T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK NANOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Dr. Öğr. Üyesi Gülşah GEDİK

BİYOFARMASÖTİK SINIFLANDIRMA SİSTEMİ (BCS) SINIF II ETKİN MADDE İLE KENDİLİĞİNDEN EMÜLSİFİYE OLABİLEN SİSTEMLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE İN-VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hakan GEDİK

Referans no: 10237112

EDİRNE-2020

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK NANOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Dr. Öğr. Üyesi Gülşah GEDİK

BİYOFARMASÖTİK SINIFLANDIRMA SİSTEMİ (BCS) SINIF II ETKİN MADDE İLE KENDİLİĞİNDEN EMÜLSİFİYE OLABİLEN SİSTEMLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE İN-VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hakan GEDİK

Destekleyen Kurum: TÜBAP-2019/285

Tez No:

EDİRNE-2020

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen hocam Sn. Dr. Öğr. Üyesi Gülşah GEDİK'e, eşim Yük. Sosyolog Deniz SARI GEDİK'e, çalışma ark. Uzm. Ecz. Emre Erol ALDENİZ ve Dr. Bekir KARLIĞA'ya, deneysel çalışmaların gerçekleştirmesinde sağlamış oldukları maddi ve manevi destekleri için DEVA HOLDİNG A.Ş.'ye teşekkür ederim. Tezimi doğacak olan çocuğuma ithaf ederim. Ayrıca bu çalışmama mali destek sağlayan TÜBAP' a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

BİYOFARMASÖTİK SINIFLANDIRMA SİSTEMİ (BCS) 3

EMÜLSİYON SİSTEMLER 7

SİKLOSPORİN 18

KAPSÜLLER HAKKINDA BİLGİLER 23

KATI DOZAJ FORMU İÇİN KULLANILAN YARDIMCI MADDELER 23

GEREÇ VE YÖNTEMLER 29

BULGULAR 52

TARTIŞMA 91

SONUÇLAR 98

ÖZET 100

KAYNAKLAR 103

ŞEKİLLER LİSTESİ 112

ÖZGEÇMİŞ 116

SİMGE VE KISALTMALAR

ALS : Amyotrofik Lateral Skleroz

DSC : Differential Scanning Calotimetry

EMA : Europoean Medicines Agency

EP : European Pharmacopoeia

FDA : Food and Drug Administration

FT-IR : Fourier Transform Infrared Spectroscopy

GRAS : Generally Recognized as Safe

GVHD : Graft-versus-host disease

H_3PO_4 : Phosphoric acid

HDPE : High Density Polyethylene

HLB : Hydrophilic-lipophilic balance

HME : Hot Melt Extrusion

HPLC : High Performance Liquid Chromatography

IV : Intravenous

NMR : Nuclear Magnetic Resonance

NTU : Nephelometric Turbidity Unit

ODS : Octadecyl silica

PDI : Polydispersity Index

R^2 : Korelasyon kat sayısı

rpm : Revolutions per minute

RSD : Relative Standard Deviation

S/Y : Yağ içersinde su

SD : Standard Deviation

SEDDS : Self Emulsifying Drug Delivery Systems

SEM **:** Scanning Electron Microscope

UV : Ultraviyole

WHO : World Health Organization

XRD : X- ray powder diffraction

Y/S : Su içersinde yağ

GİRİŞ VE AMAÇ

Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS) etkin maddelerin çözünürlüğüne ve permeabilitesine dayanan bir sınıflandırma sistemidir. Bu kriterlere bağlı olarak etkin maddeler dört sınıfa ayrılmaktadır. BCS Sınıf I yüksek çözünürlük/yüksek permeabilite, BCS Sınıf II düşük çözünürlük/yüksek permeabilite, BCS Sınıf III yüksek çözünürlük/düşük permeabilite, BCS Sınıf IV düşük çözünürlük/düşük permeabilite özelliği gösteren etkin maddeleri kapsamaktadır (1).

Siklosporin immunosüpresan aktiviteye sahip bir peptittir (2). Yapısal özellikleri etkin maddenin sudaki çözünürlüğünün çok düşük olmasına sebep olmaktadır. Sudaki düşük çözünürlüğü, oral ve topikal yoldan düşük biyorarlanım gibi istenmeyen biyofarmasötik özellikleri beraberinde getirmiştir. Siklosporin zayıf suda çözürnürlüğüne bağlı olarak zayıf geçirgenlik gösterdiğinden BCS Sınıf II kategorisinde yer almaktadır (3). Siklosporin organ nakillerinden sonra organ reddini önlemek için kullanılmaktadır (4).

Suda düşük çözünür özellik gösteren ilaç etkin maddelerinin oral biyoyararlanımı artırmak için hazırlanan lipit bazlı formülasyonlar son yıllarda ön plana çıkmaktadır ve ilaç etkin maddelerinin yağlar, yüzey etkin madde dispersiyonları ile karıştırılarak kendiliğinden emülsifiye olabilen formülasyonlar oluşturulabilmektedir (5). Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler vücut sıvılarıyla temas, mide ve bağırsak hareketleri sonrasında gastrointestinal kanalda bulunan su ile emülsifiye olmakta ve partikül boyutları 50nm ile 300nm arasında olan izotropik karışım oluşturmaktadır (6). Katı dozaj formundaki kendiliğinden

emülsifiye olabilen katı tozlar kapsüller içerisine dolum, pellet ve tablet formlarına da dönüştürülebilmektedir (7).

Çalışmada etkin madde olarak BCS Sınıf II grubunda yer alan siklosporin kullanılarak kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemin geliştirilmesi, geliştirilen sistemin adsorbsiyon kapasitesi yüksek yardımcı maddelerin üzerine adsorpsiyonu sağlanarak katı dozaj formlarının elde edilmesi ve *in-vitro* performanslarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

BİYOFARMASÖTİK SINIFLANDIRMA SİSTEMİ (BCS)

BCS, etkin maddelerin çözünürlüğüne ve permeabilitesine dayanan bir sınıflandır sistemidir (1). Amidon ve arkadaşları (ark.) tarafından önerilmiş ve Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından uygulanmaya koyulmuş bir sistemdir (8,9). Gastroinstestinal kanaldan ilaç emiliminin oranı ve kapsamı çok karmaşıktır ve birçok faktörden etkilenir. Bunlar fizikokimyasal faktörler, fizyolojik faktörler ve dozaj formuna ait faktörlerdir (10). Amidon ve ark. tarafından 1995 yılında BCS, ilaç absorpsiyonunu kontrol eden parametreler olarak etkin maddenin dozu ve gastroinstestinal kanaldaki çözünürlüğü ve mebran geçirgenliği olduğunu söylemişlerdir (8). Yeni ürün geliştirme süreçlerinde suda az çözünürlük, geliştirilen moleküllerin ortak özelliği olarak karşımıza çıkmaktadır. Tedavilerde kullanılan moleküllerin %40'ı ve geliştirilmekte olan moleküllerin %90'ı çözünürlük problemi olan moleküllerdir (11).

Avrupa İlaç Ajansı (EMA) biyoyararlanım bir farmasötik şekilden etkin maddenin kana geçiş oranı ve hızı olarak tanımlamıştır (12).

FDA tarafından "Hemen Salım Yapan Katı Oral Dozaj Formlarının Çözünme Hızı Testi" kılavuzunda yer alan bu sınıflandırma sistemine göre ilaçlar dört ana grup altında incelenmektedir (9).

BCS Sınıf I; yüksek çözünürlük, yüksek geçirgenlik.

BCS Sınıf II; düşük çözünürlük, yüksek geçirgenlik.

BCS Sınıf III; yüksek çözünürlük, düşük geçirgenlik.

BCS Sınıf IV; düşük çözünürlük, düşük geçirgenlik.

FDA kılavuzuna göre ilacın en yüksek tek dozu, 250mL veya daha az miktardaki ortamda pH 1,0-6,8 aralığında tamamen çözünüyorsa yüksek çözünürlük gösterdiği düşünülmektedir (9,13).

EMA kılavuzuna göre etkin maddenin çözünürlüğü, preparattaki en yüksek etkin madde miktarı pH: 1,0-8,0 aralığındaki 250 mL tamponda tamamen çözülmesidir (13).

Bir maddenin çözünürlüğü Amerika Farmakopesi (USP) monograflarına göre 1gr madde 1mL'den az çözücüde çözünüyor ise çok çözünür, 1-10mL çözücüde çözünüyor ise kolay çözünür, 10-30mL çözünücü çözünüyor ise çözünür, 30-100mL çözücüde çözünüyor ise zor çözünür, 100-1000mL çözücüde çözünüyor ise az çözünür, 1000-10000mL çözücüde çözünüyor ise çok az çözünür ve 10000mL'den daha fazla çözünüde çözünüyor ise hemen hemen hiç çözünmek olarak tanımlanmaktadır (15).

FDA kılavuzuna göre etkin maddenin emilimi; insan bağırsak zarı boyunca kütle transfer oranının ölçülmesine dayanmaktadır. Alternatif olarak insan bağırsağından ilaç emilimini tahmin etmek için kullanılan *in-vitro* epitel hücre kültürü yöntemleri gibi insan kaynaklı olmayan sistemlede kullanılabilmektedir. Etkin maddenin gastrointestinal kanalda stabil olmadığını gösteren kanıt yoksa ve ilacın insanda emilim oranının %90'dan fazla olduğu kütle denge çalışmalarıyla gösterilmişse etkin maddenin yüksek emilim gösterdiği düşünülmektedir (9,13,14)

EMA kılavuzuna göre biyomuafiyetten yararlanabilmek için ilacın insanda tamamen emildiğinin gösterilmesi gerekmektedir. Permeabilite ifadesi yerine tamamen emilim veya sınırlı emilim ifadeleri kullanılmaktadır ve tamamen emilim genellikle yuksek permeabiliteyle ilişkilidir. İlacın yüksek permeabilite göstermesi için %85 veya fazla oranda emilim göstermesi şartı bulunmaktadır. Ancak, emilimin ölçülmesi icin kullanılması önerilen yöntemler FDA kadar geniş değildir. Emilimin ölçülmesi yöntemlerinden yalnızca mutlak biyoyararlanım veya kütle-denge calışmalarını kabul etmektedir. İn-vitro hücre kültüru ve in-situ hayvan çalışmalarını kabul etmemektedir (14).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) FDA kılavuzunu temel alarak onun üzerinden öneriler getirmiştir. FDA'nın kabul ettiği tüm yöntemler WHO tarafından da kabul edilmektedir (1,14).

BCS'ye dayanan biyomuafiyet kavramı, biyoeşdeğerlik çalışmalarını azaltmak için geliştirilmiştir. Biyomuafiyet kavramı, yüksek çözünürlüğe sahip emilimi bilinen etkin maddeler ile sınırlıdır. BCS'ye göre biyomuafiyet Sınıf I etkin madde ve Sınıf III etkin maddelerin katı oral dozaj formlarını içermektedir (12).

Sınıf I biyomuafiyet için;

- Etkin madde yüksek çözünürlük,
- Etkin madde tam emilim
- İn-vitro ortamlarında referans ve test ürün hızlı çözünme gösteriyorsa
- Formülasyon etkin maddenin emilimini veya emilim oranını etkilemeyecek yardımcı madde içermiyorsa biyomuafiyet uygulanabilir.

Sınıf III biyomuafiyet için;

- Etkin madde yüksek çözünürlük,
- İn-vitro ortamlarında referans ve test ürün hızlı çözünme gösteriyorsa,
- Formülasyon etkin maddenin biyoyararlanımını etkilemeyecek aynı veya benzer ise biyomuafiyet uygulanabilir.

Birçok ülke FDA, EMA ve WHO'nun BCS ile ilgili kılavuzları kendi ülkelerinde uygulamaktadır. Bazı ülkeler kılavuzlarda değişiklik yaparak kendi kılavuzlarını hazırlamakta ve bazı ülkelerde BCS'yi kabul etmemektedir (1).

Türkiye'de Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'nda EMA referans alınmakla birlikte, biyoyararlanım biyoeşdeğerlik komisyonlarında ek kararlar alınabilmektedir (16).

Rusya'da WHO kılavuzlarını referans alarak biyomuhafiyet klavuzu hazırlamıştır. Çözünürlük, emilim, çözünme hızı kriterleri ve ölçümlerde kullanılacak yöntemler WHO kılavuzunda belirtildiği gibidir (17).

Kanada kendi BCS kılavuzunu uygulamaktadır. FDA, EMA ve WHO kılavuzlarından yararlanılarak hazırlanmıştır (18).

Japonya'da Japonya Sağlık Otoritesi tarafından BCS temeli kabul etmemektedir. Jenerik ilaçlar için mutlaka insan çalışması istenmektedir (19).

Tayvan, Avustralya, İsviçre, Kolombiya, Güney Afrika ve Yeni Zellanda Sınıf I ve III için biyomuafiyeti kabul etmektedir. Singapur, Güney Kore ve Brezilya Sınıf I için biyomuafiyeti kabul etmektedir (20).

Bu çalışmada BCS Sınıf II grubunda yer alan siklosporin etkin madde olarak kullanılmıştır. BCS Sınıf II etkin maddelerin oral biyoyararlanımlarında hız sınırlayıcı basamak etkin maddenin çözünme hızıdır, böylece çözünürlüklerindeki dolayısıyla çözünme hızlarındaki artış etkin maddenin biyoyararlanımda artış ile sonuçlanabilir (21).

BCS Sınıf I, II, III ve IV etkin maddelerin özellikleri ve tasarlanmış dozaj formları hakkında bilgi Tablo 1' de verilmiştir (8,11,22,23).

Tablo 1. BCS Sınıf I, II, III ve IV etkin maddelerin özellikleri ve tasarlanmış dozaj formları

SINIF I Yüksek çözünürlük, Yüksek Geçirgenlik	**SINIF II** Düşük çözünürlük, Yüksek Geçirgenlik
Emilim: İyi emilim göstermesi Emilim hız sınırlaması: Gastrik boşalım Örnekleri: Diltiazem, Propranolol, Metoprolol İlaç taşınmasındaki zorluk: Hızlı salınan dozaj formlarında zorluk yoktur ancak kontrollü salım dozaj formlarının kontrolünü sağlamak zordur.	Emilim: Değişken emilim göstermesi Emilim hız sınırlaması: Çözünme hızı Örnekleri: Nifedipin, Karbamazepin İlaç taşınmasındaki zorluk: Formülasyonlar, çözünürlük veya çözünme problemini gidermek için tasarlanmaktadır. Partikül boyutu küçültme, katı dispersiyon, lipid bazlı formülasyonlar gibi.
SINIF III Yüksek çözünürlük, Düşük Geçirgenlik	**SINIF IV** Düşük çözünürlük, Düşük Geçirgenlik
Emilim: Değişken emilim göstermesi Emilim hız sınırlaması: Emilim Örnekleri: İnsülin, Metformin, Simetidin İlaç taşınmasındaki zorluk: Emilimi artırmak için yeni yaklaşımlar kullanılmakta. Ön ilaçlar, emilim artırıcı yardımcı malzemeler gibi.	Emilim: Düşük emilim göstermesi Emilim hız sınırlaması: Etkin maddeye göre değişmekte Örnekleri: Taksol, Klortiazid, Furosemid İlaç taşınmasındaki zorluk: Hem çözünürlüğü hem de geçirgenliği artırmak için Sınıf II ve Sınıf III için kullanılan stratejilerin kombinasyonu kullanılır.

EMÜLSİYON SİSTEMLER

Emülsiyon sistemler birbiri ile karışmayan iki sıvı fazın birbiri içersinde damlacıklar halinde dağılmasıyla oluşan sistemlerdir. Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler doğal veya sentetik yağların izotropik karışımları, katı veya sıvı yüzey etkin maddeler veya hidrofilik çözücülerin karıştırılması sonucu oluşturulmaktadır (24).

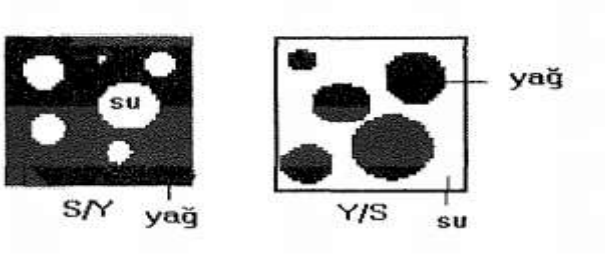
Oral yol, birçok hastalığın tedavisi için ilaç taşıyıcı sistemlerin uygulanmasında öncelikli yol olmuştur. Etkin maddelerin yüksek lipofilitesinden dolayı, oral yoldan ilaç verilmesi engellenmektedir. İlaç etkin maddelerinin yaklaşık %40'ı suda düşük çözünürlük göstermektedir ki bu durum düşük oral biyoyararlanım ve emilimde doğrusal olmayan farmokinetik profille sonuçlanmaktadır (24). Bu tür etkin maddeler için gastrointestinal kanaldan emilme oranını artırma çözünürlüğün artırılması ile kontrol edilebilir (8). Tuz oluşturulması, parçacık boyutunun küçültülmesi ve fizikokimyasal özelliklerinin modifikasyonu ilaç etkin maddesinin çözünürlüğünü ve dolayısıyla çözünme hızını artırmaya yönelik yaklaşımlardır (25). Ancak bu tür sistemlerde de bazı sınırlamalar mevcuttur. Örneğin, nötr etkin maddelerin tuz oluşturması mümkün değildir ve zayıf asit veya zayıf baz tuzlarının sentezi pratik olmayabilir. Oluşan tuzlar asit veya baz formlarına geri dönebilir ve gastrointestinal kanalda birikmelere yol açabilir. Partikül boyutu küçük etkin maddeler için kullanım zorlukları ve ıslanabilirlik problemlerinin yaşandığı durumlar da görülmektedir (5). Bu problemlerin çözümü için, siklodekstrinlerin, nanopartiküllerin, katı dispersiyonların ve geçirgenlik artırıcıların kullanımı dahil olmak üzere çeşitli formülasyon stratejileri kabul edilmiştir (24). Son yıllarda suda düşük çözünürlük gösteren ilaç etkin maddelerinin oral biyoyararlanımını artırmak için lipit bazlı formülasyonlar üzerine yoğun çalışmalar yapılmaktadır. En güncel yaklaşım, ilaç etkin maddelerinin yağlar, yüzey etkin madde dispersiyonları ile karıştırılarak kendiliğinden emülsifiye olabilen formülasyonlar oluşturulabilmektedir (5).

Emülsiyon sistemlerin avantajları (26).

- Kolay uygulanabilir olmaları
- Etkin maddelerin biyoyararlanımı artırmaları
- Fiziksel ve kimyasal yönden stabil olmaları
- Tatları kötü olan etkin maddelerin tadının maskelenmesi

Emülsiyon Tipleri

Sulu fazın yağ içerisinde dağılması sonucu oluşan sistemlere yağ içinde su (S/Y), yağ fazın su içerisinde dağılması sonucunda oluşan sistemlere su içerisinde yağ (Y/S) emülsiyonu denir. Emülsiyon oluşturan sistemlerde yüzey etkin maddelerin önemi yüksektir. Emülsiyon oluşumunun S/Y ve Y/S emülsiyon gösterimi Şekil 1'de verilmiştir (26).



Şekil 1. S/Y ve Y/S emülsiyonlarının gösterimi

Emülsiyon Çeşitleri

Emülsiyon sistemlerdeki damlacıkların boyutu emülsiyonların görünüşünü etkiler ve isimlendirilmelerine olanak sağlar, 1000nm den büyük damlacıklar beyaz, 100nm – 1000nm damlacıklar mavi-beyaz, 50nm-100nm damlacıklar yarı saydam ve 50nm'den küçük damlacıklarda saydam görülmektedirler. Damlacık ortalama çapı 10nm-100nm olan emülsiyon sistemler mikroemülsiyon veya nanoemülsiyon, 100nm'den büyük olan damlacıklara sahip emülsiyon sistemler makroemülsiyonlar olarak sınıflandırılır (27).

Mikroemülsiyonlar

Mikroemülsiyon kavramı, 1940 yılı başlarında titre edilerek berrak tek fazlı çözelti üreten Hoar ve Schulman tarafından tanıtıldı (20). 1959 yılından sonra Shulman ve ark. mikroemülsiyon terimini tanımladılar (28). Mikroemülsiyonlar kendiliğinden oluşan, izotropik ve termodinamik olarak kararlı su-yağ karışımı olan sıvı sistemlerdir (29).

Emülsiyon ve mikroemülsiyon arasındaki temel fark mikroemülsiyon sistemlerin mükemmel kinetik stabilite göstermeleri ve termodinamik olarak kararsız olduklarında faz ayrımları göstermemeleridir (30). Diğer önemli fark görünüşleriyle ilgilidir, emülsiyonlar bulanık iken mikroemülsiyonlar ise saydam veya yarı saydamdır. Emülsiyon sistem oluşumunda büyük miktarda enerji gerektirirken mikroemülsiyon sistemler oluşumları

sırasında büyük miktarda enerji gerektirmediğinden hazırlama yöntemlerinde önemli farklılıklar vardır (29).

Mikroemülsiyon sistemlerin avantajları:

- Etkin madde için yüksek çözünürlük kapasitesine sahip olması
- Etkin maddenin ortam koşullarından (pH, açlık/tokluk ve safra asitleri gibi) etkilenmelerini azaltarak stabil kalması
- Emilim oranını artırmakta ve bireylerarası veya bireyiçi emilim değişkenliğin azaltılması
- Suda çözünmeyen etkin maddeler için sulu bir dozaj formu sağlaması.
- Biyoyararlanımın arttırılması
- Hazırlama kolaylığı
- Yüksek stabilite
- Etkin maddelerin emilimi kontrol altına alınabilmesi
- Tat maskeleme avantajının bulunması

Mikroemülsiyon sistemlerin sahip olduğu bu özelliklerden dolayı diğer ilaç taşıyıcı sistemlere göre üstün avatajları olabilmektedir (31,32).

Mikroemülsiyonların oluşum teorileri: Mikroemülsiyon oluşumunu ve kararlığını açıklamak için üç yaklaşım kullanılmaktadır ve aşağıda verilmiştir (33).

- Arayüzey veya Karma Film Teorisi
- Çözünürlük Teorisi
- Termodinatik Teorisi

Arayüzey veya karma film teorisi: Schulman ve ark. tarafından emülsifiye edici maddeyi, yağ ve su arasındaki yüzeyde yer alarak iç fazdaki damlacıkların yüzeyinde ince bir film tabakası olarak çevreler ve dağılmış fazın temasını ve birleşmeni önleyerek emülsiyon oluşumu gerçekleşir (34,35).

Çözünürlük teorisi: Friberg ve ark. ile Shinoda ve ark. tarafından mikroemülsiyonların su ve yağ misel yapıların içersinde çözünerek oluşan miseller sistemler olarak tanımlamışlardır. Ters misel yapılarıda oluşturabilmeleri mümkündür (29,36).

Termodinamik teorisi: Ruckenstein ve ark. mikroemülsiyon sistemlerin termodinamik olarak stabil olması için serbest enerjisinin negatif olması gerektiğini öne sürmüşlerdir. Serbest enerjiyi belirlenirken ortamdaki damlacıkların entropisi, damlacıklar arası etkileşim enerjisi ve yüzeyler arası serbest enerjidir (29).

Mikroemülsiyon bileşenleri: Mikroemülsiyon sistemlerin oluşturulmasında kullanılan yardımcı maddeler mikroemülsiyonların kullanım amacına uygun olarak seçilmesi gerekmektedir.

Mikroemülsiyon sistemler, su, yağ, non-iyonik veya iyonik yüzey etkin madde ve kısa veya orta zincirli alkol, poliol veya organik asit gibi yardımcı yüzey etkin maddeden oluşmaktadır. Kullanılan maddelerin birbirine oranı ve yapıları, sürekli fazın yağ veya su olması ile yakından ilgilidir. Sulu faz sadece sudan oluşmayabilir, suda çözünen veya suyla karışabilen sorbitol, gliserin, tampon çözeltiler ve koruyucu maddeler bu fazda yer alabilir. Suda farklı maddelerin çözünmesinden dolayı oluşan çözeltinin çözünme özelliği ve yüzey alanının da değişmesine sebep olabilir (37).

Yağlı fazında bitkisel yağlar, sentetik yağlar, hidrokarbonlar, esterler veya trigliseridler kullanılabilir. Kullanılacak yağ seçiminde yüzey etkin maddenin iyonik veya non-iyonik olması önemlidir.

Yüzey etkin maddenin farmasötik açıdan biyouyumluluğa dikkat edilerek seçilmesi gerekmektedir. Polioksietilen sorbitan esterleri, poliglikol C8-C10, oksietilen yağ asitleri, şeker esterleri ve polietilen glikol eter veya esterlerinin yüzey etkin madde olarak kullanıldıkları emülsiyon sistemlerde yardımcı yüzey etkin madde olarak alifatik polioller, benzilalkol, gliserin, diglikol esterleri, etilen glikol veya propilen glikol ve esterleri kullanılabilir (37,38).

Mikroemülsiyon sistemlerin bileşenleri Tablo 2' de verilmiştir.

Tablo 2. Mikroemülsiyon sistemlerin bileşenleri

Yağlı Faz	Bitkisel yağlar, sentenik yağlar, trigliseritler, yağ asitlerinin esterleri
Sulu Faz	Su, tampon çözeltiler, propilen glikol
Yüzey etkin madde	İyonik, noniyonik yüzeyetkin maddeler, lesitin poligliserol, yağ asidi esterleri
Yardımcı yüzey etkin madde	Alkoller, glikol türevleri, poligliseroller ve propilen glikol

Nanoemülsiyonlar

Nanoemülsiyonlar çok küçük damlacıklar içeren konvansiyonel emülsiyonlardır (39). Nanoemülsiyonlar şeffaf görünümlü, damlacık boyutu 50-200nm arasında değişebilmektedir (40). Nanoemülsiyonlar, Y/S veya Y/S tipinde olabilirler. Nanoemülsiyonlar, konvansiyonel emülsiyonlardan daha küçük boyutta damlacık büyüklüğüne sahip olması sayesinde sedimentasyon ve kremalaşmaya karşı dayanıklı, mikroemülsiyonlar gibi berrak ve yarı berrak optik özelliklere sahiptir (41).

Nanoemülsiyonlar mikroemülsiyonlarla aynı içeriğe sahiptir; su, yağ, yüzey etken madde ve yardımcı yüzey etken maddeden oluşmaktadır.6 Nanoemülsiyonlar yapısal olarak mikroemülsiyonlara benzemektedir. Ancak, mikroemülsiyonların aksine konvansiyonel emülsiyonlar gibi termodinamik olarak dengede değildir (41).

Nanoemülsiyon hazırlamak için yüksek basınçta homojenizasyon, ultrasonikasyon, mikroakışkanlaştırma, faz ters çevirme yöntemi, spontan emülsifikasyon ve çözücü buharlaştırma yöntemleri kullanılabilmektedir. (41).

Mikroemülsiyonlar; berrak, termodinamik olarak kararlı, izotropik sıvı karışımlardır. Yağ, su, yüzey etken madde ve yardımcı yüzey etken madde kullanılarak hazırlanırlar. Geleneksel emülsiyonlara oranla nano boyuta kadar inebilen çok küçük damlacıkları içerirler. Mikroemülsiyonlar, enerji gereksinimi olmadan kendiliğinden oluşmaları, stabilitelerinin yüksek olması, yüksek çözündürme kapasitesine sahip olmaları ve hızlı bir şekilde emilerek, yüksek biyoyararlanım göstermeleri nedeni ile hem ilaç hem de kozmetik alanda sıklıkla tercih edilen emülsiyon şekilleridir. Nanoemülsiyonlar ise nano ölçekli damlacıkların dağılımı yönünden mikroemülsiyonlara çok benzemekle birlikte, kendiliğinden oluşan mikroemülsiyonlardan farklı olarak mekanik kuvvet uygulanarak üretilirler. Nanoemülsiyonlar, hazırlanmalarında çok daha az miktarda yüzey etken maddeye ihtiyaç duyulması ve filtrasyonla sterilizasyona imkân sağlamaları gibi avantajlara sahiptirler (41).

Emülsiyon, mikroemülsiyon ve nanoemülsiyon arasındaki farklılıklar Tablo 3' de verilmiştir (41).

Tablo 3. Emülsiyon, mikroemülsiyon ve nanoemülsiyon arasındaki farklılıklar

Özellik	Emülsiyon	Mikroemülsiyon	Nanoemülsiyon
Görünüş	Kremsi	Şeffaf	Şeffaf
Yapı	Yarı katı	Sıvı	Sıvı
Fiziksel Tanım	Kaba dispersiyon	Kolloidal dispersiyon	Kolloidal dispersiyon
Damlacık boyutu	>500nm	<100nm	<100nm
Polidispersite	Yüksek	Düşük	Düşük
Termodinamik stabilite	Stabil değil	Stabil	Stabil değil
Yüzey aktif madde : yağ oranı	Düşük	Yüksek	Orta

Hidrofilik-lipofilik denge değeri: 1949 yılında Griffin tarafından önerilen hidrofilik lipofilik balance (HLB) sistemi emülgatör seçiminde en çok kullanılan yöntemdir (42,43).

HLB değeri emülgatörün lipofilik veya hidrofilik özelliğini olmasını göstermektedir. Bu değer 0-20 arasında değerlendirilir ve hidrofilik grubun mol yüzdesinin beşe bölünmesi ile elde edilir. HLB değeri ≤ 6 daha çok yağ fazında çözünebilmekte ve S/Y emülsiyonu, HLB değeri 8 < ise daha çok su fazında çözünebilmekte ve Y/S emülsiyonları oluşturmak için uygun olabilmektedir. (33,38).

HLB değerlerine göre suda dağılım ve uygulamaları Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. HLB değerlerine göre suda dağılım ve uygulamaları

HLB	Suda Dağılma	Uygulama
1-4	Hiç	-
3-6	Zayıf	S/Y emülsiyonu
6-8	Çalkalama ile sütsü dağılım	Islatma ajanı
8-10	Dayanıklı sütsü dağılım	Islatma ajanı ve Y/S emülsiyonu
10-13	Yarı-saydam berrak dağılım	Y/S emülsiyonu
>13	Berrak çözelti	Y/S emülsiyonu, çözündürme ajanı

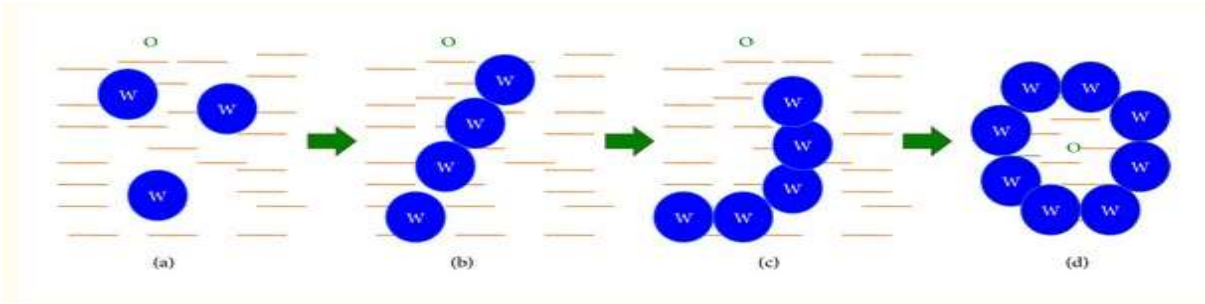
Kendiliğinden Emülsifiye Olabilen Sistemler

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemlerin üretilme süreçlerinde partikül boyutunu düşürmek için ilave enerji harcanmadan kendiliğinden gerçekleştiğinden dolayı mikroemülsiyon sistem içersinde yer almaktadır (41).

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler, vücut sıvılarıyla gastro intestinal kanalda bulunan su ile temas ettiğinde 50nm ile 300nm arasında damlacık boyutuna sahip yağ, yüzey etkin madde ve yardımcı yüzey etkin madde ile oluşturulan izotropik tek düze karışımlardır. Gastrointestinal kanalda hızla yayılan kendinden emülsifiye olabilen sistemlerin kendiliğinden emülsifikasyon için mide ve bağırsak hareketleri yeterli olmaktadır (16). Fiziksel stabilite, basit üretim süreci ve yumuşak veya sert jelatin kapsül yoluyla oral yolla uygulama imkanı vermesi gibi sahip oldukları birçok avantaj nedeniyle bu sistemler son yıllarda yoğun araştırma konusu olmuştur. Yeni üretilen ilaç etkin maddelerin %40 ile %70'inin sulu ortamlarda yeterince çözünmediği tahmin edilmektedir. Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemlerin avantajları arasında %100 ilaç tuzaklama kapasitesi, fiziksel olarak kararlı formülasyon, etkin madde çözünmüş halde bulunduğundan çözünme aşamasına, mikron altı damlacık boyutunun oluşturulması böylece emilim yüzey alanının arttırılması sayesinde biyoyararlanınım artması sağlanmaktadır (44).

Hassas ve stabil olarak dağılmış emülsiyonlar ile karşılaştırıldığında, kendiliğinden emülsifiye olabilen formülasyonlar fiziksel olarak stabildir, kolaylıkla üretilebilir ve susuz yapıya bağlı olarak yumuşak ve sert jelatin kapsüller ile dozlama sağlanıp oral uygulama için uygundur. Çözünme hızı sınırlı emilim sergileyen lipofilik ilaç etkin maddeleri için geliştirilen formülasyonların emilim oranında iyileşme ve tekrarlanabilir kan-zaman profilleri sunmaktadır. Susuz olan bu sistemler ayrıca hidrolitik olarak duyarlı etkin maddelerin uygulanması için uygun olmaktadır. Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemlerin bağırsak geçirgenliğinin arttırdığı ve pH'ın ilaç emilimi üzerindeki etkisinin en aza indirdiği bulunmuştur (45).

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sisteme su eklenmesi sırasında meydana gelen makanizma Şekil 2'de verilmiştir (44).



a) Yağ fazındaki su damlaları b) Yağ fazındaki su silindiri c) Lamellar yapı d) Yağ fazındaki su damlacıkları

Şekil 2. Kendiliğinden emülsifiye olabilen sisteme su eklenmesinde gelen mekanizma

Katı dozaj formundaki kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler, spreyle kurutma, liyofilizasyon, eriyik ekstrüzyon ve nanoparçacık teknolojisi ile geliştirilebilmektedir (45,46,47). Katı toz halindeki kendiliğinden emülsifiye olabilen katıparçacıklar kapsüller içerisine dolum, pellet, tablet formlarına dönüştürülebilmektedir (7).

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem formülasyonlarında yardımcı maddelerin seçimi için birim oral uygulama için kabul edilebilir hacimde etkin madde dozunun çözünme yeteneğine sahip bir yardımcı madde seçimi veya yardımcı maddelerin kombinasyonun tanımlanmalıdır. Kendiliğinden emülsifikasyon için, yağ/ yüzey etkin madde konsantrasyonu ve yağ/ yüzey etkin madde oranı, emülsifikasyonun gerçekleştiği sıcaklık kendiliğinden emülsifikasyon için etkilidir (48). Formülasyonun fiziksel ve kimyasal olarak kararlı olmalı ve ilacın salım özellikleri formülasyonun raf ömrü boyunca sabit kalmalıdır. Formülasyonun geliştirilmesinde kullanılacak yardımcı maddelerin FDA tarafından yayınlanan genellikle güvenli olarak kabul edilen (GRAS) yardımcı maddeler listesinde ve düzenleyici kurumlar tarafından onaylanan ve yayınlanan maddelerden seçilmelidir. Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem yağ, yüzey etkin madde ve yardımcı yüzey etkin maddelerden oluşmaktadır (44).

Kendinliğinden emülsifiye olabilen ilaç dağıtım sistemlerinin avantajı (49,50).

