aseklofenağın etkisinin 180. dakikada en yüksek seviyeye çıktığını göstermektedir. Bu nedenle, çalışma yorumları bu dakika üzerinde yapılmıştır.

Şekil 49 incelendiğinde 180. dakikada, sadece serum fizyolojik içirilen sıçanlardaki (kontrol grubu) pençe ödemi ile aseklofenak içermeyen diğer grupların içirildiği sıçanlarda oluşan pençe ödemi değerlerinin birbirinden farksız olduğu görülmektedir. Tüm kontrol

gruplarının arasında anlamlı bir fark olmadığı, tek yönlü varyans testi ile doğrulanmış ve tüm kontrol grupları için p değeri 0.05'ten daha büyük bulunmuştur. Bu bilgi aseklofenak içermeyen gruplardaki maddelerin, tek başlarına antienflamatuvar etki gösteremediklerini doğrulamaktadır.

Şekil 50 incelendiğinde, kontrol grubu ile aseklofenak içeren etkin maddeli gruplar arasında, özellikle 180. dakikada büyük farklılık olduğu görülmektedir. Gözlenen bu farkın istatistiksel olarak anlamlı kılınması açısından sütun grafikleri oluşturulmuş (Şekil 51-54) ve sonuçlar incelenmiştir. Her bir grubun üzerindeki yıldız işaretleri, grubun kontrolden ne derecede anlamlı fark oluşturduğunu göstermektedir. Yapılan istatistik değerlendirmeye göre ND1+AC (sindirilmeyen formülasyon) ve bu formülasyonda kullanılan yağ olan Maisine+AC grubunun diğer tüm gruplara kıyasla $p < 0.0001$ derecesinde anlamlı fark oluşturduğu sonucuna ulaşılmıştır. Sıçanlarda pençe ödemi en yüksek derecede inhibe eden grubun, ND1+AC formülasyonu ve bu formülasyonun yağı olarak kullanılan Maisine+AC grupları olduğu saptanmıştır. Bu gruplardan sonra etkinliği ikinci derecede yüksek olan gruplar (ND1-NE)+AC olan ND1 formülasyonunun nanoemülsiyonu, D4+AC (sindirilen formülasyon), Labrafac+AC (sindirilen formülasyonun yağı) ve pH 6.8 tampon+AC (aseklofenak çözeltisi olarak bulunmuştur. Farkın anlamlılık derecesi $p < 0.01$ şeklindedir. Üçüncü sırada etkinlik gösteren grup ise distile su+AC (aseklofenak süspansiyonu) olarak bulunmuştur. Farkın anlamlılık derecesi $p < 0.05$ olarak bulunmuştur.

Bunun dışında her bir zaman aralığı için ödem inhibe edici etki incelenmiştir. Sonuçlara göre 90. dakikada aseklofenak içeren formülasyonlardan sadece ND1+AC formülasyonu ve (ND1-NE)+AC nanoemülsiyonunun $p < 0.05$ derecesinde kontrol grubundan daha etkili olduğu görülmektedir. 180. dakikada antienflamatuvar etkinin en yüksek seviyeye ulaştığı yukarıda belirtilmiştir. 270. dakikada etkili olduğu görülen

sistemler Maisine+AC çözeltisi, D4+AC formülasyonu ve ND1+AC formülasyonudur. 360. dakikadaki sonuçlar incelendiğinde aseklofenak içeren sistemlerin hiçbirinin antienflamatuvar etkinliğinin kalmadığı görülmektedir. Sonuç olarak aseklofenağın etkisinin 270. dakikaya kadar devam ettiği söylenebilir.

Yapılan bazı çalışmalar da aseklofenağın in vivo pençe ödemi üzerindeki etkisinin 180. dakikada en yüksek seviyeye ulaştığını doğrulamaktadır. İn vivo pençe ödem çalışması yapılan bir makalede aseklofenak ile organojel formülasyonu geliştirilmiştir. Çalışma için 200-250 g arasında erkek albino sıçanlar kullanılarak, bu çalışmada kullanılan yöntem ile benzer şekilde pençe ödemi geliştirilmiş ve pençe hacimleri saat başı ölçülmüştür. Çalışmaya altı saat devam edilmiştir. Sonuçta, aseklofenak içeren formülasyonun pençe ödemini en belirgin şekilde azalttığı zaman dilimi 180. dakika (3. saat) olarak bulunmuştur¹⁵⁰.

Usha ve arkadaşlarının¹⁰⁵ yaptığı bir çalışmada, aseklofenak ile geliştirilen küresel aglomerat sistemleri üzerinde çalışılmış ve bu sistemin antienflamatuvar aktivitesi değerlendirilmiştir. Çalışmada uygulanan aseklofenak dozu 10 mg/kg'dır. Serum fizyolojikteki %1 karragen çözeltisi ile sıçanların sol pençelerinde ödem oluşturulmuş ve çalışmaya 5 saat devam edilmiştir. Aseklofenak ile geliştirilen sistem 240. dakikada en yüksek etkiyi göstermiştir.

Diğer bir çalışmada aseklofenak ile mikroküreler hazırlanmış, sıçanlara 10 mg/kg dozunda oral yolla verilmiştir. Kontrol grupları olarak aseklofenak içeren %0.5 sodyum karboksimetil selüloz ve boş mikroküre grupları kullanılmıştır. Verilişin ardından sıçanların mide mukozaları incelenmiştir. Mikroskopik inceleme sonucunda, aseklofenak içeren %0.5 sodyum karboksimetil selüloz grubuna kıyasla, aseklofenak mikrokürelerinin mide mukozasındaki tahribatının çok daha az olduğu

görülmüştür. Aseklofenak içeren mikroküre grubunda mukozada 1mm'den daha küçük çaplı aşınmış alanlar gözlenmiştir. Çalışma sonucunda, geliştirilen mikroküre sisteminin, aseklofenağın mideyi tahrip edici etkisini azalttığı bildirilmiştir¹⁰⁶.

5.11.2. Sıçanlarda Mortalite ve Ülserojenik Aktivitenin Değerlendirilmesi

Mortalite çalışmasının sonucuna göre, aseklofenağın uygulanan dozunun sıçanların hiçbirinde akut toksik etki göstermediği sonucuna ulaşılmıştır. Çalışılan her bir sistem için hiçbir hayvanda mortalite gözlenmemiştir.

Ülserojenik aktivite çalışması sonucunda, çalışılan her bir sistem için midesinde peteşi gözlenen sıçan sayısı Tablo 110'da verilmiştir. Tablodaki bulgular incelendiğinde, aseklofenağın midede kanamaya yol açıp açmadığı yorumlanabilmektedir. Bulgulara göre aseklofenak, çözelti halinde sıçanlara verildiğinde (pH 6.8 tampon+AC grubu), 6 sıçandan 4 tanesinin midesinde kanamaya yol açmıştır. Bu çalışmada hazırlanan formülasyonlarla, bu kanama durumunun azaltıldığı görülmektedir. Aseklofenak içeren formülasyonlar (D4+AC ve ND1+AC) sıçanların hiçbirinde mide kanamasına yol açmamıştır.

Ülserojenik aktivite değerlendirilirken, kontrol gruplarından biri olan Labrafac (sindirilen yağ) grubunun verildiği altı adet sıçandan bir tanesinin midesinde birkaç adet kırmızımsı nokta gözlenmiş ve peteşi olarak değerlendirilmiştir. Ancak bu grubun aseklofenak içeren sisteminde bile (Labrafac+AC) hiçbir sıçanda kanama noktacığına rastlanmamıştır. Bu nedenle Labrafac kontrol grubundaki bir adet sıçanda gözlenen peteşinin, deneysel hatadan kaynaklandığı sonucuna ulaşılmıştır.

Bu konunun çok daha ayrıntılı bir çalışma ile desteklenebileceği bilinmekle beraber, mide-bağırsak kanalında

nanoemülsiyon oluşturacak D4 ve ND1 formülasyonlarının, aseklofenağın mide üzerindeki ülserojenik etkiyi engelleyebileceği söylenebilir.

Sonuç olarak geliştirilen formülasyonların (D4 ve ND1) kontrol grubuna göre antienflamatuvar etkinin daha erken başlamasını sağladığı, 180. dakikada en yüksek etkiyi oluşturduğu ve oluşan bu etkiyi 270. dakikaya kadar devam ettirebileceği gösterilmiştir.

