SOUSAN SANAEI OSKOUEI

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2020

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak .

↓

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ; Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

POSAKONAZOL'UN MİKROEMÜLSİYONLARININ HAZIRLANMASI VE OPTİMİZASYONU

SOUSAN SANAEI OSKOUEI

DANIŞMAN
PROF. DR. AHMET OĞUL ARAMAN

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI/

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Sousan Sanaei Oskouei



İTHAF

Bilgi ve sevgi donanımları ile beni yetiştiren, doktoraya baş vurduğumda yanımda olan ama bu çalışmanın tamamlandığını göremeyen, her türlü sıkıntıma katlanan ve hakkını ödeyemediğim fedakar anneme, başarısına, çalışkanlığına, bilgisine, tecrübesine, ahlakına, dostluğuna, bana güvenmekten ve inanmaktan vazgeçmeyen benim için severek emek veren ve hayatım boyunca arkamdaki en büyük destek olan babama ve benim en zor günlerimde bana her zaman inanan, her konuda beni destekleyen, her zaman yakınımda olan, bu çalışma sırasında da destek ve yardımlarını her zaman hisstettiğim değerli kardeşlerim Sasan ve Safa'ya ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim başladığında bana çok büyük katkıda bulunan ve eğitimim boyunca beni sürekli destekleyen ve motive eden özellikle tez aşamasında, samimi ve önemli katkıları sunan eski Eczacılık Fakültesi Dekanı ve şimdi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Ahmet Oğul Araman'a teşekkürü bir borç bilirim.

Araştırma konumun belirlenmesi ve araştırmanın şekillenmesinde, Doktora eğitimimin başlangıcında annemi kaybettiğim zamandan şimdiye kadar beni sürekli motive eden, tez aşamasında ve tüm bu çalışmanın ortaya çıkmasında, üzerimdeki emeklerini hiçbir zaman unutmayacağım hocam Sn. Prof. Dr. Yıldız Özsoy Erginer'e çok teşekkür ederim.

Tez çalışması sırasında destek ve yardımlarını esirgemeyen hocalarım Sevgi hocaya, Sedef hocaya, Ümit hocaya,

Yardım ve desteklerinden dolayı Eczacılık Fakültesi Dekanı Sn. Prof. Dr. Erdal Cevher'e,

Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı'nın tüm hocalarına, personeline, araştırma görevlilerine,

Benim için severek emek veren herkese,

Doktora eğitimim boyunca beni sürekli destekleyen, emeklerini hiçbir zaman esirgemeyerek her zaman yanımda olan, her şeyimi borçlu olduğum güzide insanlar babama, sevgiyle ve rahmetle emeklerini hiçbir zaman karşılayamayacağım anneme, kardeşim Sasan ve kız kardeşim Safa ve sevgili yeğenlerim Sylvia ve Viyana olmak üzeri tüm aileme, sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI II

BEYAN III

ITHAF IV

TEŞEKKÜR V

IÇINDEKILER VI

TABLOLAR LISTESI XIII

ŞEKILLER LISTESI XVII

SEMBOLLER / KISALTMALAR LISTESI XX

ÖZET XXII

ABSTRACT XXIII

ZUSAMMENFASSUNG / RESUME XXIV

1. GIRIŞ VE AMAÇ 1

2. GENEL BILGILER 6

2.1. NANOEMÜLSIYONLAR 14

2.2. POSACONAZOLE 21

2.3. MIKROEMÜLSIYONLARIN VE NANOEMÜLSIYONLARIN BILEŞENLERI 31

2.3.1. Yağ / lipidler 31

2.3.2. Sürfaktanlar ve Ko Sürfaktanlar (yardımcı sürfaktanlar) 34

2.3.2.1. Tween 80 39

2.3.2.2. Labrasol 39

2.3.2.3. Kollifor EL (Cremophor EL) 40

2.3.2.4. Transcutol P 40

2.3.2.5. PEG 400 (polietilen glikol 400) 41

2.4. ÇÖZÜNÜRLÜK ÇALIŞMASI 41

2.5. NANOEMÜLSIYONLARIN/MIKROEMÜLSIYONLARIN İMALATI 43

2.5.1. Yapı ve Kompozisyon (Yapı ve Bileşim) 45

2.6. SÜRFAKTANIN ETKISI 47

2.7. YÜKSEK ENERJILI VE DÜŞÜK ENERJILI EMÜLSIFIKASYON 49
2.7.1. Yüksek Enerjili Emülsifikasyon Yöntemi 49
2.7.1.1. Yüksek Basınçlı Homojenizasyon (HPH) Yöntemi 50
2.7.1.2. Mikrofluidize 50
2.7.1.3. Piston Aralığı Homojenizatör 51
2.7.1.4. Ultrasonikasiyon (Ultrasonication) 51
2.7.2. Düşük Enerjili Emülsifikasyon Yöntemi 52
2.7.2.1. Spontan Emülsifikasyon 53
Spontan Emülsifikasyonun Nasıl Oluşduğu 53
2.7.2.2. Faz geçiş sıcaklığı (PIT) yöntemi 54
2.7.2.3. Lipofilik solvent yöntemi 54
2.7.2.4. Membran emülsifikasyonu 54
2.8. MIKROEMÜLSIYONLARIN / NANOEMÜLSIYONLARIN İN VITRO KARAKTERIZASYONU 54
2.9. ÜÇGEN FAZ DIYAGRAMI 55
2.10. MIKROEMÜLSIYON/NANOEMÜLSIYON BILEŞENLERININ SEÇIMI VE HLB DEĞERI 57
2.11. TERMODINAMIK, SANTRIFÜJLEME, PH'A BAĞLI VE REOLOJIK STABILITE ÇALIŞMALARI 59
2.12. MIKROEMÜLSIYONLARIN/NANOEMÜLSIYONLARIN UYGULAMA YOLLARI 61
2.12.1. Oral ilaç verilmesi 61
2.12.2. Parenteral yoldan ilaç verilmesi 66
2.12.3. Topikal 67
2.12.4. Oküler ve pulmoner ilaç iletimi 68
2.12.5. Nasal Yulu 69
2.13. NANOEMÜLSIYONLAR TICARI VE KLINIK BORU HATTINDA 70
2.14. NANOEMÜLSIYONLARIN ENDÜSTRIYEL ÖLÇEKLENEBILIRLIĞI İÇIN YOL HARITASI 71
2.15. MIKROMÜLSIYONLARDA/NANOEMÜLSIYONLARDA YAPILAN ÖLÇÜMLER 71
2.15.1. Partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksinin belirlenmesi 71
2.15.2. Zeta Potansiyel 72
2.16. İLAÇ SALIMI 74
2.17. İN VITRO İLAÇ SALIM ÇALIŞMASI 79

2.18. İN VITRO İN VIVO KORELASYON 80
2.19. DIYALIZ MEMBRAN 81
2.20. YARI KATI NANOEMÜLSIFIYE EDICI İLAÇ TAŞIYICI SISTEMLER 81
3. GEREÇ VE YÖNTEM 83
3.1. GEREÇLER 83
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler 83
3.1.2. Kullanılan Cihazlar 84
3.1.3. Kullanılan Malzemeler 84
3.1.4. Kullanılan Bilgisayar Programları 85
3.2. YÖNTEMLER 86
3.2.1. Ön Formülasyon Çalışmaları 86
3.2.1.1. Posakonazulun UV Spektrofotometrede Miktar Tayini Yönteminin Validasyon Çalışmaları 86
3.2.1.2. Standart Örneklerin Hazırlanması .....
3.2.2. Posakonazulun Çözünürlük Çalışmaları 87
3.2.2.1. Posaconazolun Çözünme oranı (Disolution Rate) .....
3.2.2.2. Etkin Maddenin Mikroemülsiyon Bileşenlerindeki Çözünürlük Çalışmaları .....
3.2.2.3. Posakonazulun PEG 200 ve Su, PG ve Su ile Fraksiyonel Çözünürlük Çalışmaları .....
3.2.2.4. Posaconazulun Farklı pH'larda çözünürlük çalışmaları .....
3.2.2.5. PSC'un FTIR Spektrumu .....
3.2.2.6. PSC'un Erime Derecesinin Tayin Edilmesi 86
3.2.2.7. Etkin Madde Yüklenmemiş Mikroemülsiyonların Emülsifikasyon Süresinin Tayin Edilmesi 93
3.2.3. Etkin Madde Yüklenmemiş Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Optimizasyon Çalışmaları (Kendiliğinden Emülsifiye Olan Yöntemlerle Yapılam Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Optimizasyon Çalışmaları) 92
3.2.3.1. Ön Formülasyon Çalışmaları / Üçgen Faz Diagramları 92
3.2.3.2. Mikroemülsiyonların Seçilmesi .....
3.2.4. Posakonazol Yüklenmiş Mikroemülsiyonların Optimizasyon Çalışmaları 100
3.2.5. Etkin Madde Yüklü Mikroemülsiyonların Karakterizasyon Çalışmaları 101
3.2.5.1. Fiziksel Görünüş 101

3.2.5.2. pH..... 102
3.2.5.3. Damlacık Boyutu ve Polidispersite Indeksi..... 102
3.2.5.4. Zeta Potansiyeli..... 102
3.2.6. Devam Edilen ve Uygun Bulunan Formülasyonların Bileşenleri, Oranları, Polidispersite İndeksi, damlacık boyutu, Zeta Potensiyel ve pH değerleri .....
3.2.7. Tez Kapsamında Devam Edilen ve Uygun Bulunan Formülasyonlarda Çözünen Posaconazol Miktarı 102
3.2.8. Seçilen ve Uygun Bulunan Mikroemülsiyonlara Eklenen Gereken PSC'un (Doz) Miktarinin Tayini (Mikroemülsiyonların Yükleme Kapasitesi)..... 103
3.2.9. UV Spektrofotometrede Seçilen ve Uygun Bulunan Mikroemülsiyonlarda PSC'un Yüklenen Miktarı ve Yüzdesinin Tayini.....
3.2.10. Mikroemülsiyonların (Kendiliğinden Emülsifiye Olabilen Sistemlerin) Selofan Membrandan (Diyaliz Membrandan) Salım Çalışmaları..... 103
3.2.10.1. Seçilen ve Üretilen Mikroemülsiyonların UV Spektrofotometre Kullanılarak Selofan (Diyaliz) Membrandan Geçiş Çalışması..... 103
3.2.10.2. PSC'unYüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) kullanılarak Miktar Tayini .....
3.2.10.3. In Vitro Salım Çalışmasının Devamında Yuksek Basınclı Sıvı Kromatografi (HPLC) kullanılarak üretilen mikroemülsiyonların Diyaliz membrandan Geçiş Çalışması.....
3.2.11. Uygun Bulunan ve PSC Yuklu Mikroemülsiyonların Stabilite Çalışmaları..... 105
3.2.12. Üretilen Formülasyonların Piyasada Mevcut Olan Ürünle Kıyaslanması .....
4. BULGULAR.....
4.1. ÖN FORMÜLASYON ÇALIŞMA BULGULARI .....
4.1.1. Posaconazulun kalibrasyon Doğrusu Grafiği.....
4.1.2. Posakonazolun Mikroemülsiyon Bileşenlerindeki Çözünürlük Çalışmalarına Ait Bulgular.....
4.1.3. Posaconazolun Farklı pH'larda (pH 1,2 ; pH 4,5 ve pH 6,8) Çözünürlüğüna Ait Bulgular .....
4.1.4. Optimizasyon Çalışmaların Devamında Posakonazolun Boş Mikroemülsiyonlarda Çözünürlüğüne Ait Bulgular.....
4.1.5. PSC'un FTIR Spektrum Bulgusu .....
4.2. POSAKONAZOL YÜKLENMEMIŞ MIKROEMÜLSIYON FORMÜLASYONLARININ OPTIMIZASYON ÇALIŞMALARINA AIT BULGULAR .....
4.2.1. Üçgen Faz Diyagramlarının Çizilmesine Ait Bulgular .....

4.2.1.1. Yağ fazı olarak Oleik asit, Labrasol sürfaktan olarak ve Transcutol P kosürfaktan olarak kullanılmış ve saf su ile faz diyagramları oluşturulmuştur.117
4.2.1.2. Oleik asit yağ fazı olarak, Tween 20 sürfaktan olarak ve Transcutol P kosürfaktan olarak kullanılmış ve saf su ile faz diyagramları oluşturulmuştur.119
4.2.1.3. Yağ fazı olarak Oleik asit, Labrasol ve Cremophor EL sürfaktan olarak ve Transcutol P kosürfaktan olarak kullanılmış ve saf su ile faz diyagramları oluşturulmuştur. Bu 120
4.2.2. Mikroemülsiyonların Seçilmesine Ait Bulgular .....
4.2.2.1. Seçilen Mikroemülsiyonların Etkin madde Yükledikten Sonra Kodlanmaları .....
4.2.3. Etkin madde Yüklenmemiş Mikroemülsiyonların ve Etkin Madde Yüklenmiş Mikroemülsiyonların Stabilite Çalışmalarına Ait Bulgular.....
4.2.3.1. Fiziksel Görünüş .....
4.2.3.2. pH.....
4.2.3.3. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi.....
4.2.3.4. Zeta Potansiyeli.....
4.2.3.5. Uygun Bulunan ve Seçilen Formülasyonların Bileşenleri, oranları, Damlacık Boyutları, PDI, Zeta Potensiyeli ve pH değerleri.....
4.2.3.6. Devam Edilen ve Uygun Bulunan Mikroemülsiyonlarda Çözünen Posaconazol Miktarı .....
4.2.3.7. Seçilen ve Uygun Bulunan Mikroemülsiyonlara Eklenen PSC'un (DOZ) miktarı (Yüklenen Kapasitesi).....
4.2.3.8. UV Spektrofotometrede Seçilen ve Uygun Bulunan Mikroemülsiyonlarda Yüklenen PSC'un Yüzdesi.....
4.2.3.9. Salım Çalışmsında Etken Maddenin Geçişine Yardımcı Madde Olarak Labrasolun Kullanımı .....
4.2.3.10. UV Spektrofotometrede Kendiliğinden Emülsifiye olabilen Formülasyonların Selofan (Diyaliz) membrandan salım çalışması.....
4.2.3.11. Yüksek Basınçılı Kromatografi (HPLC) Yöntemin Validasyon Çalışması.....
4.2.3.12. HPLC Yöntemile Üretilen Mikroemülsiyonların Diyaliz Membrandan İn vitro Salım Çalışmaları.....

4.2.3.13. Uygun Bulunan ve Seçilen Etkin madde Yüklü (PSC) .....
4.2.3.14. UV Spektrofotometrede Üretilen ve Seçilen Mikroemülsiyonların Miktar Tayini .....
4.2.3.15. Üretilen Formülasyonların Piyasada Mevcut olan ürünle Kıyaslanması.

5. TARTIŞMA 154

5.1. PSC'UN ÇÖZÜNÜRLÜK ÇALIŞMASI 164
5.2. PSC'UN FARKLI PH'LARDA (PH 1,2 ; PH 4,5 VE PH 6,8) ÇÖZÜNÜRLÜĞÜ 165
5.3. PSC'UN OPTIMIZSYON ÇALIŞMASI 165
5.4. ÖN FORMÜLASYONUN OPTIMIZASYON ÇALIŞMASINDA / ÜÇGEN FAZ DIAGRAM ÇALIŞMALARI 168
5.5. MIKROEMÜLSIYONLARIN SEÇIMI 168
5.6. MIKROEMÜLSIYONLARIN KARAKTERIZASYON ÇALIŞMALARI 170
5.6.1. Fiziksel Görünüşün Değerlendirilmesi 171
5.6.2. pH Ölçümü 171
5.6.3. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli 171
5.7. UYGUN BULUNAN VE SEÇILEN FORMÜLASYONLAR (NIHAI SEÇILEN FORMÜLASYONLAR) 173
5.7.1. Nihai Devam Edilen ve Uygun Bulunan Mikroemülsiyonlarda Çözünen Posakonazol Miktarı 174
5.7.2. Seçilen ve Uygun Bulunan Mikroemülsiyonlara Eklenen PSC'un (DOZ) miktarı (Yükleme Kapasitesi) 175
5.8. İN VITRO SALINIM ÇALIŞMASINDA ETKEN MADDENIN GEÇIŞINE YARDIMCI MADDELERIN KULLANIMI 176
5.8.1. İn Vitro Salım Çalışması 177
5.9. YÜKSEK BASINÇILI KROMATOGRAFI (HPLC) YÖNTEMIN VALIDASYON ÇALIŞMASI 180
5.10. HPLC YÖNTEMILE ÜRETILEN MIKROEMÜLSIYONLARIN DIYALIZ MEMBRANDAN İN VITRO SALIM ÇALIŞMALARI 181
5.11. UYGUN BULUNAN VE SEÇILEN ETKIN MADDE YÜKLÜ (PSC) MIKROEMÜLSIYONLARIN STABILITE ÇALIŞMALARI 182
5.11.1. Fiziksel Görünüm 182
5.11.2. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı 182
5.11.3. Zeta Potansiyel 184
5.11.4. pH Ölçümü 184

5.11.5. UV Spektrofotometrede Üretilen ve Seçilen Mikroemülsiyonların Miktar Tayini 184
5.12. ÜRETILEN FORMÜLASYONLARIN PIYASADA MEVCUT OLAN ÜRÜNLE KIYASLANMASI 185
5.13. SONUÇ 192
6. KAYNAKLAR 195
HAM VERILER 216
FORMLAR 217
ETIK KURUL KARARI 218
PATENT HAKKI IZNI 219
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 220
ÖZGEÇMIŞ 221

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Mikroemülsiyonlarda ve nanoemülsiyonlarda kullanılan yağlar 32
Tablo 2-2 : Nanoemülsiyonlarda ve Mikroemülsiyonlarda kullanılan Sürfaktanlar 35
Tablo 2-3: Nanoemülsiyonlarda ve Mikroemülsiyonlarda kullanılan kosürfaktanl 38
Tablo 3-1: Etkin maddenin mikroemülsiyon bileşenlerindeki çözünürlük çalışmasında kullanılan yardımcı maddeler .....
Tablo 3-2: Mikroemülsiyonların formülasyon çalışmalarında kullanılan bileşenler (yağ, sürfaktan, kosürfaktan ve oranları) 95
Tablo 3-3: Mikremülsiyonların formülasyon çalışmalarında kullanılan yağ, sürfaktan ve kosürfaktan oranlarının isimlendirmesi (kodlandırılması) 95
Tablo 3-4: Sadece bir tane sürfaktan ve bir tane kosürfaktan içeren mikroemülsiyon formülasyonları 96
Tablo 3-5: İki sürfaktan içeren mikroemülsiyon formülasyonları 98
Tablo 3-6: İki Kosürfaktan içeren mikroemülsiyon formülasyonları 99
Tablo 3-7: Yağ olarak Peceol, Sürfaktan ve kosürfaktan olarak Labrasol ve Transcutol P içeren mikroemülsiyona ait oranları, damlacık boyutu, PDI ve pH sı. .....
Tablo3-8: Farklı PBS fosfat tampon çözeltileri farklı pH'larda UV Spektrofotometrede absorbansları: 104
Tablo 3-9: PSC'un HPLC yöntemile miktar tayininde kullanılan koşular .....
Tablo 3-10: HPLC validasyon çalışmasının doğrusallığını incelemek amacıyla hazırlanan çözeltilerin ve kullanılan stok çözeltilerin konsantrasyon ve miktarları .....
Tablo 4-1: Doğrusalık verileri .....
Tablo 4-2: Posaconazolun PEG 200 ve Su karışımındaki çözünürlüğüne ait miktarlar .....
Tablo 4-3: Posaconazolun PG ve Su karışımındaki çözünürlüğüne ait miktarlar (Fraksiyonel çalışmalar) .....
Tablo 4-4: Posakonazolun Farklı pH'larda Çözünürlüğüne ait miktarlar (mg/ml) .....
Tablo 4-5: Optimizasyon çalışması esnasında seçilen mikroemülsiyonlarda PSC'un çözünen miktarı 127
Tablo 4-6: Tek sürfaktan ve kosürfaktan içeren mikroemülsiyonların damlacık boyutu ve dağılımı (PDI) sonuçları 122

Tablo 4-7: İki sürfaktan içeren mikroemülsiyonların damlacık boyutu ve dağılımları (PDI) 123
Tablo 4-8: İki kosürfaktan içeren mikroemülsiyonların damlacık boyutu ve dağılımları (PDI) 123
Tablo 4-9: Yağ fazı oleik asit, Labrasol : TranscutolP oranı 1:1 olan mikroemülsiyonlara ait üçgen faz diyagramlarının çizilebilmesi için kullanılan formülasyon bileşenleri ile yüzde miktarları 118
Tablo 4-10: Yağ fazı Oleic asit, Tween 20:Transcutol P oranı 1:1 olan mikroemülsiyonlara ait üçgen faz diyagramlarının çizilebilmesi için kullanılan formülasyon bileşenleri ile yüzde miktarları 119
Tablo 4-11: Yağ fazı Oleik asit, Labrasol-Cremophor EL:Transcutol P oranı 1:1 olan mikroemülsiyonlara ait üçgen faz diyagramlarının çizilebilmesi için kullanılan formülasyon bileşenleri ile yüzde miktarları 120
Tablo 4-12: Seçilen tek sürfaktanlı ve tek kosürfaktanlı mikroemülsiyonlara ait formülasyon bileşenlerinin yüzdeleri..... 124
Tablo 4-13: Seçilen iki sürfaktanlı mikroemülsiyonlara ait formülasyon bileşenlerinin yüzdeleri..... 124
Tablo 4-14: Seçilen iki kosürfaktanlı mikroemülsiyonlara ait formülasyon bileşenlerinin yüzdeleri..... 125
Tablo 4-15: Etkin madde yüklenmiş mikroemülsiyonların kodlanması..... 125
Tablo 4-16: Etkin madde yüklenmemiş mikroemülsiyonların 4 ay boyunca stabil kabinide beklendikten sonra görsel açıdan değerlendirmeleri..... 128
Tablo 4-17: Etkin madde yüklenmiş mikroemülsiyonların 4 ay stabil kabininde bekledikten sonra görsel açıdan değerlendirmeleri 129
Tablo 4-18: Posakonazol yüklenmiş mikroemülsiyonların pH değerleri 25°C
Tablo 4-19: Posakonazol yüklü mikroemülsiyonların Damlacık Boyutu ve PDI değerleri
Tablo 4-20: Posakonazol yüklü mikroemülsiyonların zeta potansiyel değerleri.....
Tablo 344-21: Uygun bulunan ve seçilen mikroemülsiyonların bileşenleri ve oranları 130
Tablo 4-22: Uygun bulunan ve seçilen mikroemülsiyonların damlacık boyutları ve PDI (boş ve yüklü mikroemülsiyonlar) 132
Tablo 4-23: Uygun bulunan ve seçilen mikroemülsiyonların pH değerleri 25°C (Boş ve PSC yüklü mikroemülsiyonlar) 132

Tablo 4-24: Uygun bulunan ve seçilen mikroemülsiyonların zeta potensiyeli (Boş ve PSC yüklü mikroemülsiyonlar) 135
Tablo 4-25: Posaconazolun uygun bulunan ve seçilen mikroemülsiyonlarda çözünürlüğü mg/ml 136
Tablo 4-26: Uygun bulunan mikroemülsiyonlara eklenen PSC (DOZ) miktarı mg/ml (Etkinlik kapasitesi) 137
Tablo 4-27: UV Spektrofotometre kullanılarak her bir mikroemülsiyon için yüklenen PSC miktarının yüzdesi 138
Tablo 4-28: UV Spektrofotometrede P.3 kodlu mikroemülsiyonun geçişine yardımcı madde olarak labrasolun kullanımı, bu salım çalışmasında PSC'un konsantrasyonu mg/ml olarak ve yüzdesi 140
Tablo 4-29: UV Spektrofotometrede üretilen P.1 formülasyonda PSC'un salım çalışmasına ait sonuçlar (PBS pH=6,8 ve %1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi 142
Tablo 4-30: UV Spektrofotometrede üretilen P.3 formülasyonun salım çalışmasına ait sonuçlar (PBS pH=6,8 ve %1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi).....
Tablo 4-31: UV Spektrofotometrede üretilen P.6 formülasyonun salım çalışmasına ait sonuçlar (PBS pH=6,8 ve %1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi).....
Tablo 4-32: UV Spektrofotometrede üretilen P.8 formülasyonun salım çalışmasına ait sonuçlar (PBS pH=6,8 ve %1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi).....
Tablo 4-33: UV Spektrofotometrede üretilen P.9 formülasyonun salım çalışmasına ait sonuçlar (PBS pH=6,8 ve %1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi).....
Tablo 4-34: UV Spektrofotometrede yapılan ve üretilen formülasyonlarda PSC'un salım çalışmasına ait sonuçlar (PBS pH=6,8 ve %1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi .....
Tablo 4-35: PSC'un yuksek basınçlı kromatografi (HPLC) yöntem ile miktar tayini validasyonun doğrusallık verilerine ait bulgular .....
Tablo 4-36: PSC'un HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyon çalışmasında doğruluk değerlerine ait sonuçlar.....
Tablo 4-37: PSC'un HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyonu çalışmasında günler içi kesinlik değerlere ait sonuçlar .....
Tablo 4-38: PSC'un HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyon çalışmasında günler arası kesinlik değerleri.....
Tablo 4-39: Teşhis edilebilirlik limiti ve Hesaplanabilirlik limiti.....
Tablo 4-40: PSC'un HPLC yöntemi ile miktar tayininin stabilitesine ait değerler.....

Tablo 4-41: HPLC yöntemile üretilen mikroemülsiyonların diyaliz membrandan salım çalışmalarına ait sonuçlar..... 147
Tablo 4-42: Stabilite çalışması sonrasında seçilen etkin madde yüklü mikroemülsiyonların fiziksel görünümleri .....
Tablo 4-43: Stabilite çalışması esnasında seçilen ve uygun bulunan mikroemülsiyonların Partikül büyüklüğü ve PDI (polidispersite indeksine) ait bulgular 149
Tablo 4-44: Stabilite çalışması esnasında seçilen ve uygun bulunan etkin madde yüklü mikroemülsiyonların Partikül büyüklüğü ve PDI ait bulgular..... 149
Tablo 4-45: Stabilite çalışması esnasında zeta potansiyel ölçümüne ait bulgular..... 150
Tablo 4-46: Stabilite çalışması esnasında pH ölçümünü ait bulgular..... 150
Tablo 4-47: UV Spektrofotometrede üretilen ve seçilen mikroemülsiyonların miktar tayinine ait sonuçlar..... 151
Tablo 4-48: Piyasada PSC içeren mevcut olan ürün Noxafilin (Süspansiyon 40 mg/ml PSC içerir) antifungal testlerine ait sonuçlar .....
Tablo 4-49: P.1 formülasyona (mikroemülsiyona) ait antifungal testlerin sonuçları .....
Tablo 4-50: P.8 formülasyona (mikroemülsiyona) ait antifungal testlerin sonuçları .....
Tablo4-51: P.9 formülasyona (mikroemülsiyona) ait antifungal testlerin sonuçları .....
Tablo 4-52: Üretilen P.1 formülasyonun ve piyasadaki mevcut olan Noxafilin antifungal testlerin analizlerine ve sonuçlarına göre karşılıştirilmasi.....
Tablo 4-53: Üretilen P.8 formülasyonun ve piyasadaki mevcut olan Noxafilin antifungal testlerin analizlerine ve sonuçlarına göre karşılıştirilmasi
Tablo 4-54: Üretilen P.9 formülasyonun ve piyasadaki mevcut olan Noxafilin antifungal testlerin analizlerine ve sonuçlarına göre karşılıştirilma

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Nanoemülsiyonlar, İsveç SP Teknik Araştırma Enstitüsü (eski YKI, Yüzey Kimyası Enstitüsü) Kimya, Malzeme ve Yüzeyler biriminin izniyle kullanılmıştır. Http://www.vironova.com/nanoemulsions-casebody aracılığıyla elde edildi. Erişim tarihi 27 Nisan 2014 (6). 10
Şekil 2-2: Bir O / W veya bir W / O nanoemülsiyonunun yapısı. 18
Şekil2-3: Posaconazolun yapısı 23
Şekil2-4. Posakonazol ve itrakonazolün yapısı (Internal standard). 26
Şekil 2-5: GI kanalında meydana gelen ve nanoemülsiyonun veya yükünün emilimine yol açan olaylara ilişkin bir içgörüntüsü. 64
Şekil 4-1: Kalibrasyon doğrusu grafiği .....
Şekil 4-2: Posakonazulun yardımcı maddelerdeki çözünürlüğ
Şekil 4-3: Posakonazolün PEG 200 + Su karışımındaki çözünürlüğü (g / L)
Şekil 4-4: Posaconazulun PG ve Su karışımındaki çözünürlüğüne ait grafiğ
Şekil 4-5: Posaconazolun Farklı pH'larda Çözünürlüğüne ait grafiği .....
Şekil 4-6: Optimizasyon çalışmasının esnasında mikroemülsiyonlarda PSC'un çözünen miktarı mg/ml 127
Şekil 4-7: PSC'un FTIR Spektrumuna ait grafiği 107
Şekil 4-8: Yağ fazı Oleik asit, Labrasol ve Transcutol P oranı 1:1 olan mikroemülsiyonlara ait üçgen faz diyagramI 118
Şekil 4-9: Oleic asit, Tween 20 ve Transcutol P (1:1) içeren mikroemülsiyona ait üçgen faz diyagramı 120
Şekil 4-10: Oleik asit yağ fazı olarak, Labrasol-Cremophor El:Transcutol P oranı 1:1 olan mikroemülsiyonlara ait üçgen faz diyagramı 121
Şekil 4-11: P.1 Boş mikroemülsiyonun(etkin madde yüklemeden) partikül büyüklüğü ve dağılımına ait grafiği (Zetasizerden alınmış) 133
Şekil 4-12: P.1 PSC yüklü mikroemülsiyonun partikül büyüklüğü ve dağılımına ait grafiği .....**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
Şekil 4-13: P.3 PSC yüklü mikroemülsiyonun partikül büyüklüğü ve dağılımına ait zetasizerden alınan grafiği 134

Şekil 4-14: P.8 PSC yüklü mikroemülsiyonun partikül büyüklüğü ve dağılımına ait zetasizerden alınan grafiği 134
Şekil 4-15: P.9 PSC yüklü mikroemülsiyonun partikül büyüklüğü ve dağılımına ait zetasizerden alınan grafiği 135
Şekil 4-16: Posaconazolun P.1, P.3, P.6, P.8, P.9 ve P.12'de çözünen miktarı mg/ml 136
Şekil 4-17: Uygun bulunan mikroemülsiyonlara eklenen PSC (DOZ) miktarı mg/ml olarak grafiği (yüklenen kapasitesi)..... 137
Şekil 4-18: Seçilen mikroemülsiyonlara eklenen PSC (DOZ) miktarı g/ml ve mg/ml olarak grafiği..... 138
Şekil 4-19: UV Spektrofotometre kullanılarak her bir mikroemülsiyon için yüklenen PSC miktarının yüzdesinin grafiği..... 139
Şekil 4-20: P.3 kodlu mikroeülsiyonda salım çalışmasında yardımcı madde olarak labrasolun kullanımı ve zamana karşı konsantrasyon grafiği..... 140
Şekil 4-21: Hazırlanan ve üretilen mikroemülsiyonların zamana karşı % 1.7 SLS içeren fosfat tamponla diyaliz membrandan % salım çalışmasına ait grafiği 141
Şekil 4-22: UV Spektrofotometrede üretilen P.1 formülasyonun zamana karşı % salım grafiği (%1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi).....
Şekil 4-23: UV Spektrofotometrede üretilen P.3 formülasyonun zamana karşı % salım grafiği (%1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi).....
Şekil 4-24: UV Spektrofotometrede üretilen P.6 formülasyonun zamana karşı % salım grafiği (%1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi).....
Şekil 4-25: UV Spektrofotometrede üretilen P.8 formülasyonun zamana karşı % salım grafiği (%1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi).....
Şekil 4-26: UV Spektrofotometrede üretilen P.9 formülasyonun zamana karşı % salım grafiği (%1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi).....
Şekil 4-27: UV Spektrofotometrede üretilen formülasyonların zamana karşı % salım grafiği (%1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi).....
Şekil 4-28: PSC'un kalibrasyon doğrusuna ait grafigi ve denklemi
Şekil 4-29: HPLC yöntemile üretilen formülasyonların zamana karşı % salım grafiği 147
Şekil 4-30: Piyasada PSC içeren mevcut olan ürün Noxafil (süspansiyon 40 mg/ml PSC içerir) antifungal testlerine ait grafiği .....
Şekil 4-31: P.1 Formülasyona (Mikroemülsiyona ait antifungal testlerin grafiği .....
Şekil 4-32: P.8 Formülasyona (Mikroemülsiyona) ait antifungal testlerin grafiği.....

Şekil 4-33: P.9 Formülasyona (Mikroemülsiyona) ait antifungal testlerin grafiği.....
Şekil 5-1: P.12 PSC yüklü mikroemülsiyonun partikül büyüklüğü ve dağılımına ait grafiği..... 175

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

g:	Gram
mg:	Miligram
µg:	Mikrogram
ng:	Nanogram
L:	Litre
ml:	Mililitre
µl:	Mikrolitre
^{o}C:	Santigrat derece
mM:	Mili Molar
PSC:	Posakonazol
ITC:	İtrakonazol
VRC:	Vorikonazol
FLC:	Flukonazol
UV:	Ultra Violet
PDI:	Poli Dispersite İndeksi
FDA:	Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (Food and Drug Administration)
BCS:	Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi
HLB:	Hidrofilik Lipofilik Balans
S:	Sürfaktan
CoS:	Kosürfaktan
SEDD:	Kendiliğinden Emülsiyon Oluşturabilen Sistemler
SEDDS:	Kendi Kendine Emülsifiye Edici
SMEDD:	Kendiliğinden Mikroemülsiyon Oluşturabilen Sistemler
SNEDD:	Kendiliğinden Nanoemülsiyon Oluşturabilen Sistemler
SNEDDS:	Kendi Kendine Nanoemülsifye Edici İlaç Verme Sistemi
PIT:	Faz Ters Çevirme Sıcaklığı

PIC:	Faz Ters Çevirme Bileşimi
NE:	Nanoemülsiyon
ME:	Mikroemülsiyon
IPM:	İsopropil miristat
HPH:	Yüksek Basınçlı Homojenizasyon
IFI:	İnvaziv Mantar Enfeksiyonları
TDM:	Terapötik İlaç İzleme
API:	Aktif Farmasötik Bileşen
IV:	İntravenous (damar içi)
TPD:	Üçgen Faz Diyagram
GRAS:	Farmakolojik Yüzey Aktif Madde
DDS:	İlaç Dağıtım Sistemi
SER:	Yüzey Aktif Madde Seviyeleri
NDDS:	Yeni İaç Dağıtım Sistemi
SE:	Spontan Emülsifikasyon
S karşımı:	Sürfaktan ve kosürfaktan Karışımı
NSAID:	Nanoemülsiyon
DLS:	Dinamik Işık Saçılımı
NP:	Nano Partikül
PS:	Damlacık Boyutu
SLS:	Sodyum Lauril Sülfat

ÖZET

Sanaei Oskouei Sousan. Posakonazol'un Mikroemülsiyonlarının Hazırlanması ve Optimizasyonu. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2020.

Daha güçlü ve geniş spektrumlu terapötik seçeneklere duyulan ihtiyacın ışığında, bir triazol antifungal ilaç olan posakonazol (PSC), zayıf bir sulu çözünürlüğe sahip beyaz bir tozdur. Bu çalışmanın amacı, oluşumlarını ve stabilitesini etkileyen bazı önemli faktörlerin (yağ tipi ve bileşimi; yüzey aktif madde tipi ve konsantrasyonu, kosürfaktan tipi S/KoS oranı) etkilerini inceleyerek Posaconazol BCS Sınıf II bileşiğinin oral biyoyararlanımını arttıran stabil mikroemülsiyon (ME) formülasyonları geliştirmek ve optimize etmektir. Optimizasyon, mikroemülsiyon formüllerinin hazırlandığı verilerle bir optimum formül elde edilmesine yöneliktir. Bu çalışmanın diğer amacı Posaconazol yüklemeli ME geliştirmek ve fizikokimyasal özelliklerini ve ilaç salım profilini değerlendirmektir. Mikroemülsiyonların özellikleri sadece bileşim değişkenlerine değil, aynı zamanda emülsiyonlaştırma yolu, çalkalama ya da emülsifikasyon süresi gibi hazırlama değişkenlerine de bağlıdır. Bu değişkenlerin mikro emülsiyonun nihai özellikleri üzerinde önemli bir etkisi olabilir.

Yüzey aktif madde, yardımcı yüzey aktif madde ve yağın, sürfaktan / kosürfaktan oranının seçimi, mikroemülsiyon oluşumunda önemli bir belirleyici faktördür. Oluşan mikroemülsiyon tipi yağ, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif maddenin özelliklerine bağlıdır. Posaconazolün çeşitli yağlar, sürfaktanlar ve kosürfaktan maddelerdeki çözünürlüğünün değerlendirilmesi ile uygun yağ fazı, sürfaktantlar ve kosürfaktanlar seçilmiştir. Mikroemülsiyonlar, yağ, sürfaktanlar ve yardımcı yüzey aktif maddelerin karıştırılmasıyla ve su titrasyonu ile kendiliğinden emülsifiye olacak şekilde, termodinamik açıdan da stabil koloidal dispersiyonlar olarak hazırlanmış bu da optik olarak şeffaf dispersiyonlar oluşmasına olanak tanımıştır.

Geliştirilen formülasyonların, ortalama partikül büyüklüğü, poli dispersite indeks (PDI), zeta potansiyeli, pH, formülasyonların ve dozaj formlarının stabiliteleri ve formülasyonların in vitro salımını optimize etmek için çeşitli işlemler yapılmıştır. ME'lerin damlacık büyüklüğü, ilacın sistemik absorpsiyon sonrası salınımı için kritik öneme sahiptir. Damlacık boyutundaki artışın, formülasyondaki yağ konsantrasyonunun artması ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır. (PDI) ölçümü, formüle edilmiş mikroemülsiyon içindeki damlacık dağılımının homojenliği hakkında bilgi verir, ölçümler üç kez yapılmıştır. Sürfaktan tipinin emülsiyon oluşumu ve stabilitesi üzerindeki etkisi, parçacık boyutu, PDI, mikroyapı ve stabilite ölçülerek belirlenmiştir.

ME'lerin in vitro salım çalışması diyaliz membranı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Formülasyon (1 ml) diyaliz membranı üzerine yerleştirilmiş ve fosfat tampon maddesi (100 ml) içeren behere asılmıştır. Mikroemülsiyonların optimizasyonundaki amaç, partikül büyüklüğünü ve PDI azaltmak, stabiliteyi arttırmaktır, Optimizasyonda ise hazırlanan formülasyonlardan elde edilen verilerle bir optimum formül elde edilmesi hedeflenmiştir. Sonuçlar ME'lerin termodinamik olarak kararlı, viskoziteleri düşük, nanometre boyutunda, düşük PDI ile simüle edilmiş sıvılarda daha iyi in vitro salımının olduğunu göstermektedir.

Antifungal ilaçın (PSC) suda çözünürlüğünü arttırmakla, antifungal etkinliğini ve biyoyararlanımını arttırmak, yan etkileri azaltmak, stabiliteyi arttırmak ve enfekte olmuş dokuları iyileştirmek hedeflenmektir. Bu çalışmanın yapıldığı formülasyonların geliştirilmesi ile, çözünürlük, stabilite ve kontrollü salım testleriyle, mikroemülsiyon sistemlerindeki Posaconazolün stabilitesi ve çözünürlüğünü önemli ölçüde geliştirilebileceği ve Posaconazolün in vitro salımının, PSC süspansiyonuna (Noxafil) kıyasla önemli ölçüde iyileştirilebileceği gösterilmiştir. Antifungal testlerin sonuçlarıyla ise PSC yüklü mikroemülsiyonların Noxafile göre çok daha güçlü ve etkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, bu çalışmada, oral kullanım için spontan yöntemle PSC'un yeni, termodinamik olarak stabil O/W ME'ların tasarlanması, geliştirilmesi, fizikokimyasal özelliklerini ve ilaç salım profilinin değerlendirmesi ve karakterize edilmesi için bir girişimde bulunulmuştur. Mikroemülsiyonlardaki PSC'un miktarının belirlenmesi, UV Spektrofotometre ve yüksek performanslı likit kromatografi (HPLC) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Kendiliğinden emülsifiye olan sistemlerin optimizasyonu ve geliştirilmesi ile ilacın etkinliği arttırılır, bu da toplam dozun azaltılmasına olanak tanıdığı için yan etkilerde en aza indirgenmiş olur.

Anahtar Kelimer: Posakonazole, Salım, Antifungal etkinlik, Çözünürlük, Partikül büyüklüğü, PDI, Sürfaktan, Kosürfaktan, Optimizasyon

ABSTRACT

Sanaei Oskouei Sousan. Preparation and Optimization of Microemulsions of Posaconazole. Istanbul University, Institute of Health Science, Deparment of Pharmaceutical Technology. PhD Thesis. Istanbul. 2020.

Posaconazole (PSC), a triazole antifungal drug, in light of the need for stronger and broad-spectrum therapeutic options is a white powder with a poor aqueous solubility. The purpose of this study was to develop and optimiz stable mikroemulsions formulations which enhance oral bioavailability of Posaconazol BCS Class II compound by examining the impact of some of the major factors influencing their formation and stability: oil type and composition; surfactant type and concentration, kosurfaktan type and S/KoS ratio). Optimization is directed to achieving an optimum in the function using microemulsions. The other objective of this study was to develop Posaconazole loading ME and to evaluate its physicochemical characteristics and drug release profile. The properties of microemulsions depend not only on the composition variables, but also on the preparation variables such as emulsification path, agitation or emulsification time. These variables can have a significant impact on the final properties of the micro emulsion.

The selection of surfactant, co-surfactant and oil to surfactant/co-surfactant ratio is an important determining factor in formation of mikroemulsion. The type of mikroemulsion formed depends on properties of oil, surfactant and co-surfactant. Appropriate oil phase, surfactants and cosurfactants were chosen, considering the solubility of posaconazole in various oils, surfactants and cosurfactants. Microemulsions (MEs) were prepared as thermodynamically stable colloidal dispersions, which were formed by self-emulsification by mixing oil, surfactants and cosurfactants with water titration. This resulted in optically transparent dispersions.

The developed formulation was processed through several processes to optimize the formulation, mean particle size, poli dispersite ındix (PDI), zeta potential, pH, stability formulation and dosage forms and in vitro release of the formulations. Droplet size of the ME's is critical for the release of the drug from it post systemic absorption. It was well known that the increase in droplet size was associated with increased oil concentration in the formulation. The (PDI) measurement gives information about the homogeneity of the droplet distribution in formulated microemulsions. Measurements were made three times. The impact of surfactant type on emulsion formation and stability was determined by measuring particle size, PDI, microstructure and stability.

The in vitro drug release of the MEs, was carried out using a dialysis membrane. The formulation (1 ml) was placed on the dialysis membrane and suspended in the beaker containing phosphate buffer medium (100 ml). The purpose of optimizing microemulsions is to reduce particle size and PDI, increase stability. optimization is also aimed at achieving an optimum in the function in which microemulsions are used. The results show that MEs have better in vitro release in thermodynamically stable, low viscosity, nanometer size, low PDI simulated fluids.

By increasing the water solubility of the antifungal drug (PSC), increasing its antifungal effectiveness and bioavailability, It reduces side effects, increasing stability and targeting infected tissues. With the expansion of the formulations in which this study was conducted, Solubility, stability and control release tests showed that microemulsion systems significantly improve Posaconazole stability and solubility, and that in vitro release of Posaconazole improved significantly compared to the PSC suspension (Noxafil). The results of antifungal tests have been shown that PSC loaded microemulsions are much stronger and more effective than Noxafil. Therefore, in this study, an attempt was made to design, develop, evaluate and characterize the physicochemical properties and drug release profile of PSC's new, thermodynamically stable O / W ME's by spontaneous method for oral use. Quantification of PSC in microemulsions was determined by UV Spectrophotometer and UV detection in HPLC system. With the optimization and development of self-emulsifying systems, the effectiveness of the drug is increased, it allows to reduce the total dose, thereby minimizing its side effects.

Key Words: Posaconazole, Release, Antifungal Activity, Solubility, Particle Size, PDI, Surfactan, Kosurfactan, Optimization

ZUSAMMENFASSUNG / RESUME

Dikkat bu satırı ve aşağıdaki paragrafı daha sonra siliniz!

Bu sayfayı koyacaksanız ”ÖZET” ve “ABSTRACT” sayfalarındaki ilkeler uygun olarak hazırlayın. Bu sayfayı koymayacaksanız başlığı tamamen bloklayarak siliniz.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Farmasötik teknolojideki son araştırmalar, potansiyel ilaçların verimliliğini artıran yeni ilaç dağıtım sisteminin (NDDS) tasarımı ve geliştirilmesine odaklanmıştır. En yetenekli teknolojilerden biri, lipofilik ilaçların çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını arttırmak için uygulanabilen nanoemülsiyon ilaç çözünme ve dağıtım sistemidir. Nanoemülsiyonlar, terapötik ajanların daha iyi verilmesini sağlamak için ilaç taşıyıcıları olarak kullanılan nano boyutlu emülsiyonlardır. Bu son derece gelişmiş teknoloji, kontrollü dağıtım ve hedefleme için biyolojik olarak aktif ajanların sistemik salımı için kullanılır. Bunlar 20 ila 200 nm arasında değişen emülsifiye yağ ve su sistemi içeren yeni ilaç verme sistemleridir. Bu emülsiyonlar, suyla karışmayan bir yağ fazının yüksek gerilimle sulu bir faza karıştırılmasıyla büyük miktarlarda kolayca üretilir. Bunlar lipit, yüzey aktif maddeler, yardımcı yüzey aktif maddeler veya yardımcı çözücülerden hazırlanır. Termodinamik ve kinetik olarak kararlıdırlar, tahriş edici olmayan çeşitli yollarla uygulanabilirler (1).

Antimikrobiyal olarak, mukozal aşılarda, dezenfektan olarak ve kanser tedavisinde kullanılırlar. Suda az çözünen ilaç ürünlerinin formülasyonu ve geliştirilmesi, temelde yükselen yeni ilaç keşif programları nedeniyle bilim insanlarına meydan okumaya devam etmektedir. Üretim ve ölçek büyütme, kararlı olma durumu ve gelişmiş biyoyararlanım, araştırmacıların dikkatini çeken bu formülasyonların temel özellikleridir (1).

Bir nanoemülsiyon, bir yüzey aktif madde veya emülsiyonlaştırıcı ve yardımcı yüzey aktif madde ile stabilize edilmiş bir yağ ve sulu fazın koloidal bir dispersiyonudur. Nanoemülsiyonlar, uygun konsantrasyonda uygun hidrofilik-lipofilik dengesi (HLB) olan yardımcı maddeler kullanılarak üretilebilir (2).

Nanoemülsiyonlar ve mikroemülsiyonlar biyofarmasötik sınıflandırma sisteminin (BCS) sınıf II'ye ait suda çözünmesi zayıf ilaçların (lipofilik ilaçlar) biyoyararlanımını iyileştirmek için çözünürlüğü artırarak ve ilk geçiş metabolizmasını en aza indirerek ileri bir teknik olarak kabul edilir (3). Nanoemülsiyonlar, az çözünür ilaçların verilmesi için birçok avantaj sunar (4). Farmasötik teknolojideki son araştırmalar, potansiyel ilaçların verimliliğini artıran yeni ilaç dağıtım sisteminin (NDDS) tasarımı ve geliştirilmesine odaklanmıştır (1).

Lipofilik ilaçların suda çözünürlüğü ve nihai biyoyararlanımı nanoemülsiyon kullanılarak iyileştirilebilir. Nano boyutlu damlacıklar ilacın taşıma özelliklerini etkileyecektir. Bu sürekli ve hedefe yönelik ilaç dağıtımında önemli bir faktördür. Plazma konsantrasyon profillerinde

tekrarlanabilir veriler ve ilaçların biyoyararlanımı nanoemülsiyonlar ile sağlanabilir. İnce yağ damlacıkları nedeniyle ilacın ve bağırsak duvarının uzun süreli temasıyla sıklıkla karşılaşılan tahrişi en aza indirir. Çünkü ince yağ damlacıkları ilacın bağırsak sistemi boyunca geniş dağılımını teşvik eder. Nanoemülsiyonlar, mevcut kendiliğinden emülsifiye edici sisteme kıyasla GIT sıvı hacmi açısından hızlı bir etki başlangıcı ve azaltılmış değişkenlik sunar (4).

Ayrıca, etkili hedefleme ve kontrollü ilaç dağıtımı ile kapsüllenmiş biyoaktif maddelerin korunmasını da sağlarlar. Nanoemülsiyon hazırlamak için basit teknoloji kullanılır ve damlacık boyutu nano ölçekli seviyelere indirilir, bu da bazı ilginç fiziksel özelliklere yol açar. Nanoemülsiyonun tasarım ve geliştirilmesinin önemi ticari amaçlar için her geçen gün artmaktadır. Nanoemülsiyonların gelecekteki bakış açıları, kozmetiklerin yanı sıra terapötiklerin farklı alanlarında çok umut vericidir (4). Nanoemülsiyonlar düşük enerji gerektiren yöntemlerle hazırlanabilirler ayrıca yüksek enerjili emülsifikasyon yöntemlerine göre daha küçük ve daha homojen damlacık boyutlarına ulaşılmasını sağlarlar (5).

Nanoemülsiyonlar, polar olmayan aktif bileşikleri çözme kapasiteleri nedeniyle eczacılıkda ilaç dağıtım sistemleri olarak sayısız uygulama için önerilmektedir. Oral olarak ilaç verilmesinde nanoemülsiyonların avantajları ve uygulamaları çoktur, burada damlacık boyutu gastrointestinal sistemdeki emilimle direkt olarak ilişkilidir (6).

Halen ilaçların çözünürlüğünü, çözünme hızını ve müteakip biyoyararlanımını geliştirmek için çeşitli formülasyon stratejileri kullanılmaktadır. Bu stratejiler, ilaç özelliklerinin moleküler düzeyde modifikasyonlarını (örn., tuz veya ön ilaç oluşumu, yardımcı çözücülerin kullanımı ve siklodekstrinlerle kompleksleşme), kolloidal ilaç verme sistemlerinin (örn., mikroemülsiyonlar ve kendi mikroemülsifiye edici sistemler) kullanımını veya partikül seviyesinde ilaç özelliklerinin modifikasyonlarını içerir (örn. partikül boyutunun küçültülmesi veya şekilsizleştirilmesi) (7). Nanoteknoloji en yaygın iyileştirme yöntemlerinden biri olarak kabul edilmekte ve düşük çözünürlük ve dolayısıyla biyoyararlanım sorununun üstesinden gelmek ve hedefli ilaç dağıtımını sağlamak için kullanılmaktadır (7).

NE'ler, nano boyutlu damlacıkların gelişmiş termodinamik stabilitesi nedeniyle geleneksel mikroemülsiyonlara göre daha avantajlıdırlar ve bu nano boyutlu damlacıklar, arayüzey alanlarında muazzam bir artış göstermektedir. Damlacıkların enterosite içselleştirilmesiyle hızla emilir ve daha sonra portal yolla sistemik dolaşıma taşınırlar. Ayrıca NE'de lipofilik ilaçların uzun süreli stabiliteye sahip olması, hazırlanmadaki kolaylık, çözünürlüğü ve gelişmiş oral biyoyararlanımı açısından potansiyel bir ilaç verme aracı haline gelmektedirler (8).

Bir emülsiyon oluşturmak için gereken serbest enerji çok düşük olduğundan, oluşum termodinamik olarak kendiliğinden olur. Sürfaktanlar, emülsiyon damlacıklarının etrafında bir tabaka oluştururlar ve arayüzey enerjisini azaltırlar ve birleşme için mekanik bir bariyer sağlarlar (9).

Mantar enfeksiyonları küresel bir yük haline geliyor ve önemli morbidite ve mortaliteye neden oluyor. Birkaç etkili antifungal ilaç olmasına rağmen, terapötik yararları yüksek toksisite veya olumsuz fizikokimyasal özellikler ile sınırlıdır. Nanopartiküller, küçük boyut, çok işlevlilik ve biyouyumluluk gibi elverişli özellikleri sayesinde bu sınırlamaların çoğunu aşma potansiyeline sahiptir. Lipid bazlı nanokarterler (lipozomlar, katı lipit nanopartiküller ve nanoyapılı lipit taşıyıcılar), diğer nano taşıyıcılara kıyasla antifungal ilaç iletimi için en çok çalışılanlardır (10).

Posakonazol, itrakonazol ve vorikonazolün mevcudiyetini takiben, invaziv mantar enfeksiyonlarına karşı kullanım için onaylanan üçüncü geniş spektrumlu triazoldür (11). Vorikonazole benzer şekilde, posakonazol, Candida türleri de dahil olmak üzere mayalara, ayrıca Cryptococcus neoformans ve Cryptococcus gattii'ye karşı güçlü bir in vitro aktiviteye sahiptir. Her ne kadar posakonazolün uzun yarı ömrü (22-35 saat) başlangıçta günde bir kez dozlamanın ardından bir yükleme dozunun mümkün olabileceğini düşünse de, oral süspansiyon formülasyonu ile sadece yüksek dozlarda doyurulabilir emilimin meydana geldiği bulunmuştur. Oral süspansiyon ile ilişkili problemler nedeniyle, biyoyararlanımı ve daha tutarlı farmakokinetiği geliştiren yeni bir formülasyon geliştirmek için önemli çalışmalar yapılmıştır (11). Bu amaçla, oral uygulama için yeni bir posakonazol formulasyonunun geliştirilmesi gerekir. Posakonazolün yeni gecikmeli salimli formülasyonu, bu azol antifungal ajanın oral süspansiyonu üzerinde önemli bir formülasyon iyileşmesini temsil edecektir (11). İnvaziv mantar enfeksiyonlarına karşı önleme ve tedavi olarak yeni formülasyonların etkinliğini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır 11). Bu nedenle, antifungal ilaç iletimi alanındaki araştırmalar, nanoparçacık bazlı formülasyonların klinik çevirisini engelleyen zorlukların üstesinden gelmeye odaklanmalıdır (10).

Nanoparçacıklar ve nano teknikler, amorf katı formlar, nanopartiküller, katı dispersiyonlar, eriyik ekstrüzyonu, tuz oluşumu, lipofilik bileşenin atıl lipit aracına dahil edilmesi, mikroemülsiyon veya nanoemülsiyonların oluşumu, kendiliğinden emülsifiye edici formülasyonlar, lipozomlar, katı lipit nanopartikülleri veya lipit nanokariyerleri gibi daha yeni teknikler haline gelmekte ve giderek popülerleşmektedirler (8). Bu teknikler arasında nanoemülsiyonlar (NE), mikroemülsiyonlar ve kendiliğinden emülsifiye olan formülasyonlar yüzey aktif madde molekülleri ile stabilize edilmiş sulu ortam içinde dağılmış yağ

damlacıklarından oluşan izotropik, şeffaf (veya yarı saydam) heterojen karışım olma umudunu taşımaktadır (8).

Posakonazol, zayıf bir sulu çözünürlüğe sahip beyaz bir tozdur, ancak 0,1 M HC1 (yani, pH 1,2'de yaklaşık 0,9mg / mL çözünürlük) içinde çözülebilir ve pH bağımlılığına sahiptir (yani, pH 6,5'te yaklaşık 0,006mg / mL çözünürlük) (12). Posakonazol gecikmeli salimli tabletlerin immün sistemi baskılanmış hastalarda IFI'lerin önlenmesinde etkinliği üzerine yayınlanmış hiçbir klinik çalışma mevcut değildir, ancak daha yüksek kan posakonazol seviyesine ulaşmanın en azından IFI'ya karşı süspansiyondan daha iyi bir koruma sağlayabileceği muhtemel görünmektedir (13). Bununla birlikte, posakonazol süspansiyonunun zayıf emilimi ile ilişkili risk faktörleri çoğunlukla sağlıklı gönüllülerle yapılan klinik çalışma ortamları ile değerlendirilmiştir. Rutin klinik uygulamada en önemli değiştirilebilir faktör olan prospektif veriler azdır (14). Posakonazolün pazarlanan oral süspansiyonunun en büyük dezavantajlarından biri, hastalar arasında gastrik pH düzeylerindeki değişkenlik nedeniyle sistemik maruziyetteki belirsizliktir (15).

Posakonazol, mayaların, filamentöz mantarların ve azole dirençli Candida türlerinin (spp.) çoğunluğu dahil olmak üzere çeşitli mantarlara karşı benzersiz aktivite spektrumu nedeniyle geniş spektrumlu bir antifungal ajan olarak kabul edilir (16). Bu nedenle, antifungal silahlanmaya yeni bir güç getirdiğinden, PSC, daha geniş bir patojen yelpazesine karşı geniş spektrumu nedeniyle, refrakter mantar enfeksiyonlarının tedavisinde umut verici bir rol sunmaktadır (16). Birkaç in vitro çalışma, sıvı kromatografi teknikleriyle PCZ'nin antifungal mekanizmasını doğrulamıştır (16). Oluşturulan yeni posakonazol formülasyonları ile yapılacak olan klinik çalışmalara çok ihtiyaç vardır. Ayrıca tedaviye olumlu yanıt almak ve hayatta kalmak için başarılı yanıt elde etmek adına bir artış gösterebileceği umut edilmektedir (13).

Bu tez çalışmasının amacı Posakonazole BCS Sınıf II bileşiğin mikroemülsiyon formülasyonlarının optimizasyonu, geliştirmesi ve bununla beraber oral biyoyararlanımının arttırılmasıdır. Bu nedenle, genel olarak, optimizasyonun amacı minimum damlacık boyutu ve / veya minimum polidispersite elde etmeye yöneliktir. Mikroemülsiyon optimizasyonundaki bir diğer amaç, stabiliteyi arttırmaktır, çünkü yukarıda belirtildiği gibi, mikroemülsiyonlar için pratik uygulamaları bulmak için kararlılık, üstesinden gelinmesi gereken temel sorundur. Ayrıca optimizasyon, mikroemülsiyonların kullanıldığı işlevde bir optimumun elde edilmesine yöneliktir. Hazırlama tekniği olarak spontan emülsifikasyon yöntemi kullanılmıştır. Antifungal ilaçın suda çözünürlüğünü arttırmak yani antifungal etkinliğini arttırmak, stabiliteyi arttırmak,

ilaç salımını kontrol edebilmek ve arttırmak ve enfekte olmuş dokuları hedeflemek demektir. Bir BCS II bileşiği için oral biyoyararlanımda bir artış elde etmenin önkoşulu, bağırsak sıvısında ince bir şekilde dağılmış olması ve agregasyon olmamasıdır (2).

Kendiliğinden emülsifiye olan sistemlerim optimizasyonu ve geliştirilmesi ile ilacın etkinliği arttırılır, toplam dozun azaltılmasına izin verir ve böylece yan etkileri en aza indirilir (17).

Bu çalışmanın temel amacı PSC yüklemeli mikroemülsiyonların geliştirmesi ve fizikokimyasal özelliklerini ve ilaç salım profilini değerlendirmektir. Bu da daha yüksek çözünme hızına ve daha iyi biyoyararlanıma yol açar.

2. GENEL BİLGİLER

İnvaziv mantar hastalıkları (IFD'ler), mantarların vücudu istila ettiği ve dokularda, organlarda veya kanda çoğaldığı ve sonuçta iltihaplanma ve doku hasarına neden olduğu hastalıklardır (18). Hematolojik malignitesi olan hastalarda IFD insidansı, kemoterapi rejimleri ve transplantasyonlarının gelişmesi nedeniyle giderek artmıştır. IFD'ler hematolojik maligniteleri olan hastalar için önemli bir tehdittir ve önemli morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. İndüksiyon kemoterapisi ve hematopoietik kök hücre nakli (HSCT) geçiren hastalar IFD gelişme riski taşırlar. IFD'lerin erken safhasında spesifik klinik belirtiler yoktur ve antifungal ilaçların sınırlı iyileştirici etkisi ve advers reaksiyonları henüz çözülmemiştir. Bu nedenle, IFD'lere karşı profilaksi özellikle önemlidir. Posakonazol geniş spektrumlu bir oral triazoldür ve yüksek riskli hastalarda IFD'leri azaltmada profilaktik olarak etkilidir. Tüm hastalara posaconazol oral süspansiyon (40 mg / mL) 200 mg, 3 kez / gün veya vorikonazol 200 mg, 2 kez / gün verilmiştir. Tedavi aşamasında posaconazol grubunda ve vorikonazol gruplarında ortalama ilaç uygulama günleri sırasıyla 19,49 gün ve 14,81 gündür (P> 0,05) (18).