1- Yağ, yüzey etkin madde karışımı içerisine hidrofobik veya hidrofilik etkin maddeler ilave edilebilir.
2- Sıvı veya katı dozaj formları için kullanılabilir.

3- Geleneksel dozaj formlarına göre daha düşük etkin madde dozu gerektirirler.
4- İnce damlacık boyutu ile etkin maddesinin mide boyunca geniş bir şekilde dağıtılması kolaylaşır.
5- Emülsiyonlar hassas stabil formları iken kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler fiziksel olarak daha kararlıdır.
6- Yağlı çözeltiler ile karşılaştırıldığında, etkin maddenin yağ ve su arasında bölünmesi için geniş bir yüzey alanı sağlanır.
7- Biyoyararlanımları yüksektir, daha tutarlı zaman profilleri elde edilir.
8- Üretilm ve ölçek büyütmeleri diğer dozaj formlarına göre kolaydır.

Kendinliğinden emülsifiye olabilen ilaç dağıtım sistemlerinin dezavantajı (49,50).

1- İn-vitro modellemelerin ön görücü olmaması ve *in-vivo* olarak uygun hayvan modelininde geliştirilmesi ve test edilmesi gerekmektedir.
2- Sistem içersinde gastro intestinal kanalı tahriş edebilecek yüksek yüzey etkin madde konsantrasyonu içermeleri
3- Uçucu yardımcı yüzey etkin maddelerin sistem içersinden göç etmesi gözlenebilir.
4- Yüksek üretim maliyetleri çıkarabilmektedir.
5- Düşük etkin madde uyumu ve kimyasal stabilite gözlenebilmektedir.
6- Düşük ilaç yükleme kapasitesi gözlenebilmektedir.

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem ve emülsiyon oluşumuna ait şematik gösterim Şekil 3'de verilmiştir (51).



Şekil 3. Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem ve emülsiyon oluşumuna ait şematik gösterim

Bazı etkin maddelerin oral yoldan verilmesi için tasarlanmış kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem örnekleri Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Bazı etkin maddelerin oral yoldan verilmesi için tasarlanmış kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem örnekleri

Etkin Madde	Yağ Fazı	Yüzey Etkin Maddeler	Etkin Madde Miktarı %	Referans
Ontazolast	Oleik asidin mono ve digliseritlerinin karışımı	Poliglikolize gliseritler Tween 80	7.5	(52)
Siklosporin	Zeytin yağı	Poliglikolize gliseritler	10	(53)
Siklosporin	Etil oleat	Tween 80	10	(54)
Progesteron	Etil oleat	Tween 80	2.5	(55)
CoQ_{10}	Myvacet 9−45 veya Captex 200	Labrasol Labrafac CM10 Lauroglikol	5,66	(52)
İndometazin	-	Poliglikolize gliseritler	4	(56)
Siklosporin	Hidrolize mısır yağı	Poliglikolize gliseritler, POE − hint yağı türevi	10	(57)
Siklosporin	Hidrolize mısır yağı	Poliglikolize gliseritler, POE − hint yağı türevi	10	(58)
Halofantrin	Trigliserit (LLL, LML, MLM)	Maisine 35−1, Cremophor EL	5	(59)
Paksitaksel Siklosporin	Gliseril dioleate	Cremophor EL, PEG400	5,7-6,25	(60)
Paksitaksel	dl-alfa tokoferol	TPGS, tyloxapol, DOC-Na	3	(61)

SİKLOSPORİN

Siklosporin, güçlü immünosüpresif ve immünomodülatör özellikler sunan onbir aminoasitten oluşan lipofilik siklik polipeptittir (2). *Beaiveria nivea* adlı mantardan izole edilen siklosporin 1980 yılında enjekte edilebilir bir etanolik çözelti ardından 1990' da bitkisel bir yağ formülasyonu olarak formüle edilmiştir (62). Bu ilaç ilk olarak 1970 yılında Sandoz taradından keşfedilmiştir (63). Siklosporin zayıf suda çözünürlüğe bağlı olarak zayıf emilime sahiptir ve yetersiz terapötik etkilere neden olur. Siklosporin biyofarmasötik sınıflandırma sistemi (BCS) sınıf II kategorisinde yer alır (3).

Fizikokimyasal Özellikleri

Beyaz veya beyaza yakın renkte toz halindedir. Pratik olarak suda çözünmez, susuz alkol veya metilen klorürde serbestçe çözünür (64).

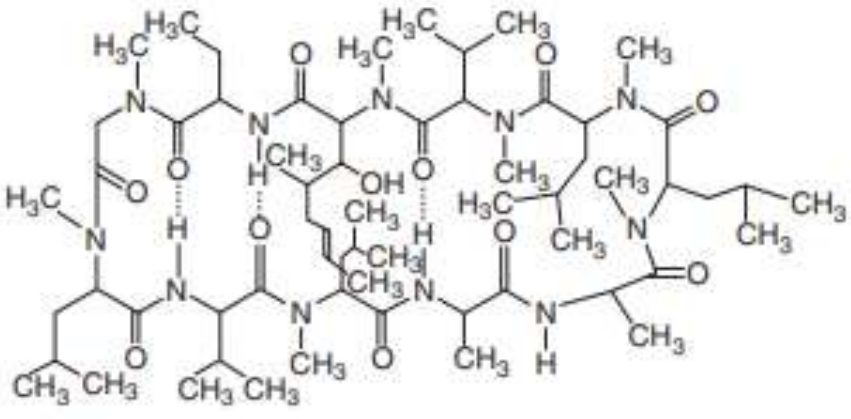
Molekül Ağırlığı, 1202,61 gr/mol'dür (64).

Kapalı Formülü, C62H111N11012'dir (64).

Erime Noktası, 148°C-151°C'dir (65).

Kaynama noktası, 838,63°C'dir (65).

Siklosporinin molekül yapısı Şekil 4'te verilmiştir (66).



Şekil 4. Siklosporinin molekül yapısı

Etki Mekanizması

Siklosporin, organ nakillerinin reddini kontrol etmek ve otoimmün hastalıkları tedavi etmek için bir immünosüpresan olarak kullanımı nedeniyle çok kapsamlı şekilde incelenmiştir. Etki mekanizması üzerine yapılan araştırmalar molekülün T lenfositlerinin aktivasyonunu inhibe etme yeteneğine odaklanmıştır. Daha sonradan siklosporinin apoptozun inhibisyonu gibi çeşitli hücre tiplerinde başka aktiviteleri olduğu belirlenmiştir (4).

Endikasyonları

Siklosporin, nakil sonrası organ reddini tedavi etmek için kullanılan immünosüpresif bir ilaç etkin maddesidir. Ayrıca bazı diğer otoimmün hastalıklarda da kullanımı vardır (67).

Katı organ naklinde, böbrek, karaciğer ve kalp allojenik nakillerinde organ reddinin tedavisinde kullanılır (67).

Ramatoid artritli hastalarda, hastalığın metotreksata yeterince yanıt vermediğinde kullanılır (67).

Sedef hastalığı için endikasyonlar, en az bir sistemik tedaviye yanıt vermeyen şiddetli, inatçı, plak sedef hastalığı olan erişkin, bağışıklık sistemi baskılanmamış hastaların tedavisini içerir (67).

Amyotrofik lateral sklerozu (ALS veya Lou Gehrig Hastalığı) olan hastalarda, siklosporin, amyotrofik lateral sklerozu ve varyantlarını tedavi etmek için kullanılır (67).

Nefrotik sendromda, kortikosteroidlere yanıt vermeyen fokal segmental glomerülosklerozun tedavi edilmesi endikedir (67).

Greft ve konakçı hastalığı (GVHD) olan bireylerde hastalığı önler ve tedavi eder (67).

Üveit durumunda, refrakter posterior üveit ve Behçet hastalığı için siklosporin endikedir (67).

FDA onaylı olmayan endikasyonlar şunları içerir:

Alerjik konjonktivit, keratokonjonktivit, Langerhans hücreleri histiyositoz, oküler greft ve konak hastalık, otoimmün hepatit, Duchenne kas distrofisi, ülseratif kolit, saf kırmızı hücre aplazisi, Henoch Schonlein purpura nefriti (67).

Doz Sınırları

Yetişkinlerde Organ Nakli İçin Doz;

Oral;

- Nakil öncesi dört ile on iki saat: bir doz için ağızdan 14 ile 18 mg/kg
- Nakil sonrası bir ile iki hafta: günde iki kez bölünmüş ağızdan günde 5 ile 15 mg/kg
- Dozu günde iki kez 0 günde 5 ila 10 mg/kg olana kadar haftada %5 azaltılır

İntravenöz (IV) (maksimum konsantrasyon 2,5 mg/dL)

- Dört ileon iki saatlik nakil öncesi IV: 2 ila 6 saat boyunca bir doz için 5 ile 6 mg/kg IV
- Nakil sonrası, hasta oral tedaviyi tolere edebilene kadar: günde bir kez 2 ile 10 mg/kg IV

Fokal Segmental Glomerüloskleroz: Her 12 saatte bir 3 mg/kg/gün oral

Romatoid Artrit: Oral (modifiye): Başlangıçta: Yanıtın etkili olmaması durumunda, her 12 saatte bir günde 2,5 mg/kg, sekiz hafta sonra günde 0,5 ila 0,75 mg/kg artırın. Maksimum doz: günde 4 mg/kg

Sedef hastalığı: Oral (modifiye): Başlangıçta: 12 saatte bir günde 2,5 mg/kg, yanıt etkili olmadıysa dört hafta sonra günde 0,5 mg/kg artırın. Maksimum doz: günde 4 mg/kg (67,68).

Farmokinetik Özellikleri

Siklosporin oral, oftalmik ve intravenöz yoldan verilir. Oral yoldan verildiğinde kabaca %20-%50 oranında absorbe olur, ancak absorbsiyonu büyük ölçüde değişkenlik gösterir. Karaciğerden ilk geçiş metabolizması, veriliş şekli ve ilaç etkileşmeleri gibi faktörlerin tümü siklosporin'in absorbsiyonunu etkiler. Besinler genellikle absorbsiyonunu azaltır. Siklosporin çok hidrofobik bir ilaçtır. IV formülasyonu alkol ve hint yağı içerir ve bu maddelerin preparata bağlı olarak arada bir görülen aşırı duyarlık reaksiyonlarından sorumlu olduklarına inanılmaktadır. Oral preparatları da mısır yağı, hint yağı veya zeytinyağı ile etanol içerir, fakat bunlar daha düşük konsantrasyonlarda bulunurlar. Oral yoldan absorbsiyonunun kesin olarak öngörülememesi nedeniyle oral ve parenteral dozları arasında bir dönüşüm yapmak güçtür (64).

Siklosporin vücutta geniş ölçüde dağılıma uğrar. Plasentayı aşar ve anne sütüne geçer. Başta lipoproteinler olmak üzere %90'ı plazma proteinlerine bağlanır. Kandaki ilacın yaklaşık

%50 kadarı eritrositlerde bulunur. Oral yoldan verildiğinde plazma doruk konsantrasyonlarına 3-4 saat içinde ulaşır. Bununla birlikte, bu değer absorbsiyonunun düzenli olmamasına ve ilacın dokulara olan dağılımının uzamasına bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Doz ayarlaması için geniş ölçüde siklosporin kan düzeyleri göz önüne alınmasına rağmen, ilacın absorbsiyon ve proteinlere bağlanmasındaki değişkenlik, örnekleme hatası, tayin yöntemi, metabolitlerinin çapraz aktivite göstermesi, enterohepatik siklüse girmesi, ilaç etkileşmeleri ve diğer farmakokinetik faktörler bu yöntemle kesin bir sonuca ulaşılmasını güçleştirir.

Siklosporin gastrointestinal kanaldan absorbe olduktan sonra büyük ölçüde ilk geçiş metabolizmasına uğrar. Karaciğer de sitokrom P-450 III-A enzim sistemi tarafından kapsamlı bir şekilde en az 25 metabolitine metabolize edilir ve bu metabolitlerinden bir bölümü biyolojik olarak etkintir. Eliminasyon yarı ömrü önemli ölçüde farklılık gösterir ve 10 saat ile 40 saat arasında değişebilir. Siklosporin ve metabolitlerinin eliminasyonları esas olarak safra ve feçes yoluyla olur. Sadece %6 kadarı böbreklerden atılır. Bunun da %0,1'i değişmemiş siklosporin şeklindedir. Renal yetmezlik veya diyaliz siklosporin'in klirensini önemli ölçüde etkilemez (64,68).

Göze topikal olarak uygulandığında kandaki siklosporin A konsantrasyonları spesifik yüksek basınçlı sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi yöntemi ile ölçülmüştür. İnsanda, %0.05'lik oftalmik emülsiyonunun 12 ay süreyle günde iki kez uygulanması ile kan siklosporinin konsantrasyonlarının 0,1 ng/mL'lik saptama sınırının altında olduğu bulunmuştur. %0,05 siklosporin içeren oftalmik emülsiyon ile 12 aylık tedavi sırasında ilacın kanda birikmediği belirlenmiştir (68).

Siklosporinin Kullanıldığı Ticari Preparatlar

Siklosporin farklı dozaj formları ve dozaj şekillerinde firmalar tarafından üretilmekte ve gerekli hastalıklar için kullanılmaktadır. Siklosporin içeren ticari preparatlar Tablo 6'da verilmiştir (65).

Tablo 6. Siklosporin içeren preparatlar

Ürün Adı	Dozaj Şekli	Dozaj	Kullanım Şekli	Üretici Firma
Aqua-stasis	Likit	0,0005 g/100mL	Oftalmik	Dr Marc's Manufacturing And Sales
Cequa	Likit	0,0009 mg/1mL	Oftalmik Topikal	Sun Pharmaceutical Industries, Inc.
Cequa	Likit	0,0009 g/1mL	Topikal	Sun Pharmaceutical Industries, Inc.
Cyclo-derm	Likit	0,25 g/100mL	Topikal	Dr Marc's Manufacturing And Sales
Cyclosporine	Paranteral	50 mg/1mL	IV	AMERICAN REGENT, INC.
Cyclosporine	Yumuşak Kapsül	25 mg	Oral	Sandoz Canada Incorporated
Cyclosporine/Chondroitin PF	Emülsiyon	1 mg/1mL	Oftalmik	Imprimis Njof, Llc
Hydro-stasis	Likit	0,0005 g/100mL	Oftalmik	Dr Marc's Manufacturing And Sales
Nail Cyclosporin-A	Likit	0,25 g/100mL	Topikal	Dr Marc's Manufacturing and Sales
Neoral	Yumuşak Kapsül	25 mg 50mg 100 mg	Oral	Novartis Pharmaceuticals Corporation
Restasis	Emülsiyon	0,5 mg/1mL	Oftalmik	A-S Medication Solutions

KAPSÜLLER HAKKINDA BİLGİLER

Kapsüller, terapötik bileşiklerin oral yoldan verilmesi için tabletlere alternatif bir yöntemdir. Kapsüllerin tabletlere göre avantajı olarak dozlama için sadece katı maddeler değil aynı zamanda sulu olmayan sıvıların ve yarı katılarında dozlanmasına olanak sağlamasıdır. Kabuk bileşeni, kapsül dozaj formlarının önemli bir parçasıdır. Sert veya yumuşak kabukları olarak temin edilebilen kabukları, jelatin veya hipromelloz ve nişasta, su gibi jelatin olamayan polimerik malzemelerden ve uçucu olmayan bir plastikleştirici veya olmadan da formüle edilebilirler. Kapsül kabukları ayrıca gastrointestinal sistemde dolgu içeriklerinin bölgeye özgü bir şekilde salımını değiştirmek üzerede formüle edilebilir (69).

KATI DOZAJ FORMU İÇİN KULLANILAN YARDIMCI MADDELER

Düşük çözünürlük, yüksek geçirgenlik gösteren BCS sınıf II etkin maddelerin sudaki çözünürlüklerinden dolayı zayıf biyoyararlanım göstermektedir ve ilaç tasarımları teknolojik zorluk oluşturmaktadır. Su çözünürlüğünü ve ilaç salınımı artırmak için, mikronizasyon, yüksek yüzey alanlı yardımcı maddeler ile birlikte öğütme, inklüzyon komplekslerinin formülasyonu, katı dispersiyonlar ve lipit bazlı birçok yöntem kullanılmaktadır. En umut verici yaklaşımlardan biride kendinden emülsifiye olabilen formülasyonların tasarımıdır (21,70).

Spireas tarafından tanımlanan "likitkatı sistem" kavramı bir sıvıyı, taşıyıcı malzemesi olarak seçilmiş bir yardımcı madde ile, basit fiziksel harmanlamayla serbest akan, kolayca sıkıştırılabilen ve görünüşte kuru bir toza dönüştürmek için kullanılabilir (71).

Likitkatı sistemlerin oluşumunun şematik gösterimi Şekil 5'te verilmiştir (71).



Şekil 5. Likitkatı sistemlerin oluşumunun şematik gösterimi

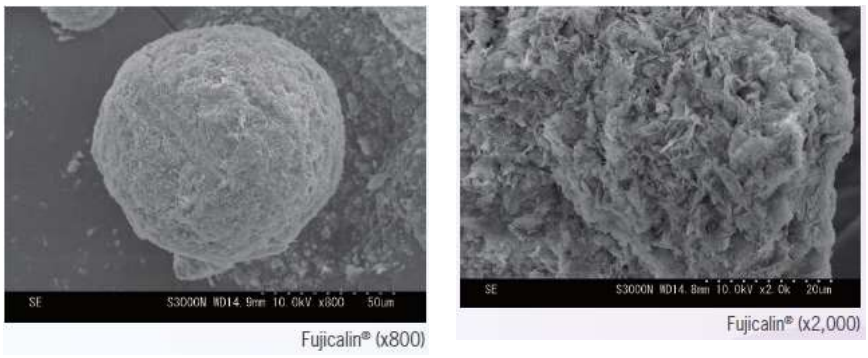
Dibazik kalsiyum fosfat (Fujicalin®)

Fujicalin®, doğrudan sıkıştırma yardımcı maddesi olarak işlev görmek üzere tasarlanmış susuz dibazik kalsiyum fosfattır. Hızlı parçalanma özelliğini korurken, iyi akış ve sıkıştırma özelliklerine sahiptir. Patentli üretim prosesi, yüksek spesifik yüzey alanına sahip gözenekli küreler şeklinde üretilmektedir. Fujicalin ® tamamen sentetiktir ve özellikle yağlı etkin madde içeren sıkıştırılması zor malzemelerin doğrudan sıkıştırma formülasyonları için tasarlanmıştır. Akışa yardımcı olmak, tablet ağırlık varyasyonunu azaltmak ve içerik tekdüzeliğini artırmak için kullanılabilir (72).

Fujicalin kimyasal formülü: $CaHPO_4$

- Fujicalin®, tabletlerin doğrudan sıkıştırılması için sentetik, serbest akışlı, küresel olarak granüle edilmiş Dibazik Kalsiyum Fosfat Susuzdur.
- Fujicalin®'in patentli üretim süreci, geleneksel Dibazik Kalsiyum Fosfat eksipiyanlarından %20 ila %70 daha yüksek, yüksek spesifik yüzey alanına sahip gözenekli küreler sağlar.
- Fujicalin® ortalama 120 μm partikül boyutuna sahiptir. Granüller oldukça kararlıdır ve daha yüksek gerilme mukavemetine sahip tabletlere kompaktır.
- Fujicalin®'in pürüzsüz ve küresel granülleri, tabletleme makinelerinde daha az aşındırıcıdır ve bu da sorunsuz operasyonlara yol açar.
- Fujicalin®'in gözenekliliği ve son derece yüksek spesifik yüzey alanı, formülatörlerin yağlı etkin maddelerin oral dozaj formlarını geliştirmelerine olanak tanır.
- Sıvı katı sistem için ideal bir yardımcı maddedir.
- Fujicalin®'in susuz doğası çok düşük kristalizasyon suyuyla sonuçlanır ve böylece hidrolize edilebilir ilaçlar için ideal seçimdir.
- Fujicalin® düşük sıkıştırmada yeterince sert tabletler yapar kuvvetler ve ek olarak, diğer dolgu ve bağlayıcıların sertliğini artırır.
- Probiyotik preparatların tabletlerini üretmek için ideal bir yardımcı maddedir.
- Fujicalin® yüksek sıkıştırma kuvvetlerinde gözenekliliği korur ve geniş sıkıştırma aralığında düşük gevreklik gösterir.
- Fujicalin®, Kendiliğinden Emülsifiye İlaç Dağıtım Sistemi (SEDDS) ve Hot Melt Ekstrüzyonu (HME) dahil katı dispersiyon için bir taşıyıcı olarak idealdir.
- Fujicalin®, hem ilaç hem de gıda uygulamaları için uygundur (72).

Fujicalin® elektron mikroskopi görünümü Şekil 6'da verilmiştir (72).



Şekil 6. Fujicalin® elektron mikroskop görünümü

Fujicalin® genel özellikleri Tablo 7'de verilmiştir (72).

Tablo 7. Fujicalin® genel özellikleri

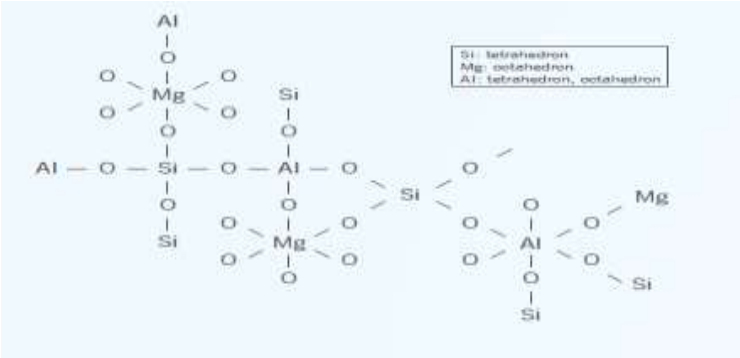
Özellikler		**Fujicalin ®**
Görünüm		Beyaz kristal toz
Çözünürlük		Eter, etanol ve suda çözünmez
Ortalama partikül boyutu (µm)		120
Yığın yoğunluğu (g/ml)	**Bulk**	0,46
	Sıkıştırılmış	0,54
Sıkıştırılabilirlik indeksi		15,1
Yığın açısı (°)		29,5
Carr indeks değeri		86,5
BET yüzey alanı (m^2/g)		40
Yağ adsorpsiyon kapasitesi (ml/g)		1,1
Su adsorpsiyon kapasitesi (ml/g)		1,2
Kurutma kaybı değeri		0,5
Akış		Mükemmel
Su aktivitesi		0,11

Aliminometasilikat (Neusilin®)

Neusilin®, sentetik, amorf magnezyum aluminometasilikat formdadır. Katı dozaj formlarının hem doğrudan sıkıştırılmasında hemde ıslak granülasyonunda kullanılabilien çok işlevli bir yardımcı maddedir. Neusilin®, diğer alüminyum silikatların aksine sulu çözeltilerle jel oluşturmaz. Neusilin®, UFL2, US2, S1 ve S2 gibi kalitelerde bulunmaktadır (73).

Neusilin® kimyasal yapısı: $Al_2O_3 \cdot MgO \cdot 1{,}7SiO_2 \cdot xH_2O$

Neusilin® kimyasal yapısı Şekil 7'de verilmiştir (73).

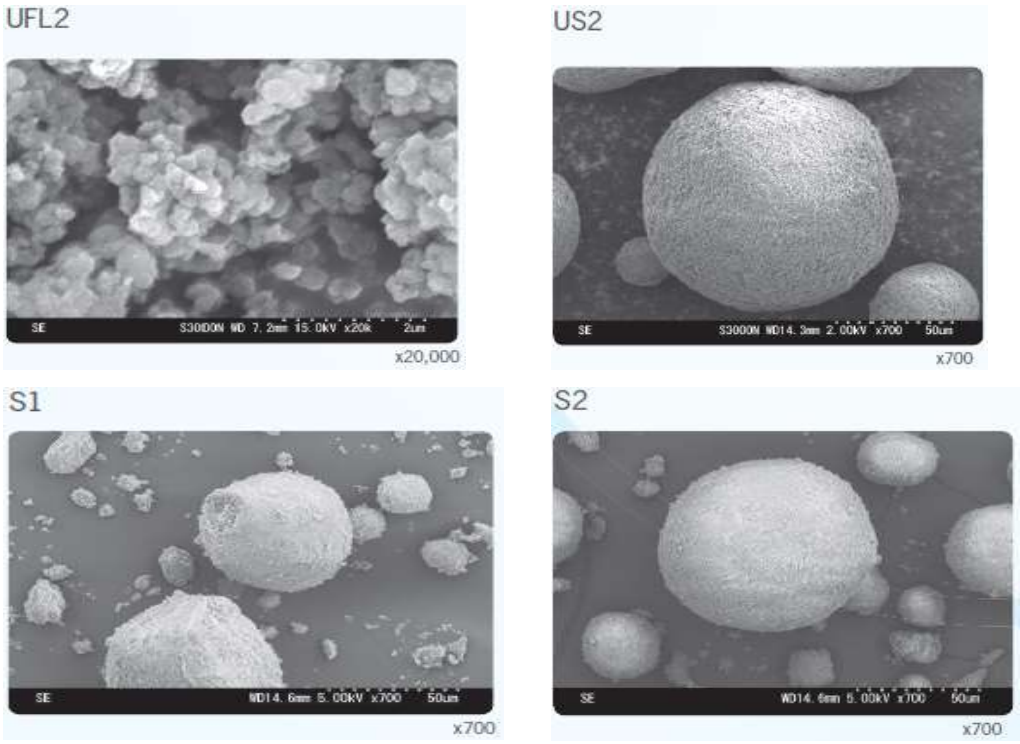


Şekil 7. Neusilin ® kimyasal yapısı

- Neusilin®, ince toz veya granül formunda Magnezyum Alüminometasilikattır.
- Neusilin® ampirik bir $Al_2O_3 \cdot MgO \cdot 1{,}7SiO_2 \cdot xH_2O$ formülüyle temsil edilir.
- Neusilin® şekilsizdir, çok geniş spesifik yüzey alanına sahiptir ve yüksek yağ ve su adsorpsiyon kapasitesine sahiptir.
- Neusilin®, düşük sıkıştırma kuvvetinde sert tabletler yapılmasını sağlayan sıkıştırılabilirlik bakımından üstündür. Aynı zamanda diğer dolgu maddelerinin ve düşük konsantrasyonlu bağlayıcıların sertliğini de artırabilir.
- Neusilin® ile birlikte kullanılması, neme duyarlı ve lipofilik özellik gösteren etkin maddeleri stabilize edilmesine yardımcı olur.
- Neusilin® ısıya karşı dayanıklıdır ve uzun raf ömrüne sahiptir.
- Neusilin® çeşitli kalitelerde mevcuttur. Kaliteler kütle yoğunlukları, su içerikleri, partikül büyüklüğü ve pH bakımından farklılık gösterir.

- Neusilin®, kendi kendine mikro emülsifiye edici ilaç verme sistemi (SMEDDS) ve Hot-Melt Ekstrüzyonu yoluyla katı dispersiyon için mükemmel bir taşıyıcıdır (73).

Neusilin® farklı kalitelerinin elektron mikroskopi görüntüleri Şekil 8'de verilmiştir (73).



Şekil 8. Neusilin® farklı kalitelerinin elektron mikroskop görünümü

Neusilin® farklı kalitelerinin genel özellikleri Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. Neusilin® genel özellikleri

Özellikler		Alkali		Nötr	
		S1	**S2**	**UFL2**	**US2**
Görünüm		Beyaz granül	Beyaz granül	Beyaz toz	Beyaz granül
Çözünürlük		Etanol ve suda çözünmez			
Beyazlık derecesi (%)		>95	>95	>95	>95
Kurutma kaybı (%) 110 °C, 7saat		13-20	<5	<7	<7
Yığın yoğunluğu (g/ml)	**Bulk**	0,30-0,37	0,29-0,37	0,06-0,11	0,13-0,18
	Sıkıştırılmış	0,36-0,43	0,34-0,42	0,10-0,17	0,16-0,22
Gerçek özgül ağırlık		2,0	2,2	2,2	2,2
BET yüzey alanı (m^2/g)		110	110	300	300
Ortalama partikül boyutu (µm)		112	115	3,1	106
Yığın açısı (°)		30	30	45	30
Yağ adsorpsiyon kapasitesi (ml/g)		1,3	1,4	2,7-3,4	2,7-3,4
Su adsorpsiyon kapasitesi (ml/g)		1,0	1,2	2,4-3,1	2,4-3,1
Asit tüketkim kapasitesi (ml/g)		≥210	≥210	≥210	≥210
pH (%4 sulu çözelti)		8,5-10,0	8,5-10,0	6,0-8,0	6,0-8,0

GEREÇ VE YÖNTEMLER

KULLANILAN ARAÇ ve GEREÇLER

Kimyasallar malzemeler;

- %85 Fosforik Asit (Merck KGaA, Almanya)
- Aliminometasilikat (Neusilin®)
- Asetonitril (J.T. Baker, ABD)
- Dibazik kalsiyum fosfat (Fujicalin®)
- Dietilen Glikol Monoetil Eter (Transcutol) (Gattefosse, Fransa)
- Dötere Kloroform (Sigma Aldrich, ABD)
- Etil Alkol Susuz (Merck KGaA, Almanya)
- Gliserol Monolinoleat (Maisine 35-1) (Gattefosse, Fransa)
- Kaprilkaproil Makrogol-8 Gliserid (Labrasol) (Gattefosse, Fransa)
- Makrogolgliserol Hidroksistearat (Kollipor RH 40) (BASF, Almanya)
- PEG 300(BASF, Almanya)
- Propilen Glikol (BASF, Almanya)
- Sert jelatin kapsül No.00 (Capsugel, Belçika)
- Sert jelatin kapsül No.03 (Capsugel, Belçika)
- Siklosporin A (Zhejiang Ruibang, Çin Halk Cumhuriyeti)
- Ter-butil metil eter (Acros, ABD)

Araç ve gereçler;

- Çoklu Manyetik Karıştırıcı (Jeiotech, Güney Kore)
- Çözünme Hızı Cihazı (708-DS) (Agilent Technologies, Almanya)
- Dağılma Tayin Cihazı (Erweka, Almanya)
- Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) (DSC-60, Shimadzu, Japonya)
- Erime Noktası Tayin Cihazı (Mettler Toledo, ABD)
- Fourier Transformed Infrared (FT-IR) (Shimadzu Corporation, Japonya)
- Granülatör Cihazı (High Shear Granulator Collette) (GEA Pharma, Belçika)
- Hassas Terazi (Mettler Toledo, İsviçre)
- Kırılma İndisi Tayin Cihazı (P8000T) (AKRÜSS Optronic, Almanya)
- Manyetik Karıştırıcı (Heidolph, Almanya)
- Mekanik Karıştırıcı (Hei-TORQUE 100) (Heidolph, Almanya)
- Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) (Varian 300 MHz, ABD)
- ODS HYPERSIL, 250 x 4,6 x 3 μm (Thermo Scientific, USA)
- pH Tayin Cihazı (Mettler Toledo, ABD)
- Su Miktarı Tayin Cihazı (901 Titrando) (Metrohm, İsviçre)
- Taramalı elektron mikroskobu (Zeiss EVO® LS10, Almanya)
- Tirbüdimetre (HACH, ABD)
- Toz Akış Tayin Cihazı (GT) (Erweka, Almanya)
- Toz Yoğunluk Tayin Cihazı (Erweka, Almanya)
- Ultrasonik Banyo (Jeiotech, Güney Kore)
- Viskozite Ölçüm Cihazı (DV II + Pro EXTRA, LV) (Brookfield, ABD)
- X-Işını Difraktometresi (Lab X XRD-6100) (Shimadzu Corporation, Japonya)
- Yoğunluk Tayin Cihazı (DMA 4100M) (Anton Paar, Avusturya)
- Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) (Shimadzu Corporation, Japonya)
- Zeta Boyut ve Potansiyel Ölçüm Cihazı (Nano-ZS) (Malvern Panalytical, ABD)

Bilgisayar programları;

- Microsoft Office Excel
- Microsoft Office Word

ETKİN MADDE MİKTAR TAYİNİ VE ANALİTİK YÖNTEM VALİDASYONU

Siklosporin etkin maddesinin miktar tayini analizleri USP monografında yer alan siklosporin etkin maddesinin miktar tayini yöntemi modifiye edilerek geliştirilen HPLC yöntemi ile yapılmıştır (15). Geliştirilen HPLC yönteminin validasyon parametrelerinden seçicilik, doğrusallık, çalışma aralığı, doğruluk, sistem kesinliği ve kesinlik tekrarlanabilirlik parametreleri çalışılmıştır (74). Validasyon parametre bilgileri ve geliştirilen HPLC yöntemi detayları aşağıda verilmiştir.

Siklosporin Miktar Tayini Analizi ve Çözünme Hızı Miktar Tayini Analizi

Kromotografik şartlar:

Cihaz **:** UV dedektörlü veya değştirilebilir dalga boylu UV dedektörlü HPLC sistemi

Kolon **:** Thermo Hypersil ODS 250mm x 4,0mm x 3,0µm

Kolon Sıcaklığı **:** 80°C ± 5°C

Akış Hızı **:** 1,3mL/dk

Dalga Boyu **:** 210nm

Enjeksiyon Hacmi **:** 5µL

Analiz Süresi **:** 10dk

Numune Sıcaklığı **:** 25°C

Çözünme hızı ortam koşulları:

Çözünme Hızı Ortamı **:** Su

Çözünme hacmi **:** 500mL

Sıcaklık **:** 37°C ± 0,5°C

Hız **:** 75rpm

Aparat **:** Palet, sinker

Süre **:** 60dakika

Çözeltilerin hazırlanması:

Mobil Faz: Su: Asetonitril: ter-bütil metil eter: %85 H_3PO_4, 280:670:50:1,2, (v/v/v/v) oranlarında karıştırılmıştır ve degaze edilmiştir.

Çözücü: Su: Asetonitril, 50:50, (v/v) oranlarında karıştırılmıştır ve degaze edilmiştir.

