

GUNAY HUSUZADE

ISTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ISTANBUL-2021

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak

Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya

(sol yandaki gibi) olacak .



← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;

Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**BİYOFARMASÖTİK SINIFLANDIRMA SİSTEMİ SINIF II
MOLEKÜLÜN ÇÖZÜNÜRLÜĞÜNÜN ARTTIRILMASI
YAKLAŞIMI İLE LİPİT YAPILI NANOTAŞIYICILARIN
GELİŞTİRİLMESİ**

GUNAY HUSUZADE

**DANIŞMAN
PROF. DR. SEVGİ GÜNGÖR**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2021

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans süresince tezimin yürütülmesinde ve yönetilmesinde bana yardımcı olan, çalışmalarımda bana yol gösteren, tecrübe ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Sn. Prof. Dr. Sevgi Güngör'e

Tezimin yürütülmesinde sağladıkları olanak ve destekleri için Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. Yıldız Özsoy Erginer'e,

Tez sürem boyunca her zaman tüm bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, laboratuvardaki çalışmalarım süresince her adımımı takip eden, anlayışı, olumlu düşünceleri ve manevi desteği için Arş. Gör. Dr. Burcu Mesut'a;

Çalışmalarım sırasında ilgi ve yardımları için Doç. Dr. Sedef Erdal'a;

Hem laboratuvar ortamında, hem de genel hayatta destek ve yardımlarını esirgemeyen canım arkadaşlarım Rafael, Yağmur ve Alaa'ya;

Son olarak tüm hayatım boyunca ilgilerini ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen canım annem, babam ve kardeşime

Sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 35176

İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	İİ
TEŞEKKÜR.....	İİİ
İÇİNDEKİLER	İV
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	XİV
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XVİ
ÖZET	XVİİİ
ABSTRACT.....	XİX
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tadalafil Hakkında Genel Bilgiler.....	3
2.1.1. Tadalafil'in Yapısı ve Özellikleri	3
2.1.2. Tadalafil'in Farmakolojik Özellikleri	4
2.1.3. Tadalafil'in Farmakokinetik Özellikleri	4
2.1.3.1. Emilimi.....	4
2.1.3.2. Dağılımı.....	5
2.1.3.3. Metabolizması ve Metabolitleri	5
2.1.3.4. Atılımı	5
2.1.4. Tadalafil'in Diğer Farmakolojik Özellikleri	5
2.1.5. Türkiye Pazarındaki Preparatları	6
Türkiye'de Tadalafil içeren müstahzarlar Tablo 2-1'de listelenmiştir (Rx Media 2020).	6
2.1.6. Dünya Pazarındaki Preparatları	6
Dünya pazarında bulunan müstahzarlar Tablo 2-2'de verilmiştir (Rx Media 2020).	6
2.2. İlaçların Oral Yol İle Uygulanması.....	7
2.3. Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS)	7
2.3.1. BCS Sınıf I İlaç Molekülleri	8
2.3.2. BCS Sınıf II İlaç Molekülleri.....	9
2.3.3. BCS Sınıf III İlaç Molekülleri	9
2.3.4. BCS Sınıf IV İlaç Molekülleri	9

2.3.5. Biyofarmasötik Sınıflandırma Sisteminde Temel Parametreler	10
2.3.5.1. Etken Maddenin Çözünürlüğü	10
2.3.5.2. Etken Maddenin Emilimi (Permeabilitesi).....	10
2.4. Düşük Çözünürlüğe Sahip Etken Maddelerin Çözünürlüğünü Arttırma Yaklaşımları.....	11
2.5. Lipit Yapılı İlaç Taşıyıcı Sistemler Hakkında Genel Bilgiler	12
2.5.1. Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemi (LFCS) Tanımı ve Özellikleri	12
2.5.2. Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemlerinin Avantaj ve Dezavantajları.....	16
2.6. Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemlerinde SEDDS/SMEDDS/SNEDDS Karşılaştırılması	17
2.6.1. Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemlerinde Kullanılan Yardımcı Maddeler	18
2.6.1.1. Lipitler.....	19
2.6.1.2. Yüzey Etken Maddeler (Sümfaktanlar)	19
2.6.1.3. Yardımcı Yüzey Etken Maddeler (Ko-sümfaktanlar).....	20
2.7. Tez Çalışmasında Formülasyon Geliştirilmesinde Kullanılan Yardımcı Maddeler Hakkında Genel Bilgiler	21
2.7.1. Yardımcı Yüzey Etken Maddeler	21
2.7.1.1. Transcutol HP.....	21
2.7.2. Yüzey Etken Maddeler.....	21
2.7.2.1. Labrasol.....	21
2.7.2.2. Gelucire Türevleri	21
Gelucire 44/14	22
Gelucire 48/16.....	22
2.7.2.3. Polisorbat Türevleri (Kolliphor PS).....	22
Kolliphor PS 20.....	22
Kolliphor PS 60.....	23
Kolliphor PS 80.....	23
2.7.2.4. Polisorbat Türevleri (Kolliphor CS türevleri)	23
Kolliphor CS 12	23
Kolliphor CS 20	23
2.7.2.5. Diğer Kolliphor Türevleri	23
2.7.3. Katı Taşıyıcılar (Adsorbanlar)	25

2.7.3.1. Florite R	25
2.7.3.2. Neusilin	25
2.7.3.3. Syloid XDP	26
2.8. Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemlerinde Yapılan Kontoller.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. GEREÇLER.....	27
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	27
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	28
3.1.2.1. Kullanılan Cihazlar	28
3.1.2.2. Kullanılan Malzemeler.....	28
3.1.2.3. Kullanılan Bilgisayar Programları	29
3.2. YÖNTEM	30
3.2.1. Tadalafil'in Miktar Tayini Yöntem Geliştirilmesi.....	30
3.2.1.1. Tadalafil'in HPLC İçin Kromatografik Cihaz Şartları.....	30
3.2.1.2. Mobil Fazın Hazırlanması.....	30
3.2.2. HPLC Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu.....	30
3.2.2.1. Doğrusallık.....	30
3.2.2.2. Kesinlik	32
3.2.2.3. Doğruluk	32
3.2.2.4. Örneklerin Stabilitesi	33
3.2.3. Tadalafil'in Tip IV Lipit Yapılı İlaç Taşıyıcı Sistemi Formülasyonlarının Geliştirilmesine Yönelik Çalışmalar.....	34
3.2.4. Çözünürlük Çalışmaları	34
3.2.5. Etken Madde Yüklü Olmayan Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonların Hazırlanması	35
3.2.6. Seçilen Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları.....	36
3.2.6.1. Görsel Değerlendirme	36
3.2.6.2. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi (PDI).....	36
3.2.6.3. Transmittans (%) Ölçümü	37
3.2.6.4. pH Seyreltmelerine Karşı Dayanıklılık.....	37
3.2.7. Tadalafil Yüklü Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonların Hazırlanması	37
3.2.8. Tadalafil Yüklü Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları	38

3.2.8.1. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi (PDI).....	38
3.2.8.2. Farklı Sıcaklıklarda Faz Ayrışmasının Değerlendirilmesi.....	38
3.2.8.3. pH Seyreltmelerine Karşı Dayanıklılık Değerlendirilmesi.....	38
3.2.9. Tadalafil Yüklü Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonlarının Katı Forma Dönüştürülmesi.....	38
3.2.10. Tadalafil Yüklü Katı Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonlar Üzerinde Yapılan <i>İn Vitro</i> Çözünme Hızı Testi Çalışmaları.....	40
4. BULGULAR.....	42
4.1. HPLC Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu Çalışmasına Ait Bulgular.....	42
4.1.1. Doğrusallık.....	42
4.1.2. Kesinlik.....	43
4.1.3. Doğruluk.....	44
4.1.4. Örneklerin Stabilitesi.....	45
4.2. Çözünürlük Çalışmalarına Ait Bulgular.....	45
4.3. Etken Madde Yüklü Olmayan Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonları Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular.....	46
4.3.1. Görsel Değerlendirme.....	46
4.3.2. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi (PDI).....	47
4.3.3. Transmittans (%) Ölçümü.....	49
4.3.4. Seyreltmelere (Farklı pH'daki Çözeltiler ile) Karşı Dayanıklılık.....	50
4.4. Tadalafil Yüklü Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonların Hazırlanması Çalışmalarına Ait Bulgular.....	52
4.5. Tadalafil Yüklü Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonları Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular.....	54
4.5.1. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi (PDI).....	54
4.5.2. Farklı Sıcaklıklarda Faz Ayrışması Değerlendirilmesi.....	54
4.5.3. Seyreltmelere (Farklı pH'daki Çözeltiler ile) Karşı Dayanıklılık Değerlendirilmesi.....	55
4.6. Tadalafil Yüklü Katı Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonların Hazırlanmasına Ait Bulgular.....	58
4.7. Tadalafil Yüklü Katı Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonların Referans Ürün ile Karşılaştırmalı <i>İn Vitro</i> Çözünme Hızı Testi Çalışmalarına Ait Bulgular.....	58
5. TARTIŞMA.....	78
KAYNAKLAR.....	85

HAM VERİLER	95
FORMLAR	96
PATENT HAKKI İZİNİ	97
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	98



TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Türkiye pazarında Tadalafil içeren ilaçların listesi.....	6
Tablo 2-2: Dünya pazarında Tadalafil içeren müstahzarların listesi	6
Tablo 2-3: Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS).....	8
Tablo 2-4: USP ve BP çözünürlük kriterleri.....	10
Tablo 2-5: Etken maddelerin çözünürlüğünün arttırılmasında uygulanan yöntemler	11
Tablo 2-6: Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemi (Čerpnjak ve ark., 2013).....	14
Tablo 2-7: SEDDS, SNEDDS ve SMEDDS arasındaki farklar	18
Tablo 3-1: Tadalafilin Tip IV lipit yapılı formülasyonlarının bileşimlerinin belirlenmesi için çözünürlük çalışmalarında kullanılan yardımcı maddeler	34
Tablo 3-2: Tip IV lipit yapılı formülasyon çalışmalarında kullanılan bileşenler (sürfaktan, kosürfaktan ve oranları).....	35
Tablo 3-3: Tadalafil'in katı Tip IV lipit yapılı formülasyonların hazırlanmasında kullanılan adsorban maddeler ve özellikleri	40
Tablo 4-1: Tadalafil'in doğrusallık çalışmasında elde edilen konsantrasyon (mg/ml)/pik alanı değeri tablosu	42
Tablo 4-2: Tadalafil'in gün içi kesinlik çalışmasında elde edilen sonuçlar (n=6).....	43
Tablo 4-3: Tadalafil'in günler arası kesinlik çalışmasında elde edilen sonuçlar (n=6)..	44
Tablo 4-4: Plasebo 1 ile yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar (n=3).....	44
Tablo 4-5: Plasebo 2 ile yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar (n=3).....	45
Tablo 4-6: Örneklerin stabilitesi çalışması sonuçları	45
Tablo 4-7: Tip IV lipit yapılı formülasyonları üzerinde yapılan görsel değerlendirme .	47

Tablo 4-8: Tip IV lipit yapılı formülasyonların damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3)	48
Tablo 4-9: Seçilen formülasyonların 1 hafta sonraki damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3).....	49
Tablo 4-10: Transmittans (%) ölçümüne ait sonuçlar.....	50
Tablo 4-11: Seyreltmelere (pH=1,2 0.1 N HCL çözeltisi ile) karşı lipit yapılı formülasyonların dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3).....	50
Tablo 4-12: Seyreltmelere (pH=4,5 tampon çözeltisi ile) karşı lipit yapılı formülasyonların dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3).....	51
Tablo 4-13: Seyreltmelere (pH=6,8 tampon çözeltisi ile) karşı lipit yapılı formülasyonların dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3).....	51
Tablo 4-14: Seyreltmelere (pH=7,4 tampon çözeltisi ile) karşı lipit yapılı formülasyonların dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3).....	52
Tablo 4-15: Tadalafil yüklü formülasyonlarda yapılan çözünürlük çalışmasında elde edilen sonuçlar	53
Tablo 4-16: Tadalafil yüklü Tip IV lipit yapılı formülasyonların damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3)	54
Tablo 4-17: Farklı sıcaklıklarda faz ayrışması değerlendirilmesi	55
Tablo 4-18: Seyreltmelere (pH=1,2 0.1 N HCL çözeltisi ile) karşı lipit yapılı formülasyonların dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3).....	56

Tablo 4-19: Seyreltmelere (pH=4,5 tampon çözeltisi ile) karşı lipit yapılı formülasyonların dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3).....	56
Tablo 4-20: Seyreltmelere (pH=6,8 tampon çözeltisi ile) karşı lipit yapılı formülasyonların dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3).....	57
Tablo 4-21: Seyreltmelere (pH=7,4 tampon çözeltisi ile) karşı lipit yapılı formülasyonların dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3).....	57
Tablo 4-22: Tadalafil yüklü katı Tip IV lipit yapılı formülasyonların hazırlanması.....	58
Tablo 4-23: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürünün çözünme hızı testi sonuçları (n=3).....	59
Tablo 4-24: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F1 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)	59
Tablo 4-25: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F2 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)	60
Tablo 4-26: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F3 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)	61
Tablo 4-27: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F4 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)	62
Tablo 4-28: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F5 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)	63
Tablo 4-29: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F6 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)	64
Tablo 4-30: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F7 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=3)	65

Tablo 4-31: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F8 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)	66
Tablo 4-32: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F9 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)	67
Tablo 4-33: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F10 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)	68
Tablo 4-34: pH=4,5 fosfat tamponu ortamında referans ürünün çözünme hızı testi sonuçları (n=3).....	69
Tablo 4-35: pH=4,5 fosfat tamponu ortamında F1 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4).....	70
Tablo 4-36: pH=4,5 fosfat tamponu ortamında F2 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4).....	71
Tablo 4-37: pH=4,5 fosfat tamponu ortamında F3 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=3).....	72
Tablo 4-38: pH=6,8 fosfat tamponu ortamında referans ürünün çözünme hızı testi sonuçları (n=3).....	73
Tablo 4-39: pH=6,8 fosfat tamponu ortamında F1 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4).....	73
Tablo 4-40: pH=6,8 fosfat tamponu ortamında F2 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4).....	74
Tablo 4-41: pH=6,8 fosfat tamponu ortamında F3 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4).....	75
Tablo 4-42: %0,5'lik SLS ortamında referans ürünün çözünme hızı testi sonuçları (n=3)	76
Tablo 4-43: %0,5'lik SLS ortamında F2 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4).....	77



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Tadalafil'in kimyasal yapısı (PubChem CID: 110635)	3
Şekil 2-2: Florite R'in kimyasal yapısı (PubChem SID 134979820)	25
Şekil 2-3: Neusilin'in kimyasal yapısı (Fuji Chemical, 2020)	25
Şekil 4-1: HPLC metodunda Tadalafil'in alıkonma zamanı	43
Şekil 4-2: Tadalafil'in doğrusallık çalışmasında elde edilen kalibrasyon doğrusu	43
Şekil 4-3: Tadalafil'in yardımcı maddelerde çözünürlük çalışmasında elde edilen sonuçlar	46
Şekil 4-4: S _{mix} karışımının görseli	46
Şekil 4-5: Tadalafil yüklü formülasyonlarda yapılan çözünürlük çalışmasında elde edilen sonuçlar	53
Şekil 4-6: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F1 formülasyonunun çözünme hızı grafiği	60
Şekil 4-7: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F2 formülasyonunun çözünme hızı grafiği	61
Şekil 4-8: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F3 formülasyonu çözünme hızı grafiği	62
Şekil 4-9: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F4 formülasyonu çözünme hızı grafiği	63
Şekil 4-10: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F5 formülasyonu çözünme hızı grafiği	64
Şekil 4-11: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F6 formülasyonu çözünme hızı grafiği	65

Şekil 4-12: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F7 formülasyonu çözünme hızı grafiği	66
Şekil 4-13: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F8 formülasyonu çözünme hızı grafiği	67
Şekil 4-14: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F9 formülasyonu çözünme hızı grafiği	68
Şekil 4-15: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F10 formülasyonu çözünme hızı grafiği	69
Şekil 4-16: pH=4,5 fosfat tamponu ortamında referans ürüne karşılık F1 formülasyonu çözünme hızı grafiği	70
Şekil 4-17: pH=4,5 fosfat tamponu ortamında referans ürüne karşılık F2 formülasyonu çözünme hızı grafiği	71
Şekil 4-18: pH=4,5 fosfat tamponu ortamında referans ürüne karşılık F3 formülasyonu çözünme hızı grafiği	72
Şekil 4-19: pH=6,8 fosfat tamponu ortamında referans ürüne karşılık F1 formülasyonu çözünme hızı grafiği	74
Şekil 4-20: pH=6,8 fosfat tamponu ortamında referans ürüne karşılık F2 formülasyonu çözünme hızı grafiği	75
Şekil 4-21: pH=6,8 fosfat tamponu ortamında referans ürüne karşılık F3 formülasyonu çözünme hızı grafiği	76
Şekil 4-22: %0,5'lik SLS ortamında referans ürüne karşılık F2 formülasyonu çözünme hızı grafiği.....	77

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

BE:	Biyoeşdeğerlik
BP:	İngiliz Farmakopesi
BCS:	Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi
BY:	Biyoyararlanım
cGMP:	Güncel İyi Üretim Uygulamaları
C _{maks} :	Maksimum Plazma Konsantrasyonu
EMA:	Avrupa İlaç Ajansı
FDA:	Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
GI:	Gastrointestinal
HLB:	Hidrofilik – Lipofilik Denge
HPLC:	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
ICH:	Uluslararası uyum harmonizasyonu
IR:	Hızlı Salım
IVIVC:	İn vitro – İn vivo Korelasyon
LBDDS:	Lipit Yapılı İlaç Taşıyıcı Sistemler
LFCS:	Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemi
NO:	Nitrik Oksit
PAH:	Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon
PDE-5:	Fosfodiesteraz-5
PDI:	Polidispersite İndeksi
PEG:	Polietilen Glikol
Pgp:	P-glikoprotein
pH:	Hidrojen Potansiyeli
pKa:	Asit Ayrışma Sabiti

r^2 :	Determinasyon Katsayısı
rpm:	Dakikadaki Dönüş Sayısı
RSD:	Rölatif Standart Sapma
S_{mix} :	Sümfaktan ve Kosümfaktan Karışımı
SD:	Standart Sapma
SLS:	Sodium Lauril Sülfat
TFAA:	Trifloroasetik Asit
USP:	ABD Farmakopesi
UV:	Ultraviyole Spektrumu
WHO:	Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

Husuzade, G. (2021). Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi Sınıf II Molekülün Çözünürlüğünün Arttırılması Yaklaşımı ile Lipit Yapılı Nanotaşıyıcıların Geliştirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Lipit yapılı ilaç taşıyıcı sistemler arasında yer alan kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler, özellikle sudaki çözünürlüğü düşük etken maddelerin oral dozaj formlarının geliştirilmesi açısından ilgi çekmektedirler. Bileşimlerindeki maddelere göre sınıflandırılan bu sistemlerden Tip IV formülasyonlar, yağ kullanılmadan yüzey etken madde ve/veya yardımcı yüzey etken madde kullanılarak hazırlanır. Bu çalışmada model etken madde olarak Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemine göre Sınıf II molekül olan Tadalafil'in Tip IV lipit yapılı taşıyıcı sisteminin geliştirilmesi ve farklı poröz adsorban maddeler ile katı hale getirilmesi amaçlanmıştır.

Tadalafil'in Tip IV formülasyonlarında yüzey etken madde olarak Labrasol, Kolliphor PS 20, Kolliphor PS 60, Kolliphor PS 80, Kolliphor CS 12, Kolliphor CS 20, Kolliphor HS 15, Kolliphor EL, Kolliphor ELP, Kollisolv PEG 400, Gelucire 44/14 veya Gelucire 48/16, yardımcı yüzey etken madde olarak Transcutol HP kullanıldı. Farklı oranlarda bileşenler ile hazırlanan formülasyonların damlacık boyutu ve polidispersite indeksi (PDI) değerleri dikkate alınarak stabilitesi izlendi. Kolliphor PS 80, Kolliphor HS 15 ve Kolliphor EL ile Transcutol HP (2:1) hazırlanan formülasyonların damlacık boyutu (<50 nm) ve PDI değerleri (<0,2) ile kararlı olduğu saptandı. Seçilen formülasyonların adsorban maddeler (Florite R, Neusilin US2, Neusilin UFL2, Syloid XDP 3050 ve Syloid XDP 3150) ile katı hale getirilmiş yeni katı taşıyıcı sistemleri hazırlandı. Tadalafil'in çözünme hızı performansı tablet formu referans ürün ile karşılaştırmalı olarak incelendi.

Bu tez çalışmasında; Tadalafil'in katı hale getirilmiş Tip IV lipit yapılı formülasyonunun Tadalafil'in çözünme hızını arttırdığı ve geliştirilen yeni katı lipit yapılı yeni taşıyıcı sistemin tablet formundaki konvansiyonel oral preparatına göre hızlı emilim sağlama potansiyelinin olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tadalafil, Düşük çözünürlük, Kendiliğinden Emülsifiye Olabilen Sistemler, Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonlar, Katı Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonlar

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 35176

ABSTRACT

Husuzade, G. (2021). Development of Lipid Nanocarriers with the Approach of Increasing the Solubility of a Drug Molecule Belong to Biopharmaceutical Classification System Class II. İstanbul University, Institute of Health Science, Pharmaceutical Technology Dept. Master of Thesis. İstanbul.

Self-emulsifiable systems, which are among the lipid-structured drug delivery systems, are of particular interest in the development of oral dosage forms of active substances in low water solubility. Among these systems classified according to the ingredients in their composition, Type IV formulations are prepared using surfactants and/or co-surfactants without adding an oil. In this study, it was aimed to develop the Type IV lipid carrier system of Tadalafil, which is a Class II molecule according to the Biopharmaceutical Classification System (BCS) as a model active substance, and to solidification of the optimized Type IV formulations using by different porous carriers.

Labrasol, Kolliphor PS 20, Kolliphor PS 60, Kolliphor PS 80, Kolliphor CS 12, Kolliphor CS 20, Kolliphor HS 15, Kolliphor EL, Kolliphor ELP, Kollisolv PEG 400, Gelucire 44/14 or Gelucire 48/16 were used as surfactant for preparing Type IV formulations of Tadalafil. Transcutol HP was used as co-surfactant. The stability of formulations prepared with components in different proportions was monitored by taking into account their droplet size and polydispersity index (PDI) values. It was determined that the formulations prepared with Kolliphor PS 80, Kolliphor HS 15 and Kolliphor EL with Transcutol HP (2: 1) were physically stable with droplet size (<50 nm) and PDI values (<0.2). New solid delivery systems were prepared with selected formulations and porous carriers (Florite R, Neusilin US2, Neusilin UFL2, Syloid XDP 3050 and Syloid XDP 3150). The dissolution rate performance of Tadalafil of solidified Type IV formulations was analyzed in comparison with its reference tablet product.

In this thesis; it has been concluded that the solidified Type IV lipid formulations of Tadalafil increases the dissolution rate of Tadalafil and, that a new solid lipid carrier system has a potential to provide rapid absorption compared to the conventional oral tablet dosage form of Tadalafil.

Keywords: Tadalafil, Low solubility, Self-Emulsifying Systems, Type IV Lipid Based Formulations, Solid Type IV Lipid Based Formulations

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 35176 .

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Oral yol, girişimsel olmaması nedeniyle hasta uyuncu yüksek ve en çok tercih edilen uygulama yoludur. Hasta açısından alım kolaylığı, imalat açısından birçok yöneme göre daha düşük maliyetli olması, dozaj formunun tasarımındaki esnekliği nedeniyle çok tercih edilmektedir (Krishnaiah, 2010). Bu olumlu özellikleri yanında, oral dozaj formlarının geliştirilmesi sırasında bazı sorunlar ortaya çıkmaktadır. Karşılaşılan en büyük sorunlardan birisi oral yoldan uygulanan ilaçların çeşitli sebeplerle düşük biyoyararlanıma sahip olmasıdır. Düşük biyoyararlanımın en büyük nedeni ise etken maddenin suda çözünürlüğünün zayıf olmasıdır (Yadav ve ark., 2017).

Oral yol ile uygulanan ilaçlar gastorintestinal sistemdeki çözünürlük ve bu bölgeden emilim özelliklerine göre Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS) adı altında sınıflandırılmıştır (Amidon ve ark., 1995). Bu sınıflandırma sistemine göre ilaçlar Sınıf I: yüksek çözünürlük ve yüksek permeabilite; Sınıf II: düşük çözünürlük ve yüksek permeabilite; Sınıf III: yüksek çözünürlük ve düşük permeabilite; Sınıf IV: düşük çözünürlük ve düşük permeabilite gösteren ilaçlar olarak 4 sınıfa ayrılmaktadır (Amidon ve ark., 1995).

Bu çalışmada model molekül olarak seçilen Tadalafil oral yol ile kullanılan bir fosfodiesteraz-5 (PDE-5) inhibitörü ilaçtır. BCS'ye göre Sınıf II'ye dahildir (sudaki çözünürlüğü: 3,48 µg/mL) (Shinde ve ark., 2018). Tadalafil gibi düşük çözünürlüğe sahip etken maddelerin çözünürlüğünün artırılması ve oral biyoyararlanımının iyileştirilmesi için Lipit Yapılı İlaç Taşıyıcı Sistemlerinin (LBDDS) geliştirilmesi tedavide önemli avantajlar sağlayabilmektedir (El-Badry ve ark., 2014).

LBDDS sistemler içerisinde var olan yaklaşımlardan birisi de Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemi (LFCS) sınıfına mensup formülasyonlardır. Bu formülasyonlar bileşimlerinde kullanılan yardımcı maddelerin özelliklerine göre 4 sınıfa ayrılmaktadır (Feeney ve ark., 2016). Tip I formülasyonlar basit formülasyonlar olup, bileşimlerinde trigliserit veya karışık gliserit yapısındaki lipitleri içermektedir. Tip II formülasyonlar gliserit lipitler ve suda çözünmeyen (lipofilik) yüzey etken maddeler içermektedir. Tip III formülasyonlar gliserit lipitleri, suda iyi çözünür (hidrofilik) yüzey etken madde ve bir yardımcı yüzey etken madde (ko-sürfaktan) ile hazırlanırlar. Tip III formülasyonlar içerik miktarlarına göre Tip IIIA ve Tip IIIB olarak 2 alt gruba ayrılır. Tip IIIA

formülasyonlar daha yüksek oranda gliserit lipitleri ve daha düşük oranda yüzey etken madde ile yardımcı yüzey etken madde içerirken, Tip IIIB formülasyonlar sınırlı miktarda gliserit lipitleri ve daha fazla miktarda yüzey etken madde ve bir yardımcı yüzey etken madde içermektedir. Tip IV formülasyonlar ise sadece yüzey etken madde ve bir yardımcı yüzey etken madde içermektedirler (Feeney ve ark., 2016).

Lipit formülasyon sınıflandırma sistemine mensup formülasyonlar katı hale getirildiklerinde daha kolay taşınabileceklerdir, daha stabil kalmaktadırlar ve tablet gibi katı dozaj formlarının hazırlanması mümkün olmaktadır (Kumar ve ark., 2018). Bu avantajlardan faydalanabilmek amacıyla yapılan çalışmalarda bu sistemlerin katı hale getirilebilmesi için çok farklı yaklaşımlar uygulanmaktadır. Bu yaklaşımlardan bazıları katı taşıyıcılara/poröz adsorbanlara yükleme, dondurarak kurutma, püskürterek kurutma, hot-melt ekstrüzyonu ve döndürerek buharlaştırma işlemidir (Ostolska ve Wiśniewska, 2014). Basit bir karıştırma yöntemi ile hazırlanabilmeleri ve proses yükleme etkinliğinin fazla olması sebebi ile en çok tercih edilen yaklaşım inert adsorbanlara yükleme yaklaşımıdır ve bu amaçla kullanılan ve en çok tercih edilen adsorbanlar silikat türevleridir. Başlıca kullanılan silikat türevleri magnezyum aliminyum metasilikat ve kalsiyum silikattır (Gonçalves ve ark., 2018).

Bu tez çalışmasında, model etken madde olarak seçilen BCS Sınıf II'ye dahil bir ilaç molekülü olan Tadalafil'in öncelikle Tip IV lipit yapılı taşıyıcı sisteminin geliştirilmesi ve karakterizasyonun yapılması, ardından seçilen Tadalafil yüklenmiş lipit yapılı taşıyıcı sistemin katı hale getirilmesi için farklı özellikteki adsorban maddeler ile katı toz formunda formülasyonlarının geliştirilmesi ve bu formülasyonların referans ürün ile karşılaştırmalı *in vitro* çözünme hızı performansının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

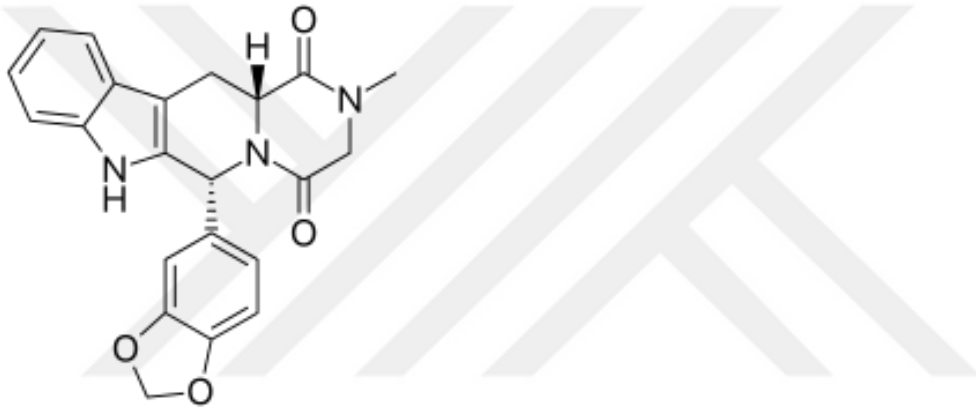
2.1. Tadalafil Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Tadalafil'in Yapısı ve Özellikleri

Kimyasal Formülü: (6R-trans)-6-(1,3-benzodioxol-5-il)-2,3,6,7,12,12a hekzahidro-2-metil-pirazino [1',2':1,6] pirido [3,4-b] indol-1,4-dion

Kapalı Formülü: C₂₂H₁₉N₃O₄

Açık Formülü:



Şekil 2-1: Tadalafil'in kimyasal yapısı (PubChem CID: 110635)

Molekül Ağırlığı: 389,404 g / mol

Log P Değeri: 2,48

pKa Değeri: 16,68

Suda Çözünürlüğü: 3,48 µg / mL

Fizikokimyasal Özellikleri: Beyaz veya beyazımsı kristal yapılu tozdur. Suda hemen hemen hiç çözünmez, sadece dimetilsülfoksit ve dimetilformamid gibi çözücülerde serbestçe çözünür (Türk Farmakopesi-II, 2017). 1-11 pH aralığında herhangi bir iyonize edilebilir gruba sahip değildir ve bu aralıktaki sulu tamponlarda çözünürlükte herhangi bir değişiklik göstermez. Bu molekül 2 kiral merkeze sahiptir ve bu nedenle dört farklı stereoisomeri bulunabilir (EMA., 2008).

2.1.2. Tadalafil'in Farmakolojik Özellikleri

Tadalafil bir fosfodiesteraz-5 (PDE-5) inhibitörüdür, erektil disfonksiyon (iktidarsızlık) ve benign prostat hipertrofisi (genişlemiş prostat) semptomlarını tedavi etmek için oral olarak kullanılır (Coward ve Carson, 2008; Hatzimouratidis, 2014). Fizyolojik ereksiyon sürecinin bir kısmı korpus kavernosumda nitrik oksit (NO) salınmasını içerir. Bu daha sonra, protein kinaz G aracılığıyla siklik guanosin monofosfat (cGMP) seviyelerinin artmasına neden olan guanilat siklaz enzimini aktive ederek, korpus kavernosumda düz kas gevşemesine yol açarak kan akışının ve ereksiyonun artmasına neden olur (Frajese ve ark., 2006).

Tadalafil, 2,5 mg, 5 mg, 10 mg ve 20 mg yitiliklerde film kaplı tablet olarak pazara sunulmuştur (Cialis®; Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, ABD). Erektile disfonksiyonda isteğe bağlı kullanım için önerilen Tadalafil dozu, cinsel aktiviteden önce 10 mg'dır. Bireysel etkinlik ve tolere edilebilirliğe bağlı olarak tedavi dozu 20 mg'a arttırılabilir veya 5 mg'a düşürülebilir. İyi huylu prostatik hiperplazi tedavisinde günde bir kez kullanım için önerilen Tadalafil dozu, her gün yaklaşık olarak aynı zamanda alınan 5 mg'dır (Carson ve ark., 2004).

Tadalafil'in yaygın olarak bildirilen yan etkileri; baş ağrısı, dispepsi, kas ağrısı, sırt ağrısı, uzuv ağrısı, mide bulantısı ve kızarma olarak bildirilmektedir. Diğer görülebilen yan etkileri üst solunum yolu infeksiyonu, öksürük ve burun tıkanıklığıdır. Tadalafil diğer PDE-5 inhibitörleri (Sildenafil, Vardenafil) ile karşılaştırıldığında; %0,1'den daha az görme anormalliklerine sebep olmaktadır. Ancak bunun yanında kardiyovasküler risk faktörlü bir kişinin Tadalafil kullanması kardiyak sorunlara (çarpıntı, miyokard ekfarktüsü, taşikardi), hatta ani kardiyak ölüme sebep olabilir. Tadalafil'in yüksek dozda kullanılması nadiren görülen uzun süreli ereksiyona neden olabilir (Dhaliwal ve Gupta, 2019).

2.1.3. Tadalafil'in Farmakokinetik Özellikleri

2.1.3.1. Emilimi

Tadalafil, oral yolla uygulandıktan sonra hızla emilir ve gözlenen maksimum plazma konsantrasyonuna (C_{maks}) 30 dakika ile 6 saat arasında (ortalama 2 saat) ulaşılır. Oral uygulamayı takiben, ilk geçiş metabolizmasına uğrar, oral biyoyararlanımı

yaklaşık %80'dir. Tadalafil'in emilim hızı ve oranı gıdalardan etkilenmez (Forgue ve ark., 2006).

2.1.3.2. Dağılımı

Oral uygulamayı takiben ortalama görünür dağılım hacmi yaklaşık 63 L'dir, bu da Tadalafil'in dokulara dağıldığını gösterir. *In vitro* olarak, terapötik konsantrasyon aralığında, plazmada Tadalafil'in %94'ü proteinlere bağlıdır. Uygulanan dozun %0,0005'inden azı, sağlıklı katılımcıların semeninde görülmüştür (Seftel, 2004).

2.1.3.3. Metabolizması ve Metabolitleri

Tadalafil ağırlıklı olarak sitokrom P450 (CYP) 3A4 izoformu tarafından karaciğerde bir katekol metabolitine metabolize edilir. Katekol metaboliti, geniş bir metilasyon ve glukuronidasyona tabi tutularak metilkatekol ve metilkatekol glukuronit konjugatını oluşturur. Başlıca dolaşımdaki metabolit, metilkatekol glukuronittir. (Cialis[®], Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, ABD). Tadalafil herhangi bir güçlü CYP3A4 inhibitörü ile birlikte kullanıldığında önemli ilaç – ilaç etkileşimlerine neden olabilir. Bu yüzden günlük doz miktarı maksimum 2,5 mg olmalıdır (Huang ve Lie, 2013).

2.1.3.4. Atılımı

Sağlıklı bireylerde ortalama oral klerens 2,5 L/Saat ve ortalama yarılanma ömrü 17,5 saattir. Tadalafil ağırlıklı olarak aktif olmayan metabolitler halinde, özellikle dışkıda (dozun yaklaşık %61'i) ve daha az oranda idrar ile (dozun yaklaşık %36'sı) atılır (Forgue ve ark., 2006).

2.1.4. Tadalafil'in Diğer Farmakolojik Özellikleri

Tadalafil, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) grup 1 hastalarında pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) tedavisi için Mayıs 2009'da FDA onayı almış, Adcirca[®] markası (Adcirca[®]; Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, ABD) altında pazarlanmaktadır (Henrie ve ark., 2015). PAH tedavisi için önerilen Tadalafil dozu, günde bir kez yiyeceklerle veya yiyeceksiz 40 mg'dır (iki 20 mg tablet) (Falk ve ark., 2010). Adcirca[®], PAH hastalığı tedavi etmek için kullanılan, cGMP'nin bozulmasını sağlayan fosfodiesteraz-5 enziminin (PDE5) bir inhibitördür. PDE-5'in bloke edilmesi,

cGMP konsantrasyonlarının artmasına ve arterlerin düz kaslarını gevşeterek vazodilatasyona ve kan basıncının düşmesine neden olur. Bu, hastanın vücuttaki oksijen taşınmasını geliştirir ki, bu da hastanın egzersiz yeteneğini geliştirebilir (Henrie ve ark., 2015).

2.1.5. Türkiye Pazarındaki Preparatları

Türkiye’de Tadalafil içeren müstahzarlar Tablo 2-1’de listelenmiştir (Rx Media 2020).

Tablo 2-1: Türkiye pazarında Tadalafil içeren ilaçların listesi

Müstahzar İsmi	Etken Madde Miktarı (mg)	Firma
AFILTA	20	Sanofi
CIALIS	5; 20	Lilly
DEPARTON	20	Abdi İbrahim
FLYNTA	20	İlko
HARDCIS	5; 20	Deva
ICARUS ağızda dağılan film	20	Centurion İlaç
LEX	5; 20	Nobel
LIFTA	5; 10; 20	Abdi İbrahim
LONGIS	20	Santa Pharma
MYESED	20	Pharmactive
ORCAFIL	5; 10; 20	World Medicine
PAHTAFIL	20	Sanofi
TADLIS	20	Nuvomed

2.1.6. Dünya Pazarındaki Preparatları

Dünya pazarında bulunan müstahzarlar Tablo 2-2’de verilmiştir (Rx Media 2020).

Tablo 2-2: Dünya pazarında Tadalafil içeren müstahzarların listesi

Müstahzar İsmi	Etken Madde Miktarı (mg)	Üreten Ülkeler
ADCİRCA	20	Almanya, Fransa, ABD, Avusturya, Finlandiya, Hollanda, İngiltere, İsviçre, Norveç
CIALIS	2,5	ABD, Danimarka, Fransa, İngiltere, İsviçre, Kanada, Norveç
CIALIS	5	Almanya, İtalya, Fransa, ABD, Avusturya, Danimarka, İngiltere, İspanya, İsveç, İsviçre, Kanada, Norveç
CIALIS	10	Almanya, Belçika, İtalya, Polonya, Fransa, ABD, Avusturya, Danimarka,

CIALIS	20	Finlandiya, Hollanda, İngiltere, İspanya, İsveç, İsviçre, Kanada, Norveç, Portekiz Almanya, Belçika, İtalya, Polonya, Fransa, ABD, Avusturya, Danimarka, Finlandiya, Hollanda, İngiltere, İspanya, İsveç, İsviçre, Kanada, Norveç, Portekiz
--------	----	--

2.2. İlaçların Oral Yol İle Uygulanması

Oral yol, rahatlığı, düşük maliyeti, yutma kolaylığı ve daha az güvenlik sorunu gibi üstünlükleri nedeniyle ilaçların uygulaması için en yaygın ve tercih edilen yoldur. Özellikle ilaç kullanımını uzun süre devam ettiren hastaların ilk tercih yolu oral yoldur. Bu gibi özellikleriyle beraber, oral yol ile ilaçların uygulanmasını kısıtlayan, düşük çözünürlük ve permeabilite ile stabilite problemleri gibi bazı kısıtları da vardır (Ensign ve ark., 2012).

İlaç etken maddeleri tablet, kapsül gibi katı dozaj formu şeklinde oral olarak uygulandığında emilimden önce gastrointestinal (GI) sistemin fizyolojik sıvılarında çözünmeye uğrar. Oral olarak uygulanan ilaçlar için en önemli hız sınırlayıcı faktör etken maddelerin fizyolojik sıvılardaki çözünürlükleridir. Dolayısı ile bir ilacın terapötik etkinliği, ilaç etken maddesinin çözünürlüğüne bağlıdır. İlaç endüstrisinde geliştirilen ilaçların %40'tan fazlası ve geliştirme hattındaki ilaçların yaklaşık %90'ı zayıf çözünürlüğe sahip ilaçlardır. Suda yeterince çözünmeyen ilaçların oral uygulanmasını takiben sonrası terapötik plazma konsantrasyonlarına ulaşması için genellikle yüksek dozlar gerektirir ve bu ilaçlar için biyoyararlanım çözünme oranı ile sınırlıdır (Kanikkannan, 2018; Van der Merwe ve ark., 2020).

İlaçların suda çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle, farmasötik dozaj formunun geliştirilmesinde birçok zorluk ortaya çıkmaktadır. Bu zorlukların üstesinden gelmek için yeni teknolojilere ihtiyaç vardır.

2.3. Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS)

Amidon ve ark. (1995) tarafından önerilmiş ve FDA ve diğer otoriteler tarafından uygulanmaya konulmuş olan Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS – Biopharmaceutical Classification System), oral yol ile uygulanan ilaçların GI sıvılarındaki çözünme hızı performansı ile etken maddenin tedavide bir defa alınan miktarının GI sıvılardaki (pH 1,2-6,8) çözünürlüğü ve GI membranlardan emilimi (permeabilite) özelliklerine dayanan bilimsel bir yaklaşımdır (Amidon ve ark., 1995).

BCS yaklaşımının amacı, bir ilaç etken maddesinin GI sistemin fizyolojik koşullardaki performansını değerlendirmeye dayalıdır. Her BCS sınıfının kendine özgü özellikleri vardır ve bu nedenle belirli bir dozaj formu sınıfı için uygunluğunu ve bunun kontrollü salım için uygun olup olmadığını gösterir (Sachan ve ark., 2014).

Oral yol ile uygulanan ilaç moleküllerinin çözünürlük ve permeabilite özelliklerine dayanarak, etken maddeler BCS'ye göre Tablo 2-3'te gösterildiği gibi 4 kategoriden birine dahil edilir (Amidon ve ark., 1995).

Tablo 2-3: Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS)

BCS Sınıfı	Çözünürlük Kriteri	Permeabilite Kriteri
I	Yüksek	Yüksek
II	Düşük	Yüksek
III	Yüksek	Düşük
IV	Düşük	Düşük

BCS, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) (2000), Avrupa İlaç Ajansı (EMA) (2002) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) (2006) tarafından hızlı salım (IR) oral ilaç ürün onayı için biyoyararlanım/biyoeşdeğerlik (BY/BE) standartlarını belirlemek üzere kabul edilmiştir ve son yıllarda oral ilaç ürünü gelişimini kolaylaştırmak için oluşturulan en önemli araçlardan biridir (Dahan ve ark., 2009). BCS sistemi ile biyomufiyet uygulamaları söz konusu olabilmektedir (FDA, 2000; EMA, 2001)

2.3.1. BCS Sınıf I İlaç Molekülleri

BCS Sınıf I ilaç molekülleri, yüksek çözünürlük ve yüksek permeabilite özelliklerine sahiptir. Bu nedenle bu tür ilaçlar için BY/BE çalışmalarından muafiyet uygulaması yapılabilmektedir (FDA, 2000; EMA, 2010). Bunun için, formülasyonda ilacın emilim hızı veya oranını etkileyen yardımcı maddeler bulunmamalı (FDA), biyoyararlanımı etkileyen kritik yardımcı maddeler nitelik ve nicelik açısından aynı olmalı (EMA), ilacın emilimi ağız boşluğunda (bukkal, dilaltı) gerçekleşmemeli, ilaç dar terapötik indekse sahip olmamalıdır (Davit ve ark., 2016).

Bu sınıftaki ilaçların emiliminde hız sınırlayıcı adım çözünme veya çözünmenin çok hızlı olması durumunda hız sınırlayıcı adım mide boşalma hızıdır. Bu durumda,

çözünme hızı profili iyi tanımlanmış olmalı ve güvenli biyoyararlanım için tekrar elde edilebilir olmalıdır. Çözünme hızı gastrik boşalma hızından yavaşsa *in vitro ve in vivo* (IVIV) korelasyon kurulabilir, aksi takdirde sınırlı bir IVIV korelasyon beklenir veya hiç beklenmez (Amidon ve ark., 1995).

2.3.2. BCS Sınıf II İlaç Molekülleri

BCS Sınıf II ilaç molekülleri, düşük çözünürlük ve yüksek permeabilite özelliklerine sahiptir. Bu sınıftaki ilaçların emiliminde hız sınırlayıcı adım çok yüksek bir doz sayısı dışında *in vivo* ilaç çözünmesidir. Genellikle Sınıf II ilaçların emilimi, Sınıf I moleküllerden daha yavaştır ve daha uzun bir sürede ortaya çıkar. GI sistemde barsak lümeni içeriği ve barsak membranı değiştiğinden ve ilaçlar daha uzun süre barsak bölgesine maruz kaldığından, çözünme profili daha uzun süre olacak ve emilim uzun bir süre gerçekleşecektir. Bu sınıftaki ilaçlarda, *in vitro* çözünme *in vivo* çözünme hızına benzer ise, doz çok yüksek olmadığı sürece IVIV korelasyon kurulması beklenir (Amidon ve ark., 1995).

2.3.3. BCS Sınıf III İlaç Molekülleri

BCS Sınıf III ilaç molekülleri, yüksek çözünürlük ve düşük permeabilite özelliklerine sahiptir. BCS Sınıf I grubundaki ilaçlara benzer çözünme hızı profili gösterirler. Bu sınıftaki ilaçların emiliminde hız sınırlayıcı adım permeabilitedir. İlaç emilimi oranı ve kapsamı, bu ilaç sınıfı için oldukça değişken olabilir, ancak çözünme hızlı ise, yani 15 dakikadan daha kısa bir sürede %85 çözülürse, bu varyasyon, değişken gastrointestinal geçiş, lümen içeriği ve dozaj formu faktörlerinden ziyade membran geçirgenliğinden kaynaklanacaktır. Bu ilaç sınıfına dahil moleküller genellikle düşük biyoyararlanım gösterirler ve emilimlerinin artışı gereklidir. Çözünme hızı verileri ile absorpsiyon verileri arasında IVIV korelasyon beklenmez ya da limitli bir korelasyon beklenir (Amidon ve ark., 1995).

2.3.4. BCS Sınıf IV İlaç Molekülleri

BCS Sınıf IV ilaç molekülleri, düşük çözünürlük ve düşük permeabilite özelliklerine, zayıf biyoyararlanıma sahiptirler. Bu ilaç sınıfına dahil moleküllerin oral uygulanmasında önemli problemler ortaya çıkmaktadır. Bu sınıfa dahil moleküller

kontrollü salım preparatları için uygun değildir, nadiren geliştirilir ve pazarlanırlar. IVIV korelasyon uygulamaları sınırlıdır veya yoktur (Amidon ve ark., 1995).

2.3.5. Biyofarmasötik Sınıflandırma Sisteminde Temel Parametreler

2.3.5.1. Etken Maddenin Çözünürlüğü

Oral yolla uygulanan ilaçların çözünürlüğü, beklenen farmakolojik yanıtın sağlanması ve sistemik dolaşımında gerekli ilaç konsantrasyonunun sağlanması için önemli parametrelerden biridir (Savjani ve ark., 2012). EMA (2010) ve FDA (2017) kılavuzlarına göre, bir ilaç etken maddesinin, tedavide bir defada alınacak en yüksek tedavi dozunun $37\pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklıkta, 250 ml (hastanın ilaçla beraber alacağı 1 bardak su hacmi) pH 1,0-6,8 aralığındaki tampon çözeltilerde veya daha az sulu ortamda tamamen çözünüyorsa, ilacın çözünürlüğü yüksek kabul edilmektedir. Aksi taktirde, ilaç düşük çözünürlüklü ilaç olarak tanımlanır (EMA, 2010; FDA, 2017). ABD Farmakopesi (USP) ve İngiliz Farmakopesi (BP), çözünürlüğü kullanılan çözücüden bağımsız olarak, yalnızca nicel olarak, Tablo 2-4'te olduğu gibi tanımlamaktadır.

Tablo 2-4: USP ve BP çözünürlük kriterleri

Tanımlayıcı Terim	1 birim çözünen madde için gerekli çözücü parçaları
Çok çözünür	1'den az
Serbestçe çözünür	1-10
Çözünür	10-30
İdareli çözünür	30-100
Biraz çözünür	100-1000
Çok az çözünür	1000-10000
Pratik olarak çözünmez	10000 ve üzeri

2.3.5.2. Etken Maddenin Emilimi (Permeabilitesi)

Yüksek emilim kriteri, intestinal membrandan geçen ilaç miktarı ile ilişkilidir. Bir ilaç maddesinin uygulanan dozunun %85'i veya daha fazlasının emilmesi

durumunda ve ilacın GI kanalda stabil olmadığına dair bir kanıt yok ise, bu ilacın yüksek permeabiliteye sahip olduğu kabul edilmektedir (EMA., 2020)

2.4. Düşük Çözünürlüğe Sahip Etken Maddelerin Çözünürlüğünü Arttırma Yaklaşımları

İlaçların GI sistemden emiliminde hız sınırlayıcı adım, genellikle dozaj formundan etken maddenin salımı ve fizyolojik sıvılardaki çözünme karakteristiğidir. Sudaki çözünürlüğü 100 µg/ml'nin altında olan ilaçlar, genellikle absorpsiyon için çözünme sınırlamaları gösterir (Hörter ve Dressman, 2001). Yeni ilaç moleküllerinin yaklaşık %70-90'ı düşük çözünürlük sorununa sahiptir. BCS'ye göre, bu bileşikler BCS Sınıf II (%70) ve BCS Sınıf IV'e (%20) aittir (Müller ve Keck, 2012).

Suda düşük çözünürlüğe sahip olan ilaç molekülleri, düşük biyoyararlanım, hasta uyuncunun düşük olması, açlık tokluk varyasyonu, doz-cevap orantısallığının bozulması, yardımcı maddelerin kullanım gerekliliği, uygun olmayan dozlama, dozlamadan sonra kontrol edilemeyen çökme, çözünürlüğü arttırmak için aşırı bazik veya asidik ortam kullanılması gibi sorunlara neden olabilmektedir (Merisko-Liversidge ve Liversidge, 2008).

Sudaki çözünürlüğü düşük olan ilaç moleküllerinin çözünürlüğünü ve böylece oral biyoyararlanımı arttırmak için çeşitli yaklaşımlar uygulanmaktadır. En sıklıkla kullanılan yöntemler ilaç molekülü üzerinde fiziksel ve kimyasal modifikasyonların yapılması yanında uygulanabilen diğer yöntemler olarak Tablo 2-5'te verildiği gibi sınıflandırılabilir (Savjani ve ark., 2012).

Tablo 2-5: Etken maddelerin çözünürlüğünün arttırılmasında uygulanan yöntemler

Fiziksel Modifikasyonlar	Kimyasal Modifikasyonlar	Diğer Yöntemler
Partikül boyutu küçültme (Mikronizasyon, Nanosüspansiyon hazırlama)	Tampon kullanımı pH değişimi Tuz oluşumu	Süper kritik akışkan işlemi Yüzey etken maddelerle çözündürme
Kristal mühendisliği Polimorf farmasyonu Katı dispersiyon hazırlanması Kriyojenik teknikler	Kompleksleştirme	Hidrotrofi

Ancak, yukarıda belirtilen yöntemler her zaman çözünürlüğü düşük ilaç moleküllerini çözünür hale getirmeye yetmiyor olması, sınırlı sayıda etken madde için uygulanabilmesi, uzun zaman gerektirmesi, özel ekipman kullanılması, seyreltme aşamasında çökme riskinin olması, aşırı pH kullanımıyla lokal ve sistemik toksisite olması, katı dozaj formu geliştirilmesi açısından teknik zorluk teşkil etmesi gibi dezavantajlara sahiptirler (Jagtap ve ark., 2018). Bu nedenlerden dolayı, son yıllarda yeni bir teknoloji olarak lipit yapılı ilaç taşıyıcı sistemlerin LBDDS'in geliştirilmesi araştırmacıların ilgisini çekmiştir.

2.5. Lipit Yapılı İlaç Taşıyıcı Sistemler Hakkında Genel Bilgiler

Lipit yapılı ilaç taşıyıcı sistemler (LBDDS – Lipid Based Drug Delivery Systems), sudaki çözünürlüğü düşük ilaçların çözünürlük ve biyoyararlanım sorunu gibi zorlukların üstesinden gelinmesi için son yıllarda kullanılan yenilikçi yaklaşımlardan birisidir. Bu formülasyonlar, çeşitli ürün gereksinimlerini karşılamak için uygulama yoluna, hastalık endikasyonuna, maliyet değerlendirmesine, ürün stabilitesine, toksisite ve etkililiğine göre çeşitli şekillerde nitelendirilir (Shrestha ve ark., 2014).

Bu sistemler hidrofobik ilaçların yüklenebilmesi için damlacık yapısında lipit barındıran ve böylece çözünürlüklerinin artırılmasında umut vaat eden sistemlerdir. Katı lipit partiküller (SLN), emülsiyonlar, lipozomlar, nano yapılı lipit taşıyıcılar (NLC) ve lipit formülasyon sınıflandırma sistemi içeriğine dahil sistemler bu grubun içerisine dahil olan taşıyıcı sistemlerden birkaçıdır (Khalkhali ve ark., 2019).

2.5.1. Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemi (LFCS) Tanımı ve Özellikleri

Lipit yapılı formülasyonları hazırlamak için çok çeşitli yardımcı maddelerin olması nedeniyle, 2000 yılında Pouton tarafından Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemi (Lipid Formulation Classification System – LFCS), çalışma modeli olarak oluşturulmuş (Pouton, 2000) ve bu sisteme 2006 yılında yeni bir Tip eklenerek güncellenmiştir.

LFCS'lerin temel amacı, *in vivo* çalışmaların daha kolay bir şekilde yorumlanmasını sağlamak ve daha sonra spesifik ilaçlar için en uygun formülasyonların tanımlanmasını kolaylaştırmaktır (Shrestha ve ark., 2014).

Lipit yapılı formülasyonlar ile uygulanan ilaçların absorpsiyonu, emülsifikasyon derecesi, partikül boyutu ve dispersiyon hızı gibi faktörlere bağlıdır. Yardımcı maddelerin tipine ve formülasyon değişkenlerine bağlı olarak yağlar, yüzey etken maddeler ve yardımcı yüzey etken maddeler kullanılarak çeşitli özellikte lipit yapıli sistemler oluşturulabilir. Daha sonra bu sistemler çeşitli tekniklerle katı dozaj şekillerine dönüştürülebilir, sert jelatin kapsüllere doldurulabilir veya yardımcı maddeler kullanılarak tablet haline getirilebilir (Kalepu ve ark., 2013).

Oral uygulamaya yönelik ideal bir lipit yapıli dozaj formunun bir dizi gerekliliği karşılaması beklendir (Cannon, 2011):

- İlacın terapötik miktarlarını dozaj formunda çözmelidir.
- İlaç ürününün tüm raf ömrü boyunca (genellikle 2 yıl) tüm beklenen saklama koşulları altında yeterli ilaç çözünürlüğünü korumalıdır.
- İlaç ve formülasyon bileşenleri için yeterli kimyasal ve fiziksel stabilite sağlamalıdır.
- İlacı, hücrelere ve sistemik dolaşıma absorpsiyonu optimize edilecek şekilde bağırsak mukozal hücrelerine sunmalıdır.
- Yutulduğunda, dozaj formunun bağırsak ortamında dağılımını kolaylaştırmalı ve dağılmış formda ilaç çözünürlüğünü muhafaza etmelidir.
- Güvenli miktarlarda onaylı yardımcı maddelerden oluşmalıdır.
- Sindirimin ilaç çözünürlüğünü arttırması veya sürdürmesi için GI sisteminin sindirim süreçlerine uyum sağlamalıdır.

LFCS'ye göre lipit yapıli formülasyonlar, bileşimlerine, seyreltme ve sindirimin ilaç çökmesini önleme yetenekleri üzerindeki olası etkisine göre, Tip I, Tip II, Tip III (Tip IIIA ve Tip IIIB) ve Tip IV olmak üzere 4 kategoriye ayrılmaktadır (Pouton ve Porter, 2008; Porter ve ark., 2008) (Tablo 2-6).

Tablo 2-6: Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemi (Čerpňjak ve ark., 2013)

	Tip I	Tip II	Tip IIIA	Tip IIIB	Tip IV
Trigliseridler veya Gliserid Karışımı	%100	%40-80	%40-80	<%20	0
Suda Çözünmeyen Yüzeysel Madde (HLB<12)	–	%20-60	–	–	%0-20
Suda Çözünür Yüzeysel Madde (HLB>12)	–	–	%20-40	%20-50	%30-80
Hidrofilik Yardımcı Yüzeysel maddeler	–	–	%0-40	%20-50	%0-50
Damlacık Boyutu (nm)	Kaba	100-250	100-250	50-100	<50
Karakteristik Özellikleri	Basit yağ çözeltisi	Kendi kendine emülsifiye etme yeteneği	Kendi kendine emülsifiye etme yeteneği	Kendi kendine mikroemülsifiye etme yeteneği	Misel dispersiyonunun kendiliğinden oluşumu
Avantajları	Kapsül uyumluluğu	Dispersiyonda düşük çözücü kapasitesini kaybetme olasılığı	Berrak dispersiyon oluşumu;	Şeffaf dispersiyon oluşumu;	Birçok ilaç için iyi çözücü kapasitesi
Dezavantajları	İlaç yüksek oranda lipofilik olmadığı sürece formülasyonun zayıf çözücü kapasitesine sahiptir	Bulanık yağ/su dağılımı	Dispersiyonda yüksek çözücü kapasitesini kaybetme olasılığı; daha az sindirilir	Kısmi ilaç çökmesine neden olabilir; daha az sindirilir	Dispersiyonda çözücü kapasitesi kaybı; sindirim olmayabilir

Porter ve arkadaşlarının (2008) değerlendirmesine göre, lipit yapılı formülasyonların tasarımı için yedi temel yaklaşımın dikkate alınması önerilmektedir:

1. Formülasyonda, midede dağılım, bağırsakta sindirimden sonra ilaç çözünürlüğünü korumak kritiktir.
2. Formülasyon işleminden sonra mide ve bağırsakta oluşan koloidal yapının özellikleri, absorpsiyonu arttırmada formülasyonun kendi özelliklerinden daha önemlidir.
3. Daha yüksek miktarlarda uzun zincirli lipitler (>%60), daha düşük miktarlarda yüzey etken madde (<%30) ve yardımcı yüzey etken maddeler (>%10) daha iyi ilaç çözündürme özelliği sağlar.
4. Orta zincirli trigliseritler, formülasyonda daha fazla ilaç çözünürlüğü ve stabilitesi sağlayabilir. Uzun zincirli trigliseritler, safra tuzlu lipit koloidal yapıların daha verimli oluşumunu kolaylaştırır ve dolayısıyla daha yüksek biyoyararlanım sağlayabilir.
5. Daha yüksek yüzey etken madde oranlarını içeren kendi kendine mikroemülsifiye edici formülasyonlar (Tip IIIB – SMEDDS formülasyonları), dağılım üzerinde küçük damlacık boyutu sağlar, ancak kullanılan yüzey etken madde özelliklerine daha bağımlıdırlar. Bu koşullar altında, sindirilebilirliği yüksek miktarlarda olan yüzey etken madde içeren formülasyonların *in vivo* performansı, sindirilebilirliği daha az olan yüzey etken madde içeren benzer formülasyonlarla karşılaştırıldığında azaltılabilir.
6. Tek bir yüzey etken madde içeren Tip IV formülasyonlarının dağılımı yavaştır, ancak formülasyona ikincil bir ortak yüzey etken maddenin dahil edilmesi dağılımı iyi yönde etkiler.
7. Tip IV formülasyonlar, içinde bulunan yüzey etken maddeler ve yardımcı yüzey etken maddeler sayesinde yüksek çözünürlük sağlayabilir, ancak yüksek miktarlarda yağ asidi esterli yüzey etken maddeler içeren formülasyonlar, yüzey etken madde sindiriminde ilacın çökmesine yol açabilir.

2.5.2. Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemlerinin Avantaj ve Dezavantajları

Lipit formülasyon sınıflandırma sistemine (LFCS) giren formülasyonlar bir sıra farmasötik ve ticari avantajlar sağlar (Attama ve ark., 2012; Constantinides ve Wasan, 2007; Feeney ve ark., 2016; Shrestha ve ark., 2014). Bu avantajları şu şekilde sıralamak mümkündür;

- Üretimleri ucuz ve kolaydır.
- Biyoyararlanımı arttırmırlar.
- Mide bağırsak sisteminde absorpsiyonu arttırmırlar.
- Daha az yan etkiye sebep olurlar (toksik, alerjen ve tahrişedici değildir).
- Yüksek ve geliştirilmiş ilaç içeriğine sahiptirler.
- Kontrollü ve hedefe yönelik ilaç salımı sağlarlar.
- Farmasötik stabiliteni sağlayabilirler.
- Su yapılı teknolojilerle formüle edilebilirler, böylece organik çözücülerin kullanılması önlenebilir.
- Oral, parenteral, oküler, intranasal, dermal/transdermal ve vajinal gibi yollarla uygulanabilir.
- Sıvı ve katı dozaj şeklinde üretilebilirler.
- Zor çevresel koşullara karşı ilaç korumasına sahiptirler.
- P-glikoproteinleri (Pgp) ve diğer effluks taşıyıcıları inhibe etmekle bağırsak ilaç geçirgenliğini arttırmırlar.
- Lipoprotein seviyelerini artırır ve yüksek düzeyde lipofilik ilaçlar için plazma lipoproteinleri ile ilaç ilişkisini artırarak, metabolizmanın hepatik bölgelerine erişimi azaltırlar.
- Hem lipofilik hem de hidrofilik ilaçları taşıma fizibilitesine sahiptirler.
- Biyolojik olarak parçalanabilir ve biyolojik olarak uyumludurlar.

LFCS'lerin her taşıyıcı sisteminde olduğu gibi bazı dezavantajları da vardır (Ghasemiyeh ve Mohammadi-Samani, 2018; Kanikkannan, 2018; Radha ve ark., 2019). Bu dezavantajları da şu şekilde sıralamak mümkündür:

- Mükemmel kristal yapıları nedeniyle düşük ilaç yükleme verimliliğine sahiptirler.

- Dikkate alınması gereken çok sayıda değişken nedeniyle formüle edilmesi daha karmaşıktır.
- Seyreltme sırasında GI sıvılarında formülasyon sisteminden aktif çökelmeye uğrarlar.
- Kullanılan yardımcı yüzey etken maddeler, yumuşak veya sert jelatin kapsülden sızabilir. Sonuç olarak, bu durum lipofilik özelliğe sahip etken maddenin formülasyonda çökmesine neden olabilir.
- Formülasyon sistemlerini karakterize etmek için yeteri kadar in vitro model bulunmamaktadır.
- Doymamış yağ asitlerinin varlığından dolayı, lipid yardımcı maddeler oksidasyona karşı hassastırlar.

2.6. Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemlerinde SEDDS/SMEDDS/SNEDDS Karşılaştırılması

Suda çözünürlüğü zayıf ilaçların çözünürlüğünü, çözünme hızı ve biyoyararlanımını arttırması için lipit yapılı ilaç taşıyıcı sistemler arasında yer alan kendiliğinden emülsifiye olabilen ilaç taşıyıcı sistemler (SEDDS) oldukça etkilidir. Bu lipit yapılı sistemler, yağların, yüzey etken maddenin, yardımcı yüzey etken maddelerin ve/veya yardımcı çözücülerin izotropik karışımlarından oluşur (Kazi ve ark., 2020). Çeşitli dozaj formları şeklinde uygulanabilmeleri, etken maddelerin çözünürlüğünü iyileştirme yeteneği ile doz azaltmasına imkan sağlamaları, üretimlerinin kolay olması, GI sistemde ilaç etken maddelerinin korunması gibi sahip oldukları avantajları nedeniyle son yıllarda fazla ilgi çekmektedirler (Baghel ve ark., 2020).

SEDDS, tipik olarak birkaç nanometreden birkaç mikrona kadar değişen damlacık boyutuna sahip, hafif çalkalama ve ardından sulu ortam ile seyreltiklerinde ince su içinde yağ emülsiyon oluşturabilen sistemleri içinde barındıran geniş bir terimdir (Mahapatra ve ark., 2014). SEDDS'ler, hem kendiliğinden mikron boyutundaki emülsifiye olabilen ilaç taşıyıcı sistemleri (SMEDDS), hem de kendiliğinden nano boyuttaki emülsifiye olabilen ilaç taşıyıcı sistemleri (SNEDDS) içerir. Bu sistemler arasındaki farklar Tablo 2-7'de gösterilmiştir (Čerpnjak ve ark., 2013).

Tablo 2-7: SEDDS, SNEDDS ve SMEDDS arasındaki farklar

	SEDDS	SNEDDS	SMEDDS
İçerik	İlaç bileşiği, yüzey etken madde (HLB<12; %30-40) ve yağ (%40-80) içerir	İlaç bileşiği, yüzey etken madde (HLB>12; %40-80), yardımcı yüzey etken madde, yağ (<%20) ve hidrofilik çözücülerden oluşur	İlaç bileşiği, yüzey etken madde (HLB>12; %40-80), yardımcı yüzey etken madde, yağ (<%20) ve isteğe bağlı olarak hidrofilik yardımcı çözücülerden oluşur
Görünüm	Bulanık	Optik olarak temiz	Optik olarak temiz
Boyut	>300 nm	<100 nm	<250 nm
LFCS'e Sınıflandırma	Göre Tip II	Tip IIIB	Tip IIIB
Formülasyon Tekniği	SEDDS'nin geliştirilmesi/optimizasyonu, üçlü faz diyagramlarının geliştirilmesini gerektirebilir	SNEDDS hazırlama teknikleri tam olarak tanımlanmamıştır, ancak önceden seçilmiş bileşen kombinasyonlarının karıştırılma sırası tanımlanmıştır.	SMEDDS'i optimize etmek için sözde üçlü faz diyagramları gereklidir
Dağılımın Stabilitesi	Termodinamik olarak stabil değildir	Kinetik olarak stabildir	Termodinamik olarak stabil
Çözücü Kapasitesi	Yüksek çözücü ve yüksek dağıtıcı kapasitesine sahiptir		

2.6.1. Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemlerinde Kullanılan Yardımcı Maddeler

SEDDS, iyonik olmayan doğal veya sentetik yağların, yüzey etken maddenin, yardımcı yüzey etken maddenin ve/veya bir veya daha fazla hidrofilik çözücü ve yardımcı çözücünün izotropik karışımları olarak tanımlanan bir lipit yapılı formülasyon türüdür (Kazi ve ark., 2020). Hidrofilik çözücüler dispersiyonu arttırmak ve daha iyi çözücü kapasitesi sağlamak için kullanılırken, yardımcı çözücüler formülasyonun viskozitesini düşürmek ve dispersiyon sağlamak için kullanılır (Pouton, 2006). Kullanılacak yardımcı madde seçimi dispersiyon özelliklerini, etken madde yüklenmesini, etken madde çözünürlüğünü ve daha da önemlisi stabiliteyi etkilemektedir. Ayrıca yardımcı maddeler biyoyararlanımı önemli ölçüde etkileyebildiği

için yardımcı maddelerin farmakokinetik özellikleri dikkate alınmalıdır (Radha ve ark., 2019).

2.6.1.1. Lipitler

Kendiliğinden emülsifiye eden sistemlerde yağ fazının işlevi hidrofobik ilacı çözündürmek ve GI kanalındaki geçişi boyunca çözülmüş halde tutmaktır (Kollipara ve Gandhi, 2014). Yağ fazı genellikle uzun zincirli ve/veya orta zincirli yağ asitlerinden oluşan trigliseritler veya karışık gliseritlerden (mono-, di- ve trigliseritlerin bir karışımı) oluşur. Lipit yapılı ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan en yaygın yardımcı maddeler trigliserit bitkisel yağlardır. Bu yağlar tamamen sindirildikleri ve kolayca emildikleri için herhangi bir güvenlik sorunu da yaratmazlar (Pouton ve Porter, 2008).

Bu lipit yapılı sistemleri formüle etmek için, kısa, orta ve uzun zincirli trigliseritler mevcuttur. Orta zincirli trigliseritler (yağ asidi zincirlerinde 612 karbon) uzun zincirli trigliseritlerden (yağ asidi zincirlerinde 1420 karbon) daha hızlı sindirilebilir olduğu için kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemlerde daha çok tercih edilir. Ayrıca, orta zincirli trigliseritlerin yüksek çözücü kapasitesinden dolayı ilaç maksimum ölçüde çözüldürülmüş olarak bulunur. Buna karşıt, zayıf çözücü kapasitesinden dolayı kısa zincirli trigliseritler, büyük ölçüde ilaç çökmesine neden olabilir (Radha ve ark., 2019).

2.6.1.2. Yüzey Etken Maddeler (Sümfaktanlar)

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler, yağlı ilaç taşıyıcı arasına ek olarak nispeten büyük miktarda yüzey etken maddenin dahil olmasını gerektirir. Yüzey etken maddeler arayüzey filmi oluşturur ve arayüzey gerilimini küçük bir değere düşürerek dispersiyon işlemini kolaylaştırır. Yüzey etken madde seçiminde HLB değeri ve yüzey etken madde konsantrasyonu önemlidir. HLB değerlerine göre, yüzey etken maddeler lipofilik (HLB<10) veya hidrofilik (HLB>10) olarak kategorize edilirler. Etkili bir performans için, formülasyonda kullanılan emülgatör, sulu ortamda hızlı dispersiyon ile küçük yağ/su damlacıklarının oluşumuna yardımcı olan 12'den daha yüksek HLB değerine sahip olmalıdır. Genel olarak, daha yüksek HLB değerine sahip iyonik olmayan yüzey etken maddeler, iyonik yüzey etken maddelerden daha az toksik oldukları için formülasyon sistemlerinin tasarımında tercih edilir (Dokania ve Joshi, 2015).

Oral uygulama için çok az sürfaktan kabul edilebilir olduğu için sürfaktan seçimi sınırlıdır. Büyük miktarda yüzey etken madde bağırsak duvarı geçirgenliğinde orta derecede geri dönüşümlü değişikliklere neden olabilir veya GI geçiş yolunu tahriş edebilir. Bu yüzden kullanılacak yüzey etken maddenin konsantrasyonu ve GI mukoza üzerindeki formülasyon etkisi araştırılmalıdır (Thakare ve ark., 2016). Mide tahrişini önlemek için mümkün olan en düşük yüzey etken madde konsantrasyonu kullanılmalıdır. Sürfaktan konsantrasyonunun, emülsiyonun damlacık boyutu üzerinde çeşitli etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Sürfaktan konsantrasyonundaki artış, yağ-su arayüzünde sürfaktan moleküllerinin stabilizasyonu ile ilişkili damlacık boyutunda bir azalmaya neden olmaktadır (Čerpnjak ve ark., 2013). Dayanıklı bir SEDDS oluşturmak için kullanılacak sürfaktan konsantrasyonu %30 ile %60 (a/a) arasındadır (Maurya ve ark., 2017).

Bir yüzey etken madde seçerken en önemli bir belirleyici faktör güvenlidir. Buna uygun olarak, polietoksile lipit türevleri gibi noniyonik yüzey etken maddeler en çok tavsiye edilen ve kullanılanlardır. Bu yüzey etken maddeler, ester bağı (yağ asitleri ve gliseritler) ve eter bağı (alkoller) yoluyla belirli sayıda tekrar eden polietilen oksit birimine bağlanan yağ asitleri, alkoller veya gliseritlerden oluşabilir. Polietilen grupları hidrofilik özellikler sağlar (Cannon, 2011). Ayrıca doğal kaynaklı yüzey etken maddeler sentetik yüzey etken maddelerden daha güvenli oldukları için daha çok tercih edilmektedir (Čerpnjak ve ark., 2013).

2.6.1.3. Yardımcı Yüzey Etken Maddeler (Ko-sürfaktanlar)

Yüzey etken madde içeriği yüksek olduğunda (örneğin %40 veya daha fazla) dayanıklı dağılım sağlamak (damlacık büyüklüğü<100 nm) ve daha etkili sistem oluşturmak için formülasyona yardımcı yüzey etken madde de eklenir. Yardımcı yüzey etken madde kullanılmasının en büyük nedeni $2 < \log P < 4$ değere sahip olan etken maddeler için formülasyonun çözücü kapasitesini arttırmaktır (Pouton, 2000). Ancak, yardımcı yüzey etken maddeler su ile nanoemülsiyon şekline döneceğinden ilacın çökmesine neden olabilmektedir (Pouton ve Porter, 2008). Genellikle SEDDS formülasyon oluşturmak için HLB değeri 10-14 olan yardımcı yüzey etken maddeler kullanılır. SEDDS'e ilaç yüklemesini artırmak ve yağ-su arayüzey gerilimini azaltmak için etanol, PG, PEG, Transcutol gibi yardımcı yüzey etken maddeler kullanılabilir (Maurya ve ark., 2017).

2.7. Tez Çalışmasında Formülasyon Geliştirilmesinde Kullanılan Yardımcı Maddeler Hakkında Genel Bilgiler

Tip IV lipit yapıları formülasyonları geliştirirken, saf yüzey etken maddeler veya yüzey etken maddeler ile yardımcı yüzey etken maddelerin karışımları kullanılır. Bu formülasyonlar sulu ortam ile seyreltildiğinde koloidal misel dispersiyon oluşturan sistemlerdir (Pouton ve Porter, 2008).

2.7.1. Yardımcı Yüzey Etken Maddeler

2.7.1.1. Transcutol HP

Yüksek oranda (%99,9) saflaştırılmış dietilen glikol monoetil eterden oluşmaktadır. Çözünürlük ve biyoyararlanımı arttırmak için çok iyi bir çözüdürücüdür. Oral uygulanan bazı ilaç ürünlerinde, kozmetik ve dermatolojik preparatlarda emilimi arttırmak için de kullanılmaktadır. LFCS Tip III (SMEDDS) ve Tip IV (misel solüsyonları) formülasyonlarında yardımcı yüzey etken madde olarak kullanılır. Görünümü renksiz sıvı şeklindedir. HLB değeri uygulanamaz (Gattefosse, 2020).

2.7.2. Yüzey Etken Maddeler

2.7.2.1. Labrasol

Avrupa Farmakopesi'ne göre kimyasal adı Caprylocaproyl makrogol-8 glycerides, Amerikan Farmakopesine göre ise Caprylocaproyl polyoxyl-8 glycerides olarak geçmektedir. Suda çözünürlüğü zayıf olan ilaç etken maddelerini çözüdürmek ve oral biyoyararlanımını arttırmak için lipit yapıları formülasyonların hazırlanmasında kullanılan iyonik olmayan, suda dağılıbilir bir yüzey etken maddedir. Aynı zamanda topikal preparatlar için geçirgenlik artırıcı olarak kullanılır. Görünümü renksiz sıvı şeklindedir. HLB değeri 12'dir (Gattefosse, 2020).

2.7.2.2. Gelucire Türevleri

Gelucire, polietilen glikolün (PEG) yağ asidi esterlerinin bileşimlerinden dolayı hidrofilik ve hidrofobik özelliklere sahip olan lipit yapıları, amfifilik yardımcı maddelerdir. Oral uygulamalar için sulu fazlarla temas ettiğinde kendi kendine emülsifiye edici özelliklere sahip, yarı katı ila katı polioksigliserid ailesidir. Suda düşük

çözünürlüklü ilaçların (özellikle BCS II ve IV) suda çözünürlüğü ve biyoyararlanımını arttırmak için kullanılır (Gattefosse, 2020).

Gelucire 44/14

Avrupa Farmakopesi'ne göre kimyasal adı lauroyl macrogol-32 glycerides, Amerikan Farmakopesine göre ise lauroyl polyoxyl-32 glycerides olarak geçmektedir. Serbest PEG (%8), PEG esterleri (%72) ve PEG 32'in mono-, di-, ve trigliseridlerinden (%20) oluşmaktadır. Noniyonik, suda dağılabilen, hafif kokulu, beyaz yarı katı mumsu, erime noktası 44°C olan yüzey etken maddedir. HLB değeri 11'dir (Gattefosse, 2020).

Gelucire 48/16

Amerikan Farmakopesi'ne göre polyethylene glycol monostearate olarak geçmektedir. Serbest PEG ve PEG 32 esterlerinden oluşmaktadır. Suda çözünebilen, soluk kokulu, beyaz katı mumsu pelletler şeklindedir. Erime noktası 48 °C olan, farklı tipteki lipid yapıları formülasyonlarda kullanılan yüzey etken maddedir. HLB değeri 12'dir (Gattefosse, 2020).

2.7.2.3. Polisorbat Türevleri (Kolliphor PS)

Polisorbatlar, bazı farmasötiklerde ve gıda hazırlanmasında kullanılan bir emülgatör sınıfıdır. Polietoksile sorbitan ve stearik veya oleik asitten türetilen iyonik olmayan yüzey etken maddeler ve emülgatörlerdir. Polisorbatlar ürünün HLB değerine bağlı olarak farmasötik uygulama için bir çözüldürücü, emülgatör veya süspansiyon stabilizatörü olarak kullanılır. Bütün Kolliphor® PS sınıfları bitkisel ve sentetik hammaddelere dayalıdır (BASF, 2020).

Kolliphor PS 20

Avrupa ve Amerikan Farmakope'lerine göre kimyasal adı polysorbate 20 olarak geçmektedir. Görünümü yağlı, hafif kokulu, açık sarı ila kahverengimsi sarımsı, berrak veya hafif opak bir sıvıdır. HLB değeri 16,7'dir (BASF, 2020).

Kolliphor PS 60

Avrupa ve Amerikan Farmakope'lerine göre kimyasal adı polysorbate 60 olarak geçmektedir. Sarımsı, kahverengi jelatinimsi bir kütledir ve 25°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda berrak bir sıvı halini alır. HLB değeri 14,9'dur (BASF, 2020).

Kolliphor PS 80

Avrupa ve Amerikan Farmakope'lerine göre kimyasal adı polysorbate 80 olarak geçmektedir. Yağlı, renksiz veya kahverengimsi sarı, berrak veya hafif opak bir sıvıdır. HLB değeri 15'tir (BASF, 2020).

2.7.2.4. Polisorbat Türevleri (Kolliphor CS türevleri)

Setil (C16) ve stearyl (C18) alkollerin etoksilasyonu ile hazırlanır. Farmasötik suda-yağ emülsiyonları için yumuşak, iyonik olmayan bir emülgatör olarak kullanılır. Asidik, bazik ve iyonik yardımcı maddelerle stabildirler. Sıcak işlemler ve faz çevirme teknolojisi için uygundur (BASF, 2020).

Kolliphor CS 12

Avrupa Farmakopesi'ne göre kimyasal adı *Macrogol Cetostearyl Ether 12* olarak geçmektedir. Kimyasal yapısının hidrofilik kısmını oluşturan 12 etoksi grubuna sahiptir. Hafif bir kokusu olan, beyaz veya soluk sarı renkli, mum-benzeri pellet şeklindedir. HLB değeri 13'tür (BASF, 2020).

Kolliphor CS 20

Avrupa Farmakopesi'ne göre kimyasal adı *Macrogol Cetostearyl Ether 20*, Amerikan Farmakopesi'ne göre ise *Polyoxyl 20 Cetostearyl Ether* olarak geçmektedir. Kimyasal yapısının hidrofilik kısmını oluşturan 20 etoksi grubuna sahiptir. Hafif bir kokusu olan, beyaz veya soluk sarı renkli, mum-benzeri pellet şeklindedirler. Erime noktası 39-41°C'dir. HLB değeri 15'tir (BASF, 2020).

2.7.2.5. Diğer Kolliphor Türevleri**Kolliphor HS 15**

Avrupa Farmakopesi'ne göre kimyasal adı *Macrogol 15 Hydroxystearate*, Amerikan Farmakopesi'ne göre ise *Polyoxyl 15 Hydroxystearate* olarak geçmektedir.

Oral ve parenteral uygulamalar için düşük toksisiteye sahip noniyonik çözüldürücüdür. Oda sıcaklığında (25-30°C) sarımsı beyaz bir macundur. HLB değeri 15'tir (BASF, 2020)

Kolliphor EL

Avrupa Farmakopesi'ne göre kimyasal adı *Macrogolglycerol Ricinoleate 35*, Amerikan Farmakopesi'ne göre ise *Polyoxyl 35 Castor Oil* olarak geçmektedir. Hint yağının etilen oksit ile 1:35 molar oranında reaksiyona sokulmasıyla yapılmaktadır. Suda çözünmeyen aktif maddeler ve hidrofobik bileşiklerin yarı katı ve sıvı formülasyonlarının üretimi için noniyonik bir çözücü ve emülgatördür. Hafif ama karakteristik bir kokusu olan, 26°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda berraklaşan soluk sarı yağlı bir sıvıdır. HLB değeri 13,5'tir (BASF, 2020).

Kolliphor ELP

Kolliphor ELP özellikle hassas aktif bileşenler için saflaştırılmış bir Kolliphor EL'dir. Avrupa Farmakopesi'ne göre kimyasal adı *Macrogolglycerol Ricinoleate 35*, Amerikan Farmakopesi'ne göre ise *Polyoxyl 35 Castor Oil* olarak geçmektedir. Kolliphor ELP Kolliphor EL gibi hint yağının etilen oksit ile 1:35 molar oranında reaksiyona sokulmasıyla yapılan noniyonik bir çözüldürücü ve suda yağ emülgatördür. Erime noktası yaklaşık 4°C olan, beyaz ila sarımsı bir hamur veya bulanık bir sıvıdır. HLB değeri 12-14'tür (BASF, 2020).

Kollisolv PEG 400

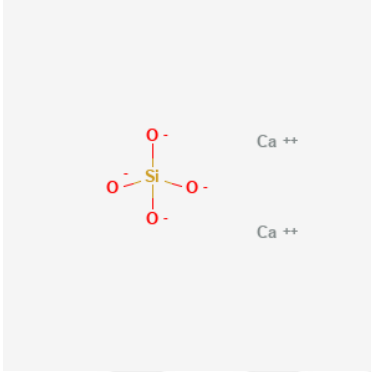
Avrupa Farmakopesi'ne göre kimyasal adı *Macrogols*, Amerikan Farmakopesi'ne göre ise *Polyethylene Glycol* olarak geçmektedir. Topikal, oral, parenteral, oftalmik ve rektal dozaj formları gibi farmasötik preparatların formülasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Suda kolayca çözünemeyen bir sıra madde için iyi bir çözücüdür. Oda sıcaklığında renksiz, kokusuz ve tatsız bir sıvıdır. HLB değeri 12'dir (BASF, 2020).

2.7.3. Katı Taşıyıcılar (Adsorbanlar)

2.7.3.1. Florite R

Kapalı Formülü: CaSiO_3

Açık Formülü:



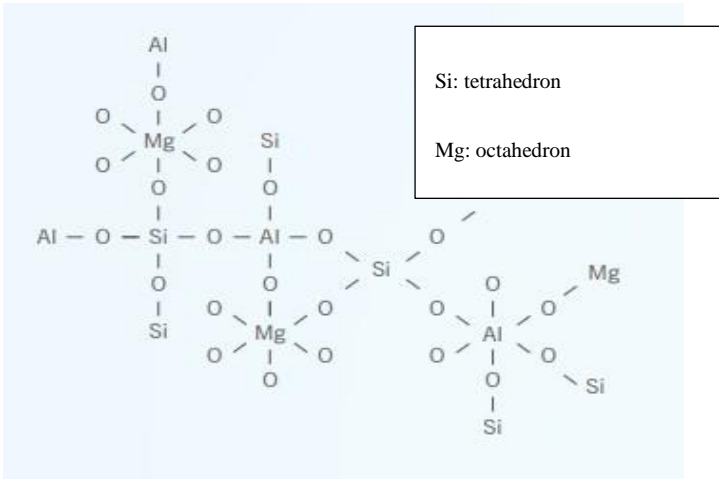
Şekil 2-2: Florite R'in kimyasal yapısı (PubChem SID 134979820)

Olağanüstü sıvı emiciliği ve mükemmel şekillendirilebilirliği olan sentetik Kalsiyum Silikattır . Kokusuz ve beyaz tozudur. Diğer kalsiyum silikatlara kıyasla benzersiz bir petaloid kristal yapısı ve makro gözenekleri sayesinde yüksek su ve yağ adsorpsiyon kapasitesine sahiptir (Tomita Pharmaceutical, 2017).

2.7.3.2. Neusilin

Kapalı Formülü: $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{MgO} \cdot 1.7\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$

Açık Formülü:



Şekil 2-3: Neusilin'in kimyasal yapısı (Fuji Chemical, 2020)

Neusilin, ince toz (Neusilin UFL2) veya granül (Neusilin US2) formunda Magnezyum Aluminometasilikattır. Amorfur, çok geniş özgül yüzey alanına, yüksek yağ ve su emme kapasitesine sahiptir. Isıya karşı dayanıklıdır, mükemmel sıkıştırma, kalıplama özelliğine ve uzun bir raf ömrüne (üretim tarihinden itibaren 3 yıldır) sahiptir. Neusilin ile bileşim, neme duyarlı ve lipofilik etken maddelerin kararlı hale getirilmesinde yardımcı olur. Katı dozaj formlarının hem doğrudan sıkıştırılmasında hem de ıslak granülasyonunda kullanılabilen çok işlevli bir yardımcı maddedir. Neusilin, kendi kendine mikro emülsifiye edici ilaç dağıtım sistemi (SMEDDS) ve sıcakta eritme ike ekstrüzyon yoluyla katı dispersiyon hazırlanması için mükemmel bir taşıyıcıdır (Fuji Chemical, 2020).

2.7.3.3. Syloid XDP

Syloid XDP silikalar birçok farmasötik formülasyon için kullanılan yüksek saflıkta (%99,6) amorf silikon dioksittir. Kokusuz ve beyaz tozdur. Syloid XDP mezogözenekliliği sayesinde maksimum miktarda sıvı adsorbe etme kapasitesine sahiptir. Syloid'in yüksek yoğunluğa sahip olması ilaç üretimi sırasında daha az toz işlemi oluşturmaya yardımcı olabilir. Ayrıca Syloid, üretim sırasında farmasötik karışımların akış özelliklerini iyileştirebilir. SEDDS gibi lipit yapılı teknolojilerde adsorban olarak kullanılır. Neme duyarlı ilaç etken maddelerinin stabilitesini artırmak için etkili bir kurutucudur (Grace, 2017); (Waters ve ark., 2018).

2.8. Lipit Formülasyon Sınıflandırma Sistemlerinde Yapılan Kontroller

Yağ, yüzey etken madde, yardımcı yüzey etken madde ve etken maddeden oluşan lipit yapılı ilaç taşıyıcı sistemler üzerinde yapılan kontroller aşağıda verilmiştir:

- Organoleptik özellikler (görünüm, renk, koku ve tat)
- Yoğunluk ölçümü
- Damlacık boyutu ve PDI değerlerinin ölçülmesi
- Termodinamik dayanıklılık testleri (santrifüjleme, soğuk-sıcak döngü)
- pH seyreltmelerine karşı dayanıklılık çalışmaları
- FTIR ve DSC analizleri
- Viskozite ölçümleri ve reoloji analizleri
- *İn vitro* çalışmalar
- *İn vivo* çalışmalar

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tadalafil (Jubilant Life Sciences, Hindistan)

Transcutol HP (Yüksek saflıkta dietilen-glikol monoetil eter) (Gattefossè, Fransa)

Labrasol (Kaprilokaproil Makrogol-8 Gliseritleri) (Gattefossè, Fransa)

Gelucire 44/14 (Lauroil Makrogol-32 Gliseritleri) (Gattefossè, Fransa)

Gelucire 48/16 (Polioksil-32 Stearat) (Gattefossè, Fransa)

Kolliphor PS 20 (Polisorbat 80) (BASF, Almanya)

Kolliphor PS 60 (Polisorbat 60) (BASF, Almanya)

Kolliphor PS 80 (Polisorbat 80) (BASF, Almanya)

Kolliphor HS 15 (Makrogol 15 Hidroksistearat) (BASF, Almanya)

Kollisolv PEG 400 (Polietilen Glikol 400) (BASF, Almanya)

Kolliphor CS 12 (Makrogol Setostearil Eter 12) (BASF, Almanya)

Kolliphor CS 20 (Makrogol Setostearil Eter 20) (BASF, Almanya)

Kolliphor EL (Makrogolgliserol Risinoleat 35) (BASF, Almanya)

Kolliphor ELP (Makrogolgliserol Risinoleat 35) (BASF, Almanya)

Asetonitril (HPLC saflığında) (Merck, Almanya)

NaOH (Merck, Almanya)

H₃PO₄ (Merck, Almanya)

Trifloroasetik asit (Merck, Almanya)

HCl çözeltisi (%37) (Merck, Almanya)

KH₂PO₄ (Merck, Almanya)

K₂HPO₄ (Merck, Almanya)

Sodyum Lauril Sülfat (MP Biomedicals, Fransa)

Florite R (Kalsium Silikat) (Tomita Pharmaceutical Co., Ltd, Japonya)

Neusilin US2 (Magnezium Aluminometasilikat) (Fuji Chemical, Japonya)

Neusilin UFL2 (Magnezium Aluminometasilikat) (Fuji Chemical, Japonya)

Syloid XDP 3050 (Amorf Silikon Dioksit) (Grace Gmb, Almanya)

Syloid XDP 3150 (Amorf Silikon Dioksit) (Grace GmbH, Almanya)

3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

3.1.2.1. Kullanılan Cihazlar

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (Shimadzu LC 20-AT, Japonya)

HPLC Kolonu (Acclaim TM 120, C 18 4,6×150 mm, 5µm)

Ultra Saf Su Cihazı (Merck Milli-Q, Almanya)

Vorteks (IKA® Vortex-Genius 3, Almanya)

Orbital Çalkalayıcı (Thermo Electron Corporation Model 420, Almanya)

Santrifüj (Hettich Mikroliter D-7200, Nüve NF-415, Türkiye)

Terazi (Denver Instruments, TB-Series, Almanya)

Isıticılı Manyetik Karıştırıcı (Velp Scientifica, İtalya)

Çoklu Manyetik Karıştırıcı (IKA RT15 Power, Almanya)

pH metre (Inolab pH720, Almanya)

Partikül Boyutu Ölçüm Cihazı (Malvern Zeta-Sizer-Nano ZS, Birleşik Krallık)

Etüv (WiseVen, WON-32, Kore)

UV/VIS Spektrofotometre (Shimadzu, UV 1601, Japonya)

Dissolüsyon Test Cihazı (Sotax, İsviçre)

3.1.2.2. Kullanılan Malzemeler

Eppendorf Mikropipet (100-1000 µl)

Şırınga ucu Filtre (Minisart PTFE 0,45µm, Naylon 0,45µm)

Mikropipet uçları - Eppendorf tüpler - Pastör pipeti - Cam Malzeme (Beher, mezür, cam flakon, balon joje, vb.) (İsolab)

HPLC vial ve kapakları (İsolab)

UV spektrofotometre küveti (Precision cells, 100-QS, 10 mm)

Zetasizer küveti (High Precision Cell, 100 OS, 10 mm)

3.1.2.3. Kullanılan Bilgisayar Programları

Microsoft Office Word 2010

Microsoft Office Excel 2010

GraphPad Prism 8

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Tadalafil'in Miktar Tayini Yöntem Geliştirilmesi

Tadalafil miktar tayini için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi Türk Farmakopesi-II-Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu'da (Türk Farmakopesi-II, 2017) kayıtlı yöntem kullanılmıştır.

3.2.1.1. Tadalafil'in HPLC İçin Kromatografik Cihaz Şartları

Tadalafil'in HPLC analizi için kromatografik cihaz şartları aşağıda verilmiştir.

Dedektör: UV

Kolon: C18 (0,15m x 4,6mm x 5µm)

Kolon Sıcaklığı: 40°C

Akış hızı: 1,5 mL/dk

Enjeksiyon hacmi: 100 µl

Dalgaboyu: 285 nm

Analiz süresi: 5 dakika

3.2.1.2. Mobil Fazın Hazırlanması

1 ml trifloroasetik asit (TFAA) alındı ve ultra saf su ile 1000 ml'ye tamamlandı ve 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcı ile homojen çözelti elde edilene kadar karıştırıldı. Elde edilen %0,1 (h/h) TFAA çözeltisi, asetonitril ile 55:45 (h/h) oranında karıştırıldı. Mobil faz 0,45 µm hidrofilik filtreden süzüldü ve 15 dk süre ile ultrasonik banyoda degaze edildi.

3.2.2. HPLC Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

Analitik yöntem validasyonu, kimyasal değerlendirmeyi yapmak için temel bir gerekliliktir. Tadalafil etken maddesinin miktar tayininin validasyonu için doğrusallık, kesinlik, doğruluk, seçicilik, saklanan örneklerin stabilitesi çalışmaları yapıldı (ICH Q2) (EMA., 1995).

3.2.2.1. Doğrusallık

Analitik yöntemin doğrusallığı, belirli bir konsantrasyon aralığında analizi yapılan maddenin konsantrasyonu ile deney sonuçlarının doğru orantılı olmasını

sağlama yeteneyidir. Doğrusallık, korelasyon katsayısı değeri (r^2) $\geq 0,999$ olmuşsa ve yapılan deney sonuçları değerleri çizilen doğrunun üzerinde yer almışsa sağlanmış demektir. Doğrusallığı belirleyebilmek için en az 5 konsantrasyon gerekir. Çalışma derişiminin %10, %30, %50, %80, %100, %110 ve %120 seviyelerinde olacak şekilde, 7 ayrı konsantrasyonda standart çözeltisi hazırlanarak analiz edilir (ICH Q2) (EMA., 1995)

Stok çözelti: Tadalafil'in 20 mg'ı 100 ml'lik balon jodede asetonitri'in 50 ml'sinde çözüldü ve hareketli faz A ile 100 ml'ye seyreltilerek hacmine tamamlandı (C= 0,2 mg/ml). Bu çözelti stok çözeltisi olarak kullanıldı.

Standart çözelti 1 (%10'luk seviye): Hazırlanan stok çözeltisinden 125 μ L alınarak 50 ml'lik balon jodede mobil faz ile hacmine seyreltildi ve iyice çalkalandı. (C= 0,0005 mg/ml)

Standart çözelti 2 (%30'luk seviye): Hazırlanan stok çözeltisinden 375 μ L alınarak 50 ml'lik balon jodede mobil faz ile hacmine seyreltildi ve iyice çalkalandı. (C= 0,0015 mg/ml)

Standart çözelti 3 (%50'lik seviye): Hazırlanan stok çözeltisinden 625 μ L alınarak 50 ml'lik balon jodede mobil faz ile hacmine seyreltildi ve iyice çalkalandı. (C= 0,0025 mg/ml)

Standart çözelti 4 (%80'lik seviye): Hazırlanan stok çözeltisinden 1000 μ L alınarak 50 ml'lik balon jodede mobil faz ile hacmine seyreltildi ve iyice çalkalandı. (C= 0,004 mg/ml)

Standart çözelti 5 (%100'lük seviye): Hazırlanan stok çözeltisinden 1250 μ L alınarak 50 ml'lik balon jodede mobil faz ile hacmine seyreltildi ve iyice çalkalandı. (C= 0,005 mg/ml)

Standart çözelti 6 (%110'luk seviye): Hazırlanan stok çözeltisinden 1375 μ L alınarak 50 ml'lik balon jodede mobil faz ile hacmine seyreltildi ve iyice çalkalandı. (C= 0,0055 mg/ml)

Standart çözelti 7 (%120'lik seviye): Hazırlanan stok çözeltisinden 1500 µL alınarak 50 ml'lik balon jodede mobil faz ile hacmine seyreltildi ve iyice çalkalandı. (C= 0,006 mg/ml)

Hazırlanan standart çözeltiler viallere dolduruldu ve HPLC analizi yapıldı. Her konsantrasyon için okunan absorbans değeri kullanılmakla standart eğrisi çizildi, eğri denklemi ve korelasyon katsayısı hesaplandı.

3.2.2.2. Kesinlik

Analitik yöntemin kesinliği, aynı homojen numunenin bir kaç örneklemesinden elde edilen bir dizi ölçüm arasındaki uyum yakınlığını ifade eder (ICH Q2) (EMA., 1995).

Gün içi kesinlik, Aynı araştırmacı tarafından, aynı gün ve aynı laboratuarda aynı cihazı kullanarak 5-6 paralel tayin 2-3 farklı derişimle yapılır. Bu amaçla, %100'lük konsantrasyonda 6 farklı numune hazırlanarak aynı günde analiz edildi ve sonuçta, elde edilen değerlerin ortalaması, standart sapması (\pm SD) ve relatif standart sapması (% RSD) hesaplandı. $RSD \leq \% 2,0$ olmalıdır.

Günler arası kesinlik, Aynı araştırmacı tarafından, farklı günlerde ve aynı laboratuarda, aynı cihazı kullanarak 5-6 paralel tayin 2-3 farklı derişimle yapılır. Bu amaçla, %100'lük konsantrasyonda 6 farklı numune hazırlanarak 3 farklı günde analiz edildi ve sonuçta, elde edilen değerlerin ortalaması, standart sapması (\pm SD) ve relatif standart sapması (% RSD) hesaplandı. $RSD \leq \% 2,0$ olmalıdır.

3.2.2.3. Doğruluk

Doğruluk, analiz sonucu elde edilen değerlerin gerçek değere yakınlığının ölçüsüdür. Analitik yöntemin doğruluğu için %80, %100 ve %120'lik konsantrasyonlarda numune hazırlanıp analiz edilir ve kabul kriterlerine uygunluğu kontrol edilir. Tek tek sonuçlar, standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (RSD) değerleri hesaplanır. $RSD \leq \% 2,0$ olmalıdır (ICH Q2) (EMA., 1995).

Plasebo hazırlanması: Plasebo 1 Kolliphor PS 80/Transcutol HP (2 : 1)) ve Plasebo 2 (Kolliphor EL/Transcutol HP (2 : 1)) hazırlanmıştır.

Standart stok çözeltisi: Tadalafil'in 20 mg'ı 100 ml'lik balon jodede asetonitril'in 50 ml'sinde çözüldü ve hareketli faz A ile 100 ml'ye seyreltilerek hacmine tamamlandı (C= 0,2 mg/ml). Bu çözelti stok çözeltisi olarak kullanıldı.

Plasebo 1 stok çözeltisi: 0,67 ml placebo 1 tartıldı ve 100 ml'lik balon jodede asetonitril'in 50 ml'sinde çözüldü ve hareketli faz A ile 100 ml'ye seyreltilerek hacmine tamamlandı.

Plasebo 2 stok çözeltisi: 0,67 ml placebo 2 tartıldı ve 100 ml'lik balon jodede asetonitril'in 50 ml'sinde çözüldü ve hareketli faz A ile 100 ml'ye seyreltilerek hacmine tamamlandı.

%80'lik çözelti: Hazırlanan standart stok çözeltisinden 1000 µL alınarak sırasıyla iki ayrı 50 ml'lik balon jodaye ilave edildi, balon jodelerden birine 1 ml plasebo 1, diğerine 1 ml plasebo 2 stok çözeltisinden eklendi ve mobil faz ile hacmine seyreltildi. (n=3)

%100'lük çözelti: Hazırlanan standart stok çözeltisinden 1250 µL alınarak sırasıyla iki ayrı 50 ml'lik balon jodaye ilave edildi, balon jodelerden birine 1 ml plasebo 1, diğerine 1 ml plasebo 2 stok çözeltisinden eklendi ve mobil faz ile hacmine seyreltildi. (n=3)

%120'lik çözelti: Hazırlanan standart stok çözeltisinden 1500 µL alınarak sırasıyla iki ayrı 50 ml'lik balon jodaye ilave edildi, balon jodelerden birine 1 ml plasebo 1, diğerine 1 ml plasebo 2 stok çözeltisinden eklendi ve mobil faz ile hacmine seyreltildi. (n=3)

3.2.2.4. Örneklerin Stabilitesi

Saklanan örneklerin stabilitesi için ilk önce stok çözelti hazırlandı, daha sonra bu stok çözeltiden %100'lük konsantrasyonda standart çözelti hazırlandı. Hazırlanan örneklerin 0 ve 24 saatte HPLC analizi ile elde edilen piklerinin alanları değerlendirildi.

Stok çözelti: Tadalafil'in 20 mg'ı 100 ml'lik balon jodede asetonitril'in 50 ml'sinde çözüldü ve hareketli faz A ile 100 ml'ye seyreltilerek hacmine tamamlandı (C= 0,2 mg/ml). Bu çözelti stok çözeltisi olarak kullanıldı.

%100'lük çözelti: Hazırlanan stok çözeltisinden 1250 µL alınarak 50 ml'lik balon jodede mobil faz ile hacmine seyreltildi ve iyice çalkalandı. (C= 0,005 mg/ml)

3.2.3. Tadalafil'in Tip IV Lipit Yapılı İlaç Taşıyıcı Sistemi Formülasyonlarının Geliştirilmesine Yönelik Çalışmalar

Tadalafil'in Tip IV lipit yapılı ilaç taşıyıcı sistemleri ile formülasyonlarının geliştirilmesi amacıyla, öncelikle farklı yüzey etken madde (sürfaktan) ve yardımcı yüzey etken maddelerdeki (ko-sürfaktan) (Tablo 3-1) çözünürlüğü saptandı. Elde edilen çözünürlük verilerine dayanarak formülasyonlarda kullanılacak yardımcı maddeler belirlendi. Bu maddelerin farklı oranları ile etken madde yüklü olmayan Tip IV lipit yapılı formülasyonları hazırlandı. Karakterizasyon çalışmaları verilerine göre seçilen Tip IV lipit yapılı formülasyona etken madde (Tadalafil) yüklendi ve karakterizasyonları yapıldı.

Tablo 3-1: Tadalafilin Tip IV lipit yapılı formülasyonlarının bileşimlerinin belirlenmesi için çözünürlük çalışmalarında kullanılan yardımcı maddeler

Yardımcı Yüzey Etken Madde	Yüzey Etken Madde
	Labrasol ALF
	Kolliphor PS 20
	Kolliphor PS 60
	Kolliphor PS 80
	Kolliphor CS 12
	Kolliphor CS 20
Transcutol HP	Kolliphor EL
	Kolliphor ELP
	Kolliphor HS 15
	Kollisolv PEG 400
	Gelucire 44/14
	Gelucire 48/16

3.2.4. Çözünürlük Çalışmaları

Tadalafil'in Tip IV lipit yapılı formülasyon bileşiminde kullanılacak yüzey etken ve yardımcı yüzey etken maddelerdeki çözünürlüğü incelendi. Bu amaçla, Tip IV

lipit yapılı formülasyonda kullanılacak yardımcı maddelerden ependörflere 1'er mL alındı, üzerlerine çözünebileceğinden fazla miktarda Tadalafil eklendi ve vorteks ile karıştırıldı. Daha sonra 37°C'de orbital çalkalayıcıda 100 rpm'de çalkalanarak 48 saat Tadalafil'in çözünürlüğü dengeye gelinceye dek bekletildi. Süre sonunda her karışım 15 dakika 15000 rpm'de santrifüj edilerek çözünmeden kalan Tadalafil'in çökmesi sağlandı. Her numuneden belirli bir miktarda alınarak balon jojede mobil faz çözücü karışımı ile seyreltildi. 0,45µm şırınga ucu filtre (25 mm Nylon 0,45µm) ile süzülükten sonra, HPLC viyallerine dolduruldu. Bu işlem her karışım için 3'er kez tekrarlandı. Hazırlanan örneklerdeki Tadalafil miktarları, Yöntem 3.2.1'de belirtilen HPLC yöntemi ile analiz edilerek saptandı.

3.2.5. Etken Madde Yüklü Olmayan Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonların Hazırlanması

Tadalafil'in Tip IV lipit yapılı formülasyonu hazırlamak için literatürde kayıtlı çalkalama yöntemi kullanıldı (Narayana ve ark., 2015). Tip IV lipit yapılı formülasyonların hazırlanmasında çözünürlük verilerine göre, Tadalafil'in en yüksek çözünürlüğüne sahip olduğu yüzey etken madde ve yardımcı yüzey etken maddeler ve bu maddelerin farklı oranlardaki (1:1, 1:2 ve 2:1) karışımları (S_{mix}) (Tablo 3-2) ile formülasyonlar hazırlandı.

Tablo 3-2: Tip IV lipit yapılı formülasyon çalışmalarında kullanılan bileşenler (sürfaktan, kosürfaktan ve oranları)

Kosürfaktan	Sürfaktan	Sürfaktan-Kosürfaktan oranı (S_{mix})
Transcutol HP	Kolliphor PS 20	1:1
		1:2
		2:1
	Kolliphor PS 60	1:1
		1:2
		2:1
	Kolliphor PS 80	1:1
		1:2
		2:1

Kolliphor EL	1:1
	1:2
	2:1
Kolliphor HS 15	1:1
	1:2
	2:1
Kollisolv PEG 400	1:1
	1:2
	2:1
	1:1
Gelucire 44/14	1:2
	2:1

Hazırlanan formülasyonlar, öncelikle görsel olarak incelendi. Faz ayrımı olmayan, berrak formülasyonlar seçildi ve aşağıda belirtilen yöntemler ile karakterizasyon çalışmaları yapıldı.

3.2.6. Seçilen Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları

Etken madde içermeyen seçilen Tip IV lipit yapılı formülasyonları görsellik, damlacık boyutu ve PDI değerleri, Transmittans (%) tayini ve pH seyreltmelerine karşı dayanıklılık özellikleri yönünden incelendi.

3.2.6.1. Görsel Değerlendirme

Tablo 3-2’de verilen 1:1, 1:2, 2:1 oranlarında hazırlanan S_{mix} karışımlarından 500 µl alındı, 50 ml balon jodede saf su ile hacmine seyreltildi ve görsel olarak incelendi.

3.2.6.2. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi (PDI)

Tablo 3-2’de verilen 1:1, 1:2, 2:1 oranlarında hazırlanan S_{mix} karışımlarından 500 µl alındı ve 50 ml balon jodede saf su ile hacmine seyreltildi, daha sonra Malvern Zeta-Sizer-Nano ZS cihazı ile damlacık boyutu ve PDI değerleri ölçüldü.

Ölçüm öncesi formülasyonlar 0,45 µm Millex-LCR (PTFE) şırınga ucu filtre ile süzüldü ve dengeye gelmeleri için 10 dakika beklendi. 37°C’de 173°C açıda 60 saniye

sürelili 12-17 taramayla 3 kez tekrarlanarak ölçümler yapıldı. Ölçümlerin aritmetik ortalama, SD ve RSD değerleri saptandı.

Yapılan sonuçlar içinden damlacık boyutu 100'den, PDI değeri 0,3'ten aşağı olan formülasyonlar seçildi ve 1 hafta sonra yeniden aynı karışımların damlacık boyutu ve PDI değerleri ölçüldü. Damlacık boyutu ve PDI değerlerinde fazla artım göstermeyen ve görsellik açısından berrak olan formülasyonlar seçilerek daha ileri karakterizasyon testlerine tabi tutuldu.

3.2.6.3. Transmittans (%) Ölçümü

Hazırlanan S_{mix} karışımlarından 500 µl alındı ve 50 ml balon jodede saf su ile hacmine seyreltildi, daha sonra UV/VIS Spektrofotometre (Shimadzu, UV 1601) cihazında 650 nm dalga boyu altında transmittans değerleri ölçüldü. 'Kör' (Blank) olarak saf su kullanıldı.

3.2.6.4. pH Seyreltmelerine Karşı Dayanıklılık

Hazırlanan S_{mix} karışımlarından 500 µl alındı ve 50 ml balon jodede pH 1,2; 4,5; 6,8; 7,4 tampon çözeltileri ile hacmine seyreltildi, daha sonra Malvern Zeta-sizer-Nano ZS cihazında damlacık boyutu ve PDI değerleri ölçüldü.

Yapılan sonuçlar içinden damlacık boyutu 100'den, PDI değeri 0,3'ten aşağı olan karışımlar seçildi ve 2 gün sonra yeniden aynı karışımların damlacık boyutu ve PDI değerleri ölçüldü.

3.2.7. Tadalafil Yüklü Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonların Hazırlanması

Hazırlanan Tip IV lipit yapıli formülasyonlar üzerinde yapılan karakterizasyon çalışmalarna göre en iyi kararlılık gösteren formülasyonlar seçildi. Öncelikle, 1:1, 1:2 ve 2:1 oranlarında S_{mix} karışımları hazırlandı. Hazırlanan karışımlardan 1 ml alınarak üzerine 40 mg Tadalafil eklendi ve vorteks ile karıştırıldı. Daha sonra 37°C'de orbital çalkalayıcıda 100 rpm'de çalkalanarak 48 saat bekletildi. Süre bittiğinde her karışım 15 dk 15000 rpm'de santrifüj edilerek çözünmeden kalan Tadalafil'in çökmesi sağlandı. Her numuneden belirli bir miktarda alınarak balon jodede mobil faz ile seyreltildi. 0,45 µm şırınga ucu filtreler (25 mm Naylon 0,45 µm şırınga ucu filtre) ile süzöldükten sonra, viallere dolduruldu. Bu işlem her karışım için 3'er kez tekrarlandı. Örneklerdeki Tadalafil miktarı, Yöntem 3.2.1'de belirtilen HPLC yöntemi ile analiz edildi.

3.2.8. Tadalafil Yüklü Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları

Yöntem 3.2.7'deki gibi çalışılarak, Tadalafil'in seçilen formülasyonlara en fazla yüklenebildiği miktarı belirlendi ve hazırlanan formülasyonlar damlacık boyutu ve PDI değerleri, farklı sıcaklıklarda faz ayrışması ve pH seyreltmelerine karşı dayanıklılık özellikleri yönünden incelendi.

3.2.8.1. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi (PDI)

Tadalafil yüklü Tip IV lipit yapılı formülasyonlardan 500 µl alındı ve 50 ml balon jodede saf su ile hacmine seyreltildi, daha sonra Malvern Zeta-Sizer-Nano ZS cihazı ile formülasyonların damlacık boyutu ve PDI değerleri ölçüldü.

3.2.8.2. Farklı Sıcaklıklarda Faz Ayrışmasının Değerlendirilmesi

Tadalafil yüklü Tip IV lipit yapılı formülasyonlardan 0,1 ml alındı ve 2 ml Eppendorfdaki saf su (1,9 ml) ile hacmine tamamlandı, 30 dakika boyunca 15000 rpm'de santrifüj edildi. Daha sonra bu saf sulu karışımlar soğuk (-20°C) ve sıcakta (25°C) tutularak çökme olup olmadığı değerlendirildi. Bu deneme her karışım için 3 kez tekrarlandı.

3.2.8.3. pH Seyreltmelerine Karşı Dayanıklılık Değerlendirilmesi

Tadalafil yüklü Tip IV lipit yapılı formülasyonlardan 500 µl alındı ve 50 ml balon jodede pH 1,2; 4,5; 6,8; 7,4 tampon çözeltileri ile hacmine seyreltildi, daha sonra Malvern Zeta-sizer-Nano ZS cihazında damlacık boyutu ve PDI değerleri ölçüldü.

Ölçüm öncesi formülasyonlar 0,45 µm Millex-LCR (PTFE) şırınga ucu filtre ile süzüldü ve dengeye gelmeleri için 10 dakika beklendi. 37°C'de 173°C açıda 60 saniye süreli 12 taramayla 3 kez tekrarlanarak ölçümler yapıldı. Ölçümlerin ortalama ve SD değerleri saptandı.

3.2.9. Tadalafil Yüklü Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonlarının Katı Forma Dönüştürülmesi

Yöntem 3.2.8.1 ve 3.2.8.3'te anlatıldığı şekilde yapılan çalışmalara ait bulgulara göre damlacık boyutu <100 nm, PDI değeri <0,3 olan ve yöntem 3.2.8.2 çalışmalarına

göre faz ayrışması ve çökme olmayan Tadalafil yüklü Tip IV lipit yapılı formülasyonları farklı özellikteki adsorban maddeler (Tablo 3-3) ile katı hale getirildi.

Bu amaçla, Tip IV lipit yapılı formülasyonları üzerine adsorban maddeler ayrı ayrı eklenerek katı hale dönüştürüldü. Her bir adsorban maddeden ayrı ayrı porselen kapsüle yerleştirildi ve Tadalafil yüklü formülasyonlar yapışkan özellikte olmayan, serbest akış gösteren bir toz elde edilene kadar damla damla adsorban madde üzerine ilave edildi, daha sonra hazırlanan formülasyonların ağırlığı ölçüldü.



Tablo 3-3: Tadalafil'in katı Tip IV lipit yapılı formülasyonların hazırlanmasında kullanılan adsorban maddeler ve özellikleri

Özellikler	Florite R	Neusilin US2	Neusilin UFL2	Syloid 3050	SDS	Syloid 3150	SDS
Ortalama Partikül Boyutu (μm)	30	106	3,1	50		150	
Spesifik Yüzey Alan (m^2/g)	142-149	300	300	287		320	
Su Adsorpsiyon Kapasitesi (mL/g)	Ağırlığının 5 katı kadar	2,4-3,1	2,4-3,1				
Yağ Adsorpsiyon Kapasitesi (mL/g)	4,6	2,7-3,4	2,7-3,4	300		300	
Yığın Yoğunluk (g/mL)	0,07	0,13 – 0,18	0,06 – 0,11	0,441		0,441	
Sıkıştırılmış Yoğunluk (g/mL)	0,10	0,16 – 0,22	0,10 – 0,17	0,566		0,566	

3.2.10. Tadalafil Yüklü Katı Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonlar Üzerinde Yapılan *In Vitro* Çözünme Hızı Testi Çalışmaları

Katı forma dönüştürülmüş Tip IV lipit yapılı formülasyonlardan Tadalafil'in *in vitro* çözünme hızının değerlendirilmesi için palet yöntemi (USP II) kullanıldı. Çalışmada çözünme ortamı olarak mide sıvısını taklit eden 900 mL 0,1 N HCl kullanıldı. Karıştırma hızı 50 rpm ve sıcaklık $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 'de tutuldu. Numune alma zamanları 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30 ve 45 dakika olarak belirlendi (Badr-Eldin ve ark., 2017).

Her zaman noktası için çözünme ortamından 3 ml numune alındı, alınan numunler 0,45 μm şırınga ucu filtreler (25 mm Naylon 0,45 μm şırınga ucu filtre) ile

süzüldükten sonra, viyalere dolduruldu ve 285 nm'de Yöntem 3.2.1.1'de belirtilen HPLC yöntemi ile analiz edildi.

Analiz edilen formülasyonlar arasından etken maddenin daha fazla çözündüğü formülasyonlar seçilerek, pH 4,5 ve pH 6,8 tampon çözeltilerinde, aynı zamanda FDA tarafından önerilen %0,5 sodyum lauril sülfat (SLS) içeren çözünme ortamında (1000 mL) (FDA, 2006) çözünme hızı testleri yapıldı. Aynı çözünme ortamlarında referans üründen Tadalafilin çözünme hızı testi de yapılarak elde edilen veriler karşılaştırıldı.



4. BULGULAR

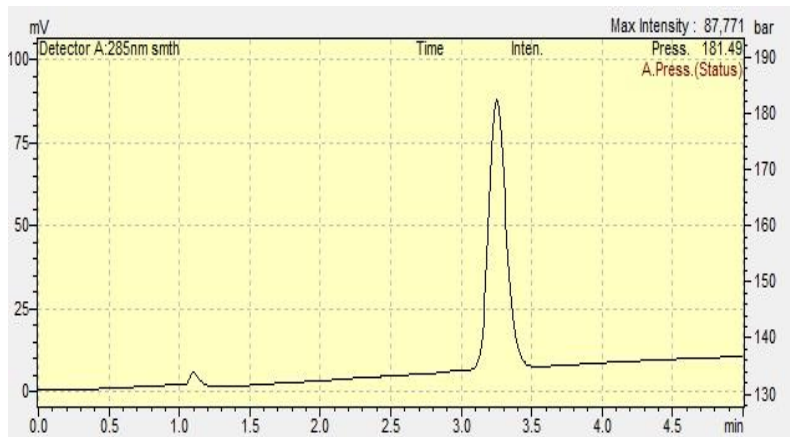
4.1. HPLC Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu Çalışmasına Ait Bulgular

4.1.1. Doğrusallık

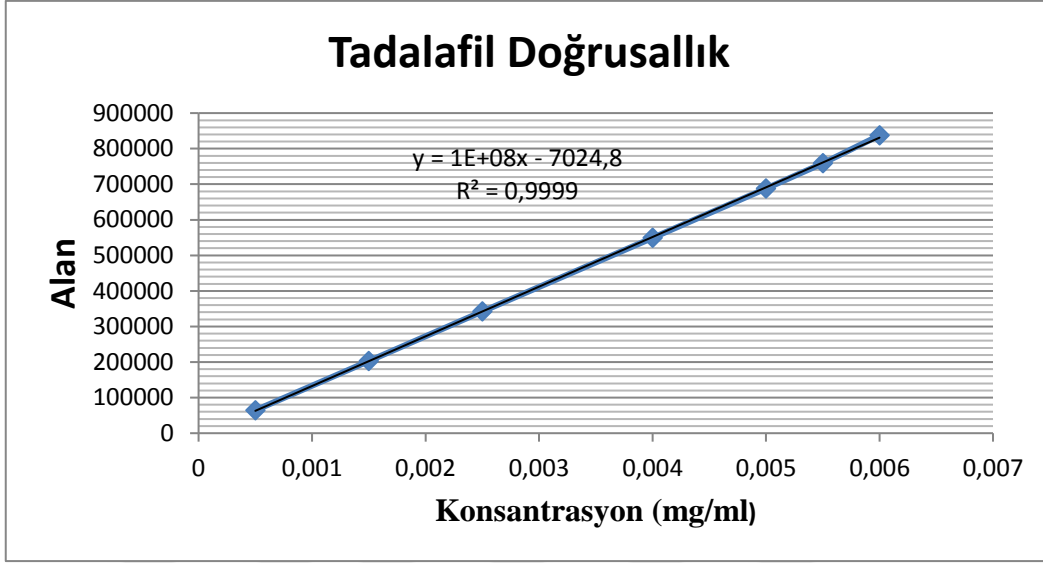
Yöntem 3.2.2.1’de anlatıldığı gibi hazırlanan Tadalafil standart çözeltilerinin analizleri HPLC yöntemi ile yapılmıştır. Yapılan HPLC analizleri ile konsantrasyonlara karşılık gelen pik alanı değerlerine ait sonuçlar Tablo 4-1’de; Tadalafil’in alıkonma zamanı (dk) Şekil 4-1’de; kalibrasyon eğrisi ise Şekil 4-2’de verilmiştir. Kalibrasyon doğrusunun denklemi $y=1E+08x-7024,8$ ve korelasyon katsayısı (r^2) 0,9999 olarak bulunmuştur.

Tablo 4-1: Tadalafil’in doğrusallık çalışmasında elde edilen konsantrasyon (mg/ml)/pik alanı değeri tablosu

Konsantrasyon (mg/ml)	Pik Alanı Değerleri
0,0005	64334
0,0015	202649
0,0025	342176
0,004	549303
0,005	687696
0,0055	758562
0,006	837561



Şekil 4-1: HPLC metodunda Tadalafil'in alıkonma zamanı



Şekil 4-2: Tadalafil'in doğrusallık çalışmasında elde edilen kalibrasyon doğrusu

4.1.2. Kesinlik

Yöntem 3.2.2.2'de anlatıldığı gibi Tadalafil için kesinlik çalışmaları yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 4-2 ve Tablo 4-3'te verilmiştir.

Tablo 4-2: Tadalafil'in gün içi kesinlik çalışmasında elde edilen sonuçlar (n=6)

Konsantrasyon (mg/ml)	Pik Alanı Değerleri	Ortalama	SD (±)	RSD (%)
0,005	687696	685410,33	8776,04	1,2804
	681043			
	691730			
	697082			
	682844			
	672067			

Tablo 4-3: Tadalafil'in günler arası kesinlik çalışmasında elde edilen sonuçlar (n=6)

	1.Gün	2.Gün	3.Gün
	687696	710111	755304
	681043	696705	740064
	691730	706854	748128
Pik Alanı Değerleri	697082	719750	759209
	682844	703273	759554
	672067	700760	740325
Ortalama Alan	685410,33	706242,17	750430,67
SD (±)	8776,04	8094,83	8932,39
RSD (%)	1,2804	1,1462	1,1903

4.1.3. Doğruluk

Yöntem 3.2.2.3'te anlatıldığı gibi yapılan doğruluk çalışması sonuçları Tablo 4-4 ve 4-5'te verilmiştir.

Tablo 4-4: Plasebo 1 ile yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar (n=3)

	Ortalama Pik Alanı	Ortalama Konsantrasyon	SD (±)	RSD (%)	Geri Kazanma (%)
%80	540638	0,273064	0,00403	1,475816	103,028906
%100	662524	0,334007	0,00322	0,964018	99,584691
%120	794640	0,400065	0,007033	1,758065	99,140641

Tablo 4-5: Plasebo 2 ile yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar (n=3)

	Ortalama Pik Alanı	Ortalama Konsantrasyon	SD (\pm)	RSD (%)	Geri Kazanma (%)
%80	533252,333	0,269371	0,003485	1,293732	101,621426
%100	660715,667	0,333103	0,000684	0,205392	99,312878
%120	792067,667	0,398779	0,00497	1,246321	98,819713

4.1.4. Örneklerin Stabilitesi

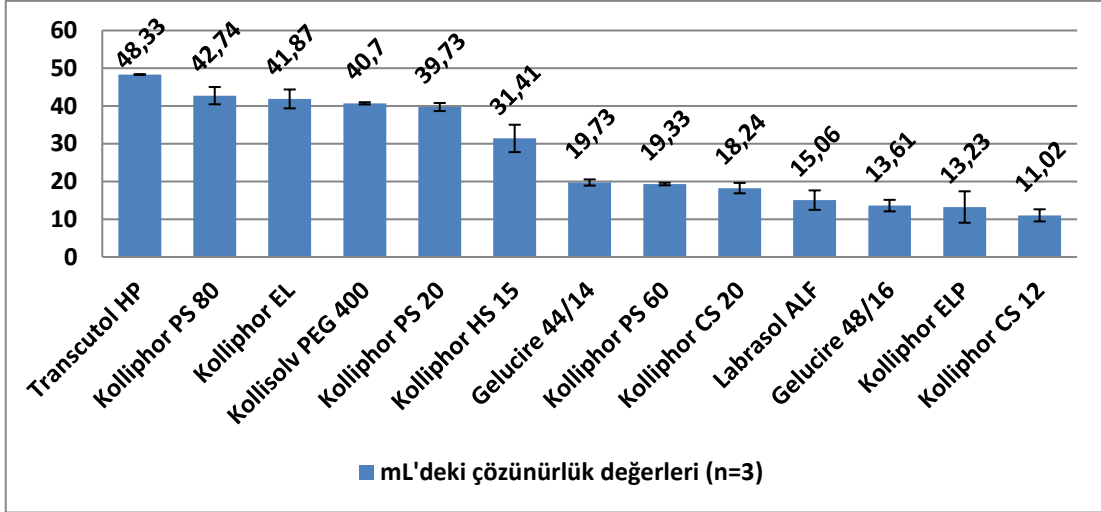
Yöntem 3.2.2.4'te anlatıldığı gibi analiz edilen örneklerin stabilitesi çalışmasına ait sonuçlar Tablo 4-6'da verilmiştir.

Tablo 4-6: Örneklerin stabilitesi çalışması sonuçları

Konsantrasyon (mg/ml)	Zaman	Pik Alanı Değerleri	SD (\pm)	RSD (%)
0,005	0.Saat	691730	10694,28	1,5293
	24.Saat	706854		

4.2. Çözünürlük Çalışmalarına Ait Bulgular

Yöntem 3.2.4'te anlatıldığı gibi Tadalafil'in yardımcı maddelerdeki çözünürlüğünün değerlendirildiği çalışmalara ait sonuçlar Şekil 4-3'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kullanacak olan kosürfaktan ve sürfaktanlar belirlendi.



Şekil 4-3: Tadalafil'in yardımcı maddelerde çözünürlük çalışmasında elde edilen sonuçlar

Yapılan çözünürlük çalışmasında etken madde çözündürme kapasitesi açısından ko-sürfaktan olarak Transcutol HP; sürfaktan olarak ise Kolliphor PS 20, Kolliphor PS 80, Kolliphor HS 15, Kolliphor EL, Kollisolv PEG 400 ve Gelucire 44/14 uygun bulunmuştur.

4.3. Etken Madde Yüklü Olmayan Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonları Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.3.1. Görsel Değerlendirme

Etken madde yüklü olmayan Tip IV lipit yapılı formülasyonlar (S_{mix}) şeffaf görüntüsüne ait bir örnek görseli Şekil 4-4'te verilmiştir.



Şekil 4-4: S_{mix} karışımının görseli

Yöntem 3.2.6.1’de anlatıldığı gibi Tip IV lipit yapıları formülasyonları üzerinde yapılan görsel değerlendirme sonuçları Tablo 4-7’de verilmiştir.

Tablo 4-7: Tip IV lipit yapıları formülasyonları üzerinde yapılan görsel değerlendirme

S_{mix}	S_{mix} Oranı	Görselliği
Kolliphor PS 20/Transcutol HP	1:1	Şeffaf
	1:2	Şeffaf
	2:1	Şeffaf
Kolliphor HS 15/Transcutol HP	1:1	Şeffaf
	1:2	Şeffaf
	2:1	Şeffaf
Kolliphor PS 80/Transcutol HP	1:1	Şeffaf
	1:2	Şeffaf
	2:1	Şeffaf
Kolliphor EL/Transcutol HP	1:1	Şeffaf
	1:2	Şeffaf
	2:1	Şeffaf
Gelucire 44/14/Transcutol HP	1:1	Bulanık
	1:2	Bulanık
	2:1	Bulanık
Kollisolv PEG 400/Transcutol HP	1:1	Şeffaf
	1:2	Şeffaf
	2:1	Şeffaf

4.3.2. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi (PDI)

Yöntem 3.2.6.2’de anlatıldığı gibi etken madde yüklü olmayan Tip IV lipit yapıları formülasyonları üzerinde yapılan damlacık boyutu ve PDI çalışmaları sonuçları Tablo 4-8’de verilmiştir.

Tablo 4-8: Tip IV lipit yapıli formülayonların damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3)

S_{mix}	S_{mix} Oranı	Damlacık Boyutu (nm) (\pm SD)	PDI (\pm SD)
	1:1	3948 \pm 5749	0,782 \pm 0,372
Kolliphor PS 20/Transcutol HP	1:2	616,9 \pm 209,2	1,000 \pm 0,000
	2:1	141,8 \pm 5,499	0,58 \pm 0,097
Kolliphor HS 15/Transcutol HP	1:1	37,74 \pm 36,26	0,137 \pm 0,048
	1:2	91,24 \pm 32,01	0,153 \pm 0,030
	2:1	12,91 \pm 0,1916	0,146 \pm 0,005
Kolliphor PS 80/Transcutol HP	1:1	62,02 \pm 39,30	0,242 \pm 0,119
	1:2	60,27 \pm 37,48	0,129 \pm 0,038
	2:1	48,06 \pm 3,830	0,168 \pm 0,053
Kolliphor EL/Transcutol HP	1:1	15,77 \pm 3,941	0,111 \pm 0,048
	1:2	13,71 \pm 0,2397	0,146 \pm 0,049
	2:1	26,56 \pm 12,43	0,118 \pm 0,042
Gelucire 44/14/Transcutol HP	1:1	50,84 \pm 8,178	0,445 \pm 0,075
	1:2	60,36 \pm 11,67	0,609 \pm 0,150
	2:1	100,6 \pm 2,753	0,297 \pm 0,001
Kollisolv PEG 400/Transcutol HP	1:1	7789 \pm 8772	0,842 \pm 0,274
	1:2	2053 \pm 1228	1,000 \pm 0,000
	2:1	2785 \pm 846,5	1,000 \pm 0,000

Yapılan sonuçlar içinden Kolliphor HS 15/Transcutol HP; Kolliphor PS 80/Transcutol HP; Kolliphor EL/Transcutol HP karışımları seçildi ve 1 hafta sonra

yeniden aynı karışımların damlacık boyutu ve PDI değerleri ölçüldü. Elde edilen sonuçlar Tablo 4-9'da verilmiştir.

Tablo 4-9: Seçilen formülasyonların 1 hafta sonraki damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3)

S_{mix}	S_{mix} Oranı	Damlacık Boyutu (nm) ($\pm SD$)	PDI ($\pm SD$)
Kolliphor HS 15/Transcutol HP	1:1	584,9 \pm 299,9	0,767 \pm 0,263
	1:2	49,35 \pm 28,02	0,315 \pm 0,098
	2:1	17,18 \pm 0,807	0,295 \pm 0,020
Kolliphor PS 80/Transcutol HP	1:1	217,5 \pm 63,34	0,403 \pm 0,193
	1:2	52,83 \pm 31,66	0,270 \pm 0,045
	2:1	41,36 \pm 8,115	0,149 \pm 0,041
Kolliphor EL/Transcutol HP	1:1	167,4 \pm 69,69	0,398 \pm 0,122
	1:2	15,29 \pm 0,768	0,286 \pm 0,025
	2:1	105,8 \pm 130,3	0,532 \pm 0,236

4.3.3. Transmittans (%) Ölçümü

Yöntem 3.2.6.3'te anlatıldığı gibi Tip IV lipit yapıları formülasyonları üzerinde yapılan transmittans (%) ölçümü çalışmaları sonuçları Tablo 4-10'da verilmiştir.

Tablo 4-10: Transmittans (%) ölçümüne ait sonuçlar

S_{mix}	S_{mix} Oranı	Transmittans (%)
Kolliphor PS 80/Transcutol HP	1:1	99,77
	1:2	100
	2:1	99,77
Kolliphor HS 15/Transcutol HP	1:1	100
	1:2	99,77
	2:1	99,77
Kolliphor EL/Transcutol HP	1:1	99,77
	1:2	100
	2:1	100

4.3.4. Seyreltmelere (Farklı pH'daki Çözeltiler ile) Karşı Dayanıklılık

Yöntem 3.2.6.4'te anlatıldığı gibi Tip IV lipit yapılı formülasyonların seyreltmelere (pH=1,2; 4,5; 6,8 ve 7,4) karşı dayanıklılık sonuçları Tablo 4-11 – 4-14'te verilmiştir.

Tablo 4-11: Seyreltmelere (pH=1,2 0.1 N HCL çözeltisi ile) karşı lipit yapılı formülasyonların dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3)

S_{mix}	S_{mix} Oranı	Aynı günde		2 gün sonra	
		Damlacık Boyutu (nm) (\pm SD)	PDI (\pm SD)	Damlacık Boyutu (nm) (\pm SD)	PDI (\pm SD)
Kolliphor PS80/Transcutol HP	1:1	184,2 \pm 59,17	0,292 \pm 0,184	–	–
	1:2	90,71 \pm 45,52	0,270 \pm 0,050	123,6 \pm 39,83	0,361 \pm 0,157
	2:1	43,03 \pm 46,20	0,158 \pm 0,108	17,89 \pm 4,875	0,145 \pm 0,069
Kolliphor HS15/Transcutol HP	1:1	80,08 \pm 14,53	0,170 \pm 0,052	16,45 \pm 2,536	0,138 \pm 0,061
	1:2	60,51 \pm 68,22	0,207 \pm 0,051	7844 \pm 1,240e4	0,594 \pm 0,060
	2:1	14,03 \pm 1,693	0,156 \pm 0,029	31,43 \pm 30,14	0,177 \pm 0,031
Kolliphor EL/Transcutol HP	1:1	15,66 \pm 2,858	0,106 \pm 0,035	310,4 \pm 301,1	0,341 \pm 0,196
	1:2	52,73 \pm 28,39	0,145 \pm 0,052	86,07 \pm 78,34	0,187 \pm 0,091
	2:1	15,00 \pm 1,828	0,167 \pm 0,038	14,69 \pm 0,174	0,099 \pm 0,016

Tablo 4-12: Seyreltmelere (pH=4,5 tampon çözeltisi ile) karşı lipit yapıları formülasyonlarının dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3)

S_{mix}	S_{mix} Oranı	Aynı günde		2 gün sonra	
		Damlacık Boyutu (nm) (\pm SD)	PDI (\pm SD)	Damlacık Boyutu (nm) (\pm SD)	PDI (\pm SD)
Kolliphor PS80/Transcutol HP	1:1	37,50 \pm 34,49	0,169 \pm 0,095	56,41 \pm 28,00	0,145 \pm 0,044
	1:2	22,49 \pm 6,070	0,143 \pm 0,037	520,5 \pm 180,6	0,629 \pm 0,065
	2:1	76,28 \pm 34,54	0,254 \pm 0,065	190,9 \pm 53,09	0,301 \pm 0,170
Kolliphor HS15/Transcutol HP	1:1	43,35 \pm 44,15	0,156 \pm 0,051	32,92 \pm 27,62	0,107 \pm 0,013
	1:2	162,1 \pm 75,08	0,364 \pm 0,281	–	–
	2:1	27,87 \pm 8,403	0,191 \pm 0,060	34,76 \pm 35,99	0,230 \pm 0,004
Kolliphor EL/Transcutol HP	1:1	18,56 \pm 4,454	0,140 \pm 0,045	36,61 \pm 35,85	0,234 \pm 0,003
	1:2	57,05 \pm 12,20	0,146 \pm 0,044	80,61 \pm 34,29	0,220 \pm 0,115
	2:1	14,10 \pm 0,031	0,084 \pm 0,031	71,23 \pm 51,53	0,223 \pm 0,066

Tablo 4-13: Seyreltmelere (pH=6,8 tampon çözeltisi ile) karşı lipit yapıları formülasyonlarının dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3)

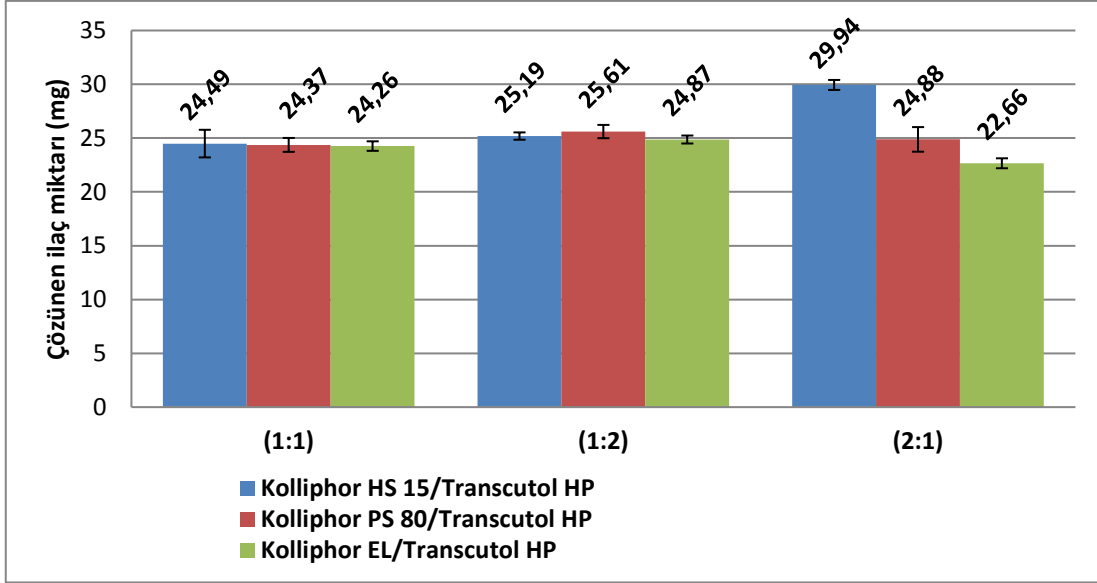
S_{mix}	S_{mix} Oranı	Aynı günde		2 gün sonra	
		Damlacık Boyutu (nm) (\pm SD)	PDI (\pm SD)	Damlacık Boyutu (nm) (\pm SD)	PDI (\pm SD)
Kolliphor PS80/Transcutol HP	1:1	16,69 \pm 10,07	0,135 \pm 0,020	61,26 \pm 14,56	0,302 \pm 0,037
	1:2	304,7 \pm 90,34	0,519 \pm 0,082	–	–
	2:1	34,51 \pm 40,03	0,184 \pm 0,050	69,27 \pm 17,57	0,228 \pm 0,079
Kolliphor HS15/Transcutol HP	1:1	13,07 \pm 0,113	0,137 \pm 0,029	57,87 \pm 34,87	0,219 \pm 0,062
	1:2	28,49 \pm 8,466	0,115 \pm 0,010	185,4 \pm 98,51	0,306 \pm 0,113
	2:1	12,85 \pm 0,146	0,073 \pm 0,008	12,78 \pm 0,125	0,164 \pm 0,015
Kolliphor EL/Transcutol HP	1:1	20,69 \pm 0,192	0,224 \pm 0,026	14,62 \pm 1,025	0,169 \pm 0,028
	1:2	22,35 \pm 8,071	0,144 \pm 0,025	188,9 \pm 95,11	0,615 \pm 0,202
	2:1	13,70 \pm 0,214	0,161 \pm 0,010	99,22 \pm 16,10	0,218 \pm 0,103

Tablo 4-14: Seyreltmelere (pH=7,4 tampon çözeltisi ile) karşı lipit yapılı formülasyonların dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3)

S_{mix}	S_{mix} Oranı	Aynı günde		2 gün sonra	
		Damlacık Boyutu (nm) (\pm SD)	PDI (\pm SD)	Damlacık Boyutu (nm) (\pm SD)	PDI (\pm SD)
Kolliphor PS80/Transcutol HP	1:1	72,06 \pm 20,72	0,207 \pm 0,070	135,5 \pm 35,21	0,240 \pm 0,136
	1:2	459,4 \pm 405,2	0,526 \pm 0,279	–	–
	2:1	39,79 \pm 44,34	0,243 \pm 0,152	177,6 \pm 90,20	0,288 \pm 0,169
Kolliphor HS15/Transcutol HP	1:1	100,7 \pm 26,00	0,289 \pm 0,053	173,4 \pm 71,26	0,311 \pm 0,080
	1:2	48,17 \pm 28,24	0,143 \pm 0,084	314,4 \pm 59,23	0,487 \pm 0,173
	2:1	15,01 \pm 2,479	0,166 \pm 0,045	5504 \pm 8278	0,725 \pm 0,231
Kolliphor EL/Transcutol HP	1:1	38,48 \pm 24,60	0,179 \pm 0,020	148,1 \pm 73,67	0,360 \pm 0,189
	1:2	22,30 \pm 13,48	0,153 \pm 0,007	379,5 \pm 67,56	0,533 \pm 0,149
	2:1	14,06 \pm 0,174	0,155 \pm 0,026	47,38 \pm 32,40	0,149 \pm 0,056

4.4. Tadalafil Yüklü Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonların Hazırlanması Çalışmalarına Ait Bulgular

Yöntem 3.2.7’de anlatıldığı gibi Tadalafil yüklü Tip IV lipit yapılı formülasyonların hazırlanmasına ve yapılan çözünürlük çalışmalarına ait sonuçlar Şekil 4-5 ve Tablo 4-15’te verilmiştir.



Şekil 4-5: Tadalafil yüklü formülasyonlarda yapılan çözünürlük çalışmasında elde edilen sonuçlar

Tablo 4-15: Tadalafil yüklü formülasyonlarda yapılan çözünürlük çalışmasında elde edilen sonuçlar

2 mL S_{mix} karışımında çözünen ilaç miktarı	Sonuçlar
20 mg (1 mL'de – 10 mg)	Tadalafil tam çözünmedi – görsel olarak küçük, çözünememiş Tadalafil partikülleri görüldü.
15 mg (1 mL'de – 7,5 mg)	Tadalafil tam çözüldü.

4.5. Tadalafil Yüklü Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonları Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.5.1. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi (PDI)

Yöntem 3.2.8.1’de anlatıldığı gibi 7,5 mg Tadalafil yüklü Tip IV lipit yapılı formülasyonları üzerinde yapılan damlacık boyutu ve PDI çalışmaları sonuçları Tablo 4-16’da verilmiştir.

Tablo 4-16: Tadalafil yüklü Tip IV lipit yapılı formülasyonların damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3)

$S_{mix} + \text{Tadalafil (7,5 mg)}$	S_{mix} Oranı	Damlacık Boyutu (nm) ($\pm SD$)	PDI ($\pm SD$)
Kolliphor PS 80/Transcutol HP	1:1	74,72 \pm 29,42	0,186 \pm 0,094
	1:2	154,6 \pm 47,69	0,274 \pm 0,027
	2:1	32,99 \pm 26,85	0,115 \pm 0,04
Kolliphor HS 15/Transcutol HP	1:1	91,87 \pm 82,68	0,269 \pm 0,136
	1:2	6389 \pm 4516	0,977 \pm 0,040
	2:1	34,22 \pm 12,12	0,126 \pm 0,027
Kolliphor EL/Transcutol HP	1:1	76,79 \pm 54,84	0,251 \pm 0,062
	1:2	322,7 \pm 295,1	0,535 \pm 0,324
	2:1	13,71 \pm 0,669	0,111 \pm 0,009

4.5.2. Farklı Sıcaklıklarda Faz Ayrışması Değerlendirilmesi

Yöntem 3.2.8.2’de anlatıldığı gibi 7,5 mg Tadalafil yüklü Tip IV lipit yapılı formülasyonları üzerinde yapılan farklı sıcaklıklarda faz ayrışması çalışmaları sonuçları Tablo 4-17’de verilmiştir.

Tablo 4-17: Farklı sıcaklıklarda faz ayrışması değerlendirilmesi

S_{mix} +Tadalafil (7,5 mg)	S_{mix} Oranı	İlk Santrif üj	İlk Deneme		2. Deneme		3. Deneme	
			-20°C	25°C	-20°C	25°C	-20°C	25°C
Kolliphor PS80/Transcutol HP	1:1	Çökme yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
	1:2	Çökme yok	Yok	Yok	Var	Var	Var	Var
	2:1	Çökme yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Kolliphor HS15/Transcutol HP	1:1	Çökme yok	Yok	Var	Var	Var	Var	Var
	1:2	Çökme var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
	2:1	Çökme yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Kolliphor EL/Transcutol HP	1:1	Çökme yok	Yok	Var	Var	Var	Var	Var
	1:2	Çökme var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
	2:1	Çökme yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok

4.5.3. Seyreltmelere (Farklı pH'daki Çözeltiler ile) Karşı Dayanıklılık Değerlendirilmesi

Yöntem 3.2.8.3'te anlatıldığı gibi 7,5 mg Tadalafil yüklü Tip IV lipit yapılı formülasyonlar üzerinde yapılan pH seyreltmelerine karşı dayanıklılık çalışmaları sonuçları Tablo 4-18 – 4-21'de verilmiştir.

Tablo 4-18: Seyreltmelere (pH=1,2 0.1 N HCL çözeltisi ile) karşı lipit yapılı formülasyonların dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3)

S_{mix}+Tadalafil (7,5 mg)	S_{mix} Oranı	Damlacık Boyutu (nm) (±SD)	PDI (±SD)
Kolliphor PS 80/Transcutol HP	1:1	90,14±11,37	0,204±0,040
	1:2	45,46±24,81	0,184±0,074
	2:1	12,61±2,719	0,163±0,052
Kolliphor HS 15/Transcutol HP	1:1	12,85±0,156	0,124±0,024
	1:2	16,81±4,946	0,145±0,060
	2:1	13,39±1,314	0,126±0,018
Kolliphor EL/Transcutol HP	1:1	13,84±0,142	0,063±0,007
	1:2	49,21±29,44	0,138±0,016
	2:1	13,80±0,157	0,066±0,015

Tablo 4-19: Seyreltmelere (pH=4,5 tampon çözeltisi ile) karşı lipit yapılı formülasyonların dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3)

S_{mix}+Tadalafil (7,5 mg)	S_{mix} Oranı	Damlacık Boyutu (nm) (±SD)	PDI (±SD)
Kolliphor PS 80/Transcutol HP	1:1	49,77±36,09	0,130±0,045
	1:2	6749±8612	0,807±0,174
	2:1	28,97±13,90	0,177±0,031
Kolliphor HS 15/Transcutol HP	1:1	138,8±94,42	0,338±0,278
	1:2	2272±2546	0,916±0,143
	2:1	26,74±19,88	0,098±0,006
Kolliphor EL/Transcutol	1:1	16,94±2,825	0,114±0,014
	1:2	104,5±82,51	0,223±0,077
	2:1	22,17±14,16	0,158±0,038

Tablo 4-20: Seyreltmelere (pH=6,8 tampon çözeltisi ile) karşı lipit yapılı formülasyonların dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3)

S_{mix}+Tadalafil (7,5 mg)	S_{mix} Oranı	Damlacık Boyutu (nm) (±SD)	PDI (±SD)
Kolliphor PS 80/Transcutol HP	1:1	10,91±0,06	0,124±0,041
	1:2	108,3±84,24	0,195±0,137
	2:1	140,5±9,469	0,174±0,010
Kolliphor HS 15/Transcutol HP	1:1	12,66±0,122	0,080±0,009
	1:2	115,9±85,79	0,188±0,101
	2:1	12,59±0,191	0,046±0,003
Kolliphor EL/Transcutol HP	1:1	17,40±5,969	0,078±0,018
	1:2	171,9±187,9	0,294±0,129
	2:1	14,59±1,962	0,117±0,023

Tablo 4-21: Seyreltmelere (pH=7,4 tampon çözeltisi ile) karşı lipit yapılı formülasyonların dayanıklılık testi çalışmalarına ait damlacık boyutu ve PDI sonuçları (n=3)

S_{mix}+Tadalafil (7,5 mg)	S_{mix} Oranı	Damlacık Boyutu (nm) (±SD)	PDI (±SD)
Kolliphor PS 80/Transcutol HP	1:1	66,18±32,12	0,159±0,019
	1:2	301,2±192,9	0,369±0,064
	2:1	29,50±14,54	0,160±0,033
Kolliphor HS 15/Transcutol HP	1:1	42,70±25,81	0,163±0,061
	1:2	4,171e4±4,167e4	1,000±0,000
	2:1	17,43±5,781	0,145±0,025
Kolliphor EL/Transcutol HP	1:1	16,21±3,494	0,169±0,037
	1:2	1,632e4±2,790e4	0,413±0,272
	2:1	14,03±0,132	0,114±0,065

4.6. Tadalafil Yüklü Katı Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonların Hazırlanmasına Ait Bulgular

Yöntem 3.2.9’da anlatıldığı gibi yapılan karakterizasyon çalışmaları sonuçlarına göre en iyi Tadalafil yüklü formülasyonlar olarak Kolliphor PS 80/Transcutol HP ve Kolliphor EL/Transcutol HP S_{mix} karışımlarınının 2:1 oranları seçildi ve katı hale dönüştürüldü. Katı formülasyonlar için isimlendirmeler Tablo 4-22’de verilmiştir.

Tablo 4-22: Tadalafil yüklü katı Tip IV lipit yapılı formülasyonların hazırlanması

$S_{mix}(2:1)+Tadalafil$	Adsorbanlar	$S_{mix}:Adsorban$ Oranı	Formülasyonun Kodu
Kolliphor PS 80/Transcutol HP	Florite	2 : 1	F1
	Neusilin US2	2 : 1	F2
	Neusilin UFL2	2 : 1	F3
	Syloid 3050	1,5 : 1	F4
	Syloid 3150	1,5 : 1	F5
Kolliphor EL/Transcutol HP	Florite	2 : 1	F6
	Neusilin US2	2 : 1	F7
	Neusilin UFL2	2 : 1	F8
	Syloid 3050	1,5 : 1	F9
	Syloid 3150	1,5 : 1	F10

4.7. Tadalafil Yüklü Katı Tip IV Lipit Yapılı Formülasyonların Referans Ürün ile Karşılaştırmalı *İn Vitro* Çözünme Hızı Testi Çalışmalarına Ait Bulgular

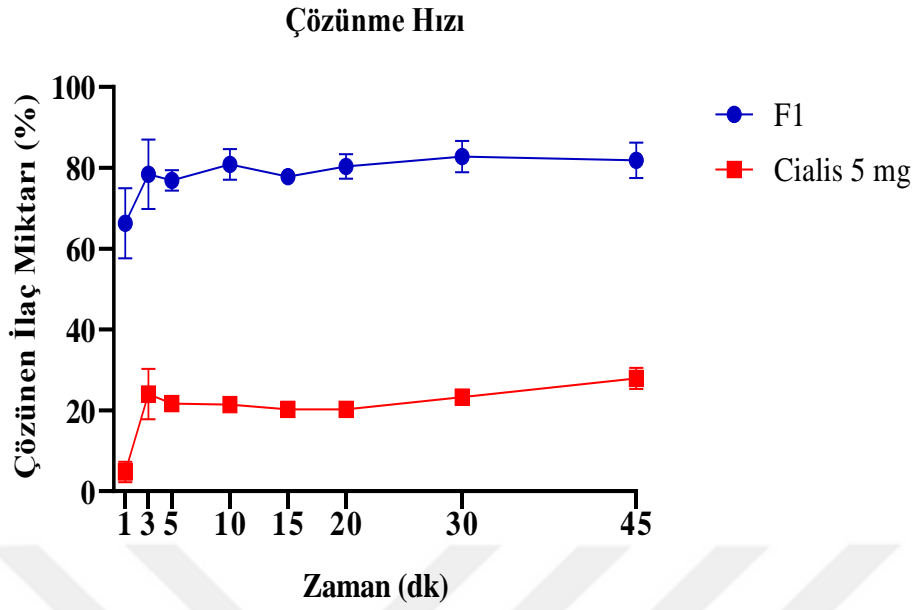
Yöntem 3.2.10’da anlatıldığı gibi yapılan *in vitro* çözünme hızı testi çalışma sonuçları Tablo 4-23 – 4-43’te çözünme hızı grafikleri ise Şekil 4-6 – 4-22’de verilmiştir.

Tablo 4-23: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürünün çözünme hızı testi sonuçları (n=3)

Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç SD (±)	RSD (%)
1	4,795104	2,579547	53,79543
3	23,994504	6,294443	26,23285
5	21,639504	1,611376	7,446455
10	21,414504	0,600258	2,803044
15	20,228124	1,134684	5,609438
20	20,244564	0,831408	4,106821
30	23,265384	1,702935	7,319608
45	27,945984	2,660259	9,519289

Tablo 4-24: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F1 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)

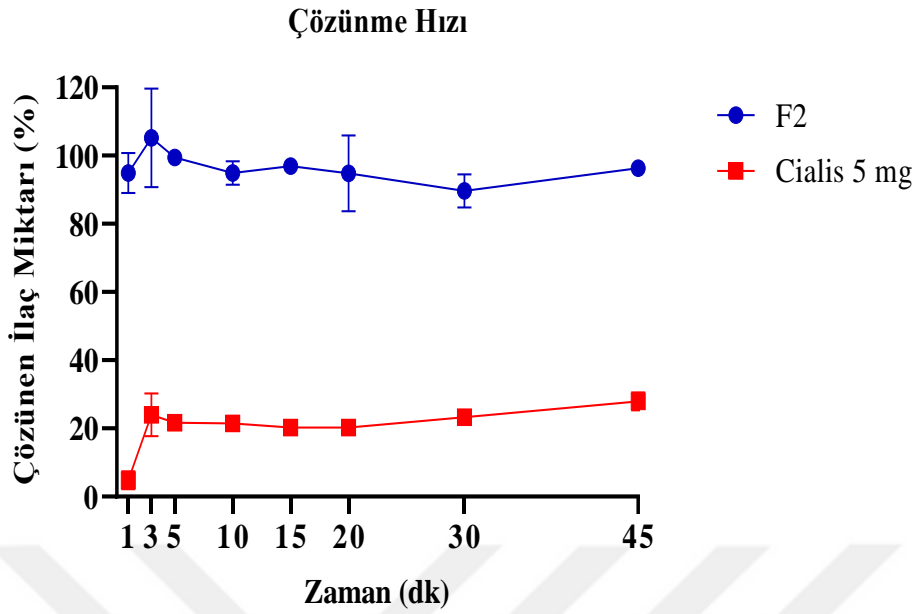
Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç SD (±)	RSD (%)
1	66,324105	8,66819	13,06944
3	78,442335	8,593935	10,95574
5	76,85226	2,544295	3,310631
10	80,82963	3,809395	4,71287
15	77,84343	1,544243	1,983781
20	80,31753	3,052116	3,800062
30	82,775745	3,894228	4,704552
45	81,827235	4,440432	5,426594



Şekil 4-6: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F1 formülasyonunun çözünme hızı grafiği

Tablo 4-25: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F2 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)

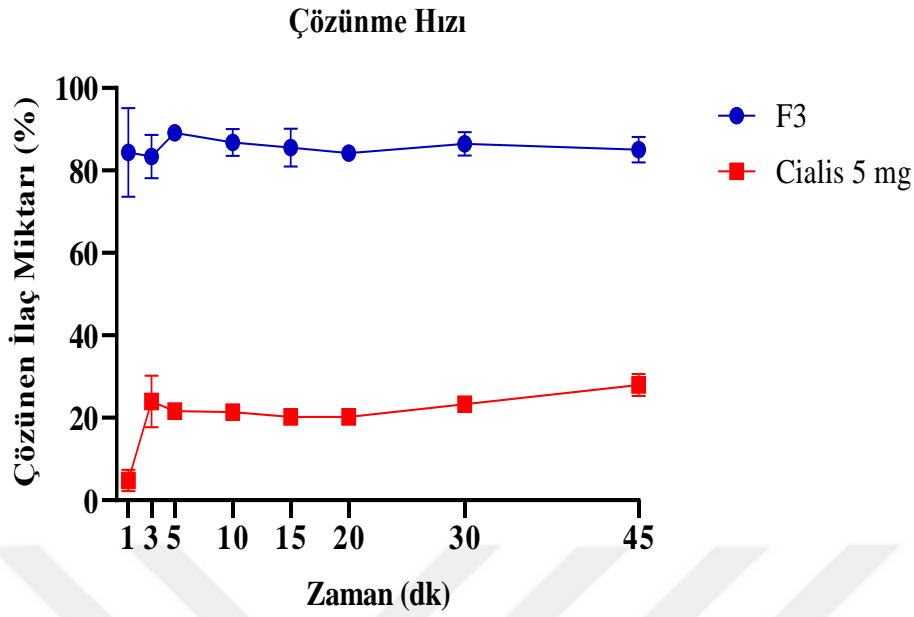
Zaman (dk)	Çözünen İlaç Miktarı (%)	İlaç	SD (\pm)	RSD (%)
1	94,930974		5,923788	6,2401
3	105,221889		14,44451	13,72767
5	99,428859		1,408667	1,416759
10	94,863744		3,456786	3,643949
15	96,932034		1,257632	1,297437
20	94,782204		11,12873	11,74137
30	89,682894		4,913448	5,47869
45	96,331689		1,703173	1,76803



Şekil 4-7: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F2 formülasyonunun çözünme hızı grafiği

Tablo 4-26: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F3 formülasyonunun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)

Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç	SD (±)	RSD (%)
1	84,341079		10,77115	12,77094
3	83,339019		5,254758	6,305279
5	89,114049		1,737885	1,950181
10	86,779179		3,250367	3,745561
15	85,560039		4,568121	5,339082
20	84,173769		1,057506	1,256337
30	86,428764		2,834636	3,279737
45	85,065084		3,128685	3,67799

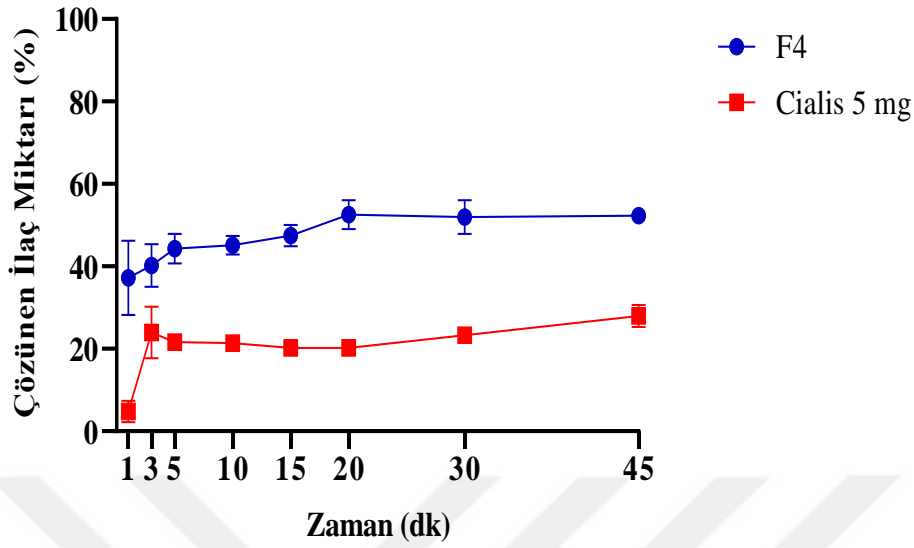


Şekil 4-8: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F3 formülasyonu çözünme hızı grafiği

Tablo 4-27: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F4 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)

Zaman (dk)	Çözünen İlaç Miktarı (%)	İlaç	SD (\pm)	RSD (%)
1	37,212669		8,971414	24,10849
3	40,204089		5,173171	12,86728
5	44,302599		3,567876	8,053424
10	45,163314		2,314381	5,124471
15	47,469789		2,55545	5,383319
20	52,504434		3,552471	6,76604
30	51,917994		4,102113	7,901139
45	52,273449		1,677631	3,209337

Çözünme Hızı

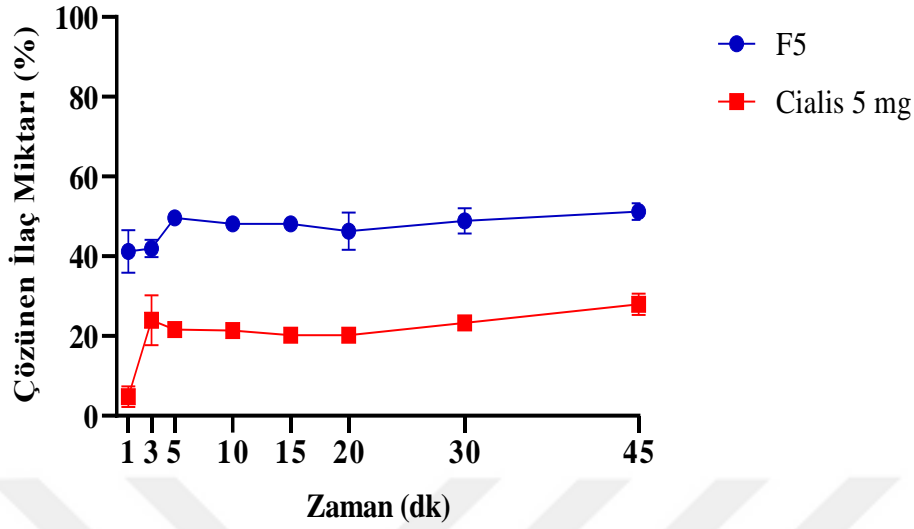


Şekil 4-9: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F4 formülasyonu çözünme hızı grafiği

Tablo 4-28: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F5 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)

Zaman (dk)	Çözünmüş İlaç Miktarı (%)	İlaç	SD (±)	RSD (%)
1	41,232798		5,360533	13,00065
3	41,989068		2,177421	5,185685
5	49,601493		1,042434	2,101618
10	48,108978		1,74133	3,619553
15	48,150333		1,736202	3,605794
20	46,296603		4,660408	10,06641
30	48,888063		3,159663	6,463056
45	51,234228		2,09722	4,093396

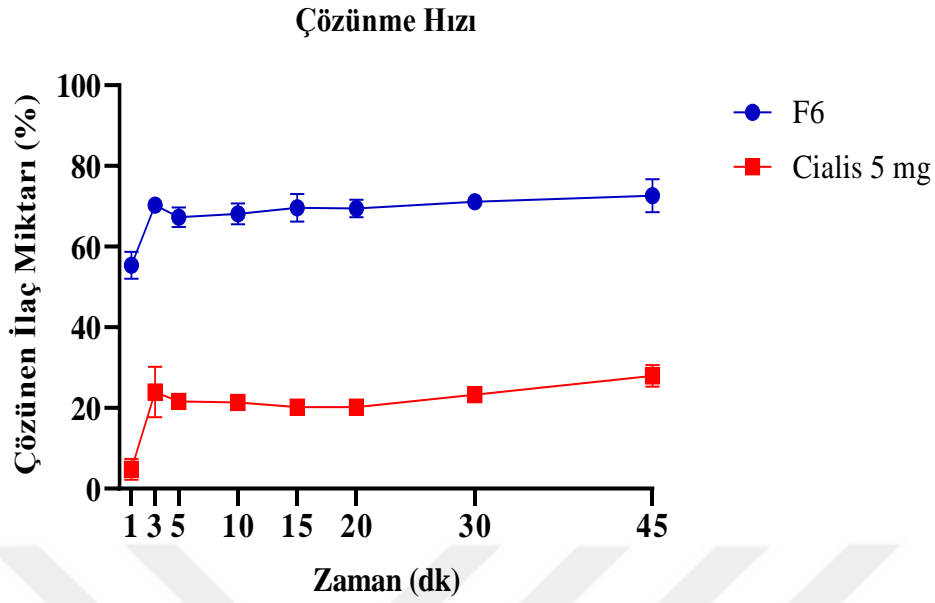
Çözünme Hızı



Şekil 4-10: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F5 formülasyonu çözünme hızı grafiği

Tablo 4-29: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F6 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)

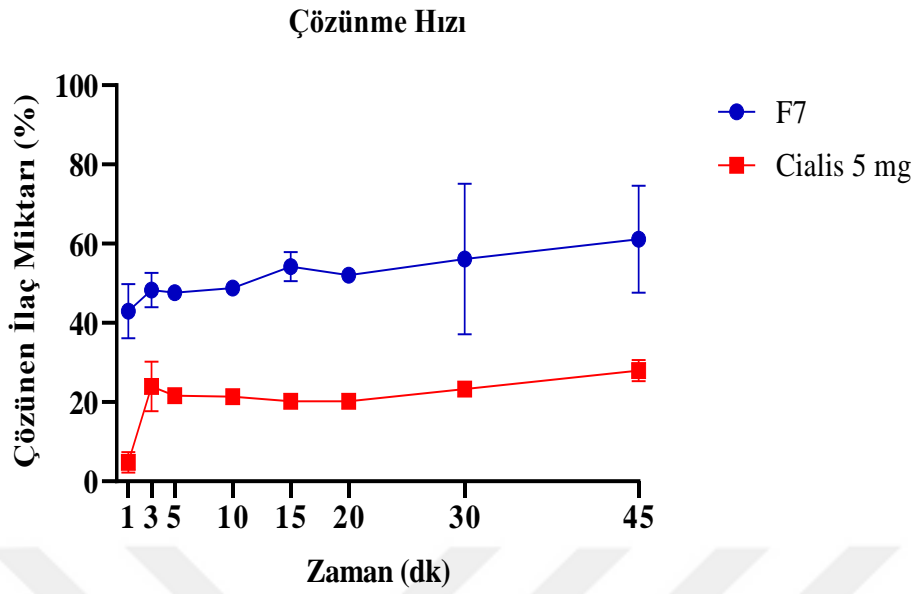
Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç	SD (±)	RSD (%)
1	55,338651		3,342209	6,039556
3	70,284321		1,048765	1,492175
5	67,315086		2,459017	3,652995
10	68,103171		2,58385	3,794023
15	69,622911		3,383436	4,859659
20	69,456951		2,173321	3,129019
30	71,133426		1,642277	2,308728
45	72,651501		4,13519	5,691816



Şekil 4-11: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F6 formülasyonu çözünme hızı grafiği

Tablo 4-30: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F7 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=3)

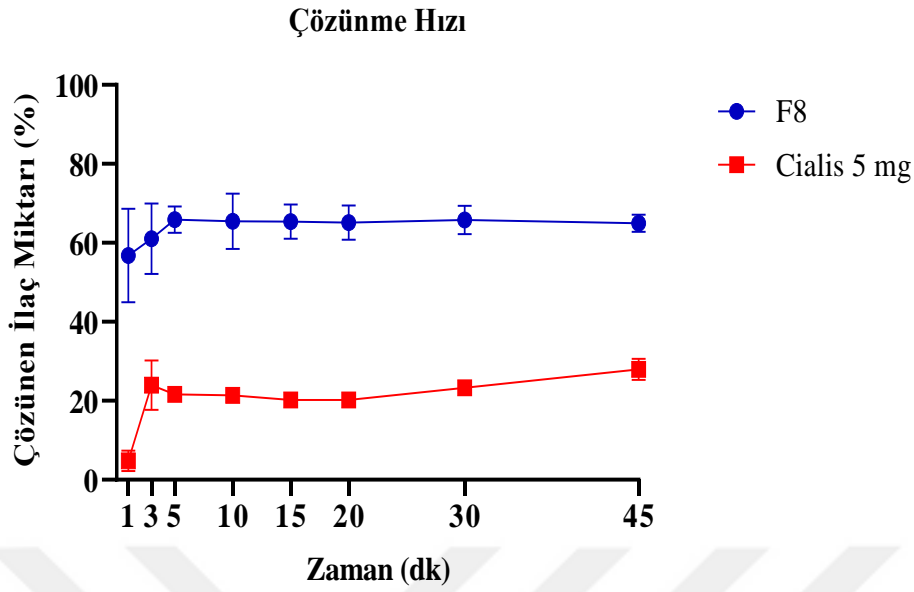
Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç	SD (±)	RSD (%)
1	42,993582		6,864791	15,96701
3	48,282882		4,345144	8,999347
5	47,655282		1,977145	4,148848
10	48,786822		1,379942	2,828514
15	54,211542		3,650877	6,734501
20	52,035702		1,568912	3,015068
30	56,166582		19,02907	33,8797
45	61,097022		13,50179	22,09893



Şekil 4-12: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F7 formülasyonu çözünme hızı grafiği

Tablo 4-31: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F8 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)

Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç	SD (\pm)	RSD (%)
1	56,79486		11,853001	20,86985
3	61,05591		8,919842	14,6093
5	65,851065		3,394212	5,154377
10	65,456055		6,997267	10,69002
15	65,38338		4,346964	6,648423
20	65,122785		4,319833	6,633366
30	65,79999		3,564986	5,417913
45	64,9719		2,171841	3,342739

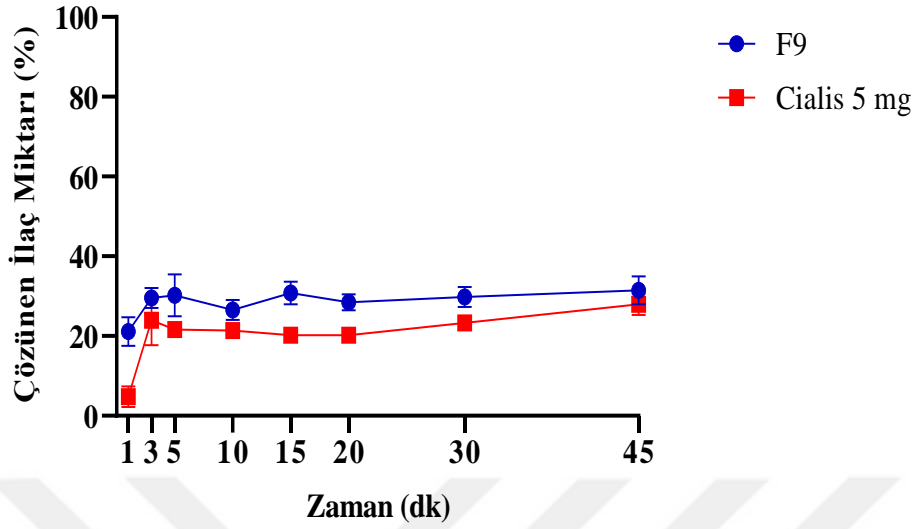


Şekil 4-13: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F8 formülasyonu çözünme hızı grafiği

Tablo 4-32: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F9 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)

Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç	SD (\pm)	RSD (%)
1	21,142026		3,583199	16,94823
3	29,555946		2,53408	8,573842
5	30,181716		5,284647	17,50943
10	26,507241		2,540983	9,585996
15	30,758976		2,896794	9,417719
20	28,476936		2,009146	7,055345
30	29,803806		2,513747	8,434315
45	31,419666		3,527718	11,22774

Çözünme Hızı

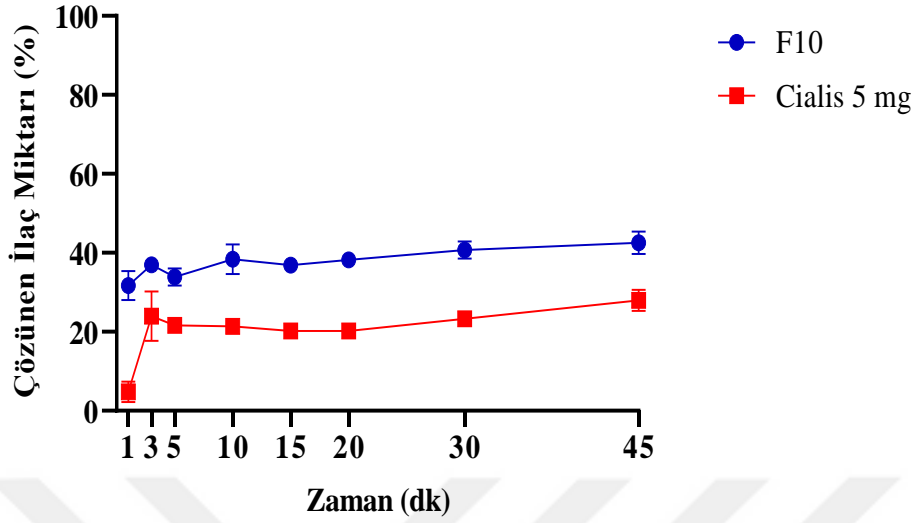


Şekil 4-14: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F9 formülasyonu çözünme hızı grafiği

Tablo 4-33: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında F10 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)

Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç	SD (±)	RSD (%)
1	31,736745		3,673601	11,57523
3	36,99405		1,671794	4,519089
5	33,914205		2,207505	6,509087
10	38,356875		3,796271	9,897237
15	36,87804		1,681285	4,559041
20	38,185335		1,879937	4,923191
30	40,744665		2,180042	5,350497
45	42,502185		2,893366	6,80757

Çözünme Hızı



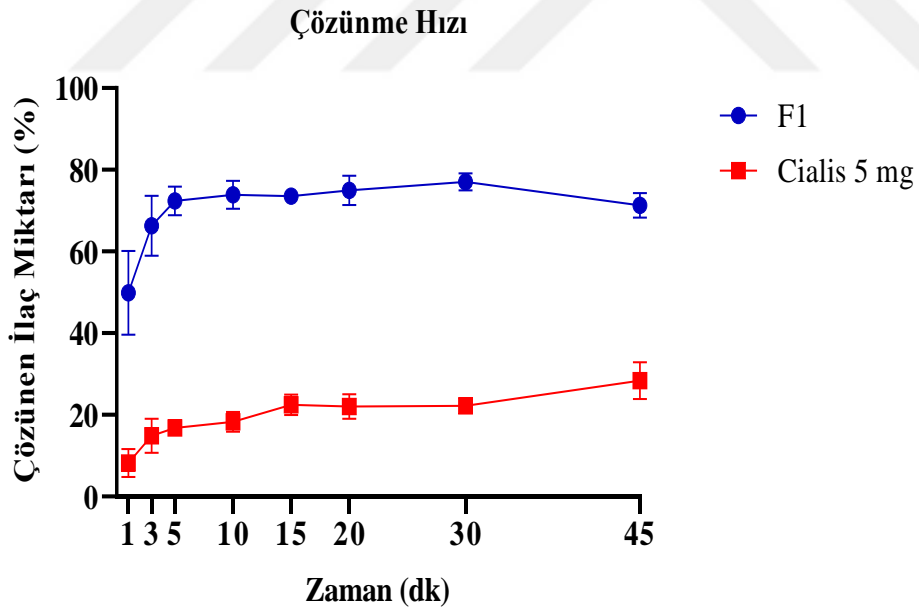
Şekil 4-15: pH=1,2 (0.1 N HCL çözeltisi) ortamında referans ürüne karşılık F10 formülasyonu çözünme hızı grafiği

Tablo 4-34: pH=4,5 fosfat tamponu ortamında referans ürünün çözünme hızı testi sonuçları (n=3)

Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç	SD (±)	RSD (%)
1	8,175792		3,444223	42,12709
3	14,852890		4,148421	27,93006
5	16,793530		1,211010	7,21117
10	18,289270		2,378182	13,00315
15	22,461970		2,530996	11,26792
20	22,071550		3,050924	13,82288
30	22,191190		1,623202	7,314624
45	28,360030		4,556143	16,06537

Tablo 4-35: pH=4,5 fosfat tamponu ortamında F1 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)

Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç	SD (\pm)	RSD (%)
1	49,834179		10,26169	20,59167
3	66,330594		7,366232	11,10533
5	72,354474		3,553715	4,911535
10	73,855494		3,466622	4,69379
15	73,556154		1,313635	1,785894
20	74,916864		3,584308	4,784381
30	77,019444		2,116375	2,747845
45	71,291619		2,958835	4,150327

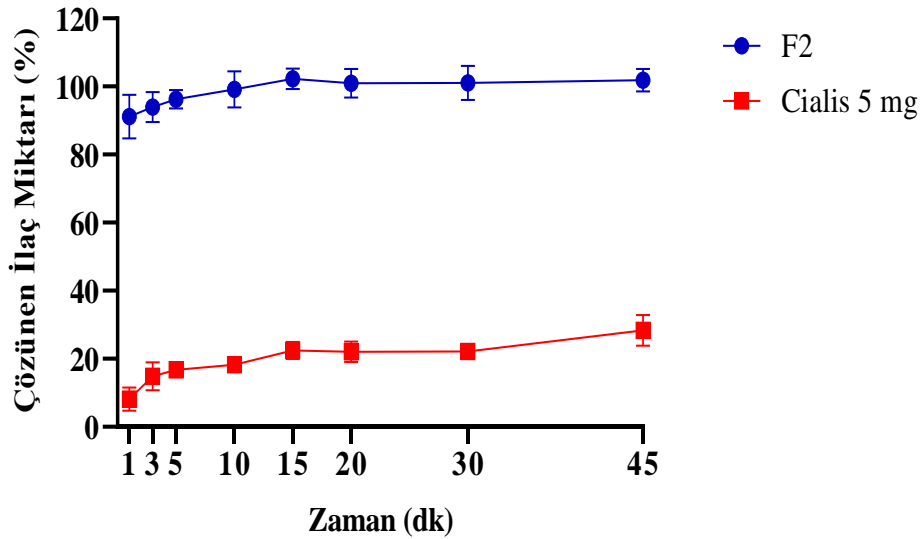


Şekil 4-16: pH=4,5 fosfat tamponu ortamında referans ürüne karşılık F1 formülasyonu çözünme hızı grafiği

Tablo 4-36: pH=4,5 fosfat tamponu ortamında F2 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)

Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç	SD (\pm)	RSD (%)
1	91,198674		6,424528	7,044541
3	93,996189		4,48244	4,768747
5	96,201504		2,723178	2,830702
10	99,114174		5,338761	5,386476
15	102,262149		2,985952	2,9199
20	100,949769		4,156514	4,117408
30	101,010204		5,078923	5,028129
45	101,828304		3,294063	3,234919

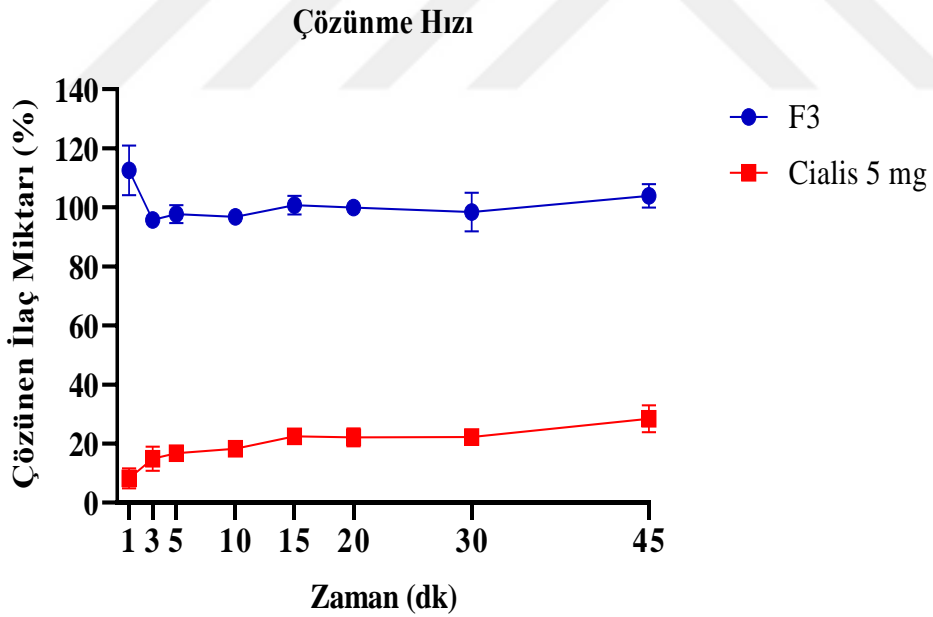
Çözünme Hızı



Şekil 4-17: pH=4,5 fosfat tamponu ortamında referans ürüne karşılık F2 formülasyonu çözünme hızı grafiği

Tablo 4-37: pH=4,5 fosfat tamponu ortamında F3 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=3)

Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç	SD (\pm)	RSD (%)
1	112,53417		8,37205	7,439563
3	95,76219		0,748123	0,78123
5	97,68693		3,012987	3,08433
10	96,75831		2,256469	2,332067
15	100,78521		3,196179	3,171278
20	99,90579		1,106744	1,107788
30	98,38491		6,539457	6,646809
45	103,86369		3,961165	3,813811



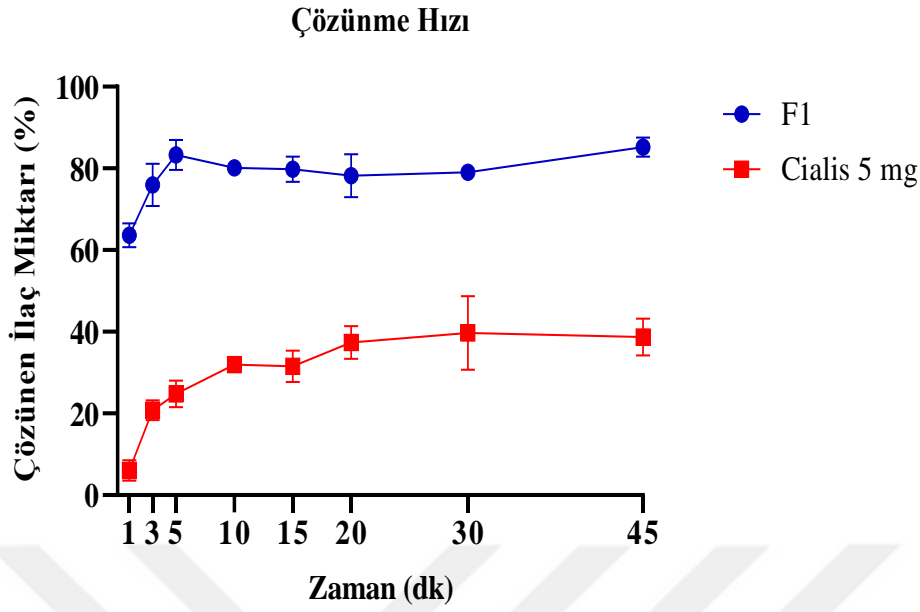
Şekil 4-18: pH=4,5 fosfat tamponu ortamında referans ürüne karşılık F3 formülasyonu çözünme hızı grafiği

Tablo 4-38: pH=6,8 fosfat tamponu ortamında referans ürünün çözünme hızı testi sonuçları (n=3)

Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç	SD (\pm)	RSD (%)
1	6,002538		2,569693	42,81011
3	20,799260		2,439215	11,72741
5	24,774680		3,292071	13,28805
10	31,930400		1,526862	4,781844
15	31,519460		3,857268	12,23774
20	37,381220		3,984605	10,65938
30	39,696860		9,002427	22,67793
45	38,687900		4,535201	11,72253

Tablo 4-39: pH=6,8 fosfat tamponu ortamında F1 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4).

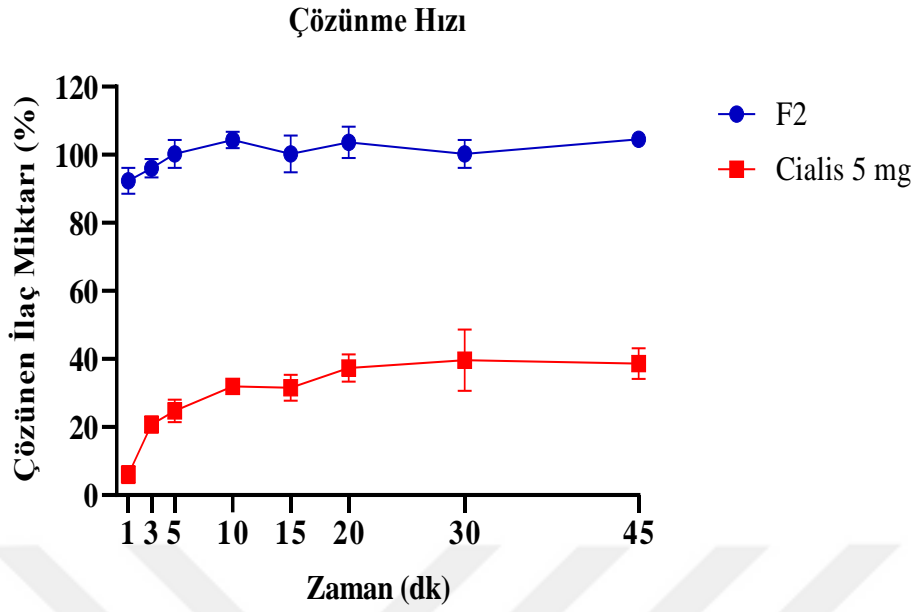
Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç	SD (\pm)	RSD (%)
1	63,597627		2,973807	4,675972
3	75,967632		5,17499	6,812099
5	83,294442		3,643203	4,373885
10	80,111322		1,689504	2,108945
15	79,755192		3,091552	3,876302
20	78,246702		5,261666	6,724457
30	79,027002		0,31287	0,395903
45	85,243662		2,403391	2,819437



Şekil 4-19: pH=6,8 fosfat tamponu ortamında referans ürüne karşılık F1 formülasyonu çözünme hızı grafiği

Tablo 4-40: pH=6,8 fosfat tamponu ortamında F2 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)

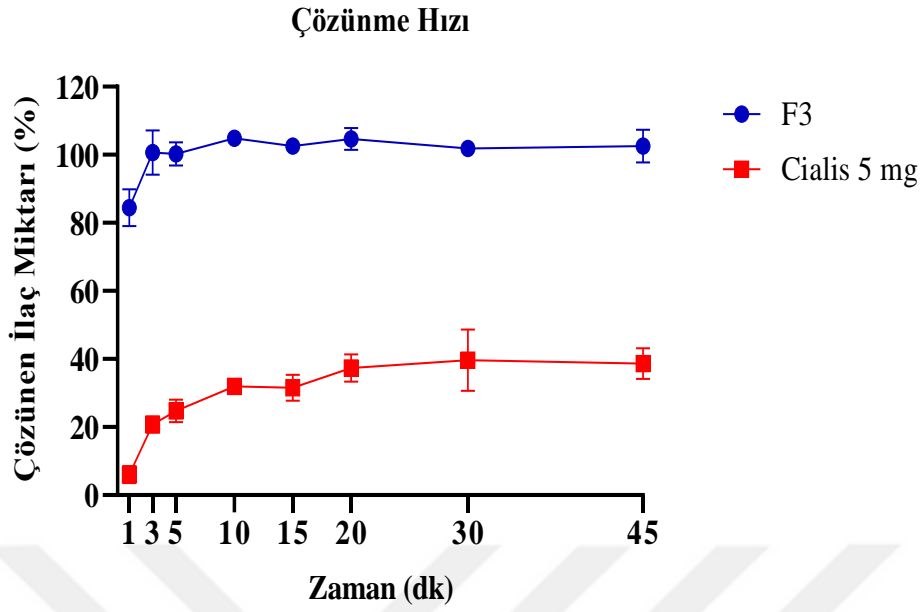
Zaman (dk)	Çözünen İlaç Miktarı (%)	İlaç	SD (\pm)	RSD (%)
1	92,370294		3,790659	4,103764
3	96,050709		2,695828	2,806672
5	100,22626		4,10255	4,093289
10	104,36729		2,38182	2,282152
15	100,25762		5,366096	5,352307
20	103,66534		4,600731	4,438061
30	100,24547		4,104947	4,094895
45	104,52529		0,693979	0,663934



Şekil 4-20: pH=6,8 fosfat tamponu ortamında referans ürüne karşılık F2 formülasyonu çözünme hızı grafiği

Tablo 4-41: pH=6,8 fosfat tamponu ortamında F3 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)

Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç	SD (\pm)	RSD (%)
1	84,492059		5,407283	6,399753
3	100,61691		6,517751	6,477789
5	100,24386		3,362125	3,353946
10	104,89713		2,242058	2,137387
15	102,51096		1,986416	1,93776
20	104,66065		3,213467	3,070368
30	101,88411		2,380004	2,335991
45	102,52864		4,815111	4,696357



Şekil 4-21: pH=6,8 fosfat tamponu ortamında referans ürüne karşılık F3 formülasyonu çözünme hızı grafiği

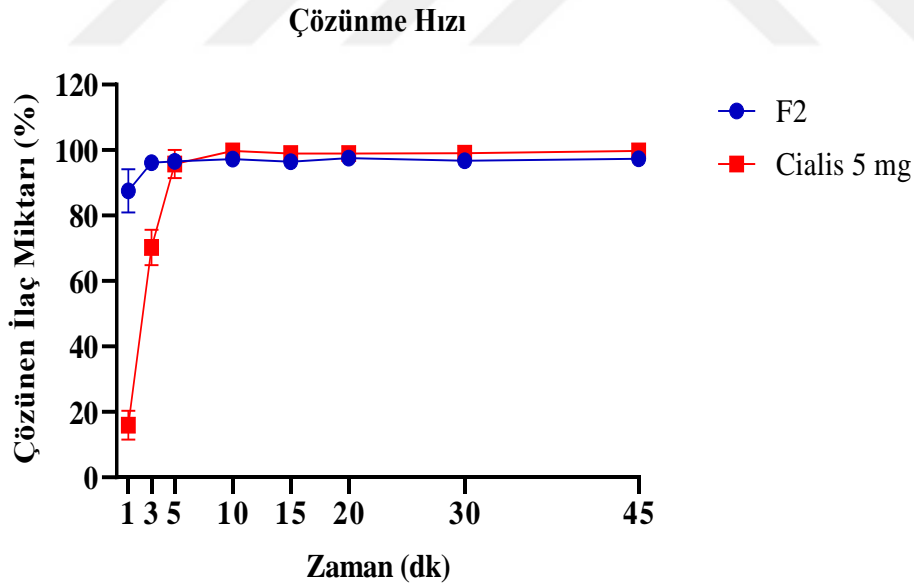
pH ortamlarında gerçekleştirilen çözünme hızı çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre F2 formülasyonu 3 ortamda da 1. dakika sonunda yüksek çözünürlük göstermiştir. F2 formülasyonundan Tadalafil'in çözünme hızı performansı referans ürün ile karşılaştırmalı olarak %0,5'lik SLS içeren çözünme ortamında değerlendirilmiştir.

Tablo 4-42: %0,5'lik SLS ortamında referans ürünün çözünme hızı testi sonuçları (n=3)

Zaman (dk)	Çözünen İlaç Miktarı (%)	İlaç SD (\pm)	RSD (%)
1	15,962204	4,387588	27,48736
3	70,212329	5,451135	7,763786
5	95,713589	4,289876	4,481993
10	99,747612	1,936617	1,941517
15	98,985792	1,601254	1,61766
20	98,958073	1,399214	1,413946
30	99,051766	0,684309	0,69086
45	99,772518	0,821349	0,823222

Tablo 4-43: %0,5'lik SLS ortamında F2 formülasyonun çözünme hızı testi sonuçları (n=4)

Zaman (dk)	Çözünen Miktarı (%)	İlaç	SD (\pm)	RSD (%)
1	87,541598		6,640212	7,585208
3	96,142062		1,353776	1,4081
5	96,565369		0,856442	0,886904
10	97,201825		0,53408	0,549455
15	96,494638		0,484013	0,501596
20	97,559043		0,569277	0,58352
30	96,745761		0,183129	0,189289
45	97,369176		1,057239	1,085805



Şekil 4-22: %0,5'lik SLS ortamında referans ürüne karşılık F2 formülasyonu çözünme hızı grafiği

5. TARTIŞMA

Yeni ürün geliştirme zamanı geliştirilen moleküllerin suda düşük çözünürlüğe sahip olması sık karşılaşılan bir özellik olarak karşımıza çıkmaktadır (Lipinski, 2000). Sudaki çözünürlüğü 100 µg/mL'nin altında bulunan etken maddeler düşük çözünürlüğe sahip ilaçlar olarak nitelendirilmektedir (Hörter ve Dressman, 2001). Oral yol ile uygulanan bir ilacın GI kanaldan emilerek terapötik etki gösterebilmesi için, etken maddenin yeterli miktarının mide ve bağırsak sıvılarında çözünmesi gerekmektedir. İlaç çözünmüş halde olmadan GI yoldan emilemediği için, bu durum biyoyararlanım için sınırlayıcı rol oynamaktadır (Huang ve Tong, 2004). İlaçların bu problemini çözmek amacıyla partikül büyüklüğünün azaltılması, kristal özelliğinin değiştirilmesi, katı dispersiyonlar, katı çözeltiler, tuz oluşumu, nanosüspansiyonlar, yüzey etken madde ve yardımcı çözücü kullanımı gibi bazı farklı yöntemler oluşturulmuştur (Savjani ve ark., 2012). Ancak son yıllarda sudaki çözünürlüğü düşük olan veya lipofilik maddelerin biyoyararlanımının artırılması amacıyla lipit yapılı ilaç taşıyıcı sistemlerin (LBDDS) arasında yer alan kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemlerin (SEDDS) kullanımı giderek artmaktadır (Chatterjee ve ark., 2016).

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler bileşimlerinde yardımcı madde olarak, doğal veya sentetik yağ, yüzey etken madde, yardımcı yüzey etken madde ve/veya yardımcı çözücüler bulunur (Kazi ve ark., 2020). Ancak bu sistemler arasında yapısında yağ olmayan, sadece yüzey etken madde ve/veya yardımcı yüzey etken madde içeren Tip IV lipit yapılı formülasyonlar da vardır.

Tadalafil, erektil disfonksiyon ve benign prostat hipertrofisi (genişlemiş prostat) semptomlarını tedavi etmek için kullanılan bir fosfodiesteraz-5 (PDE-5) inhibitörüdür (Coward ve Carson, 2008). Tadalafil nispeten lipofilik bir moleküldür (log P=2,48) (Park ve ark., 2014). BCS'ye göre Sınıf II ilaç olarak sınıflandırılır. Sudaki çözünürlüğü 3,48 µg/mL'dir (Shinde ve ark., 2018). Düşük çözünürlüğe sahip olması bu ilacın en büyük dezavantajıdır (Choi ve ark., 2017). Bu sorunu çözmek için geliştirilen katı dispersiyonlar (Wlodarski ve ark., 2015), nanoyapılı lipit taşıyıcılar (Baek ve ark., 2015), Kendiliğinden emülsifiye olabilen Tip III sistemler (El-Badry ve ark., 2014) ve nanosüspansiyonlar (Obeidat ve Sallam, 2014) gibi ilaç taşıyıcı sistemler literatürde bulunmaktadır. Ancak, Tadalafil içeren Lipit formülasyon sınıflandırma sistemi Tip IV

geliştirilmesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu sebeple, Tadalafil yüklü katı Tip IV formülasyonlarının geliştirilmesi ile etken maddenin çözünürlüğünün artırılması ve daha yüksek *in vitro* çözünme hızı ile oral biyoyararlanımın artırılması ve dolayısı ile tedavi dozunun azaltılabilmesi potansiyelinin değerlendirilmesi yaklaşımı öne sürülmüştür.

Tez çalışmasında, model etken madde olarak seçilen BCS Sınıf II'ye dahil bir ilaç molekülü olan Tadalafil'in öncelikle Tip IV lipit yapılı taşıyıcı sisteminin geliştirilmesi ve karakterizasyonun yapılması, ardından seçilen Tadalafil yüklenmiş lipit yapılı taşıyıcı sistemin katı hale getirilmesi için farklı özellikteki adsorban maddeler ile katı toz formunda formülasyonlarının geliştirilmesi ve bu formülasyonların referans ürün ile karşılaştırmalı *in vitro* çözünme hızı performansının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada öncelikle, analizlerde kullanılacak Tadalafil'e ait HPLC yöntemi miktar tayini yönteminin geliştirilmesi ve yöntemin validasyon çalışmaları yapıldı. ICH Q2 kriterlerine uygun olarak, Tadalafil'in doğruluk, kesinlik, doğruluk ve örneklerin stabilitesi parametreleri incelendi. İlk olarak gerçekleştirilen doğruluk çalışmasında %10-120 derişimleri arasında 7 noktalı bir kalibrasyon doğrusu oluşturuldu ve doğruluk denklemi $y=1E+08x-7024,8$ ve R^2 değeri 0,9999 olarak bulundu. (Tablo 4-1 ve Şekil 4-2).

Orta (%100'lük) derişimde hazırlanan 6 tekrarlı gün içi ve 3 farklı günde uygulanan günler arası kesinlik çalışmalarında elde edilen RSD değerleri ICH Q2 kriterlerine uygun olarak %2'nin altında bulundu (Tablo 4-2 ve 4-3).

Düşük (%80), orta (%100) ve yüksek (%120) derişimlerde 2 ayrı plasebo hazırlanarak 3 tekrarlı doğruluk çalışması yapıldı. Her bir plasebo için ayrı ayrı hesaplanan geri kazanım değerleri %90'dan büyük ve RSD değerleri %2'nin altında bulundu (Tablo 4-4 ve 4-5).

%100'lük derişimde hazırlanan standart çözeltisi için uygulanan örneklerin stabilitesi testi çalışması sonucunda bu çözeltinin 24 saat boyunca oda sıcaklığında stabil kaldığı görüldü ve RSD değerleri %2'nin altında bulundu (Tablo 4-6).

Yapılan bütün validasyon parametrelerine ait çalışmalar sonucunda Tadalafil için geliştirilen HPLC yönteminin ICH Q2'de belirtilen kriterlere göre doğruluğu,

kesinliği, hassasiyeti ve kararlılığı gösterildi. Analizlerde yöntemin kullanılmasına karar verildi.

Formülasyon çalışmalarında kullanılacak yardımcı maddelerin etken madde çözünürlüğünün yüksek olması ve kullanılacak etken maddeyi tamamen çözmesi beklenmektedir (Han ve ark., 2020). Bu sebeple formülasyon çalışmalarında Tip IV lipit yapılı formülasyonunun geliştirilmesi için Tadalafil'in farklı yardımcı maddelerdeki çözünürlük çalışmaları gerçekleştirilerek Tadalafil'in en yüksek çözünürlüğe sahip olduğu ve formülasyonda yer alacak maddelere karar verildi. Çözünürlük çalışmaları sonucuna göre kullanılan yardımcı maddeler içerisinde Transcutol HP yardımcı yüzey etken madde olarak, Kolliphor PS 20, Kolliphor PS 80, Kolliphor HS 15, Kolliphor EL, Kollisolv PEG 400 ve Gelucire 44/14 yüzey etken maddeler olarak formülasyon geliştirilmesi için uygun bulundu (Şekil 4-3).

Uygun bulunan yardımcı maddelerin farklı oranlardaki (1:1, 1:2 ve 2:1) formülasyon karışımları (S_{mix}) öncelikle Tadalafil yüklenmeden hazırlanarak karakterizasyon çalışmaları yapıldı. Çalışmalar boyunca etken madde yüklü olmayan Tip IV lipit yapılı formülasyonların fiziksel özellikleri (renk, şeffaflık), damlacık boyutu ve polidispersite indeksi (PDI) değerleri, Transmittans (%) ölçümü ve farklı pH'daki çözeltiler ile seyreltmelerine karşı dayanıklılığı değerlendirildi.

Hazırlanan formülasyonların transparan ve homojen görünümlü olması beklenmektedir, bu amaçla hazırlanan formülasyonlar öncelikle görsel kontrol edilir (Mesut ve ark., 2020). Fiziksel özelliklerine göre hazırlanan Tip IV lipit yapılı formülasyonların berrak olduğu ve hiçbir faz ayrımının olmadığı görüldü (Şekil 4-4). Saf su ile seyreltilen formülasyonlar arasından Gelucire 44/14/Transcutol HP S_{mix} karışımları hariç diğerlerinin şeffaf olduğu görüldü (Tablo 4-7).

Gastrointestinal sistemden emilimi gerçekleştirecek olan etken maddelerin lipit yapılı formülasyonlarının küçük damlacık boyutu ve düşük PDI değerine sahip olması artmış arayüzey alanları sayesinde absorpsiyonu olumlu yönde etkilediği bildirilmektedir. PDI değerlerinin küçük olması da geliştirilen lipit yapılı sistemin fiziksel kararlılığı açısından önemlidir. Bu sebeple hazırlanan formülasyonlarda damlacık boyutu ve PDI değeri küçük olan formülasyonlar tercih edilir (Alghananim ve ark., 2020). Bu yaklaşımla, 3 paralel çalışma ile saf su ile seyreltilen formülasyonlar arasından 37°C sıcaklıkta, 173°C açıda, 60 saniye süreli 12-17 taramayla Malvern Zeta-

Sizer-Nano ZS cihazı ile yapılan damlacık boyutu ve PDI sonuçlarına göre 100 nm'den küçük boyutlu ve 0,3'ten küçük PDI değerlerine sahip formülasyonlar seçildi (Tablo 4-8). Elde edilen sonuçlara göre sırası ile 1:1, 1:2 ve 2:1 oranında hazırlanmış Kolliphor PS 80/Transcutol HP, Kolliphor HS 15/Transcutol HP ve Kolliphor EL/Transcutol HP S_{mix} karışımları uygun formülasyonlar olarak belirlendi. Seçilen bu formülasyonların 1 hafta sonra fiziksel dayanıklılığı açısından damlacık boyutu ve PDI değerleri ölçümleri yeniden tekrarlandı (Tablo 4-9).

Saf su ile seyreltilen formülasyonların UV Spektrofotometrede 650 nm'de uygulanan Transmittans (%) ölçümleri sonucunda Transmittans değerleri %99,77 veya %100 olarak bulundu (Tablo 4-10). Bu sonuçların %100'e yakın olması hazırlanan formülasyonların berrak ve şeffaf olduğunu göstermektedir (Alghananim ve ark., 2020).

Formülasyonların farklı fizyolojik pH'larda seyreltilmesi, kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemlerin fazlarının ayrılması üzerinde önemli etkiye sahiptir (Singh ve ark., 2009). Bu sebeple, hazırlanan formülasyonların fizyolojik ortamlarda oluşturacağı damlacık boyutu ve PDI değerlerini tespit etmek için farklı pH'lardaki (pH=1,2 0.1 N HCL çözeltisi, pH=4,5, pH=6,8 ve pH=7,4 tampon çözeltisi) çözeltiler ile seyreltilerek, 37°C sıcaklıkta, 173°C açıda, 60 saniye süreli 12-17 taramayla Malvern Zeta-Sizer-Nano ZS cihazı ile ölçümler yapıldı. Ölçüm sonucunda damlacık boyutu değerleri 100 nm'den az, PDI değerleri 0,3'ten küçük olan formülasyonların pH seyreltmelerine karşı dayanıklılığı tespit edildi. Seyreltilmiş formülasyonların GI sistemden atılana kadar yapısını koruması önemli olduğundan, 48 saat boyunca oda sıcaklığında tutularak herhangi bir faz ayrışması işareti olup olmadığı gözlemlendi (Date ve Nagarsenker, 2007). Bu çalışmaya göre seyreltilen formülasyonlarda hiçbir bulanıklık ve faz ayrışması görülmedi. 48 saat sonunda seyreltilen formülasyonların dayanıklılığı açısından damlacık boyutu ve PDI değerleri ölçümleri yeniden tekrarlandı (Tablo 4-11, 12, 13 ve 14).

Etken madde yüklenmeden hazırlanan Tip IV lipit yapılı formülasyonlar için yapılan bütün karakterizasyon çalışmalarına göre en iyi formülasyonlar olarak 1:1, 1:2 ve 2:1 oranında hazırlanan Kolliphor PS 80/Transcutol HP, Kolliphor HS 15/Transcutol HP ve Kolliphor EL/Transcutol HP S_{mix} karışımları uygun bulundu.

Uygun olduğu belirlenmiş olan Tip IV lipit yapılı formülasyonlarına yüklenen Tadalafil'in miktarını belirlemek amacıyla çözünürlük çalışmaları gerçekleştirilerek

Tadalafil'in en fazla çözünebildiği miktar belirlendi. Analiz sonucunda formülasyonlar içerisinde Tadalafil'in çözünebildiği miktarının 20 mg'dan fazla olduğu tespit edildi (Şekil 4-5). Bundan sonra 15 mg ve 20 mg Tadalafil 2 mL formülasyon içerisinde manyetik karıştırıcıda 30 dak boyunca karıştırıldı. Süre sonunda 20 mg yüklü Tadalafil'in formülasyon içerisinde tam çözünemediği, etken maddenin çöktüğü görüldü. 15 mg Tadalafil yüklenmiş Tip IV formülasyonda ise Tadalafil'in tamamının çözüldüğü saptandı. Lipit yapıları formülasyonlarda etken maddenin yükleme işlemi sonrası çökmemesi beklenmektedir (Dash ve ark., 2015). Zaman içerisinde doygunluk konsantrasyonuna bağlı olarak etken maddenin çökmemesi için, hazırlanan 1 mL formülasyonda Tadalafil'in en iyi ve en fazla çözünebildiği miktar 7,5 mg olduğu belirlendi (Tablo 4-15).

Çözünürlük çalışması sonrası bütün formülasyonlara 7,5 mg Tadalafil yüklenerek etken madde yüklü olmayan formülasyonlarda olduğu gibi, hazırlanan formülasyonlar üzerinde karakterizasyon çalışmaları yapıldı. Formülasyonların dış etkenlerden kaynaklanabilecek değişimlere dayanıklı olması önemli bir parametredir. Bu nedenle formülasyonlar üzerinde termodinamik stabilite çalışmaları ve farklı pH değişiminin formülasyon damlacık boyutu ve PDI üzerine etkisine yönelik çalışmalar yapılması önerilmekte ve lipit yapıları formülasyonların bu değişimlere dayanıklı olması beklenmektedir (Khan ve ark., 2015). Çalışmalar süresince Tadalafil yüklü Tip IV lipit yapıları formülasyonların damlacık boyutu ve PDI değerleri, farklı sıcaklıklarda (-20°C ve 25°C) faz ayrışması değerlendirilmesi ve farklı pH'daki (pH=1,2 0.1 N HCL çözeltisi, pH=4,5, pH=6,8 ve pH=7,4 tampon çözeltisi) çözeltiler ile seyreltmelerine karşı dayanıklılığı değerlendirildi. Gerçekleştirilen karakterizasyon çalışmalarına göre 100 nm'den düşük damlacık boyutuna ve 0,3'ten küçük PDI değerine sahip ve farklı sıcaklıklarda santrifüje edildiğinde faz ayrışması veya etken madde çökmesi olmayan formülasyonlar olarak; 2:1 oranında hazırlanan Kolliphor PS 80/Transcutol HP ve Kolliphor EL/Transcutol HP formülasyonları uygun bulundu (Tablo 4-16, 17, 18, 19, 20, 21).

Sıvı formda görülebilecek emülsiyon agregasyonu, faz ayrımı, etken maddenin nispeten hızlı parçalanması problemlerinin üstesinden gelebilmek için lipit yapıları formülasyonlar poröz yapıdaki adsorban maddeler ile katı hale getirilir (Djekic ve ark., 2018). Adsorban seçiminde de adsorban kapasitesi ve yağlı bir his bırakmaması önemli

parametrelerdir (Xu ve ark., 2020). Uygun bulunan Tadalafil yüklü Tip IV lipit yapıları formülasyonlarını katı dozaj formuna dönüştürmek amacıyla farklı özelliğe sahip 5 adsorban madde (Florite R, Neusilin US2, Neusilin UFL2, Syloid XDP 3050 ve Syloid XDP 3150) kullanıldı. Adsorbanlar için kullanılacak formülasyonları adsorbe etme kapasitesi Florite R; Neusilin US2 ve Neusilin UFL2’de yüksek olduğu halde (1 oran adsorban için 2 oran formülasyon), Syloid XDP 3050 ve Syloid XDP 3150’de düşük (1 oran adsorban için 1,5 oran formülasyon) olduğu belirlendi (Tablo 4-22). Hazırlanan katı formülasyonların yağlılık hissi bırakmadığı, akışkan olduğu ve bundan sonra yapılan işlemler için hazır olduğu belirlendi.

Referans ürün (Cialis 5 mg, Lilly İlaç) ile karşılaştırmalı olarak hazırlanan 10 katı hale getirilmiş Tip IV formülasyondan (F1-F10) Tadalafilin çözünme hızı performansı *in vitro* çözünme hızı testleri ile değerlendirildi. Bunun için öncelikle, pH=1,2 0.1 N HCl çözeltisi ortamında 50 devir/dakika 37°C’de 1., 3., 5., 10., 15., 20., 30 ve 45. dakikalarda numune alarak 45 dakika süre ile çözünme hızı çalışması yapıldı. Yapılan çalışma sonuçları Tablo 4-25 ile 4-35’te, zamanın fonksiyonu olarak çözünen ilaç konsantrasyonlarını gösteren çözünme hızı grafikleri ise Şekil 4-6 ile 4-15 verilmiştir. Elde edilen veriler ile referans üründen 45 dakika sonunda etken maddenin %28’inin çözünebildiği görülürken, 45 dakika sonunda F1, F2, F3, F4, F5, F6 ,F7, F8, F9 ve F10 formülasyonlarından Tadalafil’in sırası ile %82, %96, %85, %52, %51, %73, %61, %65, %31 ve %43’ünün çözüldüğü saptandı. Bu verilere göre, en yüksek çözünme hızı performansı gösteren, F1, F2 ve F3 formülasyonları seçildi ve sırasıyla pH 4,5, daha sonra pH 6,8 tampon çözeltileri ile referans ürüne karşılık çözünme hızı testi çalışmaları yapıldı. Elde edilen sonuçlara göre; pH 4,5 çözünme ortamında 45 dakika sonunda referans üründen Tadalafil’in sadece %28’ini çözünebildiği halde (Tablo 4-34), F1 formülasyonundan %71’i (Tablo 4-35, Şekil 4-16), F2 formülasyonundan %102’si (Tablo 4-36, Şekil 4-17), F3 formülasyonundan ise %104’ünün (Tablo 4-37, Şekil 4-18) çözüldüğü saptandı. pH 6,8 çözünme ortamında yapılan çözünme hızı testi çalışmalarına göre ise; 45 dakika sonunda referans üründen Tadalafil’in %39’u çözünürken (Tablo 4-38), F1 formülasyonundan %85’i (Tablo 4-39, Şekil 4-19), F2 formülasyonundan %105’i (Tablo 4-40, Şekil 4-20), F3 formülasyonundan ise %103’ünün (Tablo 4-41, Şekil 4-21) çözüldüğü saptandı.

Gastrointestinal sistemi taklit etmek üzere 3 farklı pH daki çözünme ortamları ile gerçekleştirilen çözünme hızı testi çalışmalarından elde edilen bulgulara göre; 45 dakika sonunda etken maddenin maksimum miktarının çözünebildiği en iyi formülasyon olarak F2 formülasyonu seçildi. Daha sonra referans ürünle karşılaştırmalı olarak Tadalafil için FDA tarafından önerilen %0,5 SLS içeren çözünme ortamında da F2 formülasyonundan Tadalafil'in çözünme hızı testi çalışmaları yapıldı (FDA, 2006). SLS ortamında yapılan analiz sonucuna göre referans üründen ve F2 formülasyonundan 45 dakika sonunda Tadalafil'in çözünme konsantrasyonunun %100'e yakın olduğu, yani sırasıyla %99,77 ve %97,37'sinin çözülmüş olduğu belirlendi (Tablo 4-42, 4-43 ve Şekil 4-22).

Elde edilen bu bulgular değerlendirildiğinde; farklı adsorban maddeler kimyasal yapıları, amorf şekilleri ve por büyüklüğü sebebi ile farklı ilaç salım hızı sergileyebilmektedir. Bilindiği gibi lipit yapılı taşıyıcılardan beklenen etken maddenin çözünmesinin en kısa sürede ve en yüksek miktarda olmasıdır (Alwadei ve ark., 2019). Magnezyum aluminometasilikat yapısında olan Neusilin US2'nin elde edilen bulguları göz önünde bulundurulduğunda etken maddenin hem çözünme süresi hem de çözünme miktarı yönünden daha üstün olmasının, Neusilin US2'nin poröz yapısı ve amorf özellikleri sebebi ile diğer adsorban maddelere göre Tadalafil'in çözünme hızı üzerine olumlu etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında; BCS Sınıf II bir molekül olan Tadalafil'in ilk defa katı Tip IV lipit yapılı taşıyıcı sistemi geliştirilmiş, gerçekleştirilen *in vitro* çalışmalar ile poröz yapıdaki bir adsorban madde olan Neusilin US2 ile katı hale getirilen Tip IV lipit yapılı formülasyonlarının Tadalafil'in çözünme hızını arttırdığı ve geliştirilen yeni lipit yapılı katı taşıyıcı sisteminin tablet formundaki konvansiyonel oral preparatına göre hızlı emilim göstermesi, dolayısı ile ilacın biyoyararlanımının artırılarak tedavi dozunun azaltılması potansiyelinin bulunduğu gösterilmiştir. Tez çalışmasında elde edilen verilerin *in vivo* koşullarda doğrulanması için ileride prelinik hayvan çalışmaları ile biyoyararlanım çalışmalarının yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Alghananim, A., Özalp, Y., Mesut, B., Serakinci, N., Özsoy, Y., & Güngör, S. (2020). A Solid Ultra Fine Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (S-SNEDDS) of Deferasirox for Improved Solubility: Optimization, Characterization, and In Vitro Cytotoxicity Studies. *Pharmaceuticals*, **13**(8), 162.
- Alwadei, M., Kazi, M., & Alanazi, F. K. (2019). Novel oral dosage regimen based on self-nanoemulsifying drug delivery systems for codelivery of phytochemicals–Curcumin and thymoquinone. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **27**(6), 866-876.
- Amidon, G. L., Lennernäs, H., Shah, V. P., & Crison, J. R. (1995). A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical research*, **12**(3), 413-420.
- Attama, A. A., Momoh, M. A., & Builders, P. F. (2012). Lipid nanoparticulate drug delivery systems: a revolution in dosage form design and development. *Recent advances in novel drug carrier systems*, **5**, 107-140.
- Badr-Eldin, S. M., Elkheshen, S. A., & Ghorab, M. M. (2017). Improving Tadalafil dissolution via surfactant-enriched tablets approach: Statistical optimization, characterization, and pharmacokinetic assessment. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **41**, 197-205.
- Baek, J., Pham, C. ..., Myung, C., & Cho, C. (2015). Tadalafil-loaded nanostructured lipid carriers using permeation enhancers. *International journal of pharmaceuticals*, **495**(2), 701-709.
- Baghel, P., Roy, A., Verma, S., Satapathy, T., & Bahadur, S. (2020). Amelioration of lipophilic compounds in regards to bioavailability as self-emulsifying drug delivery system (SEDDS). *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, **6**(1), 1-11.
- BASF. (2020). Retrieved from <https://pharmaceutical.basf.com/global/en/drug-formulation.html>

- Cannon, J. B. (2011). LIPIDS-strategies to formulate lipid-based drug delivery systems. *American Pharmaceutical Review*, **14(4)**, 84.
- Carson, C. C., Rajfer, J., Eardley, I., Carrier, S., Denne, J. S., Walker, D. J., et al. (2004). The efficacy and safety of Tadalafil : an update. *BJU international*, **93(9)**, 1276-1281.
- Čerpnjak, K., Zvonar, A., Gašperlin, M., & Vrečer, F. (2013). Lipid-based systems as a promising approach for enhancing the bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Acta pharmaceutica*, **63(4)**, 427-445.
- Chatterjee, B., Hamed Almurisi, S., Ahmed Mahdi Dukhan, A., Mandal, U. K., & Sengupta, P. (2016). Controversies with self-emulsifying drug delivery system from pharmacokinetic point of view. *Drug delivery*, **23(9)**, 3639-3652.
- Choi, J. S., Kwon, S. H., Lee, S. E., Jang, W. S., Byeon, J. C., Jeong, H. M., et al. (2017). Use of acidifier and solubilizer in Tadalafil solid dispersion to enhance the in vitro dissolution and oral bioavailability in rats. *International journal of pharmaceutics*, **526(1-2)**, 77-87.
- Constantinides, P. P., & Wasan, K. M. (2007). Lipid formulation strategies for enhancing intestinal transport and absorption of P-glycoprotein (P-gp) substrate drugs: in vitro/in vivo case studies. *Journal of pharmaceutical sciences*, **96(2)**, 235-248.
- Coward, R. M., & Carson, C. C. (2008). Tadalafil in the treatment of erectile dysfunction. *Therapeutics and clinical risk management*, **4(6)**, 1315.
- Dahan, A., Miller, J. M., & Amidon, G. L. (2009). Prediction of solubility and permeability class membership: provisional BCS classification of the world's top oral drugs. *The AAPS journal*, **11(4)**, 740-746.
- Dash, R. N., Mohammed, H., Humaira, T., & Ramesh, D. (2015). Design, optimization and evaluation of glipizide solid self-nanoemulsifying drug delivery for enhanced solubility and dissolution. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **23(5)**, 528-540.

- Date, A. A., & Nagarsenker, M. S. (2007). Design and evaluation of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for cefpodoxime proxetil. *International journal of pharmaceutics*, **329**(1-2), 166-172.
- Davit, B. M., Kanfer, I., Tsang, Y. C., & Cardot, J. M. (2016). BCS biowaivers: similarities and differences among EMA, FDA, and WHO requirements. *The AAPS journal*, **18**(3), 612-618.
- Dhaliwal, A., & Gupta, M. (2019). *PDE5 Inhibitor*. StatPearls Publishing.
- Djekic, L., Janković, J., Rašković, A., & Primorac, M. (2018). Semisolid self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDSs): Effects on pharmacokinetics of acyclovir in rats. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **121**, 287-292.
- Dokania, S., & Joshi, A. K. (2015). Self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS)—challenges and road ahead. *Drug delivery*, **22**(6), 675-690.
- El-Badry, M., Haq, N., Fetih, G., & Shakeel, F. (2014). Solubility and dissolution enhancement of Tadalafil using self-nanoemulsifying drug delivery system. *Journal of oleo science*, **63**(6), 567-576.
- EMA. (1995). *European Medicines Agency*. Retrieved 06 01, 1995, from <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology>
- EMA. (2001). *European Medicines Agency*. Retrieved 2001, from Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence.
- EMA. (2008). *European Medicines Agency*. Retrieved 11 13, 2008, from https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/cialis-epar-scientific-discussion_en.pdf

- EMA. (2010). *European Medicines Agency*. Retrieved 1 20, 2010, from https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-bioequivalence-rev1_en.pdf
- EMA. (2020). *European Medicines Agency*. Retrieved 11 02, 2019, from <https://www.ema.europa.eu/en/ich-m9-biopharmaceutics-classification-system-based-biowaivers>
- Ensign, L. M., Cone, R., & Hanes, J. (2012). Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers. *Advanced drug delivery reviews*, **64(6)**, 557-570.
- Falk, J. A., Philip, K. J., & Schwarz, E. R. (2010). The emergence of oral Tadalafil as a once-daily treatment for pulmonary arterial hypertension. *Vascular health and risk management*, **6**, 273.
- FDA, U. (2000). *Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. Guidance for industry*.
- FDA, U. (2006). Retrieved 01 26, 2006, from https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_SearchResults.cfm
- FDA, U. (2017). *Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. Guidance for industry*.
- Feeney, O. M., Crum, M. F., McEvoy, C. L., Trevaskis, N. L., Williams, H. D., Pouton, C. W., et al. (2016). 50 years of oral lipid-based formulations: provenance, progress and future perspectives. *Advanced drug delivery reviews*, **101**, 167-194.
- Forgue, S. T., Patterson, B. E., Bedding, A. W., Payne, C. D., Phillips, D. L., Wrishko, R. E., et al. (2006). Tadalafil pharmacokinetics in healthy subjects. *British journal of clinical pharmacology*, **61(3)**, 280-288.

- Frajese, G. V., Pozzi, F., & Frajese, G. (2006). Tadalafil in the treatment of erectile dysfunction; an overview of the clinical evidence. *Clinical Interventions in Aging*, **1(4)**, 439.
- Fuji Chemical. (2020). Retrieved 09 24, 2020, from <http://www.fujichemical.co.jp/english/medical/index.html>
- Gattefosse. (2020). Retrieved from <https://www.gattefosse.com/>
- Ghasemiyeh, P., & Mohammadi-Samani, S. (2018). Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers as novel drug delivery systems: applications, advantages and disadvantages. *Research in pharmaceutical sciences*, **13(4)**, 288.
- Gonçalves, A., Nikmaram, N., Roohinejad, S., Estevinho, B. N., Rocha, F., Greiner, R., et al. (2018). Production, properties, and applications of solid self-emulsifying delivery systems (S-SEDS) in the food and pharmaceutical industries. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **538**, 108-126.
- Grace. (2017). Retrieved 12 12, 2017, from <https://grace.com/en-us>
- Han, H., Li, Y., Peng, Z., Long, K., Zheng, C., Wang, W., et al. (2020). A Soluplus/Poloxamer 407-based self-nanoemulsifying drug delivery system for the weakly basic drug carvedilol to improve its bioavailability. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 102199.
- Hatzimouratidis, K. (2014). A review of the use of Tadalafil in the treatment of benign prostatic hyperplasia in men with and without erectile dysfunction. *Therapeutic advances in urology*, **6(4)**, 135-147.
- Henrie, A. M., Nawarskas, J. J., & Anderson, J. R. (2015). Clinical utility of Tadalafil in the treatment of pulmonary arterial hypertension: an evidence-based review. *Core evidence*, **10**, 99.
- Hörter, D., & Dressman, J. B. (2001). Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. . *Advanced drug delivery reviews*, **46(1-3)**, 75-87.

- Huang, L. F., & Tong, W. Q. (2004). Impact of solid state properties on developability assessment of drug candidates. *Adv Drug Deliv Rev*, **56**, 321-334.
- Huang, S. A., & Lie, J. D. (2013). Phosphodiesterase-5 (PDE5) inhibitors in the management of erectile dysfunction. *Pharmacy and therapeutics*, **38(7)**, 407.
- Jagtap, S., Magdum, C., Jadge, D., & Jagtap, R. (2018). Solubility enhancement technique: a review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **10(9)**, 2205-2211.
- Kalepu, S., Manthina, M., & Padavala, V. (2013). Oral lipid-based drug delivery systems—an overview. . *Acta Pharmaceutica Sinica B*, **3(6)**, 361-372.
- Kanikkannan, N. (2018). Technologies to improve the solubility, dissolution and bioavailability of poorly soluble drugs. . *J Anal Pharm Res*, **7(1)**, 00198.
- Kazi, M., Shahba, A. A., Alrashoud, S., Alwadei, M., Sherif, A. Y., & Alanazi, F. K. (2020). Bioactive Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems (Bio-SNEDDS) for Combined Oral Delivery of Curcumin and Piperine. . *Molecules*, **25(7)**, 1703.
- Khalkhali, M., Mohammadinejad, S., Khoeini, F., & Rostamizadeh, K. (2019). Vesicle-like structure of lipid-based nanoparticles as drug delivery system revealed by molecular dynamics simulations. . *International Journal of Pharmaceutics*, **559**, 173-181.
- Khan, A. W., Kotta, S., Ansari, S. H., Sharma, R. K., & Ali, J. (2015). Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of the poorly water-soluble grapefruit flavonoid Naringenin: design, characterization, in vitro and in vivo evaluation. *Drug Delivery*, **22(4)**, 552-561.
- Kollipara, S., & Gandhi, R. K. (2014). Pharmacokinetic aspects and in vitro–in vivo correlation potential for lipid-based formulations. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, **4(5)**, 333-349.
- Krishnaiah, Y. S. (2010). Pharmaceutical technologies for enhancing oral bioavailability of poorly soluble drugs. *J Bioequiv Availab*, **2(2)**, 28-36.

- Kumar, B., Garg, V., Singh, S., Pandey, N. K., Bhatia, A., Prakash, T., et al. (2018). Impact of spray drying over conventional surface adsorption technique for improvement in micromeritic and biopharmaceutical characteristics of self-nanoemulsifying powder loaded with two lipophilic as well as gastrointestinal labile drugs. *Powder Technology*, **326**, 425-442.
- Lipinski, C. A. (2000). Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, **44(1)**, 235-249.
- Mahapatra, A. K., Murthy, P. N., Swadee, B., & Swain, R. P. (2014). Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS): An update from formulation development to therapeutic strategies. *Int J PharmTech Res*, **6(2)**, 546-68.
- Maurya, S. D., Arya, R. K., Rajpal, G., & Dhakar, R. C. (2017). Self-micro emulsifying drug delivery systems (SMEDDS): a review on physico-chemical and biopharmaceutical aspects. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, **7(3)**, 55-65.
- Merisko-Liversidge, E. M., & Liversidge, G. G. (2008). Drug nanoparticles: formulating poorly water-soluble compounds. *Toxicologic pathology*, **36(1)**, 43-48.
- Mesut, B., Şahin, Ş. H., & Özsoy, Y. (2020). Budesonide-Loaded Self-Nanoemulsion Formulations Optimisation and Characterisation Studies. *Latin American journal of pharmacy*, **39(7)**, 1368-1378.
- Müller, R. H., & Keck, C. M. (2012). Twenty years of drug nanocrystals: where are we, and where do we go? *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, **80(1)**, 1-3.
- Narayana, L., Chella, N., Kumar, D., & Shastri, N. R. (2015). Design of a novel type IV lipid-based delivery system for improved delivery of drugs with low partition coefficient. *Journal of liposome researc*, **25(4)**, 325-333.

- Obeidat, W. M., & Sallam, A. A. (2014). Evaluation of Tadalafil nanosuspensions and their PEG solid dispersion matrices for enhancing its dissolution properties. *AAPS pharmscitech*, **15**(2), 364-374.
- Ostolska, I., & Wiśniewska, M. (2014). Application of the zeta potential measurements to explanation of colloidal Cr 2 O 3 stability mechanism in the presence of the ionic polyamino acids. *Colloid and polymer science*, **292**(10), 2453-2464.
- Park, J., Cho, W., Kang, H., Lee, B. B., Kim, T. S., & Hwang, S. J. (2014). Effect of operating parameters on PVP/Tadalafil solid dispersions prepared using supercritical anti-solvent process. *The Journal of Supercritical Fluids*, **90**, 126-133.
- Porter, C. J., Pouton, C. W., Cuine, J. F., & Charman, W. N. (2008). Enhancing intestinal drug solubilisation using lipid-based delivery systems. . *Advanced drug delivery reviews*, **60**(6), 673-691.
- Pouton, C. W. (2000). Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and 'self-microemulsifying' drug delivery systems. . *European journal of pharmaceutical sciences*, **11**, S93-S98.
- Pouton, C. W. (2006). Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. . *European journal of pharmaceutical sciences*, **29**(3-4), 278-287.
- Pouton, C. W., & Porter, C. J. (2008). Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: materials, methods and strategies. *Advanced drug delivery reviews*, **60**(6), 625-637.
- Radha, G., Sastri, K. T., Burada, S., & Rajkumar, J. (2019). A Systematic review on self-micro emulsifying drug delivery systems: A Potential strategy for drugs with poor oral bioavailability. *Int J App Pharm*, **11**(1), 23-33.
- Sachan, N. K., Bhattacharya, A., Pushkar, S., & Mishra, A. (2014). Biopharmaceutical classification system: A strategic tool for oral drug delivery technology. *Asian*

Journal of Pharmaceutics (AJP): Free full text articles from Asian J Pharm, **3(2)**, 76-81.

- Savjani, K. T., Gajjar, A. K., & Savjani, J. K. (2012). Drug solubility: importance and enhancement techniques. *ISRN pharmaceutics*, **2012**, 1-10.
- Seftel, A. D. (2004). Tadalafil: a long-acting PDE5 inhibitor for the management of erectile dysfunction. *Therapy*, **1(2)**, 185-196.
- Shinde, S. V., Shaikh, F., & Gawande, A. N. (2018). Solubility enhancement and physicochemical characterization of Tadalafil by inclusion complexation method. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, **7(8)**, 687-706.
- Shrestha, H., Bala, R., & Arora, S. (2014). Lipid-based drug delivery systems. *Journal of pharmaceutics*, **2014**, 1-10.
- Singh, A. K., Chaurasiya, A., Awasthi, A., Mishra, G., Asati, D., Khar, R. K., et al. (2009). Oral bioavailability enhancement of exemestane from self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS). *Aaps Pharmscitech*, **10(3)**, 906-916.
- Thakare, P., Mogal, V., Borase, P., Dusane, J., & Kshirsagar, S. (2016). A review on self-emulsified drug delivery system. *Journal of pharmaceutical and biological evaluations*, **3(2)**, 140-153.
- Tomita Pharmaceutical. (2017). Retrieved 10. 24., 2017., from <http://www.tomitaph.co.jp/english/>
- Türk Farmakopesi-II. (2017). *Tadalafil* (Vol. 2).
- Van der Merwe, J., Steenekamp, J., Steyn, D., & Hamman, J. (2020). The role of functional excipients in solid oral dosage forms to overcome poor drug dissolution and bioavailability. *Pharmaceutics*, **12(5)**, 393.
- Waters, L. J., Hanrahan, J. P., Tobin, J. M., Finch, C. V., Parkes, G. M., Ahmad, S. A., et al. (2018). Enhancing the dissolution of phenylbutazone using Syloid® based

mesoporous silicas for oral equine applications. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, **8(3)**, 181-186.

Wlodarski, K., Sawicki, W., Haber, K., Knapik, J., Wojnarowska, Z., Paluch, M., et al. (2015). Physicochemical properties of Tadalafil solid dispersions–Impact of polymer on the apparent solubility and dissolution rate of Tadalafil. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **94**, 106-115.

Xu, Z., Li, X., Wang, Z., Li, J., Yang, Z., Khattak, S. U., et al. (2020). Development and evaluation of rhubarb free anthraquinones loaded self-nanoemulsifying tablets. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 101737.

Yadav, K. D., Chaudhary, A. K., & Verma, A. K. (2017). Bioavailability enhancement of partially water soluble solid medicament in traditional system of medicine. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **79(5)**, 667-673.

HAM VERİLER

FORMLAR



PATENT HAKKI İZİNİ



İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