İnvaziv mantar enfeksiyonları, özellikle immünosüpresif tedavide olanlar gibi yüksek riskli hasta popülasyonlarında artan mortalite ve morbidite nedenidir. Bu tür enfeksiyonların önlenmesi ve tedavisi için triazol antifungalleri önerilmektedir (19). Etkili ve güvenli antifungal ajanlar çok sınırlıdır. Klinik tedavide kullanılan antifungal ajanlar arasında triazoller (yani flukonazol, vorikonazol, itrakonazol ve posakonazol), polienler (yani amfoterisin B, nistatin), glukan sentez inhibitörleri (yani ekinokandinler, kaspofungin, mikafungin, anidulafungin), kitin sentez inhibitörleri (yani nikkomisin, polioksinler) ve flusitozin olmakla beraber, her birinin belirli bir sınırlaması vardır (20). Ayrıca, çok ilaca dirençli suşların, inatçı patojenik mikroorganizmaların ve yeni patojenlerin ortaya çıkması, mantar enfeksiyonlarını tedavi etmek için yeni antifungal ajanların keşfi için sürekli bir talep oluşturmaktadır (20).

Antifungal ilaç araştırmaları son otuz yılda büyük ölçüde genişlemiştir. Bu, triazoller, flukonazol (FCZ), vorikonazol (VCZ), itrakonazol (ICZ) ve posakonazol (PSC) gibi yeni farmakolojik özelliklere sahip olan ve yaygın olarak kullanılan antifungallerin gelişmesine yol açmıştır. Flukonazol hariç olmak üzere, bu triazoller önemli ve hastalıklar arasında farmakokinetik değişkenlik gösterirler, bu durum çoklu ilaç etkileşimleriyle de ilişkilidir. Bu nedenle, tedavi başarısızlığını veya toksisiteyi önlemek ve beklenmedik durumlarla karşılaşmamak için hastalarda kan konsantrasyonlarının sıklıkla değerlendirilmesi gerekir. Bu senaryo ile terapötik ilaç izleme (TDM), bu bileşiklerin yanı sıra bazı metabolitleri için de gerçekleştirilmeli ve gerekçelendirilmelidir (21).

IFD'leri önlemek için posakonazol, flukonazol veya itrakonazol kullanılmaktadır ve bu ilaçlarla enfeksiyonlar etkili bir şekilde tedavi edilmektedir. Posakonazol ve vorikonazolün her ikisi de yeni nesil triazol geniş spektrumlu antifungal ilaçlardır (18). Posakonazol, invaziv mantar enfeksiyonlarının tedavisi için geniş spektrumlu bir antifungal ilaçtır (22).

İnsan mantar hastalıkları, cilt ve mukoza zarlarının topikal enfeksiyonları veya daha ciddi olarak, iç organların invaziv ve sistemik enfeksiyonları şeklindedir. İnsan nüfusunun yaklaşık% 20-25'inin yüzeysel mikozlardan muzdarip olduğu tahmin edilmektedir. Ek olarak, özellikle bağışıklık yetmezliği sendromu (AIDS), hematolojik maligniteler, şiddetli aplastik anemi, miyelodisplazi, immün yetmezlikli hastalar, organ nakli alıcıları, prematüre yenidoğanlarda ve yaşlılarda giderek artan bir morbidite ve mortalite nedeni haline gelmektedir. İnvaziv mantar enfeksiyonlarından kaynaklanan ölüm oranının her yıl bir buçuk milyon kişi olduğu tahmin edilmektedir (10). Bu ilaçların geliştirilmiş etkinliği ve güvenlik profiline rağmen, Aspergillus türleri, Zygomycetes, Fusarium türleri, Scedosporium spp. ve albicans olmayan Candida spp. savunmasız hastalar için hala büyük bir risk oluşturmaktadır. Ayrıca, bu yeni geliştirilen antifungal ajanların birçoğunun aktivite spektrumları, fizikokimyasal ve biyofarmasötik özellikleri, farmakokinetik, ilaç-ilaç etkileşimleri ve farmakodinamik özellikleri ile ilgili önemli sınırlamaları vardır (10).

Son yıllarda, invaziv mantar enfeksiyonları ve ilaç direnç oranları sürekli artmaktadır, bu da mantar enfeksiyonunu, özellikle hasarlı bağışıklık sistemi olan hastalar ve insan sağlığı için ciddi bir tehdit haline getirmektedir. Bu nedenle, mantar enfeksiyonu için daha etkili antibakteriyel ilaçlara büyük ihtiyaç vardır. Posakonazol (geniş spektrumlu bir triazol ajanı) 2006 yılında Noxafil® ticari ismi altında insanlar için invaziv mantar enfeksiyonlarını önlemek amacıyla ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır. Posakonazol, Aspergillus, Candida ve Cryptococus türleri gibi yaygın olarak karşılaşılan bir dizi mantar patojenine karşı geniş bir aktivite spektrumuna sahiptir. Bununla birlikte, bazı yan etkiler (baş ağrısı, yorgunluk, anoreksi, bulantı, kusma, adet bozukluğu, karın ağrısı ve serum glutamik piruvik transaminaz düzeyleri) posakonazol tedavisi alan popülasyonda yüksek oranda meydana gelebilmektedir. Oral posakonazol çözeltisi uygulandığında diyare yüzdesi% 30'a kadar yüksektir. Posakonazolün sebep olduğu akut intestinal inflamatuar yanıt ana yan etkiyi oluşturur bu da bağırsak disfonksiyonuna neden olabilir (22).

Bazı antifungal ilaçlar hidrofobik olduğundan suda çözünürlük kısıtladığından, zayıf oral biyoyararlanım ve sınırlı formülasyon yaklaşımlarına yol açar. Örneğin, klotrimazol, mikonazol, ekonozool, oksikonazol, tiyokonazol ve sertakonazol gibi yaygın olarak kullanılan azol antifungal ilaçların çoğu hidrofobiktir ve suda çözünürlükleri düşüktür (10).

Etkili farmakolojik tedavilerin gerçekleştirilebilmesi için, biyouyumluluk, partikül boyutu, doz ayarlaması gibi şartlar uygun olarak oluşturulmalı ve tanımlanmış özelliklere sahip taşıyıcıların kullanımıyla kontrollü salım yapabilen formülasyonlar tasarlanmalıdır. İlaç salım sistemleri (DDS), ideal olarak, vücutta uzun süre kalma kapasitesine sahip olan bir dizi özellik göstermelidir. Bunlar arasında, hedef bölgeye ulaşmak, pH, sıcaklık, harici olarak uygulanan ısı, manyetik alan veya ultrason gibi lokal uyaranlara cevap verebilmek sayılabilir. DDS, bir molekülün biyolojik dağılım ve hedef birikimi hakkında gerçek zamanlı bilgi sağlayabilen gelişmiş hücre içi iletiminin sağlanmasını oluşturan sistemdir (23).

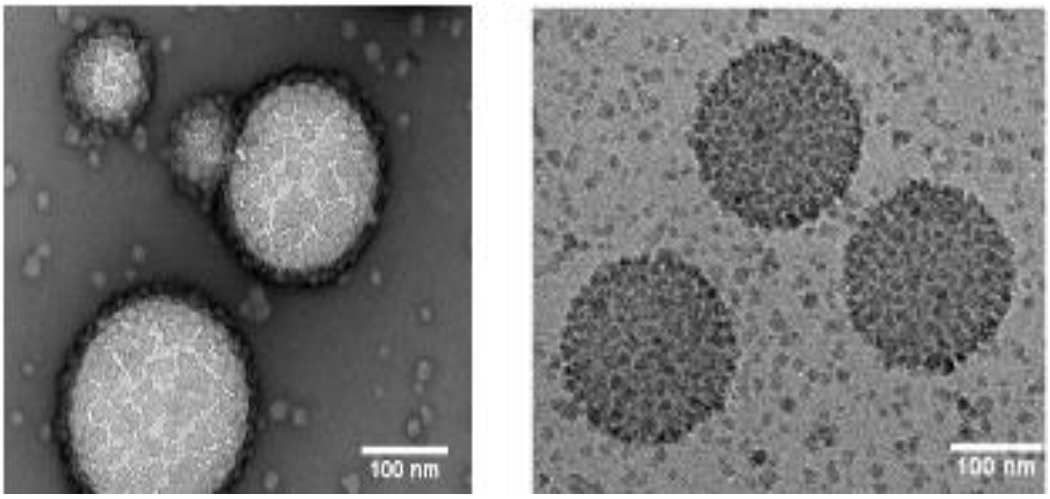
İlaç keşfı alanında yaygın olarak karşılaşılan sorunlardan, ilaçların oral biyoyararlanımını sınırlandırabilen faktörler arasında çözünürlük, çözünme hızı, metabolizma ve geçirgenlik sayılabilir (2). Her ne kadar bu faktörler keşif aşamasında yeni kimyasal varlıkların (NCE) yapısal modifikasyonları yoluyla ele alınsa da, bazı durumlarda bu yaklaşım önemli bir biyolojik aktivite kaybına neden olabilir (2). Son literatür verileri, formülasyon stratejilerinin potansiyel yeni ilaç moleküllerinin ilaç dağıtımını etkili bir şekilde artırabildiğini ve ilacın kimyasal modifikasyonuna çekici ve tamamlayıcı alternatifler sunabildiğini göstermektedir (2).

Son yıllarda, aktif kimyasal maddeler giderek daha fazla incelenmiştir, ancak bunların çoğu suda zayıf çözünür veya çözünmezdir. Potansiyel ilaçların % 40'ından fazlası suda önemli ölçüde çözünmez. İlaçların yetersiz biyoyararlanımı nedeniyle, iyileştirici etkisi düşük ilaçlar için dünya çapındaki hastalık tedavisinde, yılda yaklaşık 65 milyar dolar harcandığı tahmin edilmektedir (24).

Biyofarmasötik sınıflandırma sistemine (BCS) göre, sınıf II düşük çözünürlüğü ve yüksek geçirgenliği olan ilaçları içerir. Bu sınıfa ait birçok ilaç, zayıf çözünürlük ve yetersiz çözünme süreci nedeniyle düşük biyoyararlanım gösterir. Sınıf II'ye ait ilaçların biyoyararlanımını arttırmak ve iyi bir klinik etkinlik elde etmek için, bu ilaçların çözünürlüğü geliştirilmelidir. Bunun için partikül büyüklüğü küçültülmeli, pH ayarlaması yapılmalı, katı dispersiyon düşünülmeli, kendiliğinden emülsifikasyon yöntemi ve nanoteknoloji gibi çeşitli modern teknikler tercih edilmelidir (3). Nanoemülsiyon, ilaçların dağıtımında büyük ilgi gören bir ileri ilaç dağıtım sistemi olarak tanımlanır. Nanoemülsiyon, sulu faz, sürfaktan ve kosürfaktan, uygun oranda emülsiyon haline getirilmiş bir yağdan oluşan koloidal dispersiyonlardır (83). Bunların izotropik olarak berraklığı iyi olmalı, termodinamik ve kinetik kararlılığa sahip olmalıdırlar (3). Bir nanoemülsiyonun, bir yağ fazı ve bir su fazı gibi karışmayan iki sıvı fazın termodinamik veya kinetik olarak kararlı bir sıvı dispersiyonu olduğu düşünülmektedir. İki sıvı fazın molekülleri arasındaki çekici etkileşimlerindeki farklılıklar nedeniyle, temas ettikleri her yerde iki sıvı arasında arayüzey gerilimi vardır. Bu arayüzey gerilimini azaltmak için amfifilik

yüzey aktif moleküller veya yüzey aktif maddeler eklenir. Nanoemülsiyonun damlacık boyutu tipik olarak 20-200 nm aralığındadır ve dar bir boyut dağılımı gösterir (4). Nanoemülsiyonlar, su damlacıklarının harici sulu fazda dağıldığı su içinde yağ (O/W), su damlacıklarının harici yağ fazında dağıldığı yağ içinde su (W/O) ve mikro alanları ikiye katlanan nanoemülsiyonlar olarak bulunurlar (3). Emülsiyonlar ve nanoemülsiyonlar arasındaki temel fark, emülsiyonların mükemmel kinetik stabilite sergilemesi, temel olarak termodinamik açıdan kararsız olması ve bulanık olması fakat nanoemülsiyonların berrak veya yarı saydam olmasıdır (4). NE'nin, sadece kolaylık ve düşük maliyetli preparatlar olması nedeniyle değil, aynı zamanda gelişmiş etkinlik nedeniyle birçok farmasötik uygulamada potansiyeli olduğu kanıtlanmıştır. NE, çok sayıda yağ, yüzey aktif madde, yardımcı yüzey aktif madde ve sulu bileşenler ile oluşturulabilir. İdeal sıvı araçlar olarak, NE'nin ilaç dağıtımı için en temel avantajı, hem hidrofilik hem de hidrofobik moleküller için yüksek çözünürlük kapasitesine sahip olmasının yanısıra termodinamik kararlılık, kolay oluşum, düşük viskozite, yüksek yüzey alanı ve küçük damlacık boyutudur (25).

İdeal bir ilaç verme sistemi, toksisiteyi en aza indirirken terapötik etkiyi en üst düzeye çıkarma hedefini yerine getirir. Bilim ve teknolojideki ilerlemelerle birlikte dozaj formları, basit karışımlardan ve haplardan, yeni ilaç dağıtım sistemleri olarak bilinen oldukça sofistike sistemlere dönüşmüştür. Nanoemülsiyonlar, ortalama damlacık çapları 20 ila 200 nm arasında değişen emülsifiye yağ ve su sistemlerinden oluşan yeni ilaç dağıtım sistemleridir. Nanoemülsiyonlar (Şekil 2-1) genellikle güvenli olarak kabul edilen farmakolojik yüzey aktif maddelerden (GRAS) yapılır. Yüzey aktif madde tipi ve sulu fazdaki konsantrasyonu, birleşmeye karşı iyi bir stabilite sağlayacak şekilde seçilir. Nanoemülsiyonların formülizasyonunda doğal, yarı sentetik ve sentetik çeşitli yağ türleri kullanılır. Nanoemülsiyonların, karşılıklı uyumlulukları ve ilaçların hidroliz ve enzimatik bozulmadan korunma yetenekleri ile birlikte büyük miktarlarda düşük çözünür ilaçları çözme kapasitesi, onları ideal ilaç dağıtım vektörleri yapar. Nanoemülsiyonların ilaç verme taşıyıcıları olarak en büyük avantajları arasında artan ilaç yüklemesi, arttırılmış ilaç çözünürlüğü ve biyoyararlanımı, azaltılmış hasta değişkenliği, kontrollü ilaç salımı ve enzimatik bozunmadan korunma sayılabilir (6).



Şekil 2-1: **Nanoemülsiyonlar**, İsveç SP Teknik Araştırma Enstitüsü (eski YKI, Yüzey Kimyası Enstitüsü) Kimya, Malzeme ve Yüzeyler biriminin izniyle kullanılmıştır. Http://www.vironova.com/nanoemulsions-casebody aracılığıyla elde edildi. Erişim tarihi 27 Nisan 2014 (6).

Nano emülsiyonlara mini emülsiyonlar da denir. Mikroemülsiyonların (şeffaf veya yarı saydam ve termodinamik olarak stabil olan) aksine nano emülsiyonlar sadece kinetik olarak stabildir (26). Bununla birlikte, nano emülsiyonların uzun süreli fiziksel stabilitesi (görünür flokülasyon veya birleşme olmadan) onları benzersiz kılar ve bu özellik bazen "termodinamik stabiliteye yaklaşma" olarak adlandırılır (26). Mikroemülsiyonlardan farklı olarak (genellikle yaklaşık% 20 ve daha yüksek bir yüksek yüzey aktif madde konsantrasyonu gerektirir), nano emülsiyonlar daha düşük yüzey aktif madde konsantrasyonu kullanılarak hazırlanır ve % 3-10 arasında bir yüzey aktif madde konsantrasyonu yeterli olabilir (26).

Nanoteknoloji, 100 nm'den daha küçük biyolojik ve biyolojik olmayan yapıların karakterizasyonu, yapımı ve işlenmesi üzerinde yoğunlaşmış bir teknolojidir. Özellikle çözünürlükteki kısıtlamalara bağlı olarak ürün formülasyonunda zorluklarla karşılaşılabilinmektedir. Nanoteknoloji ile, besin öğelerinin, proteinlerin ve antioksidanların vücudun spesifik bölgelerine ve hücrelerine daha etkili ve verimli ulaşması sağlanarak bu bileşenlerin etkinliği ve biyoyararlılığı arttırılmaktadır. Nanoemülsiyonlar aracılığı ile besin öğelerinin vb. aktif bileşenlerin vücutta kontrollü salınımını sağlamak için nanoemülsiyonların oluşum mekanizmaları ve yapıları iyi bilinmelidir. Ancak bu konuda henüz kaynak sayısı yeterli değildir (27).

- Nanoteknolojik araştırmalar, maddenin temel bilgisindeki eksiklikleri tamamlamaktadır.
- Nanoteknoloji yeni uygulamalar vaat etmektedir.

- Nanoteknoloji endüstriyel protiplendirmenin ticari boyut kazanmasıdır.

Nanoemülsiyonlar, yağlar, sürfaktanlar ve yardımcı sürfaktanlar ve sulu faz kullanılarak hazırlanır. Nanoemülsiyon preparasyonunda kullanılan yağlar arasında Captex 355, Captex 8000, Witepsol, Myritol 318, İzopropil miristat, Capryol 90, Sefsol-218, triasetin, hintyağı, zeytinyağı vb. tercih edilmektedir. İlacın yağ fazındaki çözünürlüğü, yağların seçimi için önemli bir kriterdir. Yağ içinde su nanoemülsiyonları hidrofilik ilaçlar için daha iyi bir seçim olsa da lipofilik ilaçlar tercihen su içinde yağ nanoemülsiyonlarında çözündürülür. Formülasyondaki ilaç yüklemesi, çeşitli formülasyon bileşenlerindeki ilaç çözünürlüğüne bağlı olarak, zayıf çözünen ilaçlar için nanoemülsiyonların geliştirilmesinde çok kritik bir tasarım faktörüdür. Ayrıca, nanoemülsiyonun düşük ilaç çözünürlüğünde yağ ile formülasyonu, hedef ilaç dozunu dahil etmek için daha fazla yağın eklenmesini gerektirecektir; Yüzey aktif madde özelliklerine sahip yeni yarı sentetik orta zincirli türevler (amfifilik bileşikler olarak), düzenli orta zincirli trigliserit yağlarının aşamalı ve etkili bir şekilde yerini almaktadır (6).

Çözünürlüğü zayıf bir molekülün terapötik bir oral ilaç ürünü haline gelip gelemeyeceği, biyoyararlanımı arttırıcı bir yaklaşım ortaya çıkarma yeteneğine bağlıdır (28). FDA ve IUPAC'a göre “nano” boyutlar 1–100 nm aralığında boyutları olan ürünlerdir. Tıptaki uygulamalar, tıbbi cihazlar için nanomalzemelerin kullanımından, terapötik ajanlar, ilaç verme sistemleri ve tanısal görüntüleme sistemleri olarak nanopartiküllerin (NP) kullanımına kadar uzanır. Son yıllarda, yaşam bilimlerinde küresel NP'lere, özellikle 2014 yılında nanoteknoloji araştırmalarının % 76'sını oluşturan ilaç dağıtım sistemleri alanında milyarlarca dolar yatırım yapılmıştır (29). Bir nanoemülsiyon, bir yüzey aktif madde veya emülsiyonlaştırıcı ve yardımcı yüzey aktif madde ile stabilize edilmiş bir yağ ve sulu fazın koloidal bir dispersiyonudur (2). Nanoemülsiyonlar, uygun konsantrasyonda uygun hidrofilik-lipofilik dengesi (HLB) olan yardımcı maddeler kullanılarak üretilebilir (2).

Nanoyapılı biyomateryaller, biyomedikal ve farmasötik uygulamalarda geniş fırsatlar ortaya koymuştur. Ancak etkili ve yenilikçi terapötik yaklaşımlar yavaş ilerlemektedir. Biyolojik materyaller ve nanoyapıların hastalıkların tedavisinde, teşhisinde ve hatta profilaksisinde kullanımı yoğun bir şekilde incelenmiştir. Nanoteknolojideki son on yılda kaydedilen ilerlemeler, ilaç endüstrisinde devrim yapma potansiyeline sahip yenilikçi nanomaterallerin geliştirme fırsatını sunmaktadır (30). Nanoteknoloji konusu, farmasötik endüstrisinde doğrudan uygulamalar, ilaç tasarımı ve kişiselleştirilmiş tıp ile yeni nanomateryallerin tasarımından ortaya çıkan en yeni teknolojileri, yaklaşımları ve perspektifleri sunmayı amaçlamaktadır (30). Nanoteknoloji, moleküler virülans modülatörlerinin ve yeni antimikrobiyal bileşiklerin

verimliliğini artırabilen ve hedeflenen iletimini ve kontrollü salınımını sağlayabilen nanoyapılı materyaller ve nanopartiküller geliştirerek en iyi seçeneği sunar (30).

ME formülasyonları, bir lipofilik (lidokain) ve bir hidrofilik (prilokain.HCI) anestezik ilacın çözünürlüğünü, sırasıyla % 58 ve 36'ya kadar belirgin şekilde arttırmasına izin vermiştir. Bu sonuç, ME'lerde oluşturulan yüzey aktif maddenin arayüz filmi ile ilgili hidrofilik ve lipofilik kısmının ilave çözündürme alanlarına atfedilmiştir (31).

Kolloidal dispersiyonlar, vitaminler, antimikrobiyaller, ilaçlar, antioksidanlar ve nutrasötikler gibi biyoaktif bileşenleri koruma, kapsülleme ve sunma yetenekleri nedeniyle incelenmiştir. Sonuçlar gıda, farmasötik, zirai kimyasal ve diğer endüstrilerin dikkatini çekmektedir. Bu dispersiyonlar, daha büyük partiküller içeren sistemlere göre daha büyük avantajlara sahiptir, çünkü küçük partikül boyutu nedeniyle, düşük sedimantasyon ve iyi koloidal stabilite optik olarak berrak ürünlere dahil edilebilir ve bunların içinde kapsüllenmeyen çözünmez ilaçların (lipofilik veya hidrofilik) biyoyararlanımını artırabilir. Ayrıca, bu sistemler uzun süreli kan dolaşımı, ilaç dağıtımı, spesifik hedefleme ve by-pass endosom-lizozom işlemeyi sağlayabilir (32). Emülsifiye sistemler, aktif maddeler için bir rezervuar görevi gören, terapötik etkiyi arttıran, ilaç dozlarını ve böylece yan etkiler ve toksisite gibi bazı ilginç parametreleri azaltır. Ek olarak, membran akışkanlığını değiştirebilen sürfaktanların varlığı nedeniyle aktif maddenin emilimini artırabilirler (32).

Amorf katı form, nanopartiküller, katı dispersiyonlar, eriyik ekstrüzyonu, tuz oluşumu, mikroemülsiyon veya nanoemülsiyonların oluşumu, kendiliğinden emülsifiye edici formülasyonlar, lipozomlar, katı lipit nanopartikülleri veya lipit nanokariyerleri gibi daha yeni teknikler de mevcuttur (8). Bu teknikler arasında nanoemülsiyonlar (NE), yüzey aktif madde molekülleri ile stabilize edilmiş sulu NE'ler, nano boyutlu damlacıkların gelişmiş termodinamik stabilitesi nedeniyle geleneksel mikroemülsiyonlara göre avantajlarıdır ve bu nano boyutlu damlacıklar, arayüzey alanlarında muazzam bir artış gösterebilmektedir (8). Ayrıca, NE'de lipofilik ilaçların uzun süreli stabilitesi, hazırlanma kolaylığı, çözünürlüğü ve gelişmiş oral biyoyararlanımı, onu potansiyel bir ilaç verme aracı haline getirir (8).

Bir BCS II bileşiğin oral biyoyararlanımda artışı için stabil nanoemülsiyon formülasyonun geliştirmesi ile elde edilir ve bu elde etmenin önkoşulu, bağırsak sıvısında ince bir şekilde dağılmış olması ve agregasyon olmamasıdır (2).

Nanoemülsiyonların bakterilere (örn., E. coli, Salmonella, S. aureus), zarflanmış virüslere (örn., HIV, Herpes simpleks), mantarlara (örn., Candida, Dermatofitler) ve sporlara (örn. Şarbon)

karşı geniş spektrumlu aktiviteleri olduğu görülmüştür. Nanoemülsiyon parçacıkları, lipit içeren organizmalarla kaynaşmak için termodinamik olarak tahrik edilir ve bu füzyon, emülsiyonun katyonik yükü ile patojen üzerindeki anyonik yük arasındaki elektrostatik çekim ile güçlendirilir. Füzyondan sonra emülsiyon içinde sıkışan enerjinin bir kısmı serbest bırakılır. Hücre lizeleri ve mikroorganizmaların ölümü, patojen lipit hücre zarının dengesizleşmesi nedeniyle oluşur (4). Bir nanoemülsiyon, hidrofobik ilacı yağ damlacıklarına dahil edebilir ve çok küçük parçacık boyutu nedeniyle, çözünürlüğü zayıf olan ilacın oral biyoyararlanımını arttırmak için kullanılabilir. Steroidler, hormonlar, diüretik ve antibiyotikler gibi ilaçlar oral yoldan nanoemülsiyon formunda verilebilir (4). Nanoteknolojinin kullanımı, moleküllerin oral biyoyararlanımını arttırmak ve ayrıca toksisitelerini azaltmak için mükemmel bir araçtır (33).

Nanomedikal alanı, özellikle kanser ilacı dağıtımındaki uygulamalar için son zamanlarda büyük ilgi görmüştür. Kullanılan malzeme teknolojisindeki gelişmeler ve yeni üretim yöntemleri sayesinde, nanoparçacık (NP) ilaç dağıtım platformları artık boyut, şekil ve yük açısından neredeyse sınırsız sayıda konfigürasyona göre üretilebilir, bu sebeple algılama, önleme ve onkolojide tedavi için pek çok yeni yollar açılmakta ve ilerlemeler kaydedilmektedir. Lipozomlar, polimerik miseller ve inorganik NP gibi nanoterapötikler, çoğu kemoterapi ilacının klinik uygulamasını sınırlandıran ciddi sistemik toksisitelerin üstesinden gelerek geleneksel küçük moleküllü kemoterapi rejimlerine göre belirgin bir işlevsel avantaja sahiptir. Ayrıca, nanoparçacık ilaç dağıtım platformları sadece küçük moleküllü ilaçlara kıyasla önemli ölçüde uzun dolaşım sağlar. En önemlisi, anjiyogenez sırasında oluşan damarların sızması ve EPR (enhanced permeability and retention) etkisini oluşturan lenfatik drenajın bozulması, NP'nin ekstravazasyonu için birincil itici güç sağlar, intratümöral birikim ve dağılımı iyileştirir ve terapötik sonuçların artmasına neden olur (34).

Nano / mikro taşıyıcı sistemler, sağlamlık, küçük boyut, geniş yüzey alanı, çok yönlü yüzey modifikasyonu, hücre içi alım ve kontrollü salım açısından diğer taşıyıcılara göre büyük avantajlara sahiptir. Bu nedenlerden ötürü, terapötik ajanların invaziv / non-invaziv yollarla sistemik dolaşıma verilmesinde büyük potansiyel sergilerler (35).

Mikroemülsiyonlar (ME'ler), su, yağ, yüzey aktif maddeleri ve yardımcı yüzey aktif maddelerin karıştırılmasıyla kendiliğinden oluşan termodinamik olarak stabil koloidal dispersiyonlar olarak tanımlanabilir. Damlacık boyutları 10 ila 200 nm arasındadır, bu da optik olarak şeffaf dispersiyonlarla sonuçlanır. Bu sistemler kendi kendine bir araya getirme ile oluşturulmasına rağmen, kinetik enerji bariyerleri veya kütle taşıma sınırlamaları nedeniyle, genellikle harici bir enerjinin (ısıtma veya karıştırma) uygulanması gereklidir. Nanoemülsiyonlar (NE'ler) stabilizasyon ajanları olarak yüzey aktif maddeleri içeren yağ içinde su (W / O) veya su içinde

yağ (O / W) formülasyonlarının heterojen sistemleridir, burada iç faz nanometre ölçeğinde bir boyut sunar. NE damlacıklarının submikrometrik ölçeği üzerindeki ortak kriterlere rağmen, farklı yazarlar tarafından birkaç üst parçacık boyut limitide önerilmiştir: 100 nm, 200 nm ve 500 nm, optik özellikler ve sıklıkla amaçlanan uygulama dikkate alınarak literatürde belirtilmiş olan limitlerden bir kaçıdır (36).

Bu iki sistemin bazı farklılıkları vardır. Kendiliğinden oluşabilen ve termodinamik olarak stabil olan ME'lerin aksine, NE'ler denge olmayan, termodinamik olarak dengesiz sistemlerdir, çünkü koloidal dispersiyonun damlacıkları, ayrılmış yağ ve su fazlarından daha büyük bir ara yüz gerilimine sahiptir. Sonuç olarak, NE'ler sadece bir koloidal dispersiyon elde etmek için harici bir enerji girişine ihtiyaç duymakla kalmaz, aynı zamanda flokülasyon ve birleşme gibi instabilite sorunlarına maruz kalarak zamanla bozulma eğilimi gösterebilirler (36).

Literatür taraması, ilaç geliştirme araştırmaları sırasında üretilen önemli sayıda yeni kimyasal varlığın (NCE) büyük ölçüde lipofilik olduğunu ortaya koymaktadır. Buna göre, zayıf oral biyoyararlanım, düzensiz emilim, denek içi ve denekler arası farmakokinetik varyasyonlar, doz orantısızlığı eksikliği gibi sorunlar bu NCE'lerle ilişkilidir (37).

Bu nedenle amorf katı form, nanopartiküller, katı dispersiyonlar, ekstrüzyonlar, tuz oluşumu, inert lipit taşıyıcıya lipofilik bileşenin dahil edilmesi, mikroemülsiyon veya nanoemülsiyonların oluşumu, kendiliğinden emülsifiye edici formülasyonlar, lipozomlar, katı lipit nanoparçacıkları veya lipit nano-taşıyıcılar bileşiklerin lipofilik özellikleri ile ilgili bu sorunların üstesinden gelmek için giderek daha popüler hale gelmektedir (37). Bu teknikler arasında nanoemülsiyon (NE), yüzey aktif madde molekülleri ile stabilize edilmiş sulu bir ortamda dağılmış yağ damlacıklarından oluşan izotropik, şeffaf (veya yarı saydam) heterojen bir karışım olma özelliğini taşımaktadır (37).

2.1. Nanoemülsiyonlar

Nanoemülsiyonlar, uygun oranlarda bir yağ fazı, sulu faz, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif maddeden oluşan koloidal dispersiyonlardır. Kaba emülsiyonların aksine, dış enerji ile mikronize edilir. Bu da nanoemülsiyonların, düşük arayüzey gerilimine dayanır. Bu, termodinamik olarak kararlı bir nanoemülsiyonun spontan oluşumuna yol açan bir kosürfaktan eklenerek elde edilir (17). "Nanoemülsiyonlar" terimi genellikle 1000 nm'den küçük iç faz damlacıkları olan emülsiyonları belirtmek için kullanılır. Nanoemülsiyonlara mini emülsiyonlar, ultra ince emülsiyonlar ve mikron altı emülsiyonlar da denir. Faz davranış çalışmaları, damlacıkların büyüklüğünün, sıcaklık veya bileşim tarafından indüklenen inversiyon noktasında sürfaktan faz yapısı (iki-sürekli mikroemülsiyon veya lamellar) tarafından yönetildiğini

göstermiştir (17). Mikroemülsiyonlar iki-sürekli fazında yağın minimum damlacık büyüklüğü ile tamamen çözündürülmesi arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Küçük damlacık boyutlarından dolayı, nanoemülsiyonlar, Nanoemülsiyon yıkımının ana mekanizmasını oluşturan Ostwald olgunlaşması ile sedimantasyona karşı stabiliteye sahiptir (17). Nanoemülsiyonlar spontan emülsifikasyon yöntemi (titrasyon yöntemi) ile hazırlanır. Bunlar sadece yağ, su, yüzey aktif madde ve kosürfaktanı doğru oranda hafif çalkalama ile harmanlayarak hazırlanabilir. Nanoemülsiyonlar kendiliğinden oluştuğu için bileşenlerin karıştırılma sırasının genellikle kritik olmadığı düşünülmektedir. Nanoemülsifikasyon kendiliğinden bir süreç olmasına rağmen, itici güçler azdır ve bu sistemlerin dengeye ulaşması için geçen süre uzun olabilir (17). Kontrollü ilaç salımı ve aktif ilacın hedeflenmesi için formülasyon olarak spontan nanoemülsiyonlar kullanılmışdır (17). Bu nanoemülsiyonlar nanometre aralığında, örneğin 20-200 nm damlacık boyutlarına sahip olan emülsiyonlardır. Burada boyut sınırı önemli bir faktör değildir, çünkü damlacık boyutuna göre herhangi bir niteliksel farklılık saptanmamıştır (17).

Damlacıkların büyüklüğü ve boyut dağılımı, emülsifikasyonun kendiliğindenliğine bağlıdır. Bu aşamada emülsifikasyonun kendiliğindenliği yeterli değildir çünkü sadece emülsifikasyon işleminin oranını değil, aynı zamanda üretilen emülsiyonun hacim ve partikül boyutu dağılımını da hesaba katılmalıdır. Emülsifikasyon işleminin kendiliğindenliği esas olarak aşağıdaki değişkenlere bağlıdır (26):

- arayüzey gerilimi,
- arayüzey ve kütle viskozitesi,
- faz geçiş bölgesi
- yüzey aktif madde yapısı ve konsantrasyonu (26).

Nanopartiküllerin (NP) önemine rağmen, NP'nin ne olduğunun tek bir tanımı yoktur. Bunun nedeni nanoteknolojinin çok disiplinli doğası olabilir. "Nanoteknoloji" terimi ilk olarak 1974 yılında Japonya'nın Tokyo Üniversitesi'nde bulunan Norio Taniguchi tarafından nanometre boyut aralığındaki herhangi bir malzeme için kullanılmıştır. Bununla birlikte, nano ölçek çözünürlük, ışık saçılması, yüzey etkileri gibi malzemelerin öngörülebilir ve sürekli özellikleri için kullanılabilir (7).

Nanoteknoloji, nano metre boyut aralığında malzeme, cihaz ve sistemlerin oluşturulması, değiştirilmesi ve kullanılmasına adanmış bir bilimdir. Yalnızca nano-metrik ölçekte oldukları için kullanılan malzemelerin iyileşen veya kökten farklılaşan fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinden yararlanır. Ayrıca, nanoteknolojinin farmasötik ve kozmetikteki sayısız

uygulaması, ilaç ve kozmetik sektöründe devrim yaratmıştır. Gerçekten de, nano-taşıyıcıların kullanımı, nanoteknolojinin, biyolojik sistemlerdeki hastalıkların önlenmesi, tedavisi, teşhisi, izlenmesi ve kontrolü için uygulanması olarak tanımlanmış birçok bilimsel disiplini içeren multidisipliner bir konu alanı olan nanomedicine tanımına yol açmıştır (38). Tabletler, kremler, IV infüzyonları vb. dahil olmak üzere antifungal ilaçlar için birkaç geleneksel dozaj formunun bulunmasına rağmen, bu sınırlamaların üstesinden gelmede yetersiz gibi görünmektedirler. Bu nedenle, bu sorunları ele almak için yenilikçi ilaç dağıtım sistemleri geliştirmesine çok ihtiyaç vardır. "Nanomateryaller" veya "nano ölçekli" terimleri, boyutları 1-100 nm arasında olan nesneleri tanımlamak için kullanılmaktadır (10). Class II etkin maddelerin farmakokinetik ve terapötik aktivitesinin iyileştirilmesi için bir nano-formülasyon yaklaşımı gerekmekte ve bu yaklaşımla ilgili sorunların üstesinden gelinebileceği umut edilmektedir (39).

Nano emülsiyonlar, damlacık boyutları 20-200 nm aralığında olan emülsiyonlardır. Küçük damlacık boyutlarından dolayı şeffaf / yarı saydam bir görünüme sahiptirler (40). Her ne kadar nano emülsiyonlar, mikroemülsiyonların aksine, termodinamik olarak kararlı olmasalar da, uzun vadeli kinetik stabiliteye sahip olabilirler ve kimyasal, farmakolojik, kozmetik, zirai ilaç vb. pek çok alanda uygulanabilirler (40).

Nanoemülsiyon oluşumu yağ tipine bağlıdır, dar monomodal partikül boyutu dağılımı (polidispersite indeksi% 0.23) olan küçük damlacıklar (çap% 200 nm), orta zincirli trigliseritler (MCT) kullanılarak oluşturulabilir, ancak uzun zincirli trigliseritler kullanılarak oluşturulamaz. Nanoemülsiyon oluşumu ayrıca sürfaktan tipine ve konsantrasyonuna da bağlıdır (41). Nanoemülsiyonlar, ortam sıcaklığında 1 aya kadar saklandığında damlacık birikmesine (agregasyon) karşı stabildirler (41).

ME'ler, hazırlanma kolaylığı, uzun süreli stabilite, hem hidrofilik hem de lipofilik ilaçlar için yüksek çözünürlük kapasitesi ve sonuç olarak gelişmiş ilaç dağıtımı ve gelişmiş emilim özellikleri nedeniyle ilginç bir ilaç dağıtım aracıdır. Özellikle, bu son avantaj, esas olarak, ilacın halihazırda çözülmüş haliyle, geniş bir yüzeyler arası alanı sağlayan ME damlacıklarının koloidal boyutu ile ilgilidir (31). NE formülasyonunun lipofilik doğasına ek olarak partikül boyutunun azalması nedeniyle yüksek yüzey alanı, biyolojik membranlar arasında ilaç geçirgenliğini geliştirerek daha iyi ilaç etkinliği sağlar (10).

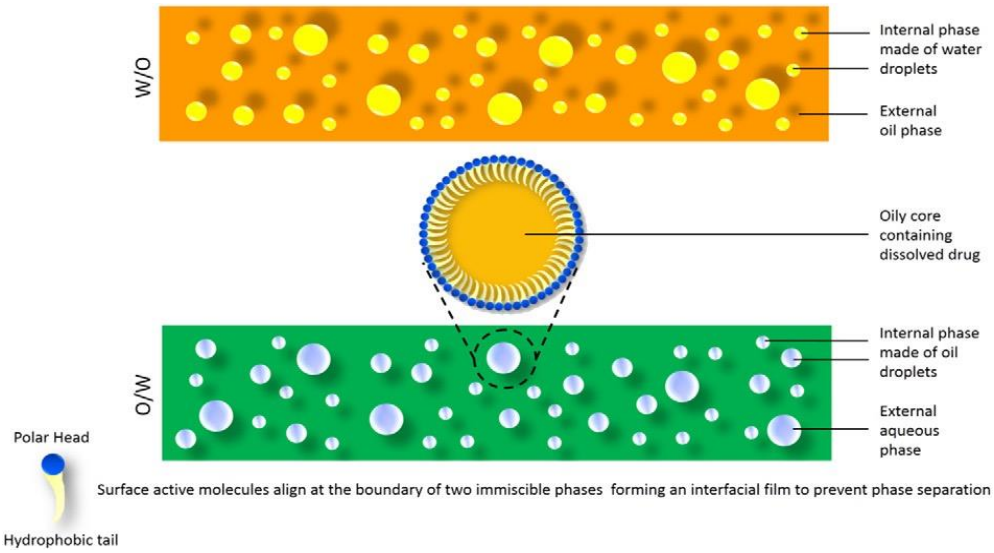
İlaç hedeflemenin amacı, ilaçları doğru yere, doğru konsantrasyonda ve uygun bir süre boyunca gönderebilmektir. NP'ler, çevresel koşullara bağlı olarak sürekli salımları nedeniyle ilaçların spesifik olarak hedeflenmesine ve terapötik hücre içi seviyelere ulaşmasına izin verir. Hedef dokuya veya hücreye ulaşmadan önce istenmeyen etkileşimler ile ilacın bozulmasını önlerler.

Aynı zamanda, ilaçların fizikokimyasal özelliklerini optimize ederek klinik kullanımlarına veya hastaya daha uygun yollarla uygulanmasına izin verir. Ek olarak, tek bir formülasyonda farklı ilaçlar taşıyabilirler, bu da tedavisi ilaç kombinasyonlarına dayanan HIV veya Helicobacter pylori'ye bağlı enfeksiyonlarla mücadelede son derece yararlıdır (29). NP'ler, maddeleri taşıma biçimlerine veya matrisin özelliklerine göre ve matrisin yapıldığı malzeme türüne göre sınıflandırılırlar (29). Nanoemülsiyonlar (NE_s), genellikle hidrofilik kosolventler, lipit ve yüzey aktif madde karışımından elde edilen 10 ila 500 nm arasında değişen damlacık çapları ile izotropik ilaçlardırlar. NE lar, küçük boyut, iyi kinetik stabilite, yüksek ilaç çözme kapasitesi ve cilde daha fazla nüfuz etme gibi antifungal ilaç dağıtımı için son derece önemli ve ilginç özelliklere sahiptirler (10). Dağılmış fazın çözünürlüğü, azalan damlacık yarıçaplarıyla artar. Bu nedenle, daha küçük damlacıklar daha hızlı çözünür, daha büyük damlacıklara dönüşür ve bu damlacıkların üzerine çöker. Bununla birlikte, bu fenomen nanoemülsiyonun bir monodispersitesi sağlanarak geciktirilebilir (42).

Kompozisyona bağlı olarak üç tip Nanoemülsiyon oluşması muhtemeldir:

- Sudaki yağ (O/W) yağ damlacıklarının sürekli sulu fazda dağıldığı nanoemülsiyonlar
- Yağda su (W/O) su damlacıklarının sürekli yağ fazında dağıldığı nanoemülsiyonlar
- Yağ ve suyun mikro alanlarında sistem içinde dağılmış olan iki-sürekli nanoemülsiyonlar (17).

Üç tip nanoemülsiyonun hepside, surfaktan, kosurfaktan veya yardımcı yüzey aktif madde kombinasyonu ile stabilize edilirler (17). O/W ve W/O sistemler şekil 2-2’de gösterilmektedir.



Şekil 2-2: Bir O / W veya bir W / O nanoemülsiyonunun yapısı. Bunlar, yüzeysel olarak aktif bir bileşik olan "yüzey aktif madde" yardımıyla optimize edilmiş bir yağ fazının sulu fazda veya tam tersi şekilde dağıldığı iki fazlı sistemlerdir. Kullanılan fazlar genellikle karışmaz sıvılardır ve ilaç içeriği genellikle iç fazda çözündürülür. Boyut olarak nanoemülsiyonlar, kaba emülsiyonlardan çok daha incedir.

Nanoemülsiyonlar, iki karışmayan sıvının iki fazlı dispersiyonudur: Nanoemülsiyonlar, su içinde yağ (O/W), uygun bir yüzey aktif madde kullanılarak stabilize edilmiş iki karışmaz sıvının yağda su (W/O) dispersiyonudur. Bunlar, diferansiyel ilaç yüklemesi olan ultra ince dispersiyonlar olarak karşımıza çıkmaktadır; viskoelastik ve görsel özellikleri ilaç salımı da dahil olmak üzere çok çeşitli fonksiyonlarda işimize yarayabilir. Literatürde mikron altı emülsiyonlar, mini emülsiyonlar, ultra ince emülsiyonlar olarak da adlandırılmıştır (43). Nano emülsiyonlar, 20-500 nm aralığında tekdüze ve son derece küçük damlacık boyutuna sahip bir emülsiyon türüdür. Makro emülsiyonlarla karşılaştırıldığında, nano boyutlu partiküller moleküller arası daha az çekime sahiptir. Birleşme ve sedimantasyona karşı daha yüksek stabilite sergilerler, ancak bu da sınırlıdır (44). Nanopartiküller son zamanlarda ilaç çözünme hızını, doygunluk çözünürlüğünü, biyoyararlanımı ve dolayısıyla etkinliği geliştirmek için kullanılmıştır. Ayrıca nanoformülasyonlar, ilacın plazma konsantrasyonlarındaki dalgalanmalarını ortadan kaldırabilmekte ve sonuç olarak dar terapötik konsantrasyonlardan dolayı oluşan sorunları önleyebilen ve ilaçların kısa yarılanma ömrünü (short half-life) telafi edebilen ve dokuya kalıcı alımı ve dolayısıyla da toksisiteyi azaltmakta anlamlı etkiye sahip olabilen sistemlerdir (45). NE'lar ayrıca ilacın çözünmüş nano-globül formunda bulunmasına bağlı olarak serbest ilaçlara kıyasla daha iyi antimikotik aktivite elde etmiştir (10).

Kendi kendine emülsifikasyon yöntemi: Emülsifikasyon sırasında sistemde herhangi bir faz geçişi (yüzey aktif madde spontan eğriliğinde hiçbir değişiklik olmadan) olmaz, genellikle sabit bir sıcaklıkta yapılan seyreltme işlemi ile oluşur. Kendi kendine emülsifikasyon yolu O/W nano emülsiyonlarını hazırlamanın yaygın bir yoludur. Burada nano emülsiyon damlacıkları çok gelişmiştir çünkü yüzey aktif madde konsantrasyonu termodinamik kararlılık için gereken çok düşük arayüzey gerilimini koruma amaçlı olarak yüksek değildir. O/W mikroemülsiyonlarının seyreltilmesiyle elde edilen nano emülsiyonların oluşumu ve stabilitesi üzerine sistematik çalışmalar rapor edilmiştir. Bunlardan birinde, suyun aynı anda mikroemülsiyon içine dahil edilmesinden oluşan seyreltme prosedürü kullanılmıştır (40).

Mikroemülsiyonlar şeffaf, optik olarak izotropik ve termodinamik olarak stabildir. Newtonian viskoz olmayan bir sıvı olan su, yağ ve yüzey aktif maddelerden oluşan sistemlerdir. Aslında, bu araçları tanımlayan mikroemülsiyonlar terimi, nanometrik ölçekte (genellikle 10e100 nm aralığında) damlacık boyutuna sahip oldukları için yanlış bir terminolojidir. Bu nedenle, son on yılda giderek daha fazla tercih edilen bir tanım olan "nanoemülsiyonlar" olarak daha iyi tanımlanabilirler. Ancak son zamanlarda nanoemülsiyonlar terimi, 250 nm'den daha küçük olan ve metastabil durumdaki damlacık çapına sahip sistemler için kullanılmıştır. Son zamanlarda yapılan bir incelemede, mikroemülsiyonlar ve nanoemülsiyonlar arasındaki temel farklılıkların, birincisinin termodinamik olarak kararlı olduğunu, kendiliğinden (veya çok düşük enerji girdisi ile) oluştuğunu ancak emülsiyonlara kıyasla daha fazla miktarda sürfaktan gerektirdiğini belirtir bu da tahriş potansiyellerinin artmasına neden olabilmektedir (38).

Bununla birlikte, esas olarak emülsiyon oluşumu ve stabilizasyonunun geleneksel yönlerinin sadece kısmen nanoemülsiyonlar için geçerli olmasından kaynaklanan nanoemülsiyonların geliştirilmesi, üretilmesi ve manipülasyonu ile ilgili nispeten dar bir görüşde vardır. Küçük damlacık boyutu, onlara berrak bir görünüm verir. Nanoemülsiyon kelimesi bazen mikron altı emülsiyon veya mini emülsiyon olarak kullanılır. Nanoemülsiyonlar, uzun vadeli termodinamik stabilite bakımından büyük farklılıklar göstermektedirler. Nanoemülsiyonlar, sıvılar, kremler, spreyler, jeller, aerosoller, köpükler gibi çeşitli dozaj formlarına dönüştürülebilir ve topikal, oral, intravenöz, intranazal, pulmoner ve oküler gibi eşit derecede değişk yollarla uygulanabilir (43).

Kendi kendine nano emülsifiye edici ilaç verme sistemi (SNEDDS), suda çözünürlüğü düşük ilaçların çözünme hızını, oranını ve emilimini arttırmak için umut verici bir teknolojidir (46). Herhangi bir mekanik enerji girişi olmadan uygun bir yağ fazı ve suyun karıştırılması üzerine yüzey aktif ve yardımcı yüzey aktif maddelerinin kimyasal enerjisinin bir araya gelmesiyle

kendiliğinden oluşturulabilen berrak, izotropik, termodinamik olarak stabil koloidal sistemlerdir (46).

Kendiliğinden emülsifiye edici mikroemülsiyonlar, suda çözünürlüğü düşük ilaçların çözündürülmesi, ince damlacıklar halinde çözünmüş ilacın bağırsağa yönlendirilmesi ve böylece emilimi sınırlayan çözünme adımından kaçınılmasına olanak tanır. Ayrıca, lipitler mide tutma süresini artırabilir ve yüksek oranda lipofilik ilaçlar için, ilk geçiş etkisini de azaltarak lenfatik taşınmayı ve biyoyararlanımı artırabilir. Hızlı sindirimleri ve iyonik olmayan sürfaktanları nedeniyle orta zincirli trigliseritler tercih edilir, çünkü iyonikten daha az toksiktirler, pH ve iyonik güçten daha az etkilenirler ve ilaçların çözünmesini ve emilimini geliştirirler (47).

Basit misel dispersiyonlardan daha yüksek çözünürlük kapasitesine, kaba emülsiyonlardan daha yüksek kinetik stabiliteye sahiptirler özellikle kozmetik ve pestisit endüstrisinde sulu baz olarak kullanılmışlardır. Uzun süreli fiziksel stabiliteleri, kremlaşma, sedimantasyon ve birleşme gibi geleneksel destabilizasyon sorunlarını çözmek ise küçük damlacık boyutunun doğrudan bir sonucudur. Brownian hareketi genellikle yer çekimi veya viskoziteye bağlı kinetik instabiliteyi dengeleyecek kadar güçlüdür. Parenteral formda, nanoemülsiyonlar, ilaçları sert çevresel faktörlere (oksidasyon, pH, hidroliz) karşı korumak, gelişmiş geçirgenlik etkisinden faydalanmak ve retikülo-endotelyal sistemden kaçınmak için kullanılmıştır. Nanoemulsiyonlar oral yoldan uygulandığında, nanoemülsiyondaki damlacıkların minik boyutundan dolayı çok hidrofobik ilaçları çözebilme kabiliyetleri, ilacın çözünme hızını ve daha sonra beklenen sistemik biyoyararlanımı önemli ölçüde arttırmak için olanak sağlar. Nanoemülsiyondan ilaç salımı, yağdan sürfaktan tabakasına ve daha sonra sulu faza geçişini içerir. Yağdan difüze olurken, çözünen ilaç kısmı etrafını çevreleyen su ile temas eder ve nanopresipitasyona uğrar. Buda ilacın yüzey alanını büyük ölçüde arttırır; Noyes-Whitney denklemine uygun olarak çözünmesini hızlandırır. Böylece, ilaç salımının dinamiği, bu adımların her birinde, sürekli/kontrollü salım grafiği elde etmek için ince bir şekilde değişim gösteren nanoemülsiyon bileşimiyle şekillenebilir. Doğrudan paraselüler / transselüler nakil ve uzun süreli gastrik retansiyon gibi diğer faktörler de nanoemülsiyon aracılı biyoyararlanımın artmasında katkıda bulunur. Birkaç nanoemülsiyonun doğrudan lenfatik absorbsiyona maruz kaldığı ve böylece biyoyararlanımı arttırmak ve hepatik transformasyona uğrayan ilaç dozunu büyük ölçüde azaltmak için ilk geçiş metabolizmasından kaçındığı bildirilmiştir. Bu faydalarına rağmen, nanoemülsiyonların geliştirilmesi, üretilmesi ve manipülasyonu ile ilgili olarak, emülsiyon oluşumu ve stabilizasyonunda konvansiyonel kavramlarının sadece kısmen geçerli olduğu bilinmektedir. Bu durum mevcut perspektife öncülük yapar. Nanoemülsiyonların göz önünde bulundurulması gereken dezavantajları da vardır. Bunlar arasında birincil olanı,

nanoemülsiyonların erime noktası yüksek olan maddeleri çözündürememesidir. Ayrıca, nanoemülsiyonların geliştirilmesinde kullanılacak bileşenlerin, insan sağlığı için kesinlikle toksik olmaması gereklidir. Düşük enerji yöntemleriyle hazırlanan nanoemülsiyonlar, damlacıkların stabilizasyonu için sıklıkla büyük miktarlarda yüzey aktif madde gerektirir bu gibi durumlarda sürfaktanın yoğun kullanımı biyomembranın akışkanlaşmasına neden olarak sorun oluşturabilir (43). NP'lerin biyolojik aktivitesinin etkisi yüzey özelliklerine önemli ölçüde bağlıdır. NP'lerin hücresel ve in vivo kaderinin iç yapılarından ve diğer özelliklerinden ne kadar etkilendiği ise henüz yeterince bilinmemektedir (48).

Bu konuda, kontrollü ve hedefe yönelik ilaç verme sistemlerinin geliştirilmesi farmakolojik tedavinin en temel zorluklarından biridir. Özellikle, ilaç dağıtım sistemleri olarak nanokapsüllerin (NC) geliştirilmesinin, çoklu ilaç direncinin üstesinden gelmede faydalı bir araç olduğu bildirilmiştir. NC'nin geleneksel formülasyonlara göre temel avantajları arasında sürekli salım, ilaç seçiciliği ve etkinliği, ilaç biyoyararlanımının iyileştirilmesi ve ilaç toksisitesinin hafifletilmesi sayılabilir. Nanokapsüller, ümit verici terapötik uygulamalar sunan oldukça ilginç ilaç verme sistemleridir (49).

Niosomlar veya iyonik olmayan yüzey aktif madde vezikülleri, fiziksel olarak, iç boşlukta hidrofilik ilaçları ve lipit tabakasında ise lipofilik ilaçları kapsülleyebilen fosfolipitlerin oluşturduğu lipozomlara benzer yapılardır. Ancak lipozomlarla karşılaştırıldıklarında, niosomlar daha kararlı ve oksidasyona daha az duyarlıdırlar. Ayrıca maliyet avantajları vardır (50).

Organik NP'ler en çok çalışılan tiptir ve bunlar arasında lipozomlar, polimerik NP'ler, polimerik miseller ve katı lipit NP'ler (SLN'ler) bulunur. Temel avantajları genellikle biyolojik olarak parçalanabilir olmaları ve iyi uyumluluk göstermeleridir. Yapıldıkları bileşikler, Krebs döngüsü yoluyla kolayca metabolize edilen biyolojik olarak tolere edilen moleküllere ayrılırlar. Bu nedenle minimal sistemik toksisiteye sahiptirler, sitotoksik olmamanın dışında hücre canlılığını rapor eden bazı çalışmalar bile vardır. Bir diğer avantajları ise, hem hidrofilik, hem de hidrofobik ilaçları taşıyabilmeleridir (29).

Nano emülsiyonlar, nanopresipitasyon, nanokapsüller ve nanosfer sentezinde spontan emülsifikasyon ile birleştirilmiş arayüzey polikondansasyonunda birincil adımı oluşturur. Bu iki teknik, aynı optimize edilmiş koşullarda spontan emülsifikasyon aşamasını gerektirir (26).

2.2. Posaconazole

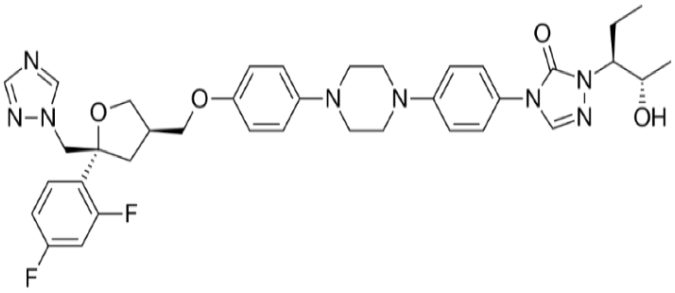
Azol ajanları, biyosentez ergosterolüne müdahale etmeyle ve böylece hücre zarının normal işlevlerini değiştirerek hücre ölümüne neden olan ortak bir etki mekanizmasına sahiptirler (49).

Ayrıca, antifungal direncin büyümeye devam ettiği ve Candida enfeksiyonlarına karşı tedaviler için yeni biyoaktif bileşiklerin ve yeni antifungal formülasyonlarının geliştirilmesine ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (49). Posakonazol, invaziv mantar enfeksiyonlarının tedavisi için geniş spektrumlu bir antifungal ilaçtır (22).

Son yıllarda, invaziv mantar enfeksiyonları ve ilaç direnç oranları sürekli artmaktadır, bu da mantar enfeksiyonunu, özellikle hasarlı bağışıklık sistemi olan hastalar ve insan sağlığı için ciddi bir tehdit haline getirmektedir. Bu nedenle, mantar enfeksiyonu için daha etkili antibakteriyel ilaçlara büyük ihtiyaç vardır. Posakonazol (geniş spektrumlu bir triazol ajanı) 2006 yılında Noxafil® ticari ismi altında insanlar için invaziv mantar enfeksiyonlarını önlemek amacıyla ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır. Posakonazol, Aspergillus, Candida ve Cryptococcus türleri gibi yaygın olarak karşılaşılan bir dizi mantar patojenine karşı geniş bir aktivite spektrumuna sahiptir. Bununla birlikte, bazı olumsuz olaylar (baş ağrısı, yorgunluk, anoreksi, bulantı, kusma, adet bozukluğu, karın ağrısı ve serum glutamik piruvik transaminaz düzeyleri) posakonazol tedavisi alan popülasyonda yüksek oranda meydana gelmektedir (22). Oral posakonazol çözeltisi uygulandığında diyare yüzdesi% 30'a kadar yüksektir. Posakonazolün neden olduğu akut bağırsak enflamatuar yanıtı, bağırsak fonksiyon bozukluğuna da neden olabilecek ana advers reaksiyonlardan sorumludur (22).

Posakonazol (PSC), azol antifungalleri içinde nispeten yenidir (16). PSC, eşsiz antifungal aktiviteleri ile antifungal ajanların azol sınıfını genişletir. PSC (MW 700.8, pKa 3.6 ve 4.6) itrakonazole (ICZ) benzer bir triazol yapısına sahip yüksek oranda lipofiliktir (16) (Şekil 2-3 ve 2-4). PSC kimyasal olarak, dört kiral merkezli enantiyomerik olarak saf bir RRSS izomeridir. PSC'nin yapısı, diğer azollerinde ortak özelliklerinde olduğu gibi klasik bir triazol ve difloro fenil halkalarından oluşur. PSC'nin tetrahidrofuran oksijeni, FCZ'nin hidroksil oksijen bileşeniyle çakışır. PSC'nin uzun yan zinciri, A sarmalı ′4-1 ve β4-2 sarmalını içeren bir sitokrom P450 (CYP450) enzimi olan lanosterol 14α-demetilazindir (16). PSC, aktivitesini mantar ergosterol biyosentezini inhibe ederek gerçekleştirir. PSC, CYP450'ye bağımlı bir enzim olan lanosterol 14α-demetilazin hedef bölgesinde yer alan kofaktörüne bağlanır. Bu enzim CYP51A gen ekspresyonunun (ERG11) ürünüdür. Mantar hücre zarının bütünlüğü ergosterol tarafından korunur. PSC, ergosterolün C-14 ve C-4 pozisyonlarında demetilasyonunu önler. Ergosterolün değiştirilmiş yapısı, plazma membran fonksiyonuna müdahale ederek mantar hücresi ölümüne neden olur (16).