Stok standart-1 çözeltisinin hazırlanması: Yaklaşık 25mg siklosporin çalışma standardı 100mL'lik balon jojeye tartılmıştır, üzerine 60mL çözünü eklenmiştir, 5dk ultrasonik banyoda çözünmesi sağlanmıştır. Hacmine çözücü ile tamamlanmıştır. Siklosporin Konsantrasyonu: 0,25mg/mL ($C_{siklosporin}$: 0,25mg/mL)

Standart-1 çözeltisinin hazırlanması: Stok standart çözelsitinden 4,0mL alınarak 20mL'lik balon jojeye aktarılmıştır ve hacmine çözücü ile tamamlanmıştır. ($C_{siklosporin}$: 0,05mg/mL)

Stok standart-2 çözeltisinin hazırlanması: Yaklaşık 25mg siklosporin çalışma standardı 100mL'lik balon jojeye tartılmıştır, üzerine 60mL çözünü eklenmiştir, 5dk ultrasonik banyoda çözünmesi sağlanmıştır. Hacmine çözücü ile tamamlanmıştır. ($C_{siklosporin}$: 0,25mg/mL)

Standart-2 çözeltisinin hazırlanması: Stok standart çözelsitinden 4,0mL alınarak 20mL'lik balon jojeye aktarılmıştır ve hacmine çözücü ile tamamlanmıştır. ($C_{siklosporin}$: 0,05mg/mL)

Kendiliğinden emülsifiye olabilen çözelti (F3) numunesinin hazırlanması: Yaklaşık 25mg çözelti 100 mL'ik balon jojeye tartılmıştır, üzerine 60 mL çözelti eklenmiştir, 5dk ultrasonik banyoda turulmuş ve çözünü ile hacmine tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltiden 4,0mL alınarak 20mL'lik balon jojeye aktarılmıştır ve hacmine çözücü ile tamamlanmıştır. RC filtreden süzülerek HPLC vialine alınmıştır. ($C_{siklosporin}$: 0,05mg/mL)

Kendiliğinden emülsifiye olabilen katı dozaj (F8) numunesinin hazırlanması: Yaklaşık 375mg toz numunesi 10mL'lik balon jojeye tartılmıştır üzerine 60mL çözelti eklenmiştir, 5dk ultrasonik banyoda turulmuştur ve çözünü ile hacmine tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltiden 4,0mL alınarak 20mL'lik balon jojeye aktarılmıştır ve hacmine çözücü ile tamamlanmıştır. RC filtreden süzülerek HPLC vialine alınmıştır. ($C_{siklosporin}$: 0,05mg/mL)

Kendiliğinden emülsifiye olabilen katı dozaj (F9) numunesinin hazırlanması: Yaklaşık 750mg toz numunesi 100mL'lik balon jojeye tartılmıştır üzerine 60mL çözelti eklenmiştir, 5dk ultrasonik banyoda turulmuştur ve çözünü ile hacmine tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltiden 4,0mL alınarak 20mL'lik balon jojeye aktarılmıştır ve hacmine çözücü ile tamamlanmıştır. RC filtreden süzülerek HPLC vialine alınmıştır. ($C_{siklosporin}$: 0,05mg/mL)

Kendiliğinden emülsifiye olabilen çözelti (F3) plasebo numunesinin hazırlanması: Yaklaşık 225mg çözelti 100mL'lik balon jojeye tartılmıştır üzerine 60mL çözelti eklenmiştir, 5dk ultrasonik banyoda turulmuştur ve çözünü ile hacmine tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltiden 4,0mL alınarak 20mL'lik balon jojeye aktarılmıştır ve hacmine çözücü ile tamamlanmıştır. RC filtreden süzülerek HPLC vialine alınmıştır.

Kendiliğinden emülsifiye olabilen katı dozaj (F8) plasebo numunesinin hazırlanması: Yaklaşık 350mg toz numunesi 100mL'lik balon jojeye tartılmıştır üzerine 60mL çözelti eklenmiştir, 5dk ultrasonik banyoda turulmuştur ve çözünü ile hacmine tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltiden 4,0mL alınarak 20mL'lik balon jojeye aktarılmıştır ve hacmine çözücü ile tamamlanmıştır. RC filtreden süzülerek HPLC vialine alınmıştır.

Kendiliğinden emülsifiye olabilen katı dozaj (F9) plasebo numunesinin hazırlanması: Yaklaşık 725mg toz numunesi 100mL'lik balon jojeye tartılmıştır üzerine 60mL çözelti eklenmiştir, 5dk ultrasonik banyoda turulmuştur ve çözünü ile hacmine tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltiden 4,0mL alınarak 20mL'lik balon jojeye aktarılmıştır ve hacmine çözücü ile tamamlanmıştır. RC filtreden süzülerek HPLC vialine alınmıştır.

Çözünme hızı numunesinin hazırlanması: 6 adet çözünme hızı beherlerinin her birine 500mL çözünme ortamı (Su) ölçülü olarak koyuldu ve 37 ± 0,5°C ısıtılmıştır. Her bir beher içerisine 1'er kapsül atılmıştır ve 75rpm'de çözünme hızı analizi başlatılmıştır. Belirlenen süreler sonunda alınan 4mL numune RC filtreden süzülerek viale alınmıştır.

Yöntem:

-Standart çözelti 1, 6 kez enjeksiyon yapılmıştır.

-Standart çözelti 2, 2 kez enjeksiyon yapılmıştır.

-Miktar tayini için hazırlanan her bir numune çözeltisinden 2 kez enjeksiyon yapılmıştır.

-Çözünme hızı miktar tayini numune çözeltisinden 1 kez enjeksiyon yapılmıştır.

Sistem Uygunluk:

-Standart çözelti 1'in 6 kez enjeksiyonundan elde edilen alanların %RSD ≤ %2,0 olmalıdır.

-Siklosporin pikinin kuyruklanma faktörü ≤ %2,0 olmalıdır.

-Siklosporin pikinin teorik plaka sayısı en az 2000 olmalıdır.

-Standart çözelti 1 ile uyumu %98,0 - %102,0 arasında olmalıdır.

Hesaplama:

F3 için miktar tayini hesabı:

$$\%\ \text{Miktar Tayini} = \frac{\text{An}}{\text{As}} \times \frac{\text{Ws}}{100} \times \frac{\text{P}}{100} \times \frac{4}{20} \times \frac{100}{\text{Wn}} \times \frac{20}{4} \times \frac{\text{Wort}}{25} \times 100$$

An: Numune çözeltisi kromatogramından elde edilen siklosporin pik alanı

As: Standart çözeltisi kromatogramından elde edilen siklosporin pik alanı

Ws: Siklosporin çalışma stardartı tartımı (mg)

P: Siklosporin çalışma standartının potensi

Wn: Numune tartımı (mg)

Wort: Teorik numune ağırlığı (250mg)

F8 için miktar tayini hesabı:

$$\%\ \text{Miktar Tayini} = \frac{\text{An}}{\text{As}} \times \frac{\text{Ws}}{100} \times \frac{\text{P}}{100} \times \frac{4}{20} \times \frac{100}{\text{Wn}} \times \frac{20}{4} \times \frac{\text{Wort}}{25} \times 100$$

An: Numune çözeltisi kromatogramından elde edilen siklosporin pik alanı

As: Standart çözeltisi kromatogramından elde edilen siklosporin pik alanı

Ws: Siklosporin çalışma stardartı tartımı (mg)

P: Siklosporin çalışma standartının potensi

Wn: Numune tartımı (mg)

Wort: Teorik numune ağırlığı (375mg)

F9 için miktar tayini hesabı:

$$\%\ \text{Miktar Tayini} = \frac{\text{An}}{\text{As}} \times \frac{\text{Ws}}{100} \times \frac{\text{P}}{100} \times \frac{4}{20} \times \frac{100}{\text{Wn}} \times \frac{20}{4} \times \frac{\text{Wort}}{25} \times 100$$

An: Numune çözeltisi kromatogramından elde edilen siklosporin pik alanı

As: Standart çözeltisi kromatogramından elde edilen siklosporin pik alanı

Ws: Siklosporin çalışma stardartı tartımı (mg)

P: Siklosporin çalışma standartının potensi

Wn: Numune tartımı (mg)

Wort: Teorik numune ağırlığı (750mg)

Çözünme hızı miktar tayini hesabı:

$$\%\ \text{Miktar Tayini} = \frac{\text{An}}{\text{As}} \times \frac{\text{Ws}}{100} \times \frac{\text{P}}{100} \times \frac{4}{20} \times \frac{500}{\text{L}} \times 100$$

An: Numune çözeltisi kromatogramından elde edilen siklosporin pik alanı

As: Standart çözeltisi kromatogramından elde edilen siklosporin pik alanı

Ws: Siklosporin çalışma stardartı tartımı (mg)

P: Siklosporin çalışma standartının potensi

L: Bir kapsülde bulunan siklosporin miktarı (25mg)

Validasyon Çalışması Parametreleri

Seçicilik

Seçicilik parametresi için çözücü, plasebo çözeltileri, standart ve numune çözelti hazırlanıp analiz edilmiştir.

Standart ve numune çözeltisi kromatogramlarında siklosporin pikinin alıkonmazamanında çözücü ve plasebodan gelen herhangi bir pik olmamalıdır.

Siklosporinpiki kapasite faktörü (k´) en az 2,0 olmalıdır.

Siklosporin pikinin kuyruklanma faktörü ≤ %2,0 olmalıdır.

Siklosporin pikinin teorik plaka sayısı en az 2000 olmalıdır.

$$k' = \frac{\text{Siklosporin pik alıkonma zamanı} - \text{Kolon ölü hacminin alıkonma zamanı}}{\text{Kolon ölü hacminin alıkonma zamanı}}$$

Doğrusallık

Hazırlanan stok standart çözeltisinden 6 farklı seyreltme yapılarak standart konsantrasyonunun %20, %50, %80, %100, %120, %150 konsantrasyonuna gelecek şekilde standart çözeltileri hazırlanmıştır. Her bir standart çözeltisinden 2 kez enjeksiyon ve %20, %100 ve %120 standart çözeltilerinden 6 kez enjeksiyon yapılmıştır.

Korelasyon kat sayısı (R^2) 0,997'den az olmamalıdır.

Kesim noktası%100 konsantrasyona karşılık gelen alanın %2' sinden fazla olmamalıdır.

$$\text{Kesim Noktası} = \frac{y - \text{Kesim Noktası}}{\%100 \text{ Seviye Siklosporin Pik Alanı}} \text{ x } 100$$

Çalışma Aralığı

Doğrusallık için hazırlanan %20 ve %150 standart çözeltilerinin 6 enjeksiyonu değerlendirilmiştir.

Elde edilen siklosporin pik alanlarının rölatif standart sapma değeri (%RSD) %2' den fazla olmamalıdır.

Doğruluk

Siklosporin içermeyen plasebo içerisine siklosporin etkin madde miktarının %80, %100 ve %120 seviyelerinde etkin madde ilave edilerek çözeltiler numune hazırlığında anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Her seviyeden 3 adet numune hazırlanmıştır ve yöntemde belirtildiği gibi enjeksiyonlar yapılmıştır. Aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır.

$$\text{Doğruluk} = \frac{A}{B} \text{x } 100$$

A = Teorik numune konsantrasyonu (mg/mL)

B = Deneysel numune konsantrasyonu (mg/mL)

Her bir geri kazanım % 98,0 - % 102,0 arasında olmalıdır.

Sistem Kesinliği

Standart çözeltisinden 6 enjeksiyonundan elde edilen siklosporin pik alanlarının rölatif standart sapma değeri (%RSD) %2,0' den fazla olmamalıdır.

Standart sapma (SD), %95 güven aralığı raporlandı.

Pik performans parametreleri raporlanır.

Güven aralığı=$\chi \pm t_{n-1} \times \frac{s}{\sqrt{n}}$

χ : Ortalama değer

n : Hesaplanacak data sayısı

s : Standart sapma

t_{n-1} : Güven aralığı katsayısı % 95

n : 6

t_{n-1} : 2,57

Kesinlik Tekrarlanabilirlik

Numune hazırlıklarına göre 6 adet numune çözeltisi hazırlanmıştır. Metotda belirtildiği gibi standart çözeltiye göre % miktar tayinleri hesaplanmıştır.

Miktar tayini numuneleri için 6 numuneden elde edilen miktar tayin sonuçları arasındaki rölatif standart sapma değeri (%RSD) %2' den fazla olmamalıdır.

Çözünme hızı miktar tayini numuneleri için 6 numuneden elde edilen miktar tayin sonuçları arasındaki rölatif standart sapma değeri (%RSD) %5' den fazla olmamalıdır.

Standart sapma (SD), %95 güven aralığı raporlanır.

SİKLOSPORİN ETKİN MADDESİNİN KARAKTERİZASYONU

Çalışmada kullanılan siklosporin etkin maddesinin karakterizasyon çalışmalarında, Görünüş analizi, Infred Spektroskopisi analizi, Erime Noktası analizi Diferansiyel Tarama Kalorimetri analizi, Nükleer Manyetik Rezonans analizi, X-Işınımı Kırınımı analizi, Su Miktarı analizi ve Miktar Tayini analizleri yapılarak karakterizasyon çalışmaları tamamlanmıştır. Yapılan analiz çalışmalarına ait detaylar aşağıda verilmiştir.

Siklosporin Görünüş Analizi

Siklosporin etkin maddesinin görünüş testi görsel olarak değerlendirilmiştir.

Siklosporin Infrared Spektroskopisi Analizi

Siklosporin etkin maddesisi FT-IR cihazında 4000 – 600 cm^{-1} aralığında taranıp pik verdiği dalga boyları belirlenmiş, IR spekturumu çizilmiştir (75).

Siklosporin Erime Noktası Analizi

Siklosporin etkin maddesi erime cihazının kapilerlerine 3 farklı numune doldurulmuş ve erime noktası belirlenmiştir.

Siklosporin Diferansiyel Tarama Kalorimetri Analizi

Siklosporin etkin maddesinin Diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC) ile termogramları elde edilmiştir. Yaklaşık 2mg-5mg tartılan numune kapaklı alüminyum pan içine konularak preslenerek kapatılması sağlanmıştır. Maddenin DSC termogramı azot gazı geçirilerek 50°C ile 250°C sıcaklık aralığında 10°C/dk sıcaklık artışı hızında ölçülerek elde edilmiştir (76).

Siklosporin Nükleer Manyetik Rezonans Analizi

Siklosporin etkin maddesinin hidrojen ^{1}H ve karbon^{13}C değerlendirmesi nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR) ile yapılmıştır. Çözücü olarak dötere kloroform ($CDCl_3$) kullanılmıştır (76).

Siklosporin X-Işınımı Kırınım Analizi

Siklosporin etkin maddesinin X-ışınımı kırınım analizi 40 kV voltaj, 30 mA akım şiddeti, 2Θ: 3-40° aralığında, 0,02°/dk tarama hızında yapılmış veXRD difraktogramı elde edilmiştir (77).

Siklosporin Su Miktarı Analizi

Siklosporin etkin maddesinin su miktarı Karl Fisher cihazı ile belirlenmiştir. Yaklaşık 200mg numune Karl Fisher cihazının numune kabına koyularak su miktarı analizi yapılmıştır. 3 faklı numune hazırlanmıştır.

Siklosporin Miktar Tayini Analizi

Siklosporin etkin madde miktar tayini analizi HPLC yöntemi ile yapılmıştır. Metot bilgileri validasyon bölümünde verilmiştir.

KATI DOZAJ FORMU İÇİN KULLANILAN YARDIMCI MADDELERİN KARAKTERİZASYONU

Çalışmada kullanılan katı dozaj formu elde etmek için kullanılan Neusilin® ve Fujicalin® yardımcı malzemelerin karakterizasyon çalışmlarında, Görünüş analizi, Infred Spektroskopisi analizi, X-Işınımı Kırınım analizi, Su Miktarı analizleri yapılarak karakterizasyon çalışmaları tamamlanmıştır. Yapılan analiz çalışmalarına ait detaylar aşağıda verilmiştir.

Neusilin® ve Fujicalin® Görünüş Analizi

Neusilin® ve Fujicalin®yardımcı maddelerinin görünüş testi görsel olarak değerlendirilmiştir.

Neusilin® ve Fujicalin® Infrared Spektroskopisi Analizi

Neusilin® ve Fujicalin® yardımcı maddeleri FT-IR cihazında 4000 – 600 cm^{-1} aralığında taranıp pik verdiği dalga boyları belirlenmiş, IR spekturumları çizilmiştir (75).

Neusilin® ve Fujicalin® X-Işınımı Kırınım Analizi

Neusilin® ve Fujicalin® yardımcı maddelerinin X-ışınımı kırınım analizi 40kV voltaj, 30mA akım şiddeti, 2Ɵ:3-40° aralığında, 0,02°/dk tarama hızında yapılmıştır (77).

Neusilin® ve Fujicalin® Su Miktarı Analizi

Neusilin® ve Fujicalin® yardımcı maddelerinin su miktarı Karl Fisher cihazı ile belirlenmiştir. Yaklaşık 200mg numune Karl Fisher cihazının numune kabına koyularak su miktarı analizleri yapılmıştır. 3 farklı numune hazırlanmıştır.

SİKLOSPORİN ÇÖZÜNÜRLÜK ÇALIŞMASI

Siklosporin etkin maddesinin farklı ortamlarda çözünürlük çalışması yapılmıştır. Çalışmada ortam olarak Su, 0,1N HCl, pH:4,5 Asetat Tampon ve pH:6,8 Fosfat Tampon çözeltileri kullanılmıştır. Katı dozaj formu için kullanılan Neusilin® ve Fujicalin® ortamlara ilave edilerek çözünürlüğe etkisi incelenmiştir.

Beherler içerisine ortamlardan 150mL çözünme ortamları alınmıştır ve üzerlerine aşırı miktarda etkin madde ve katı dozaj formları için kullanılan yardımcı maddeler ilave edilerek manyetik karıştırıcıda 24 saat karışmaları sağlanmıştır. Süre sonunda 0,2µm RC filtreden süzülmüştür. Süzülen çözeltiden 1,5mL alınıp 5,0mL'ye miktar tayini yöntemindeki çözücü kullanılarak seyreltilmiştir. Miktar tayini HPLC yöntemi ile çözünürlükleri belirlenmiştir. Çözünme ortamlarının hazırlanması aşağıda verilmiştir.

0,1N HCl: 8,5mL HCl 1000mL'ye su ile seyreltilmiştir.

pH 4,5 Asetat Tamponu: 77,1gr Amonyum Asetat ve 70mL Asetik Asit 1000mL'ye su ile seyreltilmiştir (70).

pH:6,8 Fosfat Tamponu: 6,9gr Sodyum Dihidrojen Fosfat ve 0,9gr Sodyum Hidroksit 800mL' ye seyreltilir pH kontrol edilir gerekirse Fosforik asit ve 2N Sodyum Hidroksit çözeltisi ile ayarlanır 1000mL'ye su ile tamamlanır (78).

Çözünürlük çalışması programı Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Siklosporin çözünürlük çalışması programı

	Su	0,1N HCl	pH:4,5 Asetat Tampon	pH:6,8 Fosfat Tampon
Siklosporin	+	+	+	+
Siklosporin Neusilin®	+	+	+	+
Siklosporin Fujicalin®	+	+	+	+

KENDİLİĞİNDEN EMÜLSİFİYE OLABİLEN SİSTEM ÖN FORMÜLASYON ÇALIŞMALARI VE KARAKTERİZASYONU

Julia ve ark. (79) kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem hazırlamasında çözücü ve yüzey etkin madde ve yardımcı yüzey etkin maddelerini karıştırarak elde etmişlerdir.

Elde edilen kendiliğinden emülsifiye olabilen çözelti su ile karıştırıldığında kendiliğinden emülsifiye olabildiğinden mikroemülsiyon oluşturmaktadır (41).

Çalışmada kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemin ön formülasyon çalışmalarında etkin madde (Siklosporin) kullanılmadan yardımcı maddeler homojen çözelti oluşturmak için

Tablo 10'da belirtilen oranlarda sırasıyla çözücü ve yüzey etkin madde manyetik karıştırıcı yardımı ile 750rpm'de 45°C ± 5°C'ye ısıtıldı ve 10dk karıştırılmıştır. Isıtıcı kapatıldıktan sonra yardımcı yüzey etkin madde ilavesi yapıldı ve 750rpm'de 15dk karıştırıldı.

Tablo 10. Kendiliğinden emülsifiye olabilen plasebo çözelti formülasyon oranları

Fonksiyon	Madde Adı	P1 (gr)	P2 (gr)	P3 (gr)	P4 (gr)	P5 (gr)	P6 (gr)
Etkin Madde	Siklosporin	-	-	-	-	-	-
Yüzey Etkin Madde	Makrogolgliserol Hidroksistearat (Kollipor RH 40®)	20	20	20	20	20	20
Çözücü Yağ Fazı	Gliserol Monolinoleat (Maisine 35-1®)	15	15	15	-	-	-
	Kaprilkaproil Makrogol-8 Gliserid (Labrasol®)	-	-	-	15	15	15
Yardımcı Yüzey Etkin Madde	Propilen Glikol	5	5	5	5	5	5
	Etil Alkol Susuz	5	-	-	5	-	-
	Dietilen Glikol Monoetil Eter (Transcutol®)	-	5	-	-	5	-
	PEG 300	-	-	5	-	-	5
Toplam		45	45	45	45	45	45

Literatürde kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem için yağ fazı %20-%80, yüzey aktif madde %20-%50 ve yardımcı yüzey etkin madde %0-%50 aralığından kullanılabileceği görülmüştür (80). Julia ve ark. (79). Makrogolgliserol Hidroksistearat oranını %20-%40 oranında kullandıkları görülmektedir. Plasebo çözelti formülasyon hazırlıklarında yüzey etkin madde olarak Makrogolgliserol Hidroksistearat kullanılmıştır. Çözücü yağ fazı olarak P1, P2 ve P3 için Gliserol Monolinoleat, P3, P4 ve P5 için Kaprilkaproil Makrogol-8 Gliserid kullanılmıştır. Yardımcı yüzey etkin madde olarak; P1 için Propilen Glikol ve Etil Alkol susuz, P2 için Propilen Glikol ve Dietilen Glikol Monoetil Eter, P3 için Propilen Glikol ve PEG 300, P4 için Propilen Glikol ve Etil Alkol susuz, P5 için Propilen Glikol ve Dietilen Glikol Monoetil Eter, P6 için Propilen Glikol ve PEG 300 kullanılarak hazırlanmıştır.

Plasebo Çözeltiler Emülsiyon Olabilme ve Kararlılık Durum Analizi

Hazırlanan plasebo formülsyon çözeltileri oda sıcaklığına getirildikten sonra yaklaşık 500mg alınıp 20mL'ye su ile seyreltilip emülsiyon oluşturma durumları görsel olarak incelenmiştir. Emülsiyon oluşturan plasebo formülasyonları 15 gün bekletilerek emülsiyon durumlarının takibi yapılmıştır.

KENDİLİĞİNDEN EMÜLSİFİYE OLABİLEN SİSTEM FORMÜLASYON ÇALIŞMALARI VE KARAKTERİZASYONU

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem ön formülasyon çalışmaları sonrasında emülsiyon oluşturan tüm formülasyonlara etkin made yüklemesi yapılmıştır. Siklosporin içeren preparatlardan Neoral yumuşak kapsül ürününün alt dozu olan 25 mg etkin maddesinin yükleme çalışması yapılmıştır (65).

Tablo 11'de belirtilen oranlarda sırasıyla çözücü ve yüzey etkin madde karıştıcı yardımı ile 750rpm'de 45°C ± 5°C'ye ısıtılmıştır. Siklosporin etkin maddesi ilave edilmiş çözünmesi için 750rpm 45°C ± 5°C'de 30dk karıştırılmıştır. Isıtıcı kapatıldıktan sonra yardımcı yüzey etkin madde ilavesi yapılmış ve 750rpm'de 15dk karıştırılmıştır.

Tablo 11. Etkin madde içeren kendiliğinden emülsifiye olabilen çözelti formülasyon oranları

Fonksiyon	Madde Adı	F1 (gr)	F2 (gr)	F3 (gr)	F4 (gr)	F5 (gr)	F6 (gr)
Etkin Madde	Siklosporin	25	25	25	25	25	25
Yüzey Etkin Madde	Makrogolgliserol Hidroksistearat (Kollipor RH 40®)	100	100	100	100	100	100
Çözücü Yağ Fazı	Gliserol Monolinoleat (Maisine 35-1®)	75	75	75	-	-	-
	Kaprilkaproil Makrogol-8 Gliserid (Labrasol®)	-	-	-	75	75	75
Yardımcı Yüzey Etkin Madde	Propilen Glikol	25	25	25	25	25	25
	Etil Alkol Susuz	25	-	-	25	-	-
	Dietilen Glikol Monoetil Eter (Transcutol®)	-	25	-	-	25	-
	PEG 300	-	-	25	-	-	25
Toplam		250	250	250	250	250	250

Etkin madde içeren Kendiliğinden emülsifiye olabilen çözelti formülasyon çalışmalarındaetkin madde olarak Siklosporin kullanılmıştır. Yüzey etkin madde olarak Makrogolgliserol Hidroksistearat kullanılmıştır. Çözücü yağ fazı olarak F1, F2 ve F3 için Gliserol Monolinoleat, F3, F4 ve F6 için Kaprilkaproil Makrogol-8 Gliserid kullanılmıştır. Yardımcı yüzey etkin madde olarak; F1 için Propilen Glikol ve Etil Alkol susuz, F2 için Propilen Glikol ve Dietilen Glikol Monoetil Eter, F3 için Propilen Glikol ve PEG 300, F4 için Propilen Glikol ve Etil Alkol susuz, F5 için Propilen Glikol ve Dietilen Glikol Monoetil Eter, F6 için Propilen Glikol ve PEG 300 kullanılarak hazırlanmıştır.

Etkin Madde İçeren Formülasyonların Emülsiyon Olabilme ve Kararlılık Durum Analizi

Hazırlanan etkin madde içeren kendiliğinden emülsifiye olabilen çözelti formülasyonları oda sıcaklığına getirildikten sonra yaklaşık 500mg alınıp 20mL'ye su ile seyreltilip emülsiyon oluşturma durumları görsel olarak incelenmiştir. Emülsiyon oluşturan formülasyonlar 15 gün bekletilerek emülsiyon durumlarının takibi yapılmıştır.

Hazırlanan formülasyonlar için daha sonrasında katı dozaj formuna dönüştürmek için kullanılacağından F1 formülasyonun içersinde bulunan Etil Alkol susuz sistem içersinden buharlaşma ihtimali düşünülmüştür. F2 ve F3 formülasyonlarında yardımcı yüzey aktif madde olarak kullanılan dietilen glikol monoetil eter ve PEG 300 için FDA tarafından onaylanmış yardımcı maddelere bakıldığında PEG300 birçok ürün formunda kullanıldığı görülmüştür (81). PEG300 içeren F3 formülasyonu ile katı dozaj formu çalışmalarının yapılmasına karar verilmiştir.

Kendiliğinden emülsifiye olabilen çözelti F3 formülasyonu için; Görünüş analizi, Yoğunluk analizi, pH analizi, Infrared Spektroskopisi analizi, Kırılma İndisi analizi, Su Miktarı analizi, Viskozite analizi, Tirbüdimetri analizi, Partikül Boyutu ve Polidispersite Değer analizi, Zetapotansiyel analizi, Miktar Tayini analizi ve Çözünme Hızı Miktar Tayini analizleri yapılarak karakterizasyon çalışmaları tamamlanmıştır. Yapılan çalışmalara ait detaylar aşağıda verilmiştir.

F3 Görünüş Analizi

Kendiliğinden emülsifiye olabilen F3 formülasyonu için görünüş analizi görsel olarak değerlendiriliştir.

F3 Yoğunluk Analizi

Kendiliğinden emülsifiye olabilen F3 formülasyonu için yoğunluk analizi, yoğunluk cihazı ile 20°C'de ölçülmüştür.

F3 pH Analizi

Kendiliğinden emülsifiye olabilen F3 formülasyonuyaklaşık 0,5gr alınmış ve 50mL'ye su ile seyreltilmiştir. Seyreltilen çözeltinin pH değeri pH metre kullanılarak ölçülmüştür.

F3 Infrared Spektroskopisi Analizi

Kendiliğinden emülsifiye olabilen F3 formülasyonu FT-IR cihazında 4000 – 600 cm^{-1} aralığında taranıp pik verdiği dalga boyları belirlenmiş, IR spekturumu çizilmiştir (75).

F3 Kırılma İndisi Analizi

Kendiliğinden emülsifiye olabilen F3 formülasyonu için 3 farklı numune hazırlığı yapılarak suya karşı kırılma indisi cihazı kullanılarak yapılmıştır. Hazırlanan numune çözeltileri aşağıda verilmiştir.

Numune 1: F3 formülasyonundan 0,5gr alındı ve 50mL su ile seyreltilmiştir.

Numune 2: F3 formülasyonundan 1,0gr alındı ve 50mL su ile seyreltilmiştir.

Numune 3: F3 formülasyonundan 1,5gr alındı ve 50mL su ile seyreltilmiştir.

F3 Su Miktarı Analizi

Kendiliğinden emülsifiye olabilen F3 formülasyonu içinsu miktarı analizi Karl Fisher cihazı ile yapılmıştır. Yaklaşık 200mg numune Karl Fisher cihazının numune kabına koyularak su miktarı belirlenmiştir. 3 farklı numune hazırlanmıştır.

F3 Viskozite Analizi

Kendiliğinden emülsifiye olabilen F3 formülasyonu için viskozite değeri; S62 spindel, 10rpm ve 25°C sıcaklıkta viskozimetre cihazı ile ölçülmüştür (50).

F3 Tirbüdimetri Analizi

Kendiliğinden emülsifiye olabilen F3 formülasyonu için tirbüdimetri analizi 3 farklı numune hazırlanılarak belirlendi. Hazırlanan çözeltiler tirbüdimetri cihazının ölçüm kabına

doldurulmuştur ve tirbüdimetri cihazı ile ölçümler gerçekleştirilmiştir (50). Hazırlanan numune çözeltileri aşağıda verilmiştir.

Numune 1: F3 formülasyonundan 0,5gr alındı ve 50mL su ile seyreltilmiştir.

Numune 2: F3 formülasyonundan 1,0gr alındı ve 50mL su ile seyreltilmiştir.

Numune 3: F3 formülasyonundan 1,5gr alındı ve 50mL su ile seyreltilmiştir.

F3 Partikül Boyutu ve Polidispersite Değer Analizi

Kendiliğinden emülsifiye olabilen F3 formülasyonusu ile farklı oranlarda seyreltilerek hazırlanan numunelerin partikül boyutu ve polidispersite indeksi sonuçlarızetasizer cihazı ile elde edilmiştir (82). Hazırlanan numune çözeltileri aşağıda verilmiştir.

Numune 1: F3 formülasyonundan 1,0mL alındı ve 50mL su ile seyreltilmiştir.

Numune 2: F3 formülasyonundan 1,0mL alındı ve 100mL su ile seyreltilmiştir.

Numune 3: F3 formülasyonundan 1,0mL alındı ve 250mL su ile seyreltilmiştir.

Numune 4: F3 formülasyonundan 1,0mL alındı ve 500mL su ile seyreltilmiştir.

Numune 5: F3 formülasyonundan 1,0mL alındı ve 1000mL su ile seyreltilmiştir.

F3 Zetapotansiyel Analizi

Kendiliğinden emülsifiye olabilen F3 formülasyonu 1,0mL alındı ve 100mL'ye su ile seyreltilmiştirve zetapotansiyel ölçüm cihazı ile elde edilmiştir (82).

F3 Miktar Tayini Analizi

Kendiliğinden emülsifiye olabilen F3 formülasyonu için miktar tayini analizi HPLC yöntemi ile yapılmıştır. Metot bilgileri validasyon bölümünde verilmiştir.

F3 Çözünme Hızı Miktar Tayini Analizi

Kendiliğinden emülsifiye olabilen F3 formülasyonu için miktar tayini analizi HPLC yöntemi ile yapılmıştır. Metot bilgileri validasyon bölümünde verilmiştir.

KENDİLİĞİNDEN EMÜLSİFİYE OLABİLEN SİSTEMİN KATI DOZAJ FORMÜLASYON ÇALIŞMALARIVE KARAKTERİZASYONU

Kendiliğinden emülsifiye olabilen F3 çözelti formülasyonu katı dozaj formuna dönüştürülmesi sırasında çözeltinin adsorbsiyonunu sağlayacak yardımcı malzeme olarak

Magnezyum Aliminometasilikat (Neusilin US2®) ve Dibazik Kalsiyum Fosfat (Fujicalin®) kullanılmıştır. Neusilin® için yağ adorbsiyon kapasitesi 2,7-3,4mL/gr, Fujicalin® için yağ adsorbsiyon kapasitesi 1,1mL/gr olarak verilmiştir ve çalışmada adsorbsiyon kapasitelerine sahip olduğundan kullanmaya karar verilmiştir (72,73). Tablo 12'de belirtilen oranlarda yardımcı maddelerin üzerine yağlı maddenin adsorbe olması sağlanmıştır.

Kendiliğinden emülsifiye olabilen (F3 formülasyonu) sistem hazırlanmıştır. Tablo 12'de belirtilen oranlarda yüksek kesmeli granülatör cihazı kullanılarak homojen karışım elde etmek için 250rpm hızında homojen oluncaya kadar 15dk karıştırılmıştır ve oluşabilecek topakların ayrışması için 500µm el eleğinden elenmiştir. Akışkanlığı uygun olan formülasyonlar kapsül içerisine doldurularak dozlanması sağlanmıştır.

Yüksek kesmeli granülatör cihazının görsel görünümü Şekil 9'da verilmiştir.



Şekil 9. Yüksek kesmeli granülatör cihazının görsel görünümü

Tablo 12. Kendiliğinden emülsifiye olabilen katı dozaj formu formülasyon oranları

Fonksiyon	Madde Adı	F7 (gr)	F8 (gr)	F9 (gr)	F10 (gr)
Etkin Madde	Siklosporin	25	25	25	25
Yüzey Etkin Madde	Makrogolgliserol Hidroksistearat (Kollipor RH 40)	100	100	100	100
Çözücü Yağ Fazı	Gliserol Monolinoleat (Maisine 35-1)	75	75	75	75
Yardımcı Yüzey Etkin Madde	Propilen Glikol	25	25	25	25
	PEG 300	25	25	25	25
Adsorban Madde	Magnezyum Aliminometasilikat (Neusilin® US2)	85	125	-	-
	Dibazik Kalsiyum Fosfat (Fujicalin®)	-	-	500	250
Toplam		335	375	750	500

Kendiliğinden emülsifiye olabilen çözelti F3 formülasyonu hazırlandıktan sonra çözeltisnin adsorpsiyonun sağlanması için F7 ve F8 formülasyonlarında Magnezyum Aliminometasilikat (Neusilin US2), F9 ve F10 formülasyonlarında Dibazik Kalsiyum Fosfat (Fujicalin) kullanılmıştır. F8 ve F9 formülasyonlarına göre F7 ve F10 formülasyonlarında yağ adorbsiyon kapasitesi en üst düzeyde olacak şekilde yükleme yapıldığında elde edilen kuru tozun yağlı hissiyat veren ve akış özelliğinin düşük olduğu gözlenmiştir ve çalışmalara F8 ve F9 formülasyonları ile ilerlemeye karar verilmiştir. F8 ve F9 formülasyonlarının size 00 kapsül içerisine doldurularak dozlanması sağlanmıştır.

F8 formülasyonu kapsül içerisine 375mg ± %3 olacak şekilde doldurulmuştur.

F9 formülasyonu kapsül içerisine 750mg ± %5 olacak şekilde doldurulmuştur.

Katı dozaj formu elde edilen F8 ve F9 formülasyonları için; Görünüş analizi, Su Miktarı analizi, pH analizi, Infrared Spektroskopisi analizi, Bulk Yoğunluk analizi, Sıkıştırılmış Yoğunluk analizi, Yığın Açısı analizi, Akış Hızı analizi, SEM Görüntüleme analizi, Dağılma Zamanı analizi, Miktar Tayini analizi ve Çözünme Hızı Miktar Tayini analizleri yapılarak karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Yapılan çalışmalara ait detaylar aşağıda verilmiştir.

F8 ve F9 Görünüş Analizi

Katı dozaj formu elde edilen F8 ve F9 formülasyonları görünüş analizi görsel olarak değerlendirilmiştir.

F8 ve F9 Su Miktarı Analizi

Katı dozaj formu elde edilen F8 ve F9 formülasyonları için su miktarı analizi Karl Fisher cihazı ile yapılmıştır. Yaklaşık 200mg numune Karl Fisher cihazının numune kabına koyularak su miktarı belirlenmiştir. 3 farklı numune hazırlanmıştır.

F8 ve F9 pH Analizi

Katı dozaj formu elde edilen F8 ve F9 formülasyonları için yaklaşık 0,5gr alınmıştır ve 50mL 'ye su ile seyreltilmiştir. Seyreltilen çözeltinin pH sonuçları pH metre kullanılarak ölçülmüştür.

F8 ve F9 Infrared Spektroskopisi Analizi

Katı dozaj formu elde edilen F8 ve F9 formülasyonları için FT-IR cihazında 4000-600cm^{-1} aralığında taranıp pik verdiği dalga boyları belirlenmiştir, IR spekturumu çizilmiştir (75).

F8 ve F9 Bulk Yoğunluk Analizi

Katı dozaj formu elde edilen F8 ve F9 formülasyonları için toz karışımı mezür içerisine serbest akış ile bırakılmıştır ve ağırlık ve hacmi belirlenmiştir. Aşağıdaki formül ile bulk yoğunluk değeri hesaplamiştir (83).

$$\text{Bulk Yoğunluk } (\frac{\text{g}}{\text{mL}}) = \frac{\text{Tozun ağırlığı (g)}}{\text{Görünür hacim (mL)}}$$

F8 ve F9 Sıkıştırılmış Yoğunluk Analizi

Katı dozaj formu elde edilen F8 ve F9 formülasyonları için toz karışımı mezür içerisine serbest akış ile bırakılmıştır ve ağırlık ve hacmi belirlenmiştir. Vuruş dansite cihazı ile 500 vuruş yapıldı hacim değeri kaydedildi sonrasında 750 vuruş daha yapılarak iki hacim arasındaki fark %2'den fazla ise 1250 vuruş yapılarak hacimler belirlenmiştir. Aşağıdaki formül ile yoğunluk değerleri hesaplanmıştır (83).

$$\text{Sıkıştırılmış Yoğunluk } (\frac{\text{g}}{\text{mL}}) = \frac{\text{Tozun ağırlığı (g)}}{\text{Vuruş sonrası okunan hacim (mL)}}$$

Bulk yoğunluk ve Sıkıştırılmış yoğunluk değerleri ile Housner Oranı ve Carr İndeks değerleri belirlenmiştir.

Housner oranı ve Carr indeksi, görünür ve vuruş dansite değerleri kullanılarak aşağıdaki formüller yardımıyla hesaplanmıştır (83). Kabul kriterleri sonuçları Tablo 13'de verilmiştir.

$$\text{Housner Oranı} = \frac{\text{Sıkıştırılmış Yoğunluk}}{\text{Bulk Yoğunluk}}$$

$$\text{Carr İndeksi} = \frac{(\text{Sıkıştırılmış Yoğunluk} - \text{Bulk Yoğunluk})}{\text{Sıkıştırılmış Yoğunluk}}\ x\ 100$$

Tablo 13. Carr indeksi ve Housner oranının kabul kriterleri

Carr İndeksi	Akış Özelliği	Hausner Oranı
≤ 10	Mükemmel	1,00 – 1,11
11 - 15	İyi	1,12 – 1,18
16 - 20	Serbest	1,19 – 1,25
21 - 25	Geçebilir	1,26 – 1,34
26 - 31	Zayıf	1,35 – 1,45
32 - 37	Çok Zayıf	1,46 – 1,59
> 38	Çok Çok Zayıf	> 1,60

F8 ve F9 Yığın Açısı Analizi

Katı dozaj formu elde edilen F8 ve F9 formülasyonları için yığın açısı cihazı ile belirlenmiştir. Hazırlanan toz karışımları cihazın hunisine 10mm nozzle ve karıştırıcı 2 kademede kullanılarak yapılmıştır (83).

Tozun akış özelliği ile yığın açısının bağlantısı Tablo 14'te verilmiştir.

Tablo 14. Akış özellikleri ile ilgili yığın açıları

Akış Özelliği	Yığın Açısı (°)
Mükemmel	25 – 30
İyi	31 – 35
Serbest (İyileştirmeye ihtiyaç yok)	36 – 40
Geçebilir (Asılı kalabilir)	41 – 45
Zayıf (Karıştırılmalı, titreştirilmeli)	46 – 55
Çok Zayıf	56 – 65
Çok Çok Zayıf	> 66

F8 ve F9 Akış Hızı Analizi

Katı dozaj formu elde edilen F8 ve F9 formülasyonları için akış hızı cihazı ile belirlenmiştir. Hazırlanan toz karışımları cihazın hunisine 10mm nozzle ve karıştırıcı 2 kademede kullanılarak yapılmıştır.

F8 ve F9 SEM Görüntüleme Analizi

Katı formları elde edilen F8 ve F9 formülasyonlarının yüzey morfolojisini incelemek için numuneler plakalara koyularak 20 kV hızlandırma voltajında, x1000 ile yüzey görüntüleri alınmıştır (82).

F8 ve F9 Dağılma Zamanı Analizi

Katı dozaj formu elde edilen F8 ve F9 formülasyonları için kapsül dolumu sonrası elde edilen kapsüller dağılma cihazı kullanılarak dağılma zamanları belirlenmiştir.

F8 ve F9 Miktar Tayini Analizi

Katı dozaj formu elde edilen F8 ve F9 formülasyonları için miktar tayini analizi HPLC yöntemi ile yapılmıştır. Metot bilgileri validasyon bölümünde verilmiştir.

F8 ve F9 Çözünme Hızı Miktar Tayini Analizi

Katı dozaj formu elde edilen F8 ve F9 formülasyonları için miktar tayini analizi HPLC yöntemi ile yapılmıştır. Metot bilgileri validasyon bölümünde verilmiştir.

STABİLİTE ÇALIŞMALARI

Katı dozaj formları elde edilen F8 ve F9 formülasyon bitmiş ürünlerinin stabilitelerini değerlendirmek amacıyla 3 ay boyunca 25 ± 2°C ve %60± 5 ve 40 ± 2°C ve %75 ± 5 bağıl nem koşulunda hazırlanan kapsüller yüksek yoğunluklu HDPE şişe ve desikant ile stabilite kabinlerinde tutulmuştur. Süre sonunda Görünüş analizi, Su Miktarı analizi, Infrared Spektroskopisi analizi, Dağılma Zamanı analizi, Miktar Tayini analizi, Çözünme Hızı Miktar Tayini analizleri yapılmıştır.

Kendiliğinden Emülsifiye Olabilen Sistemin Katı Dozaj Formülasyon Çalışmaları başlık altında bulunan analiz yöntemleri kullanılarak yapılmıştır.

İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME

Farklı formülasyonlardan elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi ile istatistiksel anlamlılık (ANOVA) olarak değerlendirilmiştir ve Excel ile hesaplatılmıştır. Karar olasılığı; $p>0,05$ önemli fark yoktur, $p\leq0,05$ önemli fark vardır, $p\leq0,01$ çok önemli fark vardır, $p\leq0,001$ ileri düzeyde önemli fark vardır anlamına gelmektedir. Üç ve daha fazla sonuçlar için standart sapma (SD) verileri verilmiştir (84).

BULGULAR

ETKİN MADDE MİKTAR TAYİNİ VE ANALİTİK YÖNTEM VALİDASYONU

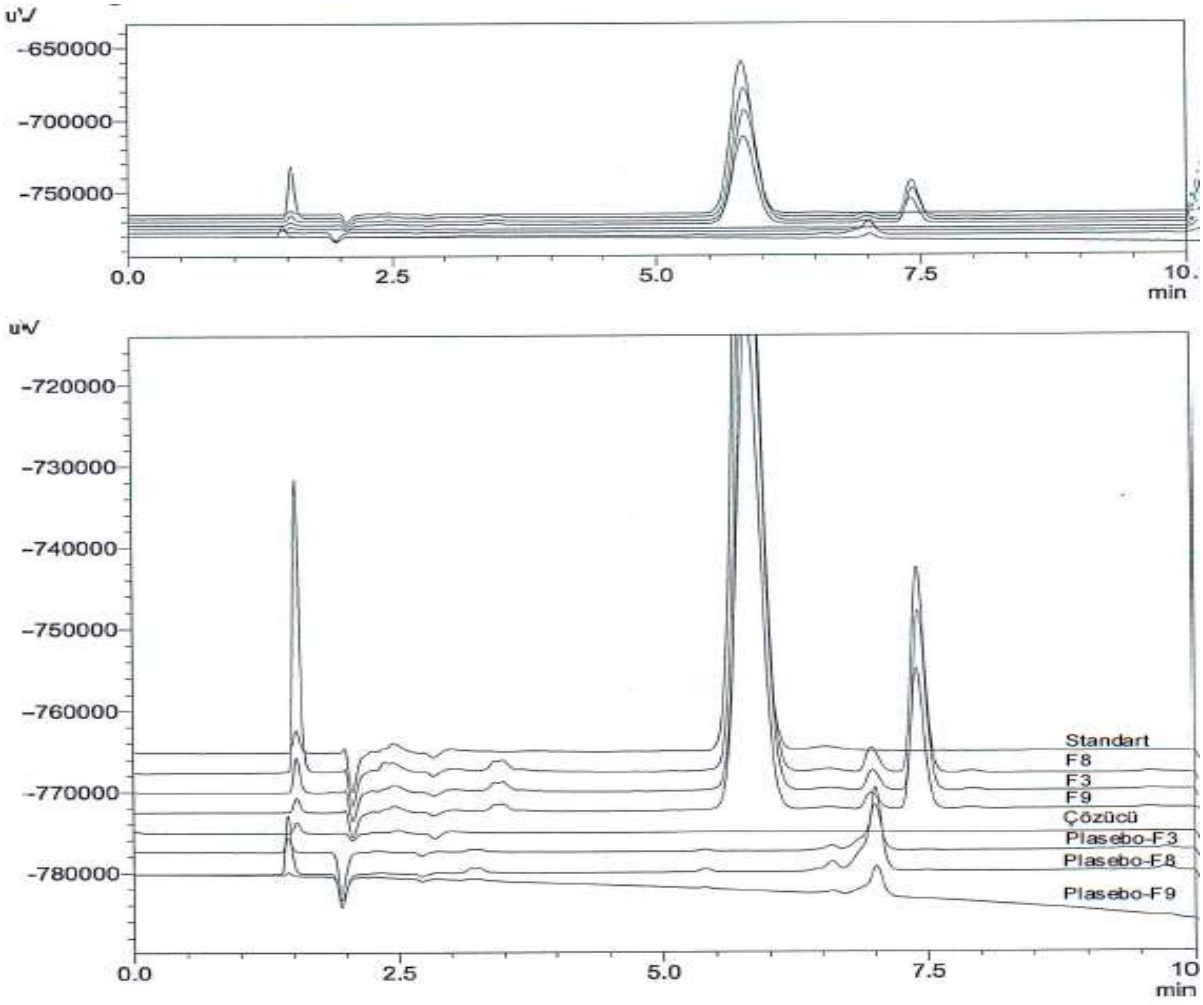
Seçicilik

Seçicilik parametresi için HPLC sistemine; çözücü, plasebo çözeltileri, standart ve numune çözeltileri hazırlanıp enjekte edilmiştir. Sonuçlar Tablo 15'de verilmiştir. Hazırlanan çözeltilerin kromatogramları çakıştırılarak Şekil 11'da verilmiştir.

Siklosporinin alıkonma zamanında, çözücü, plasebo çözeltilerinden herhangi bir pik gözlenmemiştir. Kapasite faktörü 2,6 olarak bulunmuştur bu durumda siklosporin pikinin kolonda tutunduğunu göstermektedir. Kuyruklanma faktörü 1,0 olarak bulunmuştur. Teorik plaka sayısı 2000'den büyük olarak bulunmuştur.

Tablo 15. Seçicilik sonuçları

Numune	Alıkonma Zamanı (dk)	Kapasite Faktörü (k´)	Kuyruklanma Faktörü	Teorik Plaka Sayısı
Çözücü	-	-	-	
Plasebo F3	-	-	-	-
Plasebo F8	-	-	-	-
Plasebo F9	-	-	-	-
Standart	5,40	2,6	1,0	2688
Numune F3	5,40	2,6	1,0	2634
Numune F8	5,40	2,6	1,0	2695
Numune F9	5,40	2,6	1,0	2688



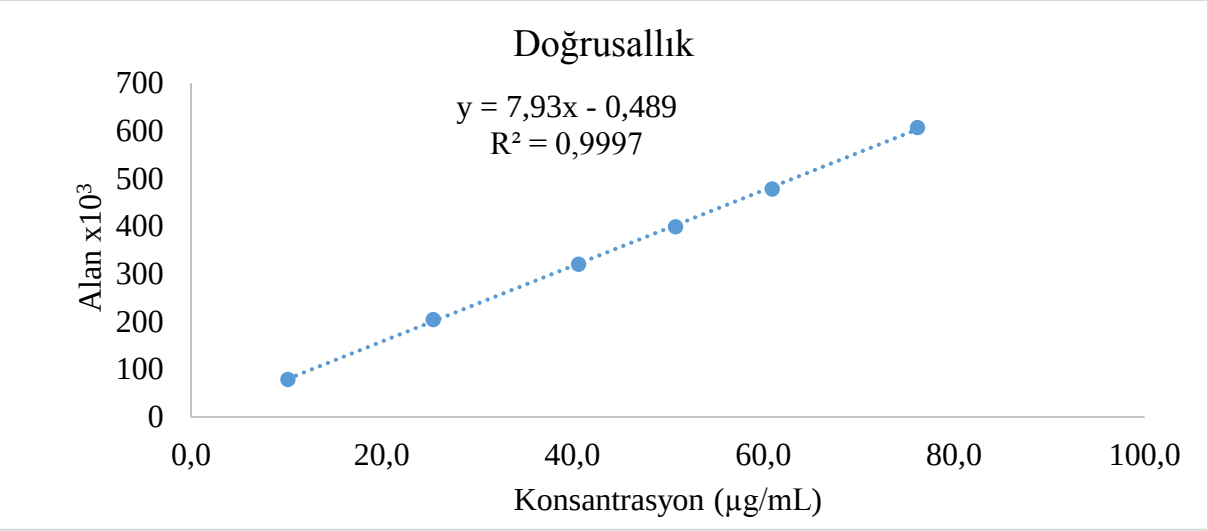
Şekil 10. Seçicilik parametresi ile elde edilen sonuçların çakıştırılmış kromatogramları

Doğrusallık

Hazırlanan stok standart çözeltisinden konsantrasyonu 10-75 µL/mL aralığında 6 farklı düzeyde standart çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin alt ve üst seviyelerinden 6 kez ve ara seviyelerden 2 kez enjeksiyon yapılmıştır. Doğrusallık sonuçları Tablo 16'de verilmiştir. Regrasyon analizi yardımı ile kalibrasyon doğruları çizilmiştir ve doğrusallık grafişi Şekil 11'de verilmiştir. y=7,93x-0,489 doğru denklemi elde edilmiştir. Korelasyon katsayısı (R^2):0,997 ve y-kesim noksası %0,12 olarak bulunmuştur.

Tablo 16. Doğrusallık sonuçları

Standart Çözelti No	Seviye (%)	Hazırlanan Çözelti Konsantrasyonu (µg/mL)	Alan ±SD	Hesaplanan Alan
1	20	10,16	79375 0 ±184,8	80053
2	50	25,40	204819 ±2,0	200868
3	80	40,64	320895 ±177,0	321683
4	100	50,80	399518 ±1219,4	402226
5	120	60,96	478893 ±131,5	482770
6	150	76,20	607685 ±454,4	603584



Şekil 11. Doğrusallık grafiği

Çalışma Aralığı

Doğrusallık için hazırlanan %20 ve %150 seviye standart çözeltilerinin 6 enjeksiyonu değerlendirilmiş Tablo 17'de verilmiştir elde edilen alanların tekrarlanabilir sonuçları %2'den küçük bulunmuştur.

Tablo 17. Çalışma aralığı sonuçları

	Pik Alanı	
Enjeksiyon Sayısı	**%20**	**%150**
1	79566	607639
2	79451	607938
3	79358	606945
4	79462	608456
5	78985	607594
6	79426	607535
ORTALAMA	**79375**	**607685**
SD	184,8	454,4
% RSD	**0,2**	**0,1**

Doğruluk

Siklosporin içermeyen plasebo içerisine siklosporin etkin madde miktarının %80, %100 ve %120 seviyelerinde etkin madde ilave edilerek çözeltiler numune hazırlığında anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Her seviyeden 3 adet numune hazırlanmıştır ve yöntemde belirtildiği gibi enjeksiyonlar yapılmıştır. Doruluk sonuçları Tablo 18'de verilmiştir. Her bir doğruluk sonuçları %98-%102 arasında bulunmuştur.

Tablo 18. Doğruluk sonuçları

Seviye (%)	Teorik Konsantrasyon (mg/mL)	Deneysel Konsantrasyon (mg/mL)	Geri Kazanım (%)	Ortalama (%) ±SD
80	0,0401	0,0406	101,2	**101,0 ±0,31**
	0,0404	0,0406	100,5	
	0,0403	0,0408	101,2	
100	0,0498	0,0501	100,6	**100,3 ±0,35**
	0,0497	0,0500	100,6	
	0,0505	0,0504	99,8	
120	0,0610	0,0611	100,2	**100,2 ±0,12**
	0,0609	0,0611	100,3	
	0,0613	0,0614	100,2	
			Ortalama	**100,5**
			SD	0,3
			%RSD	0,3

Sistem Kesinliği

Standart çözeltisinden 6 enjeksiyonundan elde edilen siklosporin pik alanları değerlendirilmiştir. % RSD, SD, %95 Güven aralığı ve pik performans parametreleri Tablo 19'da verilmiştir.

Tablo 19. Sistem kesinliği sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	Pik Alanı	Teorik Plaka Sayısı	Kuyruklanma Faktörü
1	398903	2691	1,0
2	399526	2694	1,0
3	397516	2689	1,0
4	400156	2688	1,0
5	399456	2684	1,0
6	401549	2681	1,0
ORTALAMA	**399518**	**2688**	**1,0**
SD	1219,4	4,3	0,0
% RSD	**0,3**	**0,2**	**0,0**
%95Güven Aralığı	**399518 ±1279,4**		

Kesinlik Tekrarlanabilirlik

Numune hazırlıklarına göre 6 adet numune çözeltisi hazırlandı. Metotda belirtildiği gibi standart çözeltiye göre % miktar tayinleri hesaplanmıştır ve sonuçlar Tablo 20'de verilmiştir.

Tablo 20. Kesinlik tekrarlanabilirlik sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	F3 Miktar Tayini (%)	F8 Miktar Tayini (%)	F9 Miktar Tayini (%)	F8 Dissolüsyon (%)	F9 Dissolüsyon (%)
1	99,5	100,5	100,7	92,2	100,3
2	98,9	100,8	100,3	92,3	100,7
3	99,7	100,4	100,4	92,4	99,8
4	98,8	100,0	99,5	91,0	100,2
5	99,2	99,5	100,5	90,4	100,9
6	100,4	100,1	100,3	93,9	99,5
ORTALAMA	**99,4**	**100,2**	**100,3**	**92,0**	**100,2**
SD	0,6	0,4	0,4	1,1	0,5
% RSD	**0,6**	**0,4**	**0,4**	**1,2**	**0,5**
%95Güven Aralığı	**99,4 ±0,6**	**100,2 ±0,4**	**100,3 ±0,4**	**92,0 ±1,2**	**100,2 ±0,5**

SİKLOSPORİN ETKİN MADDESİNİN KARAKTERİZASYONU

Siklosporin Görünüş Analizi

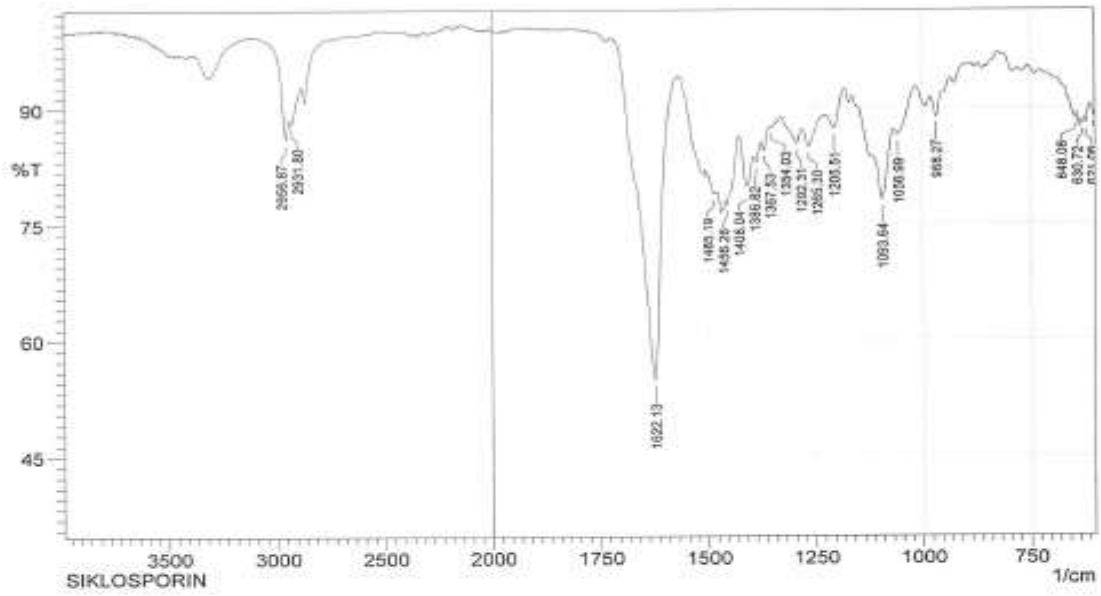
Siklosporin etkin maddesi beyaz beyazımzı toz olarak gözlenmiştir. Şekil 12'de verilmiştir.



Şekil 12. Siklosporin etkin maddesinin görsel görünümü

Siklosporin Infrared Spektroskopisi Analizi

Siklosporin etkin maddesinin FT-IR spektrumu Şekil 13'de verilmiştir. Spekturumda görülen pikler etkin maddenin yapısında bulunan fonksiyonel grupları, bağların durumunu, bağlanma yerlerini ve yapının aromatik ya da alifatik olup olmadığı görülmektedir. Vittorio ve ark. (75) yapmış olduğu çalışma ile kıyaslandığında elde edilen piklerin dalga boylarının benzer olduğu saptanmıştır. Yapı üzerinde bulunan CH_3 grup 1456cm^{-1}, CH_2 grup 1408cm^{-1}, C=O yapısı 1622cm^{-1}, C-N yapısı 1096cm^{-1}, C-N yapısı 3300cm^{-1} dalga boylarında verdiği görülmektedir.



	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	601.79	88.859	0.808	609.51	599.86	0.458	0.01
2	621.08	87.874	1.085	623.01	611.43	0.57	0.022
3	630.72	87.897	0.625	634.58	624.94	0.525	0.016
4	648.06	88.568	1.128	661.58	644.22	0.836	0.053
5	968.27	88.815	2.746	979.84	956.69	1.035	0.152
6	1056.99	86.43	1.814	1068.64	1018.41	2.454	0.245
7	1093.64	78.088	7.467	1120.64	1068.56	4.408	0.873
8	1205.51	87.34	3.128	1222.87	1182.36	2	0.301
9	1265.3	84.978	2.735	1276.81	1230.58	2.926	0.281
10	1292.31	85.306	2.322	1328.95	1280.73	2.947	0.267
11	1354.03	87.428	0.164	1355.96	1330.88	1.391	0.025
12	1367.53	84.538	1.633	1373.32	1357.89	1.02	0.051
13	1386.82	82.931	1.403	1392.61	1375.25	1.305	0.06
14	1408.04	79.732	5.121	1425.4	1394.53	2.647	0.457
15	1456.26	77.485	1.029	1458.18	1427.32	2.765	0.169
16	1485.19	78.853	0.662	1490.97	1481.33	0.984	0.024
17	1622.13	54.871	40.919	1718.58	1571.99	14.64	12.382
18	2931.8	88.018	1.369	2941.44	2889.37	2.323	0.138
19	2956.87	86.016	3.668	3074.53	2943.37	2.981	0.315

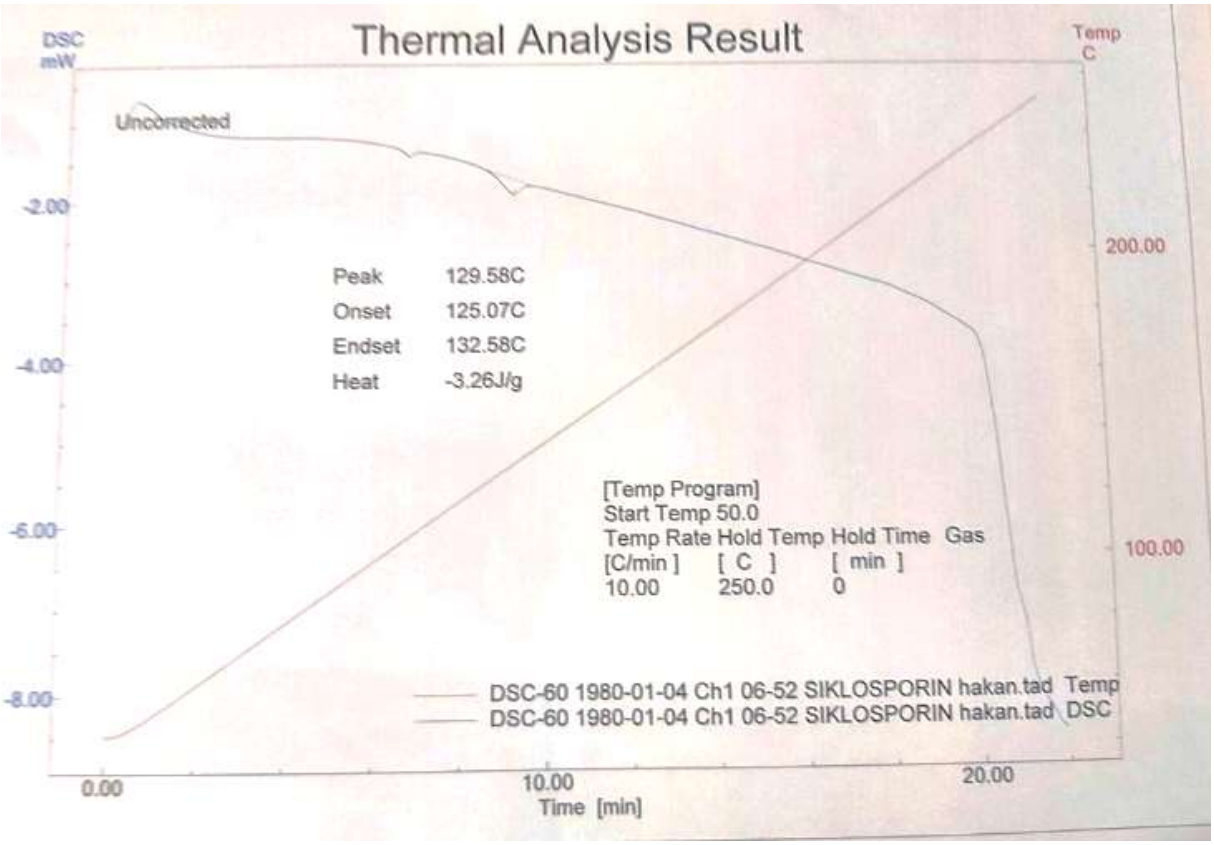
Şekil 13. Siklosporin etkin maddesinin FT-IR spekturumu

Siklosporin Erime Noktası Analizi

Siklosporin etkin maddesinin erime noktası sonuçları Numune-1 148,1°C, Numune-2 150,5°C, Numune-3 148,6°C ve ortalama 149,1°C ±1,03 olarak saptanmıştır.

Siklosporin Diferansiyel Tarama Kalorimetri Analizi

Siklosporin etkin maddesinin DSC termogramı Şekil 14'de verilmiştir. Ke ve ark. (76) tarafından yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında form 2 ile benzer olduğu saptanmıştır.

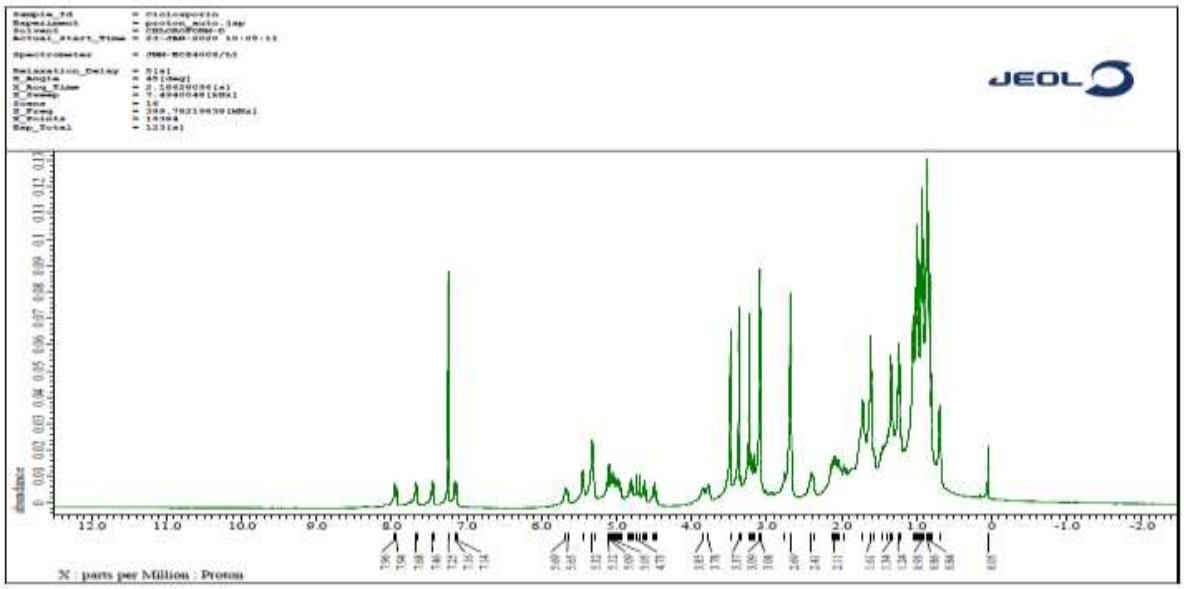


Şekil 14. Siklosporin etkin maddesinin DSC termogramı

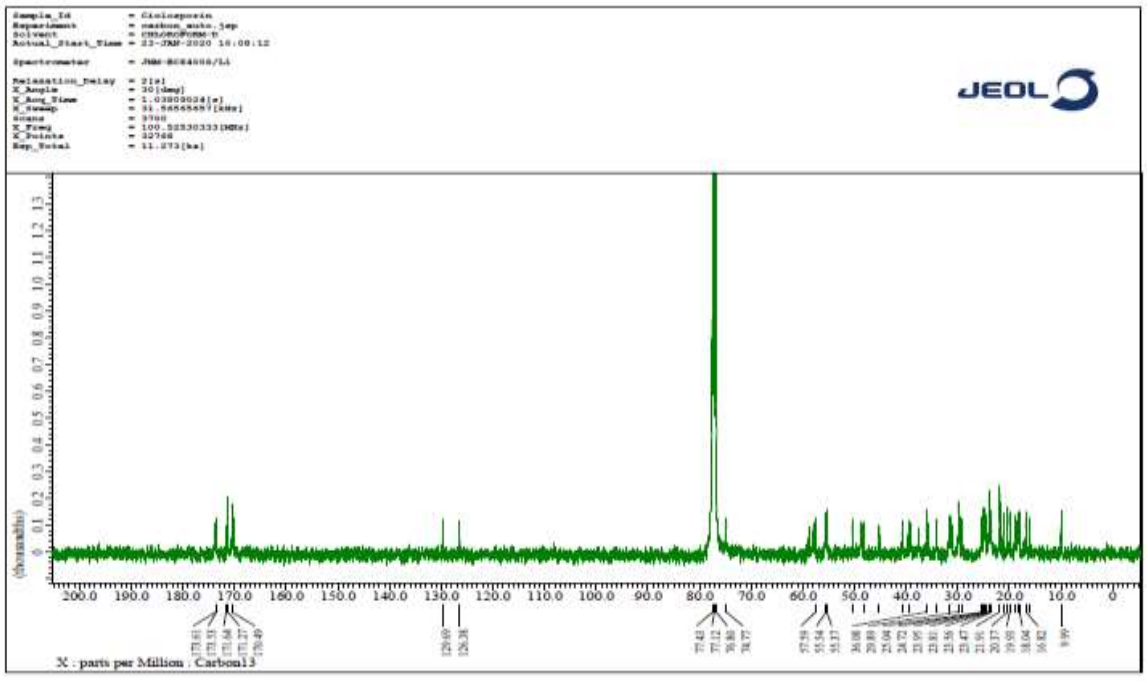
Siklosporin Nükleer Manyetik Rezonans Analizi

Siklosporin etkin maddesinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumu Şekil 15 ve Şekil 16'de verilmiştir. ^{1}H-NMR ile molekül yapısında bulunan hidrojen atomlarının türünü, sinyal gruplarındaki yarılmalar komşu gruplardaki hidrojen sayısını ve bağ özelliklerini vermektedir.

^{13}C-NMR ile moleküldeki farklı tiplerdeki karbon atomlarının sayısını, elektronik çevresini ve bir karbon atomunun komşularının sayısını yarılma olarak vermektedir.



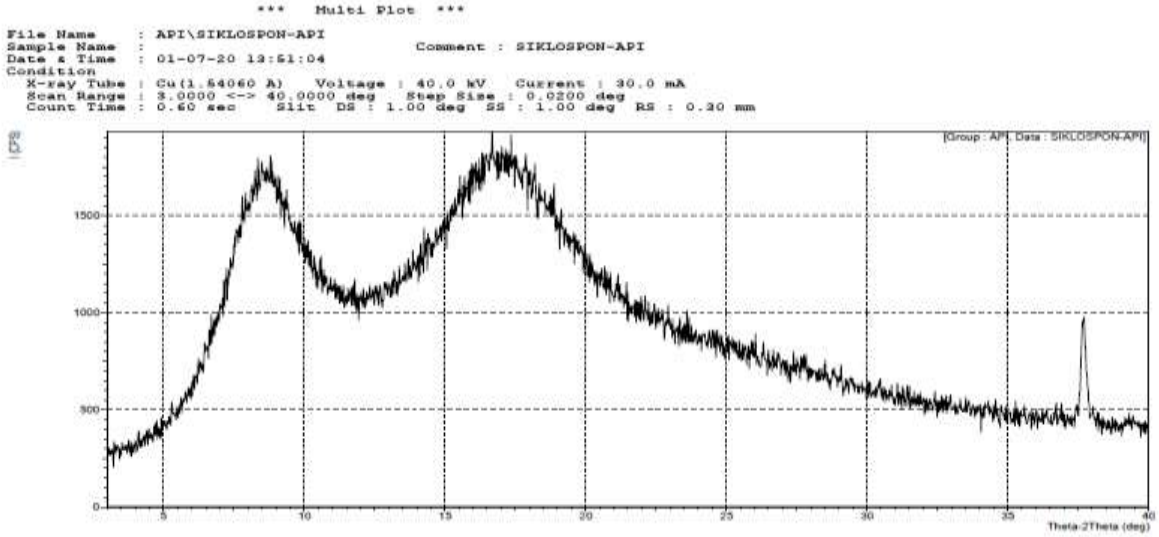
Şekil 15. Siklosporin etkin maddesinin^{1}H-NMR spekturumu



Şekil 16. Siklosporin etkin maddesinin^{13}C-NMR spekturumu

Siklosporin X-Işınımı Kırınımı Analizi

Siklosporin etkin maddesinin XRD difraktogramı Şekil 17'de verilmiştir. Yosuke ve ark. (77) ile yapılan çalışma ile benzer olduğu ve amorf yapıda olduğu saptanmıştır.



Şekil 17. Siklosporin etkin maddesinin XRD difraktogramı

Siklosporin Su Miktarının Analizi

Siklosporin etkin maddesinin su miktarı sonucu %1,02±0,06 olarak saptanmıştır.

Siklosporin Miktar Tayini Analizi

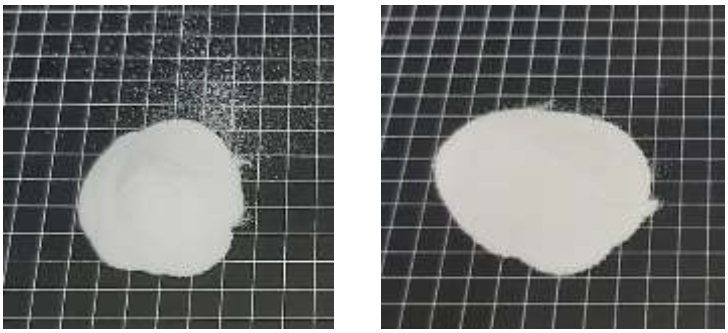
Siklosporin etkin maddesinin miktar tayini sonuçları %99,05 ±0,15 saptanmıştır.

KATI DOZAJ FORMU İÇİN KULLANILAN YARDIMCI MADDELERİN KARAKTERİZASYONU

Neusilin® ve Fujicalin® Görünüş Analizi

Neusilin® ve Fujicalin® yardımcı maddelerinin görünüş testi sonuçları beyaz beyazımsı granül toz olarak bulunmuştur. Görünüşleri Şekil 18'te verilmiştir.

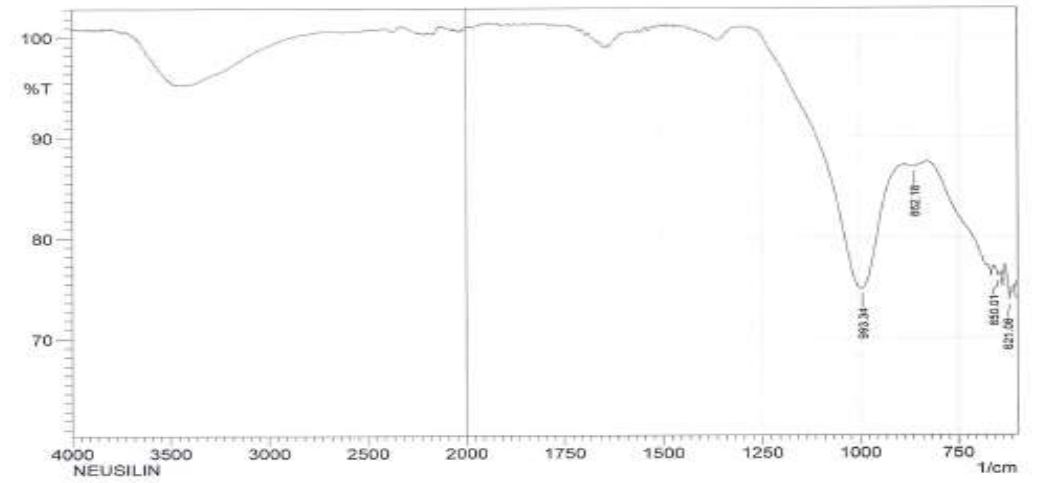
Neusilin® **Fujicalin®**



Şekil 18. Neusilin® ve Fujicalin® maddelerin görsel görünümleri

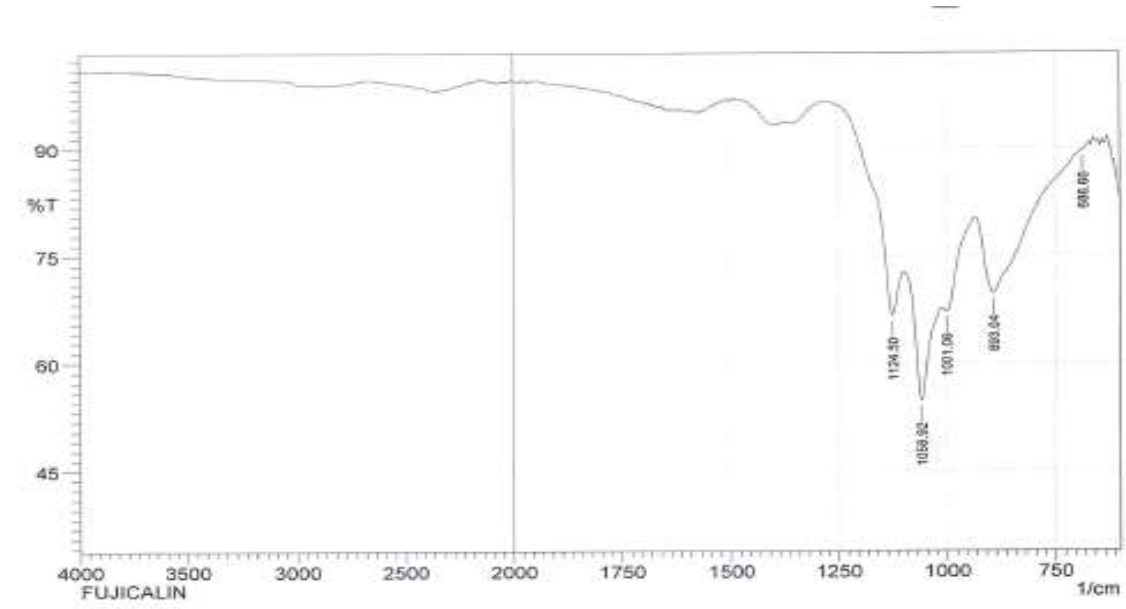
Neusilin® ve Fujicalin® Infrared Spektroskopisi Analizi

Neusilin® ve Fujicalin® yardımcı maddelerinin FT-IR spekturumları Şekil 19 ve Şekil 20'da verilmiştir. Spekturumlarda görülen piklerin yardımcı maddenin yapısında bulunan fonksiyonel grupları, bağların durumunu, bağlanma yerlerini ve yapının aromatik ya da alifatik olup olmadığı görülmektedir. Remeth ve ark. (91) tarafından yapılan çalışma ile kıyaslandığında elde edilen piklerin dalga boylarının benzer olduğu saptanmıştır.



	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	605.65	74.932	0.432	607.58	599.86	0.95	0.006
2	621.08	73.778	1.738	632.65	617.22	1.897	0.055
3	650.01	76.146	0.5	655.8	644.22	1.36	0.02
4	862.18	87.008	0.095	866.04	831.32	2.057	0.006
5	993.34	74.849	16.14	1276.88	885.33	22.307	11.382

Şekil 19. Neusilin® maddesinin FT-IR spekturumu

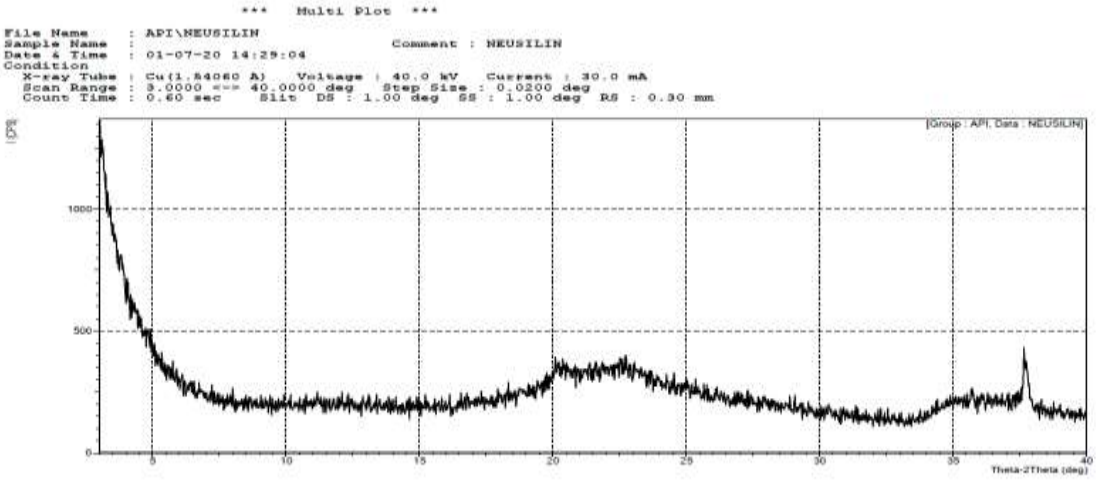


	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	686.66	89.633	0.146	688.59	673.16	0.698	0.006
2	693.04	69.701	12.067	933.55	690.52	24.108	6.733
3	1001.06	67.168	1.981	1010.7	935.48	9.931	0.284
4	1058.92	54.675	15.64	1097.5	1012.63	16.567	3.414
5	1124.5	66.574	9.601	1265.3	1099.43	12.677	1.43

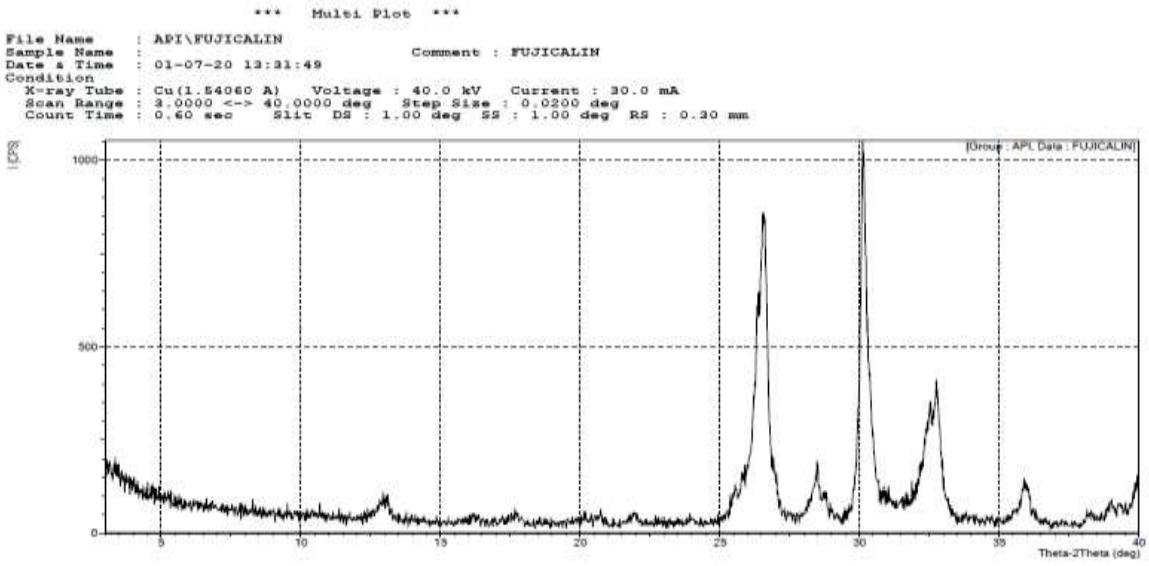
Şekil 20. Fujicalin® maddesinin FT-IR spekturumu

Neusilin® ve Fujicalin® X-Işınımı Kırınımı Analizi

Neusilin® ve Fujicalin® yardımcı maddelerinin XRD difraktogramları Şekil 21 ve Şekil 22'de verilmiştir. Neusilin® amorf yapıda ve Fujicalin® kristal yapıda olduğu saptanmıştır. Neusilin® için Ambarish ve ark. (92) tarafından yapılan çalışma ile benzer olduğu saptanmıştır. Fujicalin® için Schlack ve ark. (93) tarafından yapılan çalışma ile benzer olduğu saptanmıştır.



Şekil 21. Neusilin® maddesinin XRD difraktogramı



Şekil 22. Fujicalin® maddesinin XRD difraktogramı

Neusilin® ve Fujicalin® Su Miktarının Analizi

Neusilin® su miktarı analiz sonucu %13,80±0,21 ve Fujicalin® su miktarı sonucu %0,15±0,02 olarak saptanmıştır.

SİKLOSPORİN ÇÖZÜNÜRLÜK ÇALIŞMASI

Siklosporin etkin maddesinin çözünürlük çalışmasına ait sonuçlar Tablo 21'de verilmiştir. Sonuçlara baktığımızda en düşük çözünme ortamı Su olarak saptanmıştır. Tüm ortamlarda 0,1mg/mL'den az çözünme gözlenmiştir ve USP göre pratikçe çözünmez olarak tanımlanmaktadır (15) ve yardımcı maddelerin çözünürlüğünü değiştirmediği saptanmıştır.

USP monografında siklospoerin içeren kapsül dozaj formu için kapsül içeriği likit ise çözünme ortamı su ve 500mL olarak verilmiştir (98). Çalışmada çözünme ortamı olarak en düşük çözünürlüğe sahip olduğu su ve 500mL kullanılarak çözünme hızı miktar tayini analizleri yapılmasına karar verilmiştir.

Tablo 21. Siklosporin çözünürlük çalışması sonuçları

	Su (mg/ml)	**0.1N HCl (mg/ml)**	**pH:4.5 Asetat Tampon (mg/ml)**	**pH:6.8 Fosfat Tampon (mg/ml)**
Siklosporin	0,01345	0,04306	0,03675	0,03147
Siklosporin Neusilin®	0,04203	0,03430	0,03504	0,02733
Siklosporin Fujicalin®	0,04646	0,02288	0,02126	0,01986

KENDİLİĞİNDEN EMÜLSİFİYE OLABİLEN SİSTEM ÖN FORMÜLASYON ÇALIŞMALARI VE KARAKTERİZASYONU

Plasebo Çözeltiler Emülsiyon Olabilme ve Kararlılık Durum Analizi

Tez çalışmasının ön formülasyon çalışmalarında hazırlanan P1, P2, P3, P4, P5 ve P6 plasebo formülasyonlarının çözelti görünüşleri berrak ve su ile emülsiyon oluşturma sonrasında mavi-beyaz olarak gözlenmiştir. 15 gün boyunca takip edilmiş ve görünüşlerinde bir değişiklik olmadığı saptanmıştır.

KENDİLİĞİNDEN EMÜLSİFİYE OLABİLEN SİSTEM FORMÜLASYON ÇALIŞMALARI VE KARAKTERİZASYONU

Etkin Madde İçeren FormülasyonlarınEmülsiyon Olabilme ve Kararlılık Durum Analizi

Etkin madde yüklenen F1, F2, F3, F4, F5 ve F6 formülasyon çalışmalarında hazırlanan çözeltilerin emülsiyon oluşturma durumları Tablo 21'de verilmiştir.

F1, F2 ve F3 formülasyonlarının çözelti görünüşleri berrak ve su ile emülsiyon oluşturma sonrasında berak mavi-beyaz olarak gözlenmiştir. 15 gün boyunca takip edildiğinde çözelti görünüşlerinde değişiklik olmamıştır.

F4, F5 ve F6 formülasyolarının çözelti görünüşleri berrak olmasına rağmen su ile emülsiyon oluşturma sonrasında sütlü bulanık hal almıştır ve zamanla çökme gözlenmiştir ve diğer günler kontrol edilmemiştir.

Tablo 21. Etkin madde yükleme sonrası emülsiyon kararlılık durumları

Zaman	F1	F2	F3	F4	F5	F6
1.Gün	Uygun	Uygun	Uygun	Bulanık	Bulanık	Bulanık
2.Gün	Uygun	Uygun	Uygun	-	-	-
3.Gün	Uygun	Uygun	Uygun	-	-	-
4. Gün	Uygun	Uygun	Uygun	-	-	-
5.Gün	Uygun	Uygun	Uygun	-	-	-
10.Gün	Uygun	Uygun	Uygun	-	-	-
15.Gün	Uygun	Uygun	Uygun	-	-	-

F3 Görünüş Analizi

F3 formülasyonu görsel olarak incelendiğinde sarı berrak çözelti olarak gözlenmiştir ve Şekil 23'de verilmiştir.



Şekil 23. F3 formülasyonunun görsel görünümü

F3 Yoğunluk Analizi

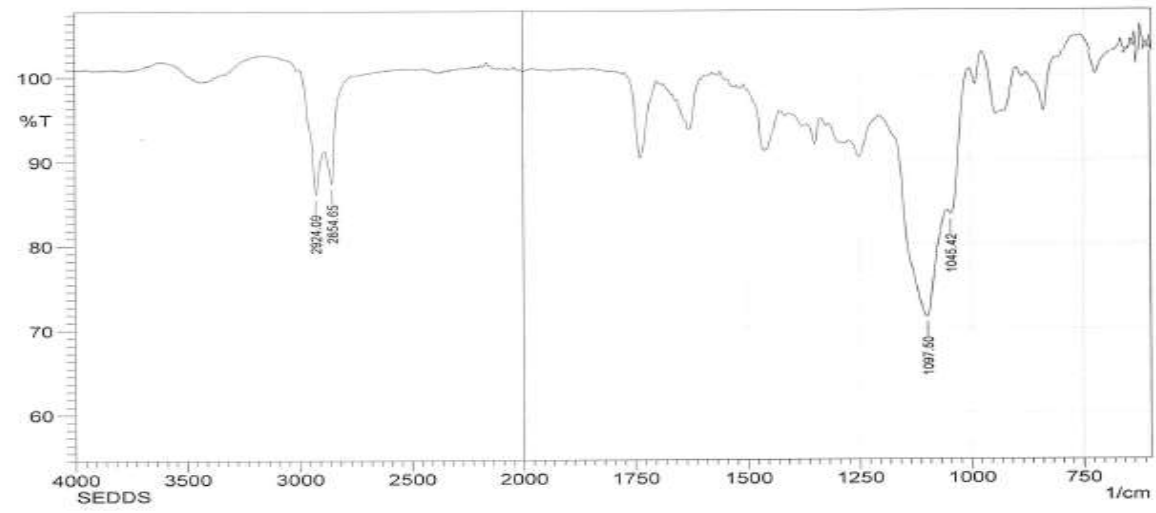
F3 formülasyonunun yoğunluğu 20°C'de 1,029 gr/cm^3 olarak bulunmuştur.

F3 pH Analizi

F3 formülasyonu için pH değeri 5,66 olarak ölçülmüştür.

F3 Infrared Spektroskopisi Analizi

F3 formülasyonunun FT-IR spektrumları Şekil 24'de verilmiştir. Spekturumda görülen pikler formülasyon içersinde bulunan tüm maddelerden gelmektedir. F3 formülasyonunu bir bütün olarak düşünüldüğünde spekturumdan elde etmiş olduğumuz pikler yapı içersinde bulunan fonksiyonel grupları, bağların durumunu, bağlanma yerlerini ve yapısındaki aromatik ya da alifatik olup olmadıkları görülmektedir.



No.	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	1045.42	83.543	2.42	1051.2	1002.98	1.8	0.283
2	1097.5	71.383	15.862	1205.51	1053.13	12.887	5.466
3	2854.65	87.315	6.121	2885.51	2762.06	2.516	0.655
4	2924.09	86.091	8.383	2995.45	2887.44	3.54	1.551

Şekil 24. F3 formülasyonu FT-IR spekturumu

F3 Kırılma İndisi Analizi

F3 formülasyonu için 3 farklı numune hazırlığı yapılmış ve suya karşı kırılma indisi sonuçları Numune-1 -21,316°, Numune-2 -42,603° ve Numune-3 -63,607° olarak saptanmıştır.

F3 Su Miktarının Analizi

F3 formülasyonu içinsu miktarı analizi sonucu %0,90±0,01 olarak saptanmıştır.

F3 Viskozite Analizi

F3 formülasyonu için viskozite değeri; S62 spindel, 10 rpm ve 25 °C sıcaklıkta 320 cP ile 400 cP arasında sonuçlar saptanmıştır.

F3 Tirbüdimetri Analizi

F3 formülasyonu için tirbüdimetri analizi sonuçları nephelometrik bulanıklık birimi (NTU) olarak Numune-1 42,8 NTU, Numune-2 73,9 NTU ve Numune-3 92,9 NTU olarak saptanmıştır. Emülsiyon konsantrasyonu artırıldıkça bulanıklığın arttığı saptanmıştır.

F3 Partikül Boyutu Analizi

F3 formülasyonu su ile farklı oranlarda seyreltilerek hazırlanmıştır numunelerin partikül boyutu ve polidispersite indeksi sonuçları zetasizer cihazında okutularak elde edilmiştir ve Tablo 22'de verilmiştir.

Tablo 22. F3 formülasyonu partikül boyutu ve polidispersite indeks sonuçları

	Seyreltme (mL/mL)	Partikül Boyutu (nm)	Polidispersite İndeks
Numune-1	1/50	26,94	0,027
Numune-2	1/100	25,87	0,046
Numune-3	1/250	25,49	0,076
Numune-4	1/500	27,31	0,123
Numune-5	1/1000	28,95	0,155

F3 Zetapotansiyel Analizi

F3 formülasyonu zetapotansiyel değeri -8,70 mV olarak saptanmıştır.

F3 Miktar Tayini Analizi

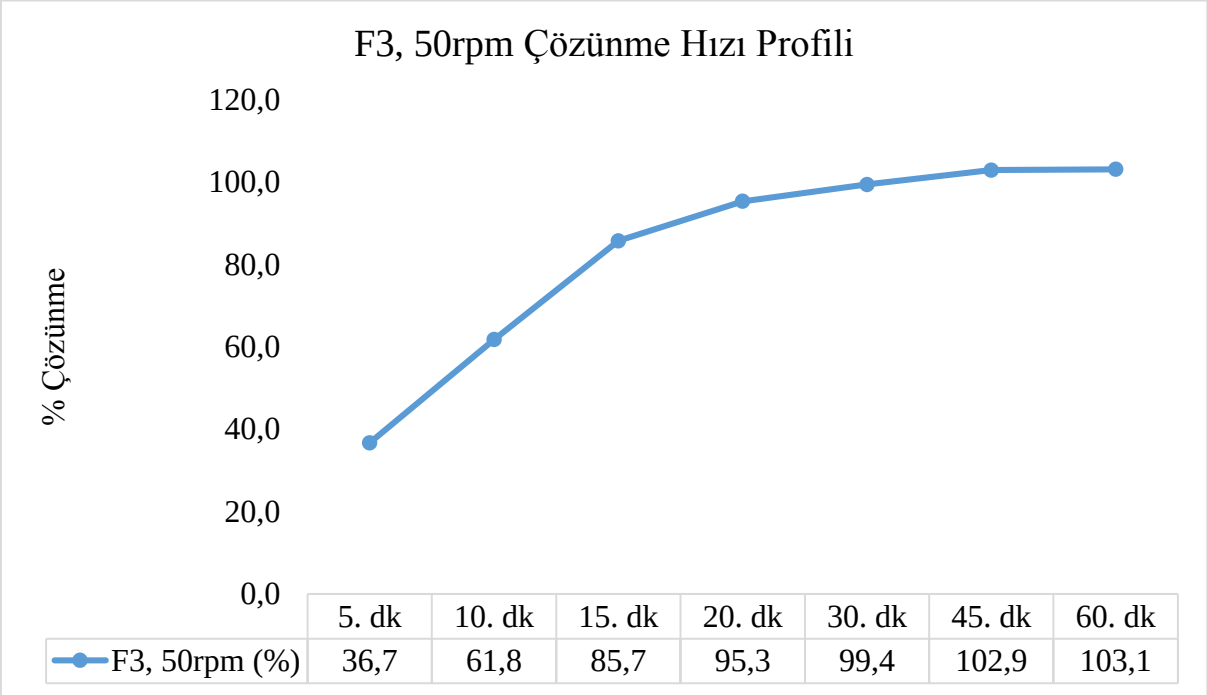
F3 formülasyonu için miktar tayini sonucu %99,4 ±0,6 olarak saptanmıştır.

F3 Siklosporin Çözünme Hızı Miktar Tayini Analizi

Kendiliğinden emülsifiye olabilen çözelti F3 formülasyonu kapsül içerisine doldurulduktan sonra 50rpm hızında, çözünme hızı profil sonuçları Tablo 23'de ve çözünme hızı profil grafiği Şekil 25'de verilmiştir.

Tablo 23. F3 formülasyonu 50rpm çözünme hızı profil sonuçları

Numune Sayısı	Çözünen Siklosporin (%)						
	5.dk	**10.dk**	**15.dk**	**20.dk**	**30.dk**	**45.dk**	**60.dk**
1.	34,1	65,6	82,3	89,6	98,3	102,6	102,3
2.	39,5	62,5	87,3	96,7	100,2	104,0	102,3
3.	37,3	58,7	89,3	100,2	100,8	105,1	105,2
4.	34,6	61,3	82,3	95,3	97,6	101,3	101,5
5.	39,6	63,2	85,2	96,3	100,3	103,7	104,2
6.	35,3	59,3	88,3	94,2	99,3	101,0	103,2
Ortalama %	**36,7**	**61,8**	**85,7**	**95,3**	**99,4**	**102,9**	**103,1**
SD	2,4	2,6	3,0	3,5	1,3	1,6	1,4
RSD %	6,6	4,2	3,5	3,7	1,3	1,6	1,3



Şekil 25. F3, 50rpm çözünme hızı profil grafiği

KENDİLİĞİNDEN EMÜLSİFİYE OLABİLEN SİSTEMİN KATI DOZAJ FORMÜLASYON ÇALIŞMALARI VE KARAKTERİZASYONU

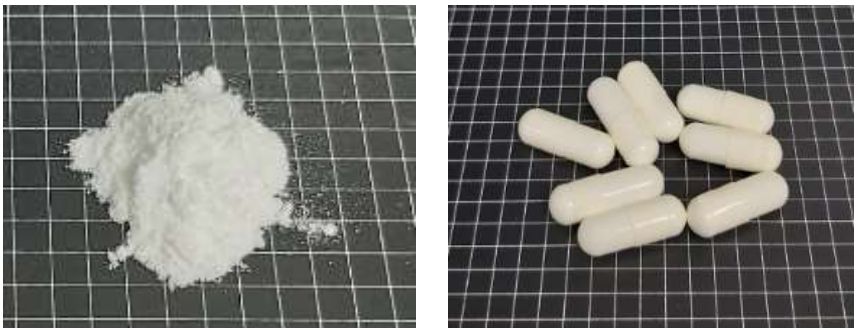
F8 ve F9 Görünüş Analizi Sonucu

Görsel görünüm sonuçları Tablo 24'de verilmiştir. Görsel görünüşleri Şekil 26 ve Şekil 27'da verilmiştir.

Tablo 24. F8-Toz, F8-Kapsül, F9-Toz ve F9-Kapsül görünüş sonuçları

F8-Toz	Beyaz beyazımsı hafif yağımsı hissiyat veren granül toz.
F8-Kapsül	Beyaz kapsül içersinde, beyaz beyazımsı hafif yağımsı hissiyat veren granül toz.
F9-Toz	Beyaz beyazımsı hafif yağımsı hissiyat veren granül toz.
F9-Kapsül	Yeşil kapsül içersinde, beyaz beyazımsı hafif yağımsı hissiyat veren granül toz.

F8 Toz **F8 Kapsül**



Şekil 26. F8-Toz ve F8-Kapsül görsel görünümleri

F9 Toz **F9 Kapsül**



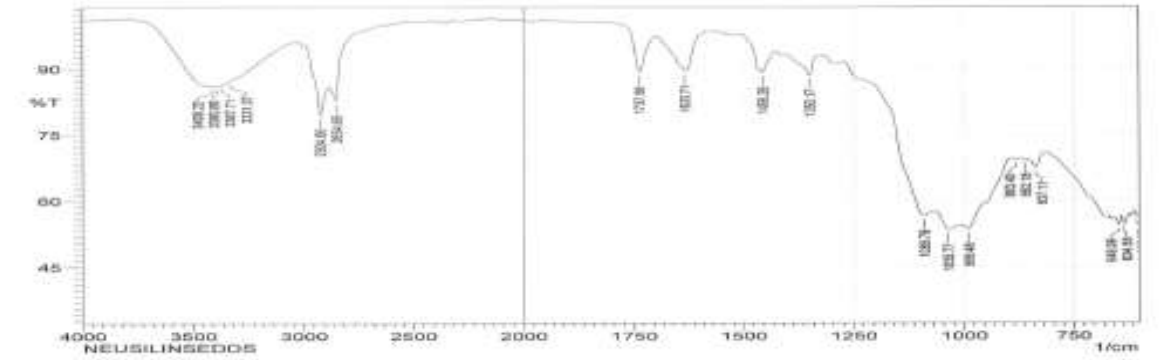
Şekil 27. F9-Toz ve F9-Kapsül görsel görünümleri

F8 ve F9 Su Miktarı Analizi

F8 formülasyonu için su miktarı sonucu %4,72±0,05 ve F9 formülasyonu için su miktarı sonucu %0,73±0,06 olarak saptanmıştır.

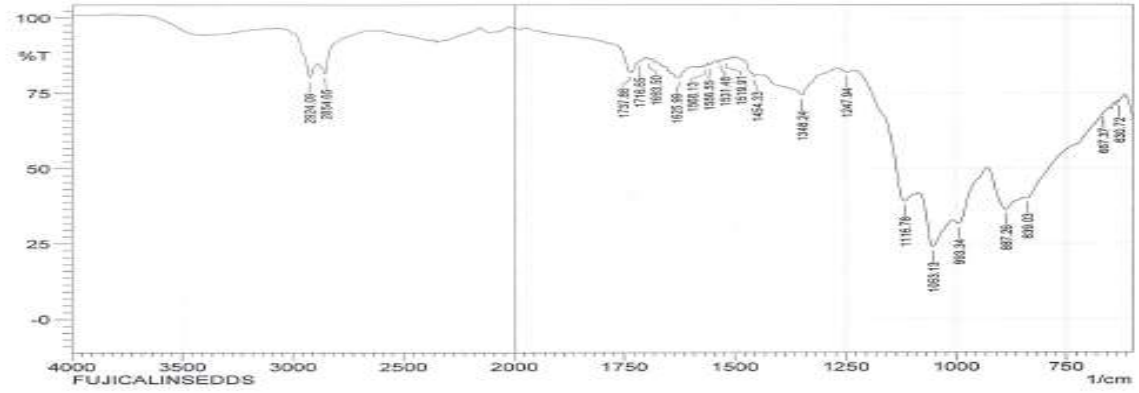
F8 ve F9 Infrared Spektroskopisi Analizi

F8 ve F9 formülasyonlarının FT-IR spektrumları Şekil 28 ve Şekil 29'da verilmiştir. Spekturumda görülen pikler formülasyon içersinde bulunan tüm maddelerden gelmektedir. F8 ve F9 formülasyonunu bir bütün olarak düşünüldüğünde spektrumlardan elde etmiş olduğumuz pikler yapı içersinde bulunan fonksiyonel grupları, bağların durumunu, bağlanma yerlerini ve yapısındaki aromatik ya da alifatik olup olmadıkları görülmektedir.



	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	605.65	56.409	1.128	609.51	599.86	2.371	0.048
2	634.58	54.719	1.376	638.44	626.87	2.974	0.091
3	648.08	54.393	1.857	656.8	640.37	3.97	0.118
4	837.11	67.501	2.803	856.39	815.89	6.494	0.384
5	862.18	69.337	0.107	871.82	858.32	2.162	0.007
6	883.4	69.192	0.376	883.04	873.75	3.066	0.026
7	989.48	53.516	3.305	1006.64	894.97	24.721	1.277
8	1035.77	53.433	2.41	1066.56	1008.77	15.56	0.481
9	1089.78	55.529	4.228	1273.02	1070.49	26.285	0.973
10	1350.17	88.517	4.467	1400.32	1332.61	2.73	0.61
11	1456.26	96.084	0.66	1468.18	1427.32	1.141	0.018
12	1633.71	89.486	3.22	1641.42	1585.49	1.446	0.208
13	1737.96	90.177	0.822	1775.44	1701.22	1.595	1.197
14	2854.65	82.696	4.926	2885.51	2834.76	4.977	0.5
15	2924.09	79.607	8.809	2963.52	2887.44	6.382	1.948
16	3331.07	87.163	0.059	3332.98	3034.03	10.866	0.022
17	3367.71	86.56	0.044	3369.64	3334.62	2.138	0.002
18	3390.86	86.102	0.043	3392.79	3373.5	1.243	0.004
19	3406.22	86.076	0.046	3414	3394.72	1.28	0.002

Şekil 28. F8 formülasyonu FT-IR spekturumu



	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	630.72	71.971	1.089	634.58	619.15	2.067	0.039
2	667.37	68.439	0.232	669.3	653.87	2.463	0.015
3	839.03	40.14	0.653	842.89	669.3	46.568	0.127
4	887.26	36.323	8.973	927.76	844.82	32.744	3.808
5	993.34	31.584	4.531	1008.77	929.69	31.309	1.083
6	1053.13	23.927	13.997	1083.99	1010.7	38.159	6.352
7	1116.76	39.05	11.393	1230.58	1085.92	33.712	2.895
8	1247.94	81.913	0.96	1267.23	1232.51	2.916	0.087
9	1348.24	74.29	3.088	1363.67	1269.16	9.471	0.318
10	1454.33	80.732	0.716	1458.18	1448.54	0.883	0.02
11	1519.91	86.128	0.503	1521.84	1506.33	0.849	0.024
12	1531.48	85.702	0.286	1533.41	1523.76	0.631	0.006
13	1556.55	84.412	0.84	1560.41	1543.05	1.219	0.033
14	1568.13	83.916	0.412	1570.06	1560.41	0.712	0.017
15	1625.99	80.093	0.551	1629.85	1593.2	3.072	0.021
16	1693.5	86.145	0.478	1699.29	1685.79	0.858	0.015
17	1716.65	85.43	0.23	1718.58	1707	0.768	0.012
18	1737.86	81.933	5.664	1772.58	1718.58	3.483	0.571
19	2854.65	81.564	5.003	2887.44	2850.19	8.913	0.585
20	2924.09	80.255	8.085	2995.45	2889.37	6.52	1.599

Şekil 29. F9 formülasyonu FT-IR spekturumu

F8 ve F9 Bulk Yoğunluk Analizi

F8 ve F9 formülasyonları için bulk yoğunluk analiz sonuçları Tablo 25'da verilmiştir.

F8 ve F9 Sıkıştırılmış Yoğunluk Analizi

F8 ve F9 formülasyonları için sıkıştırılmış yoğunluk analiz sonuçları Tablo 25'de verilmiştir.

Tablo 25. F8 ve F9 formülasyonları için bulk yoğunluk, sıkıştırılmış yoğunluk, carr indexve hausner oranı sonuçları

	F8	**F9**
Bulk Yoğunluk (g/cm^3)	0,46	0,53
Sıkıştırılmış Yoğunluk (g/cm^3)	0,76	0,86
Carr İndeks	39,47	38,37
Akış Özelliği	Çok çok zayıf	Çok çok zayıf
Hausner Oranı	1,65	1,62

F8 ve F9 Yığın Açısı Analizi

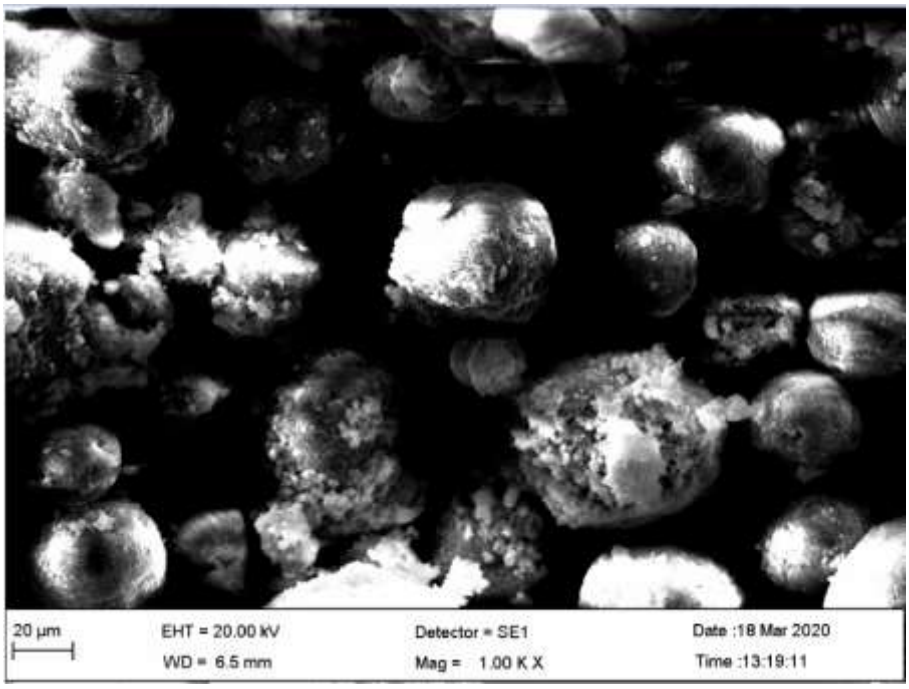
F8 formülasyonu için yığın açısı 37,3° ve akış özelliği Serbest olarak, F9 formülsyonu için yığın açısı 32,2° ve akış özelliği İyi olarak saptanmıştır.

F8 ve F9 Akış Hızı Analizi

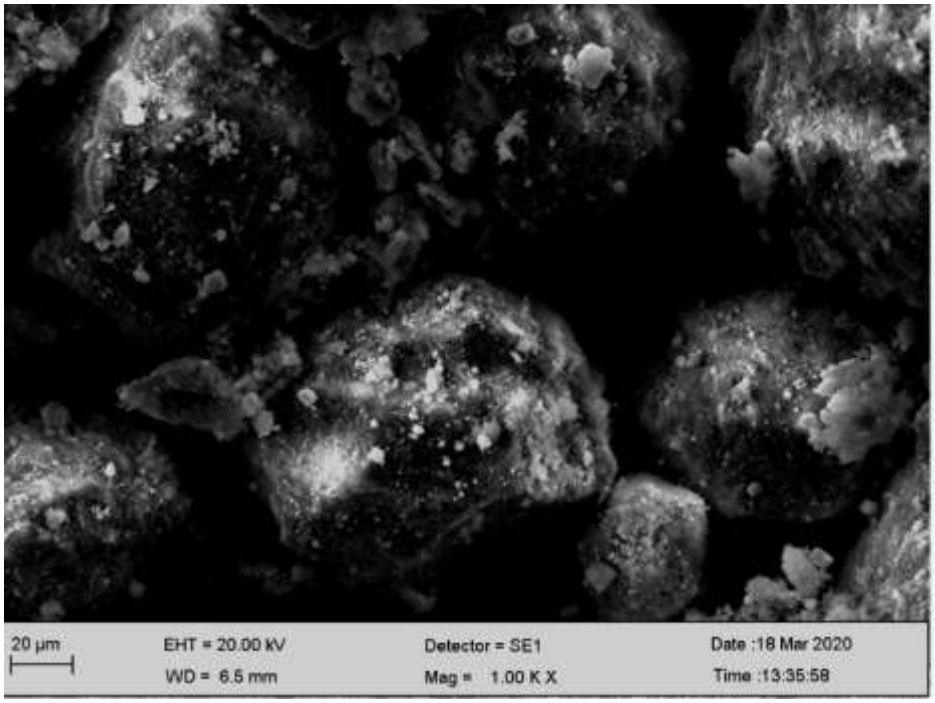
F8 formülasyonu için akış hızı 36,5 sn/100gr ve F9 formülasyonu için 9,7 sn/100gr olarak saptanmıştır.

F8 ve F9 SEM Görüntüleme Analizi

F8 ve F9 formülasyonlarının yüzey morfolojisi görüntüleri Şekil 30 ve Şekil 31'de verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde partiküllerin üzerindeki beyazlıkların adsorbe olan emülsiyon olduğu düşünülmektedir.



Şekil 30. F8 formülasyonu SEM görünümü



Şekil 31. F9 formülasyonu SEM görünümü

F8 ve F9 Dağılma Zamanı Analizi

F8 formülasyonu için dağılma zamanı 45sn ve F9 formülasyonu için dağılma zamanı 55sn olarak saptanmıştır.

F8 ve F9 Miktar Tayini Analizi

F8 ve F9 formülasyonları için miktar tayini analizi HPLC yöntemi ile yapılmıştır ve elde edilen değerler Tablo 26'da verilmiştir.

Tablo 26. F8 ve F9 formülasyonlarının miktar tayini sonuçları

	F8 (%)	**F9 (%)**
Numune-1	100,5	100,7
Numune-2	100,8	100,3
Numune-3	100,4	100,4
Numune-4	100,0	99,5
Numune-5	99,5	100,5
Numune-6	100,1	100,3
Ortalama	**100,2**	**100,3**
SD	0,4	0,4
%RSD	0,4	0,4

F8 ve F9 Siklosporin Çözünme Hızı Miktar Tayini Analizi

F8 ve F9 formülasyonları kapsül içerisine doldurulduktan sonra çözünme hızı analizi HPLC yöntemi ile yapılmıştır. Çözünme hızı miktar tayini analizleri 50rpm, 75rpm ve 100rpm hızlarında yapılmıştır. F8 formülasyonu çalışma sonuçları Tablo 27, Tablo 28 ve Tablo 29'da ve çözünme hızı grafikleri karşılaştırmalı olarak Şekil 32'de verilmiştir. F9 formülasyonu çalışma sonuçları Tablo 30, Tablo 31 ve Tablo 32'de ve çözünme hızı grafikleri karşılaştırmalı olarak Şekil 33'de verilmiştir. Sonuçlara bakıldığından F8 ve F9 formülasyonları için çözünme hızına rpm'in olumlu bir etkisinin olduğu saptanmıştır.

Tablo 27. F8 formülasyonu 50rpm çözünme hızı profil sonuçları

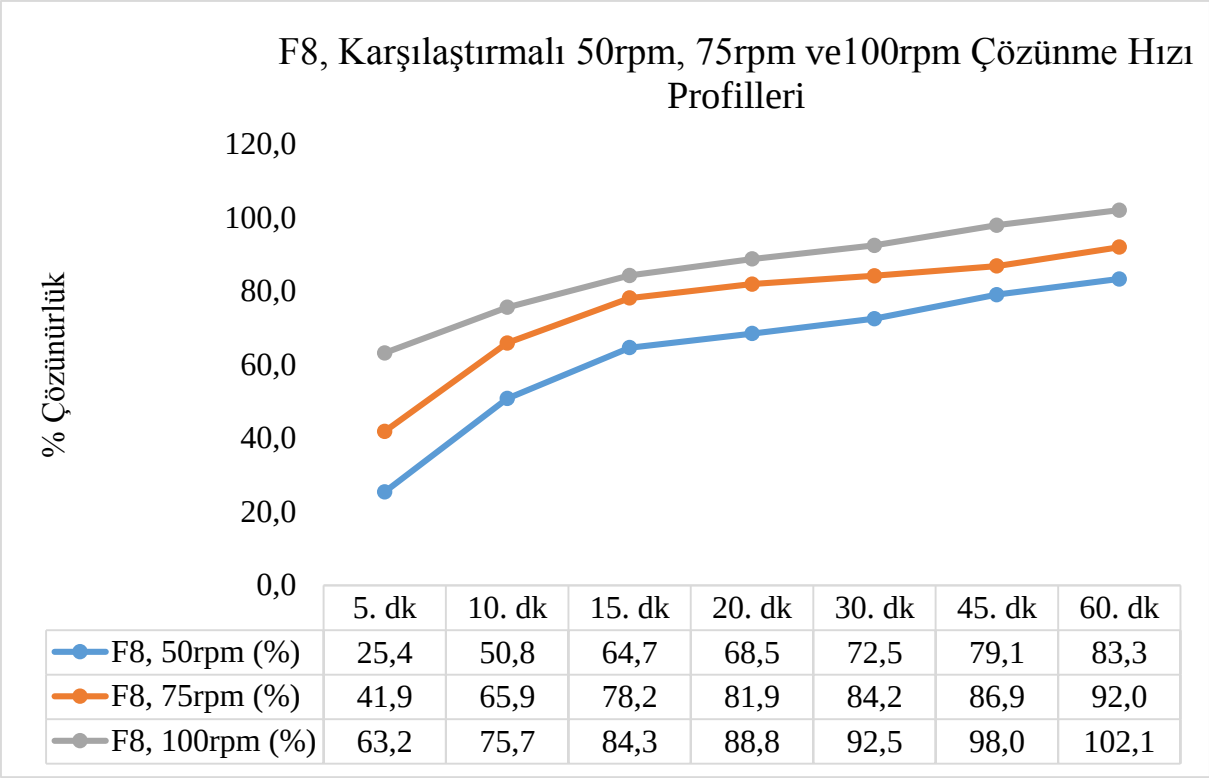
Numune Sayısı	**Çözünen Siklosporin (%)**							
	5.dk	**10.dk**	**15.dk**	**20.dk**	**30.dk**	**45.dk**	**60.dk**	**75.dk**
1.	24,2	50,2	62,3	63,1	69,0	76,3	84,6	99,2
2.	23,8	56,4	66,7	72,3	76,7	78,8	81,6	98,6
3.	27,6	45,7	66,5	66,3	76,2	79,7	81,9	99,5
4.	26,9	52,3	68,8	71,3	71,6	80,3	85,7	100,1
5.	27,6	53,0	62,5	68,6	69,6	78,3	81,6	98,6
6.	22,6	47,6	61,3	69,4	72,3	81,3	84,6	99,0
Ortalama	**25,4**	**50,8**	**64,7**	**68,5**	**72,5**	**79,1**	**83,3**	**99,2**
SD	2,0	3,6	2,8	3,1	3,0	1,6	1,6	0,58
RSD %	7,8	7,0	4,3	4,5	4,1	2,0	2,0	0,58

Tablo 28. F8 formülasyonu 75rpm çözünme hızı profil sonuçları

Numune Sayısı	Çözünen Siklosporin (%)							
	5.dk	**10.dk**	**15.dk**	**20.dk**	**30.dk**	**45.dk**	**60.dk**	**75.dk**
1.	47,6	72,1	79,9	82,1	84,0	84,0	92,2	101,2
2.	38,0	64,3	74,4	80,5	82,9	84,6	92,3	102,4
3.	44,7	69,3	80,6	81,5	83,1	84,6	92,4	100,6
4.	39,6	64,3	75,7	83,3	85,6	88,6	91,0	101,6
5.	42,3	62,4	81,3	80,7	82,4	87,3	90,4	105,0
6.	39,5	63,3	77,3	83,6	87,6	92,3	93,9	102,1
Ortalama	**41,9**	**65,9**	**78,2**	**81,9**	**84,2**	**86,9**	**92,0**	**102,2**
SD	3,3	3,5	2,6	1,2	1,8	2,9	1,1	1,5
RSD %	7,9	5,3	3,3	1,4	2,1	3,4	1,2	1,50

Tablo 29. F8 formülasyonu 100rpm çözünme hızı profil sonuçları

Numune Sayısı	Çözünen Siklosporin (%)						
	5.dk	**10.dk**	**15.dk**	**20.dk**	**30.dk**	**45.dk**	**60.dk**
1.	66,4	76,6	84,1	87,6	91,6	94,6	102,2
2.	65,3	68,1	84,3	87,9	92,6	94,6	101,2
3.	59,6	71,9	82,9	85,7	87,2	97,6	100,6
4.	62,4	78,6	81,3	86,6	91,3	99,0	103,6
5.	64,6	77,7	84,9	91,3	94,6	99,9	102,3
6.	61,3	81,3	88,3	93,7	97,7	102,2	102,6
Ortalama %	**63,2**	**75,7**	**84,3**	**88,8**	**92,5**	**98,0**	**102,1**
SD	2,4	4,4	2,1	2,8	3,2	2,8	1,0
RSD %	3,8	5,8	2,5	3,1	3,5	2,8	0,9



Şekil 32. F8, Karşılaştırmalı 50rpm, 75rpm ve 100rpm çözünme hızı profil grafiği

Tablo 30. F9 formülasyonu 50rpm çözünme hızı profil sonuçları

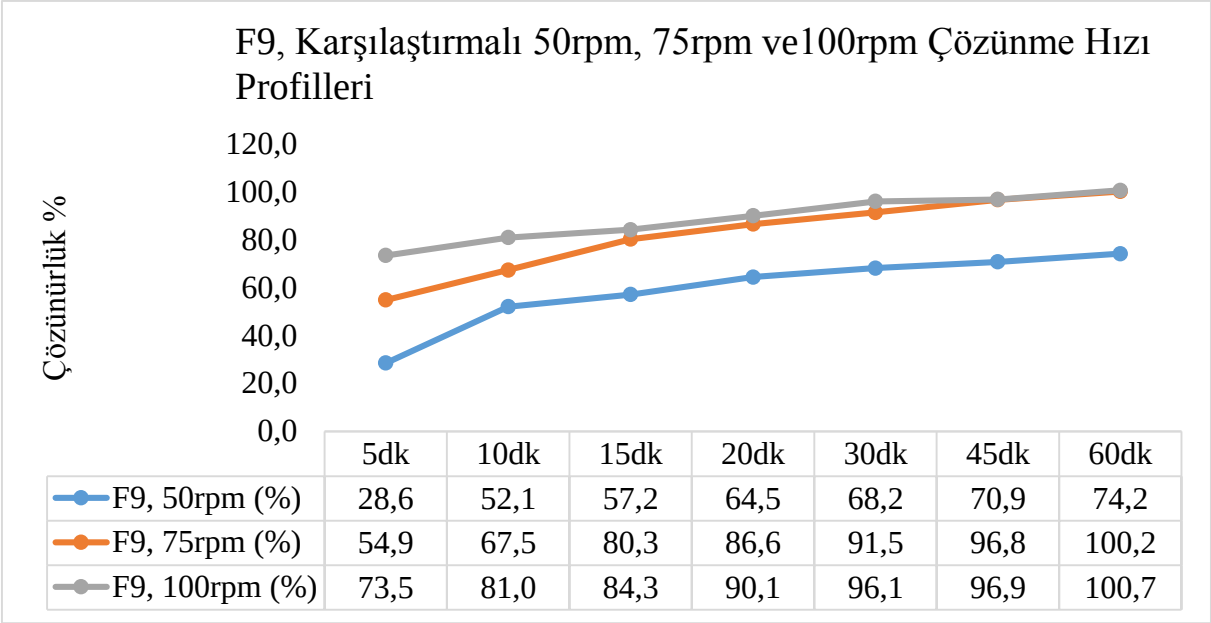
Numune Sayısı	**Çözünen Siklosporin (%)**							
	5.dk	**10.dk**	**15.dk**	**20.dk**	**30.dk**	**45.dk**	**60.dk**	**75.dk**
1.	27,6	47,4	54,7	59,6	65,3	67,5	69,6	101,7
2.	28,0	51,8	54,4	64,2	67,6	69,2	73,9	103,4
3.	29,9	58,0	59,0	64,5	69,1	73,3	76,9	102,7
4.	32,3	47,9	55,5	62,6	71,2	73,6	77,3	102,5
5.	27,6	52,6	60,3	68,3	67,6	71,3	75,3	101,5
6.	26,2	55,0	59,6	67,6	68,6	70,3	72,4	100,6
Ortalama	**28,6**	**52,1**	**57,2**	**64,5**	**68,2**	**70,9**	**74,2**	**102,1**
SD	2,0	3,7	2,4	2,9	1,8	2,1	2,7	0,99
RSD %	6,9	7,2	4,2	4,5	2,7	3,0	3,6	0,97

Tablo 31. F9 formülasyonu 75rpm çözünme hızı profil sonuçları

Numune Sayısı	Çözünen Siklosporin (%)							
	5.dk	**10.dk**	**15.dk**	**20.dk**	**30.dk**	**45.dk**	**60.dk**	**75.dk**
1.	52,6	66,4	79,6	84,6	88,6	94,6	100,3	100,6
2.	49,0	67,3	79,6	83,6	91,3	94,6	100,7	100,4
3.	61,3	69,6	84,3	89,6	92,6	95,1	99,8	100,1
4.	54,3	68,7	77,6	85,7	89,6	97,6	100,2	99,9
5.	55,6	63,3	79,9	88,6	92,7	99,1	100,9	100,5
6.	56,8	69,6	81,3	87,7	94,3	99,8	99,5	100,2
Ortalama	**54,9**	**67,5**	**80,3**	**86,6**	**91,5**	**96,8**	**100,2**	**100,3**
SD	3,8	2,2	2,1	2,2	1,9	2,2	0,5	0,26
RSD %	6,8	3,3	2,6	2,5	2,1	2,2	0,5	0,26

Tablo 32. F9 formülasyonu 100rpm çözünme hızı profil sonuçları

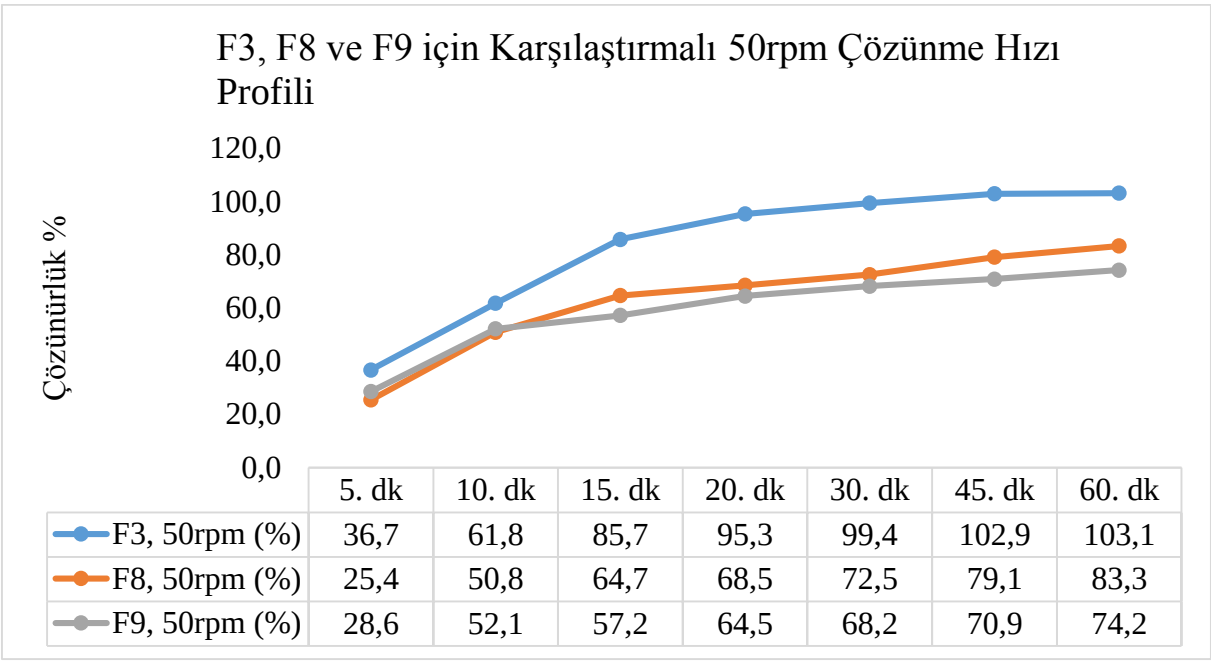
Numune Sayısı	Çözünen Siklosporin (%)						
	5.dk	**10.dk**	**15.dk**	**20.dk**	**30.dk**	**45.dk**	**60.dk**
1.	76,9	80,6	85,3	89,2	95,9	91,9	94,5
2.	71,9	83,0	83,7	90,8	92,8	97,2	101,3
3.	71,8	77,0	82,2	85,7	91,6	96,3	99,9
4.	69,6	84,6	87,6	90,3	96,7	94,6	102,7
5.	74,6	79,6	84,7	91,3	99,6	100,2	102,6
6.	76,3	81,3	82,3	93,6	100,3	101,3	103,6
Ortalama %	**73,5**	**81,0**	**84,3**	**90,1**	**96,1**	**96,9**	**100,7**
SD	2,6	2,4	1,9	2,4	3,2	3,2	3,0
RSD %	3,5	3,0	2,2	2,7	3,3	3,3	3,0



	5dk	10dk	15dk	20dk	30dk	45dk	60dk
F9, 50rpm (%)	28,6	52,1	57,2	64,5	68,2	70,9	74,2
F9, 75rpm (%)	54,9	67,5	80,3	86,6	91,5	96,8	100,2
F9, 100rpm (%)	73,5	81,0	84,3	90,1	96,1	96,9	100,7

Şekil 33. F9, Karşılaştırmalı 50rpm, 75rpm ve 100rpm çözünme hızı profil grafiği

F3, F8 ve F9 formülasyonlarının 50rpm çözünme hızı grafiği Şekil 34'de verilmiştir. Katı dozaj formuna dönüştürüldüğünde çözünme hızında yavaşlama olduğu ama emülsiyon sistemin katı dozaj formundada çalışmakta olduğu ispatlanmıştır.



	5. dk	10. dk	15. dk	20. dk	30. dk	45. dk	60. dk
F3, 50rpm (%)	36,7	61,8	85,7	95,3	99,4	102,9	103,1
F8, 50rpm (%)	25,4	50,8	64,7	68,5	72,5	79,1	83,3
F9, 50rpm (%)	28,6	52,1	57,2	64,5	68,2	70,9	74,2

Şekil 34. F3, F8 ve F9 için karşılaştırmalı 50rpmçözünme hızı profil grafiği

STABİLİTE ÇALIŞMALARI

Stabilite Görünüş Analizi

Görsel görünüm sonuçları Tablo 33'de verilmiştir. Görsel görünüşleri Şekil 35 ve Şekil 36'de verilmiştir. Stabilite sonrasında kapsül görüşlerinde ve içersindeki tozlarda herhangi bir değişiklik olmadığı saptanmıştır.

Tablo 33. F8-Toz, F8-Kapsül, F9-Toz ve F9-Kapsül görünüş sonuçları

	25 ± 2°C ve %60 ± 5	**40 ± 2°C ve %75 ± 5**
F8-Toz	Beyaz beyazımsı hafif yağımsı hissiyat veren granül toz.	Beyaz beyazımsı hafif yağımsı hissiyat veren granül toz.
F8-Kapsül	Beyaz kapsül içersinde, beyaz beyazımsı hafif yağımsı hissiyat veren granül toz.	Beyaz kapsül içersinde, beyaz beyazımsı hafif yağımsı hissiyat veren granül toz.
F9-Toz	Beyaz beyazımsı hafif yağımsı hissiyat veren granül toz.	Beyaz beyazımsı hafif yağımsı hissiyat veren granül toz.
F9-Kapsül	Yeşil kapsül içersinde, beyaz beyazımsı hafif yağımsı hissiyat veren granül toz.	Yeşil kapsül içersinde, beyaz beyazımsı hafif yağımsı hissiyat veren granül toz.

F8 Toz **F8 Kapsül**



Şekil 35. F8-Toz ve F8-Kapsül görsel görünümleri (40 ± 2°C ve %75 ± 5)

F9 Toz **F9 Kapsül**



Şekil 36. F9-Toz ve F9-Kapsül görsel görünümleri (40 ± 2°C ve %75 ± 5)

Stabilite Su Miktarı Analizi

F8 ve F9 formülasyonları için su miktarı sonuçları Tablo 34'de verilmiştir.

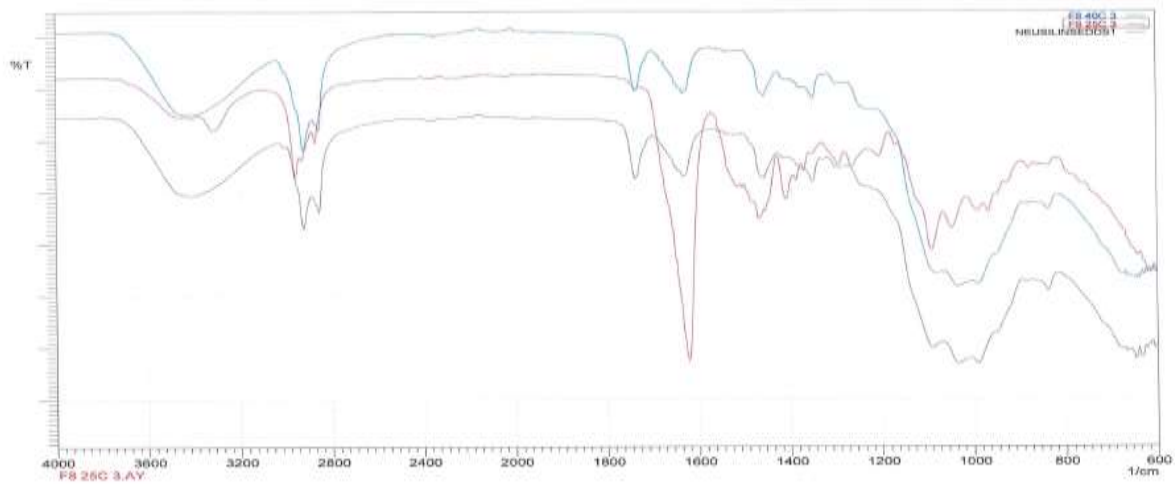
Tablo 34. F8 ve F9 formülasyonlarının su miktarı sonuçları

	25 ± 2°C ve %60 ± 5 (%)	**40 ± 2°C ve %75 ± 5 (%)**
F8	5,12±0,3	5,86±0,2
F9	1,12±0,1	1,94±±0,2

Stabilite Infrared Spektroskopisi Analizi

F8 ve F9 formülasyonlarının 25 ± 2°C ve %60 ± 5 ve 40 ± 2°C ve %75 ± 5 kabinlerde bekleyen numunelerin FT-IR cihazında 4000 – 600 cm-1 aralığında taranıp pik verdiği dalga boyları belirlenmiştir, IR spekturumu çizilmiştir. Elde edilen spekturumlar karşılaştırmalı olarak Şekil 37 ve Şekil 38'de verilmiştir.

F8 ve F9 formülasyonları bir bütün olrak düşünüldüğünde spekturumlardan elde etmiş olduğmuz pikler yapı içersinde bulunan fonksiyonel grupları, bağların durumunu, bağlanma yerlerini ve yapısındaki aromatik ya da alifatik olup olmadıkları görülmekte olup stabilite süresinde bir değişiklik olmadığı saptanmıştır.

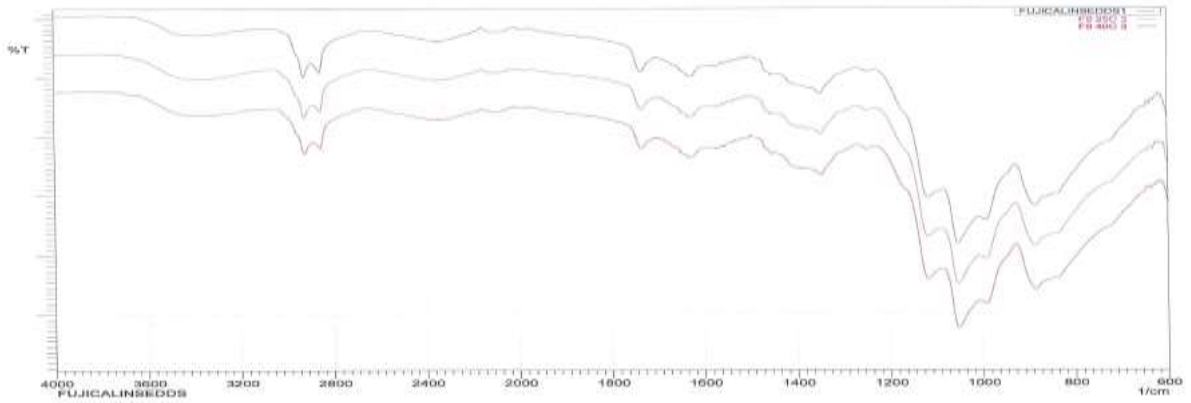


Siyah spekturum : F8 formülasyonu başlangıç

Kırmızı spekturum : F8 formülasyonu 25 ± 2°C ve %60 ± 5, 3.ay

Mavi spekturum : F8 formülasyonu 40 ± 2°C ve %75 ± 5, 3.ay

Şekil 37. F8 formülasyonu karşılaştırmalı FT-IR spekturumu



Siyah spekturum : F9 formülasyonu başlangıç

Pembe spekturum : F9 formülasyonu 25 ± 2°C ve %60 ± 5, 3.ay

Mavi spekturum : F9 formülasyonu 40 ± 2°C ve %75 ± 5, 3.ay

Şekil 38. F9 formülasyonu karşılaştırmalı FT-IR spekturumu

Stabilite Dağılma Zamanı Analizi

F8 ve F9 formülasyonları için kapsül dolumu sonrası elde edilen kapsüller dağılma cihazı kullanılarak dağılma zamanları belirlenmiştir ve Tablo 35'de verilmiştir. Sıcaklıkla beraber dağılma süresininde arttığı saptanmıştır.

Tablo 35. F8 ve F9 formülasyonları için dağılma hızı sonuçları

	25 ± 2°C ve %60 ± 5 (dk, sn)	40 ± 2°C ve %75 ± 5 (dk, sn)
F8	50sn	1dk 10sn
F9	48sn	1dk 20sn

Stabilite Miktar Tayini Analizi

F8 ve F9 formülasyonları için miktar tayini analizi HPLC yöntemi ile yapılmıştır ve elde edilen sonuçlar Tablo 36'de verilmiştir. Başlangıç sonuçlarına göre karşılaştırmalı miktar tayini sonuçları Şekil 41'da verilmiştir. Başlangıç sonuçlarına göre miktar tayini sonuçlarında bir değişiklik gözlenmemiş benzer çıktığı ispatlanmıştır.

Tablo 36. F8 veF9 formülasyonlarının miktar tayini sonuçları

	25 ± 2°C ve %60 ± 5 (%)	40 ± 2°C ve %75 ± 5 (%)
F8	100,1 ±0,19	100,4 ±0,19
F9	100,9 ±0,43	98,7 ±0,08

Stabilite Siklosporin Çözünme Hızı Miktar Tayini Analizi

F8 ve F9 formülasyonları için çözinme hızı miktar tayini analizi 75rpm hızında yapılmıştır. F8 formülasyonu için sonuçlar Tablo 37 ve Tablo 38'de verilmiştir. Başlangıca göre çözünme hızı grafiği karşılaştırmalı olarak Şekil 39'de verilmiştir. F8 formülasyonu başlangıç sonucuna göre stabilite periyodunda çözünme hızında yavaşlama gözlenmiştir. Başlangıçta 60.dk %92,0, 25 ± 2°C ve %60 ± 5 koşulunda saklanan numunenin 60.dk sonunda %93,0, 40 ± 2°C ve %75 ± 5 koşulunda saklanan numunenin 60.dk sonunda %74,4 çözünme hızı sonucu elde edilmiştir. Sıcaklıkla çözünme hızında düşme olduğu ispatlanmıştır.

F9 formülasyonu için sonuçlar Tablo 39 ve Tablo 40'da verilmiştir. Başlangıca göre çözünme hızı grafiği karşılaştırmalı olarak Şekil 40'de verilmiştir. F9 formülasyonu başlangıç sonucuna göre stabilite periyodunda çözünme hızında yavaşlama gözlenmiştir. Başlangıçta 60.dk %100,2, 25 ± 2°C ve %60 ± 5 koşulunda saklanan numunenin 60.dk sonunda %93,4, 40 ± 2°C ve %75 ± 5 koşulunda saklanan numunenin 60.dk sonunda %49,7 çözünme hızı sonucu elde edilmiştir. Sıcaklıkla çözünme hızında düşme olduğu ispatlanmıştır.

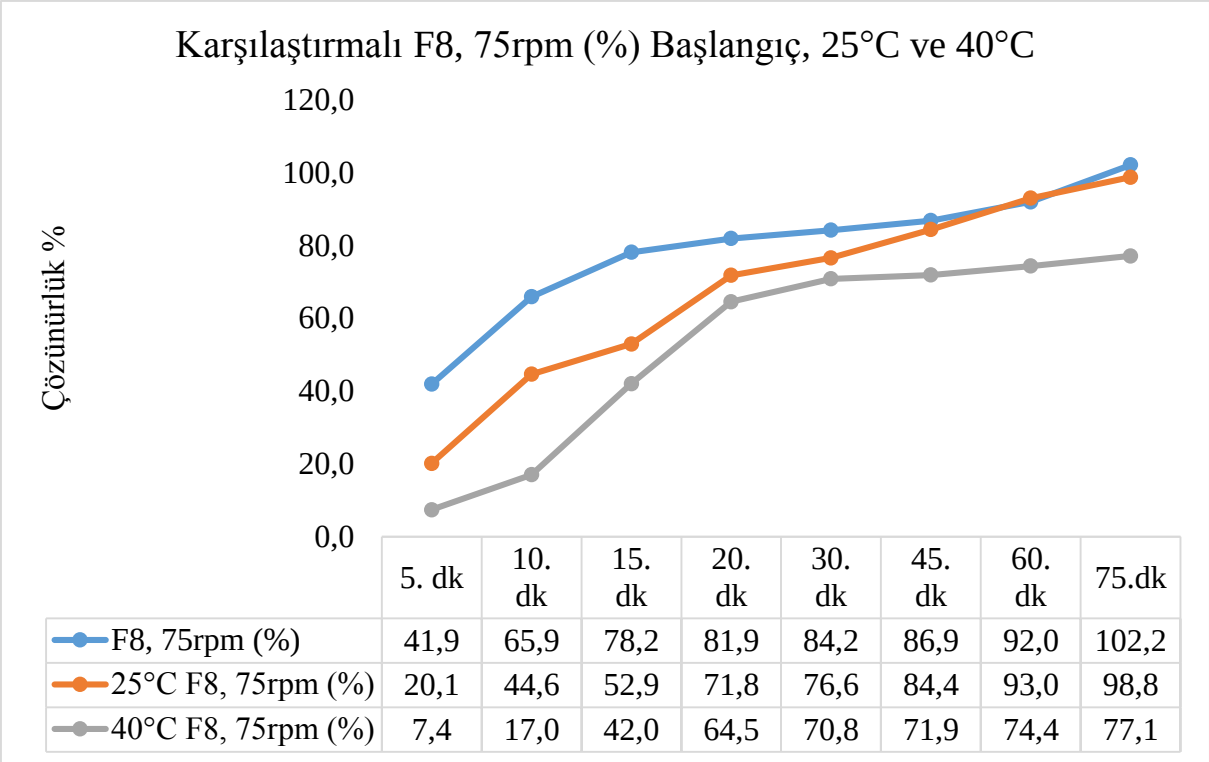
F8 ve F9 formülasyonlarının karşılaştırmalı çözünme hızı grafiği Şekil 41'de verilmiştir. Neusilin® içeren F8 formülasyonunun Fujicalin® içeren F9 formülasyonuna göre başlangıçta ve 25 ± 2°C ve %60 ± 5 koşulunda daha yavaş bir salım gösterdiği, 40 ± 2°C ve %75 ± 5 koşulunda beklemiş numunelere baktığımızda F8 formülasyonu F9 formülasyonuna göre daha hızlı bir salım özelliği göstermektedir.

Tablo 37. F8 formülasyonu 75rpm çözünme hızı profil sonuçları (25 ±2°C ve %60 ± 5)

Numune Sayısı	Çözünen Siklosporin (%)							
	5.dk	**10.dk**	**15.dk**	**20.dk**	**30.dk**	**45.dk**	**60.dk**	**75.dk**
1.	21,2	42,5	49,6	68,3	76,3	81,3	86,3	96,6
2.	18,2	42,1	49,8	71,6	77,3	85,1	92,6	101,6
3.	22,6	49,3	51,3	73,3	78,6	86,5	94,3	98,8
4.	18,5	46,1	59,5	70,3	73,3	84,3	96,2	100,2
5.	20,5	44,3	55,5	71,3	75,0	86,3	93,3	97,3
6.	19,8	43,7	51,9	76,3	79,3	83,3	95,7	98,5
Ortalama	**20,1**	**44,6**	**52,9**	**71,8**	**76,6**	**84,4**	**93,0**	**98,8**
SD	1,5	2,4	3,5	2,5	2,1	1,8	3,3	1,8
RSD %	7,6	5,5	6,7	3,5	2,7	2,1	3,5	1,86

Tablo 38. F8 formülasyonu 75rpm çözünme hızı profil sonuçları (40 ±2°C ve %75 ± 5)

Numune Sayısı	Çözünen Siklosporin (%)							
	5.dk	**10.dk**	**15.dk**	**20.dk**	**30.dk**	**45.dk**	**60.dk**	**75.dk**
1.	6,6	18,5	45,3	67,4	69,2	71,3	72,2	74,3
2.	6,8	15,0	38,8	61,3	72,2	74,0	74,2	77,3
3.	7,1	16,2	41,3	68,0	75,3	69,6	76,2	79,2
4.	8,2	16,5	39,5	64,3	68,6	70,6	71,3	75,3
5.	7,2	21,3	42,2	63,1	70,3	72,5	76,3	77,3
6.	8,4	14,6	45,3	63,2	69,6	73,5	76,3	79,6
Ortalama	**7,4**	**17,0**	**42,0**	**64,5**	**70,8**	**71,9**	**74,4**	**77,1**
SD	0,7	2,3	2,6	2,4	2,3	1,6	2,0	2,1
RSD %	9,4	13,4	6,1	3,7	3,2	2,2	2,7	2,73



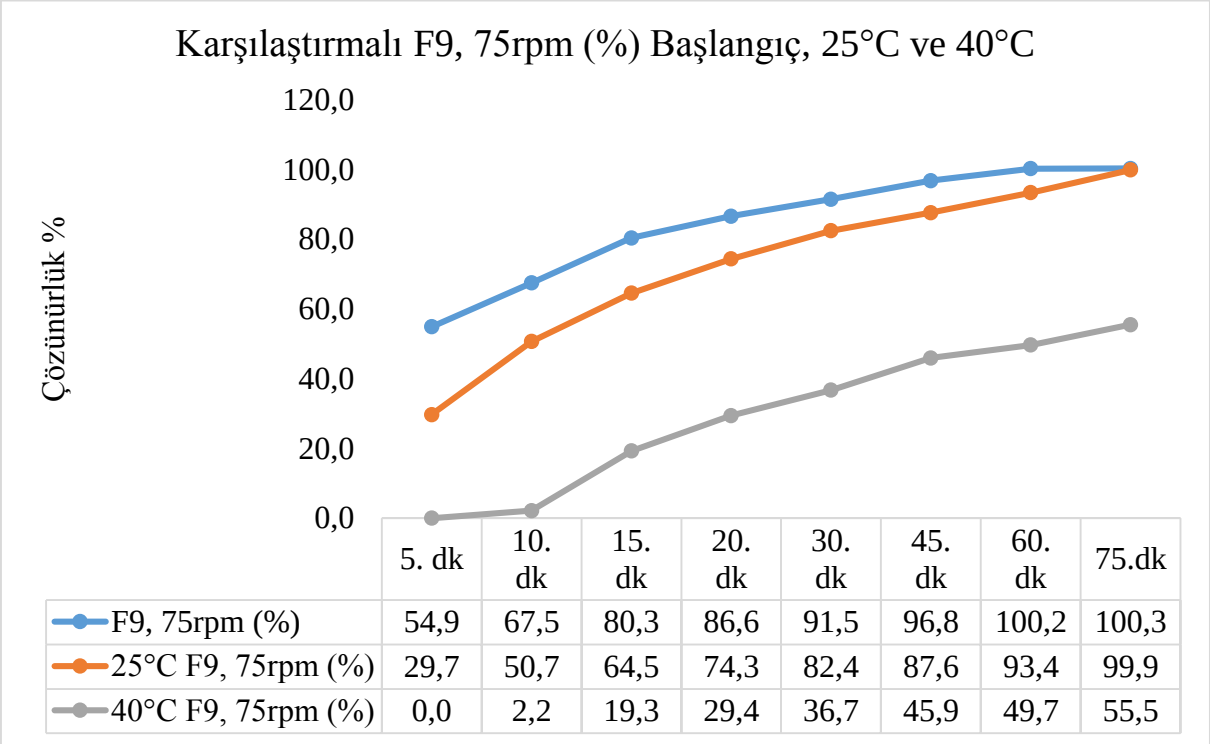
Şekil 39. F8, 75rpm karşılaştırmalı çözünme hızı profil grafiği

Tablo 39. F9 formülasyonu 75rpm çözünme hızı profil sonuçları (25 ±2°C ve %60 ± 5)

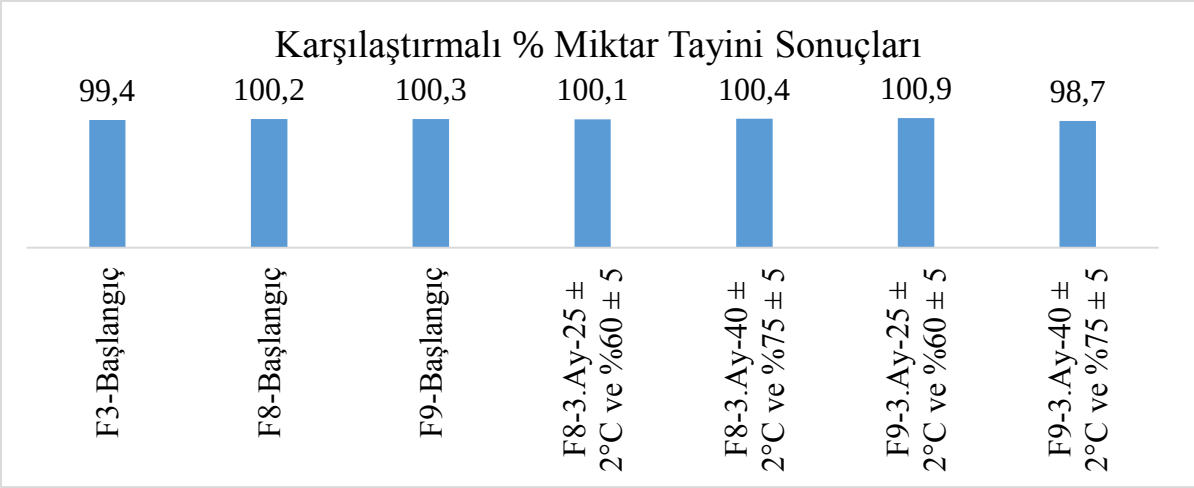
Numune Sayısı	**Çözünen Siklosporin (%)**							
	5.dk	**10.dk**	**15.dk**	**20.dk**	**30.dk**	**45.dk**	**60.dk**	**75.dk**
1.	28,9	53,3	61,3	68,9	76,3	85,3	91,3	97,6
2.	31,3	51,3	64,8	71,3	79,6	86,3	93,3	98,6
3.	28,0	47,6	69,5	75,5	81,1	88,3	94,6	99,6
4.	33,2	52,2	61,3	77,3	83,0	89,3	93,6	101,3
5.	27,5	49,3	63,2	74,1	86,1	84,3	91,3	99,9
6.	29,5	50,6	67,2	79,1	88,5	92,3	96,3	102,3
Ortalama	**29,7**	**50,7**	**64,5**	**74,3**	**82,4**	**87,6**	**93,4**	**99,9**
SD	2,0	1,9	3,0	3,4	4,1	2,7	1,8	1,72
RSD %	6,6	3,7	4,7	4,6	4,9	3,1	1,9	1,72

Tablo 40. F9 formülasyonu 75rpm çözünme hızı profil sonuçları (40 ±2°C ve %75 ± 5)

Numune Sayısı	Çözünen Siklosporin (%)							
	5.dk	**10.dk**	**15.dk**	**20.dk**	**30.dk**	**45.dk**	**60.dk**	**75.dk**
1.	0,0	2,5	17,5	26,3	37,6	44,3	48,5	52,3
2.	0,0	2,2	18,4	29,2	35,2	45,5	47,2	55,5
3.	0,0	1,8	22,2	33,1	39,5	43,6	49,6	59,5
4.	0,0	2,4	20,2	29,5	34,3	49,5	52,3	53,5
5.	0,0	2,4	17,9	27,2	36,3	46,3	51,3	55,2
6.	0,0	1,6	19,6	31,3	37,6	46,6	49,3	57,0
Ortalama	**0,0**	**2,2**	**19,3**	**29,4**	**36,7**	**45,9**	**49,7**	**55,5**
SD	0,0	0,3	1,6	2,3	1,7	1,9	1,7	2,6
RSD %	0,0	15,6	8,2	7,9	4,7	4,2	3,4	4,6

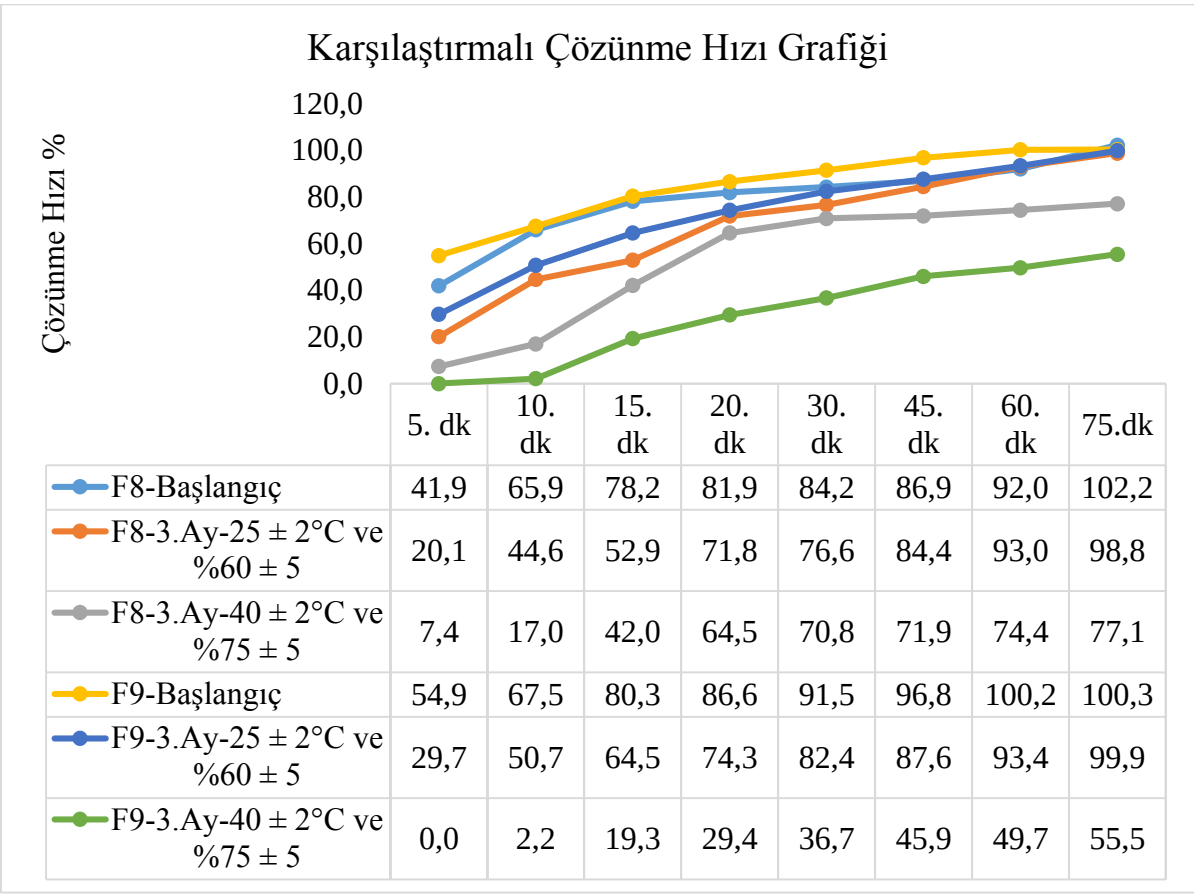


Şekil 40. F9, 75rpm karşılaştırmalı çözünme hızı profil grafiği



Şekil 41. Karşılaştırmalı % miktar tayini sonuçları grafiği

F8 ve F9 formülasyonlarının başlangıç ve stabilite süresinde elde edilen çözünme hızı profilleri karşılaştırmalı olarak Şekill 42'de verilmiştir.



	5. dk	10. dk	15. dk	20. dk	30. dk	45. dk	60. dk	75.dk
F8-Başlangıç	41,9	65,9	78,2	81,9	84,2	86,9	92,0	102,2
F8-3.Ay-25 ± 2°C ve %60 ± 5	20,1	44,6	52,9	71,8	76,6	84,4	93,0	98,8
F8-3.Ay-40 ± 2°C ve %75 ± 5	7,4	17,0	42,0	64,5	70,8	71,9	74,4	77,1
F9-Başlangıç	54,9	67,5	80,3	86,6	91,5	96,8	100,2	100,3
F9-3.Ay-25 ± 2°C ve %60 ± 5	29,7	50,7	64,5	74,3	82,4	87,6	93,4	99,9
F9-3.Ay-40 ± 2°C ve %75 ± 5	0,0	2,2	19,3	29,4	36,7	45,9	49,7	55,5

Şekil 42. Karşılaştırmalı çözünme hızı profil grafiği

İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME

F8 ve F9 formülasyonlarının başlangıç ve stabilite periyodunda elde edilen miktar tayini ve çözünme hızı miktar tayini analiz sonuçları detaylı olarak Tablo 42 ve Tablo 43'de verilmiştir. Miktar tayini analizleri sütunlar arasında değerlendirilerek, çözünme hızı miktar tayini satırlar arasında değerlendirilmiştir. İstatiksel değerlendirme sonuçları Tablo 44 ve Tablo 45'de verilmiştir. İstatiksel olarak önemli anlamlı fark vardır kararını verileceğimiz zaman, yapılacak olası hata miktarını p değeri gösterir. İstatikçi Fisher tarafından bu hatanın maksimum kabul edilebilir düzeyi 0,05 olarak önerilmiş ve kabul görmüştür. Test sonucunda bulunan p değeri 0,05'in altında bir değer ise karşılaştırma sonucunda anlamlı farklılık bulunduğu anlamına gelir (84).

Tablo 41. Tek yönlü varyans analizi değerlendirme tablosu

Karar Olasılığı	Karar
p >0,05	Önemli fark yoktur
p ≤0,05	Önemli fark vardır
p ≤0,01	Çok önemli fark vardır
p ≤0,001	İleri düzeyde önemli fark vardır.

Tablo 42. F8 ve F9 formülasyonlarının karşılaştırmalı miktar tayini sonuçları

Numune Sayısı	F8 (%)			F9 (%)		
	Başlangıç	25 ± 2°C ve %60 ± 5 3.Ay	40 ± 2°C ve %75 ± 5 3.Ay	Başlangıç	25 ± 2°C ve %60 ± 5 3.Ay	40 ± 2°C ve %75 ± 5 3.Ay
1	100,5	100,5	100,5	100,7	101,2	99,1
2	100,8	100,2	99,9	100,3	100,9	98,5
3	100,4	99,8	100,8	100,4	100,4	98,6
4	100,0	99,7	100,2	99,5	101,1	98,7
5	99,5	100,3	100,6	100,5	101,1	99,1
6	100,1	100,1	100,3	100,3	100,8	98,6

Tablo 43. F8 ve F9 formülasyonlarının karşılaştırmalı çözünme hızı miktar tayini sonuçları

Zaman	F8 (%)			F9 (%)		
	Başlangıç	25 ± 2°C ve %60 ± 5 3.Ay	40 ± 2°C ve %75 ± 5 3.Ay	Başlangıç	25 ± 2°C ve %60 ± 5 3.Ay	40 ± 2°C ve %75 ± 5 3.Ay
5. dk	41,9	20,1	7,4	54,9	29,7	0,0
10. dk	65,9	44,6	17,0	67,5	50,7	2,2
15. dk	78,2	52,9	42,0	80,3	64,5	19,3
20. dk	81,9	71,8	64,5	86,6	74,3	29,4
30. dk	84,2	76,6	70,8	91,5	82,4	36,7
45. dk	86,9	84,4	71,9	96,8	87,6	45,9
60. dk	92,0	93,0	74,4	100,2	93,4	49,7
75.dk	102,2	98,8	77,1	100,3	99,9	55,5

Tablo 44. F8 ve F9 formülasyonlarının miktar tayini için tek yönlü varyans analiz sonuçları

Formülasyonlar ve Periyotlar	p Değeri	Karar Olasılığı
F8-Başlangıç / F8-3.Ay 25 ± 2°C ve %60 ± 5	0,6289	p>0,05
F8-Başlangıç / F8-3.Ay 40 ± 2°C ve %75 ± 5	0,4593	p>0,05
F9-Başlangıç / F9-3.Ay 25 ± 2°C ve %60 ± 5	0,0112	p≤0,05
F9-Başlangıç / F9-3.Ay 40 ± 2°C ve %75 ± 5	0,0000	p≤0,001
F8-Başlangıç / F9-Başlangıç	0,7574	p>0,05
F8 / F9 (3.Ay 25 ± 2°C ve %60 ± 5)	0,0008	p≤0,001
F8 / F9 (3.Ay 40 ± 2°C ve %75 ± 5)	0,0000	p≤0,001

Tablo 45. F8 ve F9 formülasyonlarının çözünme hızı miktar tayini için tek yönlü varyans analiz sonuçları

Formülasyonlar ve Periyotlar	p Değeri	Karar Olasılığı
F8-Başlangıç / F8-3.Ay 25 ± 2°C ve %60 ± 5	0,0028	p≤0,05
F8-Başlangıç / F8-3.Ay 40 ± 2°C ve %75 ± 5	0,1117	p>0,05
F9-Başlangıç / F9-3.Ay 25 ± 2°C ve %60 ± 5	0,0039	p≤0,05
F9-Başlangıç / F9-3.Ay 40 ± 2°C ve %75 ± 5	0,8419	p>0,05
F8-Başlangıç / F9-Başlangıç	0,0001	p≤0,001
F8 / F9 (3.Ay 25 ± 2°C ve %60 ± 5)	0,0000	p≤0,001
F8 / F9 (3.Ay 40 ± 2°C ve %75 ± 5)	0,0409	p≤0,05

TARTIŞMA

Oral yoldan ilaç verme uygulaması en kabul gören ve tercih edilen yoldur, çünkü korku, ağrı ve enfeksiyon riski gibi çeşitli yan etkilerden kaçınılabilir ve bu durumda nispeten yüksek bir hasta uyumu olduğunu ortaya koymaktadır. Endüstriyel açıdan, çeşitli ilaçların çözünürlüğü düşük olduğu ve düşük geçirgenliğe sahip olduklarından oral uygulama sistemlerin geliştirilmesinde zorluklar yaşanmaktadır (6). Yaşanan zorlukların üstesinden gelmek için kendiliğinden emülsifiye olabilen ilaç sistemlerin, suda çözünürlüğü düşük ilaçların oral biyoyararlanımını artırmada büyük potansiyele sahiptir (79).

Lipit bazlı formulasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin sıvı veya yarı katı olmasından dolayı katı dozaj formunun geliştirilmesinde zorluklar yaşanmaktadır. Genellikle sıvı dolu şişelerle, likit dolu yumuşak veya sert jelatin kapsül formulasyonlarıyla ticari olarak bulabilmek mümkündür (85). Ancak bu tür formülasyonlar içinde birçok sınırlama ve zorluğu vardır. Oral çözeltilerin sınırlı hasta uyumu vardır (86). Çözelti yumuşak jelatin kapsüllerde kapsüllenirse, etkin madde yüklemesi dolgu ağırlığı ve ilaç çözünürlüğü ve yumuşak jelatin kapsüller iyi formüle edilmemişse potansiyel bir ilaç çökme riski vardır (87). Büyük ilaç şirketlerinin çoğunda yumuşak jelatin kapsül üretim tesislerinin bulunmadığından, yumuşak jelatin kapsüllerin geliştirilmesi ve üretimi için yatırımların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Çözelti formülasyonları sert jelatin kapsüllere doldurulabilien lipit bazlı yarı katı formülasyonlar geliştirilmiştir (88). Bu sistemlerin fiziksel stabilitesi, polimorfizmi ve faz değişimlerinin anlaşılmasında zorluklar yaşanmaktadır (89). Yarı dolgulu sert jelatin kapsüllerin geliştirilmesinde, yarı katıların imalatı ve doldurulması için dolum makinalarına

ihtiyacı ve herhangi bir potansiyel sızıntıyı önlemek için sert jelatin kapsüllerin kaplanması gerekebilir (90).

Yosuke ve ark. (74) siklosporin miktar tayini yöntemi için UPLC metodu, Ankitave ark. (93) HPLC metodu ve Srividyave ark. (94) LCMS yöntemi kullanmaktadır. Çalışmalarımızda siklosporin miktar tayini yöntemi için HPLC yöntemi geliştirilmiş ve validasyon çalışmaları yapılmıştır. Validasyon çalışmasının seçicilik parametresinin enjeksiyonları incelendiğinde siklosporin pikinin alıkonma zamanı 5.40dk'dır ve kullanılan yardımcı maddelerden herhangi bir girişim yapmadığı gözlenmiştir.

Çalışmalara başlamadan önce, siklosporin etkin maddesinin fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir ve sonuçlar literatür verileri ile karşılaştırılarak karakterizasyon çalışmaları tamamlanmıştır. Siklosporin etkin maddesinin fizikokimyasal özellikleri tayin etmek amacıyla görünüş, FT-IR, erime noktası, DSC, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, XRD, su miktarı ve miktar tayini analizleri yapılmıştır. Siklosporin beyaz beyazımsı toz olarak gözlenmiştir (Şekil 12). Siklosporin FT-IR spekturumu (Şekil 13) Vittorio ve ark. (75) tarafından yapılan çalışma ile kıyaslandığında elde edilen piklerin dalga boylarının benzer olduğu bulunmuştur. Erime noktası 149,1°C ±1,03 olarak bulunmuştur. DSC termogramı (Şekil 14) Ke ve ark. (76) tarfından yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında form 2 ile benzer olduğu görülmektedir. ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spekturumları (Şekil 15 ve Şekil 16) verilmiştir. XRD diftogramı (Şekil 17) Yosukeve ve ark. (77) tarfından yapılan çalışma ile benzer amorf yapıda olduğu görülmektedir. Su miktarı sonucu %1,02 ve miktar tayini sonucu %99,05 ±0,15 olarak bulunmuştur.

Siklosporin çözünürlük çalışması sonuçları (Tablo 21) verilmiştir. Çözünürlük çalışması sonuçlarına göre en düşük çözünme ortamı su olarak bulunmuştur. Siklosporin etkin maddesi yardımcı maddeler ile ortamlara ilave edildiğinde çözünme sonuçlarının 0,1 mg/mL'den az çözünme gözlenmiştir. EP monografına göre 0,1 mg/mL az çözünürlüğe sahip etkin maddeler için pratikçe çözünmez olarak tanımlanmaktadır ve yardımcı maddelerin siklosporin için çözünürlüğünü artırmadığı gözlenmiştir (94).

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem ön formülasyon çalışmalarında etkin madde kullanılmadan (Tablo 10) belirtilen farklı oranlarda ve farklı yardımcı maddeler kullanılarak kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemin oluşturulması çalışılmıştır. Elde edilen P1, P2, P3, P4, P5 ve P6 plasebo sistemler berrak çözelti görünüşünde ve belirli oranda su ile karıştırıldıklarında emülsiyon oluşturma sonrasında mavi-beyaz olarak gözlenmiş ve

mikroemülsiyon oluşturdukları düşünülmektedir (27). Plasebo çözeltisi ile su oranları oynandığında; su oranı azaldıkça damlacıklar beyaz, bulanıklık arttığı ve su oranı arttırıldığında saydam görünüş kazandıkları gözlenmiştir. Bu durumda emülsiyon sistem içindeki partikül boyutunun değiştiğinden dolayı gözlenildiği düşünülmektedir (27). Plasebo sistemlerin kararlılık durumları 15 gün boyunca takip edilmiştir ve görünüşlerinde bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Her bir sistem için etkin madde yükleme çalışmaları yapılmasına karar verilmiştir.

Etkin madde miktarı Neoral yumuşak kapsül ürününün alt dozu olan 25mg olacak şekilde çalışmalara başlanmış ve etkin madde içeren kendiliğinden emülsifiye olabilen F1, F2, F3, F4, F5 ve F6 formülasyonları (Tablo 11) belirtilen oranlarda karıştırılması sonucunda sistemler oluşturulmuş ve oluşturulan sistemlerin emülsiyon oluşturma ve kararlılık çalışmaları yapılmıştır. Oluşturulan sistemlerin kararlılık durumları (Tablo 21) verilmiş olup 15 gün boyunca takip edilmiştir. F1, F2 ve F3 formülasyonlarının çözelti görünüşleri berrak ve su ile emülsiyon oluşturulduğunda berrak mavi-beyaz olarak gözlenmiş bu durumda emülsiyon oluşturan sistemler olduğunu göstermektedir (27). F4, F5 ve F6 formülasyonlarının çözelti görünüşleri berrak ve su ile emülsiyon oluşturma durumları gözlendiğinde sütlü bulanık ve zamanla çökme olduğu gözlenmiştir. F4, F5 ve F6 formülasyonları için yardımcı madde oranlarının emülsiyon oluşturma için yetersiz olduğu ya da sisteme fazla etkin madde yüklemesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemin katı dozaj formu oluşturulacağından katı dozaj formu oluşturma sorasında F1 formülasyon içeriğinde bulunan Etil Alkol susuz yardımcı maddesinin sistem içersinden buharlaşma ihtimalinin olması düşünülmüştür. Bu durumun emülsifikasyon için olumsuz olabileceği düşünülmektedir. F2 ve F3 formülasyonlarında yardımcı yüzey etkin madde olarak kullanılan dietilen glikol monoetil eter ve PEG 300 için FDA tarafından onaylanmış yardımcı maddelere bakıldığında PEG 300 birçok ürün formunda kullanıldığı görülmüştür (95). PEG300 kullanılan F3 formülasyonu ile katı dozaj formlarının elde edilmesine karar verilmiştir. F3 formülasyonunun emülsiyon oluşturma durumu ve karalılık çalışması yapıldığında 15 gün boyunca takip edilmiştir ve görünüşlerinde bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir.

Kendiliğinden emülsifiye olabilen F3 formülasyonu karakterizasyon çalışmaları için görünüş, yoğunluk, pH, FT-IR, kırılma indisi, su miktarı, viskozite tirbüdimetri, partikül boyutu, zetapotansiyel, miktar tayini ve çözünme hızı miktar tayini analizleri yapılmıştır. FT-

IR spekturumu incelendiğinde spesifik piklerin 1045,4-1097,5-2854,7-2924,1 dalga boylarında olduğu, kırılma indisi sonuçlarına göre farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerin konsantrasyonla orantılı değiştiği görülmüştür. Tirbüdimetri için farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerin konsantrasyon arttıkça bulanıklığın arttığı gözlenmiştir. Partikül boyutu için farklı oranlarda seyreltmeler sonucunda minumum 25,49nm ile maksimum 28,95nm aralığında bulunmuştur. Partikül boyutunun seyreltmeden bağımsız olduğunu düşünülmektedir.

PDI değeri parçacıkların boyut dağılımının homojen olmama derecesini tanımlamak için kullanılır ve 0,0-1,0 arasında değişir. 0,2 ve daha düşük değerlerin, polimer esaslı nanoparçacık malzemeler için pratikte en kabul edilebilir olduğu düşünülmektedir. Lipit bazlı taşıyıcılar kullanılan ilaç verme uygulamalarında 0,3 ve altındaki PDI değerleri kabul edilebilir olarak tanımlanmaktadır (95). Farklı seyreltmelerin PDI değerlerinin sıfıra yakın olması ile homojen ve dar partiküllere sahip olduğu görülmektedir. Zetapotansiyel değeri -8,70mV olarak bulunmuştur. Kai ve ark. (97) tarafından yapılan çalışmada, siklosporin içeren ve ticari olarak bulunan Sandimmun Neoral® için partikül boyutu 30,0nm, PDI değeri 0,14 ve zeta potansiyel verisi -4,2mV olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz değerler literatür verisi olan Sandimmun Neoral® ile kıyaslandığında benzer bulunmuştur. Miktar tayini sonucu %99,4 ±0,6 olarak bulunmuştur. F3 formülasyonu hazırlanırken herhangi bir kayıp yaşanmadığı ve istenilen yüklemenin gerçekleştiği görülmektedir. F3 formülasyonu kapsül içerisine doldurularak çözünme hızı tayini yapılmış ve çözünme ortamı olarak su kullanılmıştır. Çözünme hızı sonucuna göre (Tablo 22) 20dk sonrasında %100 seviyelerinde çözünme olduğu görülmektedir bu durum iyi bir emülsiyon oluşturabilen sistem ve zamana karşı iyi bir salım özelliğini ortaya koymaktadır.

F3 formülasyonun katı dozaj formuna dönüştürülmesi çalışmalarında (Tablo 12) belirtilen oranlarda magnezyum aliminometasilikat ve dibazik kalsiyum fosfat yardımcı maddeleri karıştırılmıştır. F7 ve F10 formülasyonlarında yardımcı maddelerin yağ adsorbsiyon kapasitelerinin (72,73) en üst düzeyde olacak şekilde yükle çalışması yapılmış ve elde edilen tozların yağlı hissiyat veren ve akış özelliğinin düşük olduğu gözlenmiştir. Çalışmalara F8 ve F9 formülleri ile ilerlemeye ve karakterizasyon çalışmalarının yapılmasına karar verilmiştir. F8 ve F9 formülasyonları karakterizasyon çalışmaları için görünüş, su miktarı, pH, FT-IR, bulk yoğunluk, sıkıştırılmış yoğunluk, yığın açısı, akış hızı, SEM görüntüleme, dağılma zamanı, miktar tayini ve çözünme hızı analizleri yapılmıştır. F8 formülasyonu için %4,72 ve F9

formülasyonu için %0,73 bulunmuştur. FT-IR spekturumları incelendiğinde F8 formülasyonu için (Şekil 28) spesifik piklerin 989,5-1035,8-1089,8-1350,2-1456,3-1633,7-1737,9-2854,7-2924,1-3390,7 olarak, F9 formülasyonu için (Şekil 29) spesifik piklerin 839,0-887,3-993,4-1053,1-1116,8-1348,2-1626,0-1737,9-2854,7-2924,1 olarak bulunmuştur. Housner oranı sonuçlarına (Tablo 25) göre belirlenen toz akış özellikleri, yığın açısı tayini ile belirlenen toz akış özellikleriyle farklılık gösterdiği görülmüştür. F8 için akış hızı 36,5 sn/100gr ve F9 için akış hızı 9,7 sn/100gr olarak bulunmuştur ve Fujicalin® içeren formülasyonun akış hızının yüksek olduğu görülmüştür. Bunun sebebinin Fujicalin® daha küresel yapıda olduğundan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (72). SEM görüntüleri (Şekil 30 ve Şekil 31) verilmiştir yardımcı maddelerin SEM görüntüleri ile (Şekil 6, Şekil 8) görsel olarak kıyaslandığında görüntülerdeki beyazlıkların adsorme olan kendiliğinden emülsifiye sistem çözeltisinin olduğu düşünülmektedir. Dağılma sonuçları F8 için 45sn ve F9 için 55sn olarak bulunmuştur. Miktar tayini sonuçları (Tablo 26) ortalama F8 için 100,2±0,4 ve F9 için 100,3±0,4 olarak bulunmuştur, 6 farklı noktadan hazırlanmıştır ve sonuçların %RSD değerleri 0,4 olarak bulunmuştur ve toz karışımların homojen olarak karıştırıldığı ve karıştırma sürelerinin yeterli olduğu görülmüştür. Çözünme hızı miktar tayini sonuçları F8 formülasyonu (Tablo 27, Tablo 28, Tablo 29, Şekil 31) ve F9 formülasyonu (Tablo 30, Tablo 31, Tablo 32, Şekil 32) için verilmiştir ve çözünme hızını rpm'in artırdığı görülmektedir.

F3 formülasyonunun, F8 ve F9 formülasyonları olarak hazırlandığında emülsiyon oluşturma özeliklerini koruduğu ve emülsiyon oluşturma sisteminin çalıştığı görülmektedir.

Çözünme hızına rpm'in etkinin yüksek olduğu gözlenmiştir. İn-vitro çalışmaların değerlendirilmesi düşünüldüğünde çözünme hızının zamana karşı ağır bir salımın gerçekleştiği rpm hızının ve çözünme ortamının seçilmesi formülasyonlarda yapılabilecek değişiklerin salım üzerine etkisini görebilmek için daha seçici olmasına olanak sağlayacağı düşünülmektedir. F8 ve F9 formülasyonları için çözünme hızı 75rpm uygun olduğu ve stabilite çalışmalarının 75rpm hızında yapılmasının uygun olacağı düşünülmüştür.

USP monografları incelendiğinde siklosporin içeren kapsül dozaj formu için kapsül içeriği likit ise çözünme ortamı su, çözünme hacmi 500mL, aparat pedal 50rpm ve çözünme süresi 15dk olarak verilmiştir. Kapsül içeriği toz içeriyor ise çözünme ortamı 0,1 N Hidroklorik asit + %0,5 Sodyum lauril sülfat çözeltisi, çözünme hacmi 1000mL, aparat sepet 150rpm ve çözünme süresi 90dk olarak verilmiştir (98). FDA'in internet sitesinden çözünme metotlarına

bakıldığında sikloporin kapsül ve kapsül içeriği likit olan ürün için çözünme ortamı 0,1 N Hidroklorik asit + 4mg/mL N,N-dimetildodesilamin-N-oksit çözeltisi, çözünme hacmi 1000mL aparat pedal 75rpm olarak verilmiştir (99). Çalışmada elde ettiğimiz dozaj formunu için çözünme ortamı olarak su kullanmıştır literatür çözünme ortamlarına göre kıyaslandığında belirlediğimiz çözünme ortamının yüzey etkin madde içermediğinden daha zorlu bir çözünme ortamı olduğu düşünülmekte olup 75rpm ve 60dk sonunda elde edilen Tablo 36'da ve Tablo 39'de sonuçların F8 formülasyonu için %92,0 ve F9 formülasyonu için %100,2 elde edilmiş olup katı dozaj formu için kullanılan Neusilin® ve Fujicalin® için çözünme hızını etkilemediği düşünülmektedir.

Yosuke ve ark. (77) siklosporin miktar tayini yöntemi için UPLC metodu, Ankitave ark. (100) HPLC metodu ve Srividyave ark. (101) LCMS yöntemi kullanmaktadır. Çalışmalarımızda siklosporin miktar tayini yöntemi için HPLC yöntemi geliştirilmiş ve validasyon çalışmaları yapılmıştır. Validasyon çalışmasının seçicilik parametresinin enjeksiyonları (Tablo 15 ve Şekil 10) incelendiğinde siklosporin pikinin alıkonma zamanı 5.40dk'dır ve kullanılan yardımcı maddelerden herhangi bir girişim yapmadığı görülmüştür.

F8 ve F9 formülasyonları için 25 ± 2°C ve %60 ± 5ve 40 ± 2°C ve %75 ± 5'de 3.ay stabilite çalışmaları yapılmış ve görünüş sonuçları (Tablo 33, Şekil 35, Şekil 36) verilmiştir. Stabilite süresinde görünüşlerinde herhangi bir görsel fark gözlenmemiştir. Su miktarı sonuçları (Tablo 34) F8 için 25 ± 2°C ve %60 ± 5'de aldığı nem miktarı %0,40, 40 ± 2°C ve %75 ± 5'de aldığı nem miktarı %1,14, F9 için 25 ± 2°C ve %60 ± 5'de aldığı nem miktarı %0,39, 40 ± 2°C ve %75 ± 5'de aldığı nem miktarı %1,21 olarak bulunmuştur. F8 ve F9 formülasyonu için stabilite koşullarına koyduğumuz ambalajın nem geçirmediği düşünülürse ürünlerimizin nem almasının kapsülden olacağı düşünülmektedir. Kullandığımız kapsüller jelatin kapsüldür ve literatür incelendiğinde %13 ile %16 aralığında su içeriğine sahiptir (102). FT-IR spektrumları başlangıca göre (Şekil 37, Şekil 38) karşılaştırmalı olarak verilmiş ve spesifik piklerde değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Karşılaştırmalı çözünme hızı grafikleri (Şekil 39, Şekil 40, Şekil 42) incelendiğinde sıcaklığın çözünme hızına olumsuz etkisinin olduğu görülmektedir. 40 ± 2°C ve %75 ± 5 için F8 ve F9 formülasyonlarının çözünme hızları kıyaslandığında F8 formülasyonunun daha hızlı bir salım gösterdiği görülmüştür. Çözünme hızındaki düşüklüğün sebebinin ambalaj kaynaklı olabileceği ve farklı ambalaj tipleriyle çalışmalar yapılarak veya katı dozaj formu eldesi sonrasında elde edilen tozun farklı yardımcı maddeler ile karıştırılıp

formülasyon geliştirme çalışmalarına devam edilebileceği bu sayede başlangıç çözünme hızı profillerinin elde edilebileceği düşünülmektedir. Karşılaştırmalı miktar tayini sonuçları (Şekil 42) verilmiştir ve başlangıca göre kıyaslandığında miktar tayini sonuçları benzer bulunmuştur.

İstatiksel olarak anlamlı fark vardır kararını vermek için tek yönlü varyans analizleri yapılmıştır ve değerlendirme sonuçları (Tablo 44, Tablo 45) verilmiştir. Miktar tayini sonuçları birini içersinde kıyaslandığında F8-Başlangıç / F8-3.Ay 25 ± 2°C ve %60 ± 5 için p:0,6289, F8-Başlangıç / F8-3.Ay 40 ± 2°C ve %75 ± 5 için p:0,4593 ve F8-Başlangıç / F9-Başlangıç için p:0,7574 olarak çıkmıştır ve önemli fark yoktur kararı verilebilmektedir (84). Çözünme hızı miktar tayini sonuçları birbiri ile kıyaslandığında F8-Başlangıç / F8-3.Ay 40 ± 2°C ve %75 ± 5 için p:0,1117 ve F9-Başlangıç / F9-3.Ay 40 ± 2°C ve %75 ± 5 için p:0,8419 olarak çıkmıştır ve önemli fark yoktur kararı verilebilmektedir (84).

SONUÇLAR

BCS sınıf II olan siklosporin etkin maddesinin kendiliğinden emülsife olabilen sistemin geliştirilmesi ve geliştirilen sistemin katı dozaj formunda elde edilmesi ve *in-vitro* performansının değerlendirilmesi yapılmıştır.

Siklosporin içeren kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem içerisine 25mg etkin madde yüklemesinin yapılabileceği ve farklı yardımcı maddelerin kullanılabileceği bulunmuştur.

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemin katı dozaj formuna dönüştürülmesi için karışım oranlarının toz akış özelliği üzerine etkisinin olabileceği bulunmuştur.

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemin karakterizasyon çalışmaları için yoğunluk, FT-IR, kırılma indisi, su miktarı, viskozite, tirbüdimetri, partikül boyutu, zetapotansiyel, miktar tayini ve çözünme hızı miktar tayini analizlerinin yapılabileceği bulunmuştur.

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemin katı dozaj formuna dönüştürülebilmesi için Neusilin® ve Fujicalin® kullanılabileceği bulunmuştur.

Katı dozaj formuna dönüştürülerek kapsül içine likit dolum ya da yumuşak kapsül üretim yöntemlerine alternatif bir üretim yöntemi olabileceği bulunmuştur. Bu durum ticari üretimler için üretim tesislerine yatırım yapılmadan mevcut üretim ekipmanlarının kullanılabileceği ispatlanmıştır.

Katı dozaj formunun karakterizasyon çalışmaları için su miktarı FT-IR, bulk yoğunluk, sıkıştırılmışyoğunluk, yığın açısı, akış hızı, SEM görüntüleme, dağılma zamanı, miktar tayini ve çözünme hızı miktar tayini analizlerinin yapılabileceği bulunmuştur.

Siklosporin miktar tayini analizlerinde HPLC yönteminin geliştirilmesi ve validasyon çalışmaları yapılmıştır.

Geliştirilen formülasyonlarda siklosporin miktar tayinin değişmediği ve 3 ay stabil kaldığı bulunmuştur.

Stabilite çalışmaları ile sıcaklığın çözünme hızı üzerine etkisinin olduğu bulunmuştur.

Tez çalışmalarının devamında kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem içerisine daha fazla etkin madde yüklenmesi, farklı yardımcı maddeler kullanılarak katı dozaj formlarının eldesi, kapsül formundan tablet formuna dönüştürülmesi, elde edilebilecek katı dozaj formunun modifiye edilerek kontrolü salım özelliklerinin kazandırılması, stabilite periyodunda farklı ambalaj materyalleri ile takip edilerek *in-vitro* etkinliğinin incelenmesi şeklinde çalışmalar yapılabilir.

ÖZET

Siklosporin organ nakillerinin reddini önlemek için kullanılan immunosüpresan aktiviteye sahip bir peptittir. BCS Sınıf II kategorisinde yer alıp suda çözünmeyen ve düşük biyoyararlanım gösteren bir moleküldür. Suda çözünürlüğü ve biyoyararlanımı artırmak için kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem geliştirilmiş ve geliştirilen sistem katı dozaj formuna dönüştürülüp *in-vitro* çalışmaları yapılmıştır.

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem, etkin madde siklosporin, yüzey etkin madde makrogolgliserol hidroksistearat, çözücü madde gliserol monolinoleat, yardımcı yüzey etkin madde propilen glikol ve PEG 300 kullanılarak elde edilmiştir. Hazırlanan sistemlerde partikül büyüklüğü, zeta potansiyel, çözünme hızı analizleri gibi karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Partikül büyüklüğü ve zeta potansiyel sonuçları referans ürün Sandimmun Neroral® ile benzer bulunmuştur.

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler, Neusilin® ve Fujicalin® üzerine adsorbe edilerek katı dozaj formları elde edilmiştir. Katı dozaj formları için karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen katı dozaj formlarının emülsiyon oluşturma özelliklerini koruduğu ve emülsiyon oluşturma sırasında Neusilin® ve Fujicalin®' nin etkisinin olmadığı görülmüştür.

Katı dozaj formları için 25 ± 2°C ve %60 ± 5ve 40 ± 2°C ve %75 ± 5'de 3 ay stabilite takibi yapılmıştır. Stabilite periyodunda sıcaklığın çözünme hızına etkisi olduğu bulunmuştur. Neusilin® ile hazırlanan katı dozaj formundan etkin maddenin daha hızlı serbestleştiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Siklosporin, SEDDS, Emülsiyon, İn-Vitro, HPLC

DEVELOPMENT AND *IN-VITRO* EVALUATION OF SELF EMULSIFYING SYSTEMS FOR BIOPHARMACEUTICAL CLASSIFICATION SYSTEM CLASS II DRUG SUBSTANCE

SUMMARY

Cyclosporine is a peptide, with immunesupresant activity, used to prevent rejection of organ transplants. It is a water-insoluble and low bioavailable molecule that belongs to the BCS Class II category. In order to increase water solubility and bioavailability, a system that can be emulsified by itself has been developed, and the developed system has been converted into a solid dosage form and *in-vitro* studies have been carried out.

For the self-emulsifying system, the active substance was obtained using cyclosporin, surfactant macrogolglycerol hydroxystearate, solvent glycerol monokinoleate, auxiliary surfactant propylene glycol and PEG300. Characterization studies such as particle size, zeta potential, dissolution rate, were performed for the systems. Particle size and zeta potential results were similar to that of reference product Sandimmun Neoral®.

The self emulsifying system was adsorbed on Neusilin® and Fujicalin® to obtain solid dosage forms. Characterization studies were performed for the powder mixture ready to obtained solid dosage forms. It has been found that the resulting solid dosage forms retain their emulsifying properties and Neusilin® and Fujicalin® have no effect during emulsion formation.

For solid dosage forms, stability was followed for 3 months at 25 ± 2 ° C and 60 ± 5% and 40 ± 2 ° C and 75 ± 5%. It was found that the temperature had an effect on the dissolution rate during the stability period. It was oberved that, from the solid dosage form prepared with Neusilin®, the active substance dissolves faster versus that of Fujicalin®.

Key words: Cyclosporine, SEDDS, Emulsion, *In-vitro*, HPLC

KAYNAKLAR

1. Diren SY, Zeynep ŞT. Biopharmaceutics classification system, evaluation on international guidelines and countries. J Lit Pharm Sci 2018;7(2):160-74.

2. Diana F, Karen LG, Paul B. Cyclosporin a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in immunoregulatory disordes. Drug Evalution Drugs 1993;46(6):953-1040.

3. Chi YW, Leslie ZB. Predicting drug disposition via application of BCS: transport/ absorption/ elimination interplay and development of biopharmaceutics drug disposition classification system. Pharmaceutical Research 2005;22(1):11-23.

4. Eric D, Stephen CP. Topical ophthalmic cyclosporine: pharmacology and clinical uses. Survey Of Ophthalmology 2009;54(3):321-338.

5. Abu TMS, Pai CS, Daniel M, David FB, Matthew AA. Effect of vehicle of a poorly water-soluble drug from solid dispersions. Journal of Pharmaceutical Sciences 1988;77(5):414-417.

6. Isabella N, Saski K. Successful development of oral SEDDS: screening of excipients from the industrial point of view. Advanced Drug Delivery Reviews 2019;142;128-140.

7. Nazzal S, Smalyukh II, Lavrentovich OD, Mansoor AK. Preparation and in vitro characterization of a eutectic based semisolid self-nanoemulsified drug delivery system (SNEDDS) of abiquinone: mechanism and progress of emulsion formation. International Journal of Pharmaceutics 2002;235.247-265.

8. Gordon LA, Hans L, Vinod PS, John RC. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo biovailability. Pharmaceutical Research 1995;12(3):413-420.

9. Guidance for Industry: Waiver of In vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms Based on Biopharmaceutical Classification System. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research 1997.

10. Lawrence XY, Elke L, John RC, Gordon LA. Transport approaches to the biopharmaceutical design of oral drug delivery system: prediction of intestinal absorption. Advanced Drug Delivery Reviews 1996;19:359-376.

11. Ganesan P, Narayanasamy D. Lipid nanoparticles: a challenging approach for oral delivery of bcs class-II drugs. Future Journal of Pharmaceutical Sciences 2019;4:191-205.

12. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Evaluation of Medicines for Human Use. Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence 2001.

13. Aggelos C, Maria S, Christel B, Panos M. The biopharmaceutics classification system (BCS) and the biopharmaceutics drug disposition classification system (BDDCS): beyond guidelines. International Journal of Pharmaceutics 2019;566:264-281.

14. Proposal To Waive In Vivo Bioquivalence Requirements For WHO Model List Of Essential Medicines Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms. Worl Health Organization WHO Technical Report Series 2006;8:937.

15. http://usp35.infostar.com.cn/ (22.05.2020)

16. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik Resmi Gazete Tarihi: 13.04.2013 Resmi Gazete Sayısı:28617.

17. Methodologinal Recommendations For Drug Manufacturers On In Vitro Equivalence Test For Generic Drug Products According To Biowaiver Procedure. Federal Service on Surceillance in Healtcare and Social Development Moscow 2010.

18. Biopharmaceutics Classification System Based Biowaiver. Healt Canada Guidance Document. Minister of Public Works and Government Services Canada 2014.

19. Guideline For Bioquvilance Studies Of Generic Product. Pharmaceutical and Food Safety Bureau 2012;2:29.

20. Joy VO, Alfredo GA, Gustavo MLS, Christopher C, Clare R, Craig S et al. A survey of the regulatory requirements for BCS-based biowaivers for solid oral dosage forms by participating regulators and organisationsof the international generic drug regulators programme. J Pharm Pharm Sci 2018;21:27-37.

21. Raimar L, Gordon LA. Modern biovaibility, biyoequivalence and biopharmaceutics classification system new scientific approaches to international regulatory standards. Europen Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 2000;50:3-12.

22. Panos M, Athanassios I. Modeling in biopharmaceutics, pharmacokinetics and pharmacodynamics, homogeneous and heterogeneous approaches. Nobel in Literature 1979.

23. Lorena BA, Neila MSB, Karime RB, Lisiane DSE, Jacqueline DS. Biopharmaceutics classification system importance and inclusion in biowaiver guidance. Brazillian Journal of Pharmaceutical Sciences 2015;51(1):144-154.

24. Reyhan NG, Simon B. Self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. Biomedicinc & Pharmacotherapy 2004;58:173-182.

25. Abu TMS. Solid dispersiyon of poorly water-soluble drugs: early promises, subsequent problems and recent breakthroughs. Journal of Pharmaceutical Sciences 1999;88(10):1058-1066.

26. Nevin Ç. Emülsiyonlar. Modern Farmasötik Teknoloji Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını Ankara 2007;277-299.

27. Farmasötik Teknoloji Temel Konular ve Dozaj Şekilleri Ayla Zırh Gürsoy (Editör). Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayın 2012;3:273-285.

28. Jack HS, Walther S, Leon MP. Mechanism of formation and structure of micro emulsions by electron microscopy. Structure of Micro Emulsions By Electron Microscopy 1959;10:677-1680.

29. Jayne L, Gareth DR. Microemulsion-based media as novel drug delivery system. Advanced Drug Delivery Reviews 2000:45:89-121.

30. Közö S, Björn L. Organized surfactant system: microemülsions. American Chemical Society 1987;3(2):135-149.

31. Sushama T, Adnan A, Farhan JA, Roop KK, Shadab AP, Zeenat IK. Microemulsions: anovel approach to enhanced drug delivery. Racent Patent on Drug Delivery & Formulation 2008;2:238-257.

32. Amul M, Ridhi P, Rana AC. Microemulsions: as drug delivery system. Journal of Scientific & Innovative Research 2014;3(4):467-474.

33. Emsap W, Siepmann J. Disperse system. Modern Pharmaceutics (Ed: G.S. Banker, C.T. Rhodes) Marcel Dekker Inc. New York 2002;237-285.

34. Davis HT. Factor determining emulsion type: hydrophile-lipophile balance and beyond. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 1994;91:9-24.

35. Yeşim K. Microemulsions as novel drug carriers: the formation, stability, applications and toxicity. Expert Opinion Drug Delivery 2008;5(1):119-135.

36. Shinoda K, Friberg S. Microemulsions: colloidal aspect. Advances in Colloid and Interface Science 1975;4:281-300.

37. Seiller M, Martini MC. Interet de vehicules microemulsionnes, Formes Pharmaceutiques Pour Application Locale Paris 1996;412-440.

38. Kontrollü Salım Sistemleri, Ayla Zırh Gürsor (Editör), Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını 2014;1:137-147.

39. McClements DJ. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. The Royal Society of Chem. 2012;8(1):1719-29.

40. Tadros T, Izquierdo P, Esquena J, Solans C. Formation and stability of nano-emulsions. Adv Colloid and Int Sci. 2004;108:303-18.

41. Emine DÖ, Özgün S, Tansel Ç. Mikro ve Nanoemülsiyonların farmasötik yönden değerlendirilmesi. Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi. 2020;9(1);65-76.

42. Rieger M. Emulsions. The Theory and Practice of Industrial Pharmacy (Eds: Lachman L, Lieberman H, Kanig JI.) Philadelphia 1986;502-533.

43. İzgü E. Emülsiyonlar-sübyeler. Genel ve Endüstriyel Farmasötik Teknoloji I, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları 1984;52:247-282.

44. Sheweta G, Rajesh K, Abdelwahab O. Formulation strategies to improve the bioavailability of poorly absorbed drugs with special emphasis on self-emulsifying systems. Hindawi Publishing Corporation ISRN Pharmaceutics 2013;848043:1-16.

45. Shweta G, Sandip C, Krutika KS. Self-nanoemulsifying drug delivery system for adefovir dipivoxil: design characterization, in vitro and ex vivo evaluation. Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng. Aspects 2011;392:145-155.

46. Yukako I, Tomohiro K, Makoto I, Riichi T, Nobuhito S, Kanji T. Oral solid gentamicin preparation using emulsifier and adsorbent. Journal of Controlled Release 2005;105:23-31.

47. Georges N, Sylvie CM, Robert F, Denis B. Improvement of cefpodoxime proxetil oral absorption in rats by an oil-in-water submicron emulsion. International Journal of Pharmaceutics 2003;263:165-171

48. Colin WP. Self-emulsifying drug delivery systems: assessment of the efficiency of emulsification. International Journal of Pharmaceutics 1985;27:335-348.

49. Brijesh K, Ashish G, Sweta G. Areview on self emulsifying drug delivery system. Asian Journal of Biomaterial Research 2016;2(5):137-141.

50. Kshitija K, Swati M. Self emulsifying drug delivery system. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 2013;4(12):4494-4507.

51. Bhupinder S, Shantanu B, Rishi K, Ramandeep S, Karate OP. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS): formulation development, characterization, and applications. Critical Reviews in Therapeutic Carrier Systems 2009;26(5):427-521.

52. Dabros T, Yeung A, Masliyah J, Czarnecki J. Emulsification through area contraction. J Colloids Interface Sci 1999;210:222-224.

53. Grevel J, Nuesch E, Abisch K, Kutz K. Pharmacokinetics of oral cyclopsorin a (SANDIMMUN) in healthy subjects. Eur J Clin Pharmacol 1986;31:211-216.

54. Gershanik T, Haltner E, Lehr CM, Benita S. Charge-dependent interaction of self-emulsifying oil formulations with caco-2 cell monolayers: binding, effects on barrier function and cytotoxicity. Int J Pharm 2000;211:29-36.

55. Charman WN. Lipid vehicle and formulation effects on intestinal lymphatic drug transport W.N Chasmar, V.J Stella (Eds.). Lymphatic Transport of Drugs, CRC Press, Boca Raton 1992;113-179.

56. Karim A, Gokhale R, Cole M, Sherman J, Yeramian P, Bryant M, et al. HIVprotease inhibitor SC-52151: a novel method of optimizing bioavailability profile via a microemulsion drug delivery system. Pharm Res 1994;11:368.

57. Constantinides PP. Lipid microemulsions for improving drug dissolution and oral absorption: physical and biopharmaceutical aspects. Pharm Res 1995;12:1561-1572.

58. Westesen K. Phase diagram of tyloxapol and water. Int J Pharm 1994;102:91-100.

59. Holm R, Porter CJH, Edwards GA, Müllerts A, Kristensen HG, Charman WN. Examination of oral absorption and lymphatic transport of halofantrine in a triple−cannulated canine model after administration in self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) containing structured triglycerides. Eur J Pharm Sci 2003;20:91-97.

60. Gao P, Rush BD, Pfund WP, Huang T, Bauer JM, Morozowichve W et al. Development of a supersaturable SEDDS (S-SEDDS) formulation of paclitaxel with improved oral bioavailability. J Pharm Sci 2003;92:2395-2407.

61. Rang MJ, Miller CA. Spontaneous emulsification of oils containing hydrocarbon, non-ionic surfactant and oleyl alcohol. J Colloids Interface Sci 1999;209:179-192.

62. Peter F, Sue P. Ciclosporin 10 years on: indications and efficacy. Veterinary Record 2014;174(2):13-21.

63. Frederic L, Mathieu S, Jean LB, Robert G, Simon B, Jean S G. Cyclosporine a delivery to the eye: a comprehensive review of academic and industrial efforts. Europen Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 2017;117:14-28.

64. ÜstünesL. Rx-Media Pharma İnteraktif İlaç Bilgi Kaynagı 2019;(18.12.2019).

65. https://www.drugbank.ca/drugs/DB00091(18.12.2019).

66. Anahid J, Han CT. Immunotherapy, Chapter 35,504-529.

67. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482450/(09.03.2020).

68. Alfred F. Cyclosporine clinical pharmacokinetics. Drug Disposition, Drug Pharmacokinetic 1993;24(6):472-495.

69. Rampurna PG, Carolyn LM. Gelatin and non-gelatin capsule dosage forms. Journal of Pharmaceutical Sciences 2017;106(6):453-1465.

70. Christina MH, Albercht S, Claudia SL. Suitability of various excipients as carrier and coating materials for liqusolid compacts. Drug Development and Industrial Pharmacy 2011;37(10):1200-1207.

71. Spiridon S. Eagleton Farms Rd. Liqusolid system and methods of preparing same. US patent 6,423,339.2002 Jul 23.

72. http://www.fujichemical.co.jp/english/medical/medicine/fujicalin/fujicalin_brochure.pdf(05.01.2020).

73. http://www.fujichemical.co.jp/english/medical/medicine/neusilin/neusilin_brochure.pdf (05.01.2020).

74. Ghulam AS. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis Understanding the differences and similarities between validation requirement of the US food and druf administration, the US pharmacopeia and International conference on harmonization. Journal of Chromatography A 2003;987:57-66.

75. Vittorio B, Elena P, Riccardo S, Fabio S. Quantitative determination of amorphous cyclosporine in crystalline cyclosporine samples by fourier transform infrared spectroscopy. Journal of Pharmaceutical Sciences 2006;95(1):159-166.

76. Ke W, Anu G, Richard G. A new hydrate of cyclosporine: structural and physicochemical characterization. Journal of Pharmaceutical Sciences 2018;107(12):3070-3079.

77. Yosuke I, Misuzu M, Shunsuke S, Wataru H, Yoshiharu M, Yoshiki S at al. Cyclosporine a-loaded UniORV®: pharmacokinetic and safety characterization. International Journal of Pharmaceutics 2019;570:118630.

78. http://apps.who.int/phint/pdf/b/7.5.6.5.5-Dissolution-test-for-solid-oral-dosage-forms.pdf (09.03.2020).

79. Julia R, Ozbej Z, Gergely H, Markus K, Andreas BS. Design and evaluation of SEDDS exhibiting hidh emulsifying properties. Journal of Drug Delivery Science and Technology 2018;44:336-372.

80. https://books.google.com.tr/books?id=k_lhDwAAQBAJ&pg=PA38&lpg=PA38&dq=kolliphor+rh+40+used+range&source=bl&ots=tSzWheVBxq&sig=ACfU3U131ABxnJI9GSBxeqZMWkUdFMVYVA&hl=tr&sa=X&ved=2ahUKEwjKs4f0yMnpAhUgQUEAHRZ0AWcQ6AEwA3oECAoQAQ#v=onepage&q&f=false (22.05.2020).

81. https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.cfm?event=BasicSearch.page (27.01.2020).

82. Zoltan U, Miklos V, Palma F, Dora K, Petra A, Daniel N et al. Physico-chemical characterization of self-emulsifying drug delivery systems. Drug Discovery Today: Tegnologies 2018;27(7):81-86.

83. The United States Pharmacopoeia 34-The National Pharmacopoeia 29. The United States Pharmacopoeia Convention, Inc. 2011.

84. http://www.p005.net/pdegerinedir (25.05.2020).

85. Sudas GG, Damon MD, Abu TMS. Development of solid SEDDS, v: compaction and drug release properties of tablets prepared by adsorbing lipid-based formulations on to Neusilin®US2. Pharm Res 2013;30:3186-3199.

86. Ewart TC, Dominique C, Hassan B. Challenges and opportunities in the encapsulation of liquid and semi-solid formulations into capsules for oral administration. Advanced Drug Delivery Reviews 2008;60:747-756.

87. John B, Stephen S, Rodger H, John Q, Walter D, William P et al. Ritonavir: an extraordinary example of conformational polymorphism. Pharmaceutical Research 2001;18(6);59-66.

88. Ping L, Sara RH, Thomas FH, Madhu P, Alan ER, Abu TMS. Development of clinical dosage forms for a poorly water-soluble drug II: formulation and characterization of a novel solid microemulsion preconcentrate system for oral delivery of a poorly water-soluble drug. Journal Of Pharmaceutical Sciences 2009;98(5);1750-1764.

89. Feng JC, Frank ME, Johanna U, Amy B, Li Z, Robert S, et al. Effects of lipophilic components on the compatibility of lipid-based formulations with hard gelatin capsules. Journal Of Pharmaceutical Sciences 2010;99(1):128-141.

90. Hina S, Rajni B, Sandeep A. Lipid-based drug delivery dystems. Journal of Pharmaceutics 2014;801820;1-10.

91. Remeth JD, Kailas KM, Vishwajeet SG, Vijay DH, Vishal RM. Formulation and evaluation of carbamazepine liquisolid compacts using novel carriers. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research 2017;51(2):69-78.

92. Ambarish HV, Jolly RP, Rajesh HP, Ajay BS. Preparation and characterization of co-grinded mixtures of aceclofenac and neusilin US2 for dissolution enhancement of aceclofenac. American Association of Pharmaceutical Scientists 2009;10(2):607-614.

93. Schlack H, Bauer BA, Schubert R, Becker D. Properties of Fujicalin®, a new modified anhyrous dibasic calcium phosphate for direct compression: comparison with dicalcium phosphate dihydrate. Drug Development and Industrial Pharmacy 2001;27(8).789-801.

94. https://laegemiddelstyrelsen.dk/da/godkendelse/kontrol-og-inspektion/danske-laegemiddelstandarder/~/media/D0991097DDB34313879B9A79CD12FA20.ashx (11.03.2020).

95. Danaei M, Dehghankhol M, Ataei S, Hasanzadeh DF, Javanmard R, Dokhani A, et al. Impact of particle size and polydipersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier system. Parmaceutics 2018;10(57):1-17.

96. https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.cfm?event=BasicSearch.page (27.01.2020).

97. Kai W, Jianping Q, Tengfei W, Zhiqiang T, Yi L, Kaili H et al. Enhancement of oral bioavailability of cyclosporine a: comparison of various nanoscale drug-delivery systems. International Journal of Nanomedicine 2014:9:4991-4999

98. https://usp35.infostar.com.cn/uspnf/pub/data/v35300/usp35nf30s0_m21481.html (11.10.2019).

99. https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_SearchResults.cfm (29.01.2020).

100. Ankita S, Abu TMS. Conversion of solid dispersion prepared by acid-base interaction into free-flowing and tabletable powder by using Neusilin® US2. International Journal of Pharmaceutics 2015;484:172-180.

101. Srividya VK, Vishwa S, Afsaneh L, Dion RB. An analytical method for cyclosporine using liquid chromatography-mass spectrometry. Biomedical Chromatography 2010;24:148-153.

102. http://www.capsuledepot.com/template/documents/TECHNICAL%20DATA%20SHEET.pdf (01.02.2020).

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİLLER

Şekil 1. S/Y ve Y/S emülsiyonlarının gösterimi 8
Şekil 2. Kendiliğinden emülsifiye olabilen sisteme su eklenmesinde gelen mekanizma..... 14
Şekil 3. Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem ve emülsiyon oluşumuna ait şematik gösterim 16
Şekil 4. Siklosporinin molekül yapısı..... 18
Şekil 5. Likitkatı sistemlerin oluşumunun şematik gösterimi 23
Şekil 6. Fujicalin® elektron mikroskop görünümü 25
Şekil 7. Neusilin ® kimyasal yapısı 26
Şekil 8. Neusilin® farklı kalitelerinin elektron mikroskop görünümü..... 27
Şekil 9. Yüksek kesmeli granülatör cihazının görsel görünümü 46
Şekil 10. Seçicilik parametresi ile elde edilen sonuçların çakıştırılmış kromatogramları..... 53
Şekil 11. Doğrusallık grafiği 54
Şekil 12. Siklosporin etkin maddesinin görsel görünümü..... 57
Şekil 13. Siklosporin etkin maddesinin FT-IR spekturumu 58
Şekil 14. Siklosporin etkin maddesinin DSC termogramı..... 59
Şekil 15. Siklosporin etkin maddesinin ^{1}H-NMR spekturumu 60
Şekil 16. Siklosporin etkin maddesinin ^{13}C-NMR spekturumu 60
Şekil 17. Siklosporin etkin maddesinin XRD difraktogramı..... 61
Şekil 18. Neusilin® ve Fujicalin® maddelerin görsel görünümleri..... 62
Şekil 19. Neusilin® maddesinin FT-IR spekturumu 62

Şekil 20. Fujicalin® maddesinin FT-IR spekturumu 63
Şekil 21. Neusilin® maddesinin XRD difraktogramı 64
Şekil 22. Fujicalin® maddesinin XRD difraktogramı 64
Şekil 23. F3 formülasyonunun görsel görünümü 67
Şekil 24. F3 formülasyonu FT-IR spekturumu 68
Şekil 25. F3, 50rpm çözünme hızı profil grafiği 70
Şekil 26. F8-Toz ve F8-Kapsül görsel görünümleri 71
Şekil 27. F9-Toz ve F9-Kapsül görsel görünümleri 71
Şekil 28. F8 formülasyonu FT-IR spekturumu 72
Şekil 29. F9 formülasyonu FT-IR spekturumu 73
Şekil 30. F8 formülasyonu SEM görünümü 74
Şekil 31. F9 formülasyonu SEM görünümü 75
Şekil 32. F8, Karşılaştırmalı 50rpm, 75rpm ve 100rpm çözünme hızı profil grafiği 78
Şekil 33. F9, Karşılaştırmalı 50rpm, 75rpm ve 100rpm çözünme hızı profil grafiği 80
Şekil 34. F3, F8 ve F9 için karşılaştırmalı 50rpmçözünme hızı profil grafiği 80
Şekil 35. F8-Toz ve F8-Kapsül görsel görünümleri (40 ± 2°C ve %75 ± 5) 81
Şekil 36. F9-Toz ve F9-Kapsül görsel görünümleri (40 ± 2°C ve %75 ± 5) 82
Şekil 37. F8 formülasyonu karşılaştırmalı FT-IR spekturumu 83
Şekil 38. F9 formülasyonu karşılaştırmalı FT-IR spekturumu 83
Şekil 39. F8, 75rpm karşılaştırmalı çözünme hızı profil grafiği 86
Şekil 40. F9, 75rpm karşılaştırmalı çözünme hızı profil grafiği 87
Şekil 41. Karşılaştırmalı % miktar tayini sonuçları grafiği 88
Şekil 42. Karşılaştırmalı çözünme hızı profil grafiği 88

TABLOLAR

Tablo 1. BCS Sınıf I, II, III ve IV etkin maddelerin özellikleri ve tasarlanmış dozaj formları .6
Tablo 2. Mikroemülsiyon sistemlerin bileşenleri 10
Tablo 3. Emülsiyon, mikroemülsiyon ve nanoemülsiyon arasındaki farklılıklar..... 12
Tablo 4. HLB değerlerine göre suda dağılım ve uygulamaları 12
Tablo 5. Bazı etkin maddelerin oral yoldan verilmesi için tasarlanmış kendiliğinden emülsifiye olabilen sistem örnekleri..... 17
Tablo 6. Siklosporin içeren preparatlar 22
Tablo 7. Fujicalin® genel özellikleri..... 25
Tablo 8. Neusilin® genel özellikleri 28
Tablo 9. Siklosporin çözünürlük çalışması programı..... 40
Tablo 10. Kendiliğinden emülsifiye olabilen plasebo çözelti formülasyon oranları..... 41
Tablo 11. Etkin madde içeren kendiliğinden emülsifiye olabilen çözelti formülasyon oranları 42
Tablo 12. Kendiliğinden emülsifiye olabilen katı dozaj formu formülasyon oranları 47
Tablo 13. Carr indeksi ve Housner oranının kabul kriterleri..... 49
Tablo 14. Akış özellikleri ile ilgili yığın açıları 50
Tablo 15. Seçicilik sonuçları 52
Tablo 16. Doğrusallık sonuçları 54
Tablo 17. Çalışma aralığı sonuçları..... 55
Tablo 18. Doğruluk sonuçları..... 56
Tablo 19. Sistem kesinliği sonuçları..... 56
Tablo 20. Kesinlik tekrarlanabilirlik sonuçları..... 57
Tablo 21. Siklosporin çözünürlük çalışması sonuçları..... 65
Tablo 21. Etkin madde yükleme sonrası emülsiyon kararlılık durumları 66
Tablo 22. F3 formülasyonu partikül boyutu ve polidispersite indeks sonuçları 69
Tablo 23. F3 formülasyonu 50rpm çözünme hızı profil sonuçları..... 70
Tablo 24. F8-Toz, F8-Kapsül, F9-Toz ve F9-Kapsül görünüş sonuçları 71
Tablo 25. F8 ve F9 formülasyonları için bulk yoğunluk, sıkıştırılmış yoğunluk, carr indexve hausner oranı sonuçları..... 73
Tablo 26. F8 ve F9 formülasyonlarının miktar tayini sonuçları..... 76
Tablo 27. F8 formülasyonu 50rpm çözünme hızı profil sonuçları..... 76
Tablo 28. F8 formülasyonu 75rpm çözünme hızı profil sonuçları..... 77
Tablo 29. F8 formülasyonu 100rpm çözünme hızı profil sonuçları..... 77

Tablo 30. F9 formülasyonu 50rpm çözünme hızı profil sonuçları 78
Tablo 31. F9 formülasyonu 75rpm çözünme hızı profil sonuçları 79
Tablo 32. F9 formülasyonu 100rpm çözünme hızı profil sonuçları 79
Tablo 33. F8-Toz, F8-Kapsül, F9-Toz ve F9-Kapsül görünüş sonuçları 81
Tablo 34. F8 ve F9 formülasyonlarının su miktarı sonuçları 82
Tablo 35. F8 ve F9 formülasyonları için dağılma hızı sonuçları 84
Tablo 36. F8 veF9 formülasyonlarının miktar tayini sonuçları 84
Tablo 37. F8 formülasyonu 75rpm çözünme hızı profil sonuçları (25 ±2°C ve %60 ± 5) 85
Tablo 38. F8 formülasyonu 75rpm çözünme hızı profil sonuçları (40 ±2°C ve %75 ± 5) 85
Tablo 39. F9 formülasyonu 75rpm çözünme hızı profil sonuçları (25 ±2°C ve %60 ± 5) 86
Tablo 40. F9 formülasyonu 75rpm çözünme hızı profil sonuçları (40 ±2°C ve %75 ± 5) 87
Tablo 41. Tek yönlü varyans analizi değerlendirme tablosu 89
Tablo 42. F8 ve F9 formülasyonlarının karşılaştırmalı miktar tayini sonuçları 89
Tablo 43. F8 ve F9 formülasyonlarının karşılaştırmalı çözünme hızı miktar tayini sonuçları 90
Tablo 44. F8 ve F9 formülasyonlarının miktar tayini için tek yönlü varyans analiz sonuçları 90
Tablo 45. F8 ve F9 formülasyonlarının çözünme hızı miktar tayini için tek yönlü varyans analiz sonuçları 90

ÖZGEÇMİŞ

24 Mart 1985 tarihinde Bolu'da doğdum. İlköğretimimi Gazipaşa İlköğretim Okulu'nda tamamladım. Lise öğrenimimi Bolu Atatürk Lise'sinden mezun olduktan sonra 2004 yılında Trakya Üniversitesi Kimya Bölümünü kazandım. 2004-2008 yılları arasında lisans eğitimimi tamamladım.2009-2010 yılları arasında Alpplas Endüstiriyel Yatırımlar A.Ş. şirketinde ürün proses sorumlusu olarak çalıştım. 2011-2012 yılları arasında Nobel İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş. şirketinde kalite kontrol bölümünde kimyager olarak çalıştım. 2012 yılından itibaren Deva Holding A.Ş. ARGE bölümünde analitik geliştirme bölümü ve sonrasında farmasötik geliştirme bölümünde ve üretim mükemmelliği bölümünde çalışmaya devam etmekteyim. 2018 Bahar döneminde Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Nanoteknoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına başladım.