6. SONUÇ

Bu çalışmanın amacı, aseklofenak taşıyan, sindirilen ve sindirilmeyen maddeler kullanılarak mide-bağırsak kanalında kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturabilen formülasyonların geliştirilmesi ve geliştirilen formülasyonların etkinliğinin saptanmasıdır. Çalışma sonucunda aşağıda belirtilen sonuçlara ulaşılmıştır;

Çalışmada etkin madde olarak kullanılan aseklofenak, pH'ya bağımlı çözünürlük göstermektedir ve yağa partiyon gösteren bir maddedir. Formülasyonda kullanılan yağ, YEM ve YYEM'ler sindirilebilir bileşenler olsa bile, bu bileşenlerden oluşan formülasyonun nanoemülsiyon oluşturduktan sonra lipolize direnç gösterdiği saptanmıştır. Sindirilmeyen bileşenlerle hazırlanan formülasyon ise, nanoemülsiyon oluşumundan sonra lipolizden rahatlıkla korunabilmektedir. Bu nedenle bu formülasyondan elde edilen nanoemülsiyon damlacıklarının bütünlüklerini koruyarak emildiği düşünülmektedir. Sindirilen bileşenler kullanılarak oluşturulan üçgen faz diyagramı, bu maddelerin birbirleri ile sadece belirli oranlarda homojen olarak karışabildiklerini göstermektedir. Sindirilmeyen bileşenler birbirleri ile her oranda homojen karışım vermektedir. Nanoemülsiyonların oluşabilmesi için üçgen faz diyagramından yararlanılmış ve toplam YEM:YYEM (8:1) oranı en yüksek olan faz diyagramı, en geniş nanoemülsiyon alanını vermiştir. Bu nanoemülsiyon alanı içinden seçilen formülasyonların (D4 ve ND1), 250 mL su eklenmesi ile nanoemülsiyon oluşturabildiği bulunmuştur. Formülasyonların nanoemülsiyon oluşturması üzerine, pH ve sıvı hacminin etkili olmadığı saptanmıştır. Sindirilen ve sindirilmeyen bileşenlerle hazırlanan formülasyonlar arasında damlacık büyüklüğü açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Geliştirilen formülasyonlar, karıştırma ile viskoziteleri azalan sistemlerdir. Dayanıklılık çalışmaları ile formülasyonların dayanıklı olduğu ve etkin maddenin formülasyonlarda bozulmadan kaldığı saptanmıştır. Ayrıca formülasyonların zamanla nanoemülsiyon oluşturma

gücünün değişmediği gösterilmiştir. Salım deneyleri sonucunda aseklofenağın formülasyondan salımının pH'ya ve partisyona bağlı olduğu bulunmuştur. Ayrıca ortamda tokluk durumunu taklit eden maddelerin olması, salınan miktarın artmasına neden olmuştur. Nanoemülsiyon ile yapılan salım çalışmalarında, salınan miktarın pH'dan etkilendiği gözlenmiştir. Formülasyondaki aseklofenak dozunun iki katına çıkmasının oluşan nanoemülsiyonun özelliklerini etkilemediği saptanmıştır. Pençe ödemi testi kullanılarak yapılan in vivo çalışmalar sonunda aseklofenağın maksimum etkisini 180. dakikada gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle tüm karşılaştırmalar 180. dakikada hesaplanan ödem hacimleri arasında yapılmıştır. Sindirilmeyen formülasyon ve bu formülasyondan elde edilen nanoemülsiyonun, sindirilen formülasyon ve onun nanoemülsiyonuna göre daha erken farmakolojik etki gösterdiği saptanmıştır. Sindirilmeyen formülasyon ve nanoemülsiyon ile 90. dakikada anlamlı etki görülmüştür. Formülasyonların etkisi 360. dakikaya kadar devam ederken, nanoemülsiyonlar için etkinlik 180. dakikadan sonra anlamlılığını kaybetmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada sindirilmeyen bileşenler kullanılarak geliştirilen formülasyonun aseklofenak gibi suda çözünürlüğü düşük maddeler için ideal bir taşıyıcı sistem olduğu bulunmuştur.

7. ÖZET

Kendiliğinden Nanoemülsifiye Olan İlaç Taşıyıcı Sistemler

Bu çalışmanın amaçları, aseklofenak içeren kendiliğinden emülsiyon oluşturan formülasyon geliştirmek ve in vivo etkinliğini değerlendirmektir. Formülasyondaki en uygun yağ, YEM ve YYEM oranlarının belirlenmesi için üçgen faz diyagramları oluşturulmuştur. K_m oranı 8:1 olduğunda, emülsiyon oluşturma özelliğinin iyi olduğu görülmüştür. Sindirilen formülasyon Labrafac™ Lipophile WL1349 (yağ, 7.4%), Labrasol® (YEM, 82.2%) and Capmul® MCM C8 (YYEM, 10.4%) kullanılarak; sindirilmeyen formülasyon ise Maisine® 35-1 (yağ, 7.4%), Cremophor® RH40 (YEM, 82.2%) ve Brij® O10 (YYEM, 10.4%) kullanılarak hazırlanmıştır. Su ile oluşturulan nanoemülsiyonlar, sindirilen ve sindirilmeyen formülasyonlar için sırasıyla 12.9 ± 0.1 ve 10.7 ± 0.1 nm damlacık büyüklüğü; 0.123 ± 0.006 ve 0.075 ± 0.005 polidispersite indeksi vermişlerdir. Damlacık büyüklüğü üzerine dilüsyon oranının ve pH'nın etkisi, pH 1.2; 4.5; 6.8, FaSSIF ve FeSSIF ortamları kullanılarak çalışılmıştır. Sindirilmeyen formülasyonların dört ay süresince dayanıklı kaldığı gözlenmiştir. Karragen indüklü pençe ödemi modeli (10 mg/kg aseklofenak) kullanılarak in vivo farmakodinamik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre pH ve dilüsyonun damlacık büyüklüğü üzerine anlamlı bir etkileri yoktur. Aseklofenağın FaSSIF ve FeSSIF ortamlarından salımı açlık-tokluk durumundan bağımsızdır. Geliştirilen formülasyonlarla antienflamatuvar etkinlik erken başlamış ve nanoemülsiyonlardan daha uzun sürmüştür. Üçgen faz diyagramı, lipoliz, pH ve dilüsyon oranı üzerinde yapılan çalışmalar, optimal formülasyon geliştirilebilmesi için önemli ve etkin bir strateji sunmaktadır. Veriler, geliştirilen formülasyonun aseklofenak gibi suda zayıf çözünen ilaçların biyoyararlanımını artırmak için kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Aseklofenak, kendiliğinden nanoemülsifiye olan ilaç taşıyıcı sistemler, lipoliz, pençe ödemi.

8. SUMMARY

Self Nanoemulsifying Drug Delivery Systems (SNEDDS)

The aims of this study were to prepare SNEDDS containing aceclofenac and to evaluate its in vivo efficacy. Pseudo-ternary phase diagrams were constructed to optimize the percentage of oil, surfactant and cosurfactant. The efficiency of the emulsification was good when K_m was 8:1. An optimized formulation consisting of Labrafac™ Lipophile WL1349 (oil,7.4%), Labrasol® (surfactant,82.2%) and Capmul® MCM C8 (cosurfactant,10.4%) was selected for digestible SNEDDS; Maisine® 35-1 (oil,7.4%), Cremophor® RH40 (surfactant,82.2%) and Brij® O10 (cosurfactant,10.4%) for nondigestible SNEDDS. Nanoemulsions formed with water showed good properties with droplet size of 12.9 ± 0.1 and 10.7 ± 0.1 nm; polydispersity index of 0.123 ± 0.006 and 0.075 ± 0.005 for digestible and nondigestible SNEDDS, respectively. The effects of dilution and pH on the droplet size were examined using pH 1.2; 4.5; 6.8, FaSSIF and FeSSIF simulated media. The nondigestible SNEDDS remained stable for up to four months. In vivo pharmacodynamic studies were carried out using carrageenan-induced rat-paw-edema-model (10mg/kg aceclofenac). The results indicate that dilution and pH had no real effect on the droplet size. The release of aceclofenac in FaSSIF and FeSSIF media showed that was independent of fed and fasted states. With developed SNEDDS, the antiinflammatory activity started earlier and took a long time than the nanoemulsion system. The studies on ternary phase diagrams, lipolysis, pH and dilution rate offered a valuable and efficient strategy for developing and optimizing SNEDDS to obtain optimal formulations. The data suggest that the use of SNEDDS can provide a potential way to enhance the bioavailability of poorly water soluble drugs such as aceclofenac.

Key Words: Aceclofenac, Self nanoemulsifying drug delivery systems, lipolysis, paw edema.

9. KAYNAKLAR

1. Elnaggar YSR, El-Massik MA, Abdallah OY. Self-nanoemulsifying drug delivery systems of tamoxifen citrate: Design and optimization. *Int J Pharm* 2009; 380: 133-141.
2. Ren F, Jing Q, Cui J, Chen J, Shen Y. Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of anethole trithione by combined use of surfactants. *J Dispersion Sci Technol* 2009; 30: 664-670.
3. Xi J, Chang Q, Chan CK, Meng ZY, Wang GN, Sun JB, et al. Formulation development and bioavailability evaluation of a self-nanoemulsified drug delivery system of oleanolic acid. *AAPS Pharm Sci Tech* 2009; 10(1): 172-182.
4. Shaji J, Lodha S. Response surface methodology for the optimization of celecoxib self-microemulsifying drug delivery system. *Indian J Pharm Sci* 2008; 70: 585-590.
5. Wang Z, Sun J, Wang Y, Liu X, Liu Y, Fu Q, et al. Solid self-emulsifying nitrendipine pellets: Preparation and in vitro/in vivo evaluation. *Int J Pharm* 2009; 383(1-2): 1-6.
6. Tang J, Sun J, Cui F, Zhang T, Liu X, He Z. Self-emulsifying drug delivery systems for improving oral absorption of Ginkgo Biloba extracts. *Drug Delivery* 2008; 15: 477-484.
7. Balakrishnan P, Lee BJ, Oh DH, Kim JO, Lee YI, Kim DD, et al. Enhanced oral bioavailability of Coenzyme Q10 by self-emulsifying drug delivery systems. *Int J Pharm* 2009; 374: 66-72.
8. Patel RB, Patel RP, Patel MM. Self-emulsifying drug delivery systems. *Pharm Technol* 2008; 1-6.
9. Wasan EK, Bartlett K, Gershkovich P, Sivak O, Banno B, Wong Z, et al. Development and characterization of oral lipid-based Amphotericin B formulations with enhanced drug solubility, stability and antifungal activity in rats infected with *Aspergillus fumigatus* or *Candida albicans*. *Int J Pharm* 2009; 372: 76-84.
10. Taha E, Ghorab D, Zaghloul A. Bioavailability assessment of vitamin A