Kimyasal ismi 4- {p- [4- (p - {[(3R, 5R) -5- (2,4-diflorofenil) tetrahidro-5- (1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil) -3-furil] metoksi} fenil) -1-piperazinil] fenil} -1 - [(1S, 2S) -1-etil-2-hidroksi-propil] - Δ2-1,2,4-triazolin-5’ tir (51) (Şekil 2-3).



Şekil 2-3: Posaconazolun yapısı

Posakonazol, maya ve küfler dahil olmak üzere çeşitli patojenik mantarlara karşı güçlü aktiviteye sahip geniş spektrumlu bir triazol antifungal ajandır (52). Mantarların neden olduğu enfeksiyonlar insanlarda oldukça yaygındır, çünkü dünya çapında 1 milyardan fazla insanın bu organizmaların neden olduğu enfeksiyonlara yakalandığı tahmin edilmektedir (53).
Bununla birlikte, insanlarda enfeksiyonlara neden olabilen mantarların tam kapsamı bilinmemektedir. Her ne kadar sadece birkaç yüz türün insanlarda hastalığa neden olduğu bildirilmiş olsa da 1,5 milyon ila 5 milyon arasında mantar türü olduğu ve sadece yaklaşık 100.000 türün tespit edildiği tahmin edilmektedir (53).

Suda çözünmeyen ilacın salınımını, çeşitli yüzey aktif maddeler ile arayüzey engelleri kaldırılarak küçük yağ damlacıklarında çözerek biyoyararlanımını artırabilmek mümkündür (2). Formülasyon geliştirmek için seçilen bazı aday ilaç molekülleri, esas olarak suda sınırlı çözünürlükleri nedeniyle zayıf oral biyoyararlanımdan muzdariptir (2). Lipofilik ilaçlar için gelişmiş oral biyoyararlanım, çeşitli lipit içeren formülasyonlar kullanılarak elde edilebilir. Lipofilik ilaçların verilmesindeki son gelişmeler arasında lipit bazlı formülasyonlar, mikroemülsiyonlar, lipozomlar, kendiliğinden emülsifiye edici ilaç verme sistemleri (SEDDS) ve kendiliğinden mikroemülsifiye edici ilaç verme sistemleri (SMEDDS) ve süpersatüre edilebilir SEDDS'ler yer alır. İlaç dağıtımına yönelik çeşitli yaklaşımlar arasında, lipofilik ilaçların nanoemülsiyonları özellikle çekicidir. Yağ damlacıklarından sulu ortama ilaç salım hızı, bir ilacın çözünürlüğünün, arayüzey bariyerinin, aktarım hızı sabitinin ve damlacık boyutunun bir fonksiyonudur (2). Posakonazol yüksek oranda lipofilik bir ilaçtır (54). Posakonazol (PSC) oral olarak geniş spektrumlu bir antifungaldir (51). İnvaziv mikozların tedavisinde kritik olan en yeni triazol antifungallerden biridir (54). 14-α-demetilaz enziminin seçici bir inhibitörüdür, membran sızıntısına ve patojenlerin ölümüne neden olan 14-α-metillenmiş sterollerin birikmesine yol açar (51). Mantar hücre zarlarında ergosterol sentezinin bloke olmasına yol açan sitokrom P450 lanosterol 14-α-demetilaz (CYP51A1) inhibe ederek mantarların büyümesini bozar. Bu reaksiyonun sonucu olarak mantar hücre zarı geçirgenliği artar ve hücre büyümesi ve replikasyonu kesilir. Posakonazol, Candida spp, zygomycota ve

Aspergillus spp dahil olmak üzere çeşitli organizmalara karşı aktiftir (54). PSC çoğunlukla bağışıklık yetersizliği olan hastalarla bağlantılı mantar enfeksiyonu durumunda kullanılır (51). Aspergillus fumigatus, Blastomyces dermatitidis, seçilmiş Candida türleri, Crytopcoccus neoformans ve Trichosporon'a karşı mantar öldürücü aktivitelere sahptir (16). PSC ayrıca Candida, Coccidioides, seçilmiş Fusarium spp., Histoplasma, Scedosporium ve Zygomycetes'e karşı fungistatik aktivitelere sahiptir. Ek olarak, ilacın kaspofungin veya amfoterisin B ile birleştirilmesi A. fumigatus, C. glabrata ve C. neoformans'a karşı sinerjistik bir etkileşim ile sonuçlanır (16).

PSC, zayıf ve pH'ya bağlı çözünürlüğe sahip beyaz bir tozdur (pH 1,2'de yaklaşık 0,9 mg / mL) (pH 6,5'te yaklaşık 0,006 mg / mL çözünürlük) (12). Bir bileşiğin zayıf çözünürlüğü çeşitli biyofarmasötik problemlerle ilişkilidir. Örneğin, oral uygulama durumunda, sindirim sıvılarında sınırlı çözünürlüğü ve düşük çözünme oranlarına sahip NCE'ler düşük biyoyararlanım, tokluk / açlık durum değişkenliği, hastalar arası yüksek değişkenlik, etki başlangıcının gecikebilmesi, doz orantısızlığı ve lokal tahrişlere sebep olur (7). Posakonazol, hematolojik maligniteleri olan hastalarda invaziv mantar hastalıklarının (IFD'ler) önlenmesinde flukonazol veya itrakonazolden üstündür (18). Nötropeniden iyileşen veya tam remisyon elde eden hastalara posakonazol veya vorikonazol ile profilaksi uygulanmıştır (18). Posakonazol verilen sadece bir hastada yan etkiler görülürken, Vorikonazol verilen on bir hastada bu tür olaylar görülmüştür (P=0,003). Posakonazol veya vorikonazol alan hastalarda benzer oranlarda sistemik antifungal tedavide, posakonazol grubunda % 18,52 (15/81) ve vorikonazol grubunda % 16,87 (14/83) (P> 0.05) oranında etkinlik kanıtlanmıştır (18). Tüm hastalara posaconazole oral süspansiyon (40 mg / mL) 200 mg, 3 kez / gün ve vorikonazol 200 mg, 2 kez / gün verilmiştir. Maliyet etkinlik analizinde, iki grubun prognozu yakındır ancak posakonazolün ilaç edinme maliyetleri vorikonazolinkinden daha yüksektir (P = 0,021) (18).

Çözünürlük, ilaç tasarımı ve geliştirilmesinde kritik bir rol oynamaktadır. İn vitro ve in vivo testlerin başarısı ve ayrıca oral formülasyon gelişimi, zayıf sulu çözünürlük nedeniyle tehlikeye girebilmektedir (55). Çözünürlüğü zayıf bir molekülün terapötik bir oral ilaç ürünü haline gelip gelemeyeceği, biyoyararlanımı arttırıcı bir yaklaşım ortaya çıkarılıp çıkarılamayacağına bağlıdır. Düşük suda çözünürlük sorununu "çözmek", aşırı doymuş konsantrasyonlara ulaşılabilecek şekilde bağırsak emilimi için çözünmüş ilacın fraksiyonunu arttıracak şekilde ilacın çözünmesini kolaylaştıracak etkin bir formülasyon geliştirerek oluşturulabilir (28).

PSC oral yoldan verilir ve oral emilimi daha yüksek dozlardadır (> 80mg / kg) (70). Bu nedenle, enterik bir form gibi modifiye edilmiş salımlı dozaj formu, gıdaların ilaç emilimi üzerindeki

etkisini azaltmak için yardımcı olacaktır (12). Çünkü ince ve kalın bağırsağın pH'sında gıda tüketiminden sonra önemli bir değişiklik rapor edilmemiştir (12).

PSC kullanımındaki en önemli sınırlama, yüksek ilaç-gıda ve ilaç-ilaç etkileşimi insidansına sahip olmasıdır. Ayrıca, emilimi gıda alımına bağlıdır. Plazma proteinlerine bağlanması çok yüksektir (>% 98). Tüm bu konular, toksikolojik çalışmalarda farmasötik preparatların endüstriyel kalite kontrolü ve terapötik ilaç izleme (TDM) için yeni, daha basit ve hassas onaylanmış bir yöntem geliştirmek için acil bir ihtiyaç yaratmaktadır (51).

Aspergillus spp ve Candida spp dahil olmak üzere geniş bir spektruma sahip yeni bir azol olan posakonazol, nötropenik hastalarda ve ağır hücre greftine karşı hastalıkları olan klinik çalışmalara göre birincil antifungal profilaksi olarak kullanılmıştır (56). Antifungal profilaksinin etkinliği ile ilgili çalışmalar farklı klinik ortamlarda gerçekleştirilmiştir (56).

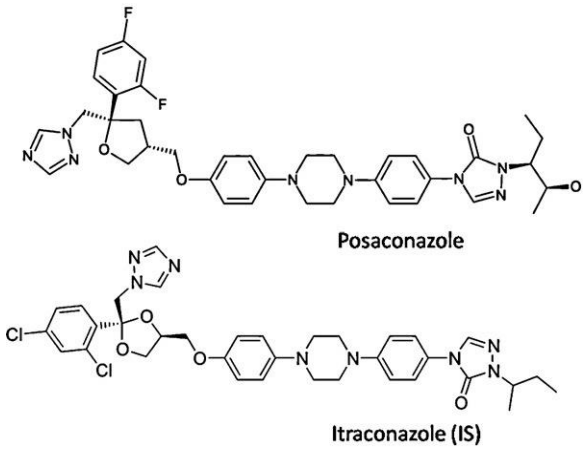
İnvaziv mantar enfeksiyonu (IFI) insidansı son 20 yılda önemli ölçüde artmıştır. IFI'lar önemli hasta mortalitesi oluşturabilmekte ve sağlık bakım maliyetlerini yükseltebilmektedir. Hematopoietik kök hücre nakli hastalarında (HSCT) bir yıllık sağkalım oranının IFI'lı hastalarda% 20'den az olduğu tahmin edilmektedir. IFI'lerin yüksek mortalitesi, etkisiz antifungal tedavi ile ilişkilidir (57). İnvaziv mantar hastalıkları (IFD'ler), mantarların vücudu istila ettiği ve dokularda, organlarda veya kanda çoğaldığı ve sonuçta iltihaplanma ve doku hasarına neden olduğu hastalıklardır (18). IFD'lerin erken safhasında spesifik klinik belirtiler yoktur ve antifungal ilaçların sınırlı iyileştirici etkisi ve advers reaksiyonları henüz çözülmemiştir. Bu nedenle, IFD'lere karşı profilaksi özellikle önemlidir Posakonazol geniş spektrumlu bir oral triazoldür ve yüksek riskli hastalarda IFD'leri azaltmada profilaktik olarak etkilidir. IFD'lerin atılım oranları % 1,23 (posakonazol) ve % 1,20 (vorikonazol) içindir (P> 0,05) (18).

Posakonazol (Şekil 1), triazol antifungal ajanlar arasında en güçlü aktiviteyi ve en düşük toksisiteleri gösteren yeni bir ikinci nesil triazol ajandır. Posaconazole fusarium, Candida, Aspergillus ve Zygomycetes dahil olmak üzere mantarları inhibe eden geniş spektrumlu bir antifungal ilaçtır. Ek olarak, kronik granülomatöz hastalık gibi tedavisi zor olan mantar enfeksiyonlarına karşı kurtarma tedavisi olarak kullanılabilir veya uzun süreli nötropeni hastalığı olan HSCT alıcıları için profilaktik olarak uygulanabilir (57).

Posakonazol oral yoldan biyolojik olarak alındıktan sonra, dozundan 10 saat sonra maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır, yani eliminasyonu oldukça yavaştır ve yarı ömrünün ortalaması 20 saattir. Posakonazol CYP3A4'ü inhibe eder; bununla birlikte, ilaç-ilaç etkileşimi

riskinin daha önceki ilaçlara kıyasla hala daha düşük olduğu düşünülmektedir, çünkü kısmen CYP yolakları ile posakonazol eliminasyonu çok sınırlıdır (54). PSC, CYP3A4 enziminin bir inhibitörüdür; bu nedenle, ilaç-ilaç etkileşimleri için izleme, diğer CYP3A4 substratları / inhibitörleri / indükleyicileri ile garanti edilir (16).

Posakonazolün biyoyararlanımı gıda alımı ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Ek olarak, ilaç-ilaç etkileşimlerinin plazmada posakonazol konsantrasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Bu nedenle, farmakoterapiyi optimize etmek için posakonazol plazma konsantrasyonlarını izlemek şiddetle tavsiye edilir. IFI'lerin yüksek mortalite oranı ve IFI'lerde posakonazol konsantrasyonunun kontrol edilmesinin önemi, hastalarda posokonazol konsantrasyonunun ölçülmesi için güvenilir ve verimli biyoanalitik yöntemlerin gerekli olduğunu göstermektedir (57).



Şekil 2-4. Posakonazol ve itrakonazolün yapısı (Internal standard).

Cerrahi eksizyonun ardından tekrarlayan hastalığın posakonazol ile tedavi edilen gastrointestinal basidiobolomikoz olgusunu sunan araştırmacılar, bu enfeksiyonda posakonazol kullanımının birkaç potansiyel avantajını göstermişlerdir. İlaç, karaciğer veya böbrek yetmezliği için doz ayarlaması gerektirmez. Birkaç yan etki ile iyi tolere edilir ve emilimi mide asiditesini etkileyen ilaçlarla engellenmez. Bununla birlikte, olası kısıtlamalar arasında maliyet, intravenöz formülasyon eksikliği (hastanede yatan hastalar için) ve değişken emilim nedeniyle terapötik izleme ihtiyacı bulunmasıdır. Bu çalışma, cerrahi tedaviye ek olarak posakonazol ile tedavi edilen bilinen ilk gastrointestinal basidiobolomikoz olgusudur. Ayrıca, bu enfeksiyonda antifungal tedavinin önemini göstermiştir, çünkü hem klinik, hem de radyografik düzelme (üriner sistem tıkanıklığının giderilmesi dahil) ancak posakonazol başladıktan sonra elde edilmiştir (58).

Gastrointestinal basidiobolomikoz, çoğunlukla çocuklarda ve yetişkinlerde çoğunlukla immünokompetan sistemini etkileyen çok nadir ve potansiyel olarak ölümcül bir mantar

enfeksiyonudur (59). Azol antifungal grubu basidiobolomikoz için en iyi seçim olarak kabul edilmektedir. Son olarak, Voriconazol ve Posaconazolun etkili bir şekilde tedavi ettiği gösterilmiştir (59).

İnvaziv mantar enfeksiyonları (IFI) remisyon indüksiyon kemoterapisi uygulanan hematolojik malignite hastalarında önemli morbidite ve mortalite nedenleridir. Bu nedenle, primer antifungal profilaksi, IFI gelişimini önlemek için bir strateji olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (60). Küf-aktif ajanlarla antifungal profilaksi, en son uluslararası kılavuzların önerilerine göre akut miyeloid lösemi (AML) ve hematopoietik kök hücre nakli (HSCT) alıcılarında yaygın olarak kabul edilmiş ve uygulanmıştır. Posakonazolün AML hastalarında konvansiyonel azollerle ilişkili invaziv mantar enfeksiyonlarının (IFI) insidansını azaltmada etkili olduğu belirlenmiştir (61). Posakonazol, çok sayıda mantar enfeksiyonuna karşı in vitro aktiviteye sahip güçlü, geniş spektrumlu bir triazoldür ve etkin bir IFI iyileştiricisi olarak kullanılmaktadır (60). Ek olarak, gıda alımı (spesifik olarak yağ içeren), gastrik pH, mukoza bütünlüğü ve uygulama sıklığı dahil oral süspansiyon formülasyonunun posakonazol emilimini etkileyen bir dizi faktörün olduğu gösterilmiştir (60). Hastalar arasında anlamlı değişkenlik ve posakonazol biyoyararlanımını etkileyen çeşitli faktörler, bu posakonazol formülasyonu için terapötik ilaç izleme (TDM) ihtiyacını vurgulamaktadır (60). Posakonazolün eliminasyon yarılanma ömrü 35 saattir ve kararlı durumuna 7-10 gün içinde ulaşılır. Antifungal profilaksinin klinik bağlamında, özellikle yüksek riskli hastalarda, belirli bir hastada posakonazol dozajının ve biyoyararlanımının, posakonazol seviyelerinin sabit duruma ulaşmasından önce bile hedef kararlı durum seviyelerine ulaşmak için yeterli olup olmadığının belirlenmesi arzu edilir (60).

Donör korneadan kaynaklanan mantar kontaminasyonu kritik bir konudur (62). Derin Fusarium keratitinin tedavisi zordur ve endoftalmi için yüksek bir ilerleme riski taşır. Mükemmel doku penetrasyonu sergileyen ve sistemik Fusarium enfeksiyonunun tedavisinde etkinlik gösteren posakonazol, endoftalmi olgusunun tedavisinde başarılı olmuştur (63).

Triazol antifungalleri, sitokrom P450'ye bağımlı enzim lanosterol 14-alfa-demetilazın inhibe edilmesiyle çalışır. Bu enzim, lanosterolün mantarların hücresel zarının hayati bir bileşeni olan ergosterole dönüştürülmesi için gereklidir. Ergosterolün biyo-sentezindeki bozulma, geçirgenliğini artırarak hücre zarında önemli hasara neden olarak hücrenin çözülmesi ve ölümü ile sonuçlanır. Triazol antifungallerin farmakokinetiği, kısmen doğrusal olmayan farmakokinetik, biyoyararlanımdaki farklılıklar, ilaç-ilaç etkileşimleri ve sitokrom P450 polimorfizmleri ile açıklanabilen, bireyler arası büyük değişkenlik gösterir. Gözlemsel çalışmalar, triazol plazma konsantrasyonları ile bunların etkinliği arasında bir korelasyon gösterdiğinden, ciddi mantar enfeksiyonlarının tedavisinde etkinliği sağlamak ve toksisiteden

kaçınmak için plazma triazol konsantrasyonlarını izlemek rutin bir uygulama haline gelmiştir (19).

Son zamanlarda antifungal profilaksi için kaydedilen posakonazol gecikmeli salımlı tabletler, geleneksel posakonazol oral çözeltisinden daha yüksek plazma seviyeleri elde edilmesine izin vermiştir. Bununla birlikte, posakonazolün yeni formüllerinin rolü, terapötik endikasyonlarda tanımlanmaya devam etmektedir (13). İtrakonazol, posakonazol ve yeni FDA onaylı isavukonazol, Zygomycetes'e karşı aktiviteye sahiptir (13). Posakonazol gecikmeli salım tabletleri, standart çözelti ile elde edilemeyen > 2 mg / L terapötik ilaç seviyelerine ulaşmaya izin vermiştir. Ancak Posakonazol gecikmeli salimli tabletler için çok az bilgi mevcuttur (13).

ABD ve Avrupa'da bir posakonazol tablet formülasyonu onaylanmış olmakla beraber ve klinik deneyim şu an için sınırlıdır. Bu tablet formülasyonu, oral süspansiyona kıyasla biyoyararlanım profilini önemli ölçüde iyileştirmiştir (60).

Posakonazol oral süspansiyonunun, bir triazol geniş spektrumlu antifungal ajanın emilimi, gıda veya yağ alımı, H2 bloker simetidin veya proton pompası inhibitörleri (PPI'ler) ve gastrointestinal semptomlar gibi çeşitli faktörlerden etkilenir. Posakonazolün bir tablet formülasyonu ilaç veya gıdadan daha az etkilenmesine rağmen, tablet formülasyonunun ezilemez, yarıya bölünemez ve çiğnenemez olması nedeniyle, posakonazol oral süspansiyon, tablet alamayan hastalar için önemli bir tedavi seçeneği olmaya devam etmektedir (14).

Posakonazolün suboptimal düzeyleri için risk faktörlerini belirlemek için lojistik regresyon analizi kullanılmalıdır. Modellerdeki değişkenler arasında yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, diyet, mukozit dahil gastrointestinal semptomlar ve PPI ve H2 blokerleri gibi ilaçlar yer almaktadır. Kolinearitesi nedeniyle günlük kalori ve yağ alımı arasında çok değişkenli durumlara sadece günlük kalori alımları dahil edilmektedir (14). Ayrıca, gıda ve yağ alımı sağlıklı yetişkinlerde posakonazolün biyoyararlanımını etkiler. Prospektif veriler, şiddetli mukotit veya diyarenin hafif gastrointestinal semptomlar yerine standart altı posakonazol düzeyi ile ilişkili olduğunu göstermektedir (14). Posakonazolün uzun bir yarı ömrü vardır ve kullanımın ilk haftasının sonunda sabit serum konsantrasyonlarına ulaşır (64). Posakonazol karaciğerde metabolize olur ve toksisite ile ilaca maruz kalma arasında kanıtlanmış bir bağlantı olmamasına rağmen hepatotoksisite ve dengesiz karaciğer fonksiyon testlerine neden olabilir (64). Bazı hastalarda görülen belirgin konsantrasyon-etki ilişkileri, farmakokinetik değişkenlik ve serum konsantrasyonlarının standard sevisinin altında olması nedeniyle posakonazolün Terapötik İlaç İzlenmesi (TDM) önerilir (64). Antifungal ilaç düzeylerinin ölçümü için esas

olarak yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve aynı zamanda biyo-tahliller dahil olmak üzere çeşitli yöntemler kullanılmıştır (64).

Literatürün gözden geçirilmesi sonucunda, PSC analizi için misel elektro kinetik kromatografisi (MEKC), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), LC-tandem kütle spektrometresi (LC-MS / MS), kılcal elektroforez gibi çeşitli yöntemler rapor edildiğini ortaya konmuştur (51). Bu tekniklere dayanan analiz yöntemleri basitlikleri, özgünlükleri ve düşük maliyetleri nedeniyle çok popüler olmaya devam etmektedir (51). Çalışmalar ayrıca posakonazolun kan dolaşımı konsantrasyonları ile klinik sonuçlar arasında pozitif ilişkiler olduğunu bildirmiştir (11).

Biyolojik sıvılardaki triazol antifungallerinin miktar tayini için bir dizi yöntem tarif edilmiştir. UV tespitli sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometresi (LCMS / MS) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) en yaygın olarak kullanılanlardır (19). Terapötik ilaç izlemenin (TDM) klinik faydasını en üst düzeye çıkarmak için, minimum geri dönüş sürelerinde doğru kantitatif sonuçlar gereklidir. HPLC yöntemleri ile numunelerin sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile ön-muamelesi zaman alıcı olabilir ve zararlı organik çözücülerin kullanılması istenmez (19).

Tandem kütle spektrometresi ile birleştirilmiş ultra performans sıvı kromatografisi, tek bir analitik çalışmada birkaç ilacın seçici ve hassas bir şekilde ölçülmesini sağladığı için analiz süresi ve maliyetlerde önemli azalmalar sağlar (19). Posakonazol öngörülebilir farmakokinetik özellikler gösterse de, mide asiditesi ve gastrointestinal bütünlük biyoyararlanımını etkileyebilir. Asit baskılayıcı tedavi alan ve mukoziti olan (GVHD) hastalarda, posakonazol düzeylerinde azalma olması muhtemeldir. Buna karşılık, yaşlı hastalar ve karaciğer yetmezliği olan hastalar daha yüksek posakonazol seviyeleri gösterebilir (19). Günümüzde, posakonazol TDM, gastrointestinal sistemin GVHD'si, şiddetli ishal, posakonazol seviyelerini düşüren ilaç etkileşimleri potansiyeli ve proton pompası inhibitörleri alan hastalar ile sınırlı görünmektedir (19). Bunlara ek olarak, plazma / serum örneklerinde PSC de dahil olmak üzere azol antifungallerin eşzamanlı olarak belirlenmesi son yıllarda artan bir ilgi kazanmaktadır (65).

İnsanlarda kullanım için ilk onaylandığında, oral süspansiyon uzun yıllar boyunca mevcut olan ve olmaya devam eden tek formülasyondu. Bu formülasyonla, birçok çalışma kan dolaşımı konsantrasyonlarının genellikle düşük, genellikle 700 ng / mL'den az veya birçok hastada saptanamayacağını bildirmiştir. Ek olarak, oral süspansiyonun etkinliğini değerlendiren klinik çalışmalarda posakonazol düzeyleri ile ilgili anlamlı açıklayıcı değişkenlik bildirilmiştir (11). Oral süspansiyon formülasyonu ile sadece yüksek dozlarda istenilen seviyelerde emilim meydana geldiği bulunmuştur (11). Posakonazol geniş spektrumlu bir triazol antifungal olarak,

invaziv aspergillozun profilaksisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Posakonazol invaziv aspergillozun profilaksisinde ilk seçenek olsa da, vorikonazol birinci basamak tedavi olarak önerilmektedir. Posakonazol, invaziv aspergillozların tedavisi için ikinci bir seçenek olarak kullanılmaktadır. Yakın zamana kadar, oral uygulamada posakonazolün terapötik plazma konsantrasyonlarının yetersiz emiliminin yanı sıra ilaç-ilaç etkileşimlerinin (örn., Proton pompası inhibitörlerinin eşzamanlı kullanımı) olduğu bulunmuştur. Bu konular posakonazol farmakokinetiğinde önemli ölçüde değişkenliğe yol açtığından ve bireyler arası fark gösterdiğinden yeterli plazma konsantrasyonlarına kolayca ulaşılamamıştır. Bu çalışmalardan sonra, rutin olarak posakonazol terapötik ilaç izleme (TDM) yapmak için genel bir fikir birliğine varılmıştır. Yeni modifiye edilmiş salımlı tablet ve bir intravenöz (i.v.) formülasyonun eklenmesi, daha önce kullanılan süspansiyona kıyasla ilaç emilimini ve dolayısıyla maruziyetini daha da geliştirmiştir (66). Posakonazol kullanımı yaygınlaştıkça, posakonazolün farmakokinetiğini etkileyen diğer faktörler araştırılmalıdır (66).

PSC, suda 1 mg / mL'den daha düşük bir çözünürlüğe sahiptir, ancak güçlü bir şekilde asidik bir ortamda kısmen çözünür (67). Bu API'nin son derece düşük suda çözünürlüğü ve T. cruzi'ye karşı umut verici aktivitesi nedeniyle, esas olarak tatmin edici bir tedavisi olmayan Kagas hastalığının kronik fazında, PSC'nin BNZ ile birlikte bir farmasötik sistemde verilmesi çok umut verici olacaktır. her iki API'nin çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını arttırabilen, böylece akut ve kronik fazlarda daha fazla anti-kagasik etkiyi teşvik etmek için bir kombinasyon terapisi sağlayabilir (67). PSC süspansiyonunun emilimi, gıda, besin takviyeleri ve gazlı içecekler ile verildiğinde arttırılır (16). PSC'nin bölünmüş dozlarda oral uygulaması da biyoyararlanımını arttırır. PSC büyük bir dağılım hacmine sahiptir ve yüksek oranda proteine bağlanır (>% 95) (72). PSC'un en yaygın yan etkileri arasında baş ağrısı, yorgunluk, bulantı, kusma ve yüksek hepatik enzimler bulunur (16).

Bununla birlikte, antibakteriyellerden farklı olarak, antifungal ajanların in vitro ve in vivo aktiviteleri klinik sonuçlar ile ilişkili değildir (16). PSC ABD'de bir PSC süspansiyonu (40 mg / mL) olarak mevcuttur (16). Posakonazol antifungal profilaksisi alan bazı hastalarda mevcut oral süspansiyonun potansiyel sınırlamalarına yanıt olarak posakonazolün yeni bir oral formülasyonu olan posakonazol tabletleri geliştirilmiştir. Posakonazol tabletin klinik geliştirme programı, sağlıklı gönüllülerde farmakokinetik ve güvenlik çalışmalarını içermektedir (91).

Bu, yeni formülasyonun invaziv mantar enfeksiyonu (IFI) için yüksek riskli hematoloji (akut miyelojenöz lösemi (AML) ve miyelodisplastik sendrom için indüksiyon kemoterapisi sonucu nötropeni olan lösemiye geçişli sendrom (MDS)) hastalarında antifungal profilaksisi olarak kullanımının ilk raporudur (91).

Yeni posakonazol tablet formülasyonunun güvenliği, sağlıklı gönüllülerde tek doz ve çok dozlu çalışmalarda (200 mg / gün ila 400 mg / gün) değerlendirilmiş ve literatürde bildirilmiştir. Posakonazol tabletle ilgili ilaç maruziyeti gıdalardan belirgin bir şekilde etkilenmemiştir (91). Oral süspansiyon ile karşılaştırıldığında, tablet formülasyonunun arttırılmış faydaları olabilir (68).

Oral süspansiyon alan hastalarda günde kilogram başına miligram cinsinden ortalama doz, tablet preparatına kıyasla daha yüksektir. Bu, preparatlar arasındaki farmakokinetik farklılıkları yansıtır. Bu aynı zamanda üreticilerin oral süspansiyon ve tablet preparatlarının birbirinin yerine kullanılmaması gerektiği yönündeki önerileri tarafından da desteklenmektedir. Tablet preparatının oral posakonazol süspansiyonu üzerindeki üstünlüğünü gösteren bir çalışma ayrıca Krishna ve ark. tarafından yapılmıştır, sonuçlar, sıvı formülasyona kıyasla tablet preparatını alan sağlıklı kişilerde daha yüksek posakonazol seviyeleri olduğunu göstermiştir (69).

PSC miktarının belirlenmesi için, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemleri, HPLC-tandem kütle spektrometrisi (LC-MS / MS) prosedürleri gibi çeşitli analitik teknikler bildirilmiştir. PSC plazma konsantrasyonlarının ölçümü için katı faz ekstraksiyonu-kılcal elektroforezi (SPE-CE) önerilmiştir (70). Analitik prosedürlerin gücünü gösteren stabiliteyi doğrulamak için zorla bozundurma çalışmaları da vazgeçilmezdir (70).

2.3. Mikroemülsiyonların ve Nanoemülsiyonların Bileşenleri

2.3.1. Yağ / lipidler

Nanoemülsiyonlar, O / W emülsiyonları durumunda genellikle % 5-20 yağ / lipit damlacıkları içerir ancak bu oran % 70'e kadar çıkabilir (38). O / W nanoemülsiyonlarını stabilize etmek için karıştırılmadan önce suya veya yağa yüzey aktif madde ilave edilmelidir (2). İyonize edilemeyen ve iyonize olabilen sürfaktanlar oral uygulanan formülasyonlarda uygundur (2). Oral uygulama ile uyumlu noniyonik yüzey aktif maddeleri, esas olarak hidrofobik bir uca (Brij polimerleri, Pluronic, Cremophor, TPGS), sorbitol (Span) ve makrogolgliseritlere (Labrafil, Labrasol, Gellucire) bağlı etoksi grubu içeren polimerlere dayanır (2). İyonik olmayan yüzey aktif maddeler ağırlıklı olarak mikroemülsiyonlarda veya kendi emülsifiye edici ilaç dağıtım sistemlerinde kullanılır (2). Buna karşılık, sırasıyla asidik veya bazik grup taşıyan anyonik veya katyonik yüzey aktif maddeleri, kararlı nanoemülsiyonların hazırlanması için caziptir. İyonik sürfaktanların avantajı, bir yüzey yükünün taşınmasının itici kuvvetler nedeniyle emülsiyonları daha stabil hale getirmesidir (2). Daha fazla nanoemülsiyon stabilizasyonu için, nanoemülsiyon bileşeni olarak bazı yardımcı yüzey aktif maddeler ilave edilebilir (2).

Yağ fazı: Katı ve sıvı yağlar, mumlar, yağ alkol ve asitleri ile bunların esterlerini, hidrokarbonları, gliseritleri ve silikonları içeren türevler, yağ fazı olarak kullanılmaktadır (27). Yağ fazı, diğer nanoemülsiyon bileşenlerinin seçimini etkiler. Mikroemülsiyonların ve nanoemülsiyonların istenen özelliklerini elde etmek için uygun yağ fazını seçmek önemlidir (4). Yağ doğasının emülsiyon boyutu üzerindeki etkisi, organik fazdaki farklı yağ türleri kullanılarak incelenir (26). Yağlı fazın seçimi, seçilen ilaç adayını çözme yeteneğine ve istenen özelliklerde nanoemülsiyon oluşumunu kolaylaştırma yeteneğine bağlıdır. Sabit bir yağ ve orta zincirli trigliseritler karışımı kullanılarak ilaç yükleme ve emülsiyonlaştırma arasında iyi bir denge elde edilebilir. Oksidatif bozunmaya dirençli yağ fazı seçilmelidir (4).

Ağırlık bazında orta zincirli trigliseritler, yüksek lipofiliklikleri ve ilaçlar için çözücü kapasiteleri nedeniyle uzun zincirli trigliseritlere kıyasla daha yüksek çözücü kapasitesine ve oksidasyon direncine sahiptir. Son zamanlarda, yarı sentetik orta zincirli trigliseritler orta zincirli trigliseritlerin yerini alır. Modifiye bitkisel yağlar, sindirilebilir veya sindirilemeyen yağlar ve zeytinyağı, hurma yağı, mısır yağı, oleik asit, susam yağı, soya fasulyesi yağı, hidrojene soya yağı, yerfıstığı yağı ve balmumu gibi yağlar da yağ fazı olarak kullanılır (4). Mikroemülsiyonlarda ve nanoemülsiyonlarda kullanılan yağlar Tablo 2-1'de verilmektedir.

Tablo 2-1: Mikroemülsiyonlarda ve nanoemülsiyonlarda kullanılan yağlar

	Mikroemülsiyonlarda ve Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Yağlar
1	Captex 355 (Glyceryl Tricaorylate / Caprate)
2	Captex 200 (Propylene Dicaprylate / Dicaprate Glycol)
3	Captex 8000 (Glyceryl Tri Caprylate (Tricaprylin)
4	Oleic Acid
5	Witepsol (90:10% W/W C12 Glycerid tridiesters)
6	Myritol 318 (C18 / C10 triglycerides)
7	Isopropyl myristate (Myristic acid isopropyl ester)
8	Capmol MCM (Glyerol mono caprylate)
9	Carbitol (Glycerol triacetace)
10	Sefsol 218 (caprylic / Capric Triglyceride
11	Peceol (Glyceryl Oleate)
12	Maisine 35-1 (1- Monolinolein)
13	Labrafac (Medium chain Triglycerids)
14	Capryol 90 (Propylene Glycol Monocaprylate)
15	Isopropyl myristate (Tetradecanoic acid)
16	Sesame Oil
17	Olive Oil
18	Corn Oil
19	Castor Oil
20	Methyl decanoate

21	Ethyl Oleat

Mikroemülsiyonlar ve nanoemülsiyonlar gibi lipit bazlı ilaç verme sistemleri, emilimi, çözünürlüğü ve biyoyararlanımı geliştirme kabiliyeti nedeniyle zayıf suda çözünür ilaçların verilmesinde çok dikkat çekmiştir (71). İlaçların lipit dispersiyonlardan in vivo olarak emilimi ve bu lipitlerin sindirimi, miselleşmeyle veya muhtemelen yağ damlacıklarından bağırsak epiteline doğrudan transfer yoluyla meydana gelir. İlaç emiliminin derecesi, partikül boyutu, emülsifikasyon derecesi, çözünen ilacın yüzdesi, lipolizasyon ve dispersiyon oranı gibi faktörlere bağlıdır (71).

Mikroemülsiyonlarda ve nanoemülsiyonlarda kullanılacak lipitler / yağlar genellikle ilacın çözünürlüğü konusunda önem arzeder. Soya yağı, susam yağı, pamuk tohumu yağı, aspir yağı, hindistancevizi yağı, uzun zincirli trigliseritler (Long Chain Triglycerides LCT), orta zincirli trigliseritler (Medium Chain Triglycerides MCT) veya kısa zincirli trigliseritler (Short Chain Triglycerides SCT) mikro ve nanoemülsiyonları formüle etmek için tek başına veya kombinasyon halinde kullanılır. D-a-Tokoferol (E vitamini) ailesi, mikroemülsiyonlarda ve nanoemülsiyonlarda taşıyıcı olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Oleik asit ve etil oleat da oral, topikal ve parenteral nanoemülsiyonlarda kullanılmıştır. Emülsifikasyon amacıyla uygun deniz yağları da (örneğin somon yağı) kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu deniz yağlarının çoklu doymamış yani yapılarında birden fazla çift bağa sahiptirler, çeşitli terapötik faydaları vardır ve düzenli LCT ve MCT tolere edemeyen aterosklerotik hastalar için daha güvenli bir alternatif oldukları kanıtlanmıştır. Mikroemülsiyon ve nanoemülsiyon formülasyonunda kullanılan yağ tipi bazen aktif bileşenin biyoyararlanım fraksiyonunu belirler (43). Farmasötik ve kozmetik kullanım için mikroemülsiyonlar ve nanoemülsiyonlar elde etmek için farklı yağlar kullanılmıştır. En yaygın olarak kullanılanlar orta zincirli trigliseritler ve yağ esterleridir (izopropil miristat, izopropil palmitat, laurik, miristik ve oleik asidin etil veya metil esterleri) (38).

Kararlı mikroemülsiyonların ve nanoemülsiyonların oluşumu genellikle hem emülsiyon oluşumunu hem de stabiliteyi optimize eden bir yağ fazı kompozisyonunun tanımlanmasına bağlıdır. Hem düşük enerjili hem de yüksek enerjili homojenizasyonla üretilen damlacıkların başlangıç büyüklüğü, viskozite, arayüzey gerilimi, arayüzey dinamiği ve faz davranışı farklılıklarına atfedilen yağ fazı bileşimine bağlıdır. Oluşumdan sonra, nanoemülsiyonların damlacık büyümesine stabilitesi, yağ moleküllerinin polaritesi ve suda çözünürlüğü farklılıklarına atfedilen yağ fazı bileşimine de bağlıdır. Bu nedenle, etkili nanoemülsiyon oluşumuna yol açan bir yağ fazı bileşiminin tanımlanması, aynı zamanda uzun vadeli iyi bir

stabiliteye de sahip olmak önemlidir (72). Bu mikroemülsiyonlar ve nanoemülsiyonlar ayrıca uzun süreli depolama sırasında damlacık büyümesine karşı stabildiler (72).

2.3.2. Sürfaktanlar ve Ko Sürfaktanlar (yardımcı sürfaktanlar)

Emülsiyonlarda iki sıvı fazın molekülleri arasındaki çekme etkileşimlerinin farklılıklarına bağlı olarak, iki sıvının temas halinde olduğu her yerde ara yüzey gerilimi (σ) bulunmaktadır. Ara yüzey gerilimi, amfifilik yüzey aktif moleküller veya surfaktanlar kullanılarak önemli ölçüde azaltılabilmektedir (27).

Yüzey aktif maddeler, arayüzey gerginliğini azaltarak nanoemülsiyonları stabilize eden ve damlacık birikmesini önleyen amfifilik moleküllerdir. Yağ su arayüzünde hızla adsorbe etme, sterik veya elektrostatik veya çift elektrosterik stabilizasyon sağlama eğilimindedirler (43). Yüzey aktif maddenin seçimi hazırlanan mikroemülsiyon ve nanoemülsiyon tipine bağlıdır. HLB değeri <10 olan sürfaktanlar doğada hidrofobiktir ve W / O nanoemülsiyon hazırlanmasında kullanılır, yüksek HLB > 10 sürfaktanları doğada hidrofiliktir ve O / W nanoemülsiyon hazırlamak için kullanılır (6).

Mikroemülsiyonları ve nanoemülsiyonları stabilize etmek için kullanılan yüzey aktif maddeleri, iyonik olmayan, zitteriyonik, katyonik ve anyonik olabilir. Örnek yüzey aktif maddeler şunlardır: Capryol 90, Gelucire 44/14, 50/13, Cremophor RH 40, Imwitor 191, 742, 780 k, 928, 988, Labrafil CS, M, 2125 CS, Lauroglycol 90, PEG MW> 4000, Plurol Oleique içerebilir CC 497, Poloxamer 124 ve 188, Softigen 701, 767, Labrasol, Cremophor EL, Tween 20, Tween 60 ve Tween 80 vb. Bu maddeler Tablo 2-2'de verilmektedir. Nanoemülsiyon bazlı sistemlerin bileşenleri toksik olmamalıdır. Büyük miktarlarda yüzey aktif madde, sırasıyla oral ve topikal olarak uygulandığında gastrointestinal yan etkilerine ve cilt tahrişine neden olabilir. Bu nedenle, sürfaktanların doğru seçimi esastır. Formülasyonlarda sürfaktanın minimum konsantrasyonunun rasyonel kullanımı savunulmaktadır (6). En dar dağılıma sahip en küçük damlacıklar, Tween 80 kullanılarak hazırlanan emülsiyonlarda oluşturulmuştur ve daha hidrofiliktir (73). HLB değerleri 15 civarında olan iyonik olmayan yüzey aktif maddeler kullanıldığında ince damlacıklara sahip O/W mikroemülsiyonlarının ve nanoemülsiyonlarının oluştuğu bildirilmiştir ancak yağ fazında tam olarak çözülemeyecek kadar hidrofilik değildir. Diğer taraftan, arayüzeydeki eğrilikler ve esnekliği etkileyen moleküler geometrilerdeki farklılıklar ve buna bağlı olarak sürfaktan-yağ-su karışımlarının oluşturduğu yapıların türü de etkili olabilir (73). Bu çalışma, Tween 80'in iyonik olmayan yüzey aktif maddeler arasında, ince damlacıklar üretmede en etkili olduğunu göstermiştir (73). Yüzey aktif madde konsantrasyonunun, spontan

emülsifikasyon ile üretilen emülsiyonların ortalama damlacık çapı ve PDI üzerindeki etkisini incelemek için farklı yüzey aktif madde seviyeleri (SER) kullanılmaktadır (72).

İyonik olmayan sürfaktanlar, iyonik muadillerine göre nispeten daha az toksiktir ve tipik olarak daha düşük kritik misel konsantrasyonuna (CMC'ler) sahiptir. Ayrıca, noniyonik yüzey aktif maddelerle hazırlanan oral veya parenteral O/W nanoemülsiyon dozaj formlarının, in vivo stabilite sunması daha muhtemeldir. Bu nedenle, sürfaktanların uygun seçimi kritik bir faktördür. Bir diğer önemli kriter, uygun hidrofil-lipofil-denge (HLB) değerine sahip yüzey aktif madde seçimidir. Hidrofilik yüzey aktif maddeleri ve yardımcı yüzey aktif maddelerin, ara yüzeyi tercih ettikleri ve nanoemülsiyonları ve mikroemülsiyonları oluşturmak için gerekli enerjiyi düşürdükleri ve böylelikle stabiliteyi geliştirdikleri düşünülmektedir. Örneğin, O/W nanoemülsiyon oluşturmak için gerekli HLB değeri 10'dan büyük olmalıdır. Düşük ve yüksek HLB yüzey aktif maddelerinin doğru karışımı, su ile seyreltildikten sonra kararlı bir nanoemülsiyon veya mikroemülsiyon oluşumuna yol açar. Yüzey aktif maddenin türü ve doğası da dikkate alınması gereken önemli bir faktördür. Noniyonik yüzey aktif maddeler genellikle pH'dan daha az etkilendikleri ve iyonik güçteki değişiklikler genellikle güvenli olduğu ve biyouyumlu oldukları için seçilirler ancak iyonik sürfaktanlar toksikolojik kaygılar nedeniyle daha az kullanılmaktadır. Yağın sürfaktan ile çözündürülmesi de önemli bir faktördür. İlaçlar için iyi çözündürme gücüne sahip olan aynı sürfaktanın, yağ fazı için eşit derecede iyi bir afiniteye sahip olması gerekli değildir. Sürfaktan-yağ karışabilirliği bu nedenle bu sistemle nanoemülsiyon veya mikroemülsiyon oluşumu olasılığı hakkında bir başlangıç göstergesi verebilir (6).

Bazı durumlarda, nanoemülsiyonları veya mikroemülsiyonları elde etmek için düşük HLB ve yüksek HLB yüzey aktif maddelerinin karışımı gereklidir. Sistemleri dengelemek için kullanılan sürfaktanlar aşağıda verilmektedir (4):

- İyonik olmayan
- Zitteriyonik
- Katyonik
- Anyonik yüzey aktif maddeler

Tablo 2-2: Nanoemülsiyonlarda ve Mikroemülsiyonlarda kullanılan Sürfaktanlar

	Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Sürfaktanlar
1	Capryol 90
2	Gelucire 44/14, 50/13
3	Cremophor RH 40
4	Imwitor 191, 308 (1), 380, 742, 780 k, 928, 988
5	Labrafil M 1944 CS, M 2125 CS
6	Lauroglycol 90
7	PEG MW > 4000
8	Plurol Oleique CC 497
9	Poloxamer 124 and 188
10	Softigen 701, 767
11	Tagat To
12	Tween 80
13	Labrasol
14	Poloxamer 407
15	Poloxamer 188
16	Emulphor - 620

Düşük yüzey aktif madde konsantrasyonunda mikroemülsiyon veya nanoemülsiyon sistemleri elde etmek için kosürfaktanlar ilave edilir. Kısa ila orta zincir uzunluğundaki alkoller (C3-C8), arayüzey gerginliğini daha da azaltan ve arayüzün akışkanlığını arttıran özelliklere sahiptir. Ayrıca hidrokarbon kuyruğunun hareketliliğini arttırırlar ve yağın bu bölgeye daha fazla nüfuz etmesini sağlarlar. Alkoller, fazlar arasında bölünebilmesi nedeniyle sulu ve yağlı fazların karışabilirliğini de artırabilir (6).

Nanoemülsiyonlarda ve mikroemülsiyonlarda kullanılan kosürfaktanlar arasında Transcutol P, gliserin, etilenglikol, etanol, propanol, etanol, izopropil alkol, n-butanol, PEG 400, Karbitol ve propilen glikol yer alır, bu kosürfaktanlar Tablo 2-3'te verilmektedir (6).

Oluşturulan nanoemülsiyon ve mikroemülsiyon alanları sıklıkla kosürfaktanların değerlendirilmesindeki kriterleri barındırırlar. Nanoemülsiyon mikroemülsiyon alanının büyüklüğü ne kadar fazla olursa, sistemin nanoemülsifikasyon verimliliği o kadar büyük olur (6). Ayrıca, tüm nanoemülsiyon bileşenlerinin seçimi için en önemli kriter, tüm eksipiyanların, gereksinimi ve GRAS kategorisine bağlı olarak oral uygulama veya topikal uygulama vb. için farmasötik açıdan kabul edilebilir olmasıdır (6).

Düşük enerjili emülsifikasyon yöntemi artık geniş uygulama alanı ve stabilite özellikleri nedeniyle önemli derecede ilgi çekmektedir. Sürfaktanların varlığı, yağ ve su arasındaki yüzey gerilimlerinin azaltılmasına yardımcı olmaktadır. İyonik olmayan yüzey aktif maddeleri gibi küçük moleküller, yüzey gerilimini poli vinil alkol gibi polimerik yüzey aktif maddelerinden daha fazla azaltır. Yüzey aktif maddenin bir başka önemli rolü, arayüzey dilatasyonel modülü üzerindeki etkisidir. Emülsifikasyon sırasında, arayüzey alanında bir artış meydana gelir, bu durum yüzey fazlalıklarında azalmaya neden olur. Denge, sürfaktanın kütleye adsorpsiyonu ile

geri yüklenir, ancak bu zaman alır (daha yüksek sürfaktan aktivitesinde daha kısa sürelerde oluşur) (6).

Uygulamada, yüzey aktif madde karışımları kullanılır ve bunların yüzey gerilimi ve dilatasyon modülü üzerinde belirgin etkileri vardır. Bazı spesifik yüzey aktif madde karışımları, iki ayrı bileşenden daha düşük yüzey gerilimi değerleri verir. Emülsiyonlaştıncının önemli bir rolü, emülsifikasyon sırasında kaymaya bağlı birleşmeyi önlemektir (6).

Nanoemülsiyonlarda ve mikroemülsiyonlarda yumurta sarısından veya soya fasulyesinden türetilen lesitin (fosfatidilkolin) çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Sodyum deoksikolat (safra tuzu) ve kremofor EL (Cremophor EL) (Polioksil-35 hintyağı) gibi sürfaktanlar pazarlanan parenteral ürünlerde kullanılmıştır. Tween olarak 20, 40, 60 ve 80 (Polioksietilen sorbitan monolaurat), Span 20, 40, 60 ve 80 (Sorbitan monolaurat), Solutol HS-15 (polioksietilen-660-hidroksistearat) da düzenli olarak kullanılır. Diğer yaygın sürfaktanlar arasında poloksamerler, sodyum dodesil sülfat, kazein, p-laktoglobulin gibi amfifilik proteinler, polisakkaritler (örneğin, zamklar, nişasta türevleri) ve PEG içeren blok kopolimerler bulunur. Sürfaktan / Kosürfaktan karışımının seçimi sadece nanoemülsiyonun ve mikroemülsiyonun boyutunu ve stabilitesini etkilemekle kalmaz, aynı zamanda toksisitesini, farmakokinetiklerini ve farmakodinamiğini de belirler. Sürfaktanlar ayrıca belirli kanserlerin aktif hedeflenmesinde ligandı bağlamak için dekoratif şablonlar olarak da kullanılabilir. Bazen, yüzey aktif maddeler, yapısal olarak zayıf alanlara uygun şekilde yerleştiklerinden, yüzeyler arası filmi oluşturmak için kullanılırlar (43). Noyes-Whitney denklemine göre, çözünme hızı yüzey alanı ile doğru orantılıdır (74). Yaygın olarak kullanılan yardımcı yüzey aktif maddeler, propilen glikol, polietilen glikol, etanol, transkutol P, gliserin, etilen glikol ve propanolü içerir (43). Yüzey aktif maddeleri veya yardımcı yüzey aktif maddelerinin kombinasyonu, Nanoemülsiyonların ve mikroemülsiyonların ara yüzünün stabilitesini sağlamak için kullanılır (4). Nanoemülsiyon ve mikroemülsiyon bölgesi, iyonik ve iyonik olmayan yüzey aktif maddelerinin kombinasyonları ile etkili bir şekilde genişletilebilir. İyonik olmayan örneklere Brij 35 (C12E35) gibi polioksietilen yüzey aktif maddeler veya sorbitan monooleat (Span 80) gibi bir şeker esterleri dahildir. Zitteriyonik yüzey aktif maddeleri, fosfolipitler gibi mükemmel biyouyumluluk sergilerler. Katyonik sürfaktanların en iyi bilinenleri, hekzadesiltrimetil amonyum bromür (CTAB) ile birlikte kuaterner amonyum alkil tuzları ve çift kuyruklu sürfaktan didodesilamonyum bromürdür (DDAB). Sodyum bis-2-etilheksilsülfosüksinat (AOT), çift kuyruklu anyonik yüzey aktif bir maddedir ve W/O mikroemülsiyonlarının etkili stabilizatörüdür (4).

Yüzey aktif maddeler, su veya yağ içinde dağıldıklarında, hem moleküller arası hem de moleküller arası kuvvetlere ve entropik faktörlere bağlı olarak farklı denge fazlarında

kendiliğinden birleşirler. Sürfaktanlar yağ ve su karışımlarına katıldığı zaman, yağ / su ara-yüzeyini termodinamik açıdan tercih ederler. O/W veya W/O sistemlerinin oluşumunun belirlenmesinde çeşitli faktörler söz konusudur. Schulman ve ark. su/yağ arayüzeyinde, düşük arayüzey gerilimi oluşturan çok akışkan bir yüzey aktif madde filminin oluşumunu ve yağ moleküllerinin yüzey aktif madde tabakası ile etkileşimini içeren bazı yönergeler sundular. Sürfaktan tabakasinin esnekliği, belirli bir mikroemülsiyon sistemindeki olası yapıların ve fazlar arasında dönüştürme yeteneğinin belirlenmesinde anahtar bir parametredir. O / W'den W / O mikroemülsiyonlarına geçiş, farklı fazların (lamellar, altıgen, ikili-sürekli) oluşumunu içerebilir (31).

Tablo 2-3: Nanoemülsiyonlarda ve Mikroemülsiyonlarda kullanılan kosürfaktanlar

	Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Kosurfaktanlar
1	Transcutol P
2	Glycerin, Ethylene glycol
3	Ethanol
4	Propanol
5	Polyglyceryl Oleat
6	Propylene Glycol Monolaurate
7	Diethylene Glycol Monoethyl ether
8	Medium chain mono – and diglycerides of caprylic acid
9	Propylene Glycol Laurate
10	Apricot Kernel oil PEG-6 ester
11	Propylene glycol

Çoğu zaman, bir nanoemülsiyon elde etmek için yüzey aktif madde etkili olamazsa yağ-su arayüzey gerilimini yeterince düşürmek için kosurfaktant eklenir. Yüzey aktif madde filmi çok sert olduğunda, sıvı kristalin fazlar oluşur. Eş aktif maddeler yüzey aktif madde tek tabakasına nüfuz ederek ve sıvı kristalin fazları bozarak ara yüz filmine ilave akışkanlık sağlar. Kendiliğinden ilişkili yapıda olanlar tek başına miseller gibidir ve kosürfaktantlar tarafından oluşturulmaz. Hidrofilik kosürfaktanların, tercihen ara zincir uzunluğundaki alkollerin, yağ/su arayüzeyindeki gerilimi azalttığı ve kendiliğinden nanoemülsiyon veya mikroemülsiyon oluşumuna izin verdiği bilinmektedir. Ara zincir uzunluğundaki alkollerin örnekleri heksanol, pentanol ve oktanoldür. Orta zincir uzunluğundaki alkoller, yağın bu bölgeye daha fazla nüfuz etmesini sağlar ve hidrokarbon kuyruğunun hareketliliğini arttırır (4).

2.3.2.1. Tween 80

Tween 80 (polisorbat 80, polioksietilen sorbitan monooleat) kozmetik, eczacılık ve gıda ürünlerinde emülgatör olarak yaygın biçimde kullanılan iyonik olmayan bir yüzey aktif maddedir (75). Tween 80, hem laboratuvarda hem de endüstride yaygın olarak kullanılan bir emülgatördür. Çoğu zaman olası yan etkilere dair herhangi bir yorum veya değerlendirme yapılmadan laboratuvar deneylerine dahil edilir (75). Tween 80, kompozit filmlerin kararlılığını geliştirir (76). Yüzey aktif madde tipinin emülsiyon oluşumu ve stabilitesi üzerindeki etkisi, partikül büyüklüğü, zeta potansiyeli, mikroyapı ve kıvrılma stabilitesi ölçülerek belirlenir (77).

Tween bir sorbitol yağ asidi esteri ve etilen oksidin bir kondensatıdır ve suda çözünür veya dağılır, tipik olarak ekstraksiyonu ve çekirdeklerin memeli hücrelerinden izole edilmesi için iyonik olmayan bir deterjan olarak kullanılır (75). Tween 80'nin HLB değeri 15 dir (78).

2.3.2.2. Labrasol

İyonik olmayan bir yüzey aktif madde olarak Labrasol, ilaçların nüfuzunu ve emilimini artırabilir ve topikal, transdermal ve oral farmasötik preparasyonlarda bir emülsiyonlaştırıcı ve emilim arttırıcı olarak yaygın olarak kullanılır (79).

Labrasol in vitro ve in vivo farklı ilaç türleri üzerinde güçlü bir emilim arttırıcı etkiye sahiptir. Mükemmel çözünme etkisine sahip doymuş poliglikolize C8-C10 gliseritleri içeren noniyonik bir yüzey aktif madde olan Labrasol, farklı polariteye sahip ilaçların transdermal nüfuziyetini ve emilimini teşvik edebilir. Aynı zamanda ilaçların dispersiyon stabilitesini geliştirebilir ve ince fazlı kendiliğinden mikroemülsifiye edici ilaç verme sistemleri oluşturmak için su fazında kendi kendine emülsiyonlaşmaya yardımcı olabilir. Bu nedenle labrasol, her türlü ilaç dağıtım sisteminde emülgatör ve penetrasyon hızlandırıcı olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ek olarak, labrasol mükemmel bir biyouyumluluğa sahiptir ve hayvanlarda yüksek tolerans ve düşük toksisite göstemektedir (79).

Farmasötik bir eksipiyan olarak labrasol, Avrupa farmakopesi ve Amerikan farmakopesinde kaydedilmiştir. Labrasol, farklı maddeler için transepitelyal geçirgenliği arttırmak için kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır (79). Labrasol'ün iyi emilemeyen ilaçlar üzerinde iyi bir gastrointestinal (GI) emilim arttırıcı etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (80).

Labrasol ALF (Labrasol®), esas olarak çözündürücü bir ajan olarak kullanılan, iyonik olmayan bir yardımcı yüzey aktif maddedir. Labrasol® polietilen glikol (PEG) -8'in mono-, di- ve trigliseritlerini ve mono- ve yağ asidi esterlerini ve ana yağ asitleri olarak kaprilik (C8) - ve kaprik asit (C10) içerir. Labrasol'un HLB değeri 14 olarak belirlenmiştir (81). Hidrofilik

makromoleküler ilacın bağırsak emilimini arttırmanın yanı sıra oral ve topikal farmasötik formülasyonlarda kendiliğinden emülsifiye edici ve çözündürücü ajan olarak kullanılır (82).

Labrasol (Caprylocaproyl polioxyl-8 glycerides) iyonik olmayan bir çözündürücü ve emülsiyonlaştırıcıdır. Gliserol monoesterleri, diesterleri ve triesterlerinin ve polietilen glikol monoesterleri ve diesterlerinin ve 200 ila 400 arasında ortalama molekül ağırlığı olan poliester glikollerinin bir karışımıdır (46) ve soluk sarı bir sıvıdır (82).

2.3.2.3. Kollifor EL (Cremophor EL)

Kolliphor EL, hintyağı ile etilen oksitin reaksiyonundan oluşan noniyonik bir çözündürücü ve emülsiyonlaştırıcıdır. 26°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda berrak olan soluk sarı yağlı bir sıvıdır. Hafif fakat karakteristik bir kokusu vardır. Kolliphor EL polietilen oksit yüzey aktif maddedir ve doğası gereği viskozdur. 12-14 aralığında hidrofobik-lipofilik denge değerine sahiptir. Kolliphor EL, boyanın çözünürlüğünü arttırmak ve zardan geçirgenliği arttırmak için bir deterjan olarak kullanılır. Hücrelerde ilaç uyarıcı iletimi için bir araç olarak kullanılmıştır. Yağları ve diğer suda çözünmeyen maddeleri emülsifiye etmek ve çözündürmek için kullanılır. Cremophor, bir dizi iyonik olmayan polietoksilenmiş deterjanın marka adıdır. Öncelikle çözündürücü ve emülsiyonlaştırıcı olarak kullanılmaktadır (83).

Kolliphor EL, ilaçların ve kozmetiklerin çözündürülmesi için lipit bazlı formülasyonlarda kullanılır. Kolliphor EL suda çözünmeyen aktif maddelerin ve diğer hidrofobik bileşiklerin yarı katı ve sıvı formülasyonlarının üretimi için uygundur. Emülsifikasyon işlevselliği nedeniyle biyolojik membran bazlı ilaç taşıma sistemlerinde uygulanır (83).

2.3.2.4. Transcutol P

Transcutol (Dietilen glikol monoetil eter, DEGEE), farmasötik, kozmetik ve gıda katkı maddelerinin formülasyonunda veya imalat işleminde bir araç olarak yaygın şekilde kullanılır. Transcutol çeşitli ticari preparatlarda uygulanmıştır ve birçok çalışmada formülasyonların ana bileşeni olarak kullanılmaktadır. Formülasyonlarda yardımcı yüzey aktif madde ve penetrasyon arttırıcı olarak kullanılmıştır. Topikal formülasyonlarda, transdermal uygulama sistemlerinde ve oküler ve burun içi iletim sistemlerinde sıklıkla kullanılır. Ayrıca nanoemülsiyonlarda, güneşsiz bronzlaşma ürünlerinde ve durulama ürünleri olan çok çeşitli saç boyama ürünlerinde bir bileşen olarak kullanılır. Bu çözücü, öngörülebilir gelecekte birçok kozmetik ürünün ve dermatiklerin önemli bir bileşeni olacaktır (84).
Transkütol, hem hidrofilik hem de lipofilik sıvılarla karışabilen potansiyel bir penetrasyon arttırıcıdır. Transcutol'ün, deriye ve mukoza zarlarına topikal olarak uygulanan ilaçların

permeasyon arttığı belirtilmiştir. Bununla birlikte, Transcutol higroskopik özellikleri nedeniyle, biyolojik bir zardan, suyun reseptör tarafından zıt difüzyonuna eşlik eder. Bu kosurfaktanın, HLB değeri 4.2 dir. Transcutol-P şeffaftır ve stabil ME oluşturma yeteneğine sahiptir (85).

Transcutol-P (Dietilen glikol monoetil eter) iyonik olmayan bir çözündürücü ve emülsiyonlaştırıcıdır. Yapısal olarak bir alkol ve eterdir. Hafif hoş kokulu renksiz, hafif viskoz bir sıvıdır. Dispersiyon fazının en düşük konsantrasyon seviyelerinde daha uzun stabil kalabilmesi için bir hidrofilik ve lipofilik yüzey aktif madde karışımı gereklidir. Yağ fazınınkine uyan bir HLB ile sürfaktan / birlikte-sürfaktan karışımı, üretilen dispersiyon sisteminin daha iyi çözülmesini ve stabilitesini temin edecektir. Bu nedenle, yağın HLB'si ile eşleşen düşük ve yüksek HLB'de yüzey aktif madde karışımlarının seçimi, bir koloidal sistemin formülasyonunda önemlidir (46).

2.3.2.5. PEG 400 (polietilen glikol 400)

PEG 400 (polietilen glikol 400) düşük moleküler ağırlıklı bir polietilen glikoldur. Berrak, renksiz, viskoz bir sıvıdır. Kısmen düşük toksisitesinden dolayı PEG 400, çeşitli farmasötik formülasyonlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. PEG 400 güçlü bir şekilde hidrofiliktir. PEG 400'ün heksan ve su arasındaki bölme katsayısı 0.000015'tir (logp = -4.8). PEG 400 su, aseton, alkoller, benzen, gliserin, glikoller ve aromatik hidrokarbonlar içinde çözünür ve alifatik hidrokarbonlar içinde az çözünür (86).

2.4. Çözünürlük Çalışması

İlaçların eksipiyanlarda çözünürlüğü, mikroemülsiyon ve nanoemülsiyon bileşenlerinin seçimi için önemli bir kriterdir (87).

Çözünürlük çalışması temelinde bileşenlerin taranmasıdır. Mikroemülsiyonun ve nanoemülsiyonun hazırlanmasında ana bileşenlerin (yağ, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde) seçimi, kararlı mikroemülsiyon veya nanoemülsiyon üretmek için önemli bir faktör olarak kabul edilmiştir (3).

Az miktarda seçilen yağlar, sürfaktanlar, kosurfaktanlar, yağların kombinasyonu mikser kullanılarak karıştırılır. Karışımları ortam sıcaklığında dengelemek için bir izotermal çalkalayıcı kullanılır ve daha sonra numuneler çalkalayıcıdan çıkarılır ve santrifüjlenir. Süpernatantı filtrelemek için 0,45 μm'lik bir membran filtre kullanılır. İlacın konsantrasyonu, her bir yağ, yüzey aktif madde, kosürfaktan ve yağ kombinasyonunda, kendi λmax'larında uygun test yöntemi kullanılarak belirlenir (4).

Bir çözücünün polaritesi, çözünürlükte önemli bir rol oynar. Polar çözücüler, molekülleri, özellikle bir bileşiğin çözünürlüğünde önemli bir mekanizma olan hidrojen-bağ oluşumu yoluyla dipol etkileşim kuvvetleri yoluyla çözebilir. Çözücülerin polaritesi, çözünürlük ve hidrofilik-lipofilik denge ile ilgili önemli bir özellik olan dielektrik sabiti (E) ile tanımlanabilir. Çözücünün dielektrik sabiti azaldıkça bir çözünen maddenin çözünürlüğünün azaldığı gösterilmiştir. İlaç ve lipit molekülleri arasındaki birleşik enerjinin anlaşılması, bir lipitin bir çözücü olarak nasıl davranacağını belirlemeye yardımcı olabilir (46).

Posaconazolun çeşitli yağlar, yüzey aktif maddeler ve yardımcı yüzey aktif maddelerdeki çözünürlüğünü araştırmanın amacı, Posaconazolün daha yüksek çözünürlüğe sahip ve mikroemülsiyon formülasyonu için çözünür ve stabil formda kalmak için önemli olabilecek uygun yağ fazını seçmektir. Ayrıca, mikroemülsiyon ve nanoemülsiyonun iyi stabiliteye sahip olan formunun üretimini amaçlayan, uygun yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif maddenin seçimidir (46).

Çözünürlük Parametresi (δ), Gerekli HLB (RHLB), gerekli kimyasal emülgatörler ve çözünürlük kapasitesi, sürfaktan / kosürfaktan seçiminde bir kriter olarak yararlı görünmektedir (46). Güçlü çözünürlük kapasitesi gösteren, dolayısıyla yüksek stabilite sağlayan formüller, iyi bir yüzey aktif madde / yardımcı yüzey aktif madde karışımı seçimine bağlıdır (46). Bir emülsiyon oluşturmak için gereken serbest enerji çok düşük olduğundan, oluşum termodinamik olarak kendiliğinden olur (46). Yüzey aktif maddeler, emülsiyon damlacıklarının etrafında bir tabaka oluşturur ve ara yüzey enerjisini azaltır, ayrıca birleşmeye mekanik bir bariyer sağlar (46). Mikroemülsiyon / nanoemülsiyon sisteminde, S / KoS'nin çözünürleştirme kapasitesi ne kadar yüksek olursa, yağ ve S / KoS HLB'nin eşleşmesi o kadar iyi olur ve dolayısıyla ürünün stabilitesi de artar (46).

Yağlarda, sürfaktanlarda ve yardımcı sürfaktanlarda posaconazolun çözündürüldü. tüm sonuçlar bulgular bölümünde açıklanmıştır. Mikroemülsiyon ve nanoemülsiyon formülasyonunda seçilen ana bileşenler, yağ fazı olarak oleik asit, sürfaktan olarak Labrasol ve Tween 20, hem sürfaktan hemde kosürfaktan olan eksipiyan Cremophor EL ve kosürfaktan olarak Transcutol P ve PEG 400'dür (3).

Mikroemülsiyon / nanoemülsiyon sistemlerinin en temel dezavantajı, toksisite veya cilt tahrişine yol açabilecek yüksek yüzey aktif madde(ler) konsantrasyonları nedeniyle biyouyumluluk eksikliğidir (46).

2.5. Nanoemülsiyonların/Mikroemülsiyonların İmalatı

Su içinde yağ (O/W) nanoemülsiyonları (NE'ler)/mikroemülsiyonleri, suda dağılmış çok küçük yağ damlacıklarından oluşur. Nanoemülsiyonların dengesizleşme kinetiklerinin son derece yavaş olduğu ve dolayısıyla kinetik olarak kararlı olduğu düşünülür. NE'lere kinetik stabilite kazandıran damlacık flokülasyonunun ve birleşmesinin önlenmesi, çok küçük damlacık boyutlarına bağlanır. Bu nedenle, yüksek Brownian hareketine sahip nanoemülsiyonlar / mikroemülsiyonlar, uzun raf ömrüne sahip süspansiyon şeklinde büyük bir stabilite ile karakterize edilebilirler. Lipofilik aktif bileşenler, O / W emülsiyonları yoluyla verilebilir (88).

Mikroemülsiyonlar (ME'ler) / nanoemülsiyonler, termodinamik olarak kararlı, transparan, izotropik koloidal dispersiyonlardır; yağ ve su, uygun bir yüzey aktif madde karışımının yüksek derecede akışkan arayüzey filmi ile stabilize edilir. Klasik emülsiyonların aksine, ME'ler, bileşenlerin uygun miktarlarını herhangi bir enerji girişi gerektirmeden karıştırırken kendiliğinden oluşur ve termodinamik yapıları nedeniyle 'kesinlikle' fiziksel olarak kararlıdırlar. ME'ler yağ içinde su (W / O) veya su içinde yağ (O / W) damlacık benzeri kolloidal yapılar olarak tanımlanabilir, çapları 20 ile 200 nm civarındadır, sürekli bir dış faz ve yüzey aktif madde açısından zengin bir arayüzey tabakası ile ayrılırlar (31). Aslında, en popüler yaklaşım, aktif lipofilik bileşenin yağlar, sürfaktan dispersiyonları, nanoemülsiyonlar, kendiliğinden emülsifiye edici formülasyonlar, kendiliğinden mikroemülsifiye edici formülasyonlar, emülsiyonlar ve kendiliğinden nanoemülsifiye edici sistemler gibi atıl lipit araçlarına dahil edilmesidir. Bu yaklaşımlar arasında kendiliğinden mikroemülsifiye edici formülasyonlar ve nanoemülsiyonlar, hidrofobik ilaçların çözünürlüğünü çok etkili bir şekilde arttırarak biyoyararlanımı geliştirebilir. Kendiliğinden emülsifiye olan sistemler, iki karışmayan sıvının kararlı izotropik sistemleridir ve damlacık çapı yaklaşık olarak 100 nm'den az olan uygun yüzey aktif maddeler vasıtasıyla hazırlanır (9).

Nanoemülsiyonlar, faz ters çevirme bileşimi (PIC), faz ters çevirme sıcaklığı (PIT) ve kendi kendine emülsifiye yöntemi içeren yüksek enerjili emülsifiye edici ve düşük enerjili emülsifikasyon yöntemleri ile hazırlanabilir (89).

Nanolaştırılmış parçacıklar yüksek ilaç yüklemesi sağlayabilir, ilaç çözünürlüğünü, ilacın çözünme hızını ve oral biyoyararlanımı önemli ölçüde artırabilir. Bu nedenle, nanoemülsiyonlar/mikroemülsiyonler özellikle zayıf suda çözünen ilaçların verilmesi konusunda fazlasıyla ilgi çekmektediler (90). Nanoemülsiyonların / mikroemülsiyonlerin imalat yöntemleri yüksek enerjili veya düşük enerjili veya düşük ve yüksek enerjinin bir kombinasyonu olarak kategorize edilebilir. Bir lipofilik ilaç doğrudan veya yağ fazındaki

organik bir çözücünün yardımıyla dağıtılırken hidrofilik ilaçlar sulu faza girerler. Diğer yardımcı maddeler ihtiyaca göre hazırlanır. O / W emülsiyonu yüksek enerji veya düşük enerji yöntemleri ile üretilebilir. Yüksek enerji yöntemleri, sürekli olarak dağılmış küçük damlacıklar halinde yağ sıvısını bozan yoğun güçlere dayanır (43). Yüksek enerjili emülsifikasyon yönteminde, emülsiyon sistemi üzerinde, emülsiyon parçacıkları, yüksek hızlı karıştırma, homojenleştirme veya ultrasonikasyon ile nano metre seviyesine kırılır (44). İmalat sırasında sıcaklık hızla artar, bu da lezzet bileşiklerinin önemli ölçüde kaybına ve nihai ürünlerin ticari değerinde bir azalmaya neden olabilir. Yüksek enerji uygulamasında maliyet yüksek olduğu için yöntemin uygulanması sınırlanmaktadır. Buna karşılık, düşük enerji yöntemleri, düşük maliyetleri, uygulama kolaylığı ve ısıya duyarlı veya uçucu bileşikler için uygunluğu nedeniyle ilgi çekmektedir (43). Diğer yandan, düşük enerjili emülsifikasyon, sürfaktanların kendiliğinden hareketine ve emülsifikasyon işlemi sırasında düşük ara yüzey gerilimlerinin oluşmasına bağlıdır. Bazı literatürde, düşük enerjili emülsifikasyon yöntemi basitçe iki kategoriye ayrılır. Bunlardan biri, emülsifikasyon işlemi sırasında faz tersine çevrilmesidir. Diğer düşük enerjili emülsifikasyon yöntemi kendiliğinden emülsifikasyon yöntemidir (44).

Temsili düşük enerjili emülsifikasyon yöntemleri, faz inversiyon sıcaklığı (phase inversion temperature PIT) emülsifikasyonu, faz inversiyon konsantrasyonu (phase inversion concentration PIC) emülsifikasyonu, emülsiyon inversiyon noktası (emulsion inversion point EIP) emülsifikasyonu, D fazı emülsifikasyon yöntemi ve benzerlerini kapsar. Noniyonik yüzey aktif maddeler için, PIT yöntemleri, yüzey aktif maddelerinin lipofilik-hidrofilik dengesini (HLB) değiştiren sistemin sıcaklığının değiştirilmesiyle elde edilebilir. Sıcaklık yerine PIC ve EIP yöntemleri sürekli olarak yağa su ilave edilerek su hacmi fraksiyonunun değiştirilmesi ile elde edilebilir. Emülsifikasyon sistemi nispeten viskozdur ve sıfır spontan eğrilik noktasını geçtikten sonra ince nano boyutlu parçacıklar oluşturulabilir. Bununla birlikte, bu yöntemler, HLB değerinin çok önemli olduğu kısa zincirli sürfaktanlar için iyidir ve düşük polariteli yağların çoğu için iyi çalışmaz. Bu faz inversiyon emülsiyonları dışında, yüzey aktif maddelerin emülsifikasyon işlemi sırasında poliolün müdahalesi ile kendi kendine birleştirilmiş yapıya sahip olan D-fazından geçilerek homojen O / W nano emülsiyonları hazırlanabilir (44). Diğer düşük enerjili emülsifikasyon yöntemleriyle karşılaştırıldığında, D fazı emülsifikasyonunun küçük ve dar dağılımlı emülsiyon parçacıklarının hazırlanması kolaydır. Düşük polarite, küçük yüzey gerilimi ve zayıf suda çözünürlüğü olan yağları emülsifiye edebilir ve emülsifikasyon sıcaklığını ve HLB değerini kontrol etmek gerekli değildir (44). En basit düşük enerji yöntemi kendiliğinden emülsifikasyon yöntemidir, sulu fazdaki, organik ve sulu faz arasındaki arayüzeyde kendiliğinden oluşan emülsiyon damlacıklarının oluşumuna dayanmaktadır. Yağ fazı, sulu faz ve yüzey aktif maddeler aynı bölgede aynı anda bulunduğundan, yağ fazı

kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemde, su ve yağları içeren diğer ürünlerin işlenmesinde yaygın bir fenomendir. Bu yöntemin mekanizması, hidrofilik yüzey aktif madde molekülünün hızlı bir şekilde organik fazdan sulu faza difüzyonunun, yağ ve yüzey aktif madde birbiriyle temas ettiğinde ortaya çıkmasıdır. Diğer düşük enerjili emülsifikasyon yöntemleriyle karşılaştırıldığında, D fazı emülsifikasyonunda küçük ve dar dağılımlı emülsiyon parçacıklarının hazırlanması kolaydır. Düşük polarite, küçük yüzey gerilimi ve suda zayıf çözünürlüğü olan yağları emülsifiye edebilir ve emülsifikasyon sıcaklığını ve HLB değerini kontrol etmek gerekli değildir (44). Yüksek enerjili işlemde meydana gelen sıcaklık yükselmesinden kaynaklanan pahalı ekipman ve lezzet kaybı olmadan gıda, kozmetik ve farmasötik endüstrisinde spontan emülsifikasyon yoluyla nanoemülsiyonlarının üretilmesi mümkündür (87). Nanoemülsiyon/mikroemülsiyon imalatında en önemli kriter, monomodal dağılım ile istenen damlacık boyutunun elde edilmesidir. Bu özelliklerin bütünlüğünü sağlarken, imalatın geliştirilmesi için iyi bir başlangıç noktası sağlar.

Ardından damlacık dinamiğini etkileyen faktörler üzerine kısa bir inceleme yapılır (43).

2.5.1. Yapı ve Kompozisyon (Yapı ve Bileşim)

Bir mikroemülsiyon veya bir nanoemülsiyon oluşturmak için, sistem, yüzey aktif maddenin varlığında yağ ve su fazları arasında bir sınır bulunduran mikro-yapılar içermelidir (31). Mikroemülsiyonlar, sulu fazın, yağlı fazın ve sürfaktanların şeffaf ve izotropik karışımları olarak tanımlanan kolloidal sistemlerdir. Bir sistem makroskopik ve fizikokimyasal olarak bir mikroemülsiyon olarak karakterize edilebilirse de, bileşenlerin oranlarına bağlı olarak farklı mikroyapıları benimseyebilir. Gerçekten de, mikroemülsiyonlar sadece sürekli sistemler ve küresel damlacıklar olarak değil, aynı zamanda kübik, altıgen, silindirik ve katmanlı desenler gibi çok çeşitli mikro-yapılar da oluşturulabilir. Küçük damlacıkları nedeniyle, mikroemülsiyonlar, emülsiyonlara kıyasla daha yüksek pozitif entropi gösterir. Bu nedenle, mikroemülsiyonların termodinamik olarak kararlı olduğu düşünülmektedir, çünkü formasyonun entropisi arayüzey serbest enerjisini aşmaktadır (32). Bu koloidal sistemler genellikle belirli bir yüzey aktif madde-yağ-su bileşimi için sadece belirli ve sınırlı konsantrasyonlarda oluşturulur. Farklı karışımların faz davranışı ile bunların bileşimi arasındaki ilişki genellikle bir üçgen faz diyagramı kullanılarak gösterilir, bu diyagramda köşeler, yüzey aktif madde / yardımcı yüzey aktif madde, su / ilaç veya yağ / ilaç gibi iki bileşenin ikili bir karışımını temsil edecektir. Mikroemülsiyon bölgesinin dışında, sürfaktan miktarı, tek bir mikroemülsiyon fazının oluşumuna izin vermeyecek kadar düşüktür, böylece çok fazlı sistemlerin varlığına yol açar. Bu nedenle, nano damlacıklara dayanan kolloidal sistemler farklı yapıların ve fazların varlığını ortaya çıkarabilir. Üç farklı mikroemülsiyon türü ayırt edilebilir (31):

1. Yağın esas faz olduğu yağ ile temas halinde su (O / W) içinde dağılımı;

2. Suyun esas faz olduğu su ile temas halinde yağ (W / O) içinde dağılımı;

3. Hem O / W hem de W / O dispersiyonları aynı alanda karışık halde eşzamanlı olarak bulunan ve sürekli su ve yağ ağının bir sürfaktan filmi ile ayrıldığı dağılımlar.

Sürekli faz olarak su ve dağınık bir faz olarak yağ içeren emülsiyonlara "doğrudan", "su bazlı" veya "O / W" emülsiyonları denir. Doğrudan emülsiyonlar için, yüzey aktif madde genellikle sulu fazda çözünür ve su ince tabakasının daha kararlı olmasını sağlar. Ancak, sürekli faz olarak yağ olan emülsiyonlara "ters", "yağ bazlı" veya "W / O" emülsiyonları denir, burada yüzey aktif madde genellikle yağ fazında çözünür ve yağ filmine bağlı olarak stabilite artar (9).

Nanoemülsiyonlar/mikroemülsiyonler, uygun bir yüzey aktif madde karışımı ile stabilize edilmiş harici sulu fazda yağ damlacıkları içeren nanometrik boyut aralığındaki dispersiyonlardır. Bu sistemler, küçük damlacık boyutları ve düşük viskoziteleri nedeniyle iyi fiziksel stabilite gösterirler. Mikroemülsiyonlardan farklıdırlar, çünkü nanoemülsiyonların kendiliğinden faz ayrılması eğilimi vardır. Bununla birlikte, emülsiyonlara benzer şekilde kinetik olarak kararlı oldukları düşünülmektedir. Klasik emülsiyonların aksine, nanoemülsiyonların küçük boyutlu damlacıkları vardır, böylece Brownian hareketi ile birlikte kremalaşma ve sedimantasyonu önleyen bu sistemlerde yerçekimi etkileri daha yavaştır. Ek olarak, sterik stabilizasyon sistemi flokülasyon ve birleşmeden de korur (32). Nanoemülsiyonlar Ostwald olgunlaşması olarak bilinen temel bir instabilite mekanizmasına duyarlıdır. Bu mekanizma, nanoemülsiyonların/mikroemülsiyonlerin damlacık boyutunun genişlemesinden sorumludur, böylece kararsızlığa neden olur; bu genellikle sistemin yaşlanmasıyla ilişkilidir. İşlem, geleneksel emülsiyonlarda olduğu gibi gerçekleşir ve Ostwald olgunlaşma oranı, damlacık boyutundaki değişiklikten belirlenebilir (32). Nanoemülsiyonlar/mikroemülsiyonler ayrıca biyoteknoloji alanında, esas olarak genler için taşıyıcılar veya aşı formülasyonları için adjuvanlar olarak kullanılır (32).

Nanoemülsiyon/mikroemülsiyon formülasyonunun stabilitesi, sürfaktan ve kosürfaktan madde tipi ve konsantrasyonu, yağ fazının tipi, kullanılan yöntemler, proses değişkenleri ve katkı maddelerinin ilavesi gibi faktörlerin kontrol edilmesiyle arttırılabilir. Genel olarak nanoemülsiyonlar, farmasötiklerin verilmesi için etkili, güvenli ve hasta uyuncunu kolaylaştıran formülasyonlar olarak kabul edilebilir (6).

2.6. Sürfaktanın Etkisi

Bir nanoemülsiyon ve mikroemülsiyondaki en büyük damlacıklar, damlacık kopması ve birleşmesinin bir sonucudur. Amfifillik yapıları nedeniyle arayüzey gerginliğini azaltma özelliğiyle, herhangi bir yüzey aktif maddenin oynadığı en önemli rol, yeni oluşan damlacıkları stabilize etmek ve uzun süreli stabilite sağlamaktır. Sürfaktanlar bunu Gibbs-Marangoni etkisi ile yaparlar. Boyut küçültüldüğünde, iki yeni damlacık oluşumu, yüzey enerjisini artırarak sistemin termodinamik dengesini bozan yeni bir yüzey alanı oluşturur. Bu fazla enerjiyi azaltmanın yolu, damlacıkların ~~yeniden takılmasıdır~~ birleşmesidir. Birleşme için birbirlerine doğru koşarken, bu damlaların yüzey aktif gerilimleri yollarındaki yüzey aktif madde moleküllerini adsorbe etme eğiliminde olduklarından etkili bir şekilde azalır. Yüzey aktif maddenin diferansiyel adsorpsiyonu, bu eksik bölgeye daha fazla yüzey aktif madde çeken bir gradyan oluşturur. Yüzey aktif madde moleküllerinin aniden aceleyle oluşan viskoz sürükleme, bağlı suyu çeker ve yeniden damıtma için iki damlayı ayrı ayrı yönlendiren bir hidrostatik akım oluşturur. Gibbs-Marangoni etkisinin gücü, yüzey aktif maddenin konsantrasyonuna ve arayüzün esnekliğine bağlıdır. Bu nedenle, işlem sırasında fazla yüzey aktif madde kullanılırsa, damlacık birleşme oranı ihmal edilebilir hale gelir. Nanoemülsiyonun/mikroemülsiyonun terminal boyutu sadece damlacık bozulma oranı ile belirlenir (43). Konsantrasyonunun etkisini belirlemek için parçacık boyutu dağılımını, değerlendirilmek gerekir (87). Farklı yüzey aktif maddeler farklı adsorpsiyon kinetiklerini takip ettiklerinden, bunların seçimleri nanoemülsiyonların/mikroemülsiyonların tasarımında ampirik bir adım haline gelir. Küçük moleküllü yüzey aktif maddelerinin daha ince emülsiyonlar oluşturmada daha becerikli oldukları bildirilmiştir (43). Büyük miktarlarda yüzey aktif maddeler, genellikle iyonik yüzey aktif maddeler olarak tahrişe neden olur, bu nedenle oral ilaç verilmesi için, iyonik olmayan yüzey aktif maddeleri, mümkün olduğunca küçük bir konsantrasyonda tercih edilir (9). Kendiliğinden emülsifiye olan sistemlerde güvenli olması için, sürfaktan seçimi belirleyici faktördür. İyonik olmayan yüzey aktif maddeler, iyonik yüzey aktif maddelere göre nispeten daha az toksiktir ve pH'dan daha az etkilenirler. Emülsifikasyon kabiliyeti, sürfaktanın hidrofilik-lipofilik dengesi (HLB) değeri ile çok daha fazla ilgilidir. HLB değeri > 10 olan sürfaktanlar, ince, muntazam nano ölçekli damlacıkları sağlamada büyük ölçüde üstündür (9).

Sürfaktan seçimi, istenen nanoemülsiyonun/mikroemülsiyonun formüle edilmesinde kritik bir adımdır. Her bir yüzey aktif maddenin veya yağın spesifik bir HLB'si vardır. Seçilen yüzey aktif maddenin düzeltilmiş HLB'si veya seçilen yağın HLB'sine uyan yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde karışımı, yağ ve su fazları arasındaki en düşük arayüzey gerilimini sağlar. (46).

Stabilize edici maddeler olarak silikon dioksit veya polimerik emülsiyonlaştırıcı ile eklenen O / W ME'lerin formülasyonu, sadece ilacın kimyasal stabilitesini değil, aynı zamanda saf ME'lere göre ilaç deri geçirgenliğini daha da geliştirmeyi mümkün kılmıştır (31).

GI yolunun bağırsak yüzeyinin yapısındaki morfolojik değişiklikler, emilim için etkili yüzeyi değiştirerek ilaçların emilimini değiştirebilir. Sürfaktanların birlikte uygulanmasının API'lerin daha fazla emilmesi ile sonuçlanan (geri dönüşümlü) mukozal hasara neden olduğu gösterilmiştir. Sıçan bağırsak perfüzyon çalışmaları ayrıca, bir mukolitik maddenin ve noniyonik bir yüzey aktif maddenin birlikte verilmesinin, zayıf bir şekilde emilmiş hidrofilik bileşiklerin bağırsak emilimini arttırdığını göstermiştir. Histolojik değerlendirme mukozal hasarı da göstermiştir ve bu nedenle gözlemlenen emilim artışında rol oynadığı düşünülmektedir. Molekülün polaritesi ve partikül boyutu gibi özellikler, API'nin kendinden geçirgenliğini belirler. Bu yönler, spesifik eksipiyanların varlığında da modüle edilebilir. Mikropartiküller ve hatta nano ölçekli parçacık boyutuna mikronizasyon, aktif maddenin bağırsak membranı ile temas yüzeyini arttırır (91).

Sürfaktanlar, epitel hücre zarının lipit tabakasına müdahale ederek geçirgenliğini arttırır. Kosürfaktanlar nanoemülsiyonda/mikroemülsiyonda yağ ve su arasındaki arayüzey gerginliğini azaltabilir, arayüzey zarının esnekliğini ayarlayabilir ve bazen gerekli sürfaktan miktarını azaltabilir (9).

Katyonik bir yüzey aktif maddenin dahil edilmesi veya karışık iyonik-noniyonik yüzey aktif madde sistemlerinin kullanılması, bazı biyomedikal uygulamalar için faydalı olabilir ve ayrıca dağılmış damlacıkların stabilizasyonu için elektrostatik stabilizasyona, yani hem elektrostatik hem de sterik itmeye katkıda bulunabilir (5).

Sürfaktan konsantrasyonunun emülsiyonlar özellikleri üzerindeki etkisi: Emülsiyon özellikleri büyük ölçüde sürfaktanın konsantrasyonuna ve yağ türlerine bağlıdır. Bir çalışmada, emülsiyonlar, yağ fazı olarak farklı yağlar ve spontan emülsifikasyon yoluyla sulu faz olarak deiyonize su kullanılarak hazırlanmıştır. Yağ konsantrasyonu% 5'te sabit tutulurken, % 1 ila% 5 arasında değişen sürfaktan olarak Tween 80 seçilmiştir (87).

Düşük yüzey aktif madde konsantrasyonunda, özellikle % 1'de, tüm emülsiyonlar nispeten büyük partiküller içermiştir. Ayrıca çok kısa sürede görünür faz ayrımı gözlenmiştir. Bu,% 1 sürfaktan konsantrasyonunun, yağ damlacıklarının yeni yüzeyini kaplamak için yetersiz olduğunu göstermektedir. Sürfaktan konsantrasyonu arttıkça, emülsiyon parçacık çapı azalmıştır. Bu durum yüzeyler arası türbülans yoluyla kendiliğinden oluşacak ince damlacıkları

destekleyen yüksek yüzey aktif madde konsantrasyonunun neden olduğu daha düşük arayüzey gerilimi ile ilişkilendirilmektedir. Yağ fazından sulu faza difüze olan daha fazla sayıda yüzey aktif madde molekülü de daha küçük damlacıklar oluşturabilir. Bu nedenle, sürfaktan moleküllerinin yağ fazından sulu faza hareketi daha az kısıtlandığından, küçük parçacıkların oluşmasına neden olur (87).

Bununla birlikte, sürfaktan konsantrasyonu daha da arttığında, parçacık boyutu azalmaya devam etmemiştir. Aksine, % 5 yüzey aktif madde için damlacık boyutu, % 4 yüzey aktif madde için olandan biraz daha büyüktür. Komaiko'ya göre, yüzey aktif madde konsantrasyonu çok yüksek olsaydı, arayüzde damlacık oluşumunu sınırlayan sıvı kristaller üretilebilirdi (Komaiko ve McClements, 2015). Bu nedenle, sürfaktan konsantrasyonunun emülsiyonların iletimi üzerindeki etkisini araştırılmıştır. İletim güçlü bir şekilde Tween 80 konsantrasyonuna bağlıdır. Başlangıçta, emülsiyonların iletimi, sürfaktan konsantrasyonunda bir artış ile hızla yükselmiştir. Sürfaktan seviyesi belli bir dereceye ulaştığında (% 3-4), geçirgenliğin büyüme hızı azalmıştır; bu değişiklik damlacık boyutunun küçültülmesine bağlanabilir (Li, Zhang, Yuan, Liang ve Vriesekoop, 2013). Bunun nedeni, partikül büyüklüğü, partikül konsantrasyonu ve dağılmış fazın özellikleri arasındaki fark olabilir. Ek olarak, gerçek bir emülsiyon iletim sisteminde, damlacık flokülasyonu ve birleşme, iletimin yoğunluğunu etkileyebilir (87). Yağ tipi ve yağ hacmi oranı da damlacık boyutunu etkiler; örneğin, yüksek viskoziteli yağlarla yapılan nanoemülsiyonlar hekzadekan gibi, daha basit yağlarla yapılanlardan çok daha büyüktür (87).

2.7. Yüksek Enerjili ve Düşük Enerjili Emülsifikasyon

Bir NE / ME üretmek için gereken enerji, mekanik bir sistem (yüksek enerjili emülsifikasyon) veya bileşenlerin kimyasal potansiyelinden, çoğunlukla yüzey aktif maddelerden (düşük enerjili emülsifikasyon) üretilebilir. Yüksek enerjili emülsifikasyonun (yüksek basınçlı homojenizasyon (HPH)), ultrasonikasyon ve mikroakışkanlaştırma gibi bir dizi işlemi vardır. Düşük enerjili emülsifikasyon işlemleri ise, faz inversiyon sıcaklığı (PIT), faz inversiyon kompozisyonu (PIC) ve çözücü difüzyonudur (92).

2.7.1. Yüksek Enerjili Emülsifikasyon Yöntemi

Yüksek enerjili emülsifiye etme yöntemleri, daha kolay endüstriyel ölçek küçültmeye uygun olma gibi önemli avantajlara sahiptir (89). Yüksek enerji yöntemleri, boyut küçültme için güçlü bir kuvvet oluşturmak adına mekanik cihazlara bağlanır. Yıkıcı kuvvetler, endüstriyel olarak ultrasonikatörler, mikroakışkanlaştırıcı ve yüksek basınçlı homojenizatörlerle sağlanır. HPH (yüksek basınçlı homojenizasyon) tekniğinin diğerlerine göre çeşitli avantajları vardır, örneğin sürecin basitliği, maliyet tasarrufu, büyük ölçekli üretim kolaylığı ve azaltılmış ürün

kontaminasyonu gibi (93). Başlıca dezavantajları arasında ise enstrümental maliyet ve bazen termolabil ilaçları bozan yüksek çalışma sıcaklıklarının oluşturulması yer alır (43). Polar olmayan lipitlere dayanan sulu koloidal ilaç taşıyıcı dispersiyonlar, genellikle yüksek basınçlı homojenizasyon gibi yüksek enerjili dispersiyon teknikleriyle hazırlanır. Homojenizasyon yüksek kesme kuvvetleri oluşumuna neden olduğundan hassas farmasötik bileşenlerin, örneğin proteinlerin işlenmesi için uygun olmayabilir (94).

2.7.1.1. Yüksek Basınçlı Homojenizasyon (HPH) Yöntemi

Yüksek basınç homojenizatörleri, nanoemülsiyonların/mikroemülsiyonların hazırlanmasında kullanılan en yaygın aletlerdir. Geleneksel yüksek basınç homojenizatörleri genellikle 50 ve 100 MPa arasında basınçta çalışmaktadır. Yüksek basınç homojenizasyonunda sıvı bir ürün, çok ince emülsiyon damlacıkların oluşmasına neden olacak şekilde yüksek kayma gerilimine maruz kalmaktadır. Kayma, akımın yüksek basınç altında valfler aracılığı ile aniden daraltılması (Küçültmesı) ile sağlanmaktadır (27).

2.7.1.2. Mikrofluidize

Mikrofluidizasyon, boyut küçültme, dispersiyon ve emülsiyon oluşumu için optimum kavitasyon, kayma ve çarpışma kuvvetlerini sağlayan mikrokanal yapılı yardımcı bölme ve etkileşim bölmesinin varlığı nedeniyle yüksek basınç homojenizasyonundan farklıdır. Mikrofludizasyon (kolloid mil) işlemleri ve buna benzer sıvı bazlı teknolojiler, sıvıların, sıcak eriyiklerin ve diğer yumuşak agregatların akım indüklü kaymasını kullanmaktadır. Böylece işlenmiş bu maddelerin nano boyutta dispersiyonu elde edilmektedir. Önceden karıştırılmış olan emülsiyon hızlı bir şekilde sert, paslanmaz çelik mikro kanallara doğru zorlanmaktadır. Ürün koalesansa karşı stabilize edilmelidir. Hızlı soğutma, püskürtmeli kurutma, solvent evaporasyonu ve stabilize edici ajan olarak hidrokolloid kaplamaların, sıvı kristallerin ve surfaktanların kullanılması gibi birçok alternatif, ürünü agregasyona karşı korumak için kullanılabilmektedir (27).

Boyut küçültmeyi etkilemek için hidrolik kesme, darbe, yıpranma, çarpma, yoğun türbülans ve kavitasyon uygulanmaktadır. Yüksek basınçlı deplasmanlı bir pompanın (500-50.000 psi) etkisi altındaki mikrokanallardan oluşan bir etkileşim odasından besleme malzemesini zorlayarak çok ince damlacıklar oluşturulur (43).

Genellikle kaba bir emülsiyon, istenen boyut ve dağılım elde edilene kadar bir mikro akışkanlaştırıcıdan tekrar tekrar geçirilir (bazen 100 döngüye kadar). Damlacıkların çarpışması sonucu oluşan çarpışma enerjisi ısı şeklinde ortaya çıkmakta ve soğutma gerektirmektedir (43).

2.7.1.3. Piston Aralığı Homojenizatör

Piston aralığı homojenizatörleri kolloid değirmen prensibi ile çalışır. Sabit bir stator ile hızlı hareket eden bir rotor arasındaki dar bir boşluktan (boyut b 10 μm) geçmek için kaba bir emülsiyon yapılır. Boyut küçültme, rotor ve stator arasında üretilen yüksek kesme, gerilim ve taşlama kuvvetlerinden kaynaklanmaktadır (43).

2.7.1.4. Ultrasonikasiyon (Ultrasonication)

Ultrasonik, insan kulağının duyamayacağı kadar yüksek frekansdaki ses dalgalarıdır (>18 kHz). Ultrasonik emülsifikasyon, birbiri ile karışmayan iki sıvının sürfaktan varlığında ultrasonik bir enerji alanına getirildiklerinde oluşmaktadır. Ultrasonik metotlarda titreyen katı bir yüzey, premiks emülsiyonunu genellikle 20 kHz veya daha fazla ultrasonik frekansta ve yüksek güçte karıştırmaktadır, böylece taneciklerin parçalanmasını sağlayacak ekstrem kayma ve kavitasyon sağlanmaktadır. Ultrasonik emülsifikasyon damlacık boyutlarının küçültülmesinde etkilidir fakat sadece küçük partiler için uygundur (27).

Ultrasonikasyon yöntemi yüksek frekanslı ses dalgalarına (20 kHz ve üstü) bağlıdır. Bunlar, yerinde bir nanoemülsiyon oluşturmak veya önceden oluşturulmuş bir emülsiyonun partikül büyüklüğünü yapılandırmak için kullanılabilir. Tezgah üstü sonikatörler, ucunda yoğun yıkıcı kuvvet üreten bir pizoelektrik probdan oluşur. Bir numuneye daldırıldığında, ultrasonik dalgalar, birikene kadar büyümeye devam eden kavitasyon kabarcıkları üretir. Bu patlama, çevreleyen sıvının bir jet akışını yaratan, dağınık damlacıkları basınçlandıran ve boyut küçülmelerini etkileyen şok dalgaları oluşturur. Operasyonel parametrelerin araştırılması, artan sonikasyon süresi ve giriş gücü ile damlacık boyutunun azaldığı ortaya konmuştur. Bir ultrasonikatördeki problar, işlevlerini etkileyen çeşitli boyutlarda mevcuttur. Küçük hacimli partiler üzerinde çalışmak için genellikle daha küçük problar tercih edilir. Probun numuneye göreli olarak yerleştirilmesi, yani daldırıldığı derinlik dalga yansıma ve basınç dağılım modelini değiştirir. Ancak herhangi bir katı yüzeye dokunmamalıdır. Prosedür olarak kaba bir emülsiyon, mekanik karıştırma altında sulu faza homojen bir yağ fazı ilave edilerek hazırlanır. Daha sonra mikroemülsiyon, nanoemülsiyon için istenen özellikler elde edilene kadar kısa süreler boyunca farklı genliklerde ultrasonikasyona tabi tutulur. Diğer yüksek enerji yöntemleriyle karşılaştırıldığında, ultrasonikasyon en az enerji harcaması gerektiren yöntemdir. Bu tekniğin ciddi bir dezavantajı, probun neden olabileceği kontaminasyondur. Ölçeklendirilebilir uygulanabilirlik için, nanoemülsiyonun ultrasonik dalgalar üretebilen özel bir kolondan aktığı sonikasyona dayalı ticari homojenizatörler geliştirilmiştir (43).

2.7.2. Düşük Enerjili Emülsifikasyon Yöntemi

Düşük enerjili emülsifiye etme yöntemi, aktif maddelerin fiziksel imhaya daha az maruz kalması, daha küçük damlacıklar boyutuyla, daha iyi faz davranışı gösteren sistemlerdir (89). Düşük enerjili emülsifiye edici yöntemlerden en yaygın kullanılanı PIC yöntemi olmuştur. PIC işleminde, kararlılık ve damlacık boyutu, yağ / yüzey aktif madde oranı, yüzey aktif maddelerin hidrofil-lipofil dengesi (HLB) ve sistemdeki bileşen fraksiyonlarından büyük ölçüde etkilenir (89). Farklı üretim teknikleri arasında, düşük enerjili yöntemler, üretim kolaylığı ve ucuz cihazlar kullanma olasılığı gibi farklı avantajlar sunar (95). 'Aşağıdan-yukarıya' yaklaşımda, nanopartiküller lipidler ve proteinler gibi küçük moleküllerin kendiliğinden birleşmesi sonucu oluşmaktadır (kimyasal proses) (27).

Diğer yandan, düşük enerjili yöntemler, sistemin bileşimi veya sıcaklığı belirli bir şekilde değiştirildiğinde, yüzey aktif madde-yağ-su karışımlarında nano boyutlu yağ damlacıklarının kendiliğinden oluşmasına dayanır (72).

Düşük enerjili emülsifikasyon yöntemleri ile hazırlanan nanoemülsiyonlar, yağ, yüzey aktif maddeler, yardımcı yüzey aktif maddeler, ilaç, sulu bileşen, kullanılan yağ yüzey aktif madde karışımının hidrofilik lipofilik dengesi ve çalışma sıcaklığı incelendikten sonra geliştirilmiştir. Düşük enerjili yöntemler arasında spontan emülsifikasyon, faz inversiyonu ve daha az kullanılan katastrofik faz inversiyon yöntemi bulunur. Bu yöntemlerin temel özelliği, ultra ince damlacıklar üretmek için sistemde depolanan enerjinin kullanılmasıdır. Düşük enerji yöntemleri bazen yağ tipi ve kullanılabilecek emülsiyonlaştırıcılar ile sınırlıdır (43).

Ultra-küçük damlacıkların oluşumunu teşvik etmek için bileşenlerin faz davranışı ve özelliklerine göre düşük enerjili emülsifikasyon yöntemi geliştirilmiştir. Bu düşük enerjili teknikler, kendiliğinden emülsifikasyonunu, faz geçişini ve faz ters çevirme sıcaklık yöntemlerini içerir. Düşük enerji yöntemi ilgi çekicidir, çünkü sistemin depolanmış enerjisini küçük damlacıklar oluşturmak için kullanır. Bu emülsiyonlaştırma, sıcaklık, bileşim gibi sistemin hidrofilik lipofilik dengesini (HLB) etkileyecek parametreler değiştirilerek sağlanabilir. Sınırlamaları arasında ise karmaşık olması, hassaslık gerektiren bir yaklaşım olması ve sentetik sürfaktanların kullanımı yer alır (6).

Düşük enerjili yöntemlerin yüksek enerjili yöntemlere göre kullanılmasının temel avantajı, ekipman ve işletme maliyetlerindeki azalma ve uygulama kolaylığıdır, dezavantajı ise oldukça yüksek miktarlarda sürfaktan gerektirmesidir (72).

2.7.2.1. Spontan Emülsifikasyon

Spontan emülsifikasyon, polimerik nanoparçacıkların üretiminde kullanılan nanopresipitasyon yöntemine benzer. Bununla birlikte, polimer yerine yağ kullanılır. Prosedür, sulu faz içeren bir hidrofilik yüzey aktif madde ve bir ilaç içeren mygliol gibi bir organik veya yağ fazı için Span gibi yağda çözünür bir yüzey aktif madde ve aseton gibi kısmen suyla karışabilen organik bir çözücü olmak üzere iki fazın hazırlanmasını gerektirir. Organik faz, sulu faza damla damla eklenir (bunun tersi olarak, yani yağa su ilave edilmesi, W/O emülsiyon durumunda aynı şekilde uygulanabilir). Küçük nano ölçekli emülsiyonlar oluşturmak için bu yöntem kullanılmaktadır (43). Spontan emülsifikasyonun, sistem bileşimlerinden ve fizikokimyasal özelliklerinden etkilenebilen farklı mekanizmalarla oluşur. İlk olarak yağların ve sürfaktan doğasının fiziksel özelliklerinin emülsiyon boyutu dağılımı üzerindeki etkisi incelenmelidir. Yağ ve yüzey aktif madde optimize edildikten sonra, su-çözücü karışabilirliğinin emülsiyonlaştırma işlemi üzerindeki etkisi, organik faz oranı değiştirilerek araştırılır (26).

Spontan emülsifikasyon yöntemleri, yüzey aktif maddelerin çözünürlük tercihlerinden ötürü bir fazdaki orijinal konumlarından diğer faza hareketine dayanmaktadır. Bu hareket, yağ-su arayüzey alanında, arayüzey türbülansında ve kendiliğinden damlacık oluşumunda artışa neden olur (72).

Spontan Emülsifikasyonun Nasıl Oluşur

Bu sürecin kendiliğinden olması için ΔG'deki genel değişim negatif olmalıdır. Nanoemülsiyonlar/Mikroemülsiyonlar geleneksel olarak pozitif bir sonlu arayüzey gerginliğine sahip olduğundan, yağ damlacıklarının difüzyonu ile üretilen artan entropi ile dengelenmelidir. Böylece yeni yüzey alanının geliştirilmesinde harcanan emülsifikasyon enerjisi, eşlik eden türbülansla sağlanır. Bazı durumlarda az miktarda harici enerji gerekebilir (manyetik bir karıştırıcı tarafından sağlanır), ancak gerçek emülsifikasyon işlemi kendiliğinden gerçekleşir. Örneğin; yağın sulu yüzey aktif madde çözeltisine emülsiyon haline getirilecek aseton gibi suyla karışabilen organik bir çözücü içinde çözündüğünü varsayalım. Girişte, organik faz ve sudaki aseton birbirine doğru hareket eder. Bu, hemen sürfaktan molekülleri tarafından kaplanan küçük yağ damlacıklarının arkasında kalır. Hafif manyetik karıştırma, yağ damlacıklarını sürekli olarak dağıtan küçük konveksiyon akımlarının oluşturulmasında yardımcı olur, böylece çözücü difüzyonu ile üretilen herhangi bir yeni yüzey hemen dönen yüzey aktif madde molekülleri ile kaplanır. Çok küçük damlacıklar hazırlamak için, karıştırmadan önce organik fazda yüksek oranda suyla karışabilen bileşenler kullanılması gerekir (43).

2.7.2.2. Faz geçiş sıcaklığı (PIT) yöntemi

Daha öncede belirtildiği gibi bu yöntem kimi araştırmacılar tarafından nanoemülsiyon eldesinde geçerli olmayan bir yöntem iken kimi araştırmacılar ise bu yöntemi benimsemiştir. Yöntem, polioksietilen tipi iyonik olmayan surfaktanların sıcaklık ile çözünürlüklerindeki değişimlere bağlıdır. Bu tarz surfaktanlar, sıcaklığın artması ile beraber polioksietilen zincirlerinin dehidrasyonu sonucu lipofilik olurlar. PIT emülsifikasyon yöntemi, HLB sıcaklıklarında sağlanan düşük ara yüzey geriliminden faydalanır. Fakat koalesans hızı oldukça büyüktür. HLB sıcaklıklarında hazırlanan emülsiyonlar hızlı ısıtma ve soğutma ile oldukça küçük boyutta damlacıklara ve dar bir aralıkta boyut dağılımına sahip stabil emülsiyonlara dönüşmektedir (27).

2.7.2.3. Lipofilik solvent yöntemi

Bu yöntem emülsifikasyon/homojenizasyon işlemleridir. Sürfaktan veya polimer kullanılarak emülsifikasyon için gerekli olan enerji azaltılmakta ve nanodamlacıklar koalesansa karşı stabil hale getirilmektedir. Dıştaki solvent daha sonradan püskürtmeli kurutma veya liyofilizasyon ile uzaklaştırılmaktadır (27).

2.7.2.4. Membran emülsifikasyonu

Membran emülsifikasyon, sürekli bir faz içerisinde (örneğin su veya yağ), membran aracılığı ile dağınık bir fazın (mesela yağ veya su) oluşmasıdır. Geleneksel türbülans yöntemlerine göre, daha az sürfaktana gerek duyan az enerjili bir işlemdir ve boyut dağılım aralığı küçüktür. Bu uygulama için en küçük membran gözenek boyutu 50 nm civarındadır. Bazı araştırmacılar, son emülsiyonun damlacık boyutunun genelde membranın gözenek boyutunun 2-10 katı olduğunu, bazı araştırmacılar ise membranın gözenek boyutundan daha küçük boyutta damlacıklar elde etmenin mümkün olduğunu ileri sürmektedirler (27).

2.8. Mikroemülsiyonların / Nanoemülsiyonların İn Vitro Karakterizasyonu

Nanoemülsiyonları/Mikroemülsiyonları üretildikten sonra ve formülasyonun damlacık boyut tahmini mutlaka yapılmalıdır (43). Nano taşıyıcılar ilaç verme sistemleri olarak kullanan, bazı spesifik tıbbi durumların lokal tedavisi kavramı, terapötik etkinliği arttırmayı ve muhtemelen yan etkileri azaltmayı amaçlayarak daha fazla dikkat çekmektedirler (96). Birçok nanoformülasyon arasında, potansiyel lipit bazlı nanokarterler olarak su içinde yağ düşük enerjili nanoemülsiyonlar/mikroemülsiyonlar dikkat çekmiştir. Bu koloidal sistemler, hidrofobik aktif moleküller için yüksek çözündürme kapasitesi ve bunları bozunmadan koruma kabiliyeti ile karakterize edilir (96).

Damlacık boyutu birçok özelliği etkiler. Daha büyük, daha küresel damlalar tipik olarak birbirine yapışan küçük veya bozuk damlalardan daha kolay akar. Damlacık boyutu dağılımının homojenliği, polidispersite indeksi ile ölçülür; nanoemülsiyonlar/mikroemülsiyonlar, eğer polidispersite indeksi b 0.2 ise, genellikle "monodispers" olarak adlandırılır (43). Ek olarak, emülsiyonlardaki parçacık boyutu <100 nm ise, ışık dağılmadan emülsiyondan geçebilir ve NE/ME şeffaf görünebilir (97). Partikül boyutu analizörleri, damlacık yarıçapını foton korelasyon spektroskopisini (photon correlation spectroscop) (PCS) veya lazer difraksiyonunu kullanarak ölçer. PCS, genel olarak bazı sınırlamalara sahiptir. Bazen ortalama popülasyondan önemli ölçüde farklı olan daha küçük popülasyonları gözden kaçırabilinmektedir. Boş damlacıkları (herhangi bir ilaç molekülüne sahip olmayan), yüzey aktif madde agregatlarını, lipozomları, miselleri, nanopartikülleri veya bir koloidal formu diğerinden ayırmak da imkansızdır. Ek olarak, yağ damlacıklarının şekli her zaman böyle olamamakla beraber mükemmel bir küredir. Ancak bazen numunenin seyreltilmesi gerekebilir. Bu nedenle, kesin görselleştirme için (globül boyutu, hacim fraksiyonu, şekil,) elektron mikroskopisi (SEM, TEM, kriyo-TEM, dondurma-kırılma), nötron ve X-ışını saçılması PCS yoluyla elde edilen verilerin doğrulanması için uygulanır. SEM oldukça derin iki boyutlu görüntüler üretir ve bir damlanın topografyasını, konturlarını ve morfolojisini belirlemede faydalıdır. Donma-kırma SEM verilerini değerlendirmede yardımcı olur. Burada hızla donmuş nanoemülsiyon/mikroemülsiyon damlacıkları, kurucu lipitlerin, sürfaktanların ve kosürfaktanların ilişkili simetrisinin tam olarak tanımlanmasını, lokalizasyonunu ve yakalanmasını sağlayan tam olarak gözlemlenmesini sağlamak için yırtılır (43).

2.9. Üçgen Faz Diyagramı

Genel olarak, üçgen faz diyagramları temelinde optimum formülasyon seçilmesi içindir. Nanoemülsiyon/mikroemülsiyon bölgesi, formülasyonun seçiminin temeli olacaktır (89). NE'nin/ME'nun geniş bir alanı ile sonuçlanabilecek bileşenleri ve bunların konsantrasyon aralıklarını elde etmek için üçgen faz diyagramları oluşturulmuştur (98). Üçgen faz diyagramları sulu titrasyon yöntemi ile oluşturulmaktadır (89).

Üçgen faz diyagramlarının oluşturulması:

Üçgen faz diyagramlarının bileşenleri arasında yağ, sürfaktan ve kosürfaktan karışımı (S karışımı) ve deiyonize su, distile su titrasyon yöntemi kullanılarak geliştirilmiştir. Yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde farklı ağırlık oranlarında (1: 9, 2: 8, 3: 7, 4: 6, 5: 5, 6: 4, 7: 3, 8: 2 ve 9: 1) karıştırılır. Her faz diyagramı, yağ ve S karışım oranı, maksimum yağ ve S karışım oranı elde edilene kadar farklı ağırlık oranlarında harmanlanarak hazırlanır (3). Deiyonize su titrasyonu, su (O/W) nanoemülsiyon/mikroemülsiyonunda saydam ve berrak yağ

oluştuğunda durdurulur. Üçgen faz diyagramının mikroemülsiyonları/nanoemülsiyonları ilaç içermez (3).

Bir üçgen faz diyagramının oluşturulması, ME'nun/NE'nin mevcudiyet bölgesindeki konsantrasyon aralığını ve bileşenlerin oranlarını belirlemek için gereklidir. Buna ek olarak, düşük Smix içeriğiyle O / W tipi NE/ME kolayca oluşturulabilirken, W/O tipi ise yüksek Smix içeriğiyle kolayca oluşturulabilir (25). Bunun nedeni, yüzey aktif madde genellikle, yağ fazının oluşturulmasını kolaylaştıran yağa iyi bir afinite göstermesi olabilir. Amfifilik yapıda olmasına rağmen, yüzey aktif maddeleri, birçok araştırmada sıklıkla karışık yağ fazının bileşenleri olarak kullanılmıştır (25).

Yağ (IPM, oleik asit ve yer fıstığı yağı …), sürfaktan (tween 80 ve cremophor EL …) ve kosurfaktanlarla (PG ve Transcutol P…) üçgen faz diyagramları, 25 ° C'de su titrasyon yöntemi kullanılarak geliştirilmiştir. Monofazik, berrak ve saydam karışımlar elde edildikten sonra görüntülenmesi durumunda, örnekler faz diyagramında noktalar olarak işaretlenmiştir. Bu noktaların kapsadığı alan NE/ME bölgesini temsil eder ve AutoCAD® yazılımı (Autodesk, Inc., San Rafael, CA, ABD) kullanılarak ölçülmüştür (98). Üçlü faz grafiğinin bileşenleri yağ, su ve S karışımı olarak (sürfaktan ve kosürfaktan) farklı oranlarda sunulması nedeniyle değişken bileşenler olarak kabul edilir. Gölgeli alan nanoemülsiyon alanını temsil eder ve daha büyük gölgeli alan ise iyi bir nanoemülsifiye edici aktiviteyi gösterir (3).
Psödoterner-faz diyagramları NE/ME bölgelerinin alanını belirlemek için 25°C'de su titrasyon yöntemi ile haritalanmıştır. Farklı sistemlerin faz davranışı, NE/ME içine dahil edilen yağ molekülerinin hacminden güçlü bir şekilde etkilenirler. Örnek olarak NE ların/ME ların yağlı bir faz olarak IPM kullanıldığında elde edilen NE/ME bölgelerinin, oleik asit durumundakinden daha büyük olduğu gözlenmiştir. İkincisi, dağıtılan yağın hidrokarbon zincir uzunluğu, kullanılan yüzey aktif maddenin hidrofobik kısmının uzunluğundan önemli ölçüde daha az ise, yağ yüzeyler arası yüzey aktif madde tabakasına önemli ölçüde nüfuz edecek, spontan NE/ME oluşumu ve daha yüksek yağ çözünürlüğüne neden olacaktır. Ek olarak, yağ yapısında polar ester gruplarının varlığı, yağ hidrofobikliğini azaltarak, ara yüzey gerilimi düşürür ve NE/ME oluşumunu destekleyen yüzey aktif madde ve yağ molekülleri arasında daha güçlü etkileşimler oluşur. Bunun aksine, çift bağların varlığı yağ hidrofobikliğini arttırır. Sonuç olarak, oleik asit, daha uzun karbon zinciri, polar ester gruplarının yokluğu ve çift bağların varlığı nedeniyle IPM tarafından gösterilen bölgelerden daha küçük NE/ME bölgeleri göstermektedir (98).

Fıstık yağı en küçük NE/ME bölgelerini göstermiştir. Bu bulgu, bir yandan yağ sürfaktan etkileşimlerini büyük ölçüde azaltan yüksek trigliserit içeriğinden ve diğer yandan yağ hidrofobikliğinde ve daha karmaşık bir artışa yol açan yağ asidi zincirlerinde çift bağların

varlığından dolayı olabilir. Cremophor EL'in sürfaktan olarak kullanılması, tween 80'e kıyasla daha küçük NE/ME varoluş alanları ile sonuçlanmıştır. Kremofor (Cremophor) EL'in yağda çözündürme kapasitesini arttırmak için ve yüzey aktif madde tabakasının esnekliğinin ve yağ-su arayüzüne daha yüksek seviyelerde bölünebilme özelliğinin, kombine yüzey aktif maddeler ile arttırılabilmesi nedeniyle NE'lerin formülasyonu sırasında Kremofor EL ve Tween 80 (1: 1 ağırlık oranı) karışımı hazırlanmıştır. Kullanılan kosurfaktanlarla ilgili olarak, transkütol P kullanımı, genel olarak PG kullanılarak elde edilenlerden daha yüksek NE/ME varoluş alanlarında sonuçlanmıştır. Bu, transkutol P'deki daha uzun karbon zinciri uzunluğuna (PG'de 3 karbona karşı 3 karbon) ve ayrıca NE'de azaldığı tespit edilen PG'deki (Transcutol P'de 2'ye karşı 1) hidroksil gruplarının sayısındaki artışa bağlı olabilir (98).

Üçgen faz diyagramı, nanoemülsiyon/mikroemülsiyon formülasyonu için sürfaktan ve kosürfaktanın ön taramasını gerçekleştirmek için sezgisel bir yöntemdir (89).

2.10. Mikroemülsiyon/Nanoemülsiyon Bileşenlerinin Seçimi ve HLB Değeri

Sürfaktanların seçimi için önemli kriterlerden birisi, bunların HLB değerleridir. O/W NE'leri veya ME'leri oluşturmak için gerekli HLB değeri 10'dan büyük olmalıdır. Tween 80 ve cremophor EL, sırasıyla 15 ve 12-14 HLB değerlerine sahiptir (98). HLB sistemi, yağ ve su emülsifikasyonu için yüzey aktif maddelerinin tanımlanmasında özellikle faydalıdır (86). Bir sürfaktanın HLB değeri, molekülünün hidrofilik ve lipofilik kısımlarının nispi katkısına bağlıdır. HLB değerleri 3 ila 6 arasında olan sürfaktanlar genellikle W/O sistemlerinin oluşumunu desteklerken, 8e18 aralığındaki HLB değerleri O / W sistemlerine yol açar. HLB değerleri 20'den büyük olan iyonik yüzey aktif maddeler, hidrofilikliklerini azaltmak için genellikle bir ko-yüzey aktif madde kullanılır, böylece mikroemülsiyon oluşumuna izin verilir (38). Düşük ve yüksek hidrofilik lipofilik denge (HLB) sürfaktanlarının doğru karışımı, kararlı nanoemülsiyon formülasyonlarının oluşumuna yol açar (9). Hidrofilik-lipofilik denge (HLB), bir yüzey aktif madde molekülünün hidrofilik ve lipofilik kısımlarının büyüklüğünün ve gücünün denge göstergesidir. HLB skalası 0 ila 20 arasındadır. 3.5 ila 6.0 aralığında, yüzey aktif maddeleri W / O emülsiyonlarında kullanım için daha uygundur. 8 ila 18 aralığında HLB değerlerine sahip yüzey aktif maddeleri, en yaygın olarak O / W emülsiyonlarında kullanılır (86).

Sürfaktan genellikle sürekli fazda çözünmektedir. Sürfaktanları, polar veya polar olmayan sıvılarda dağılma eğilimlerine göre sınıflandırma sistemi hidrofil-lipofil balans (HLB) olarak bilinmektedir. Hangi yüzey aktif maddenin seçileceği, HLB değerlerine bakılarak kararlaştırılsa da gerekli konsantrasyonun bulunması için deneysel çalışma mutlaka gereklidir. Eğer surfaktan

ile kaplanmış damlacıkların ara yüzeyleri birbirlerine yakın hale gelirse, ara yüzeyler arasında ince bir su filmi oluşmaktadır. Sürfaktanların aynı yüklere sahip olmasından ötürü, iki ara yüzey birbirini itmektedir ve film parçalanmaya karşı stabilize edilerek damlacıkların birleşmesi önlenmektedir. Daha ince bir film oluşturmak için ara yüzeyler birbirlerine doğru itilirse, kritik ayırma basıncı (Π_d) aşılmakta böylece film parçalanmaktadır (27).

Hidrofil-Lipofil dengesi (HLB), noniyonik bir yüzey aktif maddenin suda çözünür ve yağda çözünen kısımları arasındaki ilişkiyi tanımlamak için kullanılan sayısal bir sistemdir. HLB sayıları 1 ila 30 (belki daha yüksek) arasında değişir. Örneğin, bir yüzey aktif maddenin HLB = 1 olması durumunda, çok yağda çözünür olarak kabul edilirken, HLB = 15 değerine sahip bir yüzey aktif madde suda çözünür olarak kabul edilir.

HLB numarası aynı zamanda ilgili sürfaktanın yüzde etoksilasyonunun (EO) bir ölçüsüdür. Hidrofilik yüzey aktif maddeler suda çözünür ve bu çözünme, deterjan ve su ile kolayca seyreltilecek ürünler için kullanılır. Lipofilik yüzey aktif maddeleri, suda çözünür malzemeleri susuz yağ bazlı bir sistemde birleştirmek için kullanılır. Hidrofilik ve lipofilik yüzey aktif maddelerinin kombinasyonları, su içinde yağ ve yağ içinde su emülsiyonları yapmak için kullanılır (86).

Sırasıyla daha yüksek ve daha düşük HLB seviyesinde yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde harmanlandığında daha iyi yüzey aktif madde / yardımcı yüzey aktif madde karışımı elde edilir (113). Hidrofilik ve lipofilik yüzey aktif maddeleri arasındaki fark ne kadar büyük olursa, arayüzdeki karışımların kapsamı da o kadar iyi olur. Çalışma aynı zamanda sürfaktan karışımlarının lipofilik kuyrukları arasındaki yapısal benzerliklerin önemini de göstermiştir (46).

En önemli kriter etken maddenin NE/ME bileşenlerinde çözünürlüğüdür. Sürfaktan seçiminde en çok kullanılan yöntem hidrofilik lipofilik denge (HLB-Hydrophilic Lipophilic Balance) sistemidir (98). HLB değeri sürfaktanların hidrofilik ve lipofilik eğilimini göstererek numaralandırılır (99). Bu değer hidrofilik grubun mol yüzdesinin beşe bölünmesi ile elde edilen değer olarak ifade edilir. 20'ye doğru yaklaştıkça hidrofilik özellik artar. Örneğin oleikasidin HLB değeri 1, potasyum oleatın HLB değeri 20'dir (99).

Sürfaktanın HLB değeri, belirli bir yağ fazı için uygun emülgatör seçimi ile yakından ilişkilidir ve ciddiye alınmalıdır. Emülgatörün HLB'si yağ ile iyi eşleşmesi halinde, en iyi emülsiyonlaşma gerçekleşecek ve çok küçük damlacıklar ile nanoemülsiyon oluşturulacaktır. Yağ / su (O / W) tipi nanoemülsiyon elde etmek için, emülgatörün HLB değeri 8 ila 18 arasında olmalıdır (89).

Sürfaktanların düşük HLB değerleri (<6) daha çok yağ fazında çözünebilmekte ve dayanıklı S/Y emülsiyonu; yüksek HLB değerlerinde (>8) ise dayanıklı Y/S emülsiyonları oluşturmaktadırlar. Daha öncede belirtildiği gibi hidrofilik ve lipofiiik emülgatör karışımlarının kullanılması ile daha dayanıklı Y/S emülsiyonlar elde edilebilir. İki emülgatör (A ve B) karışımı kullanarak emülsiyonun oluşması için istenilen HLB değeri aşağıda verilen eşitlikle hesaplanabilir (99):

$$HLB = f_A\ HLB_A + (1-f_A)\ HLB$$

Burada; f_A karışımdaki A emülgatörünün ağırlık kesridir.

Uygun bir HLB değerine sahip bir yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif maddenin bağlanması, uygun bir emülgatör elde etmek için arayüzey geriliminin ayarlanmasına katkıda bulunur (89).

2.11. Termodinamik, Santrifüjleme, pH'a bağlı ve Reolojik Stabilite Çalışmaları

ICH tarafından öngörülen düzenli stabilite ve hızlandırılmış stabilite çalışmalarının yanı sıra, nanoemülsiyonlar sıcaklık dalgalanmaları durumunda damlacık bütünlüğünü sağlamak için özel termodinamik stabilite çalışmalarına tabi tutulur. Bu testler, nanoemülsiyonların art arda ısıtılması ve soğutulması, burada birden fazla soğutma döngüsüne (4 ° C) ve ısıya (45 ° C) maruz kalmaktadır. Nanoemülsiyonlar donma-çözülme döngüsüne tabi tutulabilir ve boyut veya faz değişiklikleri açısından izlenebilir. Kremleşme, çökme veya başka bir faz ayrılması gibi kinetik stabilite sorunları, nanoemülsiyonların 3000-4000 rpm'de santrifüjlenmesi ile ortadan kaldırılır. Nanoemülsiyonların 3-6 aylık bir süre boyunca ortam veya buzdolabında saklandığı ve görünüm, boyut, dağılım, zeta potansiyeli, ilaç içeriği vb. açısından periyodik olarak değerlendirildiği depolama stabilite çalışmalarını içerir. Söz konusu parametrelerdeki değişimler mutlaka instabilite göstermez ancak öngörülen bir aralık dahilindeyse, eğer varsa, önemli farklılıklar rapor edilmeli ve depolama koşullarını çerçevelemek veya gerekirse kararlı bir formülasyonu yeniden formüle etmek için yol gösterici bir ilke olarak kullanılabilir. pH'taki değişiklikler sıklıkla in vivo amiklik (kas içi enjeksiyonların ağrısız uygulanması, topikal veya oftalmolojik nanoemülsiyonların düşük iritansı) formülasyonun pH'sına ve içindeki ilaçların stabilitesine bağlıdır. Örneğin; Ramipril alkalin pH'a duyarlıdır ve sonuç olarak nanoemülsiyonu asidik bir pH'da hazırlanır ve muhafaza edilir. Diğer parametrelere örnek olarak boyut değişimi, yükün ters çevrilmesi, damlacık akışkanlaştırması vb gösterilebilir. Bu nedenle, bir nanoemülsiyonda sistemin pH gereksinimlerinin belirlenmesi önem kazanır. Daha büyük bir iç faz hacmine sahip nanoemülsiyonlar genellikle daha yüksek viskozitelere sahiptir. Bu tür

sistemleri transfer etmek için, bazen damlacıkların parçalanmasına yol açan büyük kesme uygulaması gerekli olabilir. Bu, daha büyük damlacıklar arasında daha küçük damlacıklar sıkıştırarak sistemik viskoziteyi daha da artırabilir. Nanoemülsiyonun viskozitesi bu nedenle önceden kalibrasyon gerektirir ve döner, koni veya plaka viskozimetreler kullanılarak farklı sıcaklıklarda farklı kesme hızlarında değerlendirmeler yapılabilir (43).

Emülsiyon stabilitesi, sistemin zaman geçtikçe fizikokimyasal özellik değişikliklere direnme kapasitesini gösterir. Pratik olarak ticari bir uygulamada, emülsiyon stabilitesi üretim işlemi, depolanması ve tüketimi için büyük önem taşımaktadır. Bununla birlikte, çok sayıda emülsiyon genellikle termodinamik olarak kararlı sistemler değildir ve zaman içinde demulize olma eğilimi gösterirler, bu da yağ fazının emülsiyondan tamamen ayrılmasına neden olur Dağılmış faz sürekli fazdan ayrıldıkça, iki faz arasındaki arayüz alanının azalması nedeniyle sistemin serbest enerjisi azalır. Faz ters çevirme, yerçekimi ayrımı ve parçacık büyüklüğünün artması gibi emülsiyonun dengesizliğini açıklayan birkaç mekanizma vardır; bunlara flokülasyon, birleşme ve Ostwald olgunlaşması neden olabilmektedir. Bir O / W emülsiyonunun yerçekimi ile ayrılması, dağınık faz ile sürekli faz arasındaki yoğunluk farkından kaynaklanan ve dağınık partiküllerin preparatın üstüne yükselmesine ve konsantre hale (cream hale) gelmesine yol açan çok yaygın bir fenomendir. Dahası, her istikrarsızlık mekanizması her zaman bir başkasıyla ilişkilidir. Örneğin, parçacık boyutu dağılmış parçacıkların yerçekimi göçü ile artabilir. Bu nedenle, emülsiyon stabilitesi için, kararsızlıktan sorumlu baskın mekanizmayı tanımlamak makul bir çözüm olabilir (100).

Kararlılık çalışmaları, bu nanoemülsiyonların/mikroemülsiyonların kararsızlığı için Ostwald olgunlaşmasını sebep göstermiştir. Ostwald olgunlaşmasının incelenen sistemdeki ana bozulma mekanizması olduğunu destekleyen bir başka gerçek, düşük sulu faz çözünürlüğüne sahip ikinci bir yağ ilave edildiğinde stabilitedeki artıştır. Stabilizatör olarak iyonik olmayan yüzey aktif maddeleri ve karışık iyonik / iyonik olmayan yüzey aktif maddeleri kullanan diğer yakın tarihli çalışmaların aksine, flokülasyonun nano emülsiyon dengesizleşmesinde önemli bir rol oynadığına dair bir kanıt bulunamamıştır. Son nano emülsiyon damlacıklarının düşük dispersiyon faz hacmi ve stabilize edici olarak bir iyonik yüzey aktif maddenin kullanılması göz önüne alındığında, flokülasyonun baskın mekanizma olması muhtemel değildir (40). Kosürfaktanların nano emülsiyonların boyutu, polidispersitesi ve stabilitesi üzerinde önemli bir etkisi vardır (40).

Çok sayıda emülsiyon, uygulamalarını sınırlayan ürün geliştirme sürecinde depolama sırasında homojen kalamaz. Genel olarak, emülsiyon dengesizleşmesine genellikle üç fiziksel mekanizma, yani faz geçişi, partikül büyüklüğü artışı (birleşme, flokülasyon veya Ostwald

olgunlaşmasının neden olduğu) ve partikül yerçekimi ile çökmesi (krem veya sedimantasyon) neden olur. Gıda endüstrisindeki pratik bazı uygulamalarda, seçilen yağ fazının yoğunluğu her zaman sulu fazın yoğunluğundan daha düşüktür; bu nedenle kremalaşma daha yaygındır. Kıvamlandırma davranışı, dağılmış parçacıkların sürekli fazdan daha az yoğun olduğu ve numunenin tepesine yükselme eğilimi göstererek yerçekimsel ayırma işlemini belirtir ve daha konsantre bir tabaka oluşturur. Ek olarak, partikül boyutundaki artış, partikülün yer çekimi ile çökme sürecini hızlandırmaktadır (100).

Tıbbi, kozmetik ve gıda amaçlı mikroemülsiyon ve nanoemülsiyon sistemlerinin kullanımına olan ilginin artması, fiziksel ve kimyasal stabiliteleri ve kullanım güvenliği ile ilgili araştırmaların geliştirilmesini hızlandırmıştır. Güneş ışığının olduğu ortam koşullarında, yüksek sıcaklıkta, oksijen varlığında ve UV radyasyonda emülsiyonlardaki yağın oksidasyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Yüksek şeffaflık ve küçük parçacık boyutları nedeniyle, mikro-, nanoemülsiyonlar ve özellikle jelleşmiş formları UV radyasyonuna en duyarlı olanlardır. Sonuçlar, tüm test koşulları altında, yağın oksidatif stabilitesinin, emülsiyonlarda dökme yağa göre daha yüksek olduğunu göstermektedir (101).

2.12. Mikroemülsiyonların/Nanoemülsiyonların Uygulama Yolları

Mikroemülsiyonlar/Nanoemülsiyonlar sadece farmasötik değil, aynı zamanda nutrasötikler, gıda ürünleri ve kozmetik formülasyonlarında da büyük ilgi görmektedir. Mikroemülsiyonlar/nanoemülsiyonlar, parentral, oral, topikal, oküler, pulmoner, mukozal, kozmetik, transdermal, kontrollü ve hedeflendirilmiş ilaç salımı gibi çeşitli yollardan ilaç vermek için kullanılır (4).

2.12.1. Oral ilaç verilmesi

Oral Yoldan İlaç Verilmesi: İlaç verme yolları arasında, oral uygulama ağrısız olduğu ve ilaçlar kolayca ve rahatlıkla kendi kendine verilebildiği için ilk seçeneği temsil eder, bu da hasta kabulünü kolaylaştırır. Bu avantajlara rağmen, oral ilaç geliştirme projeleri zayıf gastrointestinal geçirgenlik, hızlı metabolizasyon, zayıf tolere edilebilirlik gibi biyoyararlanımı etkileyen faktörlerden etkilenmektedir (71).

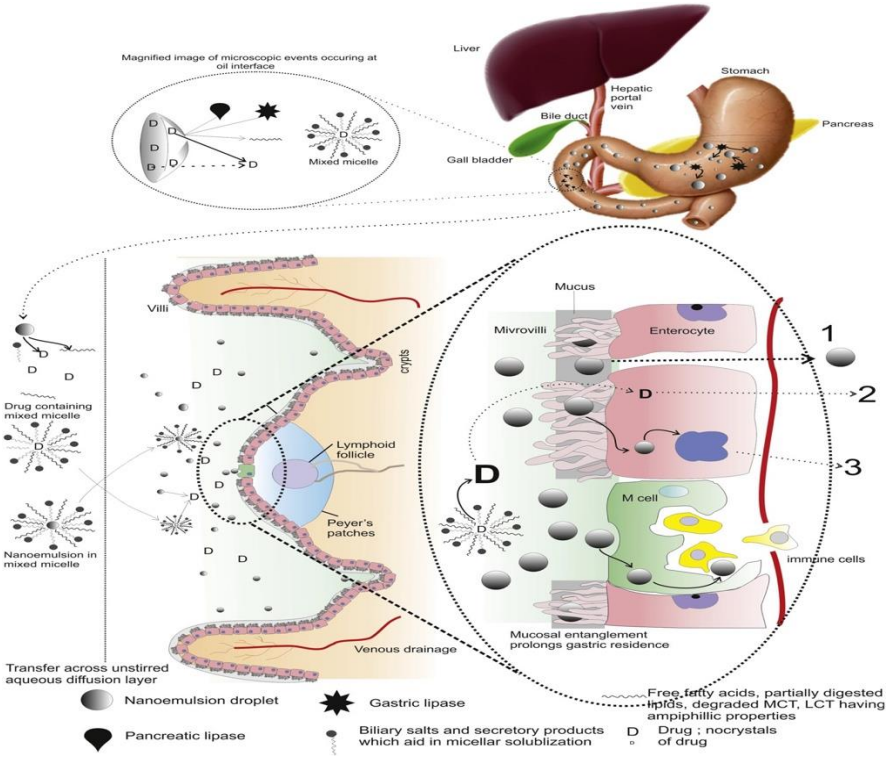
Nanomedikal, ilaç moleküllerinin in vivo performansını ve tıbbi görüntüleme / tanılamada kullanımını optimize etmek için, nanoteknolojinin biyomedikal alana uygulanması olarak tanımlanmıştır (102). O / W nanoemülsiyonları, kozmetik, kişisel bakım, fonksiyonel gıda ve farmasötik ürünlerde biyoaktif lipofilik bileşenleri kapsülleme kabiliyetlerinden dolayı iletim sistemleri olarak kullanımları artmaktadır (95).

Oral yol, terapötik ajanların vücuda verilmesinin en çok tercih edilen yoludur. Bununla birlikte, mevcut ilaçların veya yeni geliştirilen ilaç adaylarının çoğu, biyoyararlanımı arttırıcı formülasyonların kullanımını gerektiren hızlı ve tam oral emilim sağlamak için gastrointestinal sıvıda yeterince çözünemeyebilmektedir (103). Bir ilacın GI kanalda maksimum düzeyde emilmesi için, onu içeren formülasyonun, gastrointestinal sıvılarla seyrelerek üzerine küçük globüller oluşturacak şekilde yüksek oranda dağılabilir olması önemlidir. Bu nedenle, sulu ortam ile seyreldiğinde su içinde yağ mikroemülsiyonlarının oluşumuna yol açan formülasyonlar, hidrofobik ilaçların çözünürlüğü ve biyoyararlanımını arttırmak için en çok tercih edilenlerdir (103). Oral formülasyonların geliştirilmesi sırasında, başka bir zorluk viskoelastik ve yapışkan mukus bariyerinin üstesinden gelmektir. Bu tabaka bağırsak yol yüzeyini korur ve sterik engelleme mekanizması veya diğer yapışma süreçleri ile ilaç verme sistemlerini tutabilir (71). Terapötiklerin en uygun şekilde verilmesi için son yıllarda en popüler nanotıp yaklaşımları arasında nanoemülsiyonlar/mikroemülsiyonlar, katı lipit nanopartikülleri, nanoyapılı lipit taşıyıcıları, lipozomlar, dendrimerler, polimerik miseller veya nanopartiküller ve nanosüspansiyonlar vardır.

Bu gelişmiş uygulama sistemleri, çeşitli mekanizmalar yoluyla ilaç dağıtımını kontrol etme ve geliştirme potansiyeli sunarlar. Ancak tarif edilen sınırlamalarının bir kısmını aşarak psikotrop ilaçların oral yoldan verilmesini artırmayı amaçlayan bir dizi çalışma rapor edilmiştir (102).

Oral uygulama üzerine nanoemülsiyonlar/mikroemülsiyonlar gastrointestinal sisteme (GI yolu) girer ve çeşitli çevresel koşullara maruz kalırlar. Örneğin; GI yolda 'lipit algılama' mekanizmasının uyarılması, daha basit digliseritler, monogliseritler ve serbest yağ asitleri elde etmek için nanoemülsiyonu veya mikroemülsiyonu oluşturan LCT veya MCT'nin fraksiyonel sindirimini başlatan mide lipazlarının atılmasına yol açar. Küçük boyutlu nanoemülsiyon damlacıkları bu lipaz aktivitesini hızlandırır. Yağlı bileşenin sindirimi genellikle nanopresipitasyon uygulanan ilacı serbest bırakır. Diğer durumlarda ilaç, sadece yağ damlacıklarıyla çevrelenmiş sulu ortama bırakılır. GI kanalda yağların ve yağ sindirim ürünlerinin varlığı, safranın salgılanmasını uyarır ve GI yolu hareketliliğini geciktirir. Safra bileşenleri nanoemülsiyonların endojen yüzey aktif maddeler olarak hareket ederek çözülmesine yardımcı olur ve karışık misel olarak bilinen kolloidal yapılar oluşturabilir. Safra ve önceden var olan karışık miseller, serbest ilacı daha fazla çözer ve sulu difüzyon katmanı boyunca taşıyarak emilimi kolaylaştırır (43). GI sıvılarının bileşimi, GI kanalda zayıf çözünür API'nin çözünürlüğü ve dolayısıyla ilaç emilimi üzerinde büyük bir etkiye sahiptir (104). Genel olarak, daha yüksek miktarlarda çözünmüş ilaç oral emilimin artmasına neden olur (71).

Nanoemülsiyon/mikroemülsiyon damlacıkları bazen paraselüler veya transselüler yolla veya Peter yamalarında bulunan M hücreleri yoluyla bozulmadan emilir. Nanoemülsiyonlar/mikroemülsiyonlar, emilim bariyeri boyunca yapıştırma ve sıkma, mevcut boşluklara göre konturlarını bükme ve değiştirme eğilimindedir. Nanoemülsiyonların/Mikroemülsiyonların formüle edilmesinde kullanılan tokoferil polietilen glikol 1000 süksinat (TPGS) ve Labrasol® gibi bazı eksipiyanlar, ATP'ye bağımlı p-glikoprotein (P-gp) taşıyıcısının inhibe edilmesi için eşsiz bir kabiliyete sahiptir ve zayıf çözünür antikanser ilaçların oral biyoyararlanımını arttırmak için kullanılmıştır. Emilimden sonra, nanoemülsiyon damlacıkları hepatik portal ven yoluyla sistemik dolaşıma girebilir. Mezenterik lenf içine giren ilaçlar, hepatik ilk geçiş metabolizmasına girmeden doğrudan sistemik dolaşıma taşınır. Bu nedenle, çok sayıda mekanizma, nanoemülsiyon yoluyla uygulandığında, yetersiz bulunan ilaçların oral biyoyararlanımını değiştiren birkaç yol sunmak için birlikte çalışır. GI kanalda nanoemülsiyonun yükünün emilimine yol açan olaylar Şekil 2-5'de görülmektedir (43). API'nin lipofiliklik, çözünürlük ve katı hal gibi fizikokimyasal özellikleri, GI emilimde önemli bir rol oynar. Bu özellikler, mide ve bağırsakta çözünme, çökme, geçirgenlik ve gıda etkileşimi üzerindeki etkileri nedeniyle API'nin biyofarmasötik performansını önemli ölçüde etkileyecektir. Bu özellikleri doğru bir şekilde tahmin edebilen modeller, ortaya çıkan fizikokimyasal, biyofarmasötik veya farmasötik özellik için temel olan yapısal özellikler hakkında bilgi verebildikleri için çok tercih edilmektedir. Ayrıca, in vivo emilimi kesin olarak öngören, tercihen yüksek verimli deney yöntemleri de garanti edilmektedir (104).



Şekil 2-5: Nanoemülsiyon ve yükünün emilimine yol açan olayların şematik görünüşü

Oral olarak uygulandığında bir nanoemülsiyon, çeşitli lipid algılama mekanizmalarını uyarabilir ve bu da mide ve pankreatik lipazların ve safra tuzlarının salgılanmasına neden olabilir. Lipazlar, nanoemülsiyonların yağ bileşenini, ilaç salımını hızlandıran daha basit fraksiyonlara indirger. GI boşlukta salınan ilaç, nanomerik formda çöker ya da serbestleştirilmiş yağ fraksiyonu veya mevcut safra tuzları ile oluşturulan karışık misellerin içine dahil edilir. Her iki durumdada ilacın çözünürlüğü artar ve emici tabakanın yakınında sulu difüzyon katmanından geçme şansı birkaç kat artar. (1) Daha sonra ilaç, geleneksel lipit çözündürme yoluyla doğrudan emilir ve venöz veya lenfatik yolla alınarak biyofarmasötik özelliklerine göre sistemik olarak kullanılabilir hale gelir. Kısmen sindirilmiş bir nanoemülsiyon damlacık veya yağın lipaza dirençli olduğu durumlarda, bozulmamış bir damlacık, karışık bir miselde de çözündürülebilir. (2) Damlacık, paraselüler veya transselüler yollar ile mukozal dolaşma gibi spesifik veya spesifik olmayan alım mekanizmalarını kullanabilir veya M hücrelerine veya diğer emici hücrelere girebilir. (3) Emici hücrenin içine girdikten sonra, nanoemülsiyon damlacık apolipoproteinlere işlenebilir ve lenfatik drenaja kanalize edilebilir (43).

Oral olarak uygulanan ilaçların emiliminde hız sınırlayıcı bariyer, GI kanalı kaplayan epitel tabakasıdır. Hücre hattı tabanlı bir sistem olan Caco-2 hücre modeli, ilaçların bağırsakda kalıcılığını tahmin etmek ve permeasyonu arttırmak için oral dozaj formlarını ve ilaç verme sistemlerini taramak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Caco-2 hücreleri, insan kolon

tümöründen izole edilmiş ölümsüz hücrelerdir. Caco-2 hücreleri, deney koşulları altında, bağırsak epitel tabakalarına morfolojik ve fonksiyonel olarak benzer olan tek tabakalı yapılara farklılaşabilir. Özellikle Caco-2 hücrelerinin, in vivo epitel tabakasının karakteristik özelliği olan ve bağırsak emilimi için hız sınırlayıcı bariyeri oluşturan komşu hücreler arasında sıkı birleşimler kurduğu gösterilmiştir. Yukarıdaki nedenlerden ötürü, Caco-2 tek tabakalı model, ilaçların parasel hücresel taşınımını araştırmak için permeasyon çalışmalarında yaygın olarak kullanılmıştır ve farmakolojik sanayi ve düzenleyici kurumlar tarafından oral formülasyonların test edilmesi için standart bir in vitro model olarak kabul edilmiştir. Bazı lipitlerin ve yüzey aktif maddelerin veya bunların karışımlarının, Caco-2 tek tabakasında geçici ve geri dönüşümlü olarak hücreler arası sıkı bağlantıyı bozduğu ve böylece ilaç geçirgenliğini arttırdığı bildirilmiştir (103).

ME'ler oral uygulama için yaygın olarak kullanılır, ancak dermal ve transdermal ilaç dağıtımında da önemli faydalar sağlarlar, esas olarak yüksek çözündürme kapasiteleri ve penetrasyon arttırıcı etkileri nedeniyle ME'ler, birkaç antienflamatuar ve lokal anestezik ilacın verilmesi için yüksek derecede biyouyumlu topikal taşıyıcı sistemler olarak kabul edilir (31). Bu ürünler ya sıvı oral dozaj formları (yani süspansiyonlar) ya da katı oral dozaj formları (yani tabletler ve kapsüller) olarak geliştirilmiştir. Katı oral dozaj formları ile ilgili olarak, nanosüspansiyonların hazırlanmasından sonra bir katılaştırma adımı kullanılır (7). İlaç endüstrisinde daha az uygulanan sprey-dondurarak kurutma, aerosol akış reaktörü ve baskı gibi diğer teknikler de bunun için kullanılmıştır (7). Nanoemülsiyonlar/mikroemülsiyonlar, antibiyotikler, hormonlar, steroidler, sitotoksikler, diüretikler, antifungaller vb lipofilik ilaçların oral yoldan verilmesi için ideal araçlardır (43). Nanoemülsiyonlar/mikroemülsiyonlar, ilaçları kaplama kabiliyetleri ile, bunları hidrolitik enzimlere veya sert pH ve diğer çevre koşullarına karşı korumak için bir platform sağlarlar (43).

Organojelde hapsolması planlanmış nanoemülsiyonlar, etkin maddelerin oral biyoyararlanımını arttırmak için geliştirilmiştir. Antihipertansif olan kandesartan sileksetil (CC), ağızda biyoyararlanımını azaltan düşük sulu çözünürlüğü nedeniyle eksik bağırsak emilimi sergiler. Gao ve diğ. bu sorunu bertaraf etmek için oral olarak uygulanan bir Kandesartan sileksetil nanoemülsiyonu geliştirmek için Tween 80 ve Solutol® HS-15 kullanmışlardır. Geliştirilmiş nanoemülsiyon, Kandesartan sileksetilin pik plazma konsantrasyonunu 27 kat arttırırken, genel biyoyararlanım, düz ilaç süspansiyonuna kıyasla 10 kat arttmıştır. Biyoyararlanım artışından sorumlu mekanizma olarak lenfatik girişin ardından klatrin aracılı nanoemülsiyon endositozu tutulmuştur. Xiaoyang Li, homojenleştirme yoluyla bir Labrafac® CC, fosfolipid, SpanTM 80 ve Cremorphor® EL nanoemülsiyonunda kapsüllenmiş ve oral yoldan verilmek üzere kitosan aljinat ile kaplanmış insulin formülsyonu geliştirmiştir. Nanoemülsiyondaki polielektrolit

kaplama, mide ortamının sertliklerine dayanabilen sağlam bir ara faz sağlar. Kaplanmış nanoemülsiyondaki insülinin uygunluğu dairesel dikroizm kullanılarak belirlenmiştir. İn vivo testler, oral uygulama üzerine, insülin yüklü nanoemülsiyonun, subkutan olarak uygulanan düz insülin çözeltisinden önemli ölçüde daha büyük ve daha uzun hipoglisemik etki ürettiğini ortaya çıkarmıştır (43). NE lar/MEler ayrıca antifungal ilaçlar için yararlı vajinal uygulama sistemi olarak da etkili olduklarını kanıtlanmışlardır. Buna örnek olarak, ITZ'un tekrarlayan vajinal kandidiyazın potansiyel tedavisi olarak tee ağacı yağı (TTO) kullanılarak NE içine kapsüllenmesi gösterilebilir (19).

BCS'ye dayanan bu fizyolojik ve fizikokimyasal varyasyonlara rağmen, birkaç inceleme BCS sınıf I bileşikleri için oral ilaç biyoyararlanımı üzerinde gıda etkilerinin olmadığını belirtmiştir. Benzer şekilde, yüksek yağlı öğünlerin, çabuk salimli formülasyonlarda iyonize edilemeyen ve zayıf asidik BCS sınıf II ilaçların emilimine pozitif etkisi öngörülebilir görünmektedir. Bununla birlikte, modifiye edilmiş formülasyonları için BCS sınıf III ve IV ilaçları ile çeşitli parametrelerin etkileşimi daha karmaşık senaryolar verebilir. İn vivo modeller, bu türlerde bazı fizyolojik parametrelere ilişkin özellikleri akla getirmektedir (91).

2.12.2. Parenteral yoldan ilaç verilmesi

Parenteral nanoemülsiyonlar/mikroemülsiyonlar: Nanoemülsiyon/Mikroemülsiyon, nano boyutlu damlacıkları nedeniyle intravenöz uygulama için avantajlıdır. Ek olarak parenteral uygulama için hem O/W hem de W/O nanoemülsiyonu kullanılabilir. W/O nanoemülsiyonu, ilaçların parenteral yoldan verilmesi için geniş çapta araştırılmıştır (4).

Parenteral nanoemülsiyonların farklı uygulamaları vardır. Biyoyararlanımı daha düşük ve kısıtlı terapötik endeksleri olan ilaçları vermek için kullanılırlar. Diklofenakın O/W parenteral lipit nanoemülsiyonu artritik durumların tedavisi için araştırılmıştır. Ortalama 200 nm damlacık boyutuna sahip diklofenak içeren nanoemülsiyon, yüksek basınçlı homojenizasyon ve ultrasonikasyon ile hazırlanmıştır. İn vivo olarak diklofenak nanoemülsiyonun, dozun önemli ölçüde azaltılmasına izin veren sürekli ilaç salımı sağladığı gözlenmiştir (43).

Parenteral uygulama (yani, deri altı, kas içi, intravenöz (IV), intradermal ve intra-arteriyel enjeksiyon) yoluyla, ilaç doğrudan bir kan damarı, organ, doku veya lezyona uygulanabilir. Nanoterapötikler, ilaçların hedef hücrelere ve organlara seçici ve kontrollü bir şekilde verilmesi için büyük potansiyel taşır (7). Suda çözünür olmayan birkaç ilaç, IV, kas içi ve periton içi uygulama için kendiliğinden emülsifiye olan sistemler olarak formüle edilmişler (7).

2.12.3. Topikal

Topikal uygulamayla yönelik bazı ilaçların penetrasyonunu arttırmak zordur. Jeller, kremler, yamalar gibi topikal araçlarda zayıf dağılabilirlik ile sınırlıdır veya cilt tahriş edici etkiye sahiptirler. Nanoemülsiyonlar/Mikroemülsiyonlar, bu tür ilaçların topikal alımı için araştırılmıştır. Küçük ilaç rezervuarları olarak hareket ederek penetrasyon ve konsantrasyon gradyanını arttırmayı (lipit çift katmanlarını değiştirerek) bir arada sağlarlar. Örneğin mentol, metil salisilat ve kamfor içeren bir nanoemülsiyon (soya fasulyesi lesitin, tween ve poloksamerden yapılmış), yüksek enerji yöntemi ile hazırlandıktan sonra bir hidrojele dahil edilmiştir. Elde edilen formülasyonun yüksek geçirgenlik oranlarına sahip olduğu ispatlanmıştır. Sedef hastalığı ile mücadelede derin cilt iletimi sağlamak için paklitaksel içeren bir nanoemülsiyon değerlendirilmiştir. Topikal uygulamayı takiben organik çözücüler, zayıf etkili ilaçların cilde nüfuzunu arttırmak için kullanılır. Ancak bu çözücüler, cilt tahrişi, toksisite ve duyarlılık gibi cilt üzerinde bazı olumsuz etkilere neden olur (43). Bu olumsuz etkileri önlemek için, ilaç topikal organik çözücüler kullanılmadan O/W nanoemülsiyon içine hapsedilir. Ek olarak, O/W nanoemülsiyon, suda çözünmeyen topikal olarak aktif ilaçlar için yüksek çözünebilir kapasiteye izin verir ve ayrıca cilde mükemmel bir yumuşatıcı olan su taşınmasına yardımcı olur (4). Farmakokinetik çalışmalar, ilacın deriden sistemik uzaklaşma ile birlikte çok yüksek düzeyde kullanılabilir olduğunu ortaya koymuştur (43).

Topikal uygulamalarda NSAID'lerin (nanoemulsions as novel delivery system) yeni dağıtım sistemleri olarak mikro ve nanoemülsiyonların yüksek etkinliği yakın zamanda gözden geçirilmiştir. Örneğin, O / W ME'lere dayanan transdermal bir ketoprofen formülasyonu geliştirildi ve farklı terpenler olası permeasyon arttırıcılar olarak test edildi (31). NE/ME formülasyonları ayrıca lokal ilaç etkilerini en üst düzeye çıkarmak ve nefrotoksisite gibi sistemik toksisiteden kaçınmak için hedeflenmiş topikal antifungal ilaç verilmesine izin verebilir (10). Nanoemülsiyon cilde su (mükemmel bir yumuşatıcı) taşır ve deriden ilaç geçirgenliğini artırır. Bu nedenle nanoemülsiyon, ilacın transdermal yoldan verilmesi için kullanılabilir (4).

Topikal ilaç verme araçları (örn., Nanopartiküller ve nanofiberler) doğrudan hedeflenen bölgeye terapötik etki sağlayabilir ve istenmeyen sistemik yan etkileri potansiyel olarak azaltır. Nanopartiküllerin klinikte topikal kullanım için, örneğin çözelti/sıvı formülasyonlar, kuru formülasyonlar veya viskoz formülasyonlar (yani kremler, losyonlar, jeller, merhemler) olarak formüle edilebileceği çeşitli yollar vardır. Süspanse edici ortam ayrıca ilacın nanoparçacıklardan salınım kinetiklerini değiştirebilir (105).

Nanoemülsiyonlar/mikroemülsiyonlar kutanöz olarak kullanıldığında, küçük damlacık boyutlarının etkisiyle, ciltte eşit olarak yayılabilirler. Nano emülsiyonlar, aktif bileşenlerin cilt yoluyla verimli bir şekilde dağıtılması için uygundur. Emülsiyon sisteminin geniş yüzey alanı, tüm sistemin düşük yüzey gerilimi ve O / W damlacıklarının düşük arayüz gerilimi aktif maddelerin nüfuzunu arttırır. Küçük boyutlarından dolayı nano emülsiyonlar "pürüzlü" cilt yüzeyinden nüfuz edebilir ve bu da aktif maddelerin penetrasyonunu arttırır. Sistem, doğası gereği akışkandır (düşük yağ konsantrasyonlarında) ve herhangi bir kıvam artırıcının bulunmaması, preparata estetik bir karakter verdiğinden ciltte hoş bir his bırakır. Nano emülsiyonlar, birçok kişisel bakım ürününe dahil edilebilecek şekilde uygulanabilir. Bunlar, alkolsüz formüle edilmesi arzu edilen parfümlere de uygulanabilir. Nano emülsiyonlar, lipozomlar ve veziküllerin (çok daha az kararlı olan) yerine kullanılabilir ve bazı durumlarda nano emülsiyon damlacıklarının etrafına lameller sıvı kristal fazlar oluşturmak mümkündür (26). Kozmetik ürünlerde nano emülsiyonların potansiyeli nedeniyle, nano emülsiyon üzerindeki yağların, sürfaktanların ve su ile karışabilen çözücünün veya çözücü karışımının fiziko-kimyasal özelliklerinin ve büyüklük dağılımının rolünü anlamak için pek çok çalışma yapılmıştır (26).

2.12.4. Oküler ve pulmoner ilaç iletimi

Oküler ilaç verilmesi, enfeksiyonlar, inflamasyon, kuru göz sendromu, glokom ve retinopatiler gibi göz patolojileri için tercih edilen uygulama yoludur. Gözün karmaşık yapısı ve çok düşük oküler ilaç biyoyararlanımı (genellikle < % 5) nedeniyle bu tarz formülasyonlar bilim insanlarına zorluk çıkarmaktadır. Araştırmalar nanocarrier bazlı ilaç dağıtım sistemlerine odaklanmıştır, çünkü bunlar gözdeki biyolojik engellerin çoğunu aşabilir ve böylece oküler ilaç biyoyararlanımını arttırabilir (7). İstenilen biyoyararlanım ve hasta konforu, lipofilik ilacın O/W oküler nanoemülsiyonlara yüklenmesiyle elde edilebilir. Göze topikal olarak uygulanan ilaçlara örnek olarak; Piroksikam, pilokarpin, indometasin, siklosporin A sayılabilir (4). O/W nanoemülsiyonlarının oküler uygulamayla, su ile uyumsuz, çevreye duyarlı, zayıf absorbe edilmiş (trans kornea yoluyla) veya zayıf alıkonabilen ilaçlar verilmeye çalışılmıştır. Oftalmik uygulamalar için nanoemülsiyonların şeffaflığına, viskozitesine ve ışığı kıran indeksine özel olarak dikkat edilir. Oküler uygulamaya yönelik herhangi bir nanoemülsiyonun, tolere edilebilirliğini değerlendirmek için her zaman farklı dozlar titre edilmelidir. Antisens oligonükleotidler gibi çeşitli rahatsızlıklarda in vitro düzeyde büyük terapötik potansiyel sergileyen, ancak in vivo ortamdaki yatkınlığı ile sınırlı olan bazı ilaçlar, nanoemülsiyonlar yoluyla lokalize uygulama için iyi adaylardır (43).

Pulmoner yol, ilaç uygulamasının önemli bir yoludur. Pulmoner yol, aspergillozu tedavi etmek için Amfoterisin B'nin doğrudan akciğer iletimi için öngörülebilir. Bu hipotezi doğrulamak için Amfoterisin B, ticari olarak temin edilebilen iki nanoemülsiyona (Intralipid® veya Clinoleic®) sonike edildi. Pari Sprint jet nebülizör kullanılarak geliştirilen bir aerosol system tarafından verildiğinde, Amfoterisin B'nin nanoemülsiyonlarının akciğerde birikimi ve ilacın pulmoner tutulmasını arttırıldı. Ek olarak, ilk geçiş metabolizması ve sistemik kaçış da önlendi, bu da terapötik etkinliği daha da geliştirdi (43). Basınçlı aerosol sistemi kullanılarak pulmoner uygulama için Salbutamol ilacını içeren mikroemülsiyonların formülasyonu ve stabiliasyonu için Lesitin kullanılmıştır (4).

Akciğerlere ilaç verilmesi ile ilgili olarak, ilaç emilimi ve lokal biyoyararlanım, ilacın akciğer sıvılarında biriken ve çözünen fraksiyonuna bağlıdır. Parçacık akciğer yüzeyinde biriktiğinde, mukosiliyer temizlik ve ilaç emilimi, ilacın kaderini etkileyen iki rekabetçi mekanizmadır. Özellikle, mukosiliyer klirens, düşük çözünme oranlarına sahip ilaçlarda olduğu gibi, ilaç emiliminden daha hızlı meydana geldiğinde, biyoyararlanımında bir azalmaya yol açabilir. NP içeren formülasyonların, çözünme sınırlı emilim (örneğin beklometazon dipropionat, budesonid ve itrakozol) gibi zayıf suda çözünen ilaçların solunmasının ardından daha hızlı emilimi arttırdığı bulunmuştur. Nano süspansiyonlar, çözünme hızını arttırmak ve böylece astım ve diğer solunum hastalıklarına karşı suda çözünür olmayan ilaçların inhale kortikosteroidlerin emilimini arttırmak için bir formülasyon yaklaşımı olarak önerilmiştir (7).

2.12.5. Nazal Yol

Beynin hedef alınmasındaki en büyük engel, kan beyin bariyerinin (BBB) varlığıdır. Peptitler gibi hidrofilik ve yüksek molekül ağırlıklı moleküllerin girişini kısıtlar. Bununla birlikte, burun mukozasındaki koku alma damarı, burun ve beyin arasında doğrudan bir geçiş sağlar. Bu, beyin hedefleme için anti-Alzheimer, anti-parkinsonizm, anti-psikotik ilaçlarla dolu nanoemülsiyonlar kullanılmıştır. Bir antipsikotik olan risperidon, yoğun ilk geçiş metabolizması nedeniyle düşük biyoyararlanım gösterir. Bu, sayısız yan etki yaratan büyük dozların uygulanmasını gerektirir. Beyne etkili konsantrasyonlarda ulaşmak ve gereksiz yan etkilerden kaçınmak için nanoemülsiyon içeren bir strateji uygulanmıştır; İlk geçiş metabolizmasını önleyerek ve kan-beyin bariyeri naklini kolaylaştırarak biyoyararlanımı geliştirir (43). Nanoemülsiyonlar emilimi arttırır ve emülsiyon damlacıkları ile burun mukozası arasındaki temas süresini uzatır. İlacın nanoemülsiyondan nazal emilimi sulu süspansiyon ile karşılaştırılır. Nazal uygulama için formüle edilmiş ilaçlara örnek olarak insülin, testosteron ve rennin inhibitörü verilebilir (4).

2.13. Nanoemülsiyonlara Ticari ve Klinik Bakış

Ticari olarak temin edilebilen nanoemülsiyonlar/mikroemülsiyonlar ve bunlar üzerindeki klinik araştırmalar bu bölümde ele alınacaktır. Parenteral beslenme için nanoemülsiyonlar geliştirilmiştir. Parenteral nanoemülsiyonlarda bulunan yağ içeriği (soya fasulyesi yağı, yumurta fosfolipidleri, yer fıstığı yağı, gliserin, yağda çözünen vitaminler), kritik olarak yağda çözünen A, D2, E ve K1 vitaminlerinin günlük gereksinimlerini karşılamak için bir çözücü olduğu gibi ayrıca alternatif enerji kaynağı ve takviye görevi de görür. Örnek: Ağızdan yağ tüketemeyen hastalar için üretilen Fresenius Kabi tarafından geliştirilen Intralipid®, Vitalipid®. Deksametazon, alerjik bozuklukların tedavisinde kullanılan bir steroittir ve Mitsubishi Pharmaceuticals tarafından romatoid artrit yararına bir nanoemülsiyon (Limethasone®) olarak kullanıma sunulmuştur. Romatoid ve osteoartrit artritinde de steroidal olmayan bir analjezik olan flurbiprofen aksetil, nanoemülsiyon olarak da uygulanır. Kaken farmasötikler ve Green Cross tarafından iki rakip ürün (Ropion ve Lipfen) piyasaya sürülmüştür. Mitsubishi Pharmaceuticals tarafından Alprostadil taşıyan başka bir nanoemülsiyon, erektil disfonksiyonda intravenöz olarak, vazodilatasyon için kullanılmak üzere Liple® ticari ismi ile mevcuttur. Son derece kısa yarılanma ömrüne sahip bir kalsiyum kanal blokeri olan clevidipin nanoemülsiyon olarak verilmiştir (Medisin Kompany tarafından Cleviprex®). Clevidipin suda hemen hemen çözünmez, ancak soya fasulyesi yağı, yumurta fosfolipidleri ve gliserinle hazırlanan nanoemülsifikasyonu, sonsuz miktarda seyreltilebilen ve ilacın kısa yarı ömrüne rağmen yavaş yavaş infüzyon olarak verilebilen ultra ince sütlü bir dispersiyon oluşumuna olanak tanımıştır. Astra Zeneca, genel anesteziyi indüklemek için 10 mg / ml propofol içeren bir nanoemülsiyon olarak Diprivanı geliştirmiştir. Diazepam, Diazemuls ticari ismiyle (Kabipharmacia) intravenöz nanoemülsiyon yoluyla verilebilmektedir. Bir kozmetik şirketi olan Kemira ve TRI-K endüstrileri, çeşitli aktif bileşenleri barındırabilen bir NanoGel sistemi geliştirmiştir. NanoGel'in sadece aktif bileşiğin nüfuz edilebilirliğini arttırmakla kalmayıp aynı zamanda epidermal su kaybını en aza indirdiğini ve cildi daha uzun bir süre nemlendirdiği iddia edilmektedir (43).

Klinik çalışmalar, posaconazoldan yapılan tabletin biyoyararlanımını en üst düzeye çıkarmak için gıda alımına gerek kalmadan posakonazol emilimi açısından oral süspansiyondan daha iyi performans gösterdiğini ortaya koydu (15).

Klinik çalışmalar, PSC'un yüksek risk altındaki hastalarda invaziv mantar enfeksiyonlarına karşı profilaksi olarak etkili olduğunu ve ayrıca invaziv aspergilloz ve mukormikoza karşı tedavi edici olarak da yararlı olabileceğini göstermiştir (52). Bununla birlikte, yıllarca klinik olarak mevcut olan tek formülasyon olan oral süspansiyon ile uygulamayı takiben posakonazolün biyoyararlanımı oldukça değişkendir ve çeşitli faktörlerden olumsuz etkilenir.

Bu nedenle, oral süspansiyon kullanıldığında birçok hastada subterapötik veya saptanamayan posakonazol seviyeleri oluşturabilmektedir (52).

Henüz keşfedilmemiş mantar türlerin potansiyel klinik önemi 1995'ten beri bitkilerde, hayvanlarda ve insanlarda yapılan çalışma raporlarında vurgulanmakta ve yaklaşık 10 kat artışla devam etmektedir. Daha önce de insanlarda ciddi hastalıklarla ilişkili olmayan mantarların neden olduğu enfeksiyon salgınlarının yanı sıra insanlarda sistemik enfeksiyonlara neden olabilenler genellikle bunu mümkün kılan temel özelliklere sahiptir (örneğin, 37 ° C'de büyüme, konakçı bariyerlerine nüfuz etme veya atlatma, insan dokusunun bileşenlerini sindirme ve emme, konakçının bağışıklık tepkilerine dayanma) Ek olarak birçok mantar türü, konakçı özgünlüğü az olan patojenler olabilir ve hızlı adaptasyon ve evrime izin veren dinamik genomlara sahip olabilir. Bu nedenle, insan enfeksiyonlarının etiyolojik ajanları olan mantar türlerinin sayısı artmaya devam edecektir. Çoğu fırsatçı olan patojenik türlerin sayısı artmaya devam ettikçe, yeni sınıflandırmalar ve isimlendirmeler uygulanacaktır (53).

2.14. Nanoemülsiyonların Endüstriyel Ölçeklenebilirliği İçin Yol Haritası

Nanoemülsiyonlar veya mikroemülsiyonlar birkaç mililitreden birkaç litreye veya daha fazla büyütülürken, nanoemülsiyonların fizikokimyasal özelliklerinde (damlacık boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli vb.) sapmalar meydana gelir. Bunlar, önceden ayarlanmış işlem parametrelerindeki hataların yanlışlıkla çoğaltılması ve işlemi veya operatörlerin daha büyük hacimlere işlenmesinde yetersiz olması nedeniyle, toplama, birleşme, kremleme ve bazı aşırı durumlarda faz ters çevirme gibi istenmeyen özelliklerle düşük kaliteli bir nanoemülsiyon ile sonuçlanabilir. Mikro akışkanlaştırmada, boyut küçültmeyi belirleyen ana parametreler, etkileşim odasında sıvı karışımın homojenizasyonunun meydana geldiği basınç ve sıvı karışımın geçmesi gereken döngü veya geçiş sayısıdır. Daha az sayıda döngüde optimize edilmiş bir ürün elde etmek için, daha fazla enerji girişi gerektiren basıncın hafifletilmesi gerekirken, daha düşük basınçlarda (b10.000 psi) çalışma sayısı arttırılmalıdır. Bu da işlemin zaman alıcı olmasını sağlar. Döngü sayısı ve çalışma basıncı arasında bir dengeye ulaşılsa bile, önceden karıştırılmış kolloidal dispersiyona (genellikle rotor-stator kolloid değirmeni, piston boşluğu homojenizatörü tarafından elde edilir) ihtiyaç duyulabilmekte, bu da daha fazla yatırım gerektirebilmektedir (43).

2.15. Mikromülsiyonlarda/Nanoemülsiyonlarda Yapılan Ölçümler

2.15.1. Partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksinin belirlenmesi

Parçacıkların ölçümü ve parçacık boyutu dağılımı için dinamik ışık saçılımı (DLS) yöntemi kullanılır. Nanoemülsiyonların/mikroemülsiyonların ortalama damlacık büyüklüğü,

damlacıkların Brown hareketini ve daha büyük damlacıkların daha yavaş bir harekete sahip olması prensibine dayanarak damlacık büyüklüğü ile ilişkisini ölçen Nano Zetasizer kullanılarak dinamik ışık saçılması ile belirlenmiştir (85). Nanoemülsiyon/Mikroemülsiyonun stabilitesi de zeta potansiyeli ile gösterilir. Çünkü zeta potansiyeli, bir dispersiyondaki bitişik, benzer yüklü parçacıklar arasındaki elektrostatik itme derecesini gösterir. Yüksek zeta potansiyeli kararlılık sağlayacaktır. Malvern Nano-Zetasizer, seçilen nanoemülsiyon formülasyonlarının zeta potansiyelini belirlemek için kullanılır (4). Parçacık boyutu (z-ortalama çap) 25 ° C'de Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK) kullanılarak ışık saçarak ölçülmüş olan bir çalışmada, ortalama çap değerleri, üç tekrar için elde edilen sonuçların ortalaması olarak verilmiştir (44). Polidispersite endeksi (PDI) ölçümü ise formüle edilmiş nanoemülsiyon içindeki damlacık dağılımının homojenliği hakkında bilgi verir (3).

Parçacık boyutu dağılımı dinamik ışık saçılım aleti (Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments, Malvern, İngiltere) ile belirlenen bir başka çalışmada ise ölçümler, nm cinsinden lazer ışını kullanılarak, parçacıklardan gelen ışığın saçılma yoğunluğunun analiz edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Malzemenin kırılma indisi 1.47 dir ve emilim 0.001 olarak ayarlanmıştır. Her bir emülsiyon numunesinin ölçüm süresi, test numunesinin durumuna göre otomatik iken tespit sıcaklığı 25 ° C'de sabittir (100). Ölçülen miktar için, boyut büyüklüğü, çoklu dağılma indeksi ve yüzey yükü (zeta potansiyeli) belirlenmiştir. Polidispersite endeksi, dispersiyonun kalitesini veya homojenliğini gösterir (6). Polidispersite, standart sapmanın ortalama damlacık boyutuna oranıdır ve polidispersite daha yüksekse, formülasyondaki damlacık boyutunun homojenliği o kadar düşük olur (4).

NE'nin/ME'nın damlacık boyutu, ilacın sistemik emilimden ondan salınması için kritiktir. Damlacık boyutundaki artışın, formülasyondaki artan yağ konsantrasyonu ile ilişkili olduğu iyi bilinmektedir. Geleneksel olarak düşük polidispersite indeksi, sistemin daha fazla homojen olduğunu gösterir (8).

2.15.2. Zeta Potansiyel

Elektriksel özellikler: Emülsiyonların stabilitelerinde emülsifiye olan damlacıkların yüzey yükü ve zeta potansiyellerinin ölçülmesi önemli bir göstergedir; çünkü elektrostatik itme kuvvetinin flokülasyon ve koalesansın önlenmesinde anlamlı katkısı bulunmaktadır. Partiküller arasındaki elektriksel yükler flokülasyon hızını etkiler. Bu nedenle zeta potansiyel flokülasyonun değerlendirilmesinde önemlidir. Eğer instabilité koalesansa dayanıyor ise, partiküllerin yüzey yüklerinin saptanması raf ömrünün önceden hesaplanmasında yardımcı değildir (99). Zeta potansiyel, damlacıkların yüzeyindeki yükün işlevini açıklar (3). Zeta potansiyel, karakterize

edilebilecek bir parametredir, çünkü nanopartiküllerin hücreler ve proteinlerle etkileşimini ve fiziksel stabilitesini kontrol ederek, dağılım ve agregasyon durumlarını tahmin ederek doğrudan özelliklerin çıkarılmasına izin vermektedir (33). Emülsiyonların hazırlandıktan kısa bir süre sonra elektriksel iletkenliklerinin ölçülmesi stabilitelerinin değerlendirilmesinde önemli bir kanıttır. Y/S veya S/Y emülsiyonlarının elektriksel iletkenliği Pt (platin) elektrot ile tayin edilir. Elektriksel iletkenlik dispersiyonun derecesine bağlıdır. Küçük damlacıklardan oluşan Y/S emülsiyonlar düşük direnç gösterirler. Direnç arttıkça damlacıklar agregasyona uğrar (99).

Zeta (ζ) potansiyeli, hem biyodistribüsyonu hem de hücreler tarafından ilaç alımını etkiler. Kan, doku veya mukoza proteinleri ve hücresel zar ile etkileşimler yüke bağlıdır. Makrofajlar ve diğer hücreler negatif yüklü bir yüzey sergiler, bu nedenle katyonik NP'ler sıfır veya negatif yüklü NP'lerden daha iyi etkileşim sağlar. HIV enfeksiyonunda, enfekte olmuş hücreler pozitif yüklü proteinleri (viral protein gp120) eksprese ettiklerinden dolayı anyonik NP'ler daha iyi etkileşim sağlamaktadır. Z-potansiyeli antimikrobiyal etkiyi de etkiler. Hücre zarı ile NP etkileşimleri, geçirgenliğini ve sitoplazmik akışlarını değiştirerek patojenleri veya enfekte olmuş hücreleri öldürür. Ayrıca, mantar enfeksiyonlarında, katyonik NP'ler hücre yüzeyinin potansiyelini değiştirir, bu da mantar hücresi ölümüne neden olur (29). Zeta potansiyelinin ölçümü, dispersiyonun depolama stabilitesi hakkında bilgi verir. Genel olarak, yüklü parçacıkların elektrik itilmesinden dolayı meydana gelme olasılığı daha düşüktür (38). NE'lerde ilacın geçirgenliği, stabilitesi ve böylece formülasyonun etkinliğinin kolaylaştırılması zeta potansiyelle ilişkilendirilmiştir (8). Zeta potansiyeli, kolloidal dispersiyonlardaki elektro kinetik potansiyeli açıklamak için kullanılan terimdir (3). İyonik olmayan yüzey aktif madde (tween 20) gibi büyük molekül ağırlıklı yüzey aktif madde olması durumunda formülasyonlar için ek sterik stabilite sağlar (3). Formülasyon içindeki damlacık boyutunun homojenliği, polidispersite indeksi ile saptanır (4).

Nanoemülsiyon damlacık polaritesi de emülsifikasyon verimliliğini karakterize etmek için çok önemli bir faktördür. Yağ asitlerinin HLB, zincir uzunluğu ve doymamışlık derecesi, hidrofilik kısmın molekül ağırlığı ve emülsiyonlaştırıcının konsantrasyonu, yağ damlacıklarının polaritesi üzerinde bir etkiye sahiptir. Polarite, ilaç bileşiğinin yağ veya su için afinitesini ve oluşan kuvvet tipini temsil eder. İlacın sulu faza hızlı bir şekilde salınması polarite tarafından teşvik edilir. Nanoemülsiyonların yağ damlacıklarının yükü, değerlendirilmesi gereken başka bir özelliktir. Genellikle serbest yağ asitlerinin varlığı nedeniyle negatiftir; bununla birlikte, %1-3'lük bir konsantrasyon aralığında oleylamin gibi bir katyonik lipitin katılması katyonik nanoemülsiyonlar oluşturacaktır (6).

2.16. İlaç Salımı

Nanoteknoloji, besin öğelerinin, proteinlerin ve antioksidanların vücudun spesifik bölgelerine ve hücrelerine daha etkili ve verimli ulaşmasını sağlayarak etkinliği ve biyoyararlılığı arttırmaktadır. Bu yüzden nanoteknoloji, gıda ürünlerinin zenginleştirilmesine ve yeni ürün geliştirilmesine olanak sağlaması açısından umut vericidir (27).

Besin öğelerinin ince bağırsak yolu ile emiliminde 2 ana mekanizma vardır: Aktif ve pasif taşınım. Aktif taşınım, aktif bileşenlerin epitelyum hücrelerin yüzeyindeki özel kanallar ile alınmasıdır. Hücreler, besin öğelerini almak ve absorbe etmek için kendi enerjilerini kullanmaktadırlar. Pasif taşınım, epitel dokulara karşı basit bir difüzyon işlemidir (27). Hidrofobik bileşenlerin çoğu, bağırsaklardan kolaylıkla geçebilmektedir ve aktif veya pasif difüzyon kullanılarak taşınabilinmektedirler, hidrofilik maddeler ise düşük geçirgenliğe sahiptirler ve aktif taşınım ile absorbe edilmektedirler. Başlangıçta partikül boyutun azaltılması, çözünme hızının artmasına neden olmaktadır (27).

En önemli teknolojilerden biri, lipofilik ilaçların çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını arttırmak için uygulanabilen nanoemülsiyonlardır. Nanoemülsiyonlar, terapötik ajanların daha iyi verilmesini sağlamak için ilaç taşıyıcıları olarak kullanılan nano boyutlu emülsiyonlardır. Bu son derece gelişmiş teknoloji, kontrollü dağıtım ve hedefleme için biyolojik olarak aktif ajanların sistemik salımı için kullanılır. Bunlar 20 ila 200 nm arasında değişen emülsifiye yağ ve su sistemi içeren yeni ilaç verme sistemleridir (1).

Nanoemülsiyonlar, ilacın, biyolojik aktif bileşenin ve genetik materyalin sürekli veya kontrollü salımını sağlayan yeni ilaç verme sistemleridir (1). Nanoemülsiyon, farmasötik formülasyonlarda nanoteknoloji cihazı ile en yüksek ve değerli dozaj formlarından biridir. Nanoemülsiyonun çok küçük boyutlu damlacıkları daha iyi ilaç emilimini ve hedeflemeyi destekler (1). Sadece geleneksel emülsiyon sistemlerini iyileştirmekle kalmaz, aynı zamanda diğer ilaçların daha iyi biyoyararlanım ve minimum yan etkilere yol açan doğru dozlama ile daha hassas bir şekilde tasarlanması için yeni fırsatlar sunar (1).

Nanoteknoloji platformu ilaç salımı için kullanımı, hastalık tedavisinin birçok alanında tıbbın devrimi olmuştur (9). Damlacık büyüklüğü ilacın salımını etkileyen en önemli özelliktir. Farklı yüzey özelliklerine sahip çeşitli malzemelerden oluşan farklı boyutlardaki nanoparçacıkları daha küçük nanopartikül boyutlarına optimize edebilmek için farklı nano formülasyon stratejileri araştırılmıştır. İlacın salımı ve iletimini geliştirmek için lipit nanopartiküller, nanopartiküller ve nanoveziküler sistemler gibi nano iletim sistemleri incelenmiştir (106). Nanopartiküllerin, biyoteknoloji ilaçları için, oral biyoyararlanımın iyileştirilmesi ve ayrıca belirli bir GI bölgeye

kontrollü salımla gönderebilmek gibi bazı formülasyon avantajları vardır (107). Ayrıca nanoparçacıkların fizikokimyasal özelliklerinin kontrolü, mukozaya nüfuz edebilen ve epitelyuma ulaşabilen parçacıkların miktarı üzerinde büyük etkiye sahiptir (107).

Nanoteknoloji ilacın dozaj formundan çözünme hızının emilim ile ne ölçüde sınırlandığını değerlendirmek; zayıf çözünür bir ilacın midede mi yoksa ince bağırsağa girdikten sonra mı çökeceğini ve eğer öyleyse bunu nasıl tahmin edeceğinizi değerlendirme, üstesinden gelme ve en iyi formül stratejisini araştırmak için gereklidir. Emilim derecesinin belirlenmesinde ilaç özellikleri (çözünürlük, parçacık boyutu, çözünme, geçirgenlik) ve fizyolojik hususlar arasındaki etkileşimi ve seçilen dozaj formülasyonuna gıda alımının etkisi olup olmayacağını değerlendirmek için de önemlidir (108).

İlaç ürün performansını test etmek için daha sofistike yöntemlerin geliştirilmesini destekleyen diğer bir olgu da, Tasarımda Kalite (QbD) paradigmasına yönelik açık eğilimdir (108).

Son yıllarda, ilaç çözünürlüğünü, ilaç emilim oranlarını, ilaç hedefleme spesifisitesini arttırmak, sistemik ilaç toksisitesini düşürmek ve ilacın kimyasal ve enzimatik bozulmasından kaçınmak için çok sayıda mikropartiküllü sisteme (MMS) dayanan katı dozaj formu geliştirilmeye çalışılmıştır (12).

Bu mikropartiküller oral, nazal ve pulmoner yolla verilme gibi çok çeşitli uygulama yollarına göre ayarlanabilmektedir. Ek olarak, spreyle kurutulmuş dispersiyonlar, düşük suda çözünürlüğü olan çeşitli bileşiklerin oral biyoyararlanımını arttırmak için MMS teknolojisi olarak başarıyla kullanılmaktadır (12). NE'ler, ilacın daha yüksek bir konsantrasyon gradyanını destekleme kapasiteleri nedeniyle aktif moleküllerin penetrasyonunu artırabilir (95).

Araştırmacılar topikal ve transdermal uygulamalar için ilaç dağıtım sistemleri olarak nanoteknolojiyi, özellikle nanopartiküller ve nanofiberlerin kullanımını araştırmışlardır. Bu yaklaşım, formülasyondaki ilaç konsantrasyonunu arttırır, sonuç olarak az yan etkiyle ilaç etkisi artırılmış olur. Hem nanoparçacıklar hem de nanofiberler, hidrofobik ve hidrofilik ilaçların verilmesi için kullanılabilir ve uzun bir süre boyunca kontrollü salım yapabilir. Bu sistemler birlikte, birçok yaygın dermatolojik durumun tedavisini önemli ölçüde etkilemiş ve toplu olarak önemli ticari gelirler sağlamıştır (105). Dozaj formundan ilaç salımı, ilaç emilimi için gereklidir, çünkü bu, API'yi emilim için kullanılabilir hale getirecektir. İn vivo performansını iyileştirmek için yardımcı maddeler kullanılır, bu maddeler farklı mekanizmalarla, örneğin, çözündürme, çöktürme ve süper doygunluk yoluyla API'lerin çözünürlüğünü ve çözünmesini de geliştirebilir

(91). Nano emülsiyonlar tıp ve ilac alanında, diğer kolloidal sistemlere ilginç alternatifler sunar, ilaç etkinliğini arttırır ve kontrollü ve uygun ilaç salımı sağlar (42).

Son yıllarda araştırmacılar, artan ilaç yükleme seviyesi sağlayarak, oral biyoyararlanımı arttırma yetenekleri açısından daha basit ama gelişmiş performans özellikleri nedeniyle nanoemülsiyonlar ve kendi kendine emülsifiye edici / kendi kendine nanoemülsifiye edici ilaç dağıtım sistemleri (SEDDS / SNEDDS) üzerine yoğunlaşmıştır. Özellikle suda çözünür olmayan ilaçlar için denemeler yapılmaktadır. Nanoemülsiyonlar/Mikroemülsiyonlar, sudaki yağ damlacıklarının kinetik olarak kararlı ultra ince dağılımlarıdır ve damlacık boyutları genellikle 300 nm'nin altındadır. Bu sistemler, oluşumlarını sağlamak için yüzey aktif maddelerinin kullanılmasını gerektirir ve lipofilik ilaçları lipit fazı içinde çözündürür, böylece in vivo zayıf ilaç çözünmesi ile ilişkili emilim sorunlarının üstesinden gelebilir (102). Kendiliğinden emülsifiye edici formülasyonlar, nanoemülsiyonlardan/mikroemülsiyonlardan, önkonsantratlar halinde tatbik edilmeleri bakımından farklıdırlar. Fiziksel olarak stabildirler, izotropik yağlar, sürfaktanlar, kosürfaktanlar, çözücüler ve çözündürülmüş ilaç molekülleri karışımlarıdır (102).

GIT'in fizyolojik sıvıları içinde seyreltildiğinde, bu karışımlar kendiliğinden su içinde yağ emülsiyonları (yani SEDDS, damlacık büyüklüğü aralığı 100-250 nm) veya nanoemülsiyonlar (yani SNEDDS, damlacık büyüklüğü b50 nm) oluşturmak için kendiliğinden emülsifiye olur (102).

Bu gelişmiş uygulama sistemleri, (i) ilacın GIT boyunca çözündürülmüş veya önceden çözündürülmüş halde tutulması, böylece hız sınırlayıcı çözünme adımından kaçınmak dahil olmak üzere, bir dizi önerilen mekanizma yoluyla suda zayıf çözünen ilaçlar için oral biyoyararlanımı artırabilir, (ii) lipid sindirimini kolaylaştıran büyük bir arayüzey yüzey alanının oluşturulması ve absorbsiyondan önce ilaç moleküllerinin dahil edildiği çözünürleştirici koloidal türlerin oluşumunu ve (iii) P-glikoprotein (P-gp) çıkışının inhibisyonunu ve spesifik lipit eksipiyanlarının dahil edilmesiyle sitokrom P450 metabolizmasını sağlar. Ek olarak, kendi kendine emülsifiye edici formülasyonlar, ilaç emiliminde tokluk/açlık durum değişikliklerini ve buna bağlı olarak farmakokinetik olarak hastalar arası değişkenliği azaltma kapasitesine sahiptir. SEDDS / SNEDDS yaklaşımı, son on yılda düşük sulu çözünürlük sorunları nedeniyle zorlanan çeşitli terapötik ilaç sınıflarına yaygın olarak uygulanmaktadır (102).

Nanopartiküller (bazen nanokarterler olarak da adlandırılır), on yıldan uzun bir süredir çeşitli biyomedikal uygulamalar için araştırılmıştır. Genel olarak, nano boyutlu parçacıkların kullanımı, diğer ilaç verme sistemlerine göre çeşitli avantajlar sunar. Bunlar

- yüksek derecede hidrofobik ilaçların çözünürlüğünü arttırmak için kullanılmak,
- kapsüllenmiş ilaçların sürekli ve kontrollü salımını sağlamak,
- terapötik maddelerin stabilitesini kimyasal veya fiziksel yollarla arttırmak,
- Geliştirilmiş Geçirgenlik ve Geri Çekme (EPR) etkisi nedeniyle hedef bölgelerde daha yüksek ilaç konsantrasyonları sağlamak,
- hücreye özgü ligandlarla modifiye edilerek hedeflenmiş tedaviler sağlamakdır (91).

Topikal veya transdermal ilaç iletimi için en yaygın olarak kullanılan nanopartiküller, polimerik nanopartiküller, nano emülsiyonlar, lipit bazlı nanopartiküller (lipozomlar ve katı lipid nanopartiküller), metal nanopartiküller ve dendrimerlerdir (105).

Domuz, köpek, sıçan, fare ve insanlarda dozaj formu ile ilgili preklinik modeldeki in vivo performansla ilişkili biyofarmasötik faktörler, yani GI-motilite, GI-geçiş, mekanik stress, gıda etkisi, enzimatik ve pH değişikliklerinin sadece API'da değil, aynı zamanda eksipiyanların, salım profilinin ve çeşitli GI segmentlerde emilimin ilaç metabolizması ve taşınması üzerindeki doğrudan etkisi hala yeterince anlaşılamamıştır. Bu faktörlerin çoğunun biyofarmasötik sınıflandırma sistemi (BCS) sınıf I ilaçlarının formülasyonları üzerinde çok az etkisi vardır veya hiç etkisi yoktur, ancak in vivo performansları büyük ölçüde bu özelliklerine bağlı olduğu için BCS sınıf II, III ve IV için daha büyük etkiye sahiptir. Bu nedenle, hedeflenen, tasarlanmış farmasötik ürünler için dozaj formu tipinin, farmasötik eksipiyanların kimliği ve miktarı, bileşimi, üretim süreci ve kalite süreç parametrelerinin tanımlanması ve optimize edilmesi gerektiği açıktır. Tasarıma göre kalite (QbD) yaklaşımları, üretilen ürünün uygun bir tasarım alanına dayanarak önceden tanımlanmış biyoperformansını sağlamak için hammadde özellikleri, üretim süreci ve proses koşulları için bir tasarım alanının tanımlanmasını gerektirir (91). NE formülasyonları ayrıca lokal ilaç etkilerini en üst düzeye çıkarmak ve nefrotoksisite gibi sistemik toksisiteden kaçınmak için hedeflenmiş topikal antifungal ilaç verilmesine izin verebilir (10).

Ancak pH, hidrofilik / hidrofobik denge, iyonik güç veya spesifik moleküllerin varlığı gibi fizyolojik koşullar gözönünde tutulmalıdır. Orta pH, hızlı veya çok yavaş ortaya çıkabilen salım kinetiğini değiştirebilir, böylece ilacı istenmeyen koşullarda bozulmaya karşı korur. Aksine, sadece hafif asitli ortamlarda, hidrofilik / hidrofobik denge nedeniyle NP'ler yok edilebilir ve ilacın tamamı salınır. Benzer şekilde, iyonize edilebilir polimerler iyonik güçteki değişikliklere bağlı olarak boyutlarını, çözünürlüklerini ve fluoresanslarını değiştirebilir (29). API'nın çözünürlüğü, emilimi, metabolizması ve eğilim özellikleri gibi ek faktörler devreye girer ve PK ve PD yanıtlarının değişkenliğini belirleyebilir (91).

İlaç metabolize edici enzimlerin ve taşıyıcıların modülasyonu, farklı emilim, dağılım ve eliminasyon özellikleri ile sonuçlanır (91). NE formülasyonlarının, ilaç oral biyoyararlanımının arttırılmasında da faydalı olduğu bulunmuştur (10).

Etkileşen gastrointestinal süreçlerin oral alımdan sonra ilaç davranışını nasıl etkilediğini anlamak son derece zordur. Bununla birlikte, dağılma, çözünme, çöktürme ve nüfuz etme arasındaki etkileşim hakkında bilgi toplamak, ilaç geliştirmenin tüm aşamalarında oral ilaç ürünlerinin in vivo performansının daha iyi tahmini için ve in vitro modellerin biyolojik değerini optimize etmek için önemlidir. PSC'un düşük performans tahmini özellikle düşük sulu çözünürlük nedeniyle bağırsak emilimi için zayıf bir içsel potansiyele sahip BSC sınıf II/IV bileşikleri için geçerlidir, çünkü emilimi sağlayan formülasyonların gastrointestinal davranışı genellikle yeterli seviyede karakterize edilememiştir (15).

İlacın çözünme oranının artması sırasında ilacın gastrointestinal sıvılardaki termodinamik çözünürlüğünü (süper doygunluk) aşan intralüminal konsantrasyonlardan faydalanılır bu da bağırsak emilimi ve artan oral biyoyararlanımı için daha yüksek bir itici güç sağlar. Süper doygunluk absorbsiyon için uygun olsa da, çökeltme işleminin faydalarını sınırlayabilir (15). Posakonazol absorbsiyonu, (i) gastrik pH ve gastrik çözünme derecesine ve (ii) mideden transfer edildikten sonra duodenal çökeltmeye bağlı olarak sınırlanabilmektedir (15)

PSC'nin ana eliminasyon yolu fekaldir (16). Her ne kadar moleküler olarak dağılmış posakonazolün bağırsak emilimini arttırmak için gastrointestinal sistem boyunca süper doygunluk durumu oluşmasına rağmen, fizyolojik değişkenlerin oral alımdan sonra GI yol boyunca buradaki konsantrasyonlarını nasıl belirleyeceği veya etkileyeceği hala tartışmalıdır (15).

İlaç metabolitleri, özellikle tedaviye müdahale edilmesi durumunda, kendilerinin bir etki yaratması ve karşılık gelen metabolik profili etkilemesi veya toksisite ile ilgili olabilecek durumlarda rolü gereği ilgi konusu haline gelmektedir. PSC için TDM kullanımı şu anda tartışmalıdır. Geliştirilmiş biyoyararlanım ile yeni formülasyonların (gecikmeli salımlı oral tabletler veya IV formülasyonları) gelişmesi için çoğu uzman, etkili PSC profilaksisi veya tedavisi önermesine rağmen, TDM'nin rolünün yeniden değerlendirilmesini gerekli görmektedir (21).

Ayrıca, çeşitli çalışmalar metabolitlerin ana ilacın metabolizmasında yer alan enzimatik sistemlerin aktivitesini etkileyebileceğini göstermiştir. Son zamanlarda yapılan çok sayıda çalışma, azollerin etkinliğinin ve toleransının TDM yoluyla artırılabileceğini düşündürmektedir.

Antifungallerin ve metabolitlerinin kan konsantrasyonlarının ölçülmesi, bu tür tedavinin etkinliğini artırmak ve metabolizması bozuk olan hastaların hızlı bir şekilde tanımlanması için kullanılabilir (21). Bununla birlikte, aynı çalışmada ilaç metabolitlerinin ölçülmesi, diğer bileşiklerin yapışmazlık, zayıf metabolizasyon ve metabolik etkileşimin bir göstergesi olan düşük metabolit konsantrasyonlarının belirlenmesine yardımcı olabilir (21).

Nanospongelar, topikal uygulama, polimerler, hedeflenmiş ilaç dağıtımı, kontrollü ilaç dağıtımında önemli etkiler sağlamaktadır. Belirli bölgelere hedeflenmiş ilaç dağıtımı, araştırmacılar tarafından karşılaşılan önemli bir sorundur. Nanosponj adı verilen yeni kolloidal taşıyıcının geliştirilmesi bu problemleri çözme potansiyeline sahiptir. Çözünürlüğü ve biyoyararlanımı artırır, yan etkileri azaltır ve ilaç salımını değiştirebilir. İlacın hedeflenen bölgeye gönderilmesi uzun süredir tıbbi araştırmacılar için bir sorun olmuştur. İlacın vücutta doğru yere nasıl getirileceği ve aşırı dozlamayı önlemek için ilacın salımının nasıl kontrol edileceği sürekli araştırılmaktadır (21).

2.17. İn Vitro İlaç Salım Çalışması

Yağın emülsiyondan ilaın salımı üzerindeki etkisini araştırmak için in vitro ilaç salımı çalışması yapılan bir çalışmada, emülsiyon, Cellophane® membrana ilave edilmiş ve reseptör sıvısı olarak bir PBS kullanılmıştır. Reseptör sıvısı 1, 2, 4, 6 ve 8. saatlerde 1-1,5 mL olacak şekilde örneklenmiş ve eşit hacimde taze ortam ilave edilmiştir. Numuneler, HPLC ile analiz edilmiştir (109).

Nanoemülsiyonların preparasyon kolaylığı, biyouyumlu eksipiyanlar kullanılabilmesi, küçük boyutları olması (<200 nm), arttırılmış çözünürlükle çözünme hızını geliştirebilme gibi belirgin avantajları vardır ayrıca mukozal geçirgenliği arttırdıkları da bulunmuştur. Bu durum, yağ damlacıklarının etkili bir şekilde emilmesini garanti eder (110).

Emülsiyondan ilaç salımını etkileyen faktörler, emülsiyonların damlacık boyutu, morfolojisi ve viskozitesidir. Genellikle, emülsiyonun kendisi kontrollü bir salım sistemidir, ilacın iç faza hapsedilmesi, daha sonra dış fazdan deri yüzeyine yayılması ve yavaşça emilmesi şeklinde etki gösterir. İç fazlar bir ilaç deposu görevi görür. İlaç verme sürecinde ilaç-matris etkileşimi, ilaç salım sürecini etkileyen en önemli faktörlerden biri olarak kabul edilmekle birlikte ve cildin stratum corneum tabakası da, ilacın cilde emiliminin ve sistemik dolaşımın ana bariyeri olmuştur (109). Emülsiyon düşük oranda yağ içermesine rağmen, yağın ilaç salımı üzerindeki etkisi göz ardı edilemez. Ayrıca, ilaç ve eksipiyan arasındaki molekül etkileşimi, ilaç verme sürecinde önemli rol oynamaktadır. Sonuç olarak, bu konuda çözülmesi gereken iki ana konu

vardır: İlacın deriye penetrasyonu ve moleküler etkileşimin ilaç salım davranışı üzerindeki etkisi (109).

Tüm NE'lerin, süspansiyonlara kıyasla daha iyi ilaç salımı gösterdiği belirtilmiştir (8). Bu bulgu, formüle edilmiş NE'nin daha küçük yağ damlacık boyutuna atfedilebilir, böylece daha büyük yüzey alanı sağlanır (8). Daha önce selofan membran ile kaplanmış 8 cm'lik etkili bir uzunluğa sahip 2.5 cm çapında cam tüp, in vitro salım oranını belirlemek için kullanılır. Ölçülen miktarda nanoemülsiyon, 100 ml fosfat tamponu salin pH 7.4'e yerleştirilen silindire yerleştirilir. Bu fosfat tamponu salin reseptör bölmesi görevi görür. Reseptör ortamının sıcaklığı, 37 ± 1 ° C'de tutulur ve manyetik karıştırıcı kullanılarak 100 rpm hızında çalkalanır. Belirlenen örnek alma aralıklarında rapor edilen numune miktarı çekilir ve yerine aynı hacimde taze numune eklenir (4).

2.18. İn vitro İn vivo Korelasyon

IVIVC geleneksel olarak in vitro çözünme ile in vivo maruziyet arasında, ya tüm absorpsiyon eğrisini (Seviye A) ya da emilim hızı ve derecesi (Seviye C korelasyonlarında olduğu gibi) ile ilişkili bireysel bir parametreyi kapsayan tahmini matematiksel ilişki olarak tanımlanır (91). DCS, Sınıf II adaylarını iki türe ayırır: Sınıf IIa, oral biyoyararlanımları açısından çözünme hızı ile sınırlı olan bileşikler ve Sınıf IIb, çözünürlükle sınırlı olan bileşikler. Bu fark Noyes-Whitney denklemi dikkate alınarak değerlendirilebilir (91):

$dC/dt = DA/Vh\ (C_s - C_t)$

burada dC / dt çözünme hızı, A ilacın yüzey alanı, D ilacın difüzyon katsayısı, V sistem hacmi,

h, ilacı ve dökme ortamı ayıran, sulandırılmamış su tabakasının kalınlığıdır,

Cs, ilacın doyma çözünürlüğüdür ve Ct, ilacın t zamandaki konsantrasyonudur.

Bir formülasyonda, partikül ebadının küçültülmesi veya ıslanabilirliğin arttırılması (yani A'nın arttırılması veya h'nin azaltılması) oral biyoyararlanımın artmasına neden oluyorsa, bu gibi API'lerin çözünme hızı sınırlı olduğu düşünülebilir. Bu manipülasyonlar çözünme hızını veya oral biyoyararlanımı etkilemezse, sistemin çözünürlüğü sınırlı olarak kabul edilebilir. Bu son durum, ya ilaç formunun ilaç emilimini arttırmak için değiştirilmesi gerektiğini (yani, API'nın kimyasal potansiyeli arttırılması gerektiğini) ya da çözünmüş durumda ilacın kimyasal potansiyelini azaltmak için katkı maddelerinin dahil edilmesi gerektiğine işaret eder (91). W/O mikroemülsiyonları kullanılarak biyoyararlanımı geliştirebilmek için, in vitro fiziksel agregasyon ve in vivo enzimatik inaktivasyon özellikleri dikkate alınmalıdır (42).

2.19. Diyaliz Membran

Diyaliz membranının sıcaklığı, karıştırma hızı, membran malzemesi, salım ortamı etken maddenin geçişinde etkilidir (111). NE formülasyonunun lipofilik doğasına ek olarak partikül boyutunun azalması nedeniyle yüksek yüzey alanı, biyolojik membranlar arasında ilaç geçirgenliğini geliştirerek daha iyi ilaç etkinliği sağlamaktadır (10).

2.20. Yarı Katı Nanoemülsifiye Edici İlaç Taşıyıcı Sistemler

Yarı katı nanoemülsifiye edici ilaç verme sistemlerinin (SNEDDS'ler), suda çözünür olmayan bazı ilaçların çeşitli ortamlarda çözünürlüğünü arttırdığı gösterilmiştir. Ancak yarı katı SMEDDS'ler şu ana kadar araştırılmamıştır. Yarı katı kendiliğinden dağılan sistemler nadiren araştırılmasına rağmen, sulu ortamın dağılabilirliği ve sulu ortam içinde vücut sıcaklığında oluşturulan bir koloidal taşıyıcı içindeki kapsüllenmiş ilacın moleküler hareketliliği çok zorlayıcı yönler içermektedir. Son çalışmalar, yeterli ilaç çözünürlüğü kapasitesi için SMEDDS'lerin hidrofilikliğinin (yani sürfaktan, kosurfaktan ve hidrofilik kosolventlerin tipi ve konsantrasyonu) dikkatli bir şekilde optimize edilmesinin önemini göstermektedir. Zayıf çözünen ilaç maddelerinin muhtevası arttırılmış, kendi kendine dağılan formülasyonların tasarımı için hidrofilik polimerlerin kullanılması önerilmişti. Makrogoller (polietilen glikoller, PEG'ler), farmasötik formülasyonlarda çözücü, plastikleştirici ve nemlendirici özellikleriyle yaygın olarak kullanılan toksik ve tahriş edici olmayan hidrofilik eksipiyanlardır. Katı dispersiyonlar yaparak zayıf çözünür bileşiklerin sulu çözünürlük veya çözünme karakteristiklerini arttırmak için kullanılabilirler. Sıvı ve yarı katı SMEDDS'ler, katı dozaj formlarına kıyasla klinik ve ticari uygulamalar için genellikle daha az uygun farmasötik dozaj formlarıdır. SMEDD'ler, ilaç maddesini çözündürmek için yeterli kapasiteye sahip asidik ve alkali sulu ortamlarda (0.1 M HC1 ve fosfat tamponu pH 7.2) seyreltildikten sonra mikroemülsiyon taşıyıcıların hızlı bir şekilde oluşmasını sağlamaktadırlar (112).

Karşılık gelen sıvı formülasyonlardan yarı katı kendi kendine dağılan sistemlerin geliştirilmesi, hem yarı katıların hem de kendi kendine dağılan sistemlerin faydalarını birleştirmeyi amaçlayan yeni bir formülasyon yaklaşımını temsil edebilir (112). Genellikle, yarı katı farmasötik formülasyonlar, askıya alınmış ilaçların daha yüksek stabilitesine, sıvılara kıyasla daha iyi muamele ve kontrollü ilaç salımına neden olabilir (112). Ayrıca, son zamanlarda yapılan iki çalışma, yarı katı nanoemülsifiye edici ilaç verme sistemlerinin (SNEDDS'ler), suda çözünür olmayan bir ilaç olan progesteronunun çeşitli ortamlarda çözünürlüğünü arttırdığını göstermiştir (112).

Son çalışmalar, yeterli ilaç çözünürlüğü kapasitesi için SMEDDS'lerin hidrofilikliğinin (yani sürfaktan, kosurfaktan ve hidrofilik kosolventlerin tipi ve konsantrasyonu) dikkatli bir şekilde

optimize edilmesinin önemini göstermektedirler (112). Sıvı ve yarı katı SMEDDS'ler, katı dozaj formlarına kıyasla klinik ve ticari uygulamalar için genellikle daha az uygun farmasötik dozaj formlarıdır (112).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Oleik asit (Sigma-Aldrich)

Labrasol (Gattefosse)

Transcutol P (Yüksek saflıkta dietilen glikol monoetil eter) (Gattefosse)
PEG 200 (Polietilen glikol 200) (Merck KGaA)
PEG 400 (Polietilen glikol 400) (Merck KGaA ve Sigma-Aldrich)
PEG 600 (polietilen glikol 600) (Merck KGaA)
Propanediol-1,2 V.P. (Propilen glikol) (Chem-Lab NV)
İsopropil miristat (Merck)
Kolliphor RH 40 (Cremophor RH 40 Makrogol-gliserol hidroksistearat) (BASF)
Kolliphor EL (Cremophor EL Makrogol-gliserol risinoleat) (BASF)
Tween 20 (Polietilen glikol sorbitan monolaurat) (Sigma-Aldrich)
Tween 80 (Polietilen glikol sorbitan monooleat) (Sigma-Aldrich)(
Capryol 90 (Propilen glikol monokaprilat Tip II NF) (Gattefosse)
Lauroglycol FCC (Propilen glikol monolaurat Tip I EP/NF) (Gattefosse)
Labrafac PG (Propilen glikol dikaprilokaprat EP) (Gattefosse)
Labrafil M 2125 (Gattefosse)
Plurol oleique CC 497 (Poligliseril-3oleat) (Gattefosse)
Gelucire 44/14 (Gattefosse)
Labrafac Lipophile WL 1349 (Gattefosse)
Labrafac PG (Gattefosse)
Sıvı parafin (Tuda Petrol)
Metanol (Merck, Almanya)
Hidroklorik Asit (HCL) (Tekim, Türkiye)
Fosforik Asit (H_3PO_4)
Posakonazol (MSN Laboratories, Hindistan)
Sodyum Klorür (Merck, Almanya)
Sodyum Bikarbonat (Merck, Almanya)
Kalsiyum Klorür Dihidrat (Merck, Almany)
Sodyum Fosfat Dibazik (Merck, Almanya)

Ultra Saf Su

Sodyum Fosfat Monobazik (Merck, Almanya)

Sodyum Lauril Sülfat (Merck, Almanya)

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Damılacık büyüklüğü ve dağılımı ile Zeta potansiyeli ölçüm cihazı (Malvern Zetasizer-Nano ZS UK)
UV Spektrofotometre (Shimadzu UV 1700)
ATR-FTIR Spektroskopisi (Perkin Elmer ZnSe Spectrum One, ABD)
Hassas Terazi (Denver Instruments, TB Series)
Santrifüj (Hettich, D-7200, Type 2041)
Orbital Karıştırıcı (Thermo Electron Corporatıon, Model 420 ve Heidolph UNİMAX 2010)
Etüv (BINDER)
Manyetik karıştırıcı (IKA – Werke, RT 15, Almanya)
pH metre (Oakton Eutech Instruments Bench 2700)
Mekanik Karıştırıcı (Heidolp RZR 20151 Control)
Distile Su Cihazı (Elga, Pure Lab Option DV 25)
Stabilite Test Kabini (TK 120 – Nüve, Türkiye)
HPLC (Shimadzu, Japonya)
Erime Derecesi Tayin Cihazı (Büchi, Almanya)
Mikropipetler 100-1000 µl ve 10-200 µl (Eppendorf)
Hidrofilik PVDF 0.45 µm –Merck Durapore, Almanya
Asetat Nitrit Membran (Sartorius, Almanya)
Selüloz Asetat Membran (Sartorius, Almanya)
PTFE 0,45 µm filtre (Sartorius, Almanya)
RC 0,45 µm filtre (Sartorius, Almanya)

3.1.3. Kullanılan Malzemeler

Tek Kullanımlık Küvet
Zeta Potensiel Küvveti (Folded Capillary Cell)
Mikropipet Uçları
Cam Malzeme (Beher, Erlen, Cam Şişe, Balon Joje, Pipet)
Eppendorf Tüpleri (1.5 mL ve 2 mL)
Spatül (İnce ve Kalın Uçlu)
Plastik Tüp ve Kapakları (15 mL)

Damlalık ve Puar

3.1.4. Kullanılan Bilgisayar Programları

Microsoft Excel 2013

Microsoft Word 2013

Microsoft Power Point 2013

3.1.5. Kullanılan Ticari Preparat

Noxafil (Noxafil® 40 mg/mL PSC içeren oral suspension) (© Merck Sharp & Dohme Limited, 2019. All rights reserved. SPC.NOX.OS.19.UK.7003.II-0058)

3.2. Yöntemler

3.2.1. Posakonazol Üzerinde Yapılan Çalışmalar

3.2.1.1. Erime Derecesinin Tayini

Bir maddenin katı veya toz halinde ısı alarak sıvı hale geçtiği sıcaklığa erime sıcaklığı (erime derecesi) denir.

Toz halindeki PSC Buchi Melting Point B-540 cihazı kullanarak kılcal tüp içine konuldu ve erime derecesi belirlendi.

3.2.1.2. FTIR Spektrumu

Infrared spektroskopisi (FTIR spektroskopisi) bir analitik metod olarak organik, polimerik hatta bazı zamanlar organik olmayan maddelerin tanımında kullanılan bir tekniktir. FTIR analizinde kızıl ötesi ışık kullanılarak taramalar yapılır. Böylece maddenin kimyasal özellikleri tanımlanır. FTIR kızıl ötesi sinyali frekanslarına ayırır ve bu frekansların şiddetini gösterir.

Toz halinde PSC 400-4000 cm^{-1} dalğa boyu aralığında Perkin Elmer Inc.Spectrum 100 FTIR spektrometer cihazında yerleştirildi ve cihaz absorbsiyon modunda çalıştırılarak değerler alındı.

3.2.1.3. UV Spektrofotometrede Miktar Tayini

UV Spektrofotometri yöntemi miktar tayini yapılabilmesinin hızlı, kolay, hassas ve güvenilir metodlarından bir tanesidir. Çalışma boyunca, PSC'nin gereken durumlarda miktar tayini amacıyla kullanılan analitik yöntemlerden bir tanesi de UV spektrofotometri yöntemi olmuştur.

Analitik yöntemin validasyonu, bir test yönteminin kesin ve doğru bir şekilde sürekli olarak bekleneni gerçekleştirmesinin ispatıdır. Kullanılan analitik yöntemin validasyonu için doğrusallık (linearity), gerikazanım (accuracy), kesinlik (precision), seçicilik (specificity), teşhis limiti (detection limit), miktar tayini limiti (quantification limit) ve stabilite parametreleri çalışıldı.

UV Spektrofotometrede Posakonazolun λ_{max} Belirlenmesi: Spektrofotometrede dalga boyunu belirlemek için kalibrasyon eğrisini çizilmiştir. Kalibrasyon eğrisi maddenin konsantrasyonu ve spektrofotometrede okunan absorbansla arasındaki ilişkiyi gösterir. Bunun için PSC'un %96 etanolde 100 mikromolar çözeltisi hazırlanıp absorbansı okunmuş ve o absorbanslardan hareketle standart doğru denklemi ve korelasyon katsayısı (R^2) değerleri belirlenmiştir. λmax'ın belirlenmesi için öncelikle posakonazolün 10^{-1}molar konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlandı. Bunun için 0,3504 gr PSC tartıldı ve üzerine 5 ml %96 etanol eklendi.

PSC'un molkül ağırlığı = 700,8 g/mol

10^{-1} mol × X /0,005 » X = 0,3504 g

Daha sonra bu stok çözeltiden belirli hacimlerde alınıp seyreltilerek 10^{-2}molar ve 10^{-4}molar olmak üzere iki konsantrasyonda standart çözeltiler hazırlandı.

UV Spektrofotometrede 10^{-4} molar çözeltiden alındı ve absorbans 262 nm olarak okundu. Böylece PSC' un λ_{max} = 262 nm olarak belirlendi.

Doğrusallık (Linearite): Bir analitik yöntemde elde edilen bulguların örnek çözeltisi içindeki madde konsatrasyonu ile belirli bir aralıkta olması yöntemin doğrusallığı olarak tanımlanmaktadır. Doğrusallık çalışması için 10^{-4}molar konsnatrasyondaki PSC çözeltisi stok çözeltisi olarak kullanıldı.

Daha sonra bu stok çözeltiden seri seyreltmeler yapılarak 25, 50, 100, 250, 300 ve 400 µl alındı % 96 etanole 5 ml ´ye seyreltildi, 262 nm de absorbansları okundu. Ede edilen tüm absorbans değerleri değerlendirerek kalibrasyon eğrisi çizildi ve eğri üzerinden doğru denklemi, determinasyon katsayısı (R^2 = 0,9943) hesapland

3.2.1.4. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini

HPLC yöntemi miktar tayini yapılabilmesinin hızlı, kolay, hassas ve güvenilir metodlarından bir tanesidir. Çalışma boyunca, PSC'nin gereken durumlarda miktar tayini amacıyla kullanılan analitik yöntemlerden bir diğeri de UV spektrofotometri yöntemi olmuştur. Uygulanan HPLC metodu Durgun ve arkadaşlarının kullandığı HPLC yöntemi ile birebir aynıdır (DOI: 10.2174/138161282666620031317220 7). Bu metodda mobil faz olarak Metanol:Su (90:10) ve C18 (Inertsil ODS-3 5 mikrometre 4.6 x 260 mm) kolon kullanılmıştır. Akış hızı 1 $ml.dk^{-1}$ ve enjeksiyon hacmi 20 µl'dir.

Yöntemin güvenilirliğini belirlemek için ICH Analitik Prosedürlerin Değerlendirilmesi: Metin ve Metodoloji Q2(R1) rehberi doğrultusunda analitik yöntem validasyonu çalışması yapılmıştır.

Analitik yöntem validasyonu için incelenen parametreler aşağıda yer almaktadır:

- Doğrusallık (linearity)
- Doğruluk (accuracy)
- Kesinlik (precision)
- Seçicilik (specifity)
- Duyarlılık (sensitivity)
- Stabilite (stability) (etkin maddenin teşhis ve tayin aşamasında)

Doğrusallık (linearity): PSC'nin HPLC ile miktar tayini yönteminin doğrusallığı çalışması için 10,0 mg PSC hassas tartılmış, 20 ml mobil faz ilave edilerek 2 dk ultrasonik banyoda bırakıldıktan sonra aynı çözücü ile konsantrasyonu 50 µg/ml olacak şekilde 200 ml'ye

tamamlanmıştır. Bu stok çözeltiden 10 ml alınıp mobil faz ile 100 ml'ye seyreltilerek 5 µg / ml konsantrasyonlu 1. ara stok çözeltisi hazırlanmıştır. 1. ara stok çözeltisinden 10 ml alınıp mobil faz ile 100 ml'ye seyreltilerek 0,5 µg / ml konsantrasyonlu 2. ara stok çözeltisi hazırlanmıştır. Elde edilen stok ve ara stok çözeltilerinden belirli miktarlarda alınarak 10 ml'ye mobil faz ile tamamlanmıştır. Hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki PSC çözelti bilgileri aşağıda Tablo 3-2'de verilmiştir.

Tablo 3-1: HPLC validasyon çalışmaları için hazırlanan çözelti konsantrasyonları ve kullanılan stok çözelti miktarları

Kullanılan Stok Çözelti Konsantrasyonu	Alınan Hacim	Tamamlandığı Hacim	Elde Edilen Çözelti Konsantrasyon
Ana stok çözelti (50 µg / ml)	8 ml	10 ml	40 µg / ml
	4 ml	10 ml	20 µg / ml
	2 ml	10 ml	10 µg / ml
	1,4 ml	10 ml	7 µg / ml
	10 ml	100 ml	5 µg / ml (1. ara stok çözelti)
1. ara stok çözelti (5 µg / ml)	4 ml	10 ml	2 µg / ml
	2 ml	10 ml	1 µg / ml
	1,4 ml	10 ml	0,7 µg / ml
	0,1 ml	100 ml	0,5 µg / ml (2. ara stok çözelti)
2. ara stok çözelti (0,5 µg / ml)	5 ml	10 ml	0,25 µg / ml
	4 ml	10 ml	0,2 µg / ml
	3 ml	10 ml	0,15 µg / ml
	2 ml	10 ml	0,1 µg / ml
	1 ml	10 ml	0,05 µg / ml

0,05, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25, 0,5, 0,7 1, 2, 5, 7, 10, 20, 40 ve 50 µg/ml konsantrasyonlarına karşı pik alanlarından elde edilen değerler kullanılarak kalibrasyon doğrusu hazırlanmıştır. Ayrıca doğru denklemi belirlendi ve determinasyon katsayısı (R^2), standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (%RSD) hesaplanmıştır.

Doğruluk: PSC için HPLC ile analitik yöntemin doğruluğunu belirlemek amacıyla 10,0 mg PSC hassas tartılmış, 20 ml mobil faz ilave edilerek 2 dk ultrasonik banyoda bırakıldıktan sonra aynı çözücü ile konsantrasyonu 50 µg / ml olacak şekilde 200 ml'ye tamamlanmıştır. Bu stok çözeltiden 10 ml alınıp mobil faz ile 100 ml'ye seyreltilerek 5 µg / ml konsantrasyonlu 1. ara stok çözeltisi hazırlanmıştır. 1. ara stok çözeltisinden 2 ml alınıp 10 ml'ye seyreltilerek 1 µg / ml konsantrasyonlu çözelti ve 10 ml alınıp mobil faz ile 1000 ml'ye seyreltilerek 0,5 µg / ml konsantrasyonlu 2. ara stok çözeltisi hazırlanmıştır. Elde edilen PSC çözeltilerinden 0,05, 1 ve 50 µg / ml konsantrasyonlu olanlar kullanılarak çalışma yapıl mıştır. HPLC'de analiz edilen bu çözeltilerin pik alanlarından, doğrusallık çalışmasında elde edilen doğru denklemi aracılığıyla çözeltilerdeki karvedilol konsantrasyonu hesaplanmıştır. Yöntemin doğruluğu % geri kazanma değerleri hesaplanması ile belirlenmiştir.

Kesinlik:

- **Gün içi kesinlik:** Doğruluk çalışmasında anlatıldığı şekilde üç farklı konsantrasyonda (0,05, 1 ve 50 µg / ml) örnek hazırlanmıştır. Her konsantrasyondaki örnek 3'er kez analiz edilmiştir. Doğru denklemi yardımıyla PSC miktarı hesaplanmış ve sonuçların ortalamaları, SD ve % RSD değerleri hesaplandı. RSD değerinin % 2' den küçük olup olmadığı tespit edilmiştir.

- **Günler arası kesinlik:** Birinci gün yapılan gün içi kesinlik çalışmaları aynı şekilde 2. ve 3. günlerde tekrar yapılmıştır. Birinci, ikinci ve üçüncü gün sonuçlarının ortalamaları, SD ve % RSD değerleri hesaplandı. RSD değerinin % 2 den küçük olup olmadığı tespit edilmiştir.

Seçicilik: Oküler misel formülasyonu için miktar tayini yönteminin seçiciliğini belirlemek amacıyla PSC içeren ve içermeyen formülasyonlar ve doğruluk çalışmasında anlatıldığı şekilde 1 µg / ml konsantrasyonda PSC çözeltisi hazırlanmıştır. Her çözelti analiz edilerek etkin maddenin pik verdiği retensiyon zamanında kullanılan polimer, sürfaktan, antimikrobiyal koruyucu, pH tampon ajanlarının da pik verip vermediği tespit edilmiştir.

Duyarlılık:

- **Teşhis Limiti:** Teşhis limiti, analizi yapılan maddenin kalitatif olarak saptanabildiği en düşük konsantrasyondur.

Buradaki temel amaç analizi yapılan numunenin pik verdiği ancak siyal-gürültü oranına göre kantitatif analizin mümkün olmadığı en düşük konsantrasyonu bulmaktır.

Teşhis limitini saptayabilmek için sinyal-gürültü oranının 3:1 olduğu konsantrasyon değeri kabul edilir. PSC'nin teşhis limitini bulabilmek için, mobil faz içerisinde içerisinde hazırlanan 2. ara stok çözeltisinden (0,5 µg / ml) 0,1 µg / ml oranında standart hazırlanmıştır. Hazırlanan bu standart çözeltiden sırasıyla 250, 500, 1000, 2000, 3000 ve 4000 µl alınarak 10 ml'ye tamamlanmıştır. Böylece 0,0025, 0,005, 0,01, 0,02, 0,03 ve 0,04 µg / ml konsantrasyonlarda standart çözeltiler elde edilmiştir. Hazırlanan çözeltiler HPLC'de analiz edilerek sinyal:gürültü oranının 3:1 olduğu konsantrasyon tespit edilmiştir.

- **Miktar Tayini Limiti:** Miktar tayini limiti, yöntemin belirlenen şartlarında analizi yapılan maddenin kabul edilebilir kesinlik ve doğruluk ile tayin edilebildiği en düşük konsantrasyon olarak tanımlanır.

Miktar tayini limitini saptayabilmek için sinyal-gürültü oranının 10:1 olduğu konsantrasyon değeri kabul edilir. PSC'nin teşhis limitini bulabilmek için, mobil faz içerisinde içerisinde hazırlanan 2. ara stok çözeltisinden (0,5 µg / ml) 0,1 µg / ml oranında standart hazırlanmıştır. Hazırlanan bu standart çözeltiden sırasıyla 250, 500, 1000, 2000, 3000 ve 4000 µl alınarak 10 ml'ye tamamlanmıştır. Böylece 0,0025, 0,005, 0,01, 0,02, 0,03 ve 0,04 µg / ml konsantrasyonlarda standart çözeltiler elde edilmiştir. Hazırlanan çözeltiler HPLC'de analiz edilerek sinyal:gürültü oranının 3:1 olduğu konsantrasyon tespit edilmiştir.

Stabilite: Doğruluk çalışmasında anlatıldığı şekilde 1 µg /ml konsantrasyonda PSC çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti 1., 2., 4., 6., 8., 12., 24. ve 48. saatlerde HPLC'de analiz edilmiştir. Pik alanlarının oranları kullanılarak PSC konsantrasyonunda herhangi değişiklik olup olmadığı ve farklı bir pik oluşup oluşmadığı tespit edilmiştir.

3.2.1.5. Posakonazolün Çözünürlük Çalışmaları

Posakonazolün Çözünme Oranı (Dissolution Rate): Çözünürlük çalışmasına başlamadan önce PSC'un çözünme oranını belirtmemiz gerekir. Bu amçla kullanılması planlanan yağ, sürfaktan ve kosürfaktanlar belirlendi ve her birinden 1'er ml alınarak flakona konuldu. Üzerine aşırı miktarda PSC eklendi ve 25 ^{0}C sıcaklıkta çalkalayıcıda çalkalanmaya bırakıldı 24 saat sonra flakonlardan 0.5 ml alınarak 10 dk boyunca 7000 rpm'de santrifuj edildi ve üstte kalan kısım alındı. Alınan supernatant mikrotublara konularak yeniden 10 dk 7000 rpm´de santrifuj edildi. İkinci santrifüjün ardından supernatantın UV Spektrofotometrede 262 nm dalga boyunda absorbansı okundu. Flakonlarda kalan kısım yeniden çalkalayıcıda 25^{0}C´de çalkalanmaya

bırakıldı, 48 saat sonra yukarıdaki belirtilen metodla absorbansları ölçüldü. 72 saat sonra aynı işlem tekrar edildi. 48 saat sonra ölçülen absorbans 72 saat sonraki ile aynı olduğu için PSC'un çözünme oranı 48 saat için belirtildi.

Etkin Maddenin Mikroemülsiyon Bileşenlerindeki Çözünürlük Çalışmaları: Posakonazolün mikroemülsiyon formülasyonlarında kullanılması planlanan tüm yağ, sürfaktan ve kosürfaktanlardaki çözünürlüğü incelendi. Bu işlem için kullanılan yağ, sürfaktan ya da kosürfaktanlar Labrasol, İsopropil miristat, Lauroglycol FCC, oleik asit, Polietilen glikol (200, 400, 600), Tween 20, Tween 80, Transcutol, Propandiol 1.2. (PG), span80, Plurol oleique cc497, Labrofil M 1944, Labrofil M 2125, Su, Peceol, Glucire, Kolliphor EL'dir.

Etkin maddelerin eksipiyanlardaki çözünürlüğü, nanoemülsiyon bileşenlerinin seçimi için önemli bir kriterdir (100). Bileşenlerin taranması için en önemli kriter, yağ fazında zayıf çözünen ilacın çözünürlüğüdür (100). Bu amaçla flakonlara Tablo 3-1'de yer alan yardımcı maddelerden 1'er ml alınarak, üzerlerine etkin maddeden aşırı miktarda eklendi. PSC'un aşırı doymuş çözeltisini içeren flakonlar 48 saat süre ile çalkalayacıda 25 ^{0}C'de çalkalamaya bırakıldılar. 48 saat sonra numuneler alınarak 7000 rpm'de 10 dk sanrifüj edildi. Supernatant alınarak mikrotublere yerleştirildi ve yeniden 10 dk 7000 rpm´de sanrifüj edildi. Supernatant alınarak %96'lık etanol ile seyreltildi ve spektrofotometrede 262 nm de (0.132 – 1.134 absorbans aralığında) absorbansları belirlendi. Elde edilen absorbans verileri üzerinden çözünürlükleri incelendi. Bu işlem her bir karışım için 3 defa tekrarlandı ve hazırlanan örnekler UV Spektrofotometrede analiz edildi.

Posakonazolün PEG 200 ve Su, PG ve Su ile Fraksiyonel Çözünürlük Çalışmaları: PEG 200 ve su, PG ve su karışım ile beraber 0 – 1 ml arasındaki konsantrasyonlarda fraksiyonel çözünürlük çalışmaları gerçekleştirilmiştir. 11 tane farklı kosantrasyonlarda PG ve su karışımlarından 1'er ml alınarak üzerlerine aşırı miktarda PSC eklendi. Daha sonra 48 saat boyunca çalkalayıcıda çalkaladıktan sonra iki kere sanrifüj edilip % 96'lık etanol ile seyreltildi ve UV Spektrofotometrede absorbansları ölçüldü. Elde edilen sonuçlar, kalibrasyon eğrisinden elde edilen denklemde yerine konularak PSC'un çözünürlüğü incelendi. Bu işlem her bir fraksiyon için 3 defa tekrarlandı ve hazırlanan örnekler UV Spektrofotometrede analiz edildi.

Posakonazolün Farklı pH'lardaki Çözünürlük Çalışmaları: Posaconazolun in vitro salım çalışmalarında farklı pH'larda (1,2, 4,5 ve 6,8) fosfat tampon (PBS) çözeltileri kullanılmıştır. Bu sebeple posakonazolün farklı pH'larda hazırlanan fosfat tamponlarının her birindeki çözünürlüğü incelenmiştir.

pH 1,2 PBS'nin hazırlanması için 0,5 gram NaCl tartıldıktan sonra biraz distile suda çözündürüldü ve üzerine 1,75 ml HCL ilave edilip distile su ile hacmi 250 ml'ye tamamlandı. Homojen bir karışım elde edilene kadar karıştırıldı ve pH ayarı yapıldı.

pH 4,5 PBS'nin hazırlanması için 38,55 gram Ammonyum asetat 25 ml distile suda çözündürüldükten sonra üzerine 35 ml glasiyel asetik asit ilave edildi ve hacmi distile su ile 500 ml'ye tamamlandı. Homojen bir karışım elde edilene kadar karıştırıldıktan sonra pH ayarı yapıldı.

pH 6,8 PBS'nin hazırlanması için 8 gr NaCl, 0,2 gr KCl, 1,44 gr Na_2HPO_4 ve 0,24 gr KH_2PO_4 tartılarak tüm maddeler distile suda çözündürülüp iyice karıştırıldı. Çözelti 1 L'ye tamamlandı ve pH ayarı yapıldı

Hazırlanan farklı pH'lardaki PBS'lerde 2'şer ml alınarak üzerlerine aşırı miktarda PSC konuldu. Böylece posakonazolün doymuş çözeltileri elde edildi. Doymuş çözeltiler magnetik karıştırıcıda 240 rpm'de 25°C'de 48 saat boyunca karıştırıldı. Numuneler 48 saat sonunda alındı ve 15000 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Supernatant tüplere alındı. pH 1,2 PBS (fosfat tampon) örneğinden 10 µl alınarak etil alkolle 2 ml'ye tamamlandı ve UV Spektofotometrede 262 nm dalga boyunda absorbans değeri okundu. pH 4,5 ve pH 6,8 PBS örnekleri ise posakonazol az oranda çözündüğü için seyreltilmeden küvete alındı ve spektorfotometrede 262 nm dalga boyunda absorbans değeri okundu.

3.2.2. Posakonazol Mikroemülsiyon Formülasyon Çalışmaları

3.2.2.1. Ön Formülasyon Çalışmaları / Üçgen Faz Diyagramları

Kendiliğinden emülsifiye edici alanı belirlemek için su titrasyon yöntemi kullanılarak bir sahte üçlü faz diyagramı oluşturuldu. Tüketilen toplam su, % v/v cinsinden not edildi. Yağ-sürfaktan oranının titrasyonu sırasında faz netliği için gözlemler yapıldı. Bulanıklıktan-şeffaflığa ve şeffaflıktan bulanıklığa geçişlerin meydana geldiği su konsantrasyonları hacim ölçümlerinden elde edilmiştir. Bu değerler, seçilen yağ ve sürfaktan karışım oranının değerine karşılık gelen kendiliğinden emülsifiye olan bölgesinin sınırlarını belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

Mikroemülsiyon formülasyonları geliştirildiğinde yağ fazı, sürfaktan, kosürfaktanlar ve bu maddelerin 1:9 ile 9:1 oran aralığında karışımları için ön formülasyon çalışmaları yapıldı. Mikroemülsiyonlardaki bileşenlerin konsatrasyon aralığını belirleyebilmek için üçgen faz diyagramları hazırlandı. Üçgen faz diyagramlarının oluşturması için mikroemülsiyonları hazırlamamızda ″su ile titrasyon yöntemi" kullanıldı. Her Y/S:KoS/Su karışımı, yapılan mikroemülsiyonlar görünüm yönünden uygun yani tek fazlı ve su tutma kapasitesi en yüksek olan formülasyon olma açılarından değerlendirildi. Bu çalışmada bulanıklaşma iki fazlı veya faz ayrımı olarak düşünüldü. Bulanıklaşan formülasyonlar berrak bir görüntü oluşturmak amacıyla yeniden hazırlandılar. Üçgen faz diyagramlarını çizmek için ilave edilen toplam su miktarı ile önceden belirlenen miktarda hazırlanan Y:S/KoS karışımının ağırlığı toplanarak toplam içerik

ağırlığı belirlendi. Böylece her sistem için kullanılan yardımcı maddelerin yüzdeleri hesaplandı ve bu elde edilen verilerin yardımıyla üçgen faz diyagramları çizildi.

3.2.2.2. Etkin Madde Yüklenmemiş Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Üretilmesi

Emülsüfikasyon Süresinin Tayin Edilmesi: Yağın viskozitesi, yüzey aktif maddenin HLB'si ve çözücünün su ile karışabilirliği, spontan emülsifikasyon işlemi ile elde edilen nihai nano emülsiyonların kalitesinin belirlenmesinde önemli parametreleri temsil eder (26). Bu emülsiyon optimizasyonu çalışması, spontan emülsifikasyon tekniği ile birlikte nanopresipitasyon veya arayüzey polikondensasyonunu kullanan nanokapsüllerin tıkanma süreciyle ilgili önemli bir adım olarak düşünülebilir (26).
Oda sıcaklığında boş mikroemülsiyon formülasyonundan 50 mg alındı ve 500 ml pH'sı 6.8 olan fosfat tampon içine ilave edildi. Emülsifikasyon süresi görsel olarak 25-30 saniye olarak tayin edildi. Bu bilgi literatür ile uyumludur (40) ve 1 dakikanın altında olması gerektiği belirtilmiştir.

Spontan emülsifikasyon, sistem bileşimlerinden ve fizikokimyasal özelliklerinden etkilenmiş gibi görünen farklı mekanizmalarla üretilir. İlk olarak yağların ve sürfaktan doğasının fiziksel özelliklerinin emülsiyon boyutu dağılımı üzerindeki etkisi incelenmektedir. Yağ ve yüzey aktif madde optimize edildikten sonra, su-çözücü karışabilirliğinin emülsiyonlaştırma işlemi üzerindeki etkisi, organik faz oranı değiştirilerek incelenebilir (26). Nano emülsiyon oluşumunu incelemek için dört farklı emülsifikasyon prosedürü kullanılmaktadır:

1. Bir adımda suya mikroemülsiyon eklenmesi,
2. Suya adım adım mikroemülsiyon eklenmesi,
3. Bir adımda mikroemülsiyona su ilave edilmesi,
4. Mikroemülsiyona aşamalı olarak su ilave edilmesi (40).

Seyreltme prosedürleri, mikroemülsiyon (veya su) üzerine kademeli olarak veya bir kerede sabit sıcaklıkta su (veya mikroemülsiyon) ilave edilmesinden oluşmaktadır.

O/W mikroemülsiyonlarından emülsifikasyona başlanarak, mikroemülsiyon bileşimi ve kullanılan seyreltme prosedüründen bağımsız olarak küçük damlacık boyutlu nano veya mikro emülsiyonlar elde edilir ve işlem sırasında yüzey aktif madde spontan eğriliğinde herhangi bir değişiklik olmaz (40). Bu nedenle, nanoemülsiyonların/mikroemülsiyonların oluşturulduğu mekanizma kendi kendine emülsifikasyondur. Su ile seyreltme, kosurfaktan moleküllerinin bir kısmının suya dağılmasını sağlar, sistem artık nano emülsiyon damlacıklarına yol açan

termodinamik olarak kararlı halde değildir. Bunun aksine, S/Y mikroemülsiyonlarından emülsifikasyona başlanmasıyla, küçük damlacık boyutlu nano emülsiyonlar, sadece kullanılan seyreltme prosedürü, emülsiyonlaştırma sırasında bir Y/S mikroemülsiyon alanında dengeye ulaşmaya izin veriyorsa elde edilir (40).

Bu koşullar, emülsifikasyon sırasında doğrudan mikroemülsiyon alanının geçtiği Y/S oranları ile S/Y mikroemülsiyonları üzerine aşamalı olarak su ilave edilerek elde edilir. Bu strateji iki aşamalı bir süreç olarak düşünülebilir. İlk adımda, su ilavesi, yüzey aktif maddenin spontan eğriliğinde, negatif (S/Y mikroemülsiyonundan) pozitif (Y/S mikroemülsiyonuna) bir değişimi içerirken, ikinci adımda, bir kendi kendine emülsifikasyon işlemi gerçekleşmektedir. Ayrıca yüzey aktif spontan eğriliğinde değişiklik meydana gelmez (40).

Bununla birlikte, mikroemülsiyon üzerine sadece tek aşamalı su ilavesi test edildiğinden, seyreltme prosedürünün etkisi dikkate alınmamıştır. Bu etkiyi inceleyerek, hem S/Y hem de Y/S mikroemülsiyonlarından emülsifikasyona başlayarak aynı küçük boyutlu nano emülsiyonların elde edilebileceğini açıkça gösterir (40).

Kendiliğinden emülsifiye olan (düşük enerjili) yöntemlerle hazırlanması uygundur, çünkü yüksek enerjili emülsifikasyon yöntemlerine göre daha küçük ve daha homojen damlacık boyutların ulaşılmasını sağlar (5).

Formülasyonlarının Optimizasyon Çalışmaları (Kendiliğinden Emülsifiye Olan Yöntemlerle Yapılan Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Optimizasyon Çalışmaları): Bu tez çalışmasının kapsamında yağ, sürfaktan ve kosürfaktan yapıdaki en uygun yardımcı maddeler seçildi. Bu üç madde manyetik karıştırıcıda karıştırılırken üzerine damla damla distile su ilave edilerek bulanıklık oluşuncaya kadar titrasyon metoduna devam edildi. Her su ilavesi sonrasında suyun tamamen karışması için biraz beklendi, su ilavesi tamamlandığında, karışımın ağırlığı tartılarak mikroemülsiyona eklenen su miktarı hesaplandı. Bulanık oluşan karışımlarda ise çalışma tekrarlanarak berraklığın korunduğu su miktarları saptandı. Mikroemülsiyon formülasyonları hazırlandığında kulanılan eksipiyanların (yağ, sürfaktan, kosürfaktan) isimleri ve bu maddelerin farklı oranları Tablo 3-2 ve 3-3 de verilmiştir.

Tablo 3-2: Mikroemülsiyonların formülasyon çalışmalarında kullanılan yağ, sürfaktan, kosürfaktan ve oranları

Yağ	**Sürfaktan (S)**	**Kosürfaktan (KoS)**	**S:KoS Oranı**	**Yağ: S/KoS Oranı**
Oleik asit İsopropil miristat Capryol 90 Labrafac PG Lauroglycol FCC Labrafac Lipophil WL 1349 Castor oil Glycerol	*Kolliphor EL *Kolliphor RH 40 Labrasol Tween 20 Tween 80 Gelucire 44/14 Labrafil M 2125	Plurol oleique Transcutol P PEG 200, 400, 600 Propan diol 1,2 (PG)	1:1 1:2 2:1 1:3	1:9 2:8 3:7 4:6
(*) Kolliphor RH 40 (Cremophor RH 40) ve (*) Kolliphor EL (Cremophor EL) eksipiyanlar hem sürfaktan hem de kosürfaktan olarak mikroemülsiyon formülasyonlarında kullanılabilirler (Zhang ve Michniak-Kohna 2011)				

Tablo 3-3: Mikremülsiyonların formülasyon çalışmalarında kullanılan yağ, sürfaktan ve kosürfaktan oranlarının isimlendirmesi

	S /KoS Oranı		**Yağ: S/KoS oranı**
a	1:1	x	1:9
b	1:2	y	2:8
c	2:1	z	3:7
d	1:3	q	4:6

Hazırlanan formülasyonlar görsel olarak incelendi. Faz ayrımı olmayan, berraklıklarını koruyan ve % 25-%50 aralığında su içeren mikroemülsiyon formülasyonların damlacık boyutunu (Z_{AVE}) ve dağılımını (polidispersite indeksleri PDI) saptamak amacıyla, Zetasizer (Malvern Zetasizer-Nano ZS, Worcester shire, UK) cihazı ile ölçümleri yapıldı.

Damlacıkların boyut ölçümleri emülsifikasyonun ne derecede iyi olduğunu tespit ederek, ilaç salım hızı ve mikroemülsiyonların stabilitesi açısından fikir vermektedir (17, 3). Daha küçük damlacık boyutlarına sahip mikroemülsiyonlar gastrointestinal sistemde etkin maddelerin emilim oranlarını arttırmaktadır.

Yüzey aktif madde, yardımcı yüzey aktif madde ve yağın oranı, mikroemülsiyon/nanoemülsiyon oluşumunda önemli bir belirleyici faktördür. Nanoemülsiyon/Mikroemülsiyon tipi yağ, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif maddenin özelliklerine bağlıdır. Bir sürfaktan, bir Y/S emülsiyonu oluşturmak için HLB> 10'a sahip olmalıdır. Bu çalışmada sırasıyla 14 ve 15 HLB değerine sahip Cremophor EL ve Tween 80 seçilmiştir.

Her ikisi de iyonik olmayan yüzey aktif maddeler, iyonik yüzey aktif maddelere kıyasla daha az toksik olduklarından ve pH ve iyonik güçten daha az etkilendikleri için yaygın olarak kullanılır (100). Mikroemülsiyonun formülasyonunda kullanılan yüzey aktif maddelerinin çoğu tek zincirli yüzey aktif maddelerdir ve nanoemülsiyon oluşturmak için yüzeyler arası gerilimi yeterince düşüremeyebilir. Bu gibi durumlarda, kosürfaktan olarak bilinen sisteme ikinci bir amfifil eklenir. Bu amaçla çalışmada, HLB değeri 11.3 ve 4.2 olan PEG 400 ve Transcutol P kullanılmıştır. Ko-sürfaktanlar, sürfaktan molekülleri arasında ara-madde oluşturur ve polar başı grup etkileşimlerini azaltır. Ayrıca mikroemülsiyon damlacıklarının etrafındaki arayüzey filmin esnekliğini arttırırlar (100).

Kendiliğinden emülsifiye olan yöntemlerle oluşan mikroemülsiyonlar terapötik ve teşhis sistemleri olarak biyomedikal alananında ilgi çekmektedir. Küçük boyutları onlara belirli fiziko-kimyasal özellikler kazandırır ve hücre altı bölmelere ulaşmalarını sağlar. Bu özelliklerin bazıları hazırlama yöntemine bağlıdır (114). Mikroemülsiyonlar, sıvılardan birinin diğeri içerisinde nano ölçekli boyut aralığında damlacıklar halinde dağıldığı en az iki karışmaz sıvıyı içeren emülsiyonlardır (114). Kendiliğinden emülsifikasyonda mikroemülsiyon oluşumu, sürfaktan veya çözücü moleküllerinin dağılmış durumdan sürekli faza hızlı difüzyonu ile oluşur. Nano-emülsiyonların ve mikroemülsiyonların yüksek arayüzey alanı, onları nanoreaktör olarak kullanımları için özellikle ilginç kılmaktadır (114).

Bu tez çalışmasında yapılan mikroemülsiyonların yağ, sürfaktan (S) ve kosürfaktan (KoS) bileşimleri ile S:KoS ve Yağ:S:KoS oranları, aşağıda Tablo 3-4, Tablo 3-5 ve Tablo 3-6 da verilmiştir.

Tablo 3-4: Sadece bir tane sürfaktan ve bir tane kosürfaktan içeren mikroemülsiyon formülasyonları

Formülasyon Kodu	Yağ Fazı	Sürfaktan	Kosürfaktan	S/Kos Oranı	Yağ: S/Kos Oranı
OLCr ax	Oleik asit	Labrasol	Cremophor EL	1:1	1:9
OLCr cx		Labrasol	Cremophor El	2:1	1:9
OLCre40 ay		Labrasol	CremophorRH40	1:1	2:8
OT80T ax		Tween 80	Transcutol P	1:1	1:9
OT80T ay		Tween 80	Transcutol P	1:1	2:8
OT80T az		Tween 80	Transcutol P	1:1	3:7
OT80T by		Tween 80	Cremophor EL	1:2	2:8
OT20Cre ay		Tween 20	PG	1:1	2:8
OT80P.G ax		Tween 80	PG	1:1	1:9
OT80P.G by		Tween 80	PG	1:2	2:8
OT80P.G cy		Tween 80	PG	2:1	2:8
OT80P.G ay		Tween 80	PG	1:1	2:8
OT80P.G bx		Tween 80	PG	1:2	1:9
OLP.G ax		Labrasol	PG	1:1	1:9
OLP.G bx		Labrasol	PG	1:2	1:9
OLP.G ay		Labrasol	PG	1:1	2:8
OLP.G cy		Labrasol	PEG	2:1	2:8
OT20PEG ax		Tween 20	PEG	1:1	1:9
OT20PEG bx		Tween 20	PG	1:2	1:9
OT20P.G ax		Tween 20	PG	1:1	1:9
OLT ax		Labrasol	Transcutol P	1:1	1:9
LaLCre EL ay	LabrafacPG	Labrasol	Cremophor EL	1:1	2:8
LaLT	Labrafac PG	Labrasol	Transcutol P	2:1	1:9
CLCre EL ay	Capryol	Labrasol	Cremophor EL	1:1	2:8
CLP.G by	Capryol	Labrasol	PG	1:2	2:8
CLP.G cy	Capryol	Labrasol	PG	2:1	2:8
LauLP.G cy	Lauroglycol FCC	Labrasol	PG	2:1	2:8
IT20P.G bx	İsopropil miristat	Tween 20	PG	1:2	1:9
ILP.G ax		Labrasol	PG	1:1	1:9
ILP.G. by		Labrasol	PG	1:2	2:8

ILP.G. ay		Labrasol	PG	1:1	2:8
ILP.G bx		Labrasol	PG	1:2	1:9
ILP.G az		Labrasol	PG	1:1	3:7
ILP.G bz		Labrasol	PG	1:2	3:7
ILP.Gcy		Labrasol	PEG	2:1	2:8
IT80PEGax		Tween 80	PEG	1:1	1:9
IT80T ax		Tween 80	Transcutol P	1:1	1:9
IT80T ay		Tween 80	Transcutol P	1:1	2:8
IT80T bx		Tween 80	Transcutol P	1:2	1:9
ILT ax	Castor Oil	Labrasol	Transcutol P	1:1	1:9
ICreT ay	Liquid Parafin	Labrasol	Transcutol P	1:1	1:9
CasT80T ax	Liquid Parafin	CremophorE	Transcutol P	1:1	2:8
PT80PG ay	Peceol	Tween 80	PG	1:1	1:9
PT80PG by		Tween 80	PG	1:1	2:8
PLT		Tween 80	Transcutol P	1:2	2:8
		labrasol		1:1	1:9

Tablo 3-5: İki sürfaktan içeren mikroemülsiyon formülasyonları

Formülasyon kodu	**Yağ fazı**	**Sürfaktan Kombinasyonu**	**Kosürfaktan**	**S:KoS Oranı**	**Yağ: S/KoS Oranı**	**Su fazı**
OT80CreT ax	Oleik asit	Tween 80 ve Cremophor EL	Transcutol P	1:1	1:9	Su
OT20CreT ax	Oleik asit	Tween 20 ve Cremophor EL	Transcutol P	1:1	1:9	Su
OT80T20T ax	Oleik asit	Tween 80 ve Tween 20	Transcutol P	1:1	1:9	Su
OLCreT ax	Oleik asit	Labrasol ve Cremophor EL	Transcutol P	1:1	1:9	Su
OLCreT bx	Oleik asit	Labrasol ve Cremophor EL	Transcutol P	1:2	1:9	Su
OLCreT ay	Oleik asit	Labrasol ve Cremophor EL	Transcutol P	1:1	2:8	Su
GLGeT dx	Glycerol	Labrasol ve	Transcutol P	3:1	1:9	Su

	Gelucire 44/14				

Tablo 3-6: İki Kosürfaktan içeren mikroemülsiyon formülasyonları

Formülasyon kodu	**Yağ fazı**	**Sürfaktan**	**Kosürfaktan Kombinasyonu**	**S:KoS Oranı**	**Yağ: S/KoS Oranı**	**Su fazı**
OT20TPEG 400 ax	Oleik asit	Tween 20	Transcutol P ve PEG 400	1:1	1:9	Su
OT20TPEG 400 bx	Oleik asit	Tween 20	Transcutol P ve PEG 400	1:2	1:9	Su
OT20TPEG 400 cx	Oleik asit	Tween 20	Transcutol P ve PEG 400	2:1	1:9	Su

Tek sürfaktan ve kosürfaktan içeren mikroemülsiyonların damlacık boyutu ve dağılımı bulgular bölümünde Tablo 4-6, iki sürfaktan içeren mikroemülsiyonların damlacık boyutu ve dağılımı Tablo 4-7 ve iki kosürfaktan içeren mikroemülsiyonların damlacık boyutu ve dağılımları Tablo 4-8'de verilmektedir.

Formülasyonların Seçimi: Önformülasyon çalışmaları çözünürlük çalışmalarından elde edilen verilere dayanarak, etkin madde yüklü olmayan mikroemülsiyonların görünümüne (fiziksel), su tutma kapasitelerine, damlacık boyutuna, dağılımlarına, piklerin kesinliğine ve posakonazulun hangi maddelerde yüksek çözünürlüğü olduğu dikkate alınarak seçilmiştir. Daha sonra da üçgen faz diyagramları hazırlanarak etkin madde yüklenecek olan mikroemülsiyon formülasyonları seçilmiştir.

Mikroemülsiyonlardan yağ fazı Oleik asit, sürfaktanları sırasıyla Labrasol, Tween 20, Tween 80 ve kosürfaktanları Transcutol P olanlar ve S/KoS oranı 1:1 ″OLT ax, OT20T ax, OT80T ax″ olarak ve S/KoS oranları 1:2 olanlarda ″OT20T bx, OT80T bx″ olarak kodlandılar.

Yağ fazı oleik asit olanlar ise sürfaktanı Tween 20, kosürfaktanları Transcutol P ve PEG 400 ve S/KoS oranı 1:1, 1:2 olan mikroemülsiyonlar ″OT20T-PEG ax, OT20T-PEG bx″ olarak, sürfaktanı Labrasol ve Cremophor El, kosürfaktanı Transcutol P ve S/KoS oranı 1:1, 1:2 olan mikroemülsiyonlar ″OLCreT ax, OLCreTbx″ olarak, sürfaktanları sırasıyla T20, T80 ve kosürfaktaları Transcutol P ve S/KoS oranı 1:1 olanlar ″OT20CreT ax, OT80CreT ax″ olarak kodlandılar. Bu kodlandırılan mikroemülsiyonlar posakonzol yüklemek için seçildiler.

3.2.2.3. Posakonazol Yüklenmiş Mikroemülsiyonların Optimizasyon Çalışmaları

Mikroemülsiyonlara etkin madde yüklenmesi farklı yöntemlerle yapılmaktadır. Bir yöntemde etkin madde, sürfaktan:kosürfaktan karışımında çözündürülür, yağ fazı eklenir sonra su ile titre edilir (73,41,115). Bir başka yöntemde etkin madde, yağ: surfaktan: kosürfaktan içinde çözündürülür, sonra su ile titre edilir (97,72). Bir diğer yöntemde ise önce yağ: sürfaktan ve kosürfaktan karıştırılır, daha sonra su ile titre edilir. Boş mikroemülsiyon elde edildikten sonra, etkin madde yüklenmemiş mikroemülsiyolara yüklenir, sonra etkin maddenin çözünmesi sağlanır (1, 17). Her yöntemde sistemin dengeye gelmesi için beklenir. Bu tez çalışmasında önce yağ: surfaktan ve kosürfaktan karıştırılmış sonra su ile titrasyon yapılmış en son etkin madde yüklenmiştir.

Mikroemülsiyonlar/Nanoemülsiyonlar spontan nanoemülsifikasyon yöntemi kullanılarak hazırlanacağı zaman yağ fazı, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde (smix) homojen izotropik karışımlar oluşturmak üzere karıştırılır ve berrak ve şeffaf nanoemülsiyonlar elde etmek için yavaş yavaş sulu faz ile titre edilir (100). Yağ ve smix, yardımcı maddelerin eklenme sırası nanoemülsiyon formülasyonu için çok önemlidir (100). Nanoemülsiyonlar/Mikroemülsiyonlar, sadece sürfaktan, yağ fazı ve ardından su ilave edilerek karıştırıldığında oluşur (100). Yüzey aktif maddelerin sulu faza eklenmesi, ardından yağ fazının eklenmesi makroskopik emülsiyonların oluşumunu sağlar (100). İlaç yüklü mikroemülsiyonlar, ilaç yağ fazına ilave edilerek benzer şekilde hazırlanmıştır (100).

Seçilen mikroemülsiyonların partikül büyütları, dağlımları ve zeta potensiyelleri ölçüldükten sonra üzerlerine aşırı miktarda posakonazol eklenmiş ve yöntem 3.2.1.5'te belirtildiği gibi posakonazulun çözünme oranı ve hızı 48 saat olarak belirlenmiştir. Aynı yönteme göre posakonazol yüklü mikroemülsiyonlar oda sıcaklığında orbital çalkalayıcı (Thermo Electron corporatıon, model 420 ve Hei dolph UNİMAX 2010) üzerinde 48 saat boyunca çalkalandıktan sonra alındılar ve yöntem 3.2.1.5'te anlatıldığı gibi mikrotublere alınıp 10 dakika 7500 rpm'de santrifüj edildiler. Daha sonra üstte kalan faz başka mikrotublara alınarak yeniden 10 dk santrifüj edilmiştir. Her birinin supernatantında bulunan posakonazol yüklü mikroemülsiyonların yeniden partikül büyüklükleri, dağılımları ve zeta potensileri ölçülmüştür. Bu sonuçlar Tablo 4-5'de ve Şekil 4-6'da verilmiştir. Her posakonazol yüklü mikroemülsiyon UV Spektrofotometre kullanarak yöntem 3.2.1.3'te belirtildiği gibi 262 nm dalga boyunda absorbansları okunmuş ve absorbansları üzerinden her birinde çözünen posakonazol miktarı hesaplanmıştır.

Optimizasyon çalışmaları sırasında boş mikroemülsiyonlar su ile titrasyon yöntemi ile mekanik karıştırıcı (Heidolp RZR 20151 Control) kullanılarak hazırlandı. Daha sonra da hazırlanan her boş mikroemülsiyona etkin madde eklenerek mekanik karıştırıcı yardımıyla çözünmeleri sağlandı. Hazırlanan her mikroemülsiyonun stabilitesi 4 ay süreyle 25 ± 2°C, %60 ± 5 RH ve 40

± 2°C, %75 ± 5 koşullarında izlendi. Fiziksel stabiliteleri, damlacık boyutu ve dağılımları değerlendirildi.

Posakonazol yüklü mikroemülsiyonların formülasyon kodları P.1 OLT ax, P.2 OT20T ax, P.3 OT20T bx, P.4 OT80T bx, P.5 OT80T ax, P.6 OT20T-PEG 400 ax, P.7 OT20T-PEG 400 bx, P.8 OLT-Cre ax, P.9 OLCreT bx, P.10 OT80CreT ax ve P.11 OT20CreT ax olarak kodlandı.

3.2.3. Etkin Madde Yüklü Mikroemülsiyonların Karakterizasyon Çalışmaları

Optimizyonu yapılan mikroemülsiyonların fiziksel görünümleri, pH'sı, damlacık boyutları, polidispersite indeksi (PDI), zeta potansiyeli ve fiziksel stabiliteleri değerlendirildi.

3.2.3.1. Fiziksel Görünüş

Nanoemülsiyonlar/Mikroemülsiyonlar, termodinamik açıdan kararsız sistemlerdir ve emülsiyon sistemlerinin kararlılığı çok farklı şekillerde bozulabilmektedir. Bunlar Ostwald damlacık büyümesi, koalesans, kremalaşma, sedimentasyon (çökme), flokülasyon ve faz değişimidir (27). Ostwald Damlacık Büyümesi, emülsiyonda, dağılmış halde bulunan küçük damlacıkların zaman içerisinde çözünmesi ve içeriklerinin daha büyük damlacıklara taşınmasıdır. Emülsiyon damlacık çapının giderek büyümesine neden olmaktadır (27). Koalesans, sürekli fazda filmlerin parçalanmasına ve iki damlacığın birleşip daha büyük tek bir damlacığa dönüşmesine neden olmaktadır. Geri dönüşümlü bir durum değildir. Yüzeyler arası filmin yapısı ile ilgilidir (27). Kremalaşma/ sedimentasyon, çökme (sedimentasyon), iç faz damlacıklarının aşağıya doğru göç etmesi olarak tanımlanırken, kremalaşma bu durumun tersine iç faz damlacıklarının yukarıya doğru göç etmesidir. Entropik kaynaklı kuvvetlerin neden olduğu Brownian hareketi, uzun bir süre tanecikleri asılı şekilde korumaktadır (27). Flokülasyon, emülsiyonda dağılmış halde bulunan damlacıkların bir araya gelmesi olarak ifade edilen flokülasyon, geri dönüşümlü ve çoğunlukla kabul edilebilir bir durumdur (27). Faz Değişimi, emülsiyonun faz dönüşümüdür. Fazların oranının ve diğer bazı faktörlerin etkili olduğu bir durumdur. Uygun yüzey aktif maddelerin yeterli konsantrasyonda kullanılması ile faz değişimi riski en aza indirilebilmektedir (27).

Görünüm: Mikro ölçekli emülsiyonlar genelde görünür ışığın güçlü bir şekilde çoklu saçılımına neden olmaktadırlar. Bu yüzden beyaz bir görünüme sahiptirler. Genelde ürün görünümü, ürünün mikro yapısına ve bileşimine bağlıdır. Ürünün görünümü, ürünün görünür ışıkla etkileşime girme yoluna bağlı olarak değişmektedir. Nanoemülsiyonlardaki yapıların görünür dalga boylarından daha küçük olmasına bağlı olarak nanoemülsiyonlar optik olarak transparan görünürler. Tüm hacim fraksiyonları için görünür spektrumda geçiş hemen hemen %100'dür. Buna karşın ultraviyole spektrumda, ışığın dalga boyu taneciğin yarıçapına yaklaştıkça nanoemülsiyonlar ışığı önemli ölçüde saçarlar (27).

Boş ve PSC yüklü mikroemülsiyon formülasyonları fiziksel görünüşleri, homojenite ve renk özellikleri açısından oda sıcaklığında değerlendirildikten sonra iki stabil kabinine birisi 25°C ± 2°C, %60 ± 5 RH diğeri 40°C ± 2°C ve %70 ± 5 relatif nemde 4 ay boyunca bekletildiler ve her ayın sonunda fiziksel görünüş değerlendirildi.

3.2.3.2. pH

Mikroemülsiyonların pH ölçümleri oda sıcaklığında yapıldı ve her formülasyon için 3 kez tekrarlandı. Ölçümlerin aritmetik ortalama ve SD değerleri bulundu. Ölçümlerin öncesinde cihazın kalibrasyonu pH 4,7 ve 10 standartları kulanılarak yapıldı. Hazırlanmış olan formülasyonların önce boş, sonra etkin madde yüklenerek pH metre (Oakton Eutech Instruments Bench 2700) ile pH'ları ölçüldü.

3.2.3.3. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi

Mikroemülsiyonların partikül boyutu dağılımları, bir lazer ışınından saçılan nispi yoğunluk-zaman dalgalanmalarından belirlenen dinamik ışık saçılımı (Zetasizer Nano ZS; Malvern Instruments, Malvern, İngiltere) kullanılarak ölçülmüştür (73). Damlacıkların büyüklüğü ve boyut dağılımı, emülsifikasyonun kendiliğindenliğinden olmasına bağlıdır (26).

Ortalama damlacık boyutu ve polidispersite indeksi, küresel parçacıkların yoğunluk, hacim ve dağılımından hesaplanmıştır. İlaç dağıtımı için damlacık boyutunun küçük olması çok gereklidir. Polidispersite endeksi (PI), partikül homojenliğinin bir ölçüsüdür ve 0.0 ila 1.0 arasında değişir. Polidispersite değeri sıfıra yaklaştıkça parçacıklar daha homojen olur (1).

Mikroemülsiyonların damlacık boyutu (PS) ve polidispersite indeksleri (PDI) dinamik ışık saçılımı esasına dayanan Malvern Zetasizer Nano-ZS cihazı kullanılarak ölçüldü. 25°C'de 20 saniye süreli 11-15 taramayla 3 kez tekrarlanarak ölçümler yapıldı. Ölçümlerin aritmetik ortalama ve SD değerleri saptandı.

3.2.3.4. Zeta Potansiyeli

Zeta potansiyeli, damlacıkların yüzeyindeki yükün işlevini açıklar (83). Formülasyonların zeta potansiyel değerleri Malvern Zetasizer Nano-ZS cihazı kullanılarak, 25°C'de 20 taramayla 3 kez tekrarlanarak yapılmış ayrıca aritmetik ortalama ve SD değerleri saptanmıştır.

3.2.3.5. Seçilen Formülasyonlarda Çözünen PSC Miktarının Hesaplanması

Kendiliğinden emülsifye olan sistemler için kullanılan hammaddelerin güvenli metabolizasyonu ME'lerin/NE'lerin avantajlarından biridir. Bir başka önemli avantaj, suda çözünmeyen API'leri çözme kabiliyetleridir. Birçok yeni terapötik maddenin suda çözünürlüğü düşüktür veya hiç

yoktur. Bu maddeleri lipit ME olarak formüle etmek, bu engeli aşmak ve etkin maddelerin etkisini artırmak için akıllıca bir yol olabilir (114).

Yöntem 3.2.1.5'te anlatıldığı biçimde her bir boş mikroemülsiyondan 1 ml alınarak üzerlerine etkin maddeden aşırı miktarde eklendi. Bu durumda PSC'un aşırı doymuş çözeltileri elde edildi ve hazırlanan flakonlar 48 saat süre ile çalkalayıcıda çalkalamaya bırakıldılar, 48 saat sonra numuneler alınarak 7000 rpm'de 15 dk sanrifuj edildi. Daha sonra üstte kalan supernatant alınarak mikrotublara yerleştirildi ve yeniden 10 dk 7000 rpm'de sanrifuj edildi. Bunlardan alınan miktar ise %96'lık etanolle seyreltildi ve UV Spektrofotometrede 262 nm dalga boyunda absorbansları ölçüldü. 0.132 – 1.134 aralığındaki absorbanslar incelendi. Bu değerler üzerinden çözünürlükleri hesaplandı. Bu işlem her bir formülasyon için 3 defa tekrarlandı ve hazırlanan örnekler UV Spektrofotometrede analiz edildi.

3.2.3.6. Seçilen Mikroemülsiyonlara Yüklenen PSC Miktarının Tayini

Seçilen mikroemülsiyonlarda yöntem 3.2.3.5'te anlatıldığı şekilde çözünürlük çalışmasından elde edilen miktarlar her bir boş mikroemülsiyona oda sıcaklığında eklendi ve karıştırıcı (RT 15 Power IKA WERKER) üzerinde 700 rpm'de 16-20 saat buyunca sistemin dengeye gelmesi ve berrak bir mikroemülsiyon elde edilmesi ve systemin dengeye gelmesi için 16-20 saat aralığında beklendi. Şeffaf ve berrak, etkin maddeli mikroemülsiyonlar alındı ve UV spektrofotometrede absorbansleri 262 nm dalga boyunda ve 0.132-1.134 aralığında okundu ve kalibrasyon doğrusundan elde edilen denkleme yerleştirildikten sonra her bir formülasyon için yüklenen PSC miktarı ve yüzdesi elde edildi.

3.2.4. In Vitro Salım Çalışmaları

Etken madde yüklenmiş formülasyonların ilaç geçiş özelliklerinin incelenmesi için selofan membran kullanıldı. Salım çalışmasından 8-10 saat önce Selofan membran distile suda ıslatıldı. Daha sonra 20 dk boyunca pH 6.8 fosfat tamponu içerisine konuldu ve şartlanması beklendi.

3.2.4.1. In Vitro Salım Ortamının Belirlenmesi

PSC'nin pH 6,8 PBS içerisindeki çözünürlüğü sink koşulları sağlamadığı için, PSC'nin çözünürlüğünü artırmak amacıyla farklı sürfaktanlar veya etil alkol (etanol) kullanıldı. Bu maddeler aşağıda verilmektedir:

Önceden belirtildiği gibi PSC dalga boyu 262 nm'de max. absorbans vermiştir. Çalışılan etkin madde (PSC) ile ortama eklenen maddenin bir biriyle etkileşmemesi açısından, absorbansların 262 nm'de 0,1'in altında olması gereklidir. Bu durum Spektrofotometrede sorun yaratabilir ama HPLC'de incelenmesi mümkündür. SLS, geçiş için yardımcı madde olarak ortamın içine

eklemesi için tercih edilmiştir. Tablo 3-8'de PBS fosfat tampon çözeltisinin farklı pH'larda UV Spektrofotometrede absorbansları verilmiştir.

Tablo 3.8: Farklı PBS fosfat tampon çözeltileri ve UV Spektrofotometrede absorbansları:

Fosfat tampon	pH	Absorbans
PBS	1,2	-0,011
PBS	4,5	-0,008
PBS	6,8	-0,013

Bu tablodaki absorbans değerleri, fosfat tamponları (PBS'ler) ile PSC arasında etkileşim olmadığını gösterir.

Salım çalışmasında etkin maddenin geçişine yardımcı olan maddelerin seçimi:

1- Tween 80

100 ml PBS (pH = 6.8) + 2 gram T80 → ABS = 3.311

100 ml PBS (pH = 6.8) + 1 gram T80 → ABS = 3.068

Bu maddenin (T80) absorbanse 0,1' in üstünde olduğu için spektrofotometrede 262 nm dalga boyunda çalışılamaz.

2- Etil Alkol

70 ml PBS (pH = 6.8) + 30 ml etlik alkol → ABS = 0.209

Etil alkolün absorbansı 0,1'in üstünde olduğu için spektrofotometrede çalışılamaz.

3- Labrasol

100 ml PBS (pH = 6,8) + 1 gram Labrasol → ABS = 0,111

Labrasolu denemek için uygun bulunan mikroemülsiyonlardan P.3 kodlu formülasyon seçildi ve ortama etkin maddenin geçişine yardımcı madde olarak bir gram labrasol eklenek denendi.

4- Sodyum Lauril Sülfat (SLS)

100 ml PBS (pH = 6,8) + 1 gram SLS → ABS = 0,013

Absorbans 0,1'den düşüktür. Bu miktar SLS'n salım çalışmasında PSC'un geçişine yardımcı madde olarak kullanılabileceğini gösterir. SLS, 0,1, 0,2, 0,5 ve 1 gram olarak farklı miktarlarda denendi en iyi sonuç 1 gramla alındığı için bu tez çalışmasında ortam faz olarak pH 6,8 PBS ve %1 sodyum lauril sülfatla hem spektrofotometre hem de HPLC çalışması yapıldı.

3.2.4.2. Seçilen Formülasyonların UV Spektrofotometre ve HPLC Kullanılarak Diyaliz Membrandan Geçiş Çalışması

Bu tez çalışmasında HPLC çalışmasından önce her bir Formülasyon için yüklenen PSC miktarı ve yüzdesi UV Spektrofotometre (Shimadzu UV 1700) kullanılarak belirlendi. Sonra tüm işlemler HPLC kullanılarak yapıldı.

Diyaliz membrandan %1 SLS içeren pH 6,8 fosfat tamponla salım çalışmasına başlanmadan önce %1.7 SLS içeren pH 6,8 fosfat tamponla üretilen PSC yüklü mikroemülsiyonların geçişleri analiz edildi. Ortam hacimi 100 ml'ye, sıcaklık ise 37 ± 0.5°C'ye ayarlandı. Diyaliz membranlar içerisine 1 ml hacimde formülasyonlardan konuldu. Beherlerden 1., 2., 4., 6., 8., 12. ve 24. saatlerde 3 ml örnek alındı ve UV spektrofotometride okutuldu, HPLC'de 1.5 ml örnek alındı ve HPLC kullanılarak okutuldu.

3.2.4.3. Salım Çalışmaları

Diyaliz membrana konulmuş 1ml PSC içeren ilaç yüklü mikroemülsiyon formülü 100 ml çözünme ortamına daldırıldı. Çözünme ortamı, 100 ml hacimde % 1 SLS içeren pH 6.8 fosfat tamponudur. Salım ortamının sıcaklığı 37 ± 0.5°C'ye, magnetik karıştırıcı hızı 100 rpm'e ayarlandı. Diyaliz membranlar 1-1,5 ml'lik numuneler konuldu ve belirli zaman aralıklarında (1, 2, 4, 6, 8, 12 ve 24. saat) salım ortamından numuneler alındı. Alınan örnekler UV spektrofotometri analizi için 3 ml, HPLC analizi için 1-1,5 ml'dir. Numuneler alındıktan sonra beher içerisine alınan numune iktarı kadar ilave edildi.

Alınan tüm numuneler 0.45 µm filtre membrandan geçirildi. Numuneler, PSC içeriğini belirlemek için önce 260 nm'de UV görülebilir spektrofotometre ile analiz edildi ve daha sonrada HPLC'de analiz edildi.

3.2.5. Seçilen PSC Yüklü Mikroemülsiyonların Stabilite Çalışmaları

Stabilite bir ilacın veya hammaddesinin hazırlanışından sonra tamamen tüketildiği zamana kadar geçen süre içinde fiziksel, kimyasal ve tedavi özelliklerini kaybetmeden saklanabilmesidir. Bu amaca ulaşmak için hazırlanan PSC mikroemülsiyonları 6 ay boyunca 25±2°C, %60±5 bağıl nem ve 40±2°C, %75±5 bağıl nem özeliklerine sahip stabilite kabinlerinde (Nuve Test cabin Tk 120) saklanmıştır. Etkin madde yüklü mikroemülsiyonların 15.gün, 1.ay, 2.ay, 3.ay, 4.ay, 5.ay ve 6.aylarda kimyasal ve fiziksel özelikleri incelendi. Partikül büyüklüğü ve PDI, Zeta Potansiyel, pH ölçümleri, PSC miktar tayini UV spektrofotometrede ve HPLC'de yapıldı.

3.2.6. Antifungal Aktivite Çalışması

Hazırlanan formülasyonların antifungal aktivitesi, PSC'nin piyasada mevcut olan ürünü Noxafil oral süspansiyonu (40 mg/ml) ile minimum İnhibitör konsantrasyon (MIC) değerleri üzerinden

karşılaştırılmıştır. Antifungal Testlerinin sonuçları hem üretilen formülasyonlar için hemde piyasada mevcut olan ürün için bulgular kısmında Tablo 4-48, 4-49, 4-50, 4-51, 4-52, 4-53 ve 4-54'te verilmektedir.

4. BULGULAR

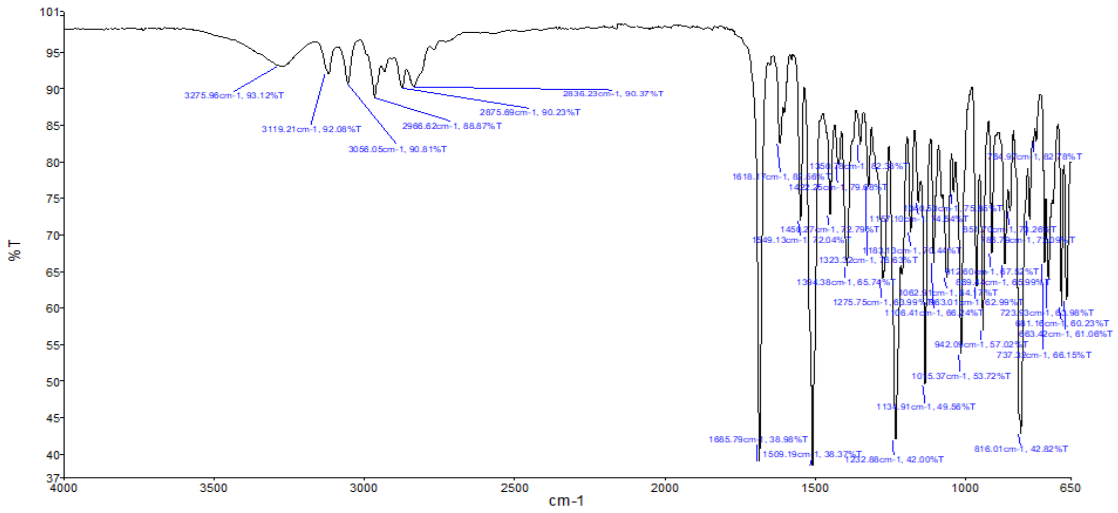
4.1. Posakonazol Üzerinde Yapılan Çalışmalar

4.1.1. Erime Derecesinin Tayini

PSC'nin erime derecesi yapılan analiz sonucunda 166-168 °C olarak bulunmuştur.

4.1.2. FTIR Spektrumu

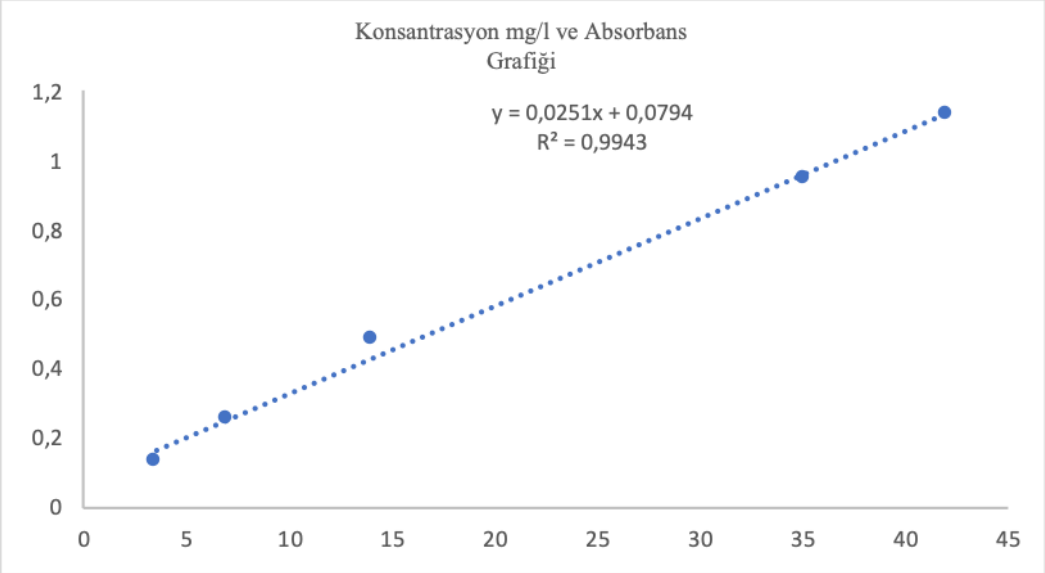
Yöntem 3.2.2.5'deki anlatıldığı şekilde PSC'un FTIR analizi 400-4000 cm^{-1} dalga boyu aralığında yapılmıştır. Spektrum Şekil 4-1'de verilmiştir.



Şekil 4-1: PSC'un FTIR Spektrumuna ait grafiği

4.1.3. UV Spektrofotometrede Miktar Tayini

3.2.1.3 bölümünde tarif edildiği gibi hazırlanan 6 farklı konsantrasyonda posakonazol çözeltisi kullanılarak kalibrasyon doğrusu çizilmiş ve regresyon analizi yöntemi kullanılarak doğru denklemi elde edilmiştir. Yapılan ölçüm sonucu hesaplanan kalibrasyon doğrusu denkleminin doğrusallığının kontrol edilmesi için "R" (regresyon katsayısı) değeri hesaplanmıştır. Kalibrasyon doğrusunun grafiği ve denklemi Şekil 4-2'de verilmiştir.



Şekil 4-2: Kalibrasyon doğrusu grafiği

Tablo 4-1: Doğrusalık verileri

Konsatrasyon mg/L	**Abs.**
3.504	**0.132**
7.008	**0.255**
14.016	**0.485**
35.04	**0.946**
42.048	**1.134**

4.1.4. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini

PSC'nin HPLC ile miktar tayini "3.2.1.3. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini" bölümünde anlatılan koşullarda analiz edilmiştir. PSC'ye ait örnek kromotogram Şekil 4-3'de gösterilmiştir. Kromotogramda da görüldüğü gibi, PSC'nin retansiyon zamanı 4,5 dakika olarak belirlenmiştir.

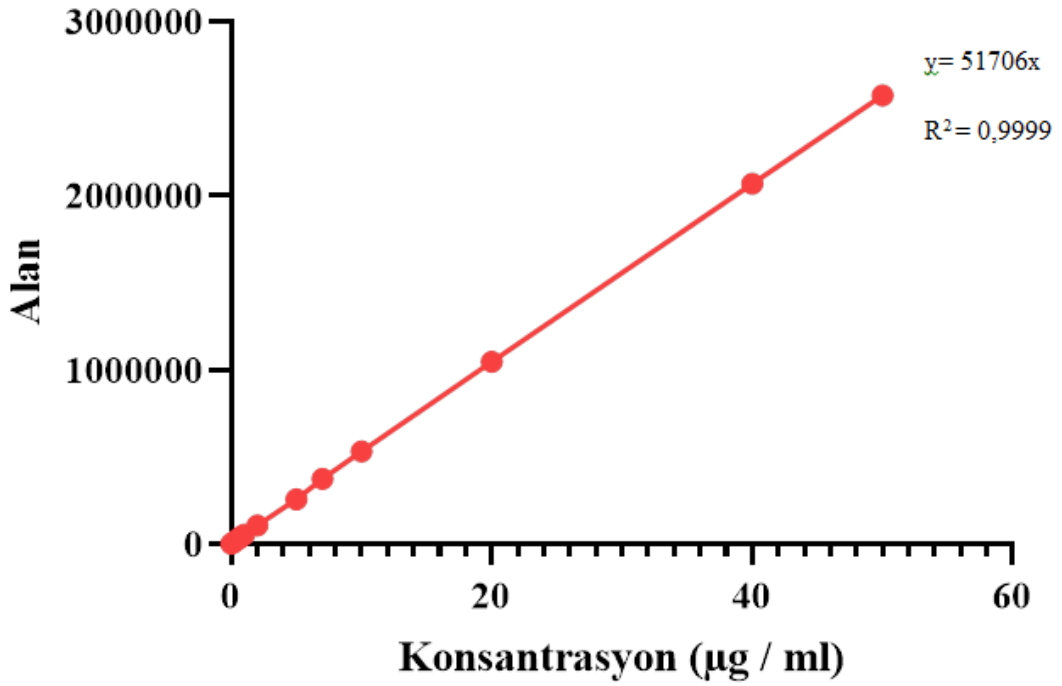


Şekil 4-3: PSC'ye (50 µg/mL) ait HPLC kromatogramı

Doğrusallık (Linearity): Bölüm 3.2.1.4.'te açıklandığı üzere, PSC'nin Metanol:Su (90:10) mobil faz içerisinde hazırlanan, 50 µg / ml ana stok ve 5 µg / ml ile 0,5 µg / ml konsantrasyonlardaki ara stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki (0,05 – 50 µg / ml) çözeltiler ile yapılmıştır. Tablo 4-2'de yer alan deney bulguları 15 farklı konsantrasyondaki PSC çözeltisinin hazırlanan 3'er ayrı örneğinin kendi içerisinde yapılmış 3'lü ölçümleri sonrası ortalama alınarak bulunmuştur. Bulgular incelendiğinde belirtilen konsantrasyon aralığında, konsantrasyon ile elde edilen pik alanları oranları arasında doğrusal ilişki saptanmış olup, regresyon analizi bulguları Şekil 4-4'te verilmiştir.

Tablo 4-2: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyonunun doğrusallık çalışmasına ait bulgular (n=3)

Stok Kodu	Konsantrasyon	SD (±)	RSD (%)
S1	0,05	43,7125	1,5985
S2	0,1	88,4251	1,5865
S3	0,15	32,9089	0,3963
S4	0,2	8,7368	0,0807
S5	0,25	115,8598	0,8614
S6	0,5	102,7886	0,3786
S7	0,7	92,6012	0,2453
S8	1	114,3843	0,2116
S9	2	65,6531	0,0620
S10	5	27,0000	0,0103
S11	7	45,3468	0,01216
S12	10	17,0000	0,0032
S13	20	76,7094	0,0073
S14	40	21,0079	0,0010
S15	50	54,0123	0,0021



Şekil 4-4: PSC'nin kalibrasyon doğrusu ve denklemi

Doğruluk: 0,05, 1 ve 50 µg / ml konsantrasyonlarda PSC çözeltilerinin miktar tayini için, Bölüm 3.2.1.4.'te açıklandığı üzere çalışılarak yöntemin doğruluğu tespit edilmiştir. Her bir konsantrasyon için 3'er örnek hazırlanarak bu örneklerin kendi içerisindeki 3'lü ölçümlerinin ortalaması alınmıştır. Her konsantrasyon için geri kazanma değeri (%), standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (%RSD) değerleri Tablo 4-3'de gösterilmiştir.

Tablo 4-3: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyonunun doğruluk çalışmasına ait bulgular (n=3)

Konsantrasyon	Geri Kazanma	Geri kazanma (%)	SD (±)	RSD (%)
0,05 µg / ml	0,0500 µg / ml	100,0529	31,5330	1,2190
1,0 µg / ml	1,0358 µg / ml	103,5869	38,7875	0,0718
50 µg / ml	50,0074 µg / ml	100,0149	72,2804	0,0080

Kesinlik:

- **Gün içi kesinlik:** Doğruluk çalışmasında anlatıldığı şekilde üç farklı konsantrasyonda (0,05, 1 ve 50 µg / ml) örnek hazırlanmıştır. Her konsantrasyondaki örnekler Bölüm 3.2.1.3.'te açıklandığı üzere 3'er kez analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki Tablo 4-4'te yer almaktadır.

Tablo 4-4: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyonunun günler içi kesinlik çalışmasına ait bulgular (n=3)

Konsantrasyon	Pik Alanları	SD (±)	RSD (%)
0,05 µg / ml	2644,2220	30,7961	1,1646
1,0 µg / ml	56561,0000	386,5259	0,6834
50 µg / ml	2731359,0000	716,5940	0,0262

- **Günler arası kesinlik:** Birinci gün yapılan gün içi kesinlik çalışmaları aynı şekilde 2. ve 3. günlerde tekrar yapılmıştır. Birinci, ikinci ve üçüncü gün sonuçlarının ortalamaları, SD ve % RSD değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar aşağıda Tablo 4-5'te yer almaktadır.

Tablo 4-5: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyonunun günler arası kesinlik çalışmasına ait bulgular (n=3)

Konsantrasyon	1. Gün	2. Gün	3. Gün	Ortalama	SD (±)	RSD (%)
0,05 µg / ml	2644,2220	2672,5660	2707,0000	2586,6667	31,5330	1,2190
1,0 µg / ml	56561,0000	56263,0000	55205,3300	53560,6700	712,4248	1,3301
50 µg / ml	2731359,0000	2816980,0000	2744578,0000	2585686,0000	46093,8084	1,7826

Seçicilik: Bölüm 3.2.1.4.'te anlatıldığı üzere yapılan HPLC çalışmalarında, oküler formülasyonlarda kullanılan tüm polimer, sürfaktan, antimikrobiyal koruyucu ve pH tampon ajanlarının etkin maddenin pik verdiği retansiyon süresi içerisinde pik vermediği tespit edilmiştir.

Duyarlılık: HPLC yönteminin duyarlılığının tespiti amacıyla tezin "3.2.1.4.Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini" bölümünde anlatıldığı üzere 0,0025, 0,005, 0,01, 0,02, 0,03 ve 0,04 µg / ml konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltiler HPLC'de analiz edilmiştir. Teşhis limiti 0,0025 µg / ml ve miktar tayin limiti 0.02 µg / ml olarak bulunmuştur**.**

Stabilite: Doğruluk çalışmasında anlatıldığı şekilde hazırlanan 1 µg /ml konsantrasyonda PSC çözeltisinin stabilitesine ait bulgular aşağıdaki Tablo 4-6'da yer almaktadır.

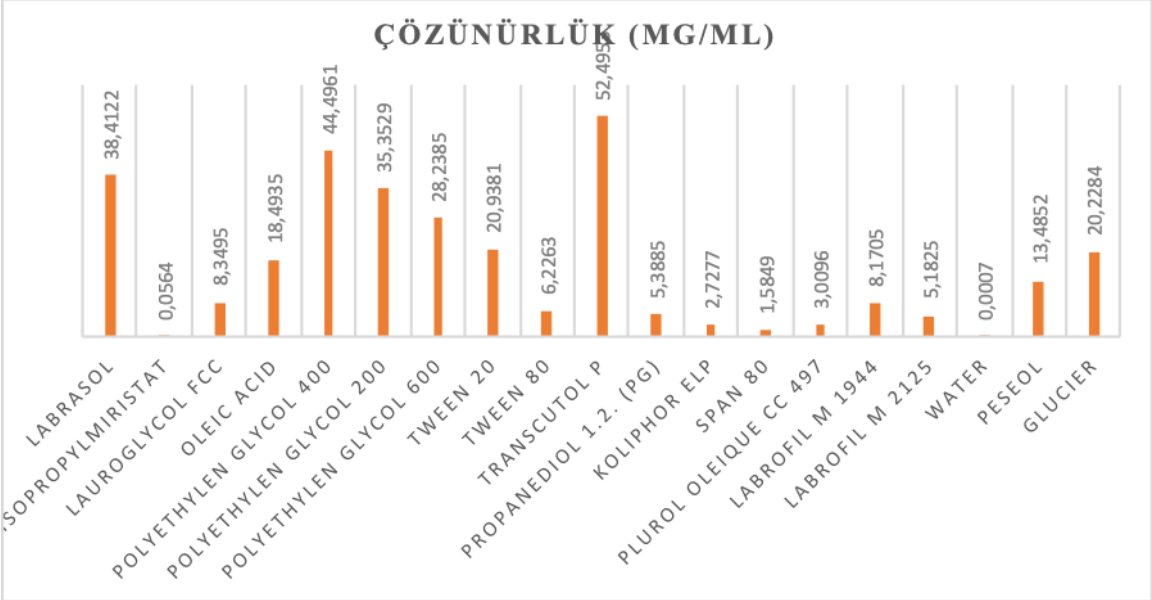
Tablo 4-6: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayininin stabilitesine ait bulgular (n=3)

Ölçüm Zamanı (saat)	Teorik Konsantrasyon (µg / ml)	Hesaplanan Konsantrasyon (µg / ml)
0	1	1,0359
1	1	1,0343
2	1	1,0356
4	1	1,0274
6	1	1,0349
8	1	1,0254
12	1	1,0181
24	1	1,0133
48	1	1,0012

4.1.5. Posakonazolün Çözünürlük Çalışmaları

4.1.5.1. Etkin Maddenin Mikroemülsiyon Bileşenlerindeki Çözünürlük Çalışmaları

Yöntem 3.2.1.5.'te anlatıldığı gibi posakonazolun mikroemülsiyon formülasyonuna giren farklı bileşenlerdeki çözünürlük çalışması yapılmış ve sonuçlar Şekil 4-5' te verilmiştir.



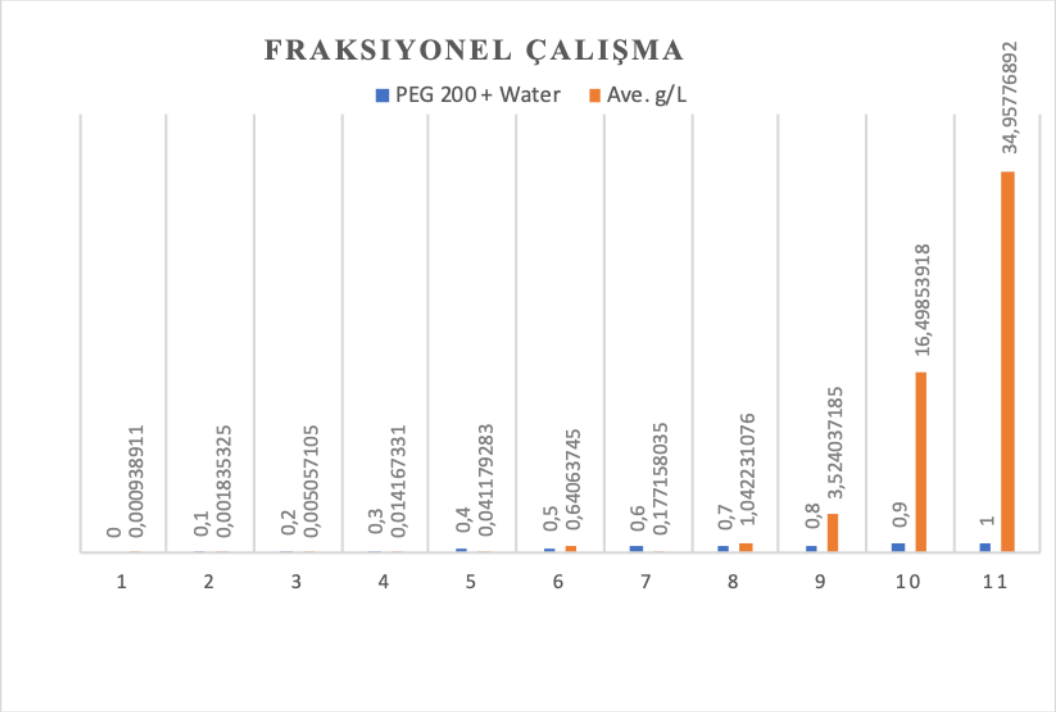
Şekil 4-5: Posakonazulun yardımcı maddelerdeki çözünürlüğü

4.1.5.2. Posakonazolün PEG 200 ve Su, PG ve Su ile Fraksiyonel Çözünürlük Çalışmaları

Yöntem 3.2.1.5.'te anlatıldığı gibi posakonazolun PEG 200 ve Su, PG ve Su içerisinde çözünürlük çalışması yapılmış ve sonuçlar Tablo 4-7, 4-8 ve Şekil 4-6 ve 4-7'de verilmiştir.

Tablo 4-7: Posaconazolun PEG 200 ve Su karışımındaki çözünürlüğüne ait miktarlar

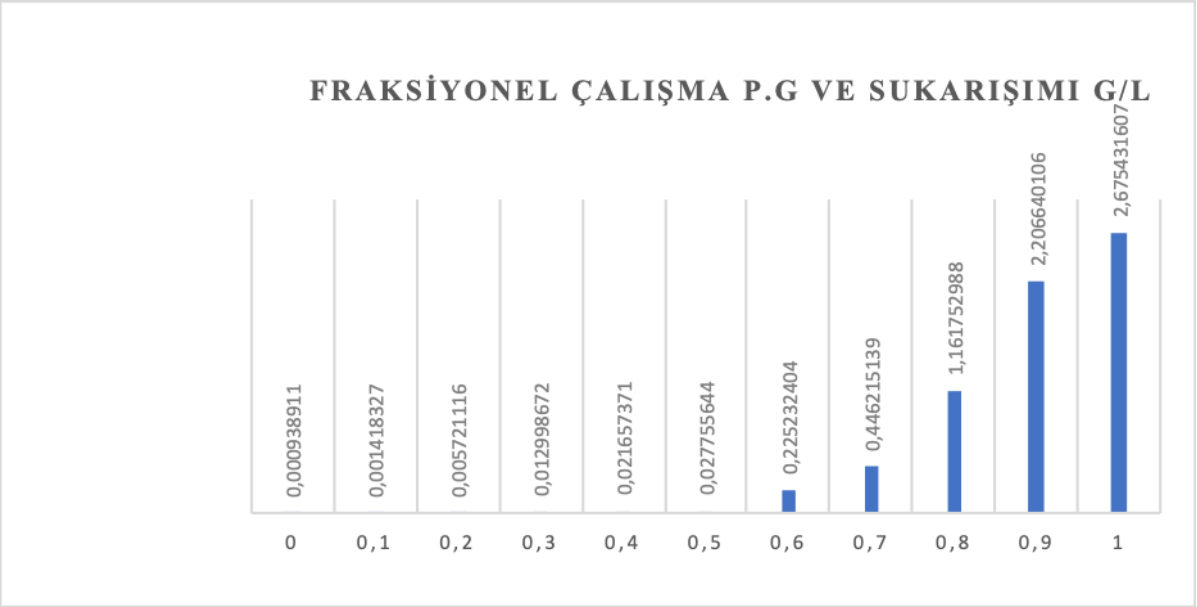
PEG - Su Karışımı	Çözünen PSC g / L
0	0.000938911
0.1	0.001835325
0.2	0.005057105
0.3	0.014167331
0.4	0.041179283
0.5	0.64063745
0.6	0.177158035
0.7	1.042231076
0.8	3.524037185
0.9	16.49853918
1	34.95776892



Şekil 4-6: Posakonazolün PEG 200 + Su karışımındaki çözünürlüğü (g / L)

Tablo 4-8: Posaconazolun PG ve Su karışımındaki çözünürlüğüne ait miktarlar (Fraksiyonel çalışmalar)

PG-Su Karışımı	Çözünen PSC miktarı (g/L)
0	0.000938911
0.1	0.001418327
0.2	0.005721116
0.3	0.012998672
0.4	0.021657371
0.5	0.027755644
0.6	0.225232404
0.7	0.446215139
0.8	1.161752988
0.9	2.206640106
1	2.675431607



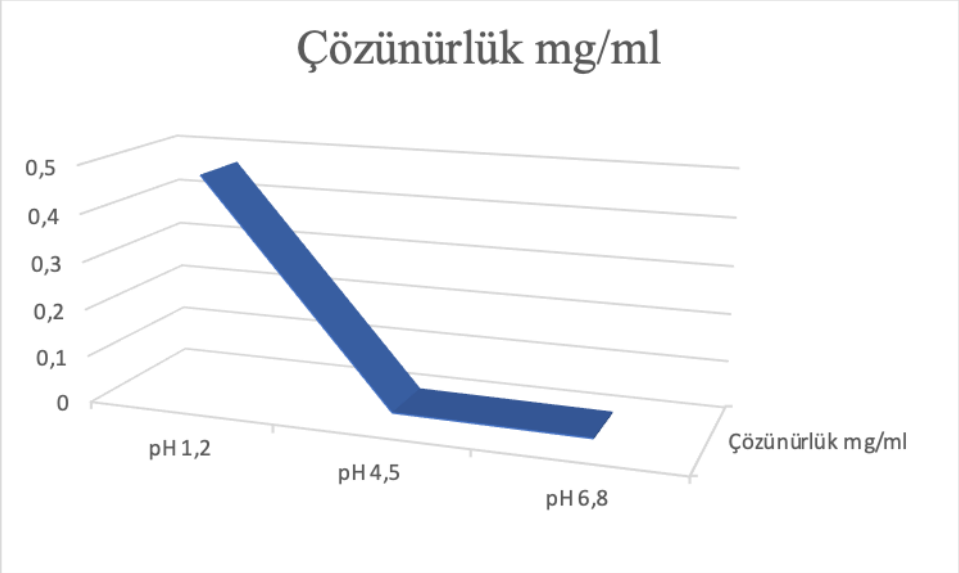
Şekil 4-7: Posaconazolün PG ve Su karışımındaki çözünürlüğüne ait grafik

4.1.5.3. Posakonazolün Farklı pH'lardaki Çözünürlük Çalışmaları

Yöntem 3.2.1.5.'te anlatıldığı gibi posakonazolun farklı pH'larda (pH 1,2; 4,5 ve 6,8) çözünürlük çalışması yapılmış ve sonuçlar Tablo 4-9 ve Şekil 4-8' de verilmiştir.

Tablo 4-9: Posakonazolun Farklı pH'larda Çözünürlüğüne ait miktarlar (mg/ml)

pH	Çözünürlük mg/ml
1,2	0,472
4,5	0,0087
6,8	0,005



Şekil 4-8: Posakonazolun farklı pH'larda çözünürlüğüne ait grafik

4.2. Posakonazol Mikroemülsiyon Formülasyon Çalışmaları

4.2.1. Ön Formülasyon Çalışmaları / Üçgen Faz Diyagramları

Kendiliğinden emülsifiye edici alanı belirlemek için su titrasyon yöntemi kullanılarak sahte üçgen faz diyagramı oluşturuldu. Tüketilen toplam su, % v/v cinsinden not edildi. Yağ/Sürfaktan oranının titrasyonu sırasında faz netliği için gözlemler yapıldı. Bulanıklıktan-şeffaflığa ve şeffaflıktan bulanıklığa geçişlerin meydana geldiği su konsantrasyonları bulundu. Bu değerler, seçilen yağ ve sürfaktan karışım oranının değerine karşılık gelen kendiliğinden emülsifiye olan bölgesinin sınırlarını belirlemek için kullanılmıştır (97). Bu sistem optimal bir bileşen oranı elde etmek için oluşturulmuştur.

Üçgen faz diyagramları, surfaktan, yağ ve sulu fazları farklı oranlarda birleştirerek düşük enerjili emülsiyonlar oluşturmanın sonuçlarını yorumlamak için yapılmıştır (72).

Sahte Üçgen Faz Şeması: Çözünürlük çalışmalarına dayanarak, yağ fazı olarak Oleik asit seçilmiştir. Labrasol ve Tween 80, sırasıyla sürfaktan ve Transcutol P yardımcı sürfaktan olarak seçildi. Sulu faz olarak distile su kullanıldı.

Sürfaktan ve kosurfaktan (Smix) farklı kütle oranlarında (1: 1, 1: 2, 2:1,…) karıştırıldı. Yağ ve Smix karışımı, değişen ağırlık / ağırlık oranlarında, örn. (1: 9, 2: 8, 3: 7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 ve 9:1) karıştırıldı. Yağ / Smix karışımı, damla damla, damıtılmış su ile titre edildi. Su / Yağ / Smix karışımı manyetik bir karıştırıcı ile karıştırıldı. Örnekler görsel gözlem ile kontrol edildi. Numune izotropik ve berrak bir çözelti ise, ME olarak tanımlandı; eğer numune bulanıksa veya faz ayrımı gösterirse, oluşan karışım bir ME değildi (25). Bu oranlar, yüzey aktif maddeye göre

artan sürfaktan konsantrasyonunda seçildi. Her faz diyagramı için, belirli bir oranda yağ ve Smix, farklı cam şişelerde farklı kütle oranlarında iyice karıştırıldı (1).

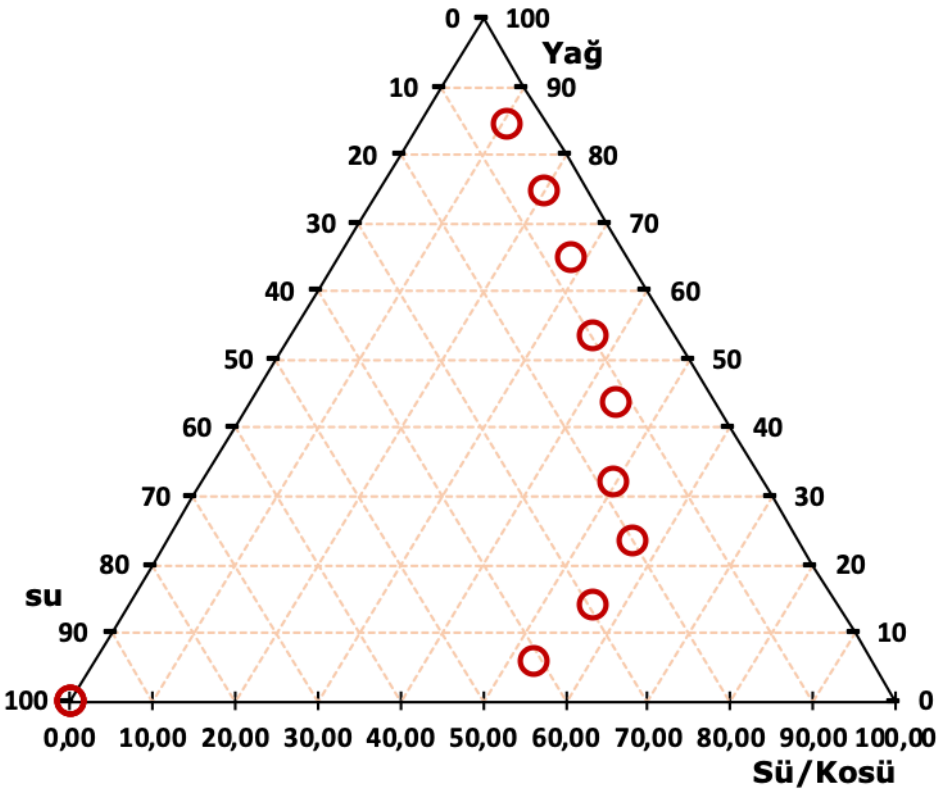
Farklı yağ ve Smix kombinasyonları, faz diyagramlarında tam olarak oluşturulan fazların sınırlarını tanımlamak için maksimum oranların kapsanması amacıyla yapıldı. Yağ, Smix ve sulu fazın sahte üçgen faz diyagramları sulu titrasyon yöntemi kullanılarak geliştirildi. Yağ ve Smix'in her bir kütle oranı için sulu faz ile yavaş titrasyon gerçekleştirildi, şeffaf ve kolayca akabilen Y/S mikroemülsiyonları için görsel gözlemler yapılmıştır.
Mikroemülsiyonların fiziksel durumları, bir ekseni sulu fazda, ikincisi yağda ve üçüncüsü sabit bir kütle oranında yüzey aktif madde ve kosurfaktan karışımını temsil eden sahte üç bileşenli faz diyagramında işaretlendi (1). Mikroemülsiyonlardaki bileşenlerin konsantrasyon aralığını belirleyebilmek için üçgen faz diyagramları yöntem 3.2.2.1.'de anlatıldığı gibi çalışılarak hazırlandı. Seçilecek mikroemülsiyon formülasyonları geliştirilirken yağ, sürfaktan, kosürfaktan ve bu maddelerin 1:9 ile 9:1 oran aralığında karışımları ile ön formülasyon çalışmaları yapıldı. Su içinde yağ mikroemülsiyonları hazırlanabilmesi için görünüm yönünden uygun ve su tutma kapasitesi en yüksek olan formülasyonlar değerlendirmeye alındı. Uygun olan formülasyonlar görsel olarak ve damlacık boyutu ile polidispersite indeksi açısından değerlendirildi.

4.2.1.1. Yağ fazı olarak Oleik asit, sürfaktan olarak Labrasol ve kosürfaktan olarak Transcutol P kullanılmış ve saf su ile oluşturulmuş faz diyagramları

Kosürfaktan olarak Transcutol P içeren formülasyonların su tutma kapasitelerinin daha yüksek olduğu görüldü. Yağ fazı, sürfaktan ve kosürfaktan olarak sırası ile, Oleik asit, Labrasol ve Transcutol P, S:KoS oranı 1:1 mikroemülsiyonların üçgen faz diyagramlarında kullanılan formülasyon bileşenleri ile miktarları Tablo 4-10'da, faz diyagramı Şekil 4-9'da gösterilmektedir.

Tablo 4-10: Yağ fazı oleik asit içeren, Labrasol: Transcutol P oranı 1:1 olan mikroemülsiyonlara ait üçgen faz diyagramlarının çizilebilmesi için kullanılan formülasyon bileşenleri ile yüzde miktarları

Yağ: S/KoS	Oleik asit	Labrasol:Transcutol P (1:1)	su
1:9	5.95	53	40.48
2:8	14.08	56.32	29.57
3:7	23.70	56.20	20.20
4:6	32.20	49.60	18.20
5:5	44	44	12
6:4	53.90	36.40	9.70
7:3	65.20	28	6.80
8:2	75	19.80	5.20
9:1	84.60	10.70	3.70

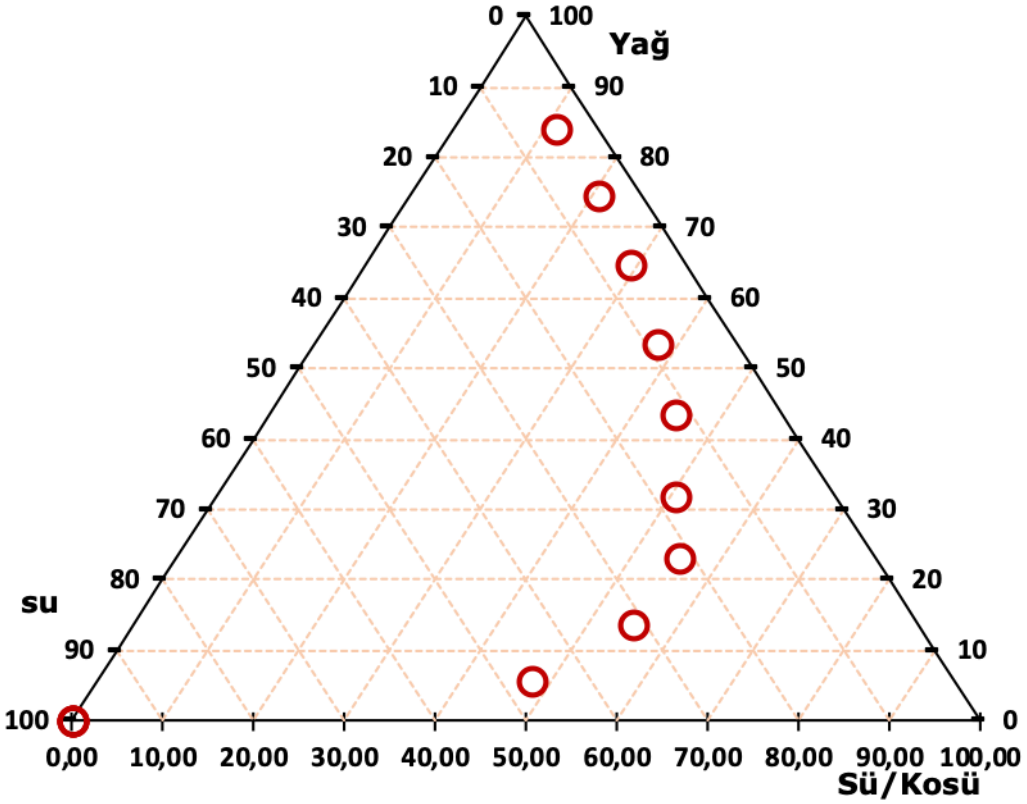


Şekil 4-9: Yağ fazı Oleik asit, Labrasol ve Transcutol P oranı 1:1 olan mikroemülsiyonlara ait üçgen faz diyagramı

4.2.1.2. Oleik asit yağ fazı olarak, Tween 20 sürfaktan olarak ve Transcutol P kosürfaktan olarak kullanılmış ve saf su ile faz diyagramları oluşturuldu. Mikroemülsiyonların üçgen faz diyagramlarında kullanılan formülasyon bileşenleri ile miktarları Tablo 4-11'de ve hazırlanan faz diyagramı sürfaktan:kosürfaktan oranları 1:1 olarak şekil 4-10'da gösterilmektedir**.**

Tablo 4-11: Yağ fazı Oleik asit, Tween 20:Transcutol P oranı 1:1 olan mikroemülsiyonlara ait üçgen faz diyagramlarının çizilebilmesi için kullanılan formülasyon bileşenleri ile yüzde miktarları (Grafiğe % İşaretinin eklenmesi hepsi mi ???)

Yağ:[S/KoS]	Oleik asit	Tween 20:Transcutol P 1:1	Su
1:9	5.35	48.16	46.49
2:8	13.5	55.16	31.34
3:7	23.1	55.35	21.55
4:6	31.6	50.75	17.65
5:5	43.4	44.95	11.65
6:4	53.3	37.75	8.95
7:3	64.6	29.25	6.15
8:2	74.4	20.85	4.75
9:1	84	11.35	4.65



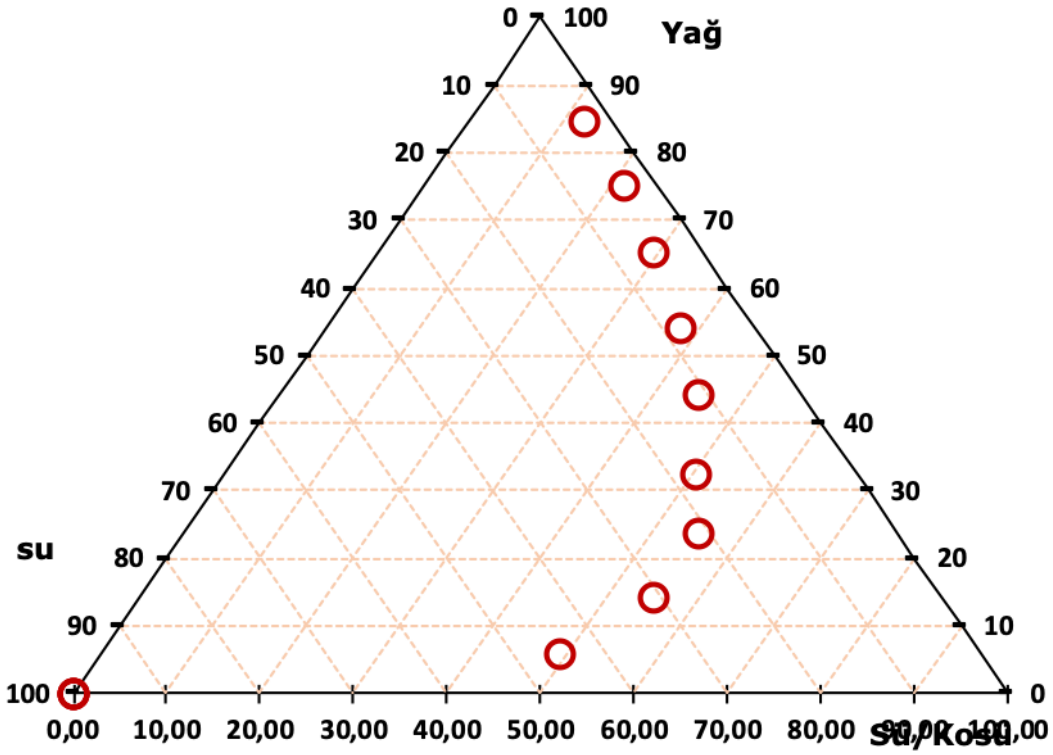
Şekil 4-10: Oleik asit, Tween 20 ve Transcutol P (1:1) içeren mikroemülsiyona ait üçgen faz diyagramı

4.2.1.3. Yağ fazı olarak Oleik asit, Labrasol ve Cremophor EL sürfaktan olarak ve Transcutol P kosürfaktan olarak kullanılmış ve saf su ile oluşturulmuş faz diyagramları

Bu mikroemülsiyonda S:KoS oranı 1:1, formülasyon bileşenleri ile miktarları Tablo 4-12'de ve şekil 4-11'de verilmiştir.

Tablo 4-12: Yağ fazı Oleik asit, Labrasol-Cremophor EL:Transcutol P oranı 1:1 olan mikroemülsiyonlara ait üçgen faz diyagramlarının çizilebilmesi için kullanılan formülasyon bileşenleri ile yüzde miktarları

Yağ:[S:KoS]	Oleik asit	Labrasol-Cremophor EL:Transcutol P	Su
1:9	5.97	48.97	45.06
2:8	14.1	54.97	30.93
3:7	23.75	55.15	21.1
4:6	32.25	50.55	17.2
5:5	44.12	44.95	10.93
6:4	53.95	37.95	8.1
7:3	65.26	29.55	5.19
8:2	75.12	21.35	3.53
9:1	84.72	12.25	3.03



Şekil 4-11: Oleik asit yağ fazı olarak, Labrasol-Cremophor El:Transcutol P oranı 1:1 olan mikroemülsiyonlara ait üçgen faz diyagramı

4.2.2. Etkin Madde Yüklenmemiş Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Optimizasyonu

Yöntem 3.2.2.2.'de anlatıldığı şekilde hazırlanan mikroemülsiyonların optimizasyonu için, su tutma kapasitesinin yüksek olmasına önem verildi. Yağ/ sürfaktan: kosürfaktan oranları 1:9, 2:8, 3:7 olacak şekilde çalışılarak S/Y mikroemülsiyonları hazırlandı ve su tutma kapasitesinin yüksek olmasına önem verildi. Hazırlanan formülasyonlar görsel olarak incelendi, berraklıklarını koruyan ve toplam %25-%50 aralığında su içeren mikroemülsiyon formüllerinin damlacık boyutu ve polidispersite indeksleri (PDI) ölçüldü. Bu ölçümlere ait bulgular Tablo 4-13, Tablo 4-14 ve Tablo 4-15'de verilmiştir.

Tablo 4-13: Tek sürfaktan ve kosürfaktan içeren mikroemülsiyonların damlacık boyutu ve dağılımı (PDI) sonuçları

Formül kodu	Damlacık boyutu (Z_{AVE}) (nm)	Polidispersite indeksi (PDI)
$OLC_{re\ EL}$ ax	192.9	0.487
$OLC_{re\ EL}$ cx	401.8	0.544
$OLC_{re\ RH\ 40}$ ay	502	0.627
OT80T ax	81.42	0.485
OT80T ay	85.73	0.411
OT80T az	185	0.307
OT80T by	105.1	0.564
$L_{ab}LC_{re\ EL}$ ay	423	0.593
OT80PG ax	145.2	0.477
OT80PG cy	443	0.485
$OT80PEG_{400}$ ax	197.8	0.385
OT80PG cy	443	0.485
OLPG ax	322.1	0.062
OLPG bx	864	0.021
OLPG ay	540.6	0.045
OT80PG ay	608.6	0.212
OT80PG by	877	0.186
OT80PG bx	692.2	0.185
OT20PG ax	193.6	0.499
OT20PEG ax	200.4	0.5
OT20PEG bx	159.5	0.180
C_{ap}LPG cy	183.9	0.478
C_{ap}LPG by	142	0.922
L_{au}LPG cy	182.7	0.047
İT80PG ax	34.87	0.478
İT80PG bx	58.77	0.377
İT80PG ay	55.39	0.638
İT80PG by	51.58	0.531
İT80PG cy	153.4	0.5
İT20PG ax	490.2	1
İT80T ax	21.09	0.392
İLT ax	53.72	0.421

OLT ax	63.61	0.182
OT80T ax	95.46	0.46
C_{as}T80T ax	186.5	0.344

Tablo 4-14: İki sürfaktan içeren mikroemülsiyonların damlacık boyutu ve dağılımları (PDI)

Formül kodu	Damlacık boyutu (nm)	Polidispersite indeksi
OT80C_{re}T ax	95.46 ± 5	0.468 ± 0.03
OT20T80T ax	175	0.863
OT20C_{re}T ax	58.61 ± 4.5	0.630 ± 0.3
OLC_{re}T ax	101.4 ± 1	0.287 ± 0.01
OLC_{re}T ay	315.1 ± 1.3	0.145 ± 0.03

Tablo 4-15: İki kosürfaktan içeren mikroemülsiyonların damlacık boyutu ve dağılımları (PDI)

Formül kodu	Damlacık boyutu (nm)	Polidispersite indeksi
OT20TPEG_{400} ax	154.2 ± 4	0.287 ± 0.015
OT20TPEG_{400} cx	126 ± 1.3	0.450 ± 0.04

Formülasyon çalışmaları verileri doğrultusunda, posaconazol formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddeler içinde yöntem 3.2.2.2 de anlatıldığı gibi çözündürüldü ve en yüksek çözündürme kapasitesine sahip olan maddeler aşağıda verilen sıraya göre tespit edildi:

Transcutol P> PEG 400> Labrasol > PEG 600 > PEG 200 > Tween 20 > Oleic asit > Lauroglycol FCC > Tween 80 > PGn şeklindedir.

En yüksek çözündürme kapasitesine sahip yağ fazı Oleik asit ile hazırlanan S:KoS oranı sırasıyla 1:1, 1:2 ve 2:1 olan mikroemülsiyonlarla [OLT ax, OT20T ax, OT20T bx, OT80T bx, OT80Tax, OT20TPEG_{400} ax,OT20TPEG bx, OLC_{re}T ax, OLC_{re}T bx, OT80C_{re}T ax, OT20C_{re}T ax] çalışmaya karar verildi.

Oleik asit bir yağ asitidir ve yaygın olarak mikroemülsiyon formülasyonlarında kullanılmaktadır. Bu bilgiye dayanarak, Posakonazol'ün de en çok bu yağ aside içerisinde çözündüğü gözönünde bulundurularak yağ fazı oleik asit olan mikroemülsiyonlar

değerlendirildi. Posakonazol sürfaktanlardan en çok Labrasol, PEG 400, T20, T80'da ve kosürfaktanlarda en yüksek çözünürlüğü Transcutol P'de saptandı.

Yöntem 3.2.3 ve 3.2.4'te anlatıldığı gibi, formülasyon optimizasyon çalışmaları kapsamında yapılan çözünürlük çalışması için, mikroemülsiyonlar su tutma kapasitesine, damlacık boyutu ve dağılımlarına, piklerinin yüksekliklerine, fiziksel görünümlerine ve üçgen faz diyagramlarında mikroemülsiyon oluşum alanlarına göre değerlendirilmiştir. Bu kriterler göre seçilen mikroemülsiyonlar Tablo 4-16, Tablo 4-17 ve Tablo 4-18'de gösterilmektedir.

Tablo 4-16: Seçilen tek sürfaktanlı ve tek kosürfaktanlı mikroemülsiyonlara ait formülasyon bileşenlerinin yüzdeleri

Formülasyon Bileşenleri	**OLT ax**	**OT20T ax**	**OT20T bx**	**OT80T bx**	**OT80T ax**
Oleik asit	5.72	5.20	5	5.67	6.097
Labrasol	25.77	-	-	-	-
Tween 20	-	23.43	15	-	-
Tween 80	-	-	-	17	27.44
Transcutol P	25.77	23.43	30	34	27.44
Su	k.m.100	k.m. 100	k.m. 100	k.m. 100	k.m. 100

Tablo 4-17: Seçilen iki sürfaktanlı mikroemülsiyonlara ait formülasyon bileşenlerinin yüzdeleri

Formülasyon Bileşenleri	**OLCreT ax**	**OLCreT bx**	**OT80CreTax**	**OT20CreT ax**
Oleik asit	4.31	4.9	6.57	5.52
Labrasol	9.72	7.35	-	-
Tween 20	-	-	-	12.42
Tween 80	-	-	14.80	-
Cremophor EL	9.72	7.35	14.80	12.42
Transcutol P	19.43	29.41	29.61	24.83
Su	k.m. 100	k.m. 100	k.m. 100	k.m. 100

Tablo 4-18: Seçilen iki kosürfaktanlı mikroemülsiyonlara ait formülasyon bileşenlerinin yüzdeleri

Formülasyon bileşenleri	OT20TPEG ax	OT20TPEG bx
Oleik asit	6.59	6.41
Tween 20	29.68	19.23
Transcutol P	14.84	19.23
PEG	14.84	19.23
Su	k.m. 100	k.m. 100

4.2.3. Posakonazol Yüklenmiş Mikroemülsiyonların Optimizasyon Çalışmaları

Boş mikroemülsiyon formülasyonlarına yöntem 3.2.2.3 bölümünde anlatıldığı gibi PSC yüklenmiştir. Posakonazol yüklü mikroemülsiyonların formülasyonlarına verilen kodlar Tablo 4-19'da verilmiştir.

Tablo 4-19: Etkin madde yüklenmiş mikroemülsiyonların kodlanması

Seçilen Boş Mikroemülsiyonların Kodlaı	Etkin Madde Yüklenmiş Mikroemülsiyonların Kodları
OLT ax	P.1 OLT ax
OT20T ax	P.2 OT20T ax
OT20T bx	P.3 OT20T bx
OT80T bx	P.4 OT80T bx
OT80T ax	P.5 OT80T ax
OT20TPEG ax	P.6 OT20TPEG ax
OT20TPEG bx	P.7 OT20TPEG bx
OLCreT ax	P.8 OLCreT ax
OLCreT bx	P.9 OLCreT bx
OT80CreT ax	P.10 OT80CreT ax
OT20CreT ax	P.11 OT20CreT ax

Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi

Kendiliğinden emülsifiye olan yöntemle hazırlanan mikroemülsiyonların damlacık boyutu, ilacın sistemik emilimden sonra salınması için kritik öneme sahiptir (37). Damlacık

boyutundaki artışın, formülasyondaki artan yağ konsantrasyonu ile ilişkili olduğu iyi bilinmektedir. Geleneksel olarak düşük polidispersite indeksi dağınık sistemin daha fazla homojenliğini gösterir (37). Ayrıca, nano boyutlu sistemleri lipofilik ilaçların uzun süreli stabilitesi, hazırlanma kolaylığı, çözünürlüğü ve gelişmiş oral biyoyararlanımı, onu potansiyel bir ilaç verme aracı haline getirir (37). Damlacık çapındaki azalma, yağ-su ara yüzeyinde sürfaktanın artmasından veya yağ fazından sulu faza difüze olan sürfaktan miktarındaki artıştan kaynaklanan arayüzey gerginliğindeki azalmayla açıklanabilir (72). Ölçüm sonuçları Tablo 4-20'de verilmektedir.

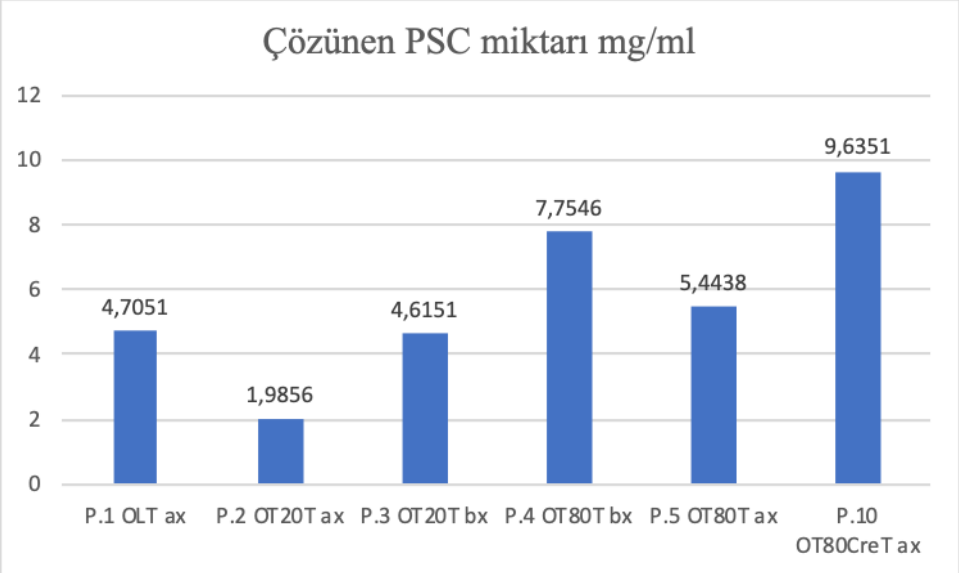
Tablo 4-20: Posakonazol yüklü mikroemülsiyonların Damlacık Boyutu ve PDI değerleri

Formülasyon kodu	**Boş Mikroemülsiyonlar**		**Yüklü Mikroemülsiyonlar**	
	Damlacık boyutu (nm)	**PDI**	**Damlacık boyutu (nm)**	**PDI**
P.1 OLT ax	79.29 ± 0.06	0.139 ± 0.05	81.66 ± 0.2	0.135 ± 0.03
P.2 OT20T ax	57.86 ± 0.3	0.455 ± 0.03	53.68 ± 0.3	0.350 ± 0.02
P.3 OT20T bx	90.68 ± 0.01	0.282 ± 0.006	120 ± 2	0.389 ± 0.02
P.4 OT80T bx	81.69 ± 1	0.383 ± 0.01	70.8 ± 2	0.501 ± 0.01
P.5 OT80T ax	62.19 ± 0.3	0.529 ± 0.02		
P.6 OT20TPEG ax	201 ± 1	0.272 ± 0.01	215 ± 2	0.260 ± 0.01
P.7 OT20TPEG bx	806 ± 0.2	0.066 ± 0.03	858 ± 2	0.114 ± 0.02
P.8 OLCreT ax	99.55 ± 1	0.383 ± 0.12	105 ± 0.1	0.289 ± 0.01
P.9 OLCreT bx	210 ± 1	0.145 ± 0.03	214 ± 2	0.151 ± 0.001
P.10 OT80CreT ax	78.20 ± 1	0.534 ± 0.01	84.16 ± 1	0.519 ± 0.03
P.11 OT20CreT ax	81.97 ± 0.1	0.504 ± 0.01	85.16 ± 0.4	0.496 ± 0.01

PSC yüklenen mikroemülsiyon formülasyonlarındaki çözünmüş PSC miktarının bulunması için yöntem 3.2.2.3 bölümünde anlatıldığı gibi mikroemülsiyonlar 10 dakika 7500 rpm'de santrifüj edildi. Daha sonra supernatant başka mikrotublara alınarak yeniden 10 dk santrifüj edildi. Son olarak supernatant alınarak her bir mikroemülsiyon için UV Spektrofotometre kullanarak yöntem 3.2.1.3'te belirtildiği gibi 262 nm dalga boyunda absorbansları okunarak ve absorbansları üzerinden her birinde çözünen posakonazol miktarı hesaplandı. Çözünen miktarlar ve grafikleri Tablo 4-21, şekil 4-12'de verilmiştir.

Tablo 4-21: Optimizasyon çalışması esnasında seçilen mikroemülsiyonlarda PSC'un çözünen miktarı

Mikroemülsiyonların kodları	Çözünen Posakonazol Miktarı mg/ml
P.1 OLT ax	4,7051
P.2 OT20T ax	1,9856
P.3 OT20T bx	4,6151
P.4 OT80T bx	7,7546
P.5 OT80T ax	5,4438
P.10 OT80CreT ax	9,6351



Şekil 4-12: Optimizasyon çalışmasında mikroemülsiyonlarda PSC'un çözünen miktarı (mg/ml)

Hazırlanan boş ve PSC yüklü mikroemülsiyon formülasyonları ile önstabilite çalışması yapılarak uygun olan formülasyonlar belirlendi. 25±2°C, %60±5 bağıl nem ve 40±2°C, %75±5 bağıl nem koşullarına sahip stabilite kabinlerine kaldırılarak 4 ay boyunca takip edilen formülasyonlara ait bulgular aşağıda verilmiştir.

4 ay boyunca takibi yapılan mikroemülsiyonların tamamında yağ fazı olarak oleik asit kullanıldı ve bu yağ sarı bir yağ olduğu için birkaç formülasyonun 40 °C'de sarımtırak renkte göründüğü gözlemlendi. Diğerlerinin saydam ve homojen görünümlü oldukları görüldü. Mikroemülsiyonlarda bulanıklık ve faz ayrımı görülmedi. Bu sonuçlar Tablo-22'de ve Tablo-23'de verilmektedir.

Tablo 4-22: Etkin madde yüklenmemiş mikroemülsiyonların 4 ay boyunca stabilite kabininde bekletildikten sonra görsel açıdan değerlendirilme sonuçları

Formülasyon kodu	Birinci ayın sonunda		İkinci ayın sonunda		Üçüncü ayın sonunda		Dördüncü ayın sonunda	
	25° C	40°C ve % 75 RH	25°C	40°C ve % 75 RH	25°C	40°C ve % 75 RH	25°C	40°C ve % 75 RH
OLT ax	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak
OT20T ax	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak
OT20T bx	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak
OT80T bx	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak
OT80T ax	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak
OT20TPEG ax	Berrak	Berrak sarımtrak	Berrak	Berrak sarımtrak	Berrak	Berrak sarımtrak	Berrak	Berrak sarımtrak
OT20TPEG bx	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak
OLCreT ax	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak
OLCreT bx	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak
OT80CreT ax	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak
OT20CreT ax	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak

Tablo 4-23: Etkin madde yüklenmiş mikroemülsiyonların 4 ay stabilite kabininde bekledikten sonra görsel açıdan değerlendirilme sonuçları

Formülasyon kodu	Birinci ayın sonunda		İkinci ayın sonunda		Üçüncü ayın sonunda		Dördüncü ayın sonunda	
	25° C	40°C ve % 75 RH	25°C	40°C ve % 75 RH	25°C	40°C ve % 75 RH	25°C	40°C ve % 75 RH
P.1 OLT ax	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak
P.2 OT20T ax	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak
P.3 OT20T bx	Berrak	Berrak çk az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak
P.4 OT80T bx	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak
P.5 OT80T ax	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak
P.6 OT20TPEG ax	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak
P.7OT20TPEG bx	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak
P.8 OLCreT ax	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak
P.9 OLCreT bx	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak

P.10OT80CreT ax	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak
P.11OT20CreT ax	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak

Elde edilen bu sonuca göre seçilen mikroemülsiyon formülasyonlarının bileşimleri Tablo 4-24'te verilmitir.

Tablo 4-24: Seçilen mikroemülsiyonların bileşenleri ve oranları

Formülasyon Kodu	Yağ (% a/a)	Sürfaktan (% a/a)		Kosürfaktan (% a/a)		Su (% a/a)
P.1	Oleik asit % 5,72	Labrasol % 25,77		Transctol P % 25,77		Su % 42,73
P.3	Oleik asit % 5,37	Tween 20 % 16,13		Transcutol P % 32,26		Su 46,26
P.6	Oleik asit % 5,79	Tween 20 % 26,07		Transcutol P % 13,036	PEG 400 % 13.036	Su % 42,06
P.8	Oleik asit % 5,36	Labrasol % 12,06	Cremophor EL % 12,06	Transcutol P % 24,12		Su % 46,41
P.9	Oleik asit % 6,19	Labrasol % 18,59	Cremophor EL % 18,59	Transcutol P % 37,18		Su %38,03

4.3. Etkin Madde Yüklü Mikroemülsiyonların Karakterizasyon Çalışmaları

Optimizyonu yapılan mikroemülsiyonların fiziksel görünümleri, pH'sı, damlacık boyutları, polidispersite indeksi (PDI), zeta potansiyeli ve fiziksel stabiliteleri değerlendirildi.

4.3.1. Fiziksel Görünüş

Nanoemülsiyonlar/Mikroemülsiyonlar, termodinamik açıdan kararsız sistemlerdir ve emülsiyon sistemlerinin kararlılığı çok farklı şekillerde bozulabilmektedir. Bunlar Ostwald damlacık büyümesi, koalesans, kremalaşma, sedimentasyon (çökme), flokülasyon ve faz değişimidir (27). Ostwald Damlacık Büyümesi, emülsiyonda, dağılmış halde bulunan küçük damlacıkların zaman içerisinde çözünmesi ve içeriklerinin daha büyük damlacıklara taşınmasıdır. Emülsiyon damlacık çapının giderek büyümesine neden olmaktadır (27). Koalesans, sürekli fazda filmlerin parçalanmasına ve iki damlacığın birleşip daha büyük tek bir damlacığa dönüşmesine neden olmaktadır. Geri dönüşümlü bir durum değildir. Yüzeyler arası filmin yapısı ile ilgilidir (27). Kremalaşma/ sedimentasyon, çökme (sedimentasyon), iç faz damlacıklarının aşağıya doğru göç etmesi olarak tanımlanırken, kremalaşma bu durumun tersine iç faz damlacıklarının yukarıya doğru göç etmesidir. Entropik kaynaklı kuvvetlerin neden olduğu Brownian hareketi, uzun bir süre tanecikleri asılı şekilde korumaktadır (27). Flokülasyon, emülsiyonda dağılmış halde bulunan damlacıkların bir araya gelmesi olarak ifade edilen flokülasyon, geri dönüşümlü ve çoğunlukla kabul edilebilir bir durumdur (27). Faz Değişimi, emülsiyonun faz dönüşümüdür. Fazların oranının ve diğer bazı faktörlerin etkili olduğu bir durumdur. Uygun yüzey aktif maddelerin yeterli konsantrasyonda kullanılması ile faz değişimi riski en aza indirilebilmektedir (27).

Görünüm: Mikro ölçekli emülsiyonlar genelde görünür ışığın güçlü bir şekilde çoklu saçılımına neden olmaktadırlar. Bu yüzden beyaz bir görünüme sahiptirler. Genelde ürün görünümü, ürünün mikro yapısına ve bileşimine bağlıdır. Ürünün görünümü, ürünün görünür ışıkla etkileşime girme yoluna bağlı olarak değişmektedir. Nanoemülsiyonlardaki yapıların görünür dalga boylarından daha küçük olmasına bağlı olarak nanoemülsiyonlar optik olarak transparan görünürler. Tüm hacim fraksiyonları için görünür spektrumda geçiş hemen hemen %100'dür. Buna karşın ultraviyole spektrumda, ışığın dalga boyu taneciğin yarıçapına yaklaştıkça nanoemülsiyonlar ışığı önemli ölçüde saçarlar (27).

Boş ve PSC yüklü mikroemülsiyon formülasyonları fiziksel görünüşleri, homojenite ve renk özellikleri açısından oda sıcaklığında değerlendirildikten sonra iki stabil kabinine birisi 25°C ± 2°C, %60 ± 5 RH diğeri 40°C ± 2°C ve %70 ± 5 relatif nemde 4 ay boyunca bekletildiler ve her ayın sonunda fiziksel görünüş değerlendirildi.

4.3.2. pH

Seçilen boş ve PSC yüklü mikroemülsiyon formülasyonlarının pH değeri Tablo 4-25'de verilmiştir.

Tablo 4-25: Seçilen boş ve PSC yüklü mikroemülsiyonların 25°C'deki pH değerleri

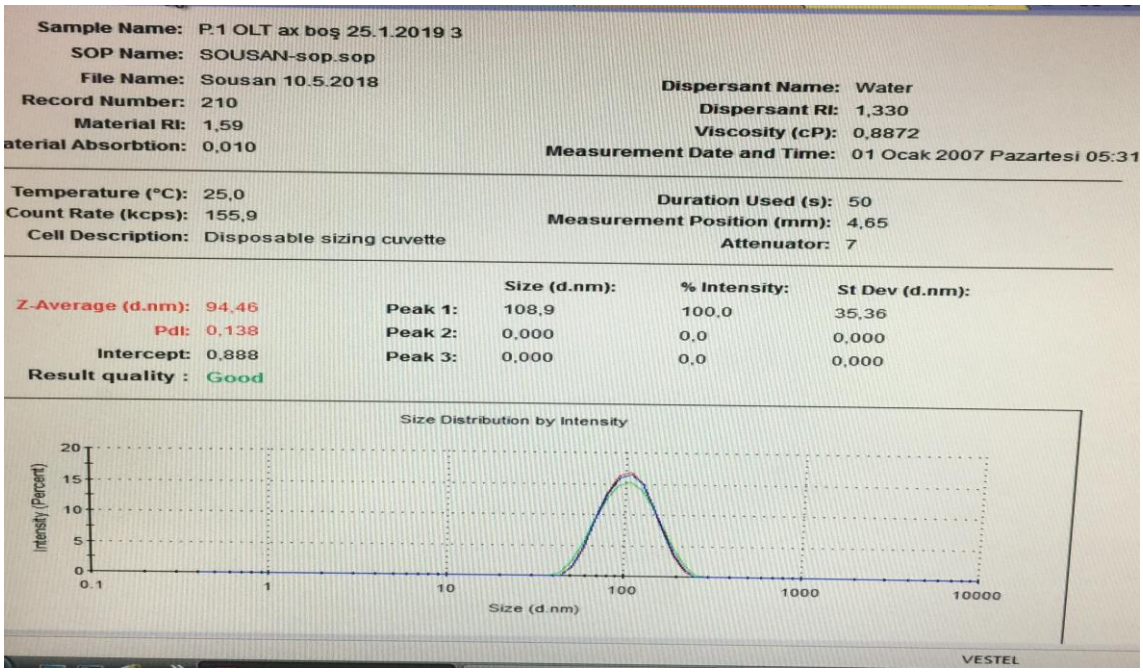
Formülasyon Kodu	pH Boş Mikroemülsiyonlar	pH Posaconazol Yüklü Mikroemülsiyonlar
P.1	3.91 ± 0,04	3.93 ± 0,04
P.3	4,83 ± 0,15	4,87 ± 0,15
P.6	4,96 ± 0,2	4,86 ± 0,21
P.8	4,16 ± 0,15	4,31 ± 0,15
P.9	4,29 ± 0,08	4,4 ± 0,08

4.3.3. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi

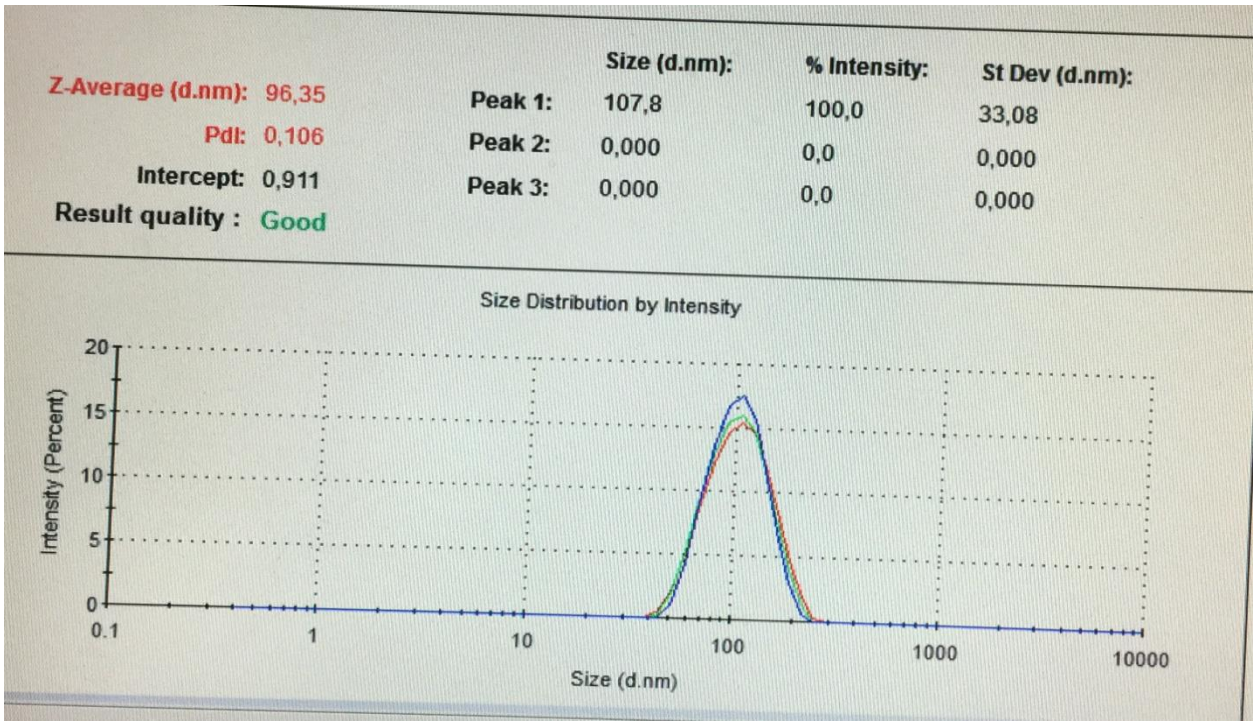
Seçilen boş ve PSC yüklü mikroemülsiyon formülasyonlarının damlacık boyutu ve polidispersite indeksi Tablo 4-26'da verilmiştir. Ayrıca damlacık boyutu dağılımını ve PDI'I gösteren grafikler şekil 4-13, 4-14, 4-15, 4-16 ve 4-17'de verilmiştir.

Tablo 4-26: Seçilen boş ve PSC yüklü **mikroemülsiyonların damlacık boyutları ve PDI değerleri**

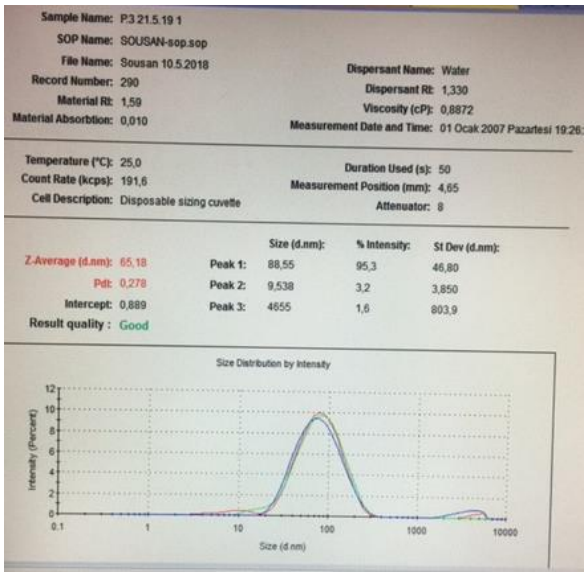
Formülasyon Kodu	Boş Mikroemülsiyonlar Damlacık Boyutu ve PDI **(±SD)**		Etkin Madde Yüklü Mikroemülsiyonlar Damlacık Boyutu ve PDI **(±SD)**	
	Damlacık Boyutu (d.nm)	PDI	Damlacık Boyutu (d.nm)	PDI
P.1	94,46 ± 0,22	0,138 ± 0,009	96,35 ± 0,73	0,120 ± 0,009
P.3	63,67 ± 0,69	0,280 ± 0,01	65,18 ± 0,83	0,283 ± 0,02
P.6	120,2 ± 1,2	0,394 ± 0,008	120,8 ± 1	0,355 ± 0,005
P.8	93,74 ± 0,53	0,297 ± 0,004	96,8 ± 0,5	0,359 ± 0,008
P.9	150,9 ± 1	0,183 ± 0,002	151,5 ± 1,1	0,185 ± 0,003



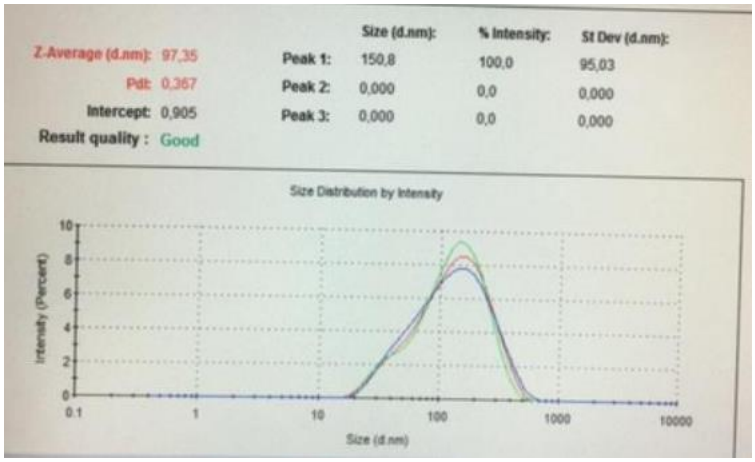
Şekil 4-13: P.1 Boş mikroemülsiyonun partikül büyüklüğü ve PDI dağılımı grafiği



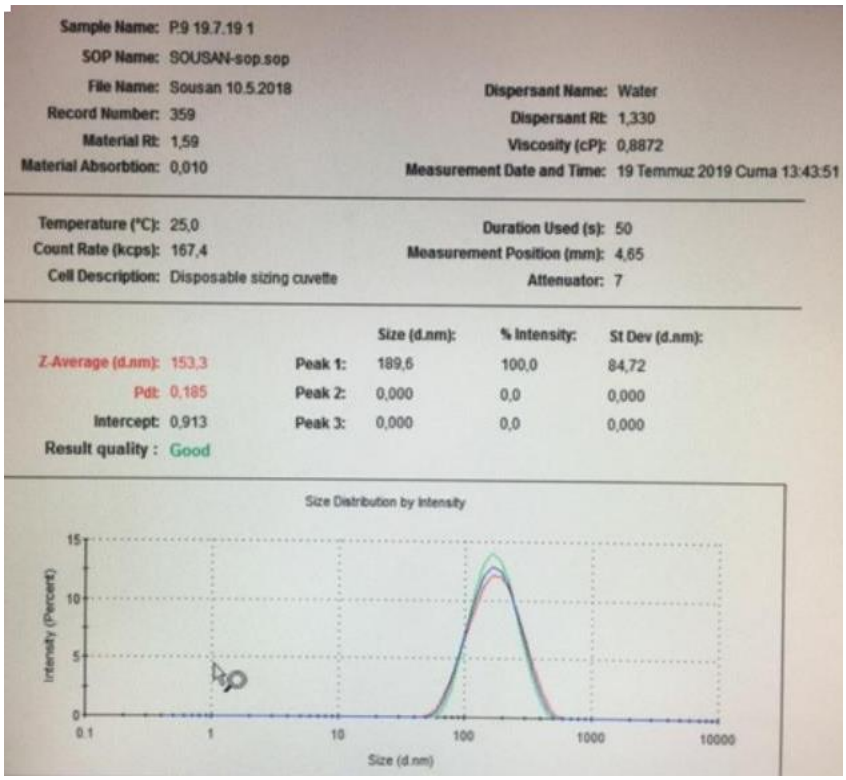
Şekil 4-14: P.1 PSC yüklü mikroemülsiyonun partikül büyüklüğü ve PDI dağılımı grafiği



Şekil 4-15: P.3 PSC yüklü mikroemülsiyonun partikül büyüklüğü ve PDI dağılımı grafiği



Şekil 4-16: P.8 PSC yüklü mikroemülsiyonun partikül büyüklüğü ve PDI dağılımı grafiği



Şekil 4-17: P.9 PSC yüklü mikroemülsiyonun partikül büyüklüğü ve PDI dağılımı grafiği

4.3.4. Zeta Potansiyeli

Seçilen boş ve PSC yüklü mikroemülsiyon formülasyonlarının zeta potansiyel değeri Tablo 4-27'de verilmiştir.

Tablo 4-27: Seçilen boş ve PSC yüklü mikroemülsiyonların zeta potensiyeli

Formülasyon Kodu	Zeta potensiyel (mv) Boş Mikroemülsiyonlar	Zeta Potensiyel (mv) Posaconazol Yüklü Mikroemülsiyonlar
P.1	- 0,0443 ± 0,2	- 0,033 ± 0,1
P.3	- 0,237 ± 0,04	- 0,157 ± 0,02
P.6	- 0,262 ± 0,2	-0,125 ± 0,05
P.8	0,232 ± 0,03	0,152 ± 0,08
P.9	0,270 ± 0,06	0,432 ± 0,02

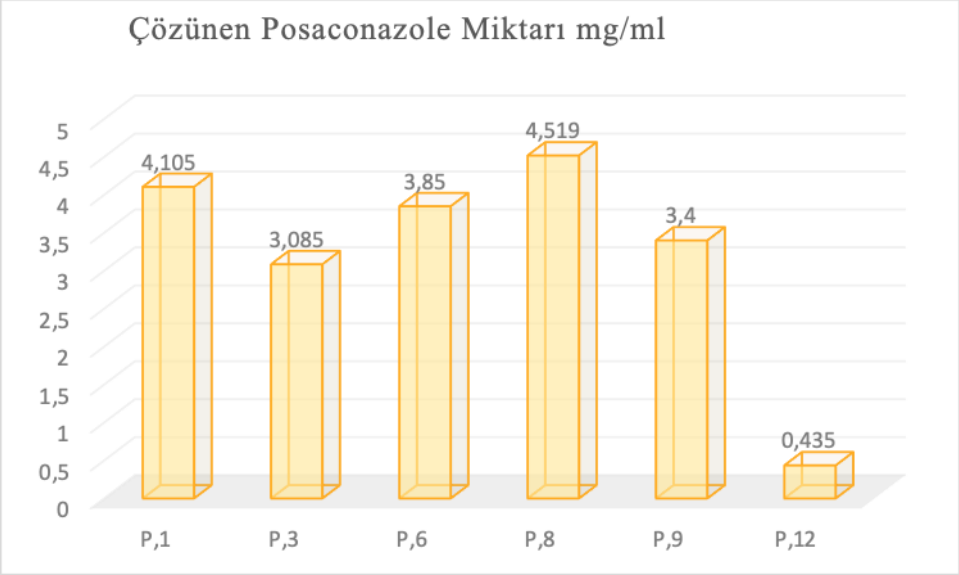
4.3.5. Seçilen Formülasyonlarda Çözünen PSC Miktarının Hesaplanması

Yöntem 3.2.3.5'te anlatıldığı gibi her bir boş mikroemülsiyondan 1 ml alınarak üzerlerine etkin maddeden aşırı miktarde eklendi. Bu durumda PSC'un aşırı doymuş çözeltileri elde edildi ve

hazırlanan flakonlar 48 saat süre ile çalkalayıcıda çalkalamaya bırakıldılar, 48 saat sonra numuneler alınarak 7000 rpm'de 15 dk sanrifuj edildi. Daha sonra üstte kalan supernatant alınarak mikrotublara yerleştirildi ve yeniden 10 dk 7000 rpm'de sanrifuj edildi. Bunlardan alınan miktar ise %96'lık etanolle seyreltildi ve UV Spektrofotometrede 262 nm dalga boyunda absorbansları ölçüldü. PSC'nin seçilen mikroemülsiyonlar içerisindeki çözünürlüğüne ait elde edilen sonuçlar Tablo 4-28'de ve şekil 4-18'de verilmiştir.

Tablo 4-28: Posakonazolun seçilen mikroemülsiyonlarda çözünürlüğü mg/ml

PSC yüklü mikroemülsiyon kodu	Mikroemülsiyonlarda PSC'un Aşarı Çözünen Miktarı mg/ml
P.1	4,105
P.3	3,085
P.6	3,85
P.8	4,519
P.9	3,4
P.12	0,435



Şekil 4-18: Posakonazolun P.1, P.3, P.6, P.8, P.9 ve P.12'de çözünen miktarı (mg/ml)

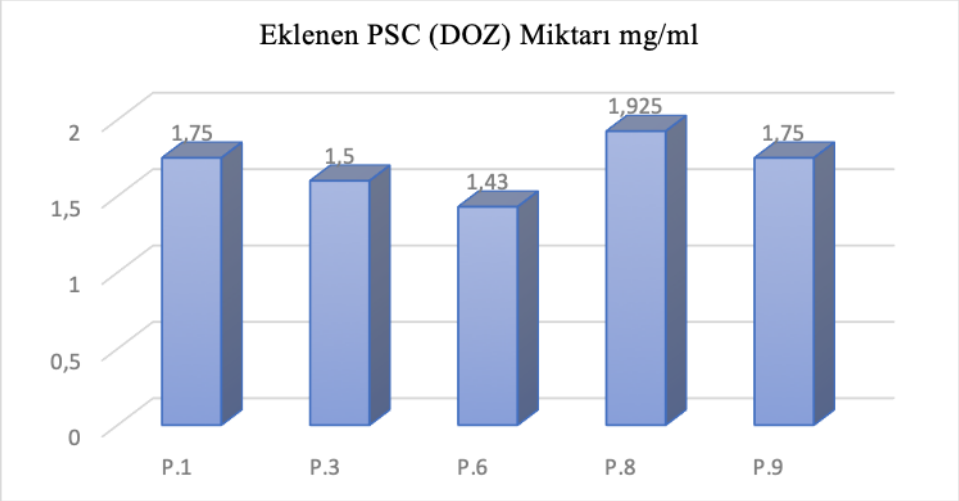
4.3.6. Seçilen Mikroemülsiyonlara Yüklenen PSC Miktarının Tayini

Yöntem 3.2.3.6'da anlatıldığı gibi boş mikroemülsiyonlar üzerine her biri için bu tezin "4.3.5.Seçilen Formülasyonlarda Çözünen PSC Miktarının Hesaplanması" bölümünde belitilen

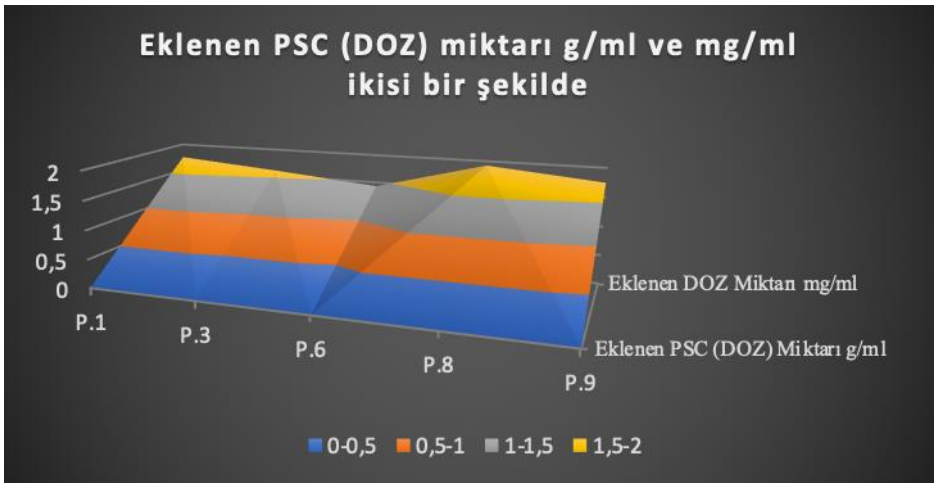
PSC miktarlar konuldu. Bu miktarlar Tablo 4-26'da mg/ml olarak verilmiştir. PSC ilavesinden sonra mikroemülsiyonlar berrak bir renk alana kadar karıştırıldı ve yüklenen PSC miktarının hesaplanması için UV spektrofotometrede 262 nm dalga boyunda absorbansları okundu. Yöntem 4.1.3'den elde edilen denklem yardımıyla her formülasyon için yüklenen PSC miktarı ve yüzdesi elde edildi. Bu sonuçlar Tablo 4-29'da ve şekil 4-19 ve 4-20'de verilmektedir.

Tablo 4-29: Seçilen mikroemülsiyonlara eklenen PSC miktarları (mg/ml)

Uygun Bulunan Mikroemülsiyonlar	Eklenen PSC (DOZ) miktarı mg/ml
P.1	**1,75**
P.3	**1,5**
P.6	**1,43**
P.8	**1,925**
P.9	**1,75**



Şekil 4-19: Seçilen mikroemülsiyonlara eklenen PSC miktarı (mg/ml)



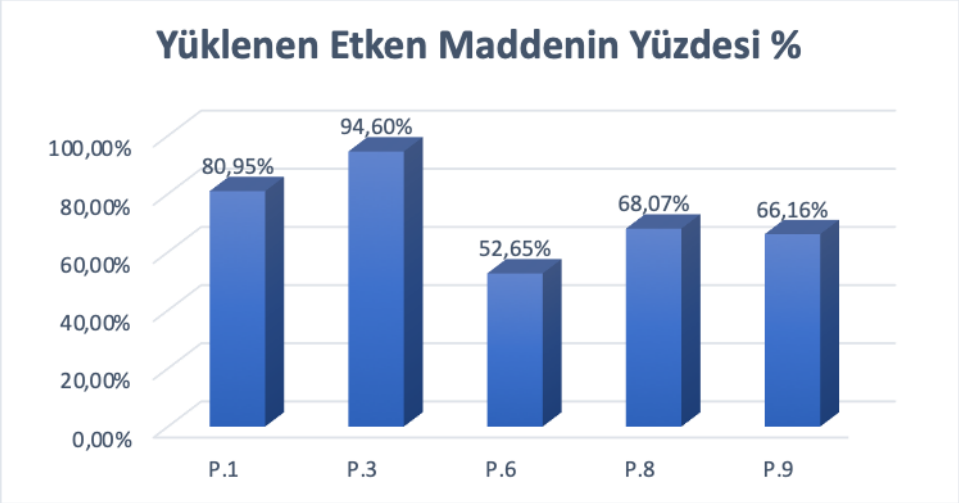
Şekil 4-20: Seçilen mikroemülsiyonlara eklenen PSC (DOZ) miktarı (g/ml ve mg/ml)

4.3.7. UV Spektrofotometrede Seçilen ve Uygun Bulunan Mikroemülsiyonlarda Yüklenen PSC'un Yüzdesi

Yöntem 4.1.3'den elde edilen denklemde okunan absorbanslar yerleştirildikten sonra her formülasyon için yüklenen PSC miktarı ve yüzdesi elde edildi. Bu sonuçlar Tablo 4-30'da ve şekil 4-21'de yüklenen PSC miktarının yüzdesi verilmektedir.

Tablo 4-30: Seçilen mikroemülsiyonlarda yüklenen PSC miktarının UV spektrofotometre analizine göre yüzdesi

Mikroemülsiyonlar	Yüklenen Etken Maddenin Yüzdesi (%)
P.1	80
P.3	94,6
P.6	52,65
P.8	68,069
P.9	66,16



Şekil 4-21: Seçilen mikroemülsiyonlara yüklenen PSC miktarının UV spektrofotometre analizine göre yüzdesi

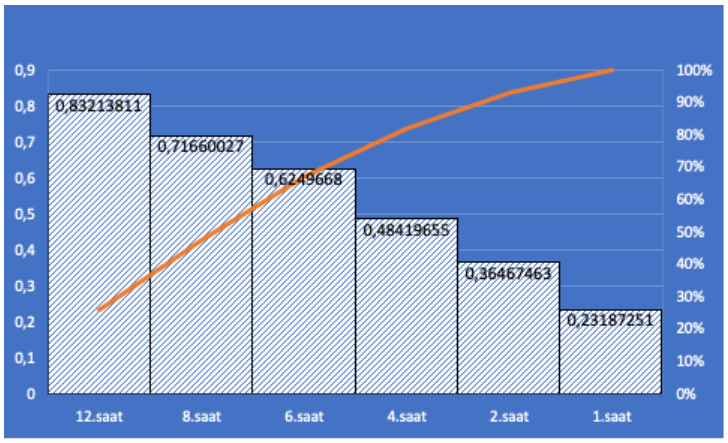
4.4. In Vitro Salım Çalışmaları

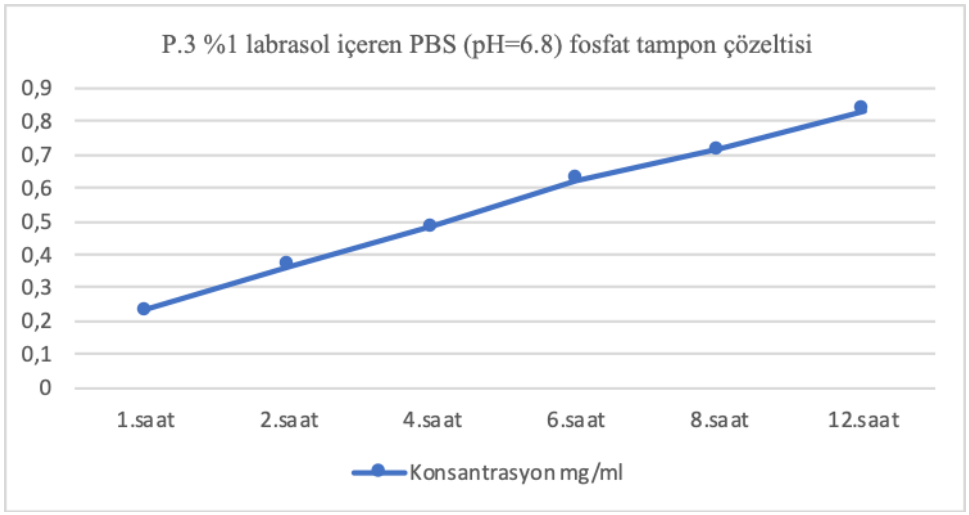
Etken madde yüklenmiş formülasyonların ilaç geçiş özelliklerinin incelenmesi için selofan membran kullanıldı. Salım çalışmasından 8-10 saat önce Selofan membran distile suda ıslatıldı. Daha sonra 20 dk boyunca pH 6.8 fosfat tamponu içerisine konuldu ve şartlanması beklendi.

4.4.1. In Vitro Salım Ortamının Belirlenmesi

Yöntem 3.2.4.1'de anlatıldığı gibi PSC'un geçişini artırmak amacıyla farklı sürfaktanlar ve etil alkol kullanıldı. Spektrofotometrede 262 nm'de bu kullanılan yardımcı maddelerin absorbans değeri 0.1'in altında olmalıdır. Geçişe yardımcı olacak şekilde, 100 ml PBS'in içine 1 gram labrosol konularak çözüldükten sonra UV Spektrofotometrede absorbans okunduğunda 0.111 gösterdiği için P.3 kodlu formül seçildi ve geçişi UV Spektrofotometrede incelendi. Bu geçişe dair sonuçlar Tablo 4-31'de ve şekil 4-22'de verilmektedir.

Tablo 4-31: P.3 kodlu mikroemülsiyonun geçişinde yardımcı madde olarak labrasolun kullanımı, PSC konsantrasyonu (mg/ml) ve yüzdesi (UV Spektrofotometrede)

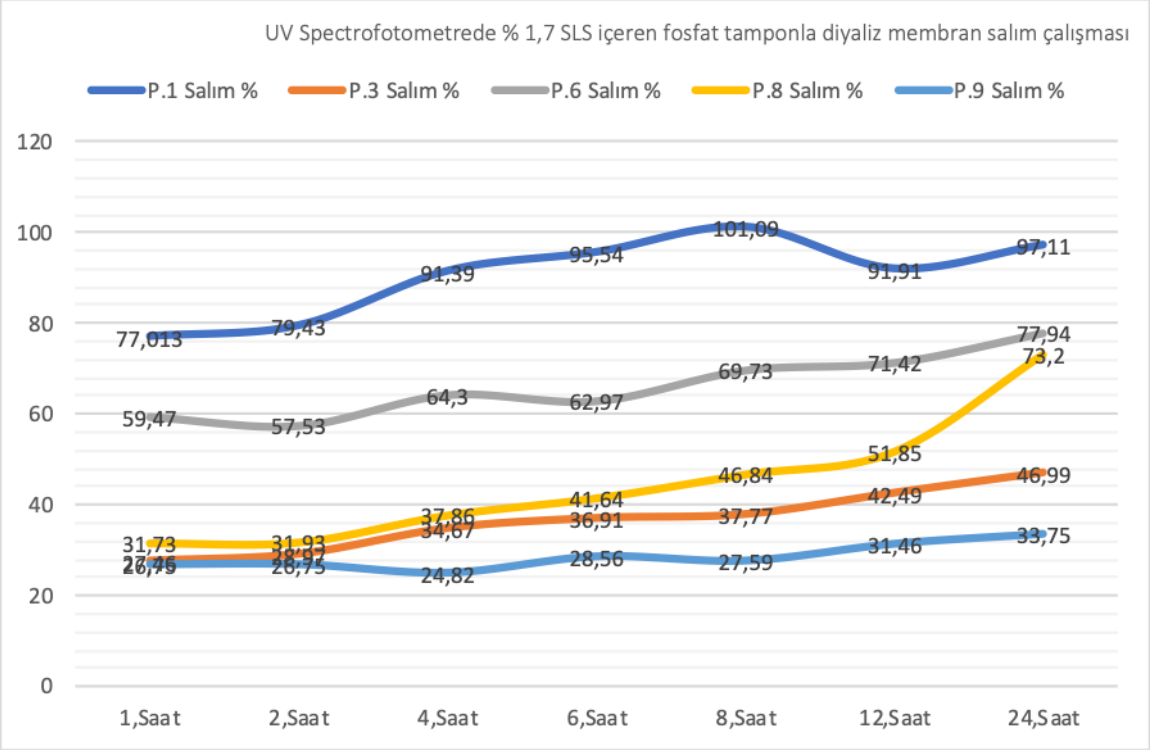




Şekil 4-22: P.3 kodlu mikroemülsiyonda salım çalışmasında yardımcı madde olarak labrasolun kullanımı ve zamana karşı konsantrasyon grafiği

4.4.2. Seçilen Formülasyonların UV Spektrofotometre Kullanılarak Diyaliz Membrandan Geçiş Çalışması

Yöntem 3.2.4.2'de anlatıldığı gibi geçiş çalışmaları öncelikle %1,7 SLS içeren pH 6,8 PBS'de yapıldı. 24 saat boyunca alınan örnekler UV spektrofotometrede analiz edildi. Elde edilen sonuçlara ait geçiş grafiği Şekil 4-23'de gösterilmektedir.



Şekil 4-23: Hazırlanan mikroemülsiyonların zamana karşı % 1.7 SLS içeren fosfat tamponla diyaliz membrandan % salım grafiği

4.4.3. Salım Çalışmaları

Diyaliