

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SEFPODOKSİM PROKSETİL NANOPARTİKÜLLERİNİN HAZIRLANMASI,
FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ VE STANDARDİZASYONU

Yüksek Lisans Tezi

Eczacı
Nilüfer ÖZKAYA

DANIŞMAN
Doç. Dr. Ercüment KARASULU

İZMİR
2010

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SEFPODOKSİM PROKSETİL NANOPARTİKÜLLERİNİN HAZIRLANMASI,
FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ VE STANDARDİZASYONU

Yüksek Lisans Tezi

Eczacı
Nilüfer ÖZKAYA

DANIŞMAN
Doç. Dr. Ercüment KARASULU

İZMİR
2010

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Başkan (Danışman) : Doç. Dr. Ercüment KARASULU

Üye : Prof. Dr. Levent KIRILMAZ

Üye : Prof. Dr. Işık TUĞLULAR

Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih:

ÖNSÖZ

Tüm tez çalışma sürecimde her türlü imkanı sağlayan, yardım ve desteklerini esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Ercüment KARASULU' ya,

Biyofarmasotik ve Farmakokinetik Bilim Dalı başkanı sayın hocam Prof. Dr. Levent KIRILMAZ' a,

ARGEFAR bünyesinde yer almamı sağlayan hayat yolundaki yönümü çizme olanağı sunan Prof. Dr. Işık TUĞLULAR' a ve tüm ARGEFAR ailesine,

Sevgi ve anlayışını hiçbir zaman esirgemeyen saygı değer hocam Dr. Ecz. İskender İNCE' ye,

Tezimde katkıda bulunan sayın hocam Doç. Dr. H. Yeşim KARASULU' ya,

Çalışmalarım sırasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen meslektaşlarım Yard. Doç. Dr. Emel Öykü ÇETİN' e, Dr. Ecz. Levent ALPARSLAN 'a, Dr. Ecz. Evren ATLIHAN GÜNDOĞDU' ya, Uzm. Ecz. Gülbeyaz YILDIZ'a ve Ecz. Tuğçe TURGAY' a,

Her daim sabırla beni dinleyen dostum, arkadaşım Erdem YILMAZ'a

Maddi ve manevi her türlü desteğini esirgemeyen annem Münire ÖZKAYA ve babam Üzeyir ÖZKAYA' ya

Ve tüm dostlarıma

Sonsuz Teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
TABLOLAR LİSTESİ.....	xii
RESİMLER LİSTESİ.....	xiv
EŞİTLİKLER LİSTESİ	xv
KISALTMALAR	xvi
GİRİŞ VE AMAÇ	xvii
1 GENEL BİLGİLER.....	1
1.1 Nanopartiküler Sistemler	1
1.1.1 Nanopartiküllerin Tanımı ve Özellikleri.....	1
1.1.2 Nanopartikül Hazırlama Yöntemleri.....	3
1.1.3 Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	4
1.1.3.1 Partikül Büyüklüğü	4
1.1.3.2 Etkin Madde Salımı	4
1.1.3.3 Sterilizasyonu ve Stabilitesi	5
1.1.3.4 Zeta Potansiyeli	5
1.1.4 Nanopartiküllerin Kullanım Alanları	6
1.2 Katı Lipit Nanopartikül (KLN)'lerin Tanımı ve Özellikleri	6
1.2.1 KLN'lerin Avantajları	7
1.2.2 KLN Hazırlamada Kullanılan Maddeler	8
1.2.3 KLN'lerin Hazırlama Yöntemleri	10
1.2.3.1 Yüksek Devirli Homojenizasyon ve Ultrason Yöntemi.....	10
1.2.3.2 Yüksek Basıncı Homojenizasyon	10

1.2.3.2.1 Sıcak homojenizasyon.....	10
1.2.3.2.2 Soğuk homojenizasyon	11
1.2.3.3 Çözücü Emülsifikasyonu / Evaporasyonu	12
1.2.3.4 Mikroemülsiyon Yöntemi	12
1.2.3.5 Lipit Nanopelletler ve Lipoküreler.....	13
1.2.4 KLN' lerin Karakterizasyonu.....	13
1.2.5 KLN' lere Etkin Madde Yüklenmesi ve Salımı.....	14
1.2.6 KLN' lerin Sterilizasyonu ve Stabilitesi	17
1.2.7 KLN' lerin Uygulama Yolları.....	19
1.2.8 KLN' lerin Toksisitesi.....	20
1.3 Antibiyotikler	21
1.4 Sefpodoksim Proksetil (SP)	23
1.4.1 Kimyasal Yapısı ve Fiziksel Özellikleri	23
1.4.2 Farmakolojik Özellikleri	25
1.4.3 Tanınması.....	28
1.5 Çözünürlük Testi.....	28
1.5.1 Sepet Yöntemi.....	30
1.5.2 Çözünürlük Testini Etkileyen Faktörler.....	31
1.5.3 Benzerlik Testi	32
1.6 Salım Profillerinin Kinetik Olarak Değerlendirilmesi	33
2 GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
2.1 Kullanılan Gereçler	36
2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	36
2.1.2 Kullanılan Cihazlar	37
2.2 Kullanılan Yöntemler.....	38

2.2.1	SP Spektrofotometrik Miktar Tayini Çalışmaları	38
2.2.1.1	SP UV Spektrumu	38
2.2.1.2	SP Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi	38
2.2.1.3	SP' nin Spektrofotometri ile Validasyonu	39
2.2.1.3.1.	Doğrusallık	39
2.2.1.3.2	Kesinlik	39
2.2.1.3.2.1	Tekrar Elde Edilebilirlik	40
2.2.1.3.2.2	Tekrarlanabilirlik	40
2.2.1.3.3	Seçicilik ve Doğruluk	40
2.2.2	KLN Formülasyonunun Geliştirilmesine Ait Çalışmalar	41
2.2.2.1	Optimum KLN Formülasyonunun Hazırlanması	42
2.2.2.2	SP KLN Formülasyonuna Ait Çalışmalar	45
2.2.2.2.1	Liyofilizasyonu	45
2.2.2.2.2	Parçacık Boyutu Analizi	45
2.2.2.2.3	Miktar Tayini	46
2.2.3	Salım Hızı Çalışmaları	46
2.2.3.1	SP' ye Ait Çözünürlük Çalışmaları	46
2.2.3.2	TF' ye Ait Salım Hızı Çalışmaları	47
2.2.3.3	Hazırlanan SP KLN'lerine ait Salım Hızı Çalışmaları	47
3	BULGULAR	48
3.1	SP UV Spektrumuna Ait Bulgular	48
3.1.1	SP Kalibrasyon Eğrisinin Çizim Bulguları	48
3.2	SP' in Spektrofotometri ile Miktar Tayini Yöntemine Ait Bulgular	49
3.2.1	Doğrusallık	49
3.2.2	Kesinlik	50

3.2.2.1 Tekrar Elde Edilebilirlik	50
3.2.2.2 Tekrarlanabilirlik.....	51
3.2.3 Seçicilik ve Doğruluk.....	51
3.3 KLN Formülasyonunun Geliştirilmesine Ait Bulgular.....	53
3.3.1 SP KLN Formülasyonuna Ait Çalışmalar.....	53
3.3.1.1 Parçacık Boyutu Analizi	53
3.3.1.2 Miktar Tayini	55
3.4 Salım Hızı Çalışmalarına Ait Bulgular	56
3.4.1 SP' e Ait Çözünme Hızı Çalışma Bulguları.....	57
3.4.2 Ticari Formülasyona Ait Salım Hızı Çalışması Bulguları	57
3.4.3 Hazırlanan SP KLN'lerine ait Salım Hızı Çalışması Bulguları	57
3.5 Salım Profillerinin Kinetik Olarak Değerlendirilmesi	58
4 TARTIŞMA VE SONUÇ.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZET.....	71
SUMMARY	72
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ.....	83

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 : Sefpodoksim Proksetil (SP)' in kimyasal formülü	24
Şekil 2: Optimum formülasyonun hazırlanışının şematik gösterimi	43
Şekil 3 : SP' ye ait kromatografik verilere dayalı stok çözeltiler	48
Şekil 4 : SP' ye ait kromatografik verilere dayalı kalibrasyon eğrisi	49
Şekil 5 : SP için hesaplanan % doğrusallık değerleri grafiği	50
Şekil 6 : Formülasyonda SP içermeyen plasebo çözeltisine ve SP içeren çözeltiliye ait absorbans.....	52
Şekil 7 : SP' nin %10'luk süspansiyonunun parçacık büyüklüğü dağılımı	54
Şekil 8 : SP' nin parçacık büyüklüğü dağılımı.....	54
Şekil 9 : Değişken iç ortamda parçacık büyüklüğü dağılımı	55
Şekil 10 : Santrifüj sonrası sıvı kısma ve nanopartiküllere ait SP miktarları.....	56
Şekil 11 : Çözünme hızı sonuçlarına ait salım grafiği	59
Şekil 12 : Sıfırıncı Dereceden Salım Grafiği	61
Şekil 13 : Birinci Dereceden Salım Grafiği	62
Şekil 14 : Higuchi Modeline Göre Salım Grafiği	62
Şekil 15 : Hixson- Crowell' e göre Salım Grafiği.....	63

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1 : KLN’ lerde kullanılan lipitler ve emülgatörler	9
Tablo 2 : Etki mekanizmalarına göre antibiyotikler	22
Tablo 3 : Etki güçlerine göre antibiyotikler	22
Tablo 4 : SP’ nin Türkiye’de kullanılan dozaj şekilleri	26
Tablo 5 : SP’ nin kalibrasyonu için hazırlanan stok çözelti derişimleri	39
Tablo 6 : Optimum formülasyonda kullanılan maddeler ve parametreler	41
Tablo 7 : SP’ ye ait stok çözeltilerin absorbensları.....	48
Tablo 8 : SP için hesaplanan % doğrusallık değerleri.....	49
Tablo 9 : SP için ölçülen absorbens ve hesaplanan % geri kazanım	50
Tablo 10 : SP’ nin spektrofotometrik analizinde tekrarlanabilirlik değerleri	51
Tablo 11 : SP’ nin Spektrofotometrik % doğruluk değerleri	52
Tablo 12 : Refraktif indeksler ve viskoziteler.....	53
Tablo 13 : Parçacık boyutları, Polidisperslik indeksi ve Zeta potansiyeli	53
Tablo 14 : Değişken iç ortamda parçacık boyutu.....	55
Tablo 15 : Sıvı kısma ve nanopartiküllere ait yüzde miktarları	56
Tablo 16 : SP’ ye ait çözünme hızı çalışması yüzde değerleri.....	57
Tablo 17 : SP’ nin ticari formülasyonuna ait salım hızı çalışması yüzde salım değerleri.....	57
Tablo 18 : SP nanopartiküllerine ait salım hızı çalışması yüzde salım değerleri.....	58
Tablo 19 : Salım hızı sonuçlarına ait ortalama ve Standart sapma sonuçları.....	58
Tablo 20 : SP’ nin etkin madde ve optimum nanopartikül formülasyonuna ait f ₂ tablosu	59
Tablo 21 : SP’ nin ticari formülasyonuna ve optimum nanopartikül formülasyonuna ait f ₂ tablosu.....	60

Tablo 22 : SP' nin ticari formülasyonuna ve etkin maddeye ait f_2 tablosu.....	60
Tablo 23 : Sıfırıncı Dereceden, Birinci Dereceden, Higuchi ve Hixson – Crowell' e göre elde edilen değerler	61

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1 : Nanopartikül genel görüntüsü.....	1
Resim 2 : Tekli ve çoklu ilaç yüklü nanopartikül	2
Resim 3 : Hedef moleküle bağlı nanopartikül.....	2
Resim 4 : Nanopartiküllerin tıpta kullanım amaçları.....	6
Resim 5 : Katı Lipit Nanopartikül (KLN) yapısı	7
Resim 6 : KLN’ lere etkin madde yükleme modelleri	16
Resim 7 : Katı dozaj şeklinin çözünmesi	29
Resim 8 : Çözünürlük Testi Aparatları	30
Resim 9 : Sepet Yönteminin Şematik Gösterimi ve Kullanılan Sepet.....	31
Resim 10 : Sotax Dissolüsyon Cihazı	31
Resim 11 : KLN hazırlanması esnasında karıştırıcıda polivinilalkol çözeltisi	44
Resim 12 : SP içeren çözeltinin % 1’ lik PVA çözeltisine ilave edilmesi -1.....	44
Resim 13 : SP içeren çözeltinin % 1’ lik PVA çözeltisine ilave edilmesi -2.....	45

EŞİTLİKLER LİSTESİ

Eşitlik 1 : Benzerlik Testi Eşitliği	33
Eşitlik 2 : Hixson- Crowell Eşitliği	34
Eşitlik 3 : Higuchi Eşitliği	34
Eşitlik 4 : Sıfırıncı Derece Kinetik Eşitliği	34
Eşitlik 5 : Birinci Derece Kinetik Eşitliği	35

KISALTMALAR

SP	Sefpodoksim Proksetil
KLN	Katı Lipit Nanopartikül
HCl	Hidroklorik asit
pH	Çözeltinin asitlik / bazlık derecesi – Hidrojen gücü
ES	Etkin Madde – Sefpodoksim Proksetil
TF	Ticari Formülasyon Süspansiyon – SP
OF	Optimum Formülasyon – Nanopartikül SP
USP	Amerikan Farmakopesi
KDŞ	Katı Dozaj Şekli
FDA	Food and Drug Administration
SUPAC	Scale- Up and Postapproval Changes
PDI	Polidisperslik İndeksi
r^2	Korelasyon Katsayısı
$\bar{x}$	Ortalama
SS	Standart Sapma
BSS	Bağıl Standart Sapma
i.v	Intravenöz (damarıçi)

GİRİŞ VE AMAÇ

Hastalıkları tedavi etmek amacıyla geliştirilen yeni alternatif formülasyonlar için birçok araştırma yapılmaktadır. Kullanılan alışılmış dozaj şekillerinde ilacın plazmada etkili dozda kalabilmesi için dozun tekrarlanması gerekmektedir. Kontrollü salım sağlayan sistemler bu sorunu ortadan kaldırılabildiği için, çalışmalarda bu anlamda büyük yer almaktadır.

Etkin maddenin kontrollü salımı sağlamak için alternatif olarak geliştirilen nanopartiküler sistemler, küçük boyutlu olmaları, fizyolojik ortamda parçalanma ürünlerinin toksik olmaması gibi avantajları nedeniyle tercih sebebidir. Nanopartiküler sistemler düşük dozlarda tedavi sağlayarak etkin maddenin yan etkilerini ortadan kaldırmakta, ilaçların terminal yarı ömrünü uzatmakta ve tedavisi istenilen bölgeye hedeflendirilme imkanı sağlamaktadır. Nanopartiküler sistemlerdeki sıvı yağın katı lipitle değiştirilmesi sonucu katı lipit nanopartiküller (KLN) oluşmaktadır. KLN' ler kontrollü salım sistemlerin avantajlarını bir arada barındırırken birçok dezavantajını da ortadan kaldırmıştır. Oda ve vücut sıcaklığında katı halde bulunan lipitler ile hazırlanabilmekte ve stabilize sorunları olmamaktadır.

Tezimizin çalışma konusu olan Sefpodoksim Proksetil (SP) bakterisid etkili bir antibiyotiktir. Sefalosporin grubunda 3. kuşakta yer almaktadır. Sefalosporin grubu antibiyotikler yağda çözünürlüklerinin düşük olması sebebi ile mide bağırsak kanalından absorpsiyonları yetersizdir. Bu nedenle kimyasal yapısında bulunan sefem halkasının 4 numaralı konumuna hidrofilik karboksil grubu eklenerek ön ilaç olarak oluşturularak, kullanılmaktadır. SP' de bu şekilde geliştirilen bir ön ilaçtır.

SP' nin tablet ve süspansiyon gibi sadece oral kullanım için dozaj şekilleri mevcuttur. Nanopartiküllerin avantajı olarak yüksek etkin madde yüklenmesi imkanı, parçalanma ürünlerinin toksik olmaması ve büyük ölçekli üretim imkanları nedeniyle

SP' nin alternatif bir dozaj şekli olacağı düşünülen nanopartikül formülasyonu çalışılacaktır. SP' nin katı lipit nanopartikül formunda yeni bir formülasyonunu geliştirerek çözünürlük sorununu ortadan kaldırmak amaçlanmıştır. Bu doğrultuda tezimizde SP KLN' leri geliştirmek üzerine çalışmalar yapılmıştır. Elde edilen formülasyon şeklinin fizikokimyasal özelliklerine bakılarak standardizasyonu yapılmaya çalışılmıştır.

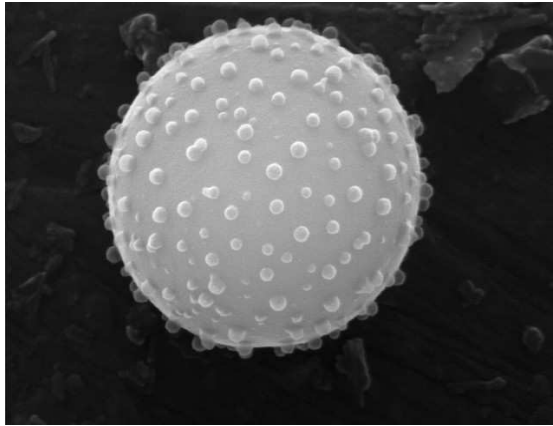
BÖLÜM I

1 GENEL BİLGİLER

1.1 Nanopartiküler Sistemler

1.1.1 Nanopartiküllerin Tanımı ve Özellikleri

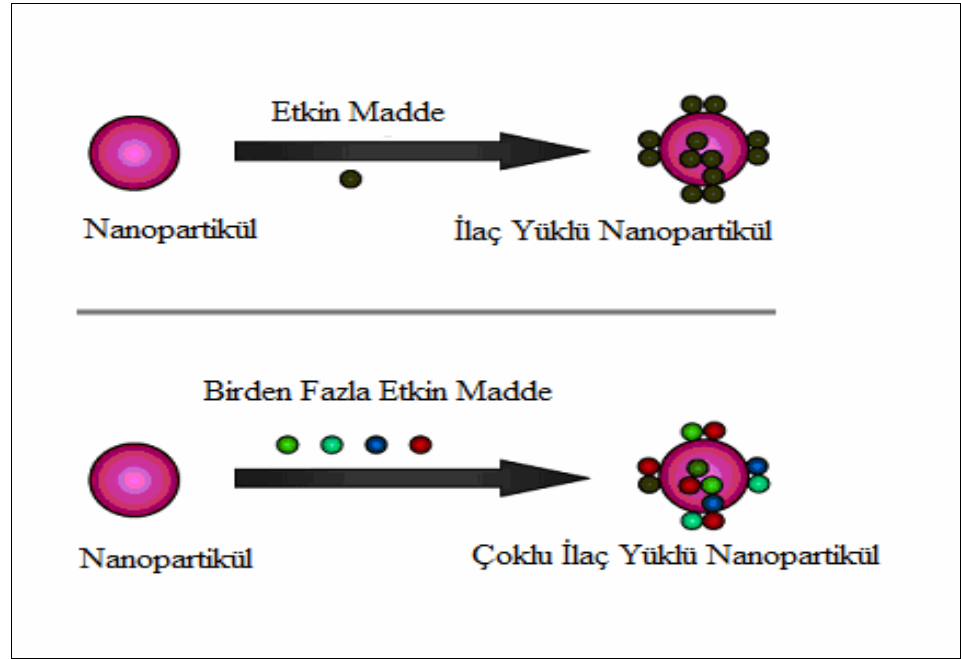
Etkin maddeyi kontrollü olarak salan, boyutları 10 -1000 nm arasında değişen katı kolloidal partiküllere ‘nanopartikül’ denir. Nanopartiküllerde etkin madde çözünmüş, hapsedilmiş veya adsorbe edilmiş halde bulunabilmektedir. Nanoküre ve nanokapsül olarak da adlandırılan nanopartiküller son yıllarda giderek artan bir ilgi görmektedir. Genellikle polimer matriks yapı içerisinde dağılmış yapılara nanoküre, ilaç partikülünün dıştan kapsül ile çevrilmiş formuna nanokapsül denmektedir. Nanopartiküllerde; ilacı kontrollü olarak salması, etki etmesi istenen bölgede toplanması, stabilite sorunlarının olmaması, taşıyıcının fizyolojik ortamda parçalanması ve parçalanma ürünlerinin toksik olmaması, sterilize edilebilmesi gibi özellikler aranmaktadır (22, 32, 88). Resim 1’ de elektron mikroskobunda nanopartikülün genel görüntüsü yer almaktadır.



Resim 1 : Nanopartikül genel görüntüsü

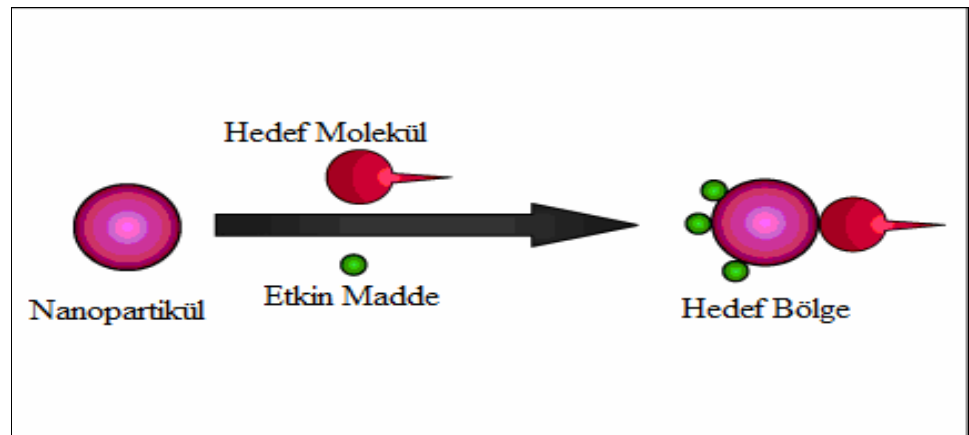
Kolloidal taşıyıcı sistemler arasında nanopartiküllerin pek çok üstünlükleri bulunmaktadır. Bunlar:

- Küçük partikül boyutuna sahip olmaları kapillarlere nüfus etmesini sağlayarak, hücreler tarafında tutulmasını ve etkin maddenin hedeflenen bölgede salınımı gerçekleştirilmektedir (19).
- Birden çok etkin maddenin (Resim 2) aynı molekülde barındırılmasına olanak sağlamaktadır (90).



Resim 2 : Tekli ve çoklu ilaç yüklü nanopartikül

- İlacın hedef bölgede salınımını sağlayarak diğer dokularda oluşabilecek toksisiteyi azaltmış olmaktadır (90) (Resim 3).



Resim 3 : Hedef moleküle bağlı nanopartikül

- Biyolojik ortamda diğer kolloidal sistemlere göre daha yüksek stabiliteye sahiptirler.
- Yüzey özelliklerinde ve parçacık boyutunda değişiklikler yapılabildiği için parenteral uygulama sonrasında pasif ve aktif ilaç hedeflendirilmesine olanak sağlamaktadır. Bunun sonucunda nanopartiküllerin retiküloendotelyal (mononükleer fagositel) sistem makrofajları tarafından tanınması da engellenmektedir.
- Farklı yöntemlerle kolaylıkla sterilize edilebilirler.
- Üretim teknikleri genel olarak basit ve kolaydır (50, 77, 80).

Bunun dışında nanopartiküllerin bazı sakıncaları da bulunmaktadır. Küçük partikül boyutu ve geniş yüzey alanına sahip olmaları, agregasyona sebep olmakta ve bunun sonucunda nanopartiküllerin stabilite sorunuyla karşılaşmaktadır. Nanopartiküllerin sahip olduğu bu özellikler doğrultusunda sınırlı etkin madde yüklemesi sorunu ve etkin madde salım sürecinde istenmeyen burst effect (patlama etkisi) adlı ani patlama ortaya çıkmaktadır (43, 68).

1.1.2 Nanopartikül Hazırlama Yöntemleri

Nanopartiküller genel olarak polimer ve etkin madde olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Polimer olarak doğal proteinlerden albumin, jelatin, polisakkaritlerden aljinat, kitozan.vb. ve sentetik polimerler polianhidrit, polilaktik-koglikolik asit.vb. kullanılır.

Nanopartiküllerin hazırlanmasında kullanılacak polimer ve etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri hazırlama yöntemini belirlemektedir. Kısaca hazırlama yöntemleri:

- Misel Polimerizasyonu
- Sulu Ortamda Polimerizasyon
- Yüzeyletması Polimerizasyon
- Koaservasyon Yöntemi
- Etkin Maddenin Nanopartiküllere Adsorpsiyonu
- Çözücü Buharlaştırma Yöntemi (6, 13, 32).

1.1.3 Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

1.1.3.1 Partikül Büyüklüğü

Nanopartiküler sistemlerde partiküllerin ortalama büyüklüğü ve boyut dağılımı, stabilite ve molekül kompleksinin fonksiyonu olarak ilacın etkinliğini etkiler (62). Dolayısı ile partikül büyüklüğü nanopartiküllerde önemli bir unsur teşkil etmektedir. Partikül büyüklüğü Coulter Nanosizer ve Malvern cihazları ile saptanmaktadır. Bunlar foton korelasyon spektroskopisi ve lazer difraksiyon metodlarına dayanarak partikül büyüklüklerini ölçmektedirler (33, 58).

1.1.3.2 Etkin Madde Salımı

Nanopartiküllerde yapılan çalışmalarda, etkin madde salımının birinci derece kinetiğe uygun olarak gerçekleştiğı belirtilmiştir. Nanopartiküllerin yüzeyinde adsorbe olan kısmın başlangıçta hızla salınan etkin madde olduğu, ardından ise nanopartiküle hapsolmuş etkin maddenin salınması ile gerçekleştiğı belirtilmiştir. (32, 50).

Etkin maddenin nanopartikülden salımı sızma, aşınma, kopma, parçalanma ve difüzyon mekanizmalarıyla olmaktadır. Difüzyon mekanizması hariç tüm mekanizmalar kontrollü salım sağlamaktadır (32). Burada difüzyon mekanizmasının

etkili olmamasının nedeni partikül boyutunun küçük olması ve dolayısı ile difüzyon mesafesinin kısa olmasına bağlanmaktadır (35, 37).

Nanopartiküllerden etkin madde salımında hazırlanması esnasında kullanılan polimerin miktarının ve özelliklerinin de etkili olduğu bilinmektedir (8, 43).

Etkin madde salımını etkileyen diğer faktörler:

- Matriks yapısının erozyon/degradasyonu
- Matriksten etkin maddenin difüzyonu
- Yüzeye adsorbe olmuş etkin maddenin salımı
- Etkin maddenin çözünürlüğü şeklinde sayılabilir (50).

1.1.3.3 Sterilizasyonu ve Stabilitesi

Nanopartiküller parenteral kullanım için hazırlanıyorsa sterilize edilmelidir. Nanopartiküllerde sterilizasyon, steril filtrasyon ile otoklavda 121°C' de 15 - 20 dakikada veya γ -radyasyon ile yapılmaktadır (32).

Nanopartikül sistemlerini oluşturan partiküllerin, dispersiyon ortamlarındaki hareketleri sistemin stabilitesini etkiler. Partiküllerin bu hareketleri Brown hareketi olarak tanımlanır ve ortamın sıcaklığına, yoğunluğuna, partikülleri oluşturan moleküllerin büyüklüğüne bağlıdır (78).

1.1.3.4 Zeta Potansiyeli

Kolloidal sistemleri oluşturan parçacıkların agregat oluşturmada stabil olması için belirli bir yüke sahip olmaları gerekmektedir. Nanopartikül sistemlerini oluşturan partiküllerin sahip olduğu yüklerin toplamı zeta potansiyeli olarak açıklanmakta ve sistemlerin dayanıklılığını belirlemektedir. Zeta potansiyeli partiküller arasındaki itme veya çekme değerinin ölçümüdür ve nanopartiküllerin sistemlerdeki dağılma mekanizmaları ile ilgili bilgi verir. Zeta potansiyeli (+/-) 30

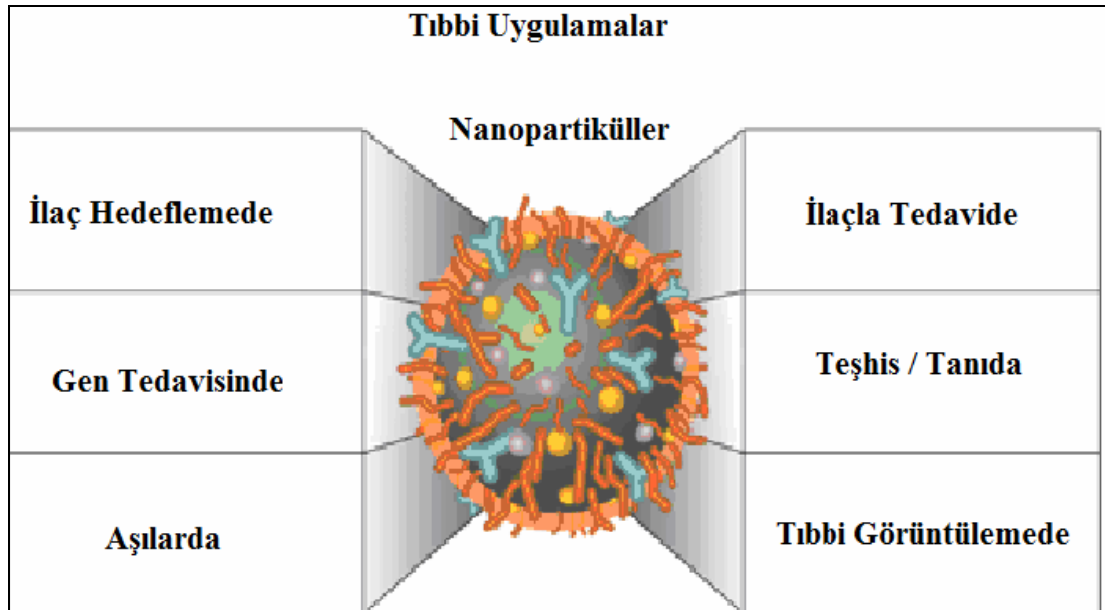
mV ve üzeri olan yüklü partiküller yüksek itiş gücü göstermeleri nedeni ile stabil sistemler oluştururlar (15, 16, 47).

1.1.4 Nanopartiküllerin Kullanım Alanları

Günümüzde küçük partikül boyutuna sahip olmaları nedeni ile nanopartiküllerin, başta sağlık alanında olmak üzere birçok alanda kullanım imkanı bulunmaktadır (42).

Tıpta; antikanserojen ilaçlar, antienflamatuar ilaçlar, antiparaziter ilaçlarda, beyine ilaç hedeflemeye, aşılar, transdermal ve oküler uygulamada, tanı maddelerinin uygulaması vb. amaçlarla kullanılabilmektedirler (21, 47, 91).

Tıpta kullanımı Resim 4’de kısaca belirtilmiştir.



Resim 4 : Nanopartiküllerin tıpta kullanım amaçları

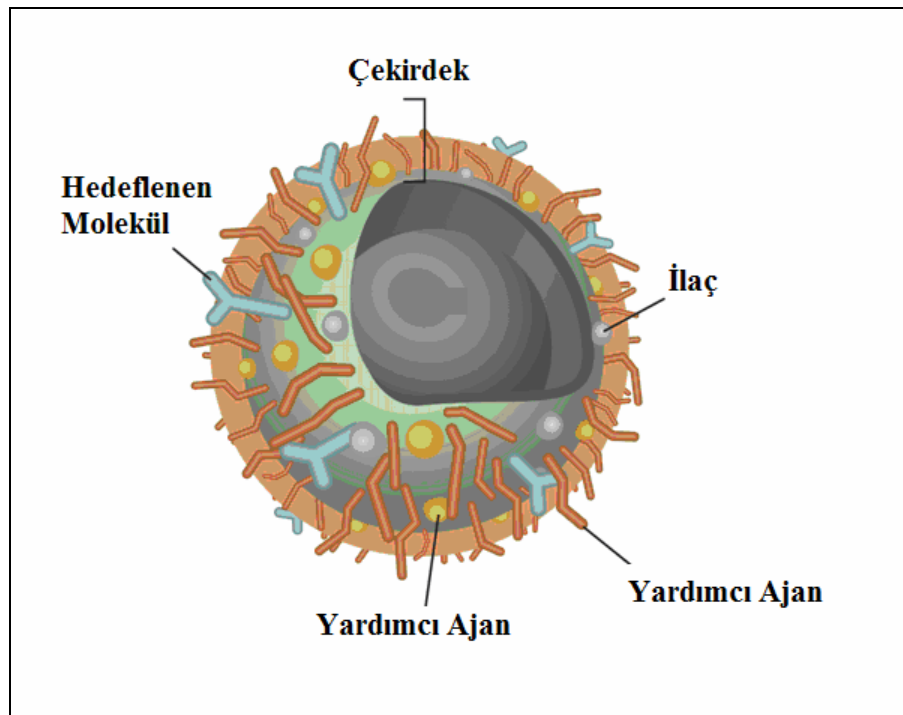
1.2 Katı Lipit Nanopartikül (KLN)’lerin Tanımı ve Özellikleri

Nanometre boyutundaki ilaç taşıyıcı sistemlerin oral kullanım sonrası yüksek değişkenlik göstermesi (düşük absorsiyon, hızlı metabolizasyon ve eliminasyon), düşük çözünürlük gösteren ilaçların farklı dokulara dağılarak yüksek toksisiteye

neden olması nedeniyle lipozomlara, nanoemülsiyonlara ve nanokapsüllere alternatif olarak katı lipid nanopartiküler (KLN) sistemler geliştirilmiştir (82). Resim 5’de katı lipid nanopartikül yapısının genel görüntüsü şematize olarak verilmiştir (89).

Nanometre boyutundaki KLN oda ve vücut sıcaklığında katı halde bulunan lipidler ile hazırlanmaktadır.

KLN’ ler kolloidal sistemlerin üstünlüklerini içerirken bilinen sakıncalarını önlemektedir (82, 86).



Resim 5 : Katı Lipid Nanopartikül (KLN) yapısı

1.2.1 KLN’ lerin Avantajları

- Kontrollü salının gerçekleştirilmesine ve ilaç hedeflendirilmesine olanak sağlaması,
- İlaç kararlılığını artırması,
- Yüksek oranda etkin madde yüklenmesine olanak sağlaması,
- Lipofilik ve hidrofilik etkin maddelerin bir arada verilebilmesini sağlaması,

- Taşıyıcıların biyotoksik olmaması,
- Organik çözücü içermemesi,
- Büyük ölçekli üretim ve sterilizasyonda problem olmaması KLN'lerin başlıca avantajlarıdır (47, 55).

1.2.2 KLN Hazırlamada Kullanılan Maddeler

KLN' ler genel olarak katı lipitten, emülgatörden ve sudan oluşmaktadır. Burada kullanılan lipit terimi geniş bir anlam içermektedir. Bu kapsamda lipit; trigliseridleri (tristearin vb.), kısmi gliseridleri (Imwitor vb.), yağ asitlerini (stearik asit vb.), steroidleri (kolesterol vb.) ve mumları (setil palmitat vb.) belirtmektedir. Yüklerine ve moleküler ağırlıklarına bağlı olarak emülgatörler lipit dağıtımını stabilize etmek için kullanılmaktadır. Emülgatörlerin kompleks olarak kullanılmaları parçacık aglomerizasyonunu daha etkin olarak önlemektedir (47). Tablo 1 ' de KLN hazırlanmasında kullanılan lipit ve emülgatörler verilmektedir.

Tablo 1 : KLN’ lerde kullanılan lipitler ve emülgatörler

Lipitler
Trigliseritler • Trikaprin • Trilaurin • Trimiristin • Tripalmitin • Tristearin Kısmi gliseridler • Witepsol® W 35 / H 35 / H 42 / E 85 • Gliserin monostearat (Imwitor® 900) • Gliserin palmitostearat (Precirol® ATO 5) Yağ asitleri • Stearik asit • Palmitik asit • Behenik asit • Dekanoik asit Emülgatörler/ Yardımcı emülgatörler • Poloxamer 188 /182 / 407 • Yumurta Lesitini (Lipoid® E 80) • Soya Lesitini (Lipoid® S 75) • Bütanol

1.2.3 KLN' lerin Hazırlama Yöntemleri

KLN' ler hazırlanma yöntemlerine göre 5 ana başlık altında toplanırlar.

1.2.3.1 Yüksek Devirli Homojenizasyon ve Ultrason Yöntemi

Nanopartiküler sistemlerin üretiminde yüksek devirli homojenizasyon ve ultrason yöntemi ilk kullanılan dağıtma tekniğidir. İki yöntem de yaygın ve kolay olmasına rağmen dağıtmada mikropartiküller oluşmakta, ultrasonda ise metallerle kontaminasyon söz konusu olabilmektedir (82). Bu yöntem etkin madde ile lipidin, önce lipidin erime sıcaklığının üstünde bir sıcaklıkta eritilip, sonra aynı sıcaklıktaki sulu yüzey etkin madde ile yüksek devir altında karıştırılmasına dayanmaktadır. Soğutma sırasında partiküllerin birleşip daha büyük partiküller oluşmasını engellemek için de ultrasonikasyon yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemler genelde birlikte uygulanmaktadır (36).

1.2.3.2 Yüksek Basıncılı Homojenizasyon

Güvenilir ve etkili bir yöntem olması, ölçek yükseltme durumlarında problem oluşturmaması nedeni ile KLN üretiminde tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntem KLN' lerin geniş çapta üretimine imkan sağlar. Yüksek basınçlı homojenizasyon lipit içinde etkin maddenin çözünmesi ya da dağılması esasına dayanır. İki homojenizasyon yöntemi vardır (70).

1.2.3.2.1 Sıcak homojenizasyon

Emülsiyonun homojenizasyonu olarak değerlendirilen sıcak homojenizasyon yöntemi lipitin erime derecesinin üzerinde gerçekleşir (47). Bu yöntem lipofilik, suda çözünmeyen ve yüksek sıcaklıkta kalma süresi kısa olması nedeniyle sıcaklığa

hassas maddeler için uygundur. Homojenizasyon sırasında sıcaklığın 10 °C kadar artması nedeni ile etkin maddeler de bozulma gözlenebilmektedir (74).

Yöntemde kullanılacak olan etkin madde, erime noktasının 5-10 °C üstündeki sıcaklığa getirilmiş lipid içerisinde çözündürülür veya dağıtılır. Bir sonraki adımda bu karışım aynı sıcaklıkta bulunan yüzey etkin madde çözeltisinde karıştırıcı kullanılarak dağıtılır ve ön emülsiyon elde edilir. Son olarak da oluşturulan bu ön emülsiyon yüksek basınçlı homojenizatörde erime noktasının 5-10 °C üstündeki sıcaklıkta homojenize edilir (58).

Bu yöntemde basınç ayarı ile arzu edilen sayıda homojenizasyon yapılarak üretim gerçekleştirilebilir. Yapılan çalışmalarda 3-5 homojenizasyon ile 500 - 1500 bar arasındaki basınç ile KLN hazırlandığı gözlenmiştir. Homojenizasyon sırasında artan sıcaklık nedeni ile etkin maddenin taşıyıcı içindeki parçalanma oranının da artacağı göz önünde bulundurulmalıdır (47, 70).

1.2.3.2.2 Soğuk homojenizasyon

Etkin madde içeren erimiş lipidin önce soğutulmasına daha sonrada öğütülmesi esasına dayanan bir yöntemdir (45). Bu yöntem hidrofilik maddeler için uygun olmamasına rağmen sıcaklığa aşırı duyarlı maddelerde tercih edilmektedir (58). Ayrıca sıcak homojenizasyon yönteminde bulunan tekrar kristallenme basamağı, etkin maddede değişimlere neden olabilmekte ve dolayısıyla soğuk homojenizasyon yöntemi tercih edilmektedir (47).

Soğuk homojenizasyonun tercih edilme nedenleri;

- Etkin maddenin sıcaklığa bağlı degravasyonu,
- Etkin maddenin homojenizasyon sırasında sulu fazdaki dağılımı,
- Nanoemülsiyonların kristalizasyon adımıda karışıklığa sebep olan çeşitli modifikasyonlar ve fazla soğutulmuş eriyiklerdir (82).

Bu yöntemin ilk hazırlama basamağı olan etkin maddenin lipit içerisinde çözünmesi ya da dağıtılması, sıcak homojenizasyon yöntemiyle aynıdır. Diğer bir basamakta sıvı azot ya da kuru buz kullanılarak etkin madde içeren çözelti soğutulur. Bu aşamadaki yüksek soğutma dereceleri etkin maddenin lipitte homojen dağılmasını sağlar. Etkin madde içeren katı lipit havanda ya da bilyalı değirmende 50-100 µm aralığında öğütülür. Düşük sıcaklık nedeniyle lipidin kırılabilirliği artar, dolayısıyla partiküller ezilerek ufalanır (69, 82).

1.2.3.3 Çözücü Emülsifikasyonu / Evaporasyonu

Sjöström ve Bergenstahl tarafından nanopartiküllerin dispersiyonlarını hazırlamak amacıyla yağ/su emülsiyonunun çöktürülmesine dayanarak geliştirilmiş bir yöntemdir. Emülsiyon oluşturmak için lipofilik madde su ile karışmayan sulu fazda emülsifiye edilerek organik çözücüyle çözündürülür. Çözücünün uçurulması ile lipit çöker ve 25-100 nm aralığında partiküllere sahip nanopartikül dispersiyonu oluşturulur (47). Hazırlama sırasında ısı uygulanmaması yöntemin en önemli avantajıdır ve ısıya hassas etkin maddeler de tercih edilir (75). Emülsiyonun oluşturulması esnasında istenilen ufaklıkta parçacık büyüklükleri elde edilemez. Parçacık büyüklüğü, organik fazda bulunan lipidin derişimiyle bağlantılıdır. Organik çözücüyle ilgili olarak (%5) düşük yağ yüklenmesi ile ufak partiküller oluşturulur. Disperse edilen fazın yüksek viskozitesi nedeni ile lipit miktarının artması homojenizasyonun etkinliğini düşürür (82).

1.2.3.4 Mikroemülsiyon Yöntemi

Mikroemülsiyonlar günümüzde gerçek çözeltiler olarak değil de kiritik çözeltiler olarak nitelendirilen saydam veya az bulanık çözeltilerdir (57). Bir grup araştırmacı tarafından mikroemülsiyonun seyreltilmesine dayanarak da çalışılmış bir

yöntemdir. Bu araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda mikroemülsiyonların iç ve dış faz olarak iki kısımdan oluştuğunu bulmuşlardır. Düşük erime derecesine sahip yağlı asitler (örneğin stearik asit vb.), emülgatörler (örneğin polisorbat 20 vb.), yardımcı emülgatörler (örneğin bütanol vb.) ve suyun saydam olarak 65 - 70 °C’ de karıştırılması ile hazırlanır (28). Oluşan mikroemülsiyonun termodinamik olarak dayanıklı olması bileşenlerinin doğru oranda kullanılmasına bağlıdır ve bunun sonucu olarak da ışığı geçiren bir sistem oluşmaktadır (29).

1.2.3.5 Lipit Nanopelletler ve Lipoküreler

Eritilmiş lipitin yüzey etkin madde çözeltisinde dağıtılması sonucu lipit nanopelletler elde edilir. Lipit karıştırıcı ile ya da sonikasyon ile dağıtılır ve karıştırıcının hızı partiküllerin nano ya da mikro boyutunda olmasını sağlar.

Müler ve arkadaşları (58) tarafından geliştirilen lipoküreler, eritilmiş etkin maddeye fosfolipit eklenmesi ve bunun yüksek sıcaklıkta karıştırılması ardından soğutulması ile elde edilir. Elde edilen lipoküreler 0.3 - 250 µm arasında partikül boyutuna sahip hidrofobik ve oda şartlarında katı olan yüzeyi fosfolipit tabakasıyla çevrili yapılardır. Fosfolipit tabakası nedeniyle stabilizasyonları kısıtlıdır.

1.2.4 KLN’ lerin Karakterizasyonu

KLN’ ler lipit ve emülgatörlerin homojen bir şekilde sulu dispersiyonlarıyla oluşmaktadır. Kaliteli bir formülasyon oluşturmanın ön koşulu da bu dispersiyonlarda karakterizasyonu sağlayabilmektir. Küçük partikül boyutuna sahip olmaları ve kompleks sistemler oldukları için KLN’ ler de karakterizasyon önemlidir. KLN’ lerin karakterizasyonun da stabilite ve salım kinetiğini etkileyen birçok parametre bulunmaktadır (58, 59).

Kısaca bunlar:

- Partikül büyüklüğü ve zeta potansiyeli

Partikül büyüklüğünün ölçümleri için foton korelasyon spektrofotometresi (FKS) ve lazer difraksiyon metodları kullanılır (82). Coulter counter yöntemi de KLN' lerin partikül büyüklüğü ölçümünde, küçük nanopartiküllerin saptanmasındaki zorluklar ve kolloidal dispersiyonlar da destabilizasyonu sağlamak için elektrolitlere ihtiyaç duyması nedeni ile nadiren tercih edilir (50, 58). Alan akış ayırıştırma yöntemi (AAA) de son yıllarda hızlı bir gelişme göstererek partikül büyüklüğü ölçümünde kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntem ile partiküller laminal akış altında kütlelerine, büyüklüklerine ve elektriksel iletkenliklerine göre ayrılırlar (7).

Zeta potansiyelinin ölçülmesi kolloidal sistemlerin stabilitesi hakkında bilgi verir. Genellikle yüksek zeta potansiyeline sahip yüklü partiküller de elektriksel itme nedeniyle daha az agregasyon görülür (56).

- Lipit modifikasyonu ve kristallenme derecesi

KLN' lerin karakterizasyonunda partikül büyüklüğünün analizi gerekli fakat tek başına yeterli değildir. Bu nedenle kristallenme derecesi ve lipit modifikasyonu da önemlidir. Lipidin yapısını araştırmak için Raman ve IR spektrofotometresini, modifikasyon durumunu araştırmak için ise differansiyel tarama kalorimetresi ve X ışını kırınım yöntemi kullanılır (58).

- Farklı kolloidal yapıların varlığı (miseller, lipozomlar vb.) ve dinamik gelişmeler KLN' lerin salım kinetiğini etkilemektedir.

1.2.5 KLN' lere Etkin Madde Yüklmesi ve Salımı

KLN' lere ilaç (etkin madde) dahil edilmesi veya ilacın serbestleştirilerek verimliliğin artırılması sistemi oluşturan maddelere bağlıdır (38).

Birçok farklı etkin madde (timolol, doksurabin, retinol, asiklovir vb.) yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemiyle hazırlanan KLN' lere yüklenmiştir. Burada en önemli nokta ilaç taşıyıcı sistemlerin yükleme kapasitesinin uygunluğuna karar vermektir. Etkin madde yükleme kapasitesinin genellikle lipit fazın (lipit ve etkin madde) yüzdesine bağlı olduğu ifade edilmiştir (58). KLN' lerde lipitin %1-10' u oranında etkin madde yüklenir. Hidrofilik yapılı etkin maddelerde bu oran %1'in altınada düşebilmekte fakat etkinliği yeterli olan maddeler için bu sorun oluşturmamaktadır (20).

Westesen ve arkadaşlarının (83) yaptığı çalışmalarda ubidekaron için yükleme kapasitesini % 1 - 5 aralığından % 50' ye arttırdığını rapor etmişlerdir. Diğer çalışmalarda da tetrakain ve etomidat için % 10 - 20 arasında, retinol için % 5, koenzim Q10 için % 20 ve siklosporin için % 20 - 25' e arttırıldığı belirtilmiştir.

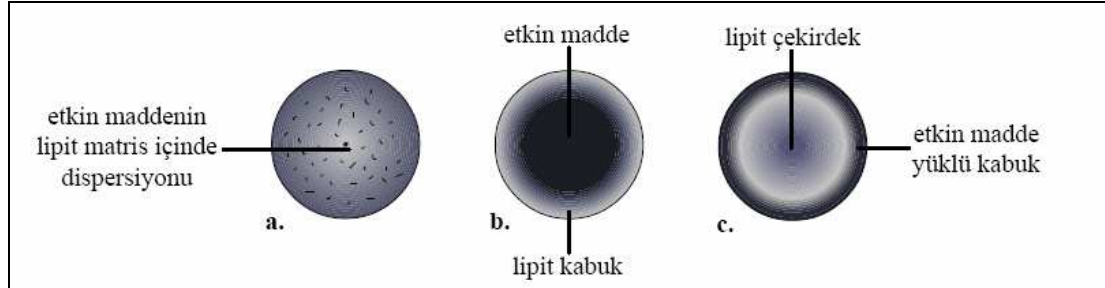
Etkin maddenin lipitte yükleme kapasitesine etki eden faktörler;

- Etkin maddenin erimiş lipitteki çözünürlüğü ve karışabilirliği,
- Katı lipit matrisin kimyasal ve fiziksel yapısı,
- Lipidin polimorfik (multikristalizasyon) durumunu belirler.

Yüksek oranda etkin madde yüklenmesi düşünülen durumlarda etkin maddenin erimiş lipitte maksimum çözünürlük göstermesi istenir. Genellikle erimiş lipit soğutulurken çözünürlüğün azalacağı da etkin madde seçiminde göz önünde bulundurulmalıdır (38, 58).

Katı lipit nanopartiküller de lipitin kristal yapısına ve çözünürlüğüne bağlı olarak kullanılan miktarındaki azalma bu sistemlerde kontrollü salım özelliğın kaybolmasına neden olabilmektedir. Aynı zamanda düzgün sıralı lipitler kümelerle birleşen etkin maddeyi hapsedemeyecektir (61).

Katı lipid nanopartiküle etkin madde yükleme şekilleri aynı zamanda etkin madde salımını da ifade etmektedir. Resim 6 ‘ da etkin maddenin yüklenmesine ait modeller verilmektedir.



Resim 6 : KLN’ lere etkin madde yükleme modelleri

- a. Katı çözelti modeli
- b. Çekirdek kabuk modeli (etkin madde ile zenginleşmiş çekirdek)
- c. Çekirdek kabuk modeli (etkin madde ile zenginleşmiş kabuk)

Katı çözelti modelinde etkin maddenin partikülün her yerinde dispersiyonu kontrollü salımı oluşturmaktadır. Bu modelde homojen dağılmış bir nanopartikül oluşturmak için lipofilik etkin maddelerle sıcak homojenizasyon yöntemi ya da soğuk homojenizasyon yöntemi kullanılır (20).

Çekirdek kabuk modelinde etkin madde yüklenmiş çekirdek elde etmek için, sıcak homojenizasyon yöntemi ile hazırlanan nanopartiküldeki etkin maddenin soğutma sırasında kristallenmesi gerekmektedir. Etkin madde lipitten daha önce çökmeye başlar, kabuktaki etkin madde miktarı azalır ve sonuçta membran kontrollü salım gerçekleşir.

Çekirdek kabuk modelindeki diğer bir lokalizasyon ise etkin maddenin kabukta yüklenmesidir. Etkin maddenin nanopartikülün kabuk kısmında birikmesi lipitin soğuması sırasında faz ayrımına uğraması sonucu meydana gelmektedir. Bu durumda lipid önceden çöker ve etkin madde yüklenmemiş lipid çekirdek oluşur.

Sonuç olarak dış kabukta birikmiş etkin madde patlama etkisi ile hızlı bir salıma neden olmaktadır (8, 60, 61, 64, 65).

Katı lipit nanopartiküllerde etkin madde salımı lipit yapının modifikasyonuna, kullanılan yardımcı maddelerin oranlarına ve hazırlama yöntemlerine göre değişmektedir (64). Geciktirilmiş bir salım elde etmek amacı ile teknolojik parametreler de kullanılabilir. Örneğin sürfaktan derişimi veya sıcaklık değiştirilebilir. Sıcaklıkta yapılan değişiklikler lipidin tekrar kristallenmesine ve dolayısıyla KLN' lerde etkin madde salımında değişikliklere neden olur (38).

KLN' lerden başta hızlı salım ardından uzatılmış etkili salım olmak üzere etkin madde salımının iki kademede gerçekleşmesi istenir (20). Bu sistemlerde yapılan çalışmalarda etkin maddenin salımına bağlı major problemin patlama etkisi olduğu bulunmuş ve yardımcı maddelerin derişimlerinde, hazırlama yöntemlerinde yapılan modifikasyonlarla bu patlama etkisinin ortadan kaldırılabileceği gözlemlenmiştir (53, 54).

1.2.6 KLN' lerin Sterilizasyonu ve Stabilitesi

KLN' ler aseptik hazırlanabilmelerinin yanı sıra, filtrasyon, gama ışınları ve otoklav ile sterilizasyon yapılabilmektedir . Pulmoner ve parenteral uygulamalar için hazırlanan katı lipit nanopartiküllerde sterilizasyon gereklidir (47 , 58).

KLN' lere uygulanan sterilizasyon yönteminin formülasyonun özelliklerini değiştirmemesi, fiziksel kararlılığı ve etkin maddeye ait salım profillerini etkilememesi beklenir (47).

Otoklav ile sterilizasyonda fiziksel stabilite KLN formülasyonun bileşimine bağlıdır. Örneğin poloksamer gibi stabilite sağlayan polimer kullanıldığında sterilizasyon 121 °C ' de otoklavda yapılamamaktadır. Bunun nedeni ise otoklav sıcaklığının polimerin kritik flokülasyon sıcaklığına yakın olması ve polimerin

adsorbsiyon tabakasının göçe (kollapsa) uğramasıdır. Sonuç olarak yetersiz stabilizasyon sağlanmakta ve partikül agregasyonu oluşmaktadır. Bu gibi durumlarda otoklav sıcaklığı 121 °C' den 110 °C' ye düşürülerek otoklav süresinin uzatılması ile sterilizasyon sağlanabilmektedir.

Filtrasyon ile yapılan katı lipid nanopartikül sterilizasyonunda yüksek basınç kullanılmakta ve 0.2 µm' den büyük parçacık boyutuna sahip nanopartiküller için uygun olmamaktadır. Sonuç olarak formülasyon sıvı haldeyken filtrasyon uygulaması daha doğru olmakta ve filtrenin mikro çapından büyük parçacıkların sterilizasyonu da sağlanabilmektedir (58).

Gama ışınlarıyla sterilizasyon ısıya duyarlı etkin maddeler için tercih edilmektedir. Gama sterilizasyonu esnasında ışınların yüksek enerjileri sebebiyle formülasyonlar da serbest radikaller oluşmaktadır. Oluşan bu radikaller bazen tekrar bir araya gelerek formülasyonda hasar oluşturmazken bazen de kimyasal değişikliklere neden olarak farklı reaksiyonlara neden olmaktadır (47).

Kısacası, KLN' ler endüstride kullanılan tüm sterilizasyon yöntemleri ile sterilize edilebilmektedir (58).

Sterilizasyonu sağlanan KLN' lerin kimyasal ve fiziksel olarak da stabil olması beklenir. Sulu formdaki KLN dispersiyonlarında partikül büyüklükleri kısa bir süre stabil kalmış, sonrasında agregatlar oluşturarak büyüklüklerinde artış gözlenmiştir. Bu nedenle sulu formdaki KLN' leri kuru toz forma dönüştürülerek stabilitesinin artırılması düşünülmüştür. Liyofilizasyon ve püskürterek kurutma teknikleri kullanılarak yapılan kurutmalarda toz formdaki KLN' lerin kimyasal ve fiziksel olarak daha uzun süre stabil oldukları gözlenmiştir.

Partikül büyüklüğü ve hidrolizi önleyerek uzun süreli kimyasal ve fiziksel stabilite sağlayan liyofilizasyon yöntemi KLN' ler için ideal bir yöntemdir.

Liyofilizasyonda nanopartiküllerin içinde bulunan sıvı kurutma işleminin başında dondurulur ve süblimasyon ile dondurulan sıvı ortamdan uzaklaştırılır. Bu yöntemde agregasyonu azaltarak partikül boyutunun büyümesini önlemek amacıyla dondurma işlemi koruyucuları denilen krioptektanlar eklenebilir (47).

Püskürterek kurutma yöntemi liyofilizasyona alternatif bir yöntem olarak düşünülmüştür. Liyofilizasyona kıyasla daha ucuz bir yöntem olmasına rağmen KLN' ler için kullanımı pek tercih edilmemektedir. Freitas ve arkadaşları (27) yaptıkları çalışmalarda tekrar dağılabilen KLN' nin i.v kullanımına uygun dispersiyonlarını hazırlamışlardır. Fakat yüksek sıcaklık, kayma gerilimi ve erimeden dolayı parçacık boyutunda artışa sebep olmuştur. Freitas çalışması sonucu püskürterek kurutmanın 70 °C' nin üzerindeki lipitler için uygun olduğunu belirtmiştir.

1.2.7 KLN' lerin Uygulama Yolları

Katı lipit nanopartiküller oral, topikal, parenteral, oküler ve pulmoner uygulama gibi birçok farklı yoldan uygulama imkanı sağlamaktadır.

Oral uygulamalarda KLN' ler ilacın absorpsiyonunu artırır ve absorpsiyon kinetiğinde modifikasyonlara imkan sağlamaktadır. Aslında KLN'lerin çoğunda etkin maddeye bağlı olarak seçilen lipidin yağ asidi ve monogliserit olmasının lenfatik tutulum, biyoadhesyon ve lipoliz sonucu oluşacak ürünlerin tahmin olanağını sağlamaktadır (82). Oral uygulama olarak KLN'lerin su ile dağılabilen tablet, granül ve kapsül formları çalışılmıştır. Midenin yüksek asitliği ve iyonik kuvvetleri nedeni ile nanopartiküllerin toplanmasına sebep olmaktadır. Deneysel verilerle kanıtlanmasa da alınan besinlerinde buna neden olabileceği belirtilmiştir. İn vivo çalışmalarda KLN'lerin bozulması üzerine mide ve pankreas da bulunan lipaz enzimlerinin de etkisi olduğu doğrulanmıştır (67, 85).

Parenteral uygulamalarda, KLN' lerde sıçanlar üzerinde yapılan farmakokinetik çalışmalarda i.v olarak verilen KLN ile ticari preparat karşılaştırıldığında kanda daha yüksek düzeyler gözlemlenmiştir. KLN' lerin akciğer, dalak, böbrek ve beyinde daha fazla dağılım gösterdiği belirtilmiştir (47).

Etkin maddenin kontrollü salımı ve bozunmaya karşı korunması amacıyla topik uygulamalar için KLN'ler geliştirilmiştir. KLN'lerin sulu dispersiyonları jel, krem gibi sistemler, topik kullanım için tercih edilmektedir. Fakat bu sistemlerde geçimsizlik ve düşük etkin madde yükleme kapasitesi gibi sorunlar oluşmaktadır. Saklama sırasında lipit yapıda meydana gelen farklılıklar nedeniyle etkin madde lipit matriksten açığa çıkabilmektedir (55).

Oküler uygulama için pilokarpin ve tobramisin KLN' leri geliştirilmiş ve gözde diğer taşıyıcı sistemlere göre daha uzun süre kalış sağlaması umut verici olmuştur. Tavşanlarda yapılan çalışmada tobramisin KLN' leri ile göz damlası kıyaslandığında daha iyi biyoyararlanım gözlemlenmiştir (11).

1.2.8 KLN' lerin Toksisitesi

Kontrollü salım sistemlerinde toksisiteye neden olan ana etkeni kullanılan yardımcı maddeler oluşturur. KLN sistemlerde seçilen yardımcı maddeler sistemin uygulama yolunu oluşturmaktadır. Oral ve topikal uygulanan sistemlerde yardımcı maddeler genellikle problem teşkil etmemektedir (58).

KLN' lerin fizyolojik bileşenlerden oluşması ve bu bileşenlerin vücuttan atılma yollarının bulunması *in vivo* olarak iyi tolere edilmesini sağlar. Yine de yapılarında bulunan emülgatörlerin toksik etkileri de göz önünde bulundurulmalıdır. Oral ve transdermal (deri üzerine) uygulamada bir problem gözlemlenmemesine rağmen, intramusküler (kas içine) ve sübkutan (cilt altına) uygulamada da seçilen sürfaktana bağlı olarak problemle karşılaşmamaktadır. Bu uygulama yollarında,

mikrometre boyutundan büyük partiküllerin bulunması katı lipit nanopartiküller sistemlerin performansını düşürürken toksik olaylara sebebiyet vermemektedir. Parenteral uygulamalarda pirojen yokluğu kontrol edilmelidir. Pirojenli bir madde ile enfekte olmuş katı lipit nanopartiküller sistemler de, jelatimsi yapı oluşması uygulama için problem oluşturmaktadır (47).

1.3 Antibiyotikler

Çeşitli mikroorganizmalar tarafından biyosentez edilen ve diğer mikroorganizmaların gelişmesini önleyen ya da onları öldüren kimyasal maddelere antibiyotik denmektedir.

Antibiyotik kelimesi ‘yaşam karşıtı’ anlamına gelmektedir ve 19. yüzyılda Fleming tarafından penisilinin keşfi ile günümüze kadar birçok mikroorganizmanın hayatta kalmasını önleyerek çeşitli hastalıkların tedavisinde yeni bir alternatif olmuş ve hayat kurtarmıştır. Birçok hastalığın tedavisinde kullanılan antibiyotikler, hayat kurtarmasına rağmen aynı zamanda beklenmedik yan etkilere de neden olmaktadır. En sık rastlanılan yan etkisi alerjik reaksiyonlarken, vücutta büyük oranda karaciğer ve böbrekten atılması nedeniyle karaciğer ve böbrek toksisitesine yol açabilmektedir (4, 25).

Antibiyotikler etki mekanizmalarına ve etki güçlerine göre 2 şekilde sınıflandırılırlar. Etki mekanizmalarına göre 5 grup altında sıralanırlar ve bunlar Tablo 2 ‘de verilmiştir. Bakterileri yok edenler ve üremesini önleyenler olarak etki güçlerine göre sınıflandırmada Tablo 3’ de belirtilmiştir.

Tablo 2 : Etki mekanizmalarına göre antibiyotikler

Bakteri hücre duvar sentezini bozan ve litik enzimleri aktive edenler:	Beta-Laktamlar (Penisilinler, Sefalosporinler, Monobaktamlar, Karbapenemler) , Sikloserin, Ristosetin, Basitrasin, Teikoplanin, Vankomisin
Sitoplazma membran permeabilitesini bozanlar (Deterjan etkisi yapanlar):	Polimiksinler, Gramisidin, Nistatin, Amfoterisin B, Kandisein, Ketokonazol ve diğer antifungal imidazoller, Flukonazol ve diğer antifungal trizoller, Hekzaklorofen, Katyonik deterjanlar
Ribozomlarda protein sentezini bozanlar:	Tetrasiklinler, Aminoglikozidler, Makrolitler, Amfenikoller, Linkozamidler, Füsidik asid
Bakteri genetik materyali üzerine etki yapanlar:	Florokinolonlar, Rifamisinler, Nalidiksik asid, Metronidazol, Aktinomisinler, Mitomisinler, Bleomisin, Asiklovir, Doksorubisin, Daunorubisin, Metotreksat
Bakteriyel antimetabolitler:	Sülfonamidler, Sülfonlar, PAS, İzoniazid (INH), Etambutol, Trimetoprim

Tablo 3 : Etki güçlerine göre antibiyotikler

Bakteriyostatikler (Bakteri hücrelerinin gelişmesini ve üremesini önleyenler)	Tetrasiklinler, Makrolitler, Sülfonamidler, Amfenikoller, Metronidazoller, Mikonazol
Bakterisidler (Bakteri hücrelerini yok edenler)	Beta-Laktamlar (Penisilinler, Sefalosporinler..), Polipeptidler, Vankomisin, Rifamisin

Antibiyotik denince akla ilk gelen beta laktam grubundan penisilinlerdir. Beta laktam grubunun diğerk bir üyesi olan sefalosporinler de penisilinlere hem yapısal olarak hem de fonksiyonel olarak çok benzemektedir ve gram pozitif, gram negatif mikroorganizmalara karşı kullanılmaktadır (30, 84).

Sefalosporinlerin çoğunluğu yarı sentetik olarak 7-aminosefalosporanik asitten elde edilmektedir. Beta laktam antibiyotikler içinde penisilinlere göre mikroorganizmalara daha dirençli olmaları, düşük toksisite göstermeleri ve uygun farmakokinetik profile sahip olmaları nedeniyle sefalosporinlerin kullanım oranları artmıştır (5, 87).

Sefalosporinler aralarında birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü kuşak olmak üzere dört gruba ayrılırlar. Bu sınıflandırma bakterilere karşı duyarlılık ve beta-laktamaz enzimine karşı dirence göre yapılmaktadır (5, 26, 71, 76).

Birinci kuşak Sefalosporinler:

- Sefalotin, Sefalekssin, Sefaloglisin, Sefadroksil..vb.

İkinci kuşak Sefalosporinler :

- Sefaklor, Sefamandol, Sefanisid, Sefuroksim Proksetil..vb.

Üçüncü kuşak Sefalosporinler :

- Sefpodoksım Proksetil, Sefotaksım, Sefiksım.. vb.

Dördüncü kuşak Sefalosporinler :

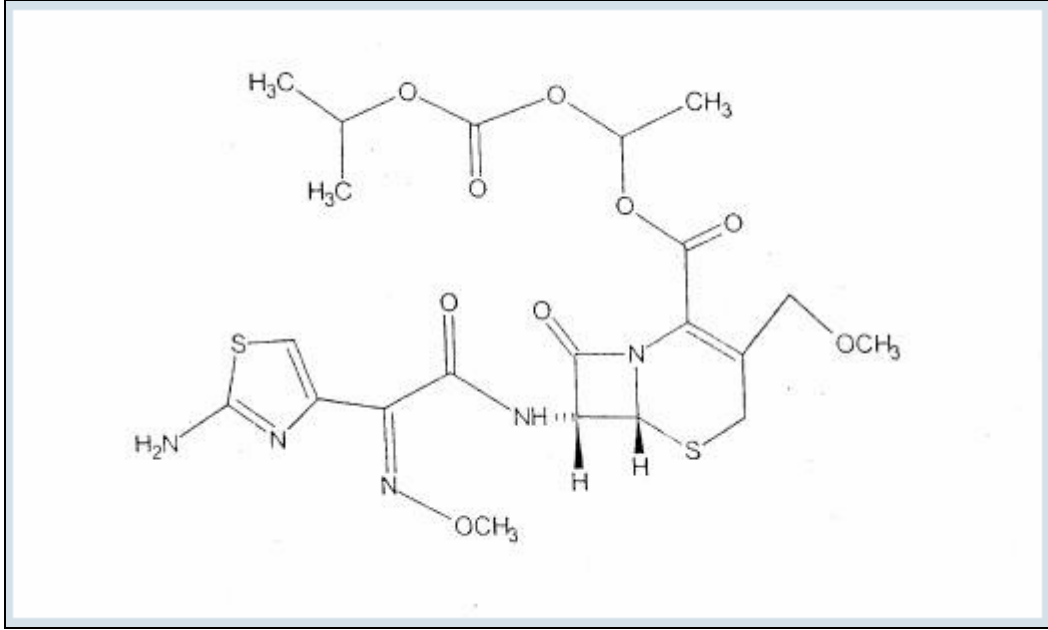
- Sefpirom, Sefozopran, Sefepim..vb.

1.4 Sefpodoksım Proksetil (SP)

1.4.1 Kimyasal Yapısı ve Fiziksel Özellikleri

Kimyasal adı ($\pm$) -1-Hidroksi (+) - (6R,7R) - 7 - [2 - (2 - amino - 4 - thiazolil) glioksilamido] - 3 - metoksimetil) - 8 - okso - 5 - tiya - 1- azabisiklo [4.2.0] okt-2-

en-2-karboksilat,⁷-(Z) - (O-metiloksim), izopropil karbonat (ester) olan Sefpodoksim Proksetil C₂₁H₂₇N₅O₉S₂ formülü ile ifade edilip, molekül ağırlığı 557.61 g/mol' dür (92). Şekil 1'de Sefpodoksim Proksetil (SP)' in kimyasal formülü verilmiştir.



Şekil 1 : Sefpodoksim Proksetil (SP)' in kimyasal formülü

SP beyazdan kahverengimsi beyaza değişen renkte, kokusuz veya hafif kokulu bir tozdur. Asetonitril ve metil alkolde çözünürken, susuz alkolde serbestçe ve eterde hafifçe çözünmektedir (92). Hava geçirmeyen kaplarda 25°C' nin altındaki oda sıcaklığında saklanmalıdır.

SP yapısında bulunan asimetric karbon nedeniyle R ve S izomerlerine sahiptir. Çözünürlüğü bulunduğu ortamın pH' sına bağlıdır ve asidik pH' da yüksek çözünürlük gösterirken pH arttıkça çözünürlüğü düşmektedir (39). SP bağırsak pH' sında ağırlıklı olarak iyonik formda bulunur. Bu nedenle de düşük emilim göstermektedir. Kimyasal yapısında bulunan fonksiyonel karboksilik asit grubunun esterleşmesi ile molekülün lipofilitesinin artması ve oral yoldan alındığında pasif

difüzyonla emilmesini sağlamaktadır. Bu da molekülün bir ön ilaç olarak kullanımının nedenini açıklamaktadır (92).

1.4.2 Farmakolojik Özellikleri

Sefpodoksım Proksetil üçüncü kuşak sefalosporin grubu geniş spektrumlu bir ön ilaçtır. Oral kullanıldığı zaman bağırsak sistemindeki esteraz enzimleriyle sefpodoksime hidrolize olup emilir. Oral yolla tablet veya süspansiyon formunda uygulanan SP, sefpodoksime parçalanmasına rağmen biyoyararlanımı maksimum %50'dir. Süspansiyon formülasyonu da tablet alan hastalardakine benzer absorpsiyon göstermektedir. Bakteriyel hücre duvarı sentezini durdurarak bakterileri öldürmektedir. Sefpodoksım bakterideki hücre duvarında bulunan penisilin bağlayıcı proteinlere bağlanarak hücre duvarı stabilitesinden sorumlu olan transpeptidaz enzimini inhibe etmektedir (39).

Sefpodoksım hızlıca absorbe olur ve kanda maksimum derişime erişme süresi 1.5 ile 4.0 saatleri arasındadır. Sefpodoksım serumda %22 - %33 arasında, plazmada %21 - %29 arasında proteinlere bağlanır. SP yiyeceklerle alınması etkinliliğini değıştirmezken sadece absorsiyon süresinin uzamasına neden olmaktadır. Serum derişimi uygulanan 100 - 200 mg'lık dozlar ile doğru orantılı olarak artmakta, 200 mg'dan daha yüksek dozlarda düşmektedir. Oral uygulama sonrası dağılım hacmi 0.7 – 1.2 litre/kg'dır. Eliminasyon yarı ömrü 2.2 saat olan Sefpodoksım büyük oranda renal atılım ile vücuttan uzaklaştırılmaktadır (12, 18). Sefpodoksım'ın eliminasyonu renal yetmezliğı olan hastalarda azalmaktadır. Siroz hastalarında da süspansiyon formu kullanıldığında absorpsiyonun azaldığı gözlenmiştir. Siroz hastalarında ve sağlıklı bireylerde renal eliminasyon benzerlik göstermektedir. Plazma yarı ömrünün uzaması böbrek fonksiyonlarının zayıflaması ile artabilmektedir. Anne sütüne de düşük derişimlerde geçtiğı gözlenmiştir.

Oral kullanılan ilk 3.kuşak sefalosporin grubu antibiyotik olan SP gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı kullanımda vücut tarafından iyi tolere edilmektedir. Bu nedenle idrar yolları, orta kulak, bademcik ve yutak iltihabı ile solunum sistemi hastalıklarında yaygın olarak kullanılmaktadır (66). Türkiye’ de kullanılan SP dozaj şekilleri Tablo 4’ de verilmiştir.

Tablo 4 : SP’ nin Türkiye’de kullanılan dozaj şekilleri

Adı	Dozaj Şekli	Dozu
Infex	Film Tablet	100 mg
		200 mg
Sefpotec	Film Tablet	200 mg
Orelox	Oral Süspansiyon	100 mL
	(Pediatrik)	(40 mg/5 mL)

SP insanda bağırsak içinde kolinesteraz enzimleri tarafından hidrolize edilmektedir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda SP’ nin lümenel ve mukozal esterifikasyona uğrayarak dudenumda da emildiği bildirilmiştir. Tavşanlarda yapılan çalışmalarda da bu bulgu desteklenmiştir. Bu da kısmen SP’ nin eksik emilimini açıklamaktadır. Sonuç olarak SP ön ilaç olması enzimatik hidrolize az da olsa dayanıklılığını sağlayabilmektedir. SP’ in tablet olarak yüksek dozlarda kullanılması ile enzimatik hidrolize uğramayacağı düşünülüp etkin bir emilim beklenmiştir. Fakat artan dozla yapılan tavşan çalışmalarında etkili sonuç alınamamıştır. Yiyecekler ile alındığında da emilimde gözle görülür bir değişme elde edilememiştir. SP’ nin biyoyararlanımı artırmak için, gerekli koruyucu bir formülasyon ile hem çözünürlüğünü arttırmak hem de bağırsak içinde kolinesteraz enzimleri tarafından enzimatik saldırıya karşı koruma sağlanmalıdır (46).

Köpeklerde deri enfeksiyonuna bağlı yapılan araştırmalarda sefpodoksim sodyum damar içi ve SP oral tablet, süspansiyon formülasyonları uygulanarak plasmadan farmakokinetik analizi yapılmıştır. 12 köpekle yapılan çalışmada damar içine uygulama sonrası kateter aracılığı ile 48 saat boyunca kan alınmıştır. Oral olarak SP uygulanma sonrasında da 48 saat kan alımı gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonrası bulgulara iki oral formülasyonun biyoyararlanımının hemen hemen bir olduğu, damar içi formu için biyoyararlanımın daha iyi olduğu gözlenmiştir. Deri enfeksiyonlarında tek doz SP uygulamasının köpeklerde yeterli olduğu kanısına varılmıştır (10).

Kakumanu ve ark. (40) fareler üzerinde SP'nin gastro intestinal yolda farklı segmentlerde bölgesel değişkenlik gösteren çözünürlük ve metabolizasyonuna ait çalışma gerçekleştirmiştir. 6 fare üzerinde yapılan çalışmada SP'nin sırası ile incebağırsağın üst kısmında, incebağırsağın alt kısmında, onikiparmak bağırsağında ve midede metabolizasyona uğradığı sonucuna ulaşılmıştır.

SP'nin hidroksipropil metil selülozla günde tek tablet kullanımına imkan sağlayan sürekli salım sağlayan formülasyonu üzerine *in vitro* salım çalışmaları yapılmıştır. Hidrofilik polimer matriks sistemler ile oral kontrollü salım sağlayan sistemler oluşturma imkanından yararlanılarak hidroksipropil metil selülozla (HPMC) SP'nin Cefpo SR isimli formu oluşturulmuştur. Sürekli salım sağlayan Cefpo SR ile 24 saatlik *in vitro* salım hızı çalışmaları yapılmış ve elde edilen veriler sıfırıncı dereceden, birinci dereceden, Higuchi ve Hixson-Crowell kinetik modelleri ile değerlendirilmiştir. Günde tek doz SP kullanımı ile hasta uyuncunun arttırılması planlanan bu çalışmada HPMC ile SP'nin günlük sürekli salım sağlayan tablet ve teorik ürün profili ile karşılaştırılarak Higuchi denklemi ve sıfırıncı dereceden kinetik ile uyum gösterdiği belirtilmiştir (49).

1.4.3 Tanınması

4 mL distile su üzerine 1 mg SP eklenerek çözündürülür. Üzerine buz banyosu içerisinde 1 N' lik 1 mL'e sülfürik asit eklenir ve 1:100 oranında yeni hazırlanmış 1 mL sodyum nitrit çözeltisi eklenerek 2 dakika beklenir. Bu süre sonrasında 1:100 oranında hazırlanmış amonyum sülfat çözeltisinden 1 mL ilave edilip, 1 dakika daha beklenir. Son olarak 1 mL N-(1-naftil) etilen diamin dihidroklorür eklenir ve kırmızı pembe renk değişimi gözlenir (92).

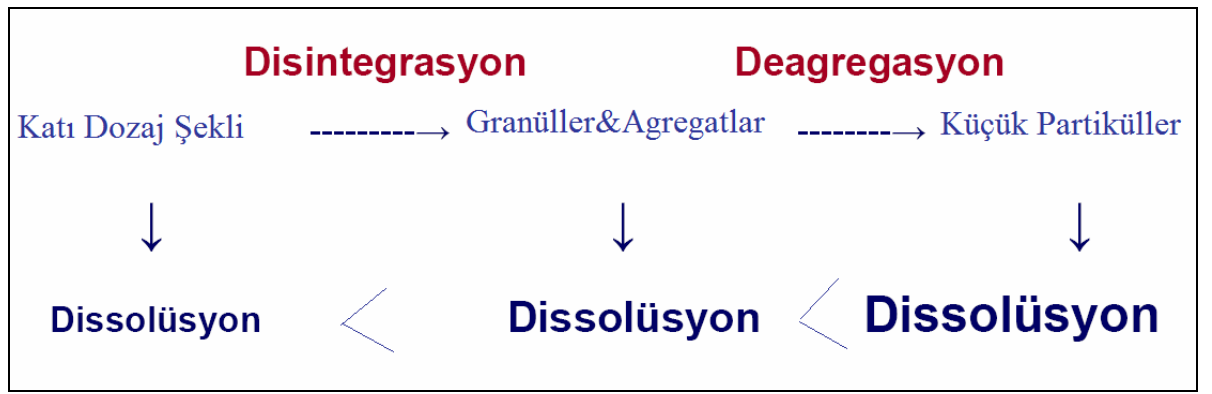
1.5 Çözünürlük Testi

Çözünürlük testi *in vitro* çalışmalarda bir maddenin birim zamanda çözünen miktarını tespit ederek formülasyonun terapötik etkisini ve kalitesini değerlendirmek için kullanılır. Çözünme testi olarak da adlandırılan dissolüsyon testi öncelikle partiküllerin çözünmesi ve ardından çözünen partiküllerin difüzyonu prensibine dayanmaktadır. Yeni formülasyon geliştirme sürecinde gerçekleştirilen *in vitro* dissolüsyon testi formülasyonun *in vivo* performansı hakkında bilgi vermekte ve biyofarmasötik kalitesini yansıtmaktadır (17).

Çözünürlük testleri kısa zamanda, küçük bir bütçe ile laboratuvarda gerçekleştirebilme imkanı sağlaması nedeniyle tercih edilmektedirler. Formülasyonun farmakopelerde belirtilen madde ile aynı özelliklere uygunluğunu belirlemek amacı ile *in vivo* çözünme ortamına en uygun deney şartları hazırlanır. Hazırlanan deney ortamından belirli zaman aralıkları ile örnekler alınır ve çözünme miktarı belirlenir. Elde edilen sonuçların analizi spektrofotometre ile veya kromatografi cihazlarıyla ölçülerek değerlendirilir (79).

Ağız yolu ile alınan katı dozaj şekillerinin sistemik etki göstermesi, absorpsiyona uğrayarak dolaşıma geçmesi beklenir. Katı dozaj şekillerinin (KDS) absorpsiyonu için ise çözünmesi şarttır. Çözünmeyen formülasyon biyolojik

membranlardan geçememekte ve sistemik etki gösterememektedir. Absorbe olduktan sonra dolaşıma geçen ilaç plazmada dağılarak seyrelir ve ardından interstisyel sıvı başta olmak üzere diğer vücut sıvılarına ve dokulara dağılır. Dağılım absorpsiyona göre çok daha hızlı gerçekleşmektedir. Vücutta gerçekleşen bu absorpsiyon ve dağılımdan önce katı dozaj şekilleri disintegrasyona ve deagregasyona uğrar. İlacın vücutta absorpsiyona uğradığı yerde meydana gelen bu olayı *in vitro* değerlendirmek amacı ile yapay mide- bağırsak ortamı sağlanarak çalışılmıştır (34 , 41).



Resim 7 : Katı dozaj şeklinin çözünmesi

In vitro çözünme hızı;

- İmalatta seriler arası kalite kontrol amacı ile,
- Biyoyararlanım Biyoeşdeğerlik çalışmalarında *in vitro* - *in vivo* korelasyon amacı ile,
- Formülasyon geliştirmede optimum formülasyon elde etmek ve çözünme hızı eğrisini elde etmek amacı ile önemlidir.

Çözünürlük testi ilk olarak Levy ve Hayes tarafından 30 - 60 rpm'de 300 mL'de çalışılmıştır. Uygulanan bu yöntem 'Beher Yöntemi' denilmiştir. Yöntemde çözünme ortamının hacminin azlığı ve düşük karıştırma hızı sorun oluşturmuştur.

Farmakopeye göre bu yöntemin 7 adet aparatı vardır (17 , 52). Bunlar Resim 8’ de belirtilmiştir.

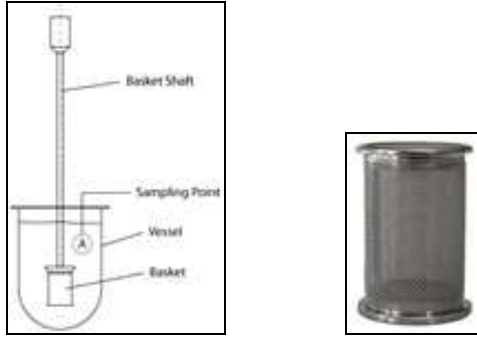


Resim 8 : Çözünürlük Testi Aparatları

Çözünürlük testleri tozlar gibi basit sistemlerde söz konusudur. Oysaki farklı dozaj şekillerinde sadece çözünme değil salımdan da bahsedilmelidir. Dozaj şekillerinde etkin maddenin salımını incelemek terimi daha doğru olacaktır (1).

1.5.1 Sepet Yöntemi

KDŞ’ lerinin çalışılması için uygun bir yöntem olan sepet yönteminde 37 ± 0.5 °C’ de ve ± 4 sapmalı dönüş hızında çalışılmalıdır. Dönen mil merkezden 2 cm’ den fazla sapma göstermemelidir. Örnek alınan çubuk ise dissolüsyon kabının üst kısmı ile sepetin orta kısmına yerleştirilmelidir. Sepet kabın ortasına gelecek şekilde mil ayarlanmalıdır ve çalışırken yalpalama yapmamalıdır. Kullanılan dissolüsyon kabı plastik veya cam olabilir (2, 44).



Resim 9 : Sepet Yönteminin Şematik Gösterimi ve Kullanılan Sepet

Bu yöntemde tablet için çalışılacaksa tablet sepetin dibinde bulunmalıdır. Eğer kapsül gibi hafif dozaj şekli ile çalışılıyorsa sepetin üstüne yakında bulunur. Çalışılacak dissolüsyon ortamları monograftan bulunarak dissolüsyon cihazı ile istenilen şartlar sağlanarak çalışma sağlanır (79).



Resim 10 : Sotax Dissolüsyon Cihazı

1.5.2 Çözünürlük Testini Etkileyen Faktörler

Çözünürlük çalışmalarında birçok parametre test sonucunu etkilemektedir. Genel bir başlık altında bunları incelersek;

- İlacın fizikokimyasal özellikleri ile ilgili faktörler,

İlaca ait fizikokimyasal özellikler dissolüsyon hızını belirler ve biyoyaralanımına ait olası problemleri tahmin etme olanağı sunar. İlacın partikül büyüklüğü, ilacın çözünürlüğü, kompleks oluşturma ve çökelme özelliği, polimorfizm göstermesi başlıca faktörlerdir.

- İlaç formülasyonu ait faktörler,

Dozaj şeklinde kullanılan yardımcı maddeler, kaydırıcılar, bağlayıcılar, dağıtıcılar, granülasyon ajanları ve yüzey aktif maddeler ilacın dissolüsyon özelliklerini belirleyebilir.

- Seçilen dozaj şekline bağlı faktörler,

Dozaj şeklinde üretime bağlı olarak örneğin baskı kuvveti, saklanma koşulları dissolüsyonda etkili olabilmektedir.

- Dissolüsyon aletine ve dissolüsyon test parametrelerine ait faktörler,

Dissolüsyonun gerçekleştirildiği cihazda karıştırma milinin yalpalaması, örnek alma çubuklarının pozisyonu, karıştırma milinin pozisyonu ya da dissolüsyonun yapıldığı ortamın sıcaklığı, dissolüsyon ortamı gibi parametrelerde dissolüsyon sonuçlarını etkilemektedir (17, 41, 79).

1.5.3 Benzerlik Testi

Çözünürlük çalışmalarında elde edilen absorbans değerlerinin yüzde salımına bağlı çözünme profilini karşılaştırmada kullanılan benzerlik testidir. Benzerlik testi f_2 faktörü ile ifade edilmektedir. Formülasyonlar arası çözünme profilini karşılaştırmada, performanslarında benzerlik göstermede ve biyoyaralanım çalışmalarının kıyaslanmasında tercih edilen bir yöntemdir. SUPAC rehberinde yer alan benzerlik testi son yıllarda FDA tarafından da kabul görmüştür.

Çözünme profili karşılaştırmada çeşitli yöntemler arasında f_2 faktörü en kolaydır. Moore ve Flanner isimli araştırmacılar çözünme profili için matematiksel bir yaklaşım ile bağımsız iki faktörü karşılaştırmak için önermiştir (14).

Eşitlik 1 : Benzerlik Testi Eşitliği

$$\int 1 = \left(\left[\sum_{t=1}^n |R_t - T_t| \right] / \left[\sum_{t=1}^n n R_t \right] \right) \cdot 100$$

$$\int 2 = 50 \cdot \log \left\{ \left[1 + (1/n) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} \right\} \cdot 100$$

Log = 10 tabanında logaritma

n = 't' anına kadar alınmış örnek sayısı

R_t = 't' anında referans ilacın % çözünen miktarı

T_t = 't' anında test ilacın % çözünen miktarı

f_1 eşitliği iki ortalama farkı ile doğru orantılı sonuç verirken, en çok tercih edilen eşitlik f_2 ortalamaların karesinin farkı ile doğru orantılı olarak sonuç vermektedir. f_2 benzerlik faktörü karşılaştırma için monogramlarda odak olmuştur (51).

f_2 benzerlik faktörü 50 - 100 arasında bulunması durumunda çözünme profillerinin benzerliğinden bahsedilmektedir. Bazı ilaçlar için 15 dakikada %85'den fazlasını çözünmesi durumunda f_2 faktörünü hesaplamaya gerek yoktur (72).

1.6 Salım Profillerinin Kinetik Olarak Değerlendirilmesi

Kinetik, yunanca zamana bağlı olarak harekete geçirmek anlamına gelmektedir. Farmakokinetik, etkin maddelerin canlı organizmalara verildikten sonra biyolojik sıvılardaki profilini incelemektedir. *In vitro* çalışmalarda ilacın çözünme hızı deneylerinin kinetik olarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu değerlendirmeyi yapmak için birtakım salım eşitliklerinden yararlanılır (3). Bu eşitlikler:

Eşitlik 2 : Hixson- Crowell Eşitliği

$$x = t$$

$$y = W_0^{1/3} - W^{1/3}$$

$$W_0^{1/3} - W^{1/3} = k \times t$$

$$K = k \times 0.618 \times W^{2/3}$$

t = zaman (dakika)

W = t zamanda açığa çıkan madde miktarı

K = Çözünme hızı sabiti (dakika⁻¹)

Partiküler dozaj formları için uygun olan küpkök eşitliği Hixson ve Crowell adlı araştırmacılar tarafından geliştirilmiştir.

Eşitlik 3 : Higuchi Eşitliği

$$100 - C = k_d \times \sqrt{t}$$

t = zaman

C = % çözünmeden kalan madde miktarı

k_d = Higuchi salım hız sabitesi (zaman^{-1/2})

Karekök kanunu olarak da bilinen Higuchi Eşitliği etkin maddenin salımı değiştirilmiş dozaj formlarındaki salım hızlarını belirlemek için kullanılmaktadır. Salınan etkin madde miktarının zamanın karaköküne karşı grafiğe geçirilmesiyle ifade edilir.

Eşitlik 4 : Sıfırıncı Derece Kinetik Eşitliği

$$C = K_0 \times t$$

C = herhangi bir t anında K₀ sabitine bağlı gerçekleşen derişim

K₀ = sıfırıncı dereceden eliminasyon hız sabiti

t = zaman (dakika)

Sıfırıncı derece kinetikte dozaj formlarında her bir zamanda salınan etkin madde miktarının sabit olması beklenmektedir. Zamana karşı derişim değęrlerinin grafiğe geçirilmesi ile bir doğru elde edilir.

Eşitlik 5 : Birinci Derece Kinetik Eşitliği

$$C = C_0 \times e^{-k_e \cdot t}$$

C = herhangi bir t anında k_e sabitine bağlı geręekleşen derişim

C = 0 anındaki madde düzeyi

k_e = birinci dereceden eliminasyon hız sabiti

t = zaman (dakika)

Zamana bağlı olarak salınan etkin maddenin derişimlerinin üssel olarak azalması beklenen modele Birinci dereceden salım profili denmektedir. Dozaj formları genelde bu salım profiline uymaktadır (9, 24).

BÖLÜM II

2 GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Kullanılan Gereçler

2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sefpodoksim Proksetil	Sidco, Hindistan (Basel İlaç Sanayi tarafından temin edilmiştir.)
Aseton	Sigma-Aldrich / Polonya
Etanol	J.T. Baker / Hollanda
Polivinilalkol	Electron Microscopy Sciences
Stearik asit	Galenik Kimya / Türkiye
Glisin	Sigma-Aldrich / Almanya
Metanol	Sigma-Aldrich / İsviçre
HCl	Sigma-Aldrich / Almanya
Tween 20	Merck / Almanya

2.1.2 Kullanılan Cihazlar

Hassas Terazı	Sartorius GM3101/ Kanada
Hassas Terazı	Sartorius BP121S / Almanya
Isıtıcı (Magnetik Karıştırıcı)	Yellow Line TC1 / Almanya
Magnetik Karıştırıcı	Yellow Line OS Basic / Almanya
Ultrasonik Su Banyosu	Singen LC 30 /Almanya
Su Banyosu	Nüve BS 402/ Türkiye
Dissolüsyon Cihazı	Sotax AT7 R-26126
Spektrofotometre	HP DAD 8453 UV Spektrofotometre
Kuartz Küvet	Hellma QS / Almanya
Polistrol Küvet	Sarstedt /Almanya
pH Metre	Metler Toledo Seven Multi / ABD
Liyofilizatör	Christ Alpha 1-2 LD Plus / ABD
Santrifüj	Nüve NF 1200R / Türkiye
Partikül Boyutu Ölçüm Cihazı	Malvern V2.0 / İngiltere
Refraktometre	Atago RX7000 / Japonya
Viskozitometre	Brokfield DV-II+Pro / İngiltere
4 °C Buzdolabı	Kleo / Türkiye
Vortex	Yellow Line TTS 2 / Almanya

2.2 Kullanılan Yöntemler

2.2.1 SP Spektrofotometrik Miktar Tayini Çalışmaları

2.2.1.1 SP UV Spektrumu

Glisin tampon çözeltisi için 3.002 g glisin tartılarak behere aktarıldı. Bir miktar distile su eklenerek ultrasonik su banyosunda çözünmesi sağlandı. 1 N' lik HCl ile çözelti pH'sı 3 e ayarlandı ve distile su ile 1000 mL' ye tamamlandı. Tekrar pH kontrolü yapıldı.

2.2.1.2 SP Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi

Etkin madde olan SP'den %125' lik derişimde 3 adet stok çözelti hazırlandı. Bunun için 4.075 mg SP (mL' sinde 65.2 µg SP içeren %125'lik derişimde olacak şekilde) tartılarak 50 mL' lik kalibre balon jojeye aktarıldı. Balon jojeye 0.67 mL metanol ilave edildi ve etkin maddenin çözünmesi sağlandı. Hazırlanan glisin tampon çözeltisi ile 50 mL' ye tamamlanarak kalibrasyon eğrisi için gerekli olan stok çözelti hazırlanmış oldu. %125' lik hazırlan stok çözeltiden hareketle 5 farklı derişimde olacak şekilde (%100, %75, %50, %25 ve %12.5) sırası ile 8 mL, 6 mL, 4 mL, 2 mL ve 1 mL pipetle çekilerek 10 mL'lik balonjojelere aktarıldı ve glisin tamponu ile seyreltme yapıldı. Yapılan bu 5 farklı seyreltme ve %125'lik ana stok çözelti ile birlikte toplam 6 farklı derişimde çözelti hazırlanmış oldu ve bu Tablo 5' de belirtildi.

Tablo 5 : SP' nin kalibrasyonu için hazırlanan stok çözelti derişimleri

Çözelti No	Tartılan Sefpodoksim Proksetil (mg)	1.Dilüsyon Hacmi (mL)	Seyreltme Miktarı (mL)	2.Dilüsyon Hacmi (mL)	Final Derişim (µg/mL)	Teorik miktara karşılık gelen
6	4.075	50	1	10	8.15	%12.5
5	4.075	50	2	10	16.3	%25
4	4.075	50	4	10	32.6	%50
3	4.075	50	6	10	48.9	%75
2	4.075	50	8	10	65.2	%100
1	4.075	50	-	10	81.5	%125

Elde edilen bu 6 derişim UV Spektrofotometrede 259 nm'de okutularak derişim - absorbens değerlerine bağı olarak kalibrasyon eğrisi çizimi gerçekleştirildi.

2.2.1.3 SP' nin Spektrofotometri ile Validasyonu

SP' nin miktar tayini için spektrofotometrik yöntem valide edildi. Bu amaç doğrultusunda glisin tampon ile pH 3'de ve 259 nm' de çalışıldı.

2.2.1.3.1. Doğrusallık

SP' nin %12.5 ile %125 derişimleri arasında 3 paralel olacak şekilde 6 ayrı (%125, %100, %75, %50, %25 ve %12.5) derişimde çözelti hazırlanıp absorbensları ölçüldü. Artan derişimler için ulaşılan absorbens değerlerinden doğrusallık test edilerek, kalibrasyon eğrisine ait denklem elde oluşturuldu.

2.2.1.3.2 Kesinlik

Çalışmanın kesinlik parametresi kriterlerine uyup uymadığını kontrol etmek amacı ile aşağıdaki şekilde ve derişimlerde tekrar elde edilebilirlik ve tekrarlanabilirlik ölçütlerine bakıldı.

2.2.1.3.2.1 Tekrar Elde Edilebilirlik

Çalışmanın miktar tayininde kesinliğini tayin edebilmek için çalışılan %100 derişime eşdeğer derişimde 6 adet birbirinden bağımsız paralel örnek hazırlanıp absorbans değerleri ölçüldü. Sonuçlar doğrultusunda % geri kazanım ve geri kazanımların istatistiksel sapmaları hesaplandı.

2.2.1.3.2.2 Tekrarlanabilirlik

Çalışma şartlarında tekrarlanan analizlerde elde edilen sonuçların uyumu da kesinlik kriterleri dahilindedir. Tekrarlanabilirlik analizi için %100 derişime denk hazırlanan bir örnek ardı ardına 10 defa okutularak elde edilen absorbans değerlerinin ortalama ve bağıl standart sapmasının istatistiksel değerlendirmesi yapıldı.

2.2.1.3.3 Seçicilik ve Doğruluk

Çalışmanın seçiciliği için etkin maddenin çözündüğü formülasyonda bulunan diğer maddelerle hazırlanan plasebo çözelti analiz edildi ve SP ile aynı dalga boyunda bir absorbans gözlenmedi. Uygulanan metodun seçiciliği elde edilen sonuçlar ile gösterildi.

Çalışmada spektrofotometrik validasyonun doğruluğu açısından değerlendirmek için yani çalışma süresince elde edilen absorbans değerlerinin gerçek değere ne kadar yakın olduğunu tespit etmek amacı ile teorik madde miktarının %80, %100 ve % 120' sine denk gelecek şekilde hazırlanan test çözeltileri analiz edildi. Her bir derişim değerleri için absorbansların ortalama % doğrulukları hesaplandı.

2.2.2 KLN Formülasyonunun Geliştirilmesine Ait Çalışmalar

SP içeren KLN hazırlanmasında Çözücü Emülsifikasyonu / Evaporasyonu yöntemi kullanılmıştır (63).

Formülasyonda kullanılan maddeler ve parametreler Tablo 6’ da belirtildi.

Tablo 6 : Optimum formülasyonda kullanılan maddeler ve parametreler

Etkin Madde	:	Sefpodoksim Proksetil
Katı Lipit	:	Stearik asit
Yüzey Etkin Madde	:	Polivinilalkol (%1’lik sulu çözeltisi)
Yardımcı Çözgen	:	Etanol : Aseton (1:1)
Çözünme Sıcaklığı	:	50 – 60 °C
Karıştırma Hızı	:	500-700 rpm
Karıştırma Süresi	:	10 dakika
Santrifüj	:	30 dakika 3000 rpm 4 °C
Liyofilizasyon	:	-51°C’ de

Formülasyon da etkin madde olarak SP ve katı lipit olarak stearik asit kullanıldı. Yüksek etkin madde yükleyebilme düşüncesiyle 2:1 oranında çalışıldı. 2 kısım (0.0522 g x 2) SP 1 kısım (0.0522 g) stearik asitle homojenize edildi ve çözgen olarak 35 mL etanol : aseton (1:1) kullanıldı. Bu karışım 35 mL polivinil alkolün %1’ lik çözeltisi üzerine 700 rpm karıştırma hızında ilave edildi. 10 dakika boyunca karışması sağlandı. Fakat süre sonunda agregasyon gözlemlendi ve elde edilen nanopartikül süspansiyonunda çökme gözlemlendi. Aynı oranlarda ve aynı sıcaklıkta fakat 500 rpm karıştırma hızında çalışma tekrarlandı ve yine topaklanma gözlemlendi.

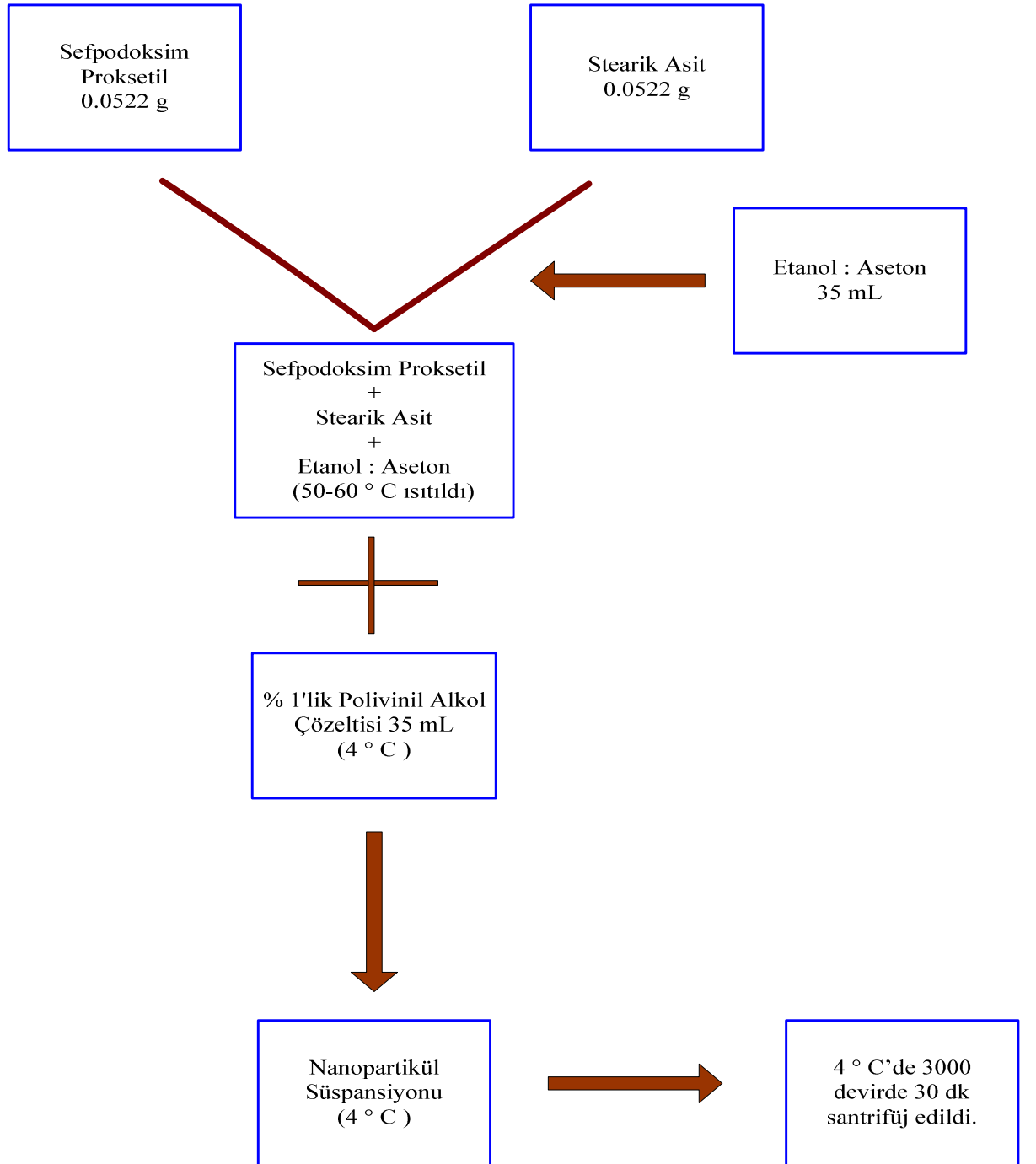
Optimum formülasyon için SP ve stearik asit 1:2 oranında çalışıldı. 1 kısım SP ile 2 kısım stearik asit tartıldı. Bu karışımın üzerine 35 mL etanol : aseton (1:1) ilave edilerek çözünmesi sağlandı. Su banyosunda bulunan 35 mL polivinil alkolün

%1' lik çözeltisi üzerine ilave edilerek 700 rpm hızında 10 dakika boyunca karışması sağlandı. Süre sonunda karıştırıcıdan alınan nanopartikül süspansiyonunda agregasyon ve çökme gözlemlendi. Çalışma madde oranları ve sıcaklıklar aynı tutularak 500 rpm' de tekrarlandı. Elde edilen sonuç açısından olumlu bir fark gözlenmedi.

2.2.2.1 Optimum KLN Formülasyonunun Hazırlanması

0.0522 g Sefpodoksim Proksetil ve 0.0522 g stearik asit 1:1 oranında olacak şekilde tartıldı. Tartılan maddeler bir behere eklendi. Daha önceden 1:1 oranında hazırlanan aseton : etanol çözeltisinden 35 mL, beherdeki maddelerin üzerine ilave edildi. Parafilm ile ağzı kapatılan karışım ısıtıcıda 50 - 60 °C arasındaki sıcaklığa ısıtıldı. Karışım, su banyosunda 4 °C' ye soğutulmuş 35 mL %1' lik polivinilalkol çözeltisi üzerine 500 rpm karıştırma hızında ilave edildi ve 10 dakika karıştırılmaya bırakıldı. Süre sonunda elde edilen karışım cam tüplere aktarılıp 3000 rpm'de 4 °C' de 30 dakika santrifüjlendi.

Şekil 2 'de, Resim 11, Resim 12 ve Resim 13'de formülasyonun hazırlanışı şematik olarak ve resimlerle ifade edildi.



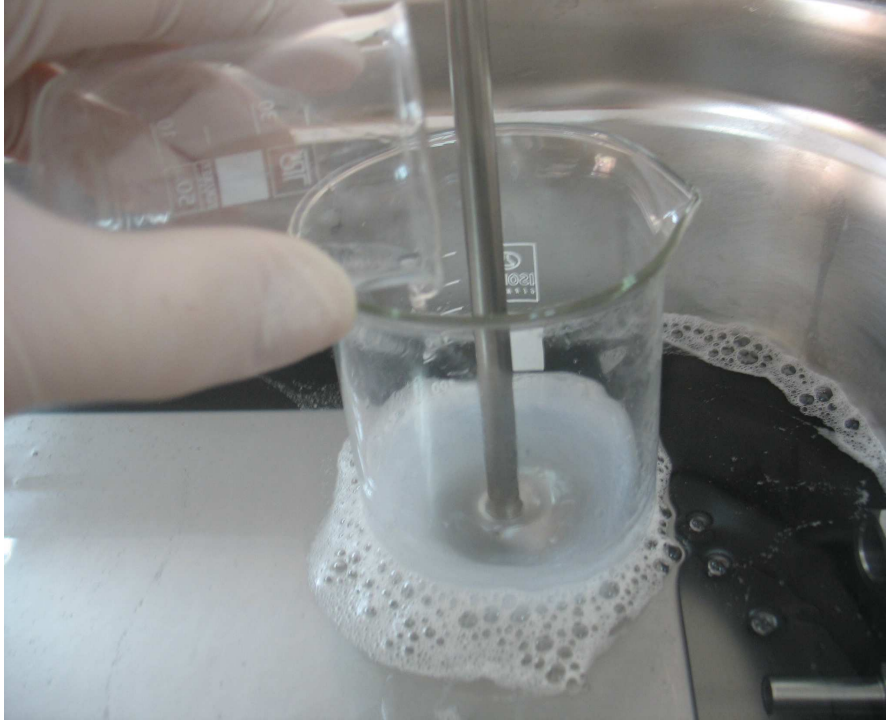
Şekil 2: Optimum formülasyonun hazırlanışının şematik gösterimi



Resim 11 : KLN hazırlanması esnasında karıştırıcıda polivinilalkol çözeltisi



Resim 12 : SP içeren çözeltinin % 1' lik PVA çözeltisine ilave edilmesi -1



Resim 13 : SP içeren çözeltinin % 1' lik PVA çözeltisine ilave edilmesi -2

2.2.2.2 SP KLN Formülasyonuna Ait Çalışmalar

2.2.2.2.1 Liyofilizasyonu

Hazırlanan SP KLN'lerinin santrifüj sonrası üstteki berrak sıvı atılıp dibe çöken katı kısmı şilifle balona alınarak $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de bir gece bekletilerek donması sağlandı. Ardından $-51\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 0.035 mbar vakum altında kurutuldu. Liyofilizasyon işlemi sonrası elde edilen toz glisin tampon ile çözündürülerek absorbansı ölçüldü.

2.2.2.2.2 Parçacık Boyutu Analizi

Hazırlanan KLN'ler santrifüj edildikten sonra üstteki sıvının ve süspansiyon halinin refraktif indeksleri ölçüldü. %0.2'lik Tween 20 çözeltisi hazırlandı ve bunun refraktif indeksi ölçüldü. Standart ısı probu ile ölçüm sıcaklığında gösteren Rheometreli viskozitemetre ile de vizkoziteleri ölçüldü. Bu veriler doğrultusunda SP KLN' lerinin parçacık boyutları ve polidisperslik indeksleri (PDI) $25 \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saf

su ile gerekli seyreltmeler yapılarak Malvern Zetasizer ile partikül boyutları analiz edildi.

%0.2 lik Tween 20 çözeltisi hazırlamak için 0.02 g Tween 20 tartıldı ve distile su ile 100 mL'ye tamamlandı. Malvern Zetasizer cihazında ölçmek için hazırlanan çözeltilerdeki partiküllerin çökmesi durumunda kullanılacaktır.

2.2.2.2.3 Miktar Tayini

SP ile hazırlanan KLN' lerdeki miktar tayini, UV spektrofotometrede 259 nm' de absorbanslar ölçümlerek yapıldı. Hazırlanan formülasyonun 3000 rpm'de 4 °C'de 30 dakika santrifüj sonrası elde edilen üstteki sıvıda ve dibe çöken katı nanopartiküllere ayrı işlemler uygulandı. Santrifüj sonrası elde edilen sıvı kısım glisin tampon çözeltisi ilave edilerek kuartz kuvetlere alındı ve absorbansı okutuldu. Alta kalan katı lipit nanopartikül süspansiyonu çalkalandıktan sonra glisin tampon ile çözündürüldü ve kuartz kuvete aktarılıp spektrumu alındı.

2.2.3 Salın Hızı Çalışmaları

SP baz maddesi, ticari formülasyon (TF) ve optimum katı lipit nanopartikül formülasyonuna (OF) ait *in vitro* salın hızı çalışmaları aşağıdaki şekilde anlatıldığı üzere dissolüsyon cihazı ile gerçekleştirildi.

2.2.3.1 SP' ye Ait Çözünürlük Çalışmaları

Etkin madde SP, TF olan süspansiyondakine eşdeğer olarak mL'sinde 0.0652 mg (65.2 µg) SP içerecek şekilde 52.18 mg tartıldı. Hazırlanan glisin tampon ile her bir haznede 900 mL olacak şekilde 37° C' de 50 rpm hızda döner sepet yöntemi ile çalışıldı. 15, 30, 45, 60, 75 ve 90.dakikalarda örnekler alındı. Yöntemin doğruluğu için 6 defa ikişer örnek olacak şekilde dissolüsyon tekrarlandı.

2.2.3.2 TF' ye Ait Salım Hızı Çalışmaları

Ticari formülasyon olarak tercih edilen süspansiyon formülasyonunun dissolüsyonu içinde döner palet yöntemi tercih edildi. 15, 30, 45, 60, 75 ve 90. dakikalarda örnek almak koşulu ile 5 mL' sinde 52.18 mg SP olan kaşıklarla 900 mL glisin tampon içeren kuvetlerde 50 rpm' de ve 37° C' de 6 defa ikişer örnek olmak üzere çalışma gerçekleştirildi.

2.2.3.3 Hazırlanan SP KLN'lerine ait Salım Hızı Çalışmaları

Etkin madde ve TF uygun olarak içerisinde 52,18 mg SP içerdiği öngörülen KLN'ler hazırlandıktan sonra 37°C' de 900 mL glisin tampon içeren kuvetlerde 50 rpm dönme hızında döner sepet yöntemi ile dissolüsyon çalışması yapıldı. 15, 30, 45, 60, 75 ve 90.dakikalarda örnekler alındı. Sonuçların güvenilirliği için çalışma 6 defa tekrarlandı.

BÖLÜM III

3 BULGULAR

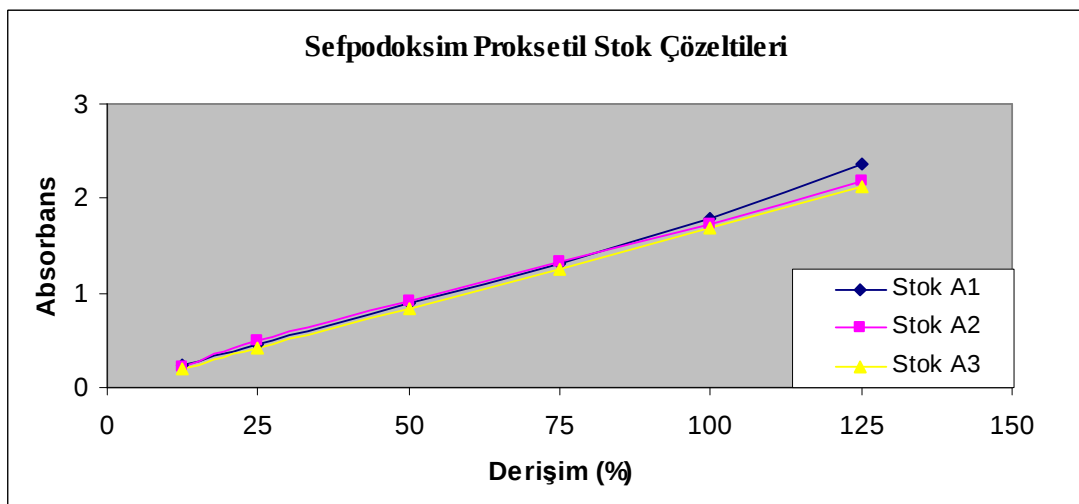
3.1 SP UV Spektrumuna Ait Bulgular

3.1.1 SP Kalibrasyon Eğrisinin Çizim Bulguları

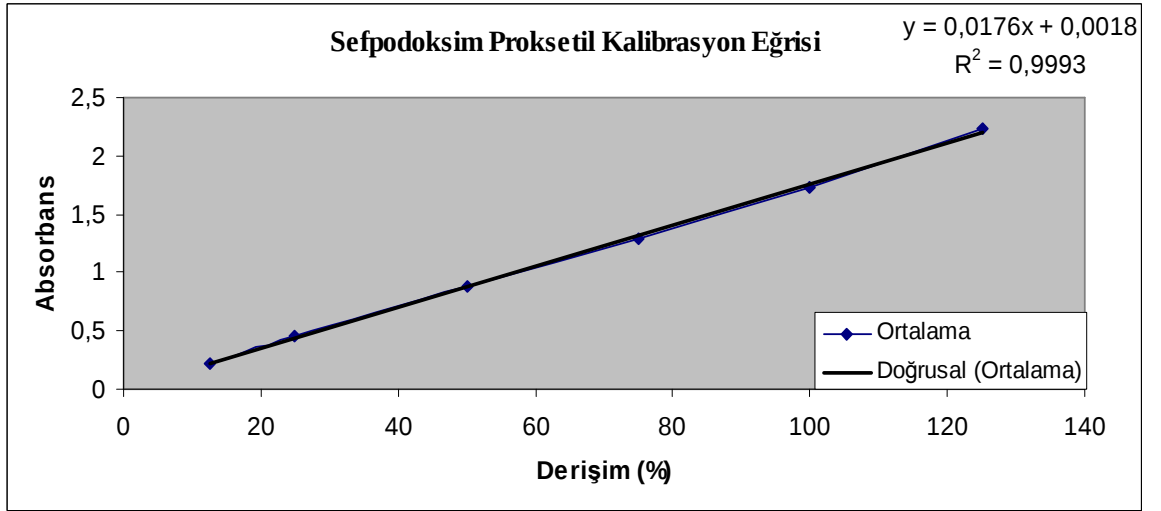
Bölüm 2.2.1’de anlatıldığı gibi hazırlanan SP çözeltilerinin analizleri için UV Spektrofotometresi kullanıldı. Spektrofotometre ile yapılan SP’ nin kalibrasyon eğrisine ait bulgular Tablo 7, Şekil 3 ve Şekil 4’de verildi.

Tablo 7 : SP’ ye ait stok çözeltilerin absorbensları

	Derişim (%)					
	12.5	25	50	75	100	125
Stok A1	0.237	0.462	0.900	1.315	1.785	2.373
Stok A2	0.227	0.495	0.909	1.323	1.730	2.184
Stok A3	0.202	0.410	0.844	1.248	1.692	2.122
SS	0.007	0.023	0.007	0.006	0.039	0.134
$\bar{x}$	0.222	0.456	0.884	1.295	1.736	2.227



Şekil 3 : SP’ ye ait kromatografik verilere dayalı stok çözeltiler



Şekil 4 : SP' ye ait kromatografik verilere dayalı kalibrasyon eğrisi

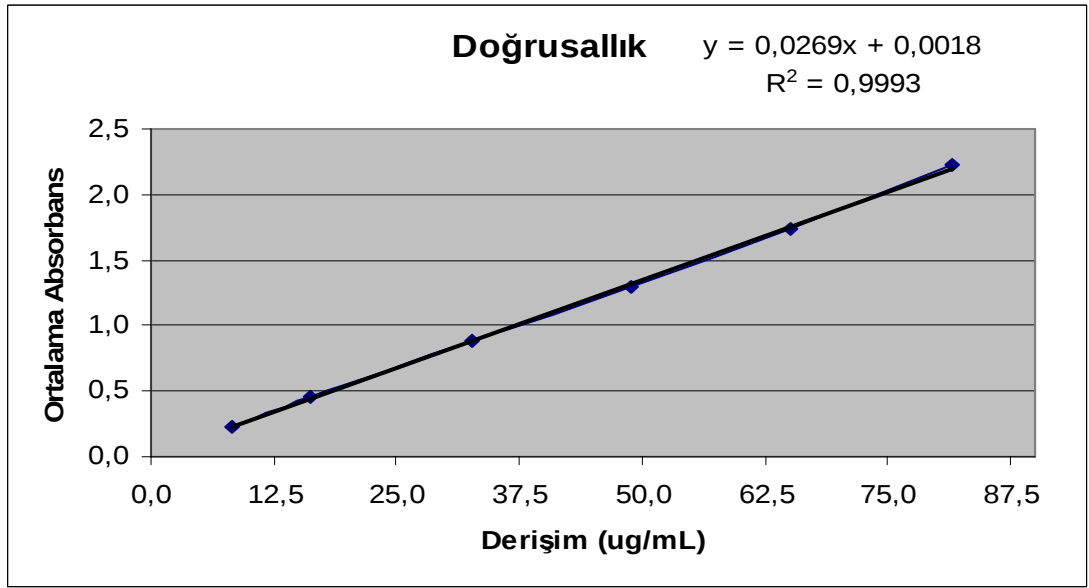
3.2 SP' in Spektrofotometri ile Miktar Tayini Yöntemine Ait Bulgular

3.2.1 Doğrusallık

SP' ye ait spektrofotometrik yöntemin doğrusallığını göstermek amacı ile 2.2.1.3.1' de anlatıldığı üzere hazırlanan çözeltilerin derişimleri UV spektrofotometresinde ölçüldü. Elde edilen verilerin gerçek değerlere yakınlığı % olarak hesaplandı ve Tablo 8' de ve Şekil 5' de gösterildi.

Tablo 8 : SP için hesaplanan % doğrusallık değerleri

Örnek	Derişim (%)	Derişim (µg/mL)	Ortalama Absorbans
1	12.5	8.15	0.221
2	25	16.3	0.455
3	50	32.6	0.884
4	75	48.9	1.295
5	100	65.2	1.735
6	125	81.5	2.226
r^2			0.9993
Eğim			0.0269
Kesişim			0.0018



Şekil 5 : SP için hesaplanan % doğrusallık değerleri grafiği

3.2.2 Kesinlik

3.2.2.1 Tekrar Elde Edilebilirlik

Spektrofotometrik miktar tayininin kesinliğini tayin etmek amacı ile yukarı da 2.2.1.3.2.1 başlığı altında anlatıldığı üzere hazırlanan SP çözeltileri absorbansları ölçüldü, bulguların % geri kazanım ve geri kazanımların istatistiksel sapmaları Tablo 9' de verildi.

Tablo 9 : SP için ölçülen absorbans ve hesaplanan % geri kazanım

Örnek	Derişim (%)	Derişim (µg/ml)	Absorbans	Geri Kazanım (%)
1	100	65.2	1.777	101.21
2	100	65.2	1.784	101.15
3	100	65.2	1.744	99.33
4	100	65.2	1.754	99.90
5	100	65.2	1.675	95.39
6	100	65.2	1.676	95.46
Ortalama Geri Kazanım:				98.74
% BSS:				2.70

3.2.2.2 Tekrarlanabilirlik

Spektrofotometre de 65.2 µg/mL SP içeren standart örneğin ardarda 10 defa okutulması sonucunda absorbans değerleri elde edildi. Bulunan sonuçlar Tablo 10’de gösterildi.

Tablo 10 : SP’ nin spektrofotometrik analizinde tekrarlanabilirlik değerleri

Örnek	Absorbans
1	1.787
2	1.780
3	1.782
4	1.779
5	1.780
6	1.777
7	1.789
8	1.787
9	1.775
10	1.789
$\bar{x}$:	1.783
% BSS:	0.287

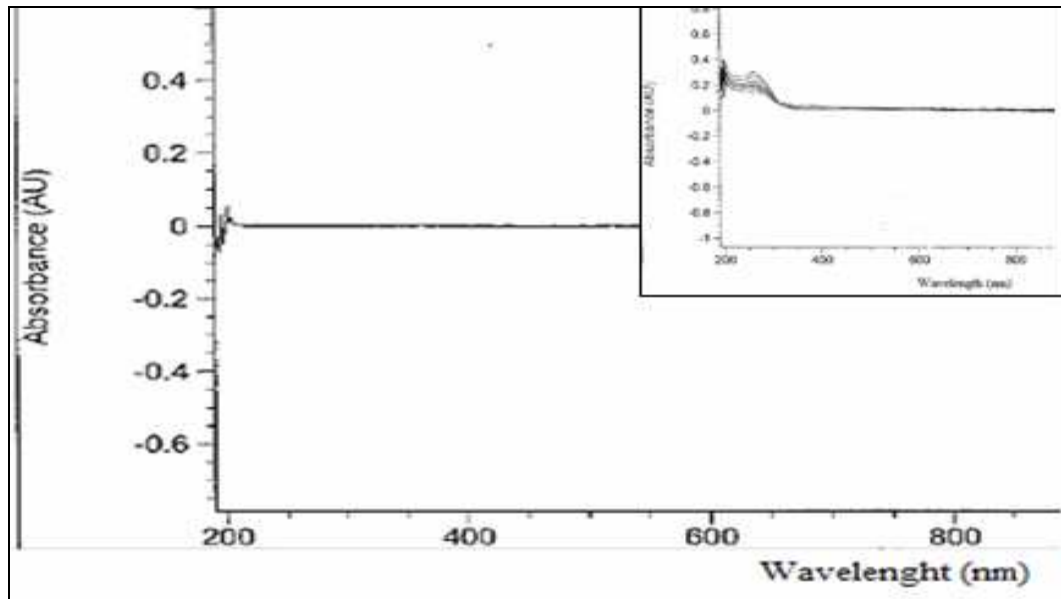
3.2.3 Seçicilik ve Doğruluk

Seçilen analitik yöntemin doğruluğunu göstermek amacı ile 2.2.1.3.3 ’de anlatıldığı üzere hazırlanan çözeltilerin spektrofotometrede absorbansları ölçüldü ve elde edilen sonuçların % doğrulukları Tablo 11’da hesaplandı.

Tablo 11 : SP' nin Spektrofotometrik % doğruluk değerleri

Örnek	%80		%100		%120		Ort.
	Absorbans	Doğruluk (%)	Absorbans	Doğruluk (%)	Absorbans	Doğruluk (%)	
1	1.504	107.06	1.783	101.56	2.169	102.97	
2	1.504	107.06	1.792	102.07	2.169	102.97	
3	1.357	96.58	1.733	98.70	2.105	99.93	
4	1.358	96.65	1.738	98.99	2.088	99.12	
5	1.300	92.52	1.668	95.01	2.044	97.03	
6	1.297	92.30	1.667	94.94	2.038	96.74	
$\bar{x}$:	98.70		98.55		99.79		99.01
%BSS:	6.84		3.11		2.74		4.23

Çalışmanın seçiciliği SP' nin çözündüğü formülasyonda bulunan diğer maddelerle hazırlanan plasebo çözeltilerle analizi sonucunda aynı alıkonma zamanında ve dalga boyunda bir absorbans gözlenmediği Şekil 6'da belirtildi.



Şekil 6 : Formülasyonda SP içermeyen plasebo çözeltisine ve SP içeren çözeltiye ait absorbans

3.3 KLN Formülasyonunun Geliştirilmesine Ait Bulgular

3.3.1 SP KLN Formülasyonuna Ait Çalışmalar

3.3.1.1 Parçacık Boyutu Analizi

Ölçüm için gerekli olan refraktif indeksler ve viskoziteler Tablo 12’ de verildi. Bu sonuçlar cihaza girilerek Malvern Zetasizer ile 2.2.2.2.2’ de anlatıldığı üzere gerçekleştirilen %10’ luk ve %100’ lük hazırlanan çözeltilerin 25°C’ deki ortalama parçacık boyutu ve PDI bulundu. Nanopartiküllerin ölçüm öncesi çökmemesi nedeniyle %0.2’ lik Tween 20 çözeltisiyle ölçüme gerek duyulmadı.

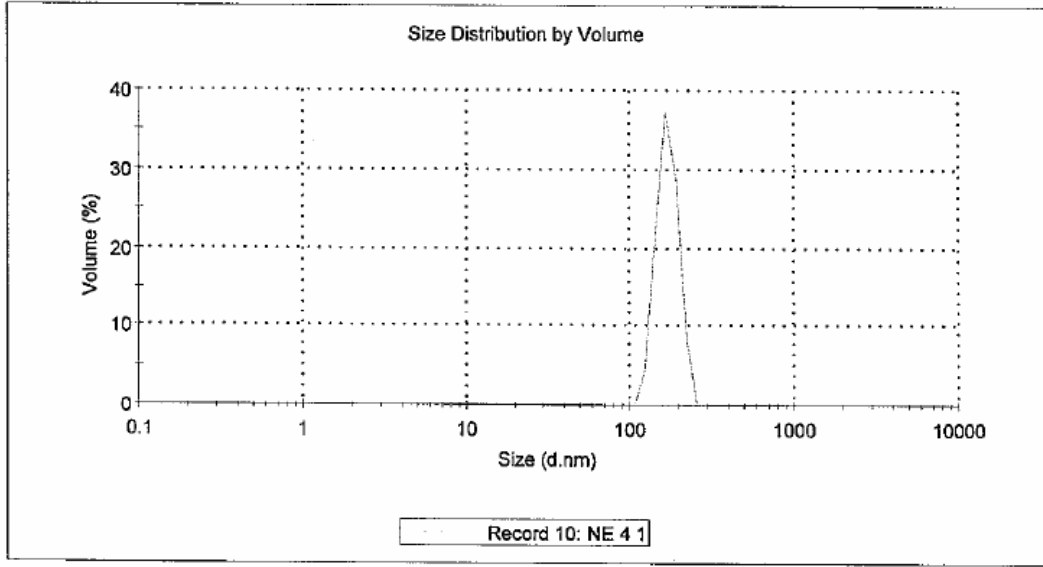
Tablo 12 : Refraktif indeksler ve viskoziteler

	%0.2 Tween 20	Santrifüj Üst Sıvı	Süspansiyon Hali
Refraktif indeks	1.3330	1.3354	1.3594
Viskozite	5.04	3.66	5.05

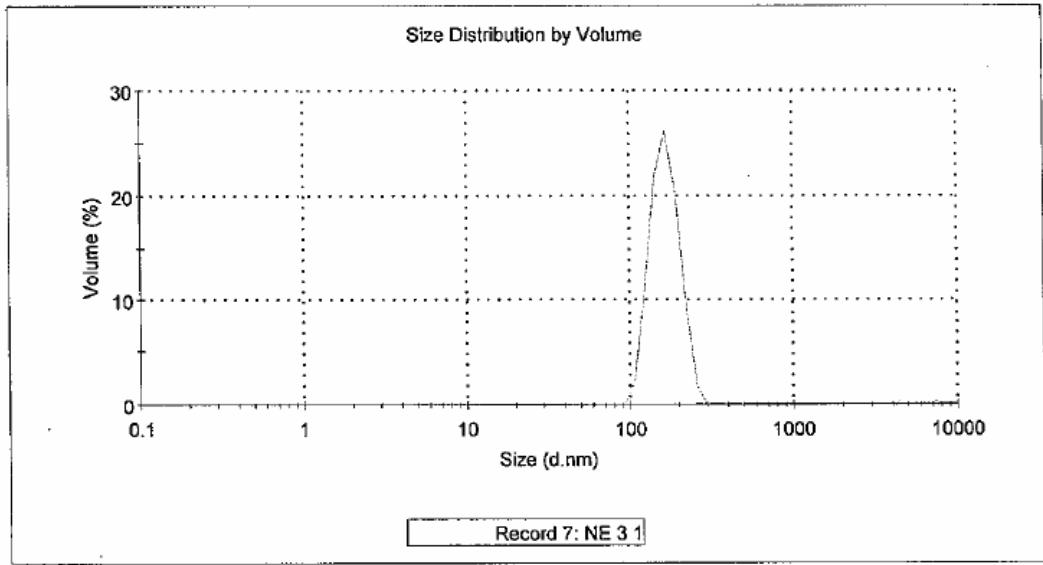
Nanopartiküllerin ölçümü yapılırken %10’luk süspansiyonlarının daha doğru sonuç vermesi nedeniyle seyreltmeye gerek duyuldu. Parçacık boyutuna ait veriler Tablo 13’de belirtildi. Ölçüm sonrası elde edilen parçacık büyüklüğüne ait dağılımlar Şekil 7 ve Şekil 8’ de verildi.

Tablo 13 : Parçacık boyutları, Polidisperslik indeksi ve Zeta potansiyeli

% Hacim	Ölçüm(nm)	PDI	Zeta Potansiyeli
%10	169.8	0.631	656.3
%100	165.4	0.502	206.0



Şekil 7 : SP' nin %10'luk süspansiyonunun parçacık büyüklüğü dağılımı

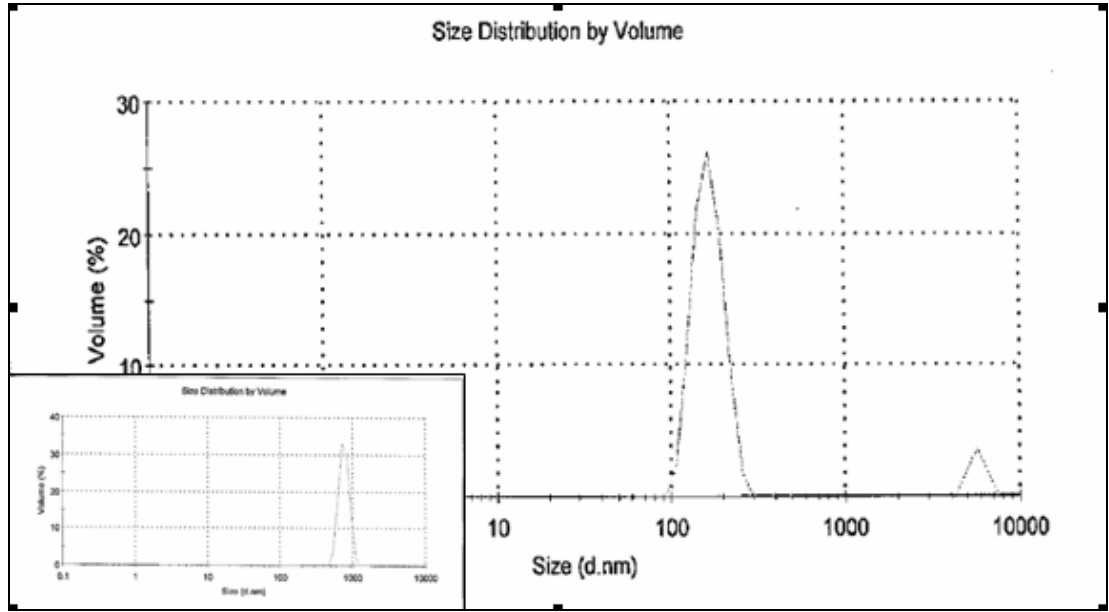


Şekil 8 : SP' nin parçacık büyüklüğü dağılımı

Malvern Zetasizer ile ölçümlerde dış faz olarak su kullanıldı. İç faz olarak hazırlanan nanopartiküllerin süspansiyon durumundaki viskozitesiyle aynı değere sahip latex (5.05) ve 7.8 viskozite değerine sahip protein tercih edildi. Analiz sonucu elde edilen veriler Tablo 14 ve Şekil 9 'de verildi.

Tablo 14 : Değişken iç ortamda parçacık boyutu

İç Ortam	Ölçüm(nm)	Polidisperslik İndeksi	Zeta Potansiyeli
Lateks (viskozitesi 5.05)	165.4	0.502	206.0
Protein (viskozitesi 7.8)	760.0	0.415	122.0



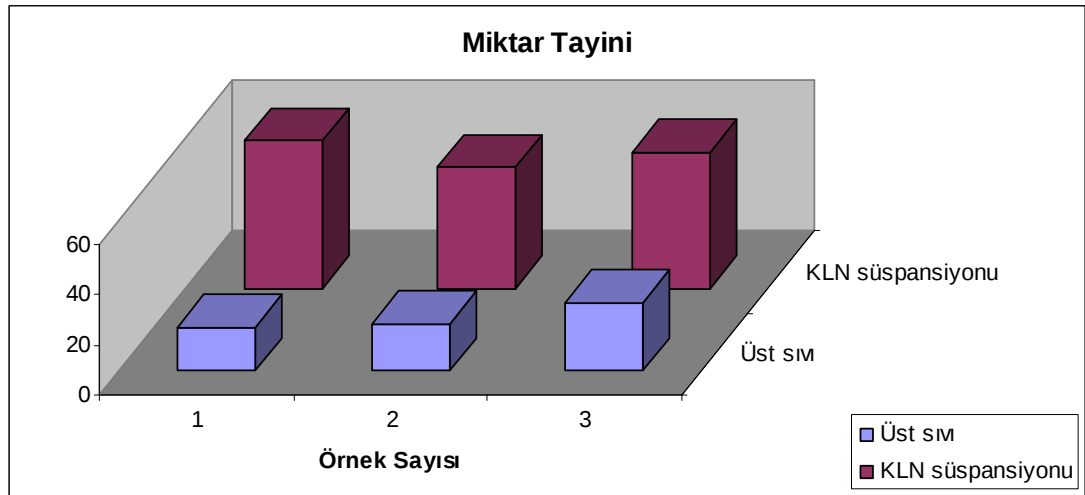
Şekil 9 : Değişken iç ortamda parçacık büyüklüğü dağılımı

3.3.1.2 Miktar Tayini

SP ile hazırlanan KLN'lerdeki miktar tayini 2.2.2.2.3' de anlatıldığı gibi gerçekleştirildi. UV spektrofotometrede okutulan absorbans değerleri ve kalibrasyon grafiğindeki yeri Tablo 15 ve Şekil 10' da belirtildi.

Tablo 15 : Sıvı kısma ve nanopartiküllere ait yüzde miktarları

Üst Sıvı Kısım için SP bulunma yüzdesi			
Örnek No	A1	A2	A3
1	17,727	28,068	19,205
2	16,364	25,795	18,750
3	16,932	26,818	17,386
$\bar{x}$	17,008	26,894	18,447
Std Sapma	0,685	1,138	0,946
KLN SP' ye ait bulunma yüzdesi			
Örnek No	B1	B2	B3
1	57,386	46,591	52,841
2	58,864	49,432	54,886
3	59,773	48,636	54,205
$\bar{x}$	58,674	48,220	53,977
SS	1,204	1,466	1,041



Şekil 10 : Santrifüj sonrası sıvı kısma ve nanopartiküllere ait SP miktarları

3.4 Salım Hızı Çalışmalarına Ait Bulgular

SP' ye ait etkin maddenin çözünme hızı, ticari formülasyon ve hazırlanan formülasyon için gerçekleştirilen salım hızı çalışmaları sonucu elde edilen örnekler kuartz küvetler ile UV Spektrofotometresinde 259 nm' de absorbansları okutularak değerlendirildi.

3.4.1 SP' e Ait Çözünme Hızı Çalışma Bulguları

2.2.3.1' de anlatıldığı üzere gerçekleştirilen çalışmada elde edilen örneklerle ait okunan absorbans değerlerine karşı kalibrasyon eğrisi denkleminde hesaplanan yüzde çözünme değerleri Tablo 16' da verildi.

Tablo 16 : SP' ye ait çözünme hızı çalışması yüzde değerleri

Zaman (dk)	Yüzde Değerleri											
	ES1	ES2	ES3	ES4	ES5	ES6	ES7	ES8	ES9	ES10	ES11	ES12
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
15	55.509	40.810	41.688	53.767	40.778	39.997	40.929	41.287	42.168	41.767	40.923	43.903
30	52.551	34.457	35.991	44.165	48.045	43.730	46.233	48.449	47.554	49.295	50.631	48.952
45	63.955	43.702	41.810	48.037	46.230	47.733	52.395	55.804	51.974	59.239	55.952	54.244
60	64.935	46.983	54.142	52.668	66.332	54.750	56.256	61.832	55.886	66.892	63.776	56.205
75	67.330	51.170	51.392	62.528	53.855	56.699	57.901	64.230	61.631	67.378	62.088	56.688
90	75.892	57.386	59.974	70.085	58.222	74.795	64.563	58.233	67.139	69.136	65.063	61.105

3.4.2 Ticari Formülasyona Ait Salım Hızı Çalışması Bulguları

Ticari formülasyon olarak tercih edilen süspansiyona ait 2.2.3.2' de anlatıldığı üzere çalışılan salım hızı sonuçlarına ait absorbans değerlerine bağlı olarak hesaplanan yüzde salım sonuçları Tablo 17 'de verildi.

Tablo 17 : SP' nin ticari formülasyonuna ait salım hızı çalışması yüzde salım değerleri

Zaman (dk)	Yüzde Salım Değerleri											
	TF1	TF2	TF3	TF4	TF5	TF6	TF7	TF8	TF9	TF10	TF11	TF12
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
15	40.429	40.605	40.724	34.020	33.565	35.631	38.895	39.662	36.384	34.565	36.548	39.369
30	47.543	47.989	46.761	40.460	40.594	42.222	47.420	49.778	42.071	42.250	46.063	49.327
45	56.903	57.028	50.611	50.952	47.494	50.582	55.813	56.457	50.716	54.276	58.091	55.901
60	62.855	63.151	62.608	59.756	55.960	60.111	62.486	64.869	56.781	61.247	64.798	60.474
75	66.963	66.531	64.159	67.489	62.994	65.446	69.145	67.631	62.037	66.474	65.818	63.088
90	74.784	75.665	64.551	72.366	72.815	72.761	73.460	72.537	67.625	72.582	66.139	66.585

3.4.3 Hazırlanan SP KLN'lerine ait Salım Hızı Çalışması Bulguları

Hazırlanan SP KLN' lerinin 2.2.3.3' de belirtilen şartlarda gerçekleştirilen salım hızı çalışması sonucu elde edilip okutulan örneklerle ait absorbans değerlerine bağlı olarak hesaplanan yüzde salım sonuçları Tablo 18' de belirtildi.

Tablo 18 : SP nanopartiküllerine ait salım hızı çalışması yüzde salım değerleri

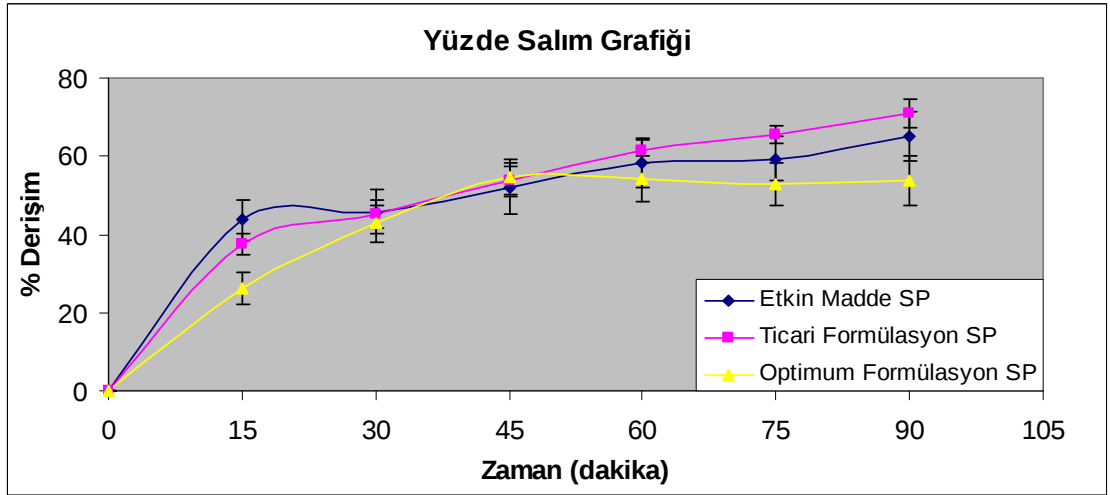
Zaman (dk)	Yüzde Salım Değerleri											
	NF1	NF2	NF3	NF4	NF5	NF6	NF7	NF8	NF9	NF10	NF11	NF12
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
15	30.235	27.359	27.540	32.281	25.644	31.519	24.278	20.442	24.947	26.640	19.813	23.388
30	42.436	49.509	44.893	47.138	45.385	41.016	38.510	38.173	43.559	44.975	32.031	45.699
45	50.547	54.656	57.889	54.963	52.923	46.549	57.205	53.622	52.463	66.166	52.333	56.315
60	72.443	60.205	71.282	69.838	63.685	64.738	69.853	62.260	55.897	57.394	56.806	68.163
75	52.461	57.308	63.051	58.713	67.589	56.167	56.743	57.656	66.008	65.961	66.281	52.872
90	49.409	51.051	56.243	53.328	70.973	45.072	54.959	51.768	56.335	51.051	52.926	52.039

3.5 Salım Profillerinin Kinetik Olarak Değerlendirilmesi

SP etkin maddesinin, ticari formülasyon süspansiyonun ve hazırlanan katı lipit nanopartiküllerin *in vitro* salım hızı çalışmaları sonucu elde edilen değerleri kıyaslayabilmek için ortalamaları ve ortalamalarına bağlı standart sapmaları hesaplandı. Bunlar Tablo 19’ da verildi. Elde edilen ortalamalara ve standart sapmalara göre yüzde salım grafiği çizildi ve Şekil 11’ de ifade edildi.

Tablo 19 : Salım hızı sonuçlarına ait ortalama ve Standart sapma sonuçları

Zaman (dakika)	ES		TF		OF	
	$\bar{X}$	SS	$\bar{X}$	SS	$\bar{X}$	SS
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
15	43.627	5.246	37.533	2.706	26.174	3.958
30	45.838	5.545	45.206	3.443	42.777	4.745
45	51.756	6.535	53.735	3.465	54.636	4.759
60	58.388	6.244	61.258	2.818	54.380	5.934
75	59.407	5.652	65.648	2.167	53.067	5.438
90	65.133	6.412	70.989	3.709	53.763	6.233



Şekil 11 : Çözünme hızı sonuçlarına ait salım grafiği

Çözünürlük çalışmaları sonuçlarına ait absorbands değerlerinin yüzde salımına bağlı çözünme profilini karşılaştırmak için benzerlik testinden yararlanıldı. Formülasyonlar arası çözünme profilini karşılaştırmak ve performanslardaki benzerliği göstermek amacıyla f_2 değerinden yararlanıldı. Hazırlanan optimum katı lipit nanopartikül formülasyonu sırası ile etkin madde ve ticari formülasyon ile karşılaştırılarak değerlendirildi ve bunlara ait veriler Tablo 20, Tablo 21 ve Tablo 22’ de verildi.

Tablo 20 : SP’ nin etkin madde ve optimum nanopartikül formülasyonuna ait f_2 tablosu

f_2 Değerlerinin Hesaplanması						
Zaman (dakika)	15	30	45	60	75	90
Referans (R)	43.627	45.838	51.756	58.388	59.407	65.133
Test (T)	26.174	42.777	54.636	54.380	53.067	53.763
R-T	17.453	3.061	-2.880	4.008	6.340	11.370
(R-T)²	304.607	9.370	8.294	16.064	40.196	129.277
	S (R-T)²					491.744
	f_2					52.029
Referans	Etkin Madde					
Test	Optimum Nanopartikül Formülasyon					
SONUÇ :	Etkin Madde ye karşı Nanopartikülün f_2 değeri 52,029 bulunmuştur.					

Tablo 21 : SP' nin ticari formülasyonuna ve optimum nanopartikül formülasyonuna ait f_2 tablosu

f_2 Değerlerinin Hesaplanması						
Zaman (dakika)	15	30	45	60	75	90
Referans (R)	37.533	45.206	53.735	61.258	65.648	70.989
Test (T)	26.174	42.777	54.636	54.380	53.067	53.763
R-T	11.359	2.429	-0.901	6.878	12.581	17.226
(R-T)²	129.027	5.900	0.812	47.307	158.282	296.735
S (R-T)²						590.755
f_2						50.059
Referans	Ticari Formülasyo					
Test	Optimum Nanopartikül Formülasyon					
SONUÇ :	Ticari Formülasyon karşı Nanopartikülün f_2 değeri 50,059 bulunmuştur.					

Tablo 22 : SP' nin ticari formülasyonuna ve etkin maddeye ait f_2 tablosu

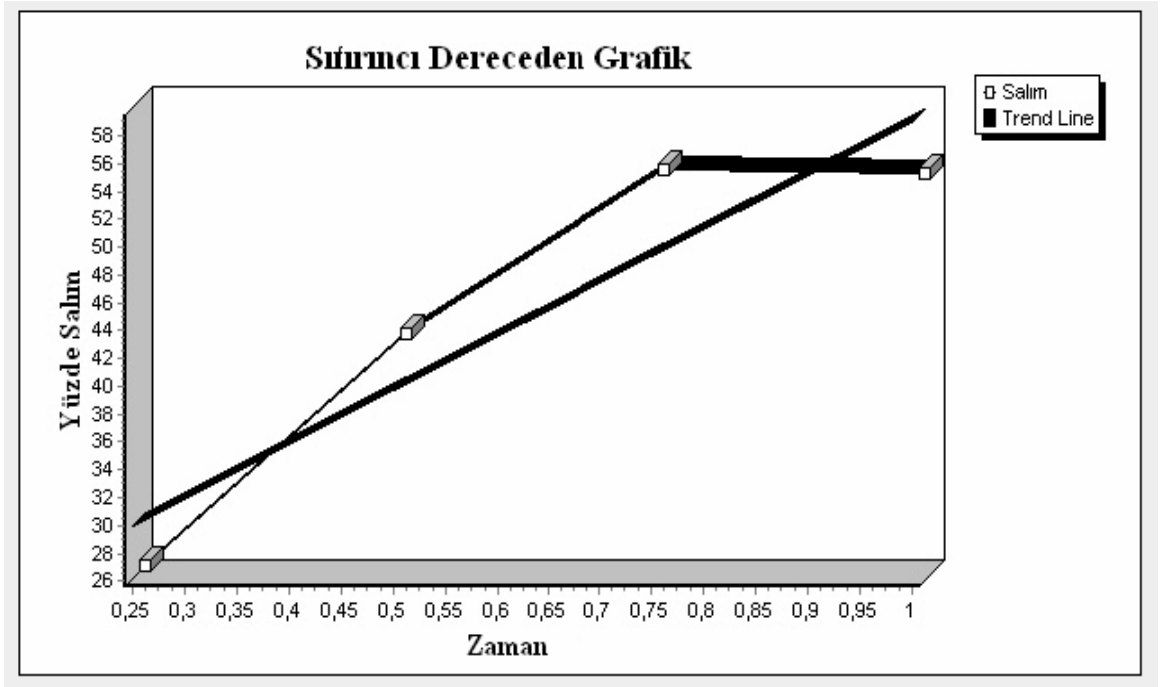
f_2 Değerlerinin Hesaplanması						
Zaman (dakika)	15	30	45	60	75	90
Referans (R)	37.533	45.206	53.735	61.258	65.648	70.989
Test (T)	43.627	45.838	51.756	58.388	59.407	65.133
R-T	-6.094	-0.632	1.979	2.870	6.241	5.856
(R-T)²	37.137	0.399	3.916	8.237	38.950	34.293
S (R-T)²						114.696
f_2						67.412
Referans	Ticari Formülasyon					
Test	Etkin Madde					
SONUÇ :	Ticari Formülasyon karşı Etkin madde f_2 değeri 67,412 bulunmuştur.					

Optimum formülasyon katı lipid nanopartiküllerin salım hızı çalışmalarından sonra elde edilen bulgular Sıfırıncı derece, Birinci derece, Higuchi ve Hixson – Crowell salım modellerine göre değerlendirildi. Elde edilen değerler Tablo 23' de, grafikler ise Şekil 12, Şekil 13, Şekil 14 ve Şekil 15' de belirtilmiştir.

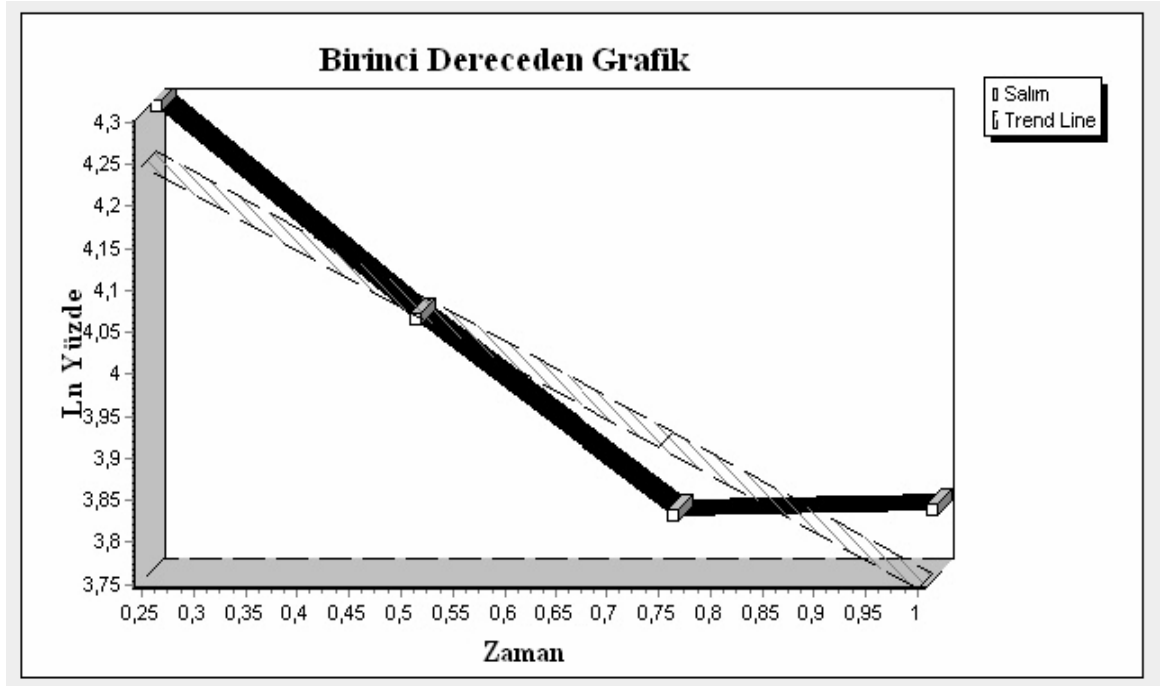
Tablo 23 : Sıfırıncı Dereceden, Birinci Dereceden, Higuchi ve Hixson – Crowell’ e

göre elde edilen değerler

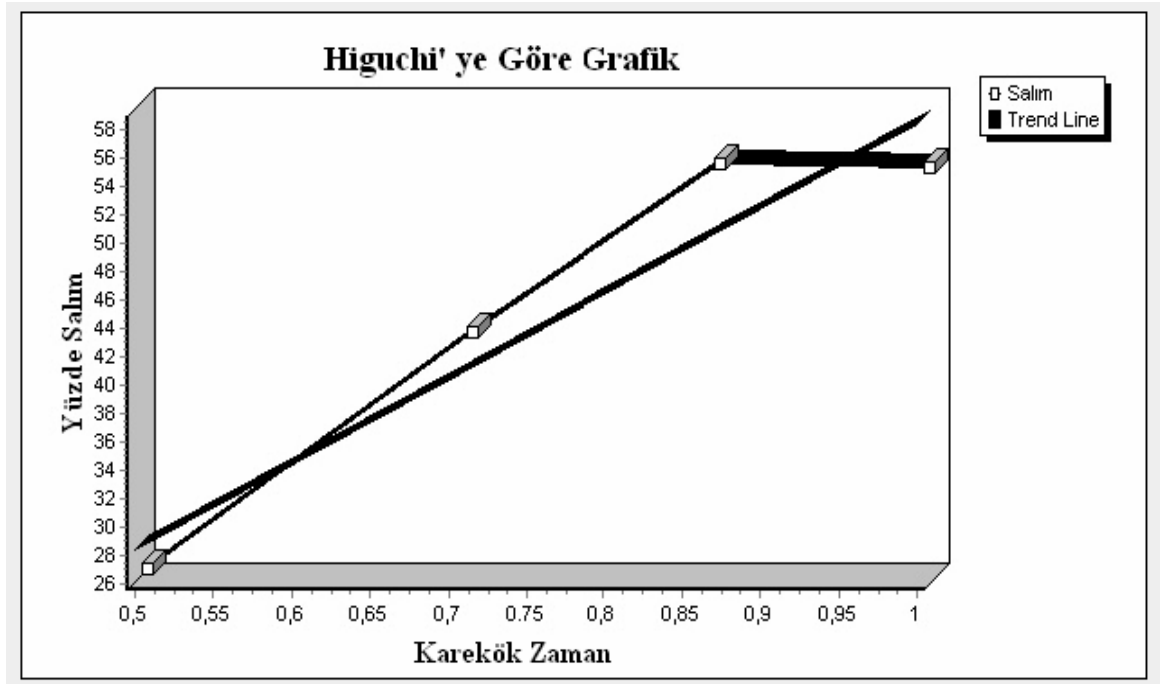
Zaman (saat)	Zamanın kökü	Salın	Kalan	Sıfırıncı Dereceden	Birinci Dereceden	Higuchi	Hixson - Crowell
0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.25	0.5	26.174	73.826	26.174	4.302	26.174	0.447
0.5	0.707	42.777	57.223	42.777	4.047	42.777	0.788
0.75	0.866	54.636	45.364	54.636	3.815	54.636	1.075
1	1	54.380	45.620	54.380	3.820	54.380	1.068
Eğim				38.591	-0.671	59.742	0.861
Kesişim				20.376	4.415	-1.407	0.306
r^2				0.860	0.879	0.919	0.875



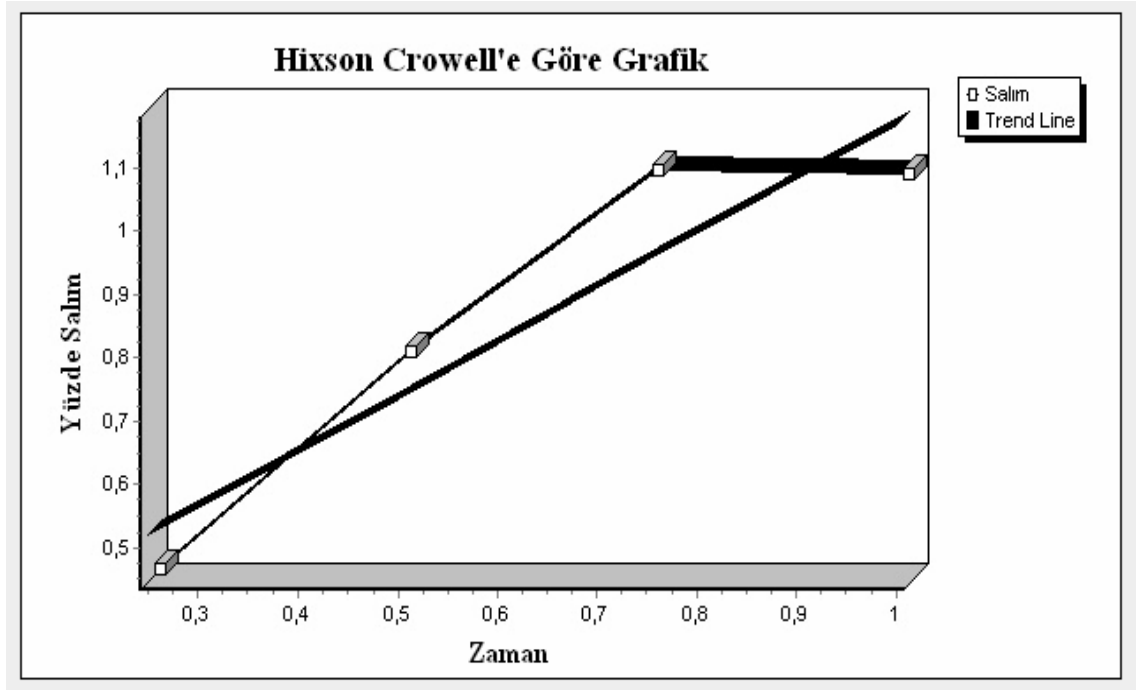
Şekil 12 : Sıfırıncı Dereceden Salın Grafiği



Şekil 13 : Birinci Dereceden Salın Grafiği



Şekil 14 : Higuchi Modeline Göre Salın Grafiği



Şekil 15 : Hixson- Crowell' e göre Salm Grafiği

BÖLÜM IV

4 TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında bakterilerin sebep olduğu birçok farklı türdeki enfeksiyonların tedavisinde kullanılan 3. kuşak sefalosporin grubu bir ön ilaç olan Sefpodoksim Proksetil'in çözünürlük sorununun ortadan kaldırmak amacıyla, alternatif dozaj şekli geliştirilmesi için çalışmalarda bulunuldu. Bu amaçla tezimizde katı lipit nanopartiküllerinin geliştirilmesi hedeflendi. Katı lipit nanopartiküllerin kullanılma nedeni; yapısal özellikleri nedeniyle sahip olduğu geniş yüzey alanına bağlı olarak yüklenen etkin maddenin hızlı salım yapması dolayısıyla daha iyi bir çözünürlük profili elde edilmesidir (55). Bu doğrultuda tezimizde Sefpodoksim Proxetil (SP) katı lipit nanopartiküllerin formülasyonunun geliştirilmesi üzerine çalışıldı ve oluşturulan optimum formülasyonun fizikokimyasal özellikleri ve standardizasyonunun üzerine çalışmalar yapıldı.

In vitro çalışmalar için geliştirilecek olan etkin made miktar tayininde UV spektrofotometri yöntemini belirlemek üzerine araştırmalar yapıldı. Yapılan literatür taramaları sonucunda SP' nin UV Spektrofotometre çalışmaları için pH 3' de 259 nm'de glisin tampon tercih edildi (23).

SP' nin UV Spektrofotometrede kalibrasyon eğrisi çizildi. Bunun için SP' nin ticari preparat içeriğini eşdeğer alarak %125 derişime denk gelecek şekilde 3 adet ana stok çözelti hazırlandı. Stok çözelti için SP tartılıp bir miktar metanolde çözündürüldü ve hazırlanan glisin tampon ile tamamlandı. Kalibrasyon eğrisi için gerekli olan 6 farklı derişimde (%125, %100, %75, %50, %25 ve %12.5) 3 paralel seri olmak koşulu ile seyreltme yapılarak çözeltiler hazırlandı. Bunlar 2.2.1 konu başlığı altında ifade edildi.

SP' nin UV Spektrofotometrik miktar tayini yönteminin validasyonu doğrusallık, kesinlik, seçicilik ve doğruluk parametreleri açısından değerlendirildi. Hazırlanan çözeltilerin doğrusallık yönünden değerlendirilmesi için UV Spektrofotometrede 259 nm' de absorpsanları okutuldu ve elde edilen veriler Tablo 8' de verildi. Daha sonraki analizlerde değerlendirilecek absorpsan değerlerinin % olarak hesaplanmasında kullanılacak olan iki değişkenli denklemi türetilti. Bu denklemde eğim 0.0176, kesişim 0.0018 ve iki değişkenden birinin diğerini ne derece tanımladığını ifade eden korelasyon katsayı (r^2) 0.9993 olarak bulundu. Validasyonun kesinlik parametrelerine uygunluğunu saptamak amacı ile tekrar elde edilebilirlik ve tekrarlanabilirlik parametrelerine bakıldı. Tekrar elde edilebilirlik için %100 derişime denk gelecek şekilde 6 farklı çözelti hazırlandı ve % geri kazanımları hesaplandı. Geri kazanımlara bağlı olarak % bağıl standart sapma 2.70 olarak bulundu. Tekrarlanabilirlik koşulu için %100 derişimdeki aynı çözelti ardı ardına 10 defa okutuldu. Tablo 10'da ifade edilen sonuçlarda ortalama 1.783 ve bağıl standart sapma 0.287 olarak bulundu. Elde edilen tüm sonuçlar kesinlik kriterleri açısından validasyonun uygunluğunu doğruladı. Yöntemin doğruluğunu analiz etmek için %100 derişim ve bunun maksimum %20 fark gösterebileceği düşünüldüğü için %80 ve %120 derişimde olacak şekilde 6 paralel çözelti hazırlanarak doğruluk değerleri bulundu. Hesaplanan ortalamalar ve bağıl standart sapmalar Tablo 11'de verildi ve anlamlı bir fark olmadığı saptandı. Validasyonun seçiciliği açısından 259 nm' de değerlendirildiğinde Şekil 6' da SP' ye ait dalga boyu görülmesine rağmen SP içermeyen çözeltilerde herhangi bir bulguya rastlanılmadı. Analiz edilerek bulunan tüm parametreler açısından SP' ye ait UV Spektrofotometre FDA'da belirtilen kriterlere göre validasyonu uygun bulundu (31).

Çalışmamız da SP katı lipit nanopartikül (KLN)' leri elde etmek amacı ile Çözücü Emülsifikasyonu / Evaporasyonu yöntemi kullanıldı (63). Etkin madde olan SP su ile karışmayan ve aynı zamanda sulu fazda disperse olabilecek olan yardımcı madde stearik asitle 1:1 oranında tartıldı ve homojenize edildi. Etanol : Aseton çözeltisi bu karışımın üzerine ilave edildi ve 50-60 °C' ye ısıtıldı. Bu şekilde etkin madde SP' nin organik çözücü ile çözünmesi sağlandı. Çözündürülen SP sulu faz olan %1 polivinil alkol çözeltisi üzerine 4 °C' de 500 rpm karıştırma devri altında eklendi. Böylece katı lipit nanopartikül süspansiyonu oluşması sağlandı. Elde edilen bu nanopartikül süspansiyonu 3000 rpm devir hızında 4 °C' ye ayarlanmış santrifüj ile 30 dakika santrifüj edildi. Bu işlemler Şekil 2' de şematize edilerek belirtildi. Kurkumin yüklü katı lipit nanopartikül formülasyonun geliştirilmesi ve karakterizasyonuna ait Tiyaboonchai W. ve ark (81) yaptığı çalışmada katı lipit olarak kullanılan stearik asidin miktarının artmasıyla etkin madde yükleme kapasitesinin arttığı fakat partikül boyutlarının, polidisperslik indekslerinin de arttığı gözlenmiştir. Bizde çalışmamızda optimum formülasyon geliştirmek için yaptığımız çalışmalarda Tiyaboonchai W. ve ark.'nın (81) çalışmasına dayandırılarak stearik asit miktarı arttırarak daha fazla etkin madde olan SP yüklemek hedeflendi. Fakat yapılan bu çalışmalar sonucunda koagülasyon gözlendi ve nanopartikül elde edilemedi.

KLN' ler homojen bir şekilde lipit ve emülgatörlerin sulu dispersiyonları ile oluşmaktadır. Optimum ve kaliteli bir formülasyon için KLN dispersiyonların karakterizasyonu sağlanmalıdır. Küçük partikül boyutlarına sahip olmaları nedeniyle KLN' lerde karakterizasyon dikkate alınmalıdır (59). Bu amaç doğrultusunda elde edilen SP KLN' lerinin parçacık büyüklüğüne ve miktar tayinine ait analiz çalışmaları yapıldı.

KLN' lerin parçacık boyutu analizi için sulu dispersiyonun santrifüj sonrası üstteki sıvı kısmın ve süspansiyon halinin refraktif indeksi ölçüldü. Ayrıca partikül boyutunun tespiti için gerekli olan viskoziteler ölçüldü. Viskozite ölçümleri Rheometreli viskozitometre ile ölçülerek Tablo 12' de verildiği gibi, santrifüj sonrası üstteki sıvı kısmın viskozitesi 3.66 cp ve süspansiyon halinin viskozitesi 5.05 cp olarak bulundu. Malvern Zetasizer ile hazırlanan KLN' lerin parçacık boyutları, zeta potansiyeli ve polidisperslik indeksi (PDI) 25 ± 5 °C' de distile su ile seyreltme yaparak ve yapmadan analiz edildi. % 10 seyreltme ile yapılan analizler sonucunda PDI 0.631, zeta potansiyeli 656,3±xx mV ve parçacık boyutu 169.8±XX nm bulundu. Seyreltme yapılmadan ölçüm yapıldığında PDI 0.502, zeta potansiyeli 206±XX mV ve parçacık boyutu 165.4±XX nm bulundu. Bulunan bu değerler Tablo 12' de belirtildi. Dış ortamın aynı olduğu ve iç ortamın protein ve lateks olduğu koşullarda da yapılan ölçümlerin sonuçları Tablo 14 ve Şekil 9' da verildi. Hazırlanan KLN süspansiyonunda parçacıkların çökmesi durumunda kullanılmak üzere % 0.2 'lik Tween 20 çözeltisi hazırlandı. Fakat gereksinim duyulmadı.

Çalışmamızda formülasyonların geliştirilmesinde % 1 polivinil alkol çözeltisi kullanılması partikül boyutunun homojen olmasını sağlamaktadır. Shaikh J. ve ark. (73) kurkumin ile piperidin nanopartikül formülasyonunu geliştirerek biyoyararlanımının artırılmasını planladığı çalışmasında polivinil alkol kullanarak homojen partikül boyutu dağılımı sağlanmıştır. Polivinil alkol kullanarak geliştirdiğimiz optimum formülasyonda ki parçacık boyutları ile literatürdeki çalışmanın parçacık boyutu karşılaştırıldığında, çalışmamızda daha küçük boyutlarda homojen nanopartiküllerin elde edildiği gözlemlendi.

SP KLN' lerine yüklenen SP miktarını tayini için santrifüj sonrası elde edilen sıvı kısmın ve süspansiyonun analizi yapıldı. Bunun için santrifüj sonrası elde edilen

sıvı kısmın ve süspansiyonun glisin tampon ile çözünmesi sağlandı. Çözünen kısımdan seyreltme yapılarak hazırlanan örneklerin absorbensları alındı. Miktar tayini sonrası elde edilen değerlerin Tablo 15’de de ifade edildiği üzere KLN formülasyonunda kullanılan SP’in büyük kısmının nanopartikül içine hapsediği gözlemlendi.

SP baz maddesi, ticari formülasyon olan süspansiyonun ve hazırlanan KLN’lere ait *in vitro* salım çalışmaları yapıldı. Elde edilen örnekler UV Spektrofotometresinde 259 nm’ de absorbensları okutularak değerlendirildi.

SP baz maddesi süspansiyonun tek kullanımlık dozu olan 5 mL’ sine eşdeğer olacak şekilde 52.18 mg tartıldı. Hazırlanan glisin tamponu dissolüsyon cihazını her haznesinde 900 mL olacak şekilde ilave edildi. Dissolüsyon cihazı $37 \pm 5^{\circ} \text{C}$ ’ ye ayarlandı ve eklenen tamponun bu sıcaklığa gelmesi beklenildi. Ortam sıcaklığı sağlandıktan sonra tartılarak hazırlanan SP aynı anda haznelere ilave edildi. Palet yöntemi ile 50 rpm’ de çalışıldı ve 15, 30, 45, 60, 75 ve 90.dakikalarda örnekler alındı. Fakat çalışma süresince ortama eklenen SP baz maddesinin haznenin üst kısmında yüzmesi ve çalışma sonunda elde edilen absorbens değerlerinin okunamaması neticesinde doğru yöntem seçilmediğine karar verildi. Bunun sonucunda yine SP baz maddesi ile aynı şartlarda sepet yöntemi ile salım hızı çalışmaları gerçekleştirildi. Bu çalışma neticesinde de döner palet yöntemi ile aynı sonuçlar alındı. Döner sepete konan etkin maddenin sepetten çıktığı ve haznenin üst kısmında yüzdüğü gözlemlendi. Sonuç olarak etkin madde kapsüllere dolduruldu ve döner sepet yönetim ile aynı şartlarda çalışma tekrarlandı. Çalışmalar sonucunda elde edilen örnekler aktarılarak 259 nm’ de UV spektrofotometre absorbens değerleri okutuldu.

SP ticari formülasyon olan süspansiyonun FDA’ de belirtildiği üzere döner palet yönetimiyle etkin maddeyle aynı tampon ile ve aynı şartlarda çözünürlük çalışması yapıldı. Elde edilen örneklerin spektrofotometrede absorbanları bulundu.

SP ile hazırlanan optimum katı lipit nanopartikül formülasyonunun döner sepet yöntemi ile ticari formülasyonun ve etkin maddenin çalışıldığı aynı şartlarda çözünürlük çalışması gerçekleştirildi.

Çözünürlük çalışmaları sonucunda yüzde salım değerleri bulundu. Bu değerlerin ortalama ve standart sapmaları hesaplanarak Şekil 11’ de ifade edildiği gibi grafiği çizildi. Geliştirdiğimiz yeni formülasyonun ticari formülasyona ve etkin maddeye *in vitro* olarak ne derece benzerlik gösterdiğini tespit etmek amacı ile f_2 değerleri hesaplandı. Benzerlik testi sonuçları Tablo 20, Tablo 21 ve Tablo 22’ de verildi.

In vitro salım çalışmalarında elde edinilen bulgular neticesinde optimum katı lipit nanopartikül formülasyonun ticari formülasyona benzer f_2 değeri Tablo 21’ de verildiği gibi 50.059 olarak bulundu.

Optimum katı lipit nanopartikül formülasyonunun salım kinetiğini değerlendirmek için sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi ve Hixson-Crowell kinetik modellerinden yararlanıldı. Salım yüzdeleri bu modellere göre Tablo 23’ de verilerek değerlendirildi ve grafikleri çizildi. Her model için eğim, kesişim ve r^2 ler hesaplandı. Kullanılan modeller arasında en iyi uyum Higuchi salım kinetiği ile elde edildi ($r^2 = 0.919$). Merchant ve ark (49) SP ile yaptığı çalışma sonrası elde edilen veriler salım kinetikleri açısından değerlendirildiğinde (sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi ve Hixson-Crowell modeli ile) uyumun kötü olduğu gözlemlendi.

Tez çalışmamız sırasında elde edilen veriler doğrultusunda SP’ nin iyi bir çözünürlük profili gösteren ve büyük çapta üretim imkanı sunan farklı bir dozaj şekli

geliştirildiği görüldü. Çalışmamız bir ön formülasyon çalışması olup ileri çalışmalara bir zemin oluşturacağı düşünülmektedir.

ÖZET

SEFPDOKSİM PROKSETİL NANOPARTİKÜLLERİNİN HAZIRLANMASI, FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ VE STANDARDİZASYONU

Bir ön ilaç olan ve üçüncü kuşak sefalosporin grubu bir antibiyotik olan Sefpodoksım Proksetil (SP)' in çözünürlük ve biyoyararlanım sorunu bulunmaktadır. Katı lipit nanopartiküllerin yapısal özelliği nedeniyle sahip olduğu geniş yüzey alanına bağlı olarak SP' nin hızlı salım sağlaması, dolayısıyla çözünürlük sorununu ortadan kaldırmak ve daha iyi bir çözünürlük profili elde etmek amaçlandı.

Bu amaçla SP' ye ait KLN formülasyonu ve formülasyona ait *in vitro* çalışmalar yapıldı. Çözücü emülsifikasyon / evaporasyon yöntemi ile SP içeren KLN formülasyonu geliştirildi. Geliştirilen optimum formülasyonun fizikokimyasal özellikleri ve standardizasyonunu sağlamak için partikül büyüklüğü ve miktar tayini çalışmaları yapıldı.

Geliştirilen optimum formülasyonun *in vitro* salım çalışmaları için ticari formülasyona eşdeğer miktarda SP içeren KLN'lerin glisin tampon ile pH 3' de salım hızı çalışmaları gerçekleştirildi. Ticari formülasyon, SP etkin maddesi ve hazırlanan optimum formülasyon için gerçekleştirilen salım hızı çalışmaları doğrultusunda elde edilen veriler benzerlik testi ile f_2 faktörleri değerlendirildi.

Bu tez çalışması neticesinde SP' nin ilaç sanayine uygulanabilir alternatif bir formülasyonu geliştirildi. Bu alternatif formülasyona ait çözünürlük parametreleri piyasadaki ticari formülasyona göre kıyaslanarak yakın değerler gösterdiği bulundu.

SUMMARY

PREPARATION OF CEFPODOXIME PROXETIL NANOPARTICLES, PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND STANDARDIZATION

A pro and third-generation cephalosporin drug, an antibiotic that the Cefpodoxime Proxetil (CP) of exists the solubility and bioavailability problems. Structural features of solid lipid nanoparticles (SLN) due to its large surface area, depending on the CP to provide quick release so the resolution to eliminate problems and achieve a beter solubility and bioavailability profile, we aimed to.

For this aim, SLN formulation and the formulation of CP have been *in vitro* studied. Solvent emulsification / evaporation method was developed with SLN formulation containing CP. Optimum formulation was developed to ensure standardization of physicochemical properties for particle size and determination of amount .

Optimum formulation was developed for the study of *in vitro* release commercial formulation containing an equivalent amount of CP SLN's dissolution studies were performed glycine buffer pH 3. Commercial formulation, active ingredient of the CP and the optimum formulation was prepared according to the study was performed for the dissolution rate of the data obtained in similar tests, f_2 factors were evaluated.

As obtained of this study CP, an alternative formulation was developed can be applied to pharmaceutical industry. This alternative formulation of solubility parameters based on the market by comparing the commercial formulaiton was found to show similar scores.

KAYNAKLAR

1. Acartürk F., Ağabeyoğlu İ., Çelebi N., ve arkadaşları (2007). Modern Farmasötik Teknoloji, Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayınları 1.baskı
2. Açıkalın E., Cingi İ., Erol K. (1996). Laboratuar Teknikleri ve Gereçleri, T. C. Anadolu Üniversitesi Yayınları No:978, Türkiye
3. Ağabeyoğlu İ., Doğanay T., Çelebi N., ve ark. (1990) Farmasötik Teknoloji Laboratuar El Kitabı 2. baskı
4. Akalın H. E., (1994). Klinik Uygulamada Antibiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal İlaçlar
5. Akkan A. G.,(1997). Antibiyotiklerin Sınıflandırılması Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri İstanbul, s. 53-62
6. Alonso, M. (1996). Evaluation of Nanoparticles as Drug Delivery Systems. I:Preparation Methods. Pharmaceutica Acta Helvetica, 58, 196-209
7. Anger, K. S., Mehnert W., Müller R.H., (1999). Coating of Nanoparticles: Analysis of Adsorption using Sedimentation Field-Flow Fractionation[SdFFF], Proc. Int. Symp. Control. Release bioact. Mater. 26.
8. Betancourt T., Doiron A., Homan K. A. (2009). Controlled Release and Nanotechnology in Drug Delivery, American Association of Pharmaceutical Scientists.
9. Bozkır A., Karataş A., Hasçıçek C. ve ark. Farmasötik Teknoloji Deneysel Uygulamalar Kitabı, Ankara Üni. Eczacılık Fakültesi Yayınları 95

- 10.** Brown S. A., Boucher J. F. ,Hubbard V. I.,...et all. (2007) The Comparative Plasma Pharmacokinetics of Intravenous Cefpodoxime Sodium and Oral Cefpodoxime Proxetil in Beagle Dogs. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 30: 320 – 326.
- 11.** Cavalli R., Gasco M.R., Chetoni P., et all. (2002). Solid Lipid Nanoparticles (SLN) as Ocular Delivery System for Tobramycin *Int. J Pharm*, 238: 241-245.
- 12.** Christian S. S., Christian S. J., (1997). *The Cephalosporin Antibiotics*. Elviesier Science Inc. 4: 168-174
- 13.** Cohen, S., Bernstein.H. (1996). *Nanoparticulate Drug Carrier Technology. Microparticulate Systems for the Delivery of Protein and Vaccines*. Marcel Dekker Inc. 203-241. New York.
- 14.** Costa P. (2001). An Alternative Method to the Evaluation of Similarity Factor in Dissolution Testing. *International Journal of Pharmaceutics* 220, 77- 83.
- 15.** Couvreur, P., Couarraze, G., Devissaguet, J. P., Puisieux, F. (1996). *Nanoparticles: preparation and characterization. Microencapsulation Methods and Industrial Applications* (s.183-211)
- 16.** Couvreur, P., Vauthier, C., (2006). *Nanotechnology: Intelligent Design to Treat Complex Disease*. *Pharm Res* 23: 1417-1450, Newyork.
- 17.** Cox D. D., Douglas C. C., Furman W. B., et all,(1978). Guidelines for Dissolution Testing, *Pharmaceutical Technology*, April, 40-52
- 18.** Dalhoff, A. (1998). *Pharmacokinetics of Selected Antibacterial Agents*, Vol 49, Anche ; Switzerland Karger Publishers.
- 19.** De Jong H. W., Borm J.A.P. (2008). Drug Delivery and Nanoparticles: Application and Hazards, *Int. J. Nanomed.* **3** (2) pp. 133–149.

20. Demirel, M., Yazan, Y., (2000). Katı Lipit Nanopartiküller (SLN), FABAD J. Pharm. Sci., 25, 167-179.
21. De Villiers M. M., Aramwit P., Kwon G. S. (2008). Biotechnology: Pharmaceutical Aspects : Nanotechnology in Drug Delivery. Springer New York 283-312.
22. Donbrow M. (1992). Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy CRC Press Inc.: Boca Raton, 126-143.
23. El- Shaboury S. R., Saleh G. A., Mohamed F. A., Rageh A. H. (2007). Analysis of Cephalosporin Antibiotics, Journal of Pharmaceutics and Biomedical Analysis 45, 1- 19.
24. Ertan G., Karasulu H. Y., Karasulu E., Ege M. A. ve ark. (2000). A New In Vitro/In Vivo Kinetic Correlation Method for Nitrofurantoin Matrix Tablet Formulation, Drug Development and Industrial Pharmacy, 26(7), 737–743
25. Finkel R., Champe P. C., Clark M. A., Cubeddu L. X. (1993). Antibiyotik Kullanımı ve Antibiyotiklerin istenmeyen Etkileri, Logos Yayıncılık, 347-367
26. Finkel R., Champe P. C., Clark M. A. (1998) Pharmacology, 9-Industrial Manufactura of Cephalosporins 351-371
27. Freitas C., Müller R. H. (1998), Spray-drying of solid lipid nanoparticles (SLN), Eur. J. Pharm. Biopharm. 46 : 145–151.
28. Gasco, M. R., (1993). Method for Producing Solid Lipid Microspheres having a Narrow Size Distribution. United States Patent, USS 18883
29. Gasco, M. R., (1997). Solid Lipid Nanospheres from Warm Micro-emulsions, Pharm. Technol. Eur. 9: 52-58.

- 30.** Goodman L. S., Gilman A. (1996). Goodman&Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Ed. McGraw-Hill Professional
- 31.**Guidance for Industry (2000). Analytical Procedures and Methods Validation Chemistry, Manufacturing and Controls Documentation. US Department Of Healthy. FDA. Center For Drug Evaluation and Research
- 32.** Gürsoy, A.Z., (2002) Kontrollü Salım Sistemleri : İlaç taşıyıcı partiküler sistemler, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını, İstanbul, s. 65-102.
- 33.** Hall B. J., Dobrovolskaia A. M., Patri K. A. (2007). Chacterization of Nanoparticles for Therapeutics, Nanomedicine 2(6), 789-803.
- 34.** Hamilton J., Moore T., Kerner C.(1995). Reproducibility of Dissolution Test Results. Pharm Forum, 21(5):1383-1386.
- 35.** Hans, M.L., Lowman, A.M. (2002). Biodegradable Nanoparticles for Drug Delivery and Targeting. Current Opinion in Solid State and Materials Science, 6, 319-327.
- 36.** Hou, D., Xie, C., Huang, K., Zhu, C. (2003). The Production and Characteristics of Solid Lipid Nanoparticles (SLNs). Biomaterials, 24: 1781-1785.
- 37.** Jennifer B. Hall., Marina A. D., Anil K. P. (2007). Nanomedicine. Characterization of Nanoparticles for Therapeutics Scott E. McNeil 2(6):789-803.
- 38.** Jun H.,Shi-wen Z., (2007). New Research on Development of Solid Lipid Nanoparticles. J. of Medical Colleges of PLA. 22 (6) 385-390.

- 39.** Kakumanu V. K., Arora V., Bansal K.A., (2006). Investigation of Factors Responsible for Low Oral Bioavailability of Cefpodoxime Proxetil. *Int.J.Pharm* 317: 155-160.
- 40.** Kakumanu V. K., Arora V., Bansal K.A., (2007). Gastro-retentive Dosage Form for Improving Bioavailability of Cefpodoxime Proxetil in Rats. *The Pharm. Society of Japan* 439 - 445.
- 41.** Kamba M., Seta Y., Takeda N., Hamaura T. et al. (2003). Measurement of Agitation Force in Dissolution Test and Mechanical Destructive Force in Disintegration Test, *International Journal of Pharmaceutics* 250, 99 - 109.
- 42.** Kreuter J., (1996), *Nanoparticles and Microparticles for Drug and Vaccine Delivery*, J. Anat. 189 pp. 503–505.
- 43.** Kreuter, J., Dekker M. (1994). *Nanoparticles: Colloidal drug delivery systems* 219-342 : New York.
- 44.** Layloff T. (1983). Studies in the Development of USP Dissolution Test Method Number 2. *Pharm Forum* 9(6):3752-3757
- 45.** Lippacher, A., Muller, R. H., Mader, K. (2001). Preparation of Semisolid Drug Carriers for Topical Application based on Solid Lipid Nanoparticles. *Int J Pharm*, 214: 9-12.
- 46.** Manciet S. C., Decroix M. O., Farinotti R., Chaumeil J. C. (1997) Cefpodoxime Proxetil Hydrolysis and Food Effects in the Intestinal Lumen Before Adsorption: *In vitro* Comparison of Rabbit and Human Material. *Int. J. Of Pharmaceutics* 157: 153-161.

47. McNeil E. S., Leukoc J., (2005). Nanotechnology for the Biologist Biol. 78: 585-594.
48. Mehnert W., Mader K. (2001) Advanced Drug Delivery Reviews : Solid Lipid Nanoparticles Production, Characterization and Applications 47:165-196.
49. Merchant H. A., Shoaib H. M., Tazen J., Yousuf R. I. (2006). Once- Daily Tablet Formulation and *In Vitro* Release Evaluation of Cefpodoxime Using Hydroxypropyl Methylcellulose, AAPS PharmSciTech 7 (3).
50. Mohanraj, V.J., Chen, Y. (2006). Nanoparticles – A Review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 5(1), 561-573.
51. Moore J. W., Flanner H. H. (1996). Mathematical Comparison of Curves with an Emphasis on *in vitro* Dissolution Profiles, Pharm. Tech. 20(6), 64-74.
52. Moore T, Cox D. (1997). An Open Response to the USP Subcommittee on Dissolution and Bioavailability (DBA). Pharm Forum 23 (4) :4581-4582.
53. Muhler, A., Schwarz, C., Mehnert, W. (1998). Solid Lipid Nanoparticles (SLN) for Controlled Drug Delivery - Drug Release and Release Mechanism. Eur J Pharm Biopharm, 45:149-155.
54. Muhler A., Schwarz C., Mehnert W. (1997). Solid Lipid Nanoparticles for Controlled Drug Delivery- Drug Release and Release Mechanism, European J. of Pharmaceutical 45, 149-155.
55. Mukherjee S., Ray S., Thakur R. S. (2009). Solid Lipid Nanoparticles: A Modern Formulation Approach in Drug Delivery System. Indian Journal of Pharmaceutical Science Vol:71 ,349-358.

56. Muller, R. H. (1996). Zetapotential und Partikelladung- Kurze Theorie, praktische Meßdurchführung, Dateninterpretation, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart
57. Muller R. H., Hildebrand G. E., (1998). Mikroemulsionen als neue Wirkstoff-TraÈgersysteme, Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 161-168.
58. Muller, R. H., Mader, K., Gohla, S. (2000). Solid Lipid Nanoparticles (SLN) for Controlled Drug Delivery: A review of the State of the Art. Eur J Pharm Biopharm, 50: 161-177.
59. Muller, R. H., Maaßen, S., Radtke, M., Wissing, S. A. (2002). Nanostructured Lipid Matrices for Improved Microencapsulation of Drugs. Int J Pharm, 242: 121-128.
60. Muller, R.H., Radtke, M., Wissing, S.A., (2002). Solid Lipid Nanoparticles (SLN) and Nanostructured Lipid Carriers (NLC) in Cosmetic and Dermatological Preparations, Adv. Drug Delivery Rev., 54 (1), 131-155.
61. Muller, R. H., Wissing, S. A., (2002). SLN and Lipopearls for Topical Delivery of Active Compounds and Controlled Release, Modified Release Drug Delivery Technology, M. Rathbone, Marcel Dekker Inc., New York, 571-585.
62. Natalia F., Dagata A. J. (2009). Size Measurement of Targeted Nanoparticle Delivery Systems.
63. Pandey R., Sharma S., Khuller G. K. (2005). Oral Solid Lipid Nanoparticle-Based Antitubercular Chemotherapy, Elsevier Journal 85, 415-420.

64. Radtke, M., Müller R. H., (2000). Comparison of Structural Properties of Solid Lipid Nanoparticles Versus Other Lipid Particles, Proceeding International Symposium on Controlled Release Bioactive Materials, 27, s. 309-310.
65. Rathbone J. M., Hadgraft J., Roberts S. M. (2003). Modified-Release Drug Delivery Technology, Drug and Pharmaceutical Sciences, Basel, Switzerland.
66. Rodriguez C. J., Hernandez R., Gonzalez M., (2003). An Improved Method of Preparation Cefpodoxim Proxetil. *Elvesier Pharm Il Farmaco* 58 (2003) 363-369.
67. Saupe A., Rades T. (2006). Nanocarrier Technologies. Solid Lipid Nanoparticles : Biomedical and Life Sciences , Springer Netherlands, New Zealand.
68. Schmid G., (2004). Nanoparticles–From Theory to Application (first edition), Wiley-VCH, Weinheim.
69. Schwarz, C., Mehnert, W. (1997). Freeze-drying of Drug-free and Drug-loaded Solid Lipid Nanoparticles (SLN). *Int J Pharm*, 157: 171-179.
70. Schwarz, C., Mehnert, W., Lucks, J. S., Muller, R. H. (1994). Solid Lipid Nanoparticles (SLN) for Controlled Drug Delivery. I. Production, Characterization and Sterilization. *J Cont Rel*, 30: 83-96.
71. Shah M. P., (2002). Classification of Oral Cephalosporins. *International Journal of Antimicrobial Agents* 19 : 163–164.
72. Shah V.P., Tsong Y., Sahte P. (1998). *In vitro* Dissolution Profile Comparison - Statistics and Analysis of The Similarity Factor, *f2. Pharm. Res.* 15: 889-896.
73. Shaikh J., Ankola D. D., Beniwal V., Singh D. (2009). Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when

compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer
European Journal of Pharmaceutical Sciences 37: 223–230

74. Siekmann, B., Westesen, K. (1994). Thermoanalysis of the Recrystallization of Melt-homogenized Glyceride Nanoparticles. *Coll Surf B: Bioint*, 3: 159-175.
75. Siekmann, B., Westesen, K. (1996). Investigations on Solid Lipid Nanoparticles Prepared by Precipitation in o/w Emulsions. *Eur J Pharm Biopharm*, 43: 104-109.
76. Singh J., Arrieta A. C., (1999). *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, New Cephalosporins, Vo110, No 1 (January), pp 14-22.
77. Singh R., James W., Lillard Jr., (2008). Nanoparticle-based Targeted Drug Delivery, *Experimental and Molecular Pathology*, Int. Elviesier Pharmaceutical s: 9;4C: 6-7
78. Swarbrick J., (2007). *Encyclopedia of Pharmacetical Technology*, Nanoparticles, Third Edition, Informa Healthcare Inc, USA, Volume 4, pp. 2384-2397.
79. Swarbrick J. (2007). *Encyclopedia of Pharmaceutical Tachnology* Third Edition, Informa Healthcare Inc, USA, volume 5.
80. Thassu D., Deleers M., Pathak Y., (2007). *Nanoparticle Drug Delivery Systems :Pharmaceutical Applications of Nanoparticle Drug Delivery Systems Inc*, Informa Healthcare USA, Volume 166.
81. Tiyafoonchai W., Tungpradit W., Plianbangchang P. (2007). Formulation and Characterization of Curcuminoids Loaded Solid Lipid Nanoparticles *International Journal of Pharmaceutics* 337: 299–306.
82. Torchilin V.P., Mader K. (2006). *Nanoparticulates as Drug Carriers : Solid Lipid Nanoparticles as Drug Carriers*, Imperial College Press : 187-212, London.

- 83.** Westesen K., Bunjes H., Koch M.H.J. (1997) Physicochemical Characterization of Lipid Nanoparticles and Evaluation of Their Drug Loading Capacity and Sustained Release Potential, *J. Control Release* 48 : 223-236.
- 84.** Williams J. D., Naber K. G., Bryskier A., Høiby A. N., (2001). Classification of Oral Cephalosporins. A Matter for Debate. *Int. J. of Antimicrobial agents*. 17 : 443-450.
- 85.** Wissing, S. A., Kayser, O., Muller, R. H. (2004). Solid Lipid Nanoparticles for Parenteral Drug Delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, 56: 1257-1272.
- 86.** Wissing, S.A., Müller, R.H., (2003). Cosmetic Applications for Solid Lipid Nanoparticles (SLN), *Int. J. Pharm.*, 254, 65-68.
- 87.** Queneer F. S., Webber A. J. (1996). Beta-lactam Antibiotics for Clinical Use Sherry 10-Pharmacology of Cephalosporin. Marcel Dekker Inc.. 285-347: New York.
- 88.** <http://www.itg.uiuc.edu/exhibits/iotw/2004-02-03/original.jpg&imgrefurl>
- 89.** <http://www.jleukbio.org/content/vol78/issue3/cover.dtl>
- 90.** http://mayoresearch.mayo.edu/dev_lab/images/single_drug.gif
- 91.** <http://www.understandingnano.com/nanotechnology-articles.html>
- 92.** http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m14111.html
- 93.** <http://delloyd.50megs.com/moreinfo/buffers2.html>

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılının mart ayında Tekirdağ'da doğdum. Tekirdağ Namık Kemal İlkokulunda ilköğrenimimi tamamladım. Orta ve lise eğitimimi Tekirdağ Anadolu lisesinde gördüm. 2002-2007 yılları arasında Ege üniversitesi Eczacılık Fakültesinde üniversite eğitimi aldım. 2007 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyofarmasi ve Farmakokinetik Bilim Dalında yüksek lisansa başladım. 2007 yılı itibariyle Ege Üniversitesi ARGEFAR İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma Merkezinde Ürün Geliştirme Laboratuarında çalışmaya başladım. İlerleyen yıllarda ARGEFAR bünyesinde Klinik Sorumlu Eczası, Biyoyararlanım/Biyoeşdeğerlik (BY/BE) Biriminde Sorumlu Araştırmacı olarak da görev aldım. ARGEFAR bünyesinde İzleyici (Monitör) olarak çalışmaktayım.