- self-nanoemulsified drug delivery systems in rats: a comparative study. *Med Princ Pract* 2007; 16: 355-359.
11. Nazzal S, Smalyukh II, Lavrentovich OD, Khan MA. Preparation and in vitro characterization of a eutectic based semisolid self-nanoemulsified drug delivery system (SNEDDS) of ubiquinone: mechanism and progress of emulsion formation. *Int J Pharm* 2002; 235: 247-265.
 12. Taha EI, Al-Suwayeh SA, El-Badrt M. Bioavailability study of indomethacin self-nanoemulsifying oral formulation in rats. *Aust J Basic Appl Sci* 2009; 3(3): 2944-2948.
 13. Zidan AS, Sammour OA, Hammad MA, Megrab NA, Habib MJ, Khan M. Quality by design: Understanding the formulation variables of a cyclosporine A self-nanoemulsified drug delivery systems by Box-Behnken design and desirability function. *Int J Pharm* 2007; 332: 55-63.
 14. Rao SVR, Shao J. Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for oral delivery of protein drugs. *Int J Pharm* 2008; 362: 2-9.
 15. Date AA, Nagarsenker MS. Design and evaluation of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for cefpodoxime proxetil. *Int J Pharm* 2007; 329: 166-172.
 16. Ojha A, Rathod R, Padh H. Simultaneous HPLC-UV determination of rhein and aceclofenac in human plasma. *J Chromatogr B* 2009; 877: 1145-1148.
 17. Soni T, Nagda C, Gandhi T, Chotai NP. Development of discriminating method for dissolution of aceclofenac marketed formulations. *Dissolution Technol* 2008; 15(2): 31-35.
 18. Shavi GV, Nayak U, Averineni RK, Arumugam K, Meka SR, Nayanabhirama U, et al. Multiparticulate drug delivery system of aceclofenac: Development and in vitro studies. *Drug Dev Ind Pharm* 2009; 35: 252-258.
 19. Yadav VB, Nighute AB, Yadav AV, Bhise SB. Aceclofenac size

- enlargement by non aqueous granulation with improved solubility and dissolution. Archives of Pharm Sci Res 2009; 1(2): 115-122.
20. Mutalik S, Anju P, Manoj K, Usha AN. Enhancement of dissolution rate and bioavailability of aceclofenac: A chitosan-based solvent change approach. Int J Pharm 2007; 350: 279-290.
 21. Funari SS, Klose G. Phase behaviour of the ternary system POPC/C₁₂E₂/2H₂O. Chem Phys Lipids 1995; 75: 145-154.
 22. Pouton CW, Porter CJH. Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: Materials, methods and strategies. Adv Drug Delivery Rev 2008; 60: 625-637.
 23. Mohsin K, Shahba AA, Alanazi FK. Lipid based self emulsifying formulations for poorly water soluble drugs – An excellent opportunity. Indian J Pharm Educ 2012; 46(2): 88-96.
 24. Strickley RG. Solubilizing excipients in oral and injectable formulations. Pharm Res 2004; 21(2): 201-230.
 25. Patro MN, Banker AS, Rakesh SU, Yadav AV. Oral lipid based formulation: a review. Int J Pharm Bio Sci 2010; V1(2): 1-14.
 26. Pouton CW. Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and self-microemulsifying drug delivery systems. Eur J Pharm Sci 2000; 11(2): S93-S98.
 27. Pouton CW. Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: Physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. Eur J Pharm Sci 2006; 29: 278-287.
 28. Pouton CW, Design and Classification of self-emulsifying lipid-based formulations. Victorian College of Pharmacy, Monash University, Melbourne: AAPS Workshop; 2007.
 29. Chakraborty S, Shukla D, Mishra B, Singh S. Lipid – An emerging platform for oral delivery of drugs with poor bioavailability. Eur J Pharm Biopharm 2009; 73: 1-15.
 30. Kimura M, Shizuki M, Miyoshi K, Sakai T, Hidaka H, Takamura H, et al. Relationship between the molecular structures and emulsification

- properties of edible oils. *Biosci Biotech Biochem* 1994; 58(7): 1258-1261.
31. Maurya DP, Sultana Y, Abul Kalam M. Self-emulsifying drug delivery systems. In: Fanun M, editor. *Colloids in drug delivery*. 1st edition. USA: CRC Press; 2010. 299-310.
 32. Pouton CW. Properties and uses of common formulation lipids, surfactants and cosolvents. Victorian College of Pharmacy, Monash University, Melbourne: AAPS Workshop; 2007.
 33. Gürsoy RN, Benita S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. *Biomed Pharmacother* 2004; 58: 173-182.
 34. Narang AS, Delmarre D, Gao D. Stable drug encapsulation in micelles and microemulsions. *Int J Pharm* 2007; 345: 9-25.
 35. Büyüköztürk F, Benneyan JC, Carrier RL. Impact of emulsion-based drug delivery systems on intestinal permeability and drug release kinetics. *J Controlled release* 2010; 142: 22-30.
 36. Pouton CW. Formulation of self-emulsifying drug delivery systems. *Adv Drug Delivery Rev* 1997; 25: 47-58.
 37. Patel D, Sawant KK. Oral bioavailability enhancement of acyclovir by self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS). *Drug Dev Ind Pharm*; 33: 1318-1326.
 38. Villar AMS, Naveros BC, Campmany ACC, Trenchs MA, Rocabert CB, Bellowa LH. Design and optimization of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for enhanced dissolution of gemfibrozil. *Int J Pharm* 2012; 431: 161-175.
 39. Basalious EB, Shawky N, Badr-Eldin SM. SNEDDS containing bioenhancers for improvement of dissolution and oral absorption of lacidipine: I: Development and optimization. *Int J Pharm* 2010; 391: 203-211.
 40. Nepal PR, Han HK, Choi HK. Preparation and in vivo evaluation of Witepsol H35 based self-nanoemulsifying drug delivery systems

- (SNEDDS) of coenzyme Q10. *Eur J Pharm Sci* 2010; 39: 224-232.
41. Rao SVR, Yajurvedi K, Shao J. Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) for oral delivery of protein drugs. III. In vivo oral absorption study. *Int J Pharm* 2008; 362: 16-19.
 42. D'Arrigo J. Stable nanoemulsions: self-assembly in nature and nanomedicine. Amsterdam: Elsevier; 2011: 235-238.
 43. Kohli K, Chopra S, Dhar D, Arora S, Khar RK. Self-emulsifying drug delivery systems: an approach to enhance oral bioavailability. *Drug Discovery Today* 2010; 15(21-22): 958-965.
 44. Shakeel F, Haq N, El-Badry M, Alanazi FK, Alsarra IA. Ultra fine super self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) enhanced solubility and dissolution of indomethacin. *J Mol Liq* 2013; 180: 89-94.
 45. Morozowich W, Gao P. Improving the oral absorption of poorly soluble drugs using SEDDS and S-SEDDS formulations. In: Qiu Y, Chen Y, Zhang GGZ, Liu L, Porter WR, editors. *Developing Solid Oral Dosage Forms*. 1st edition. USA: Elsevier; 2009: 443-467.
 46. Larsen AT, Ohlsson AG, Polentarutti B, Barker RA, Philips AR et al. Oral bioavailability of cinnarizine in dogs: Relation to SNEDDS droplet size, drug solubility and in vitro precipitation. *Eur J Pharm Sci* 2013; 48: 339-350.
 47. Zhang P, Liu Y, Feng N, Xu J. Prepreparation and evaluation of self-microemulsifying drug delivery system of oridonin. *Int J Pharm* 2008; 355: 269-276.
 48. Rao SVR, Agarwal P, Shao J. Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for oral delivery of protein drugs. II. In vitro transport study *Int J Pharm* 2008; 362: 10-15.
 49. O'Driscoll CM, Griffin BT. Biopharmaceutical challenges associated with drugs with low aqueous solubility-The potential impact of lipid-based formulations. *Adv Drug Delivery Rev* 2008; 60: 617-624.
 50. Kumar A, Sharma S, Kamble R. Self emulsifying drug delivery system (SEDDS): Future aspects. *Int J Pharm Pharm Sci* 2010; 2(4): 7-13.

51. Biradar SV, Dhumal RS, Paradkar A. Rheological investigation of self-emulsification process. *J Pharm Pharmaceut Sci* 2009; 12(1): 17-31.
52. Patel M, Patel S, Patel N, Patel M. A Review: Novel oral lipid based formulation for poorly water soluble drugs. *Int J Pharm Sci Nanotech* 2011; 3(4): 1182-1192.
53. Thomas N, Holm R, Müllertz A, Rades T. In vitro and in vivo performance of novel supersaturated self-nanoemulsifying drug delivery systems (super-SNEDDS). *J Controlled Release* 2012; 160(1): 25-32.
54. Gupta S, Chavhan S, Sawant KK. Self-nanoemulsifying drug delivery system for adefovir dipivoxil: Design, characterization, in vitro and ex vivo evaluation. *Colloids Surf A* 2011; 392: 145-155.
55. Taha EI, Al-Saidan S, Samy AM, Khan MA. Preparation and in vitro characterization of self-nanoemulsified drug delivery system (SNEDDS) of all-trans-retinol acetate. *Int J Pharm* 2004; 285: 109-119.
56. Mistry RB, Sheth NS. A Review: Self emulsifying drug delivery system. *Int J Pharm Pharm Sci* 2011; 3(2): 23-28.
57. Porter CJH, Pouton CW, Cuine JF, Charman WN. Enhancing intestinal drug solubilization using lipid-based delivery systems. *Adv Drug Delivery Rev* 2008; 60: 673-691.
58. Palin KJ, Phillips AJ, Ning A. The oral absorption of cefoxitin from oil and emulsion vehicles in rats. *Int J Pharm* 1986; 33: 99-104.
59. Myers RA, Stella VJ. Systemic bioavailability of penclomedine (NSC-338720) from oil-in-water emulsions administered intraduodenally to rats. *Int J Pharm* 1992; 78: 217-26.
60. Kararli TT, Needham TE, Griffin M, Schoenhard G, Ferro LJ, Alcorn L. Oral delivery of a renin inhibitor compound using emulsion formulations. *Pharm Res* 1992; 9: 888-93.
61. Hauss DJ, Mehta SC, Radebaugh GW. Targeted lymphatic transport and modified systemic distribution of CI-976, a lipophilic lipid regulator drug, via a formulation approach. *Int J Pharm* 1994; 108: 85-93.

62. Hauss DJ, Fogal SE, Ficorilli JV, Price CA, Roy T, Jayaraj AA, et al. Lipid-based delivery systems for improving the bioavailability and lymphatic transport of a poorly water-soluble LTB₄ inhibitor. *J Pharm Sci* 1998; 87(2): 164-169.
63. Tarr BD, Yalkowsky SH. Enhanced intestinal absorption of cyclosporine in rats through the reduction of emulsion droplet size. *Pharm Res* 1989; 6(1): 40-43.
64. Shahnaz G, Harti M, Barthelmes J, Leithner K, Sarti F, Hintzen F, et al. Uptake of phenothiazines by the harvested chylomicrons ex vivo model: Influence of self-nanoemulsifying formulation design. *Eur J Pharm Biopharm* 2011; 79(1): 171-180.
65. Porter CJH, Charman WN. In vitro assessment of oral lipid based formulations. *Adv Drug Delivery Rev* 2001; 50: S127-S147.
66. Agarwal V, Siddiqui A, Ali H, Nazzal S. Dissolution and powder flow characterization of solid self-emulsified drug delivery system (SEDDS). *Int J Pharm* 2009; 366: 44-52.
67. Shah RB, Zidan AS, Funck T, Tawakkul MA, Nguyenpho A, Khan MA. Quality by design: Characterization of self-nano-emulsified drug delivery system (SNEDDs) using ultrasonic resonator technology. *Int J Pharm* 2007; 341: 189-194.
68. Patil P, Joshi P, Paradkar A. Effect of formulation variables on preparation and evaluation of gelled self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) of ketoprofen. *AAPS PharmSciTech* 2004; 5(3): 1-7.
69. Abdalla A, Mader K. Preparation and characterization of a self-emulsifying pellet formulation. *Eur J Pharm Biopharm* 2007; 66: 220-226.
70. Abdalla A, Klein S, Mader K. A new self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) for poorly soluble drugs: Characterization, dissolution, in vitro digestion and incorporation into solid pellets. *Eur J Pharm Sci* 2008; 35: 457-464.
71. Patil P, Paradkar A. Porous polystyrene beads as carriers for self-

- emulsifying system containing laratadine. AAPS PharmSciTech 2006; 7(1); E1-E7.
72. Attama AA, Nklemnele MO. In vitro evaluation of drug release from self micro-emulsifying drug delivery systems using a biodegradable homolipid from *Capra hircus*. Int J Pharm 2005; 304: 4-10.
 73. Kim JY, Ku YS. Enhanced absorption of indomethacin after oral or rectal administration of a self-emulsifying system containing indomethacin to rats. Int J Pharm 2000; 194: 81-89.
 74. You J, Cui F, Han X, Wang YS, Yang L, Yu YW. Study of the preparation of sustained-release microspheres containing zedoary turmeric oil by the emulsion-solvent-diffusion method and evaluation of the self-emulsification and bioavailability of the oil. Colloids Surf B 2006; 48: 35-41.
 75. Loomis GL, Lentz DC. Bioresorbable hydrogel compositions for implantable prostheses. US Patent, 6,660,827 B2, 2003.
 76. Wang L, Dong J, Chen J, Eastoe J, Li X. Design and optimization of a new self-nanoemulsifying drug delivery system. J Colloid Interface Sci 2009; 330: 443-448.
 77. Soriano MMJ, Contreras MJF, Flores ES. Development of a cream from a self-emulsifying base and moisturizing actives. Il Farmako 2001; 56: 513-522.
 78. Song S, Liu X, Jiang J, Qian Y, Zhang N, Wu Q. Stability of triazophos in self-nanoemulsifying pesticide delivery system. Colloids Surf A 2009; 350: 57-62.
 79. Klyashchitsky BA, Owen AJ. Drug delivery systems for cyclosporine: achievements and complications. J Drug Targeting 1998; 5(6): 443-458.
 80. Curine JF, Charman WN, Pouton CW, Edwards GA, Porter CJH. Increasing the proportional content of surfactant (Cremophor EL) relative to lipid in self-emulsifying lipid-based formulations of danazol reduces oral bioavailability in beagle dogs. Pharm Res 2007; 24(4):

748-756.

81. Labrafac™ Lipophile WL 1349 [online]. Cited 05.07.2012. Available from URL: www.gattefosse.com/node.php?articleid=167
82. Zhao X, Zhou YQ, Potharaju S, Lou H, Sun HM, Brunson E, et al. Development of a self micro-emulsifying tablet of Cyclosporine A by the liquisolid compact technique. *Int J Pharm Sci Res* 2011; 2(9): 2299-2308.
83. Koga K, Kusawake Y, Ito Y, Sugioka N, Shibata N, Takada K. Enhancing mechanism of Labrasol on intestinal membrane permeability of the hydrophilic drug gentamicin sulfate. *Eur J Pharm Biopharm* 2006; 64: 82-91.
84. Hu Z, Tawa R, Konishi T, Shibata N, Takada K. A novel emulsifier, Labrasol, enhances gastrointestinal absorption of gentamicin. *Life Sci* 2001; 69: 2899-2910.
85. Labrasol [online]. Cited 05.07.2012. Available from URL: www.gattefosse.com/node.php?articleid=296
86. Li P, Zhao L. Developing early formulations: Practice and perspective. *Int J Pharm* 2007; 341: 1-19.
87. Capmul MCM C8 [online]. Cited 21.07.2012. Available from URL: http://www.abiteccorp.com/wp-content/files_mf/1355148844CapmulMCMC8EPTDSI6.pdf
88. Djekic L, Primorac M. The influence of cosurfactants and oils on the formation of pharmaceutical microemulsions based on PEG-8 caprylic/capric glycerides. *Int J Pharm* 2008; 352: 231-239.
89. Maisine 35-1 [online]. Cited 05.07.2012. Available from URL: www.gattefosse.com/node.php?articleid=169
90. Cremophor RH 40 [online]. Cited 13.03.2012. Available from URL: http://www.pharma-ingredients.basf.com/Statements/Technical%20Informations/EN/Pharma%20Solutions/03_030713e_Cremophor%20RH%2040.pdf

- 91.**Nielsen FS, Gibault E, Ljusberg-Wahren H, Arleth L, Pedersen JS, Müllertz A. Characterization of prototype self-nanoemulsifying formulations of lipophilic compounds. *J Pharm Sci* 2007; 96(4): 876-892.
- 92.**Polyoxyethylene 10 oleoyl ether [online]. Cited 01.05.2013. Available from URL:http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/1/p6136pis.Par.0001.File.tmp/p6136pis.pdf
- 93.**Kapoor Y, Chauhan A. Ophthalmic delivery of Cyclosporine A from Brij 97 microemulsion and surfactant-laden p-HEMA hydrogels. *Int J Pharm* 2008; 361: 222-229.
- 94.**Aronson JK. Non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Meyler's Side Effects of Drugs: The International Encyclopedia of Adverse Drug Reactions and Interactions*. 15th edition; 2006: p. 2555-2582.
- 95.**Légrand E. Aceclofenac in the management of inflammatory pain. *Drug Eval* 2004; 5(6): 1347-1357.
- 96.**Rao NGR, Kulkarni U, Deshmukh A, Suresh DK. Preparation and characterization of ionotropic cross-linked chitosan microparticles for controlled release of aceclofenac. *Int J Pharm Sci Drug Res* 2010; 2(2): 107-111.
- 97.**Brogden RN, Wiseman LR. Aceclofenac: A review of its pharmacodynamic properties and therapeutic potential in the treatment of rheumatic disorders and in pain management. *Drug Eval* 1996; 52(1): 113-124.
- 98.**Aceclofenac. *British Pharmacopoeia* 2004; 1: 36-38.
- 99.**Chandrasekharan NV. Aceclofenac. *XPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference* 2008; 1-5.
- 100.**Grau M, Montero JL, Guasch J, Felipe A, Carrasco E et al. The pharmacological profile of aceclofenac, a new nonsteroidal antiinflammatory and analgesic drug. *Drugs in Inflammation* 1991; 32: 125-129.

- 101.** Chaudhary MP. Nonaqueous liquid parenteral aceclofenac formulation. US patent 2009/0156670. 2009 Jun18.
- 102.** El Kousy NM. Spectrophotometric and spectrofluorimetric determination of etodolac and aceclofenac. *J Pharm Biomed Anal* 1999; 20: 185-194.
- 103.** Aceclofenac. European Pharmacopoeia 6.2: 3685-3686, 2008.
- 104.** Zahradnik HP, Hanjalic-Beck A, Groth K. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and hormonal contraceptives for pain relief from dysmenorrhes: a review. *Contraception* 2010; 81; 185-196.
- 105.** Usha AN, Mutalik S, Reddy MS, Ranjith AK, Kushtagi P, Udupa N. Preparation and in vitro preclinical and clinical studies of aceclofenac spherical agglomerates. *Eur J Pharm Biopharm* 2008; 70: 674-683.
- 106.** Nasr M, Mansour S, Mortada ND, Elshamy AA. Vesicular aceclofenac systems: A comparative study between liposomes and niosomes. *J Microencapsulation* 2008; 25(7): 499-512.
- 107.** Maheshwari RK, Indurkha A. Formulation and evaluation of aceclofenac injection made by mixed hydrotropic solubilization technique. *Iranian J Pharm Res* 2010; 9(3): 233-242.
- 108.** Tran TTD, Tran PHL, Lee BJ. Dissolution-modulating mechanism of alkalizers and polymers in a nanoemulsifying solid dispersion containing ionizable and poorly water-soluble drug. *Eur J Pharm Biopharm* 2009; 72: 83-90.
- 109.** Maulvi FA, Dalwadi SJ, Thakkar VT, Soni TG, Gohel MC et al. Improvement of dissolution rate of aceclofenac by solid dispersion technique. *Powder Technol* 2011; 207: 47-54.
- 110.** Kalra R, Mulik RSA, Badgujar L, Paradkar AR, Mahadik KR, Bodhankar SL, et al. Development and characterization of microemulsion formulations for transdermal delivery of aceclofenac: A Research. *Int J Drug Form Res* 2010; 1(1): 359-386.
- 111.** Marzouk MAEH, Kasem AEDA, Samy AM, Amer RI. In vitro release, thermodynamics and pharmacodynamic studies of aceclofenac

- transdermal eudragit patches. Drug Invention Today 2009; 1(1): 16-22.
- 112.** Maheshwari RK, Moondra S. A novel method for quantitative determination of aceclofenac in bulk drug and tablets using sodium silicylate as a hydrotropic solubilizing agent. J Adv Pharm Tech Res 2010; 1(1): 78-82.
 - 113.** Pawar UD, Naik AV, Sulebhavikar AV, Datar TA, Mangaonkar KV. Simultaneous determination of aceclofenac, paracetamol and chlorzoxazone by HPLC in tablet dose form. E-journal of chemistry 2009; 6(1): 289-294.
 - 114.** Zawilla NH, Mohammad MAA, Kousy NME, Aly SMEM. Determination of aceclofenac in bulk and pharmaceutical formulations. J Pharm Biomed Anal 2002; 27: 243-251.
 - 115.** Kousy NME. Spectrophotometric and spectrofluorimetric determination of etadolac and aceclofenac. J Pharm Biomed Anal 1999; 20: 185-194.
 - 116.** Jain J, Patadia R, Vanparia D, Chauhan R, Shah S. Dual wavelength spectrophotometric method for simultaneous estimation of drotaverine hydrochloride and aceclofenac in their combined tablet dosage form. Int J Pharmacy Pharm Sci 2010; 2(4): 76-79.
 - 117.** Shah R, Magdum C, Patil SK, Chougule DK, Naikwade N. Validated spectroscopic method for estimation of aceclofenac from tablet formulation. J Pharm and Tech 2008; 1(4): 430-432.
 - 118.** Bhure MV, Hemke AT, Gupta KR. UV Spectrophotometric methods for determination of aceclofenac and diacerein in pharmaceutical formulation. J Pharm Sci Res 2010; 2(7): 426-432.
 - 119.** Gowda KV, Rajan DS, Mandal U, Selvan PS, Sam Solomon WD. Evaluation of bioequivalence of two formulations containing 100 milligrams of aceclofenac. Drug Dev Ind Pharm 2006; 32: 1219-1225.

120. Acuna JA, Vazquez MD, Tascon ML, Sanchez-Batanero P. Polagraphic behavior of aceclofenac, tenoxicam and droxicam in a methanol-water mixture. *J Pharm Biomed Anal* 2004; 36: 157-162.
121. Hinz B, Auge D, Rau T, Rietbrock S, Brune K et al. Simultaneous determination of aceclofenac and three of its metabolites in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Biomed Chromatogr* 2003; 17: 268-275.
122. Zinellu A, Carru C, Sotgia S, Porqueddu E, Enrico P et al. Separation of aceclofenac and diclofenac in human plasma by free zone capillary electrophoresis using N-methyl-dglucamine as an effective electrolyte additive. *Eur J Pharm Sci* 2005; 24(4): 375-380.
123. Kang W, Kim EY. Simultaneous determination of aceclofenac and its three metabolites in plasma using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 2008; 46(3): 587-591.
124. Dooley M, Spencer CM, Dunn CJ. Aceclofenac. *Drugs* 2001; 61(9): 1351-1378.
125. Lakshmana PS, Shirwaikar AA, Shirwaikar A, Kumar A. Formulation and evaluation sustained release microspheres of rosin containing aceclofenac. *ARS Pharmaceutica* 2009; 50(2): 51-62.
126. Shivhare UD, Adhao ND, Bhusari KP, Mathur VB, Ambulkar DU. Formulation development, evaluation and validation of sustained release tablets of aceclofenac. *Int J Pharm Pharm Sci* 2009; 1(2): 74-80.
127. Bort R, Ponsoda X, Carrasco E, Gomez-Lechon MJ, Castell JV. Comparative metabolism of the nonsteroidal anti-inflammatory drug, aceclofenac, in the rat, monkey and human. *Drug Metab Dispos* 1996; 24(9): 969-975.
128. Bort R, Ponsoda X, Carrasco E, Gomez-Lechon MJ, Castell JV. Metabolism of aceclofenac in humans. *Drug Metab Dispos* 1996; 24(8): 834-841.

129. Akimoto H, Yamazaki R, Hashimoto S, Sato T, Ito A. 4'-Hydroxy aceclofenac suppresses the interleukin-1-induced production of promatrix metalloproteinases and release of sulfated glycosaminoglycans from rabbit articular chondrocytes. *Eur J Pharm* 2000; 401: 429-436.
130. Yamazaki R, Kawai S, Mizushima Y, Matsuzaki T, Hashimoto S et al. A major metabolite of aceclofenac, 4'-hydroxy aceclofenac suppresses the production of interstitial procollagenase/proMMP-1 and pro-stromelysin-1/ proMMP-3 by human rheumatoid synovial cells. *Inflamm Res* 2000; 49: 133-138.
131. Setty CM, Prasad DVK, Gupta VRM, Sa B. Development of fast dispersible aceclofenac tablets: Effect of functionality of superdisintegrants. *Indian J Pharm Sci* 2008; 70(2): 180-185.
132. Letzel H, Megard Y, Lamarca R, Raber A, Fortea J. The efficacy and safety of aceclofenac versus placebo and naproxen in women with primary dysmenorrhoea. *Eur J Obstet Gynecol and Reproductive Biol* 2006; 129: 162-168.
133. Pareek A, Chandurkar NB, Patil RT, Agrawal SN, Uday RB, Tambe SG. Efficacy and safety of aceclofenac and drotaverine fixed-dose combination in the treatment of primary dysmenorrhoea: a double-blind, double-dummy, randomized comparative study with aceclofenac. *Eur J Obstet Gynecol and Reproductive Biol* 152: 86-90, 2010.
134. Hinz B, Auge D, Werner U, Ramer R, Rietbrock S, Brune K. Aceclofenac spares cyclooxygenase 1 as a result of limited but sustained biotransformation to diclofenac. *Clin Pharmacol Ther* 74(3): 222-235, 2003.
135. Gowthamarajan K, Singh SK, Prakash D, Somashekhar CN, Raju KNSL. Dissolution enhancement of poorly soluble aceclofenac by solid dispersion technique and its comparison with marketed formulations. *Int J Pharm Tech Res* 2010; 2 (4): 2347-2356.

- 136.** Dua K, Pabreja K, Ramana MV. Preparation, characterization and in vitro evaluation of aceclofenac solid dispersions. *ARS Pharmaceutica* 2010; 51(1): 57-76.
- 137.** AppaRao B, Shivalingam MR, Reddy YVK, Rao S, Rajesh K et al. Formulation and evaluation of aceclofenac solid dispersions for dissolution rate enhancement. *Int J Pharm Sci Drug Res* 2010; 2(2): 146-150.
- 138.** Lee BJ, Lee DW, Kim TW. Compositions and preparation methods for bioavailable oral aceclofenac dosage forms. US Patent 2004/0180961 A1, 2004 Sep 16.
- 139.** Gil YS, Hong SC, Yu CH, Cho DH. Formulation and manufacturing process of solubilized aceclofenac soft capsules. International Publication Number WO 2004/047834 A1. 2004 June 10.
- 140.** Gil YS, Yu CH, Choung KH, Ahn GS, Hong SC, Ahn KY. Formulation and manufacturing process of self-microemulsified aceclofenac soft capsules. International Publication Number WO 2005/032516 A1. 2005 April 14.
- 141.** Yong CS, Oh YK, Lee KH, Park SM, Park YJ, Gil YS et al. Trials of clear aceclofenac-loaded soft capsules with accelerated oral absorption in human subjects. *Int J Pharm* 2005; 302: 78-83.
- 142.** Garala KC, Ekshinge VB, Jarag RJ, Shinde AJ. Fast-disintegrating aceclofenac tablets: formulation development using simplex lattice design. *Thai J Pharm Sci* 2008; 32: 77-81.
- 143.** Dashora K, Saraf S, Saraf S. Effect of processing variables on microparticulate system of aceclofenac. *Pak J Pharm Sci* 19(1): 1-6, 2006.
- 144.** Chandiran IS, Sivakumar T, Kumar BP. Preparation and evaluation of aceclofenac loaded biodegradable microspheres. *Int J Pharm Biomed Res* 1(1): 19-23, 2010.

145. Radhika PR, Luqman M, Borkhataria CH. Preparation and evaluation of delayed release aceclofenac microspheres. *Asian J Pharm* 2008; 2(4): 252-254.
146. Nagda C, Chotai NP, Patel U, Patel S, Soni T, Patel P, et al. Preparation and characterization of spray-dried mucoadhesive microspheres of aceclofenac. *Drug Dev Ind Pharm* 2009; 35(10): 1155-1166.
147. Baria AH, Patel RP, Suthar AM, Parmar RB. Formulation development and evaluation of sustained release aceclofenac suppository. *Int J Pharm Sci Drug Res* 2009; 1(2): 71-73.
148. Dua K, Pabreja K, Ramana MV. Aceclofenac topical dosage forms: in vitro and in vivo characterization. *Acta Pharm* 2010; 60: 467-478.
149. Patel J, Patel B, Banwait H, Parmar K, Patel M. Formulation and evaluation of topical aceclofenac gel using different gelling agent. *Int J Drug Dev Res* 2011; 3(1): 156-164.
150. Shaikh IM, Jadhav SI, Jadhav KR, Kadam VJ, Pisal SS. Aceclofenac organogels: In vitro and in vivo characterization. *Curr Drug Delivery* 2009; 6: 1-7.
151. Lewis S, Dave V. Aceclofenac ethosomes for enhanced transdermal delivery. Presented in Biomedical and Pharmaceutical Engineering International Conference, ICBPE. 2009.
152. Solanki A, Parikh J, Parikh R. Preparation, characterization, optimization and stability studies of aceclofenac proniosomes. *Iranian J Pharm Res* 2008; 7(4): 237-246.
153. Lee Y, Kim JS, Yoon M, Lee J, Choi YW. Transdermal delivery of aceclofenac incorporated in microemulsion systems. Presented in Controlled Release Society 32nd Annual Meeting & Exposition Transactions, 2005.
154. Shakeel F, Baboota S, Ahuja A, Ali J, Aqil M, Shafiq S. Nanoemulsions as vehicles for transdermal delivery of aceclofenac. *AAPS PharmSciTech* 2007; 8(4): E1-E9.

155. Shakeel F, Baboota S, Ahuja A, Ali J, Shafiq S. Skin permeation mechanism of aceclofenac using novel nanoemulsion formulation. *Pharmazie* 2008; 63: 580-584.
156. FaSSIF FeSSIF [online]. Cited 23.01.2012. Available from URL: (www.biorelevant.com).
157. USP26/NF21, 2003. United States Pharmacopeial Convention Inc. Rockville, MD.
158. Cuine JF, Mcevoy CL, Charman WN, Pouton CW, Edwards GA, Benameur H et al. Evaluation of the impact of surfactant digestion on the bioavailability of danazol after oral administration of lipidic self-emulsifying formulations to dogs. *J Pharm Sci* 2008; 97(2): 995-1011.
159. Zhao C, Niu Z, Chen Z, Guo H. Intravenous emulsion of butylbenzene phthalein and its application. EP, 1970050A1, 2008.
160. Perlman ME, Murdande SB, Gumkowski MJ, Shah TS, Rodricks CM, Thornton-Manning J, et al. Development of a self-emulsifying formulation that reduces the food effect for torcetrapib. *Int J Pharm* 2008; 351: 15-22.
161. Beteringhe A, Radutiu AC, Bem marioara, Baratoiu RD, Hristea EN, Constantinescu T. Partial least squares (PLS) analysis for hydrophile-lipophile balance (HLB) of some nonionic surfactants. QSPR study. *Rev Roum Chim* 2011; 56(4): 347-350.
162. Larsen AT, Ogbonna A, Abu-Rmaileh R, Abrahamsson B, Ostergaard J, Müllertz A. SNEDDS containing poorly water soluble cinnarizine; Development and in vitro characterization of dispersion, digestion and solubilization. *Pharmaceutics* 2012; 4: 641-665.
163. Fatouros DG, Deen GR, Arleth L, Bergenstahl B, Nielsen FS, Pedersen JS, et al. Structural development of self nano emulsifying drug delivery systems (SNEDDS) during in vitro lipid digestion monitored by small-angle X-ray scattering. *Pharm Res* 2007; 24(10): 1844-1852.

164. Ali H, Siddiqui A, Nazzal S. the effect of media composition, pH, and formulation excipients on the in vitro lipolysis of self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS). *J Dispersion Sci Technol* 2010; 31: 226-232.
165. Embleton JK, Pouton CW. Structure and function of gastro-intestinal lipases. *Adv Drug Delivery Rev* 1997; 25: 15-32.
166. Larsen AT, Sassene P, Müllertz A. In vitro lipolysis models as a tool for the characterization of oral lipid and surfactant based drug delivery systems. *Int J Pharm* 2011; 417(1-2): 245-255.
167. Nielsen FS, Petersen KB, Müllertz A. Bioavailability of probucol from lipid and surfactant based formulations in minipigs: Influence of droplet size and dietary state. *Eur J Pharm Biopharm* 2008; 69: 553-562.
168. Jang DJ, Jeong EJ, Lee HM, Kim BC, Lim SJ, Kim CK. Improvement of bioavailability and photostability of amlodipine using redispersible dry emulsion. *Eur J Pharm Sci* 2006; 28: 405-411.
169. Liu Y, Zhang P, Feng N, Zhang X, Wu S, Zhao J. Optimization and in situ intestinal absorption of self-microemulsifying drug delivery system of oridonin. *Int J Pharm* 2009; 365: 136-142.
170. Wankhade V, Tapar K, Pande S, Bobade N. Design and evaluation of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for Gliclazide. *Scholars Research Library* 2010; 2(4): 132-143.
171. Shafiq S, Shakeel F, Talegaonkar S, Ahmad FJ, Khar RK, Ali M. Development and bioavailability assessment of ramipril nanoemulsion formulation. *Eur J Pharm Biopharm* 2007; 66: 227-243.
172. Parmar N, Singla N, Amin S, Kohli K. Study of cosurfactant effect on nanoemulsifying area and development of lercanidipine loaded (SNEDDS) self nanoemulsifying drug delivery system. *Colloids Surf B* 2011; 86: 327-338.

173. Shakeel F, Ramadan W, Shafiq S. Solubility and dissolution improvement of aceclofenac using different nanocarriers. *J Bioequivalence&Bioavailability* 2009; 1(2): 39-43.
174. Guideline on the investigation of bioequivalence. EMA (European Medicines Agency). London: 20 January. p.2010: 1-27.
175. Bandyopadhyay S, Katare OP, Singh B. Optimized self nano-emulsifying systems of ezetimibe with enhanced bioavailability potential using long chain and medium chain triglycerides. *Colloids Surf B* 2012; 100: 50-61.
176. Ruan J, Liu J, Zhu D, Gong T, Yang F, Hao X, et al. Preparation and evaluation of self-nanoemulsified drug delivery systems (SNEDDSs) of matrine based on drug-phospholipid complex technique. *Int J Pharm* 2010; 386: 282-290.
177. Miner PE. Emulsions rheology: creams and lotions. In; Laba D, editor. *Rheological Properties of Cosmetics and Toiletries*. New York: Marcel Dekker Inc; 1993. p. 313-370.
178. Patel AR, Vavia PR. Preparation and in vivo evaluation of SMEDDS (self microemulsifying drug delivery system) containing fenofibrate. *The AAPS Journal* 2007; 9 (3): E344-W352.
179. USP30/NF25, 2007. United States Pharmacopeial Convention Inc. Rockville, MD.
180. Hanna SA. Quality assurance. In: Lieberman HA, Lachman L, Schwartz JB, editors. *Pharmaceutical dosage forms: Tablets-Volume 3*. 1st edition. New York: Marcel Dekker Inc.; 1990. p.497-553.
181. Yesilada E, Gurbuz I. Evaluation of the antiulcerogenic activity profile of a flavonol diglucoside from *Equisetum palustre* L. *J Ethnopharmacol* 2010; 131: 17-21.
182. Silverstein RM, Webster FX. *Spectrometric identification of organic compounds*. 6th edition. Canada: John Wiley&Sons Inc; 1998. p.71-143.

183. Dashora K, Saraf S, Saraf S. Effect of precessing variables on micro particulate system of aceclofenac. *Pak J Pharm Sci* 2006; 19(1): 1-6.
184. Chandel N, Gupta V, Pandey A, Saxena S, Choudhary S. Co-crystalization of aceclofenac and paracetamol and their characterization. *Int J Pharm* 2011; 2(8): 1020-1028.
185. Yong CS, Oh YK, Lee KH, Park SM, Park YJ, Gil YS, et al. Trials of clear aceclofenac loaded soft capsules with accelerated oral absorption in human subjects. *Int J Pharm* 2005; 302: 78-83.
186. Taverniers I, Loose MD, Bockstaele EV. Trends in quality in the analytical laboratory II: Analytical method validation and quality assurance. *Trends Anal Chem* 2004; 23(8): 535-551.
187. Hörter D, Dressman JB. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Adv Drug Delivery Rev* 1997; 25: 3-14.
188. Jayanthi B, Madhusudhan S, Mohanta GP, Manna PK. Preformulation characterization, designing and formulation of aceclofenac loaded microparticles. *Int J Drug Dev Res* 2012; 4(3): 186-196.
189. Dave V, Paliwal S. A novel approach to formulation factor of aceclofenac eye drops efficiency evaluation based on physicochemical characteristics of in vitro and in vivo permeation. *Saudi Pharm J* 2013; in press.
190. Devani MJ, Ashford M, Craig DQM. The development and characterization of triglyceride-based 'spontaneous' multiple emulsions. *Int J Pharm* 2005; 300: 76-88.
191. Sek L, Porter CJH, Kaukonen AM, Charman WN. Evaluation of the in-vitro digestion profiles of long and medium chain glycerides and the phase behaviour of their lipolytic products. *J Pharm Pharmacol* 2002; 54: 29-41.

192. Yap SP, Yuen KH. Influence of lipolysis and droplet size on tocotrienol absorption from self-emulsifying formulations. *Int J Pharm* 2004; 281: 67-78.
193. Fatouros DG, Nielsen FS, Douroumis D, Hadjileontiadis LJ, Mullertz A. In vitro-in vivo correlations of self-emulsifying drug delivery systems combining the dynamic lipolysis model and neuro-fuzzy networks. *Eur J Pharm Biopharm* 2008; 69: 887-898.
194. MacGregor KJ, Embleton JK, Lacy JE, Perry EA, Solomon LJ, Seager H. Influence of lipolysis on drug absorption from the gastrointestinal tract. *Adv Drug Delivery Rev* 1997; 25: 33-46.
195. Lawrence MJ, Rees GD. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Adv Drug Delivery Rev* 2000; 45: 89-121.
196. Kang BK, Lee JS, Chon SK, Jeong SY, Yuk SH, Khang G, et al. Development of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) for oral bioavailability enhancement of simvastatin in beagle dogs. *Int J Pharm* 2004; 274: 65-73
197. Kural FH, Gürsoy RN. Formulation and characterization of surfactin-containing self-microemulsifying drug delivery systems (SF-SMEDDS). *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy* 2010; 30(2): 171-186.
198. Çelebi N. Emülsiyonlar. İçinde: *Modern Farmasötik Teknoloji*. 1.baskı. Ankara: Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını, Fersa Matbaacılık; 2007. s.277-299.
199. Nidhi M, Shikha S. New strategy for solubilization of poorly soluble drug-SEDDS. *Der Pharmacia Lettre* 2009; 1(2): 60-67.
200. Zhao Y, Wang C, Chow AHL, Ren K, Gong T, Zhang Z, et al. Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) for oral delivery of Zedoary essential oil: Formulation and bioavailability studies. *Int J Pharm* 2010; 383: 170-177.

- 201.** Rao SVR, Shao J. Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for oral delivery of protein drugs I. Formulation development. *Int J Pharm* 2008; 362: 2-9.
- 202.** Boni JE, Brickl RS, Dressman J, Pfefferle ML. Instant FaSSIF and FeSSIF-Biorelevance meets practically. *Dissolution Tech* 2009; August: 41-45.
- 203.** Bachynsky MO, Shah NH, Patel CI, Malick AW. Factors affecting the efficiency of a self-emulsifying oral delivery system. *Drug Dev Ind Pharm* 1997; 23(8): 809-816.
- 204.** Liu L, Pang X, Zhang W, Wang S. Formulation design and in vitro evaluation of silymarin-loaded self-microemulsifying drug delivery systems. *Asian J Pharm* 2007; 2(4): 150-160.
- 205.** Wu W, Wang Y, Que L. Enhanced bioavailability of silymarin by self-microemulsifying drug delivery system. *Eur J Pharm Biopharm* 2006; 63: 288-294.
- 206.** Guru PR, Nayak AK, Sahu RK. Oil-entrapped sterculia gum-alginate buoyant systems of aceclofenac: Development and in vitro evaluation. *Colloids Surf B* 2013; 104: 268-275.
- 207.** Beg S, Jena SS, Patra CN, Rizwan M, Swain S et al. Development of solid self-nanoemulsifying granules (SSNEGs) of ondansetron hydrochloride with enhanced bioavailability potential. *Colloids Surf B* 2013; 101: 414-423.

10. EKLER

EK-1. Etik Kurul İzni (1)



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

12/02/2010

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/ 36-2374
KONU:

Sayın

Doç.Dr.Figen TIRNAKSIZ
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Eczacılık Teknolojisi Bölümü
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-10.015 kod numaralı ve *"Kendiliğinden nanoemülsifiye olan ilaç taşıyıcı sistemler"* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-10.015 and entitled *"Self nanoemulsifying drug delivery systems"* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards,


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

EK-1. Etik Kurul İzni (2)



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı**

SAYI : 66332047-604.01.02/ 90-9930
KONU :

03/ 05 /2013

Sayın

Prof.Dr.Figen TIRNAKSIZ
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Eczacılık Teknolojisi Bölümü
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Figen TIRNAKSIZ, Şeyda AKKUŞ ARSLAN, Orhan ULUDAĞ, Elif Derya ÖZDEMİR ve Nur Banu UZUN BAL'dan oluşan, G.Ü.ET-13.037 kod numaralı ve "**Kendiliğinden Nanoemülsifiye Olan İlaç Taşıyıcı Sistemler-2**" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-13.037 and entitled "**Self Nanoemulsifying Drug Delivery Systems-2**" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste

Prof.Dr. Leyla AÇIK
Gazi Üniversitesi

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

EK-2. Tez Çalışması ile İlgili Yapılan Yayınlar ve Sunumlar

1. **Şeyda Akkuş Arslan**, Figen Tırnaksız. “A *Nonsteroidal Antiinflammatory Drug: Aceclofenac*”. FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences, 35, 41-55, 2010.
(ISI Master Journal List’e Kayıtlı Dergi)
2. **Şeyda Akkuş Arslan**, Figen Tırnaksız. “*Development of Self-Nanoemulsifying Aceclofenac Delivery System with Non-Digestible Components*”, 10th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Session IX, OP-10, June 26-29, 2012, Ankara-Turkey.
(Sözlü Sunum)
3. **Şeyda Akkuş Arslan**, Figen Tırnaksız. “*Development of Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System Containing Aceclofenac*”, 9th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology with Focus on Nanopharmaceuticals and Nanomedicine, September 20-22, 2012, Dubrovnik-Croatia. Poster No: PP69.
(Poster Sunumu)

EK-3. Teşekkür

Sadece bilimsel çalışmalarımnda değil, yaşamımın her alanında, her anımda bana her bakımdan emeği geçen, konuşmaları ile hayatımdaki en kritik zamanlarda bana yol gösterip can veren canım hocam **Prof. Dr. Figen Tırnaksız'a**,

Çalışmalarım sırasında ihtiyacım olduğunda desteklerini esirgemeyen, artık ailelerinden bir birey olduğumu bana hissettiren sevgili hocalarım **Prof. Dr. Nevin Çelebi'ye** ve **Prof. Dr. Füsün Acartürk'e**,

Güler yüzleri ve iyilikleri ile bana çok şey öğreten, yolunda gitmeyen bir şeyler olduğunda benim için ellerinden geleni yapacaklarına emin olduğum **Prof.Dr. Sevgi Takka'ya**, **Doç.Dr. Zeynep Şafak Teksin'e**, **Prof. Dr. Zelihağül Değim'e** ve **Prof. Dr. Tuncer Değim'e**

Tez çalışmalarım sırasında verdiği bilimsel tavsiyeleri ile bana yeni yollar gösteren, bilimsel azmi ve görsel zerafeti ile örnek aldığım değerli hocam **Prof. Dr. Yasemin Yazan'a**,

Benim için bir kız kardeşten çok daha öte olan, hayatımın iyi-kötü en özel zamanlarında 'iyi ki de bu kadar yakınında olmuşum, iyi ki tanımışım' dediğim, 'bir insan daha ne kadar iyi olabilir ki' diye düşündüğüm, her zaman onun mutluluğu, iyiliği için elimden ne geliyorsa seve seve yapacağım biricik arkadaşım **Dr. Ecz. Tuba İnceçayır'a**,

Her fırsatta bana meyve ve kek yedirerek enerji kazanmamı sağlayan arkadaşım **Dr. Ecz. Sibel İlbasmış Tamer'e**,

Sorularıma her zaman mantıklı yanıtlar aldığım, sakinliğini, otoritesini hep takdir ettiğim **Dr. Ecz. Fatmanur Tuğcu Demiröz'e**,

Doğum günlerimi unutmayan ve bana mutluluk veren arkadaşlarım **Uzm. Ecz. Serdar Tort'a, Uzm. Ecz. Emre Yalçın'a, Uzm. Ecz. Alptuğ Karaküçük'e** ve **Uzm. Ecz. Gülen Melike Demir'e,**

Sevgili bölüm arkadaşım **Dr. Ecz. Başaran Mutlu Ağardan'a,** FT-IR ölçümlerinin yapılmasında bana büyük yardımı dokunan **Uzm. Ecz. Ziya Bayrak'a** ve bu ölçümleri yorumlamamda yardımcı olan **Yrd. Doç. Dr. Yasemin Dünder'a,**

İn vivo çalışmalarımda benim işimi kendi işi gibi benimseyen, çalışmalarını mükemmel bir nizam ve intizam içinde yürüttüğüne bizzat şahit olduğum, kibarlığına, öğrencilerine yaklaşımına hayranlıkla baktığım değerli hocam **Doç. Dr. Orhan Uludağ'a,**

Gösterdikleri uyum, çalışma azmi, anlayışları ve zor bir çalışmayı bu derece zevkli hale getirmeleri nedeniyle takdir ettiğim, bundan sonra hep birlikte çalışmak isteyeceğim **Uzm. Ecz. Nur Banu Uzun Bal'a** ve **Ecz. Elif Derya Özdemir'e**

ÇOK TEŞEKKÜR EDERİM!..

Uğurlarına her şeyi göze alabileceğim, en kıymetlilerim, canımdan parça olan anneciğim **Keramet Yılmazoğlu**'na ve abiciğim **Uzm. Dr. M.Serhan Akkuş**'a, bu dünyaya geldiğim günden itibaren bana gösterdikleri özen, verdikleri sevgi ve şefkat için ne kadar teşekkür etsem de azdır.

Her koşulda yanımda olarak bana güç verip destek oldunuz.

Hayatta, ölümden, bu âlemde her neresi varsa orada, her zaman birlikte olmak dileğiyle...

Sizi çok seviyorum!

Bu dünyada bana gönderilen bir melek olduğuna inandığım, onu ne kadar çok seversem etraftaki her şeyin ve herkesin gözümde o derece güzelleştğine şahit olduğum, bana bakışı bile beni mutlu etmeye yeten, ilk ve son sevgilim, biricik eşim **Uzm. Dr. İsmail Arslan**'a teşekkür ederim.

Burası 'asla olmaz' denen ne varsa yaşanan bir dünya olsa bile, sana olan sevgim hiçbir zaman tükenmeyecek. Her ne olursa olsun artarak devam edecek...

Seni çok seviyorum!

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Şeyda

Soyadı: Akkuş Arslan

Doğum Yeri ve Tarihi: Şanlıurfa – 11 Mayıs 1981

Medeni Hali: Evli

Eğitimi

- **Yüksek Lisans:** Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı (Kozmetoloji Programı) – 2007
Yüksek Lisans Tez Başlığı: Kozmetik Amaçla Kullanılacak Kinetin İçeren Nanoemülsiyon Formülasyonunun Geliştirilmesi
YÖK Tez No : 204242
Yüksek Lisans Tez Danışmanı: Doç.Dr. Figen Tırnaksız
- **Lisans:** Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (GÜEF) – 2004
- **Lise:** Ankara Fen Lisesi (AFL) – 1999

Yabancı Dili

- İngilizce (KPDS – C seviye, ÜDS – C seviye)

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

- FABAD (Farmasötik Bilimler Ankara Derneği)
- TÜFTAD (Türk Farmasötik Teknoloji Araştırmacıları Derneği)
- AEO (Ankara Eczacı Odası)

Kitap Bölümleri

1. Figen Tırnaksız, **Şeyda Akkuş**. “Chapter 7: Nanoparticles in cosmetics”, Sayfa: 133-161. Nanotechnology in Progress: Pharmaceutical Applications, Research Signpost, 2012.
2. Figen Tırnaksız, **Şeyda Akkuş**, Nevin Çelebi. “Chapter 9: Nanoemulsions as Drug Delivery Systems”, Sayfa: 221-244, Colloids in Drug Delivery, Techset, 2010.

3. Füsün Acartürk, İlbeyi Ağabeyoğlu, Nevin Çelebi, Tuncer Değim, Zelihağül Değim, Tanver Doğanay, Sevgi Takka, Zeynep Şafak Teksin, Figen Tırnaksız, **Şeyda Akkuş**, Can Dokak, Sibel İlbasmış Tamer, Tuba İnceçayır, Başaran Mutlu, Evren Odabaşioğlu, Fatmanur Tuğcu Demiröz. “*Farmasötik Teknoloji Laboratuvar Kitabı, 4.Baskı*”, Ekim 2007.

Diğer İndeksler Tarafından Taranan Yayınlar

1. **Şeyda Akkuş Arslan**, Figen Tırnaksız. “A *Nonsteroidal Antiinflammatory Drug: Aceclofenac*”. FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences, 35, 41-55, 2010.
2. **Şeyda Akkuş Arslan**, Tuba İnceçayır, Figen Tırnaksız. “*Comparison of Liposome and Emulsion Gels for Cosmetic Application of Kinetin*”. FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences, 35, 33-42, 2010.

Hakemsiz Yayınları

1. **Şeyda Akkuş**, Sema Burgaz. “*Kınanın Saç Boyası Olarak Güvenli Kullanımı*”, Eczacı Gündemi, 2009, Sayı:2, Sayfa No:38-43.

Proceeding Şeklinde Yayınlanmış Poster Bildirileri

1. **Şeyda Akkuş**, Figen Tırnaksız, Tuncer Değim. “*Development of o/w emulsions gelled containing kinetin with spontaneous emulsification method*”, Proceed. 13th International Pharmaceutical Technology Symposium (IPTS-2006), 10-13 Eylül, 2006, Antalya-Türkiye. Poster No: PP-1-ET12SEP.
2. **Şeyda Akkuş**, Figen Tırnaksız. “*Emulsions containing kinetin: comparison of formulations prepared with or without an organic solvent*”, 6th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical technology (PBP World Meeting), 7-10 Nisan, 2008, Barselona-İspanya. Poster no: 168.

3. **Şeyda Akkuş**, Ahmet Doğrul, Figen Tırnaksız. “*Nanoemulsions Containing Lidocaine HCl – Part II: Investigation Of Topical Anesthetic Efficacy Of Formulations In Mice*”, 7th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 8-11 Mart, 2010, Valletta-Malta. Poster No: 175.

Sözlü Sunumları

1. **Şeyda Akkuş Arslan**, Figen Tırnaksız. “*Development of Self-Nanoemulsifying Aceclofenac Delivery System with Non-Digestible Components*”, 10th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Session IX, OP-10, June 26-29, 2012, Ankara-Turkey.

Posterleri

1. **Şeyda Akkuş Arslan**, Figen Tırnaksız. “*Development of Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System Containing Aceclofenac*”, 9th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology with Focus on Nanopharmaceuticals and Nanomedicine, September 20-22, 2012, Dubrovnik-Croatia. Poster No: PP69.
2. **Şeyda Akkuş**, Figen Tırnaksız. “*Influence of Surfactant Amount on the Characteristic Properties of Nanoemulsion Containing Co-surfactant*”, IPSMPS 2010, International Postgraduate Student Meeting on Pharmaceutical Sciences, 24-27 Haziran, 2010, Çeşme-İzmir.
3. Ahmet Doğrul, **Şeyda Akkuş**, Figen Tırnaksız. “*Lidokain Hidroklorür İçeren Yeni Bir Mikroemülsiyon Formülasyonun Topikal Analjezik Etkisinin Farelerde İncelenmesi*”, Türk Farmakoloji Derneği 20. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 4–7 Kasım, 2009, Manavgat-Antalya. Poster No: P-068.
4. **Şeyda Akkuş**, Ahmet Doğrul, Figen Tırnaksız. “*Nanoemulsions Containing Lidocaine HCl - Part I: Influence of Oil Composition on The System Characteristics and Release of Drug*”, Pre-Satellite

Meeting of the 2nd Pharmaceutical Sciences Fair, 7-8 Haziran, 2009, Nice-Fransa. Poster No: P-301.

5. Figen Tırnaksız, **Şeyda Akkuş**, Onur Pınarbaşı. "*Development of A Nanoemulsion System Containing Kinetin*", Innovation in drug delivery: from biomaterials to devices, 30 Eylül–3 Ekim, 2007, Napoli-İtalya. Poster No: NAP166.
6. **Şeyda Akkuş**, Figen Tırnaksız. "*Development of o/w emulsions prepared by spontaneous emulsification technique*", Skin and Formulation, 2nd Symposium, 9–10 Ekim 2006, Versay-Fransa. Poster no: IV:14

Katıldığı Bilimsel Toplantılar

- 9th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology with Focus on Nanopharmaceuticals and Nanomedicine, September 20-22, 2012, Dubrovnik-Croatia.
- 10th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, June 26-29, 2012, Ankara-Türkiye.
- 7th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 8-11 Mart 2010, Valletta–Malta.
- PharmSciFair, 8-12 Haziran 2010, Nice–Fransa.
- Young Scientist Meeting in Nice, 7-8 Haziran 2010, Nice–Fransa.
- Nanofarmasötik: Gelişmeler ve Uygulamalar, 20 Kasım 2009, Ankara–Türkiye.
- Kozmetik Ürünler Eğitim Toplantısı-Saç ve Saç Bakım Preparatları, 16 Ekim 2009, Ankara – Türkiye.
- Kozmetik Ürünler Eğitim Toplantısı-Cilt Yaşlanması ve Cilt Bakım Ürünleri, 24 Ekim 2008, Ankara-Türkiye.
- 14th International Pharmaceutical Technology Symposium, 6-10 Eylül 2008, Antalya–Türkiye.

- 6th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 7–10 Nisan 2008, Barselona–İspanya.
- Kozmetik Ürünlerin Güvenliliği, Türk Toksikoloji Derneği, 4 Mayıs 2007, Ankara–Türkiye.
- Skin and Formulation, APGI (Association de Pharmacie Galenique Industrielle), 9–10 Ekim 2006, Versay–Fransa.
- Opportunities and Challenges for Nanotechnology Products: Applications in Drug Delivery, Cosmetics, Molecular Imaging and Nanomedicines, 13th IPTS (International Pharmaceutical Technology Symposium), 10–13 Eylül 2006, Antalya–Türkiye.
- ISOPS 8 (International Symposium on Pharmaceutical Sciences), 13–16 Haziran 2006, Ankara–Türkiye.
- Polimer Sektöründe Termal Analiz ve Reoloji Uygulamaları, LiKrom, 21 Aralık 2005, Ankara–Türkiye.
- Biopharmaceutical Classification System (BCS) and Enhancement of Bioavailability Through Smart Formulation, Workshop, 29–30 Eylül 2005, İstanbul–Türkiye.
- Eczacılık Teknolojisi Seminer Günleri I, Anadolu Üniversitesi, 24–25 Şubat 2005, Eskişehir–Türkiye.

Projeleri

- Kendiliğinden Nanoemülsifiye Olan İlaç Taşıyıcı Sistemler, Gazi Üniversitesi Araştırma Fonu (02/2010-47 kodlu proje)
- Kozmetik Amaçla Kullanılacak Kinetin Nanoemülsiyon Formülasyonunun Geliştirilmesi, Gazi Üniversitesi Araştırma Fonu (02/2006–07 kodlu proje)
- Kinetin İçeren Yağ/Su tipinde Nanoemülsiyon Formülasyonunun Geliştirilmesi, Novartis İlaç Sektörü, 2005 Yılı Farmasötik Teknoloji Araştırma Desteği

Yer Aldığı Görevler

- Sunum asistanı – 6th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 7–10 Nisan 2008, Barselona–İspanya.
- Sekreter – Kozmetik Ürünler Eğitim Toplantısı, 24 Ekim 2008, Ankara-Türkiye.
- Sekreter – Kozmetik Ürünler Eğitim Toplantısı, 16 Ekim 2009, Ankara-Türkiye.

Yazışma Adresi

Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Dekanlık Binası, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 06330 Yenimahalle-Etiler, ANKARA

Telefon: +90 312 202 3040

+90 312 202 3058

+90 533 215 3422

Faks: +90 312 212 7958

e-posta: seydaakkus@gmail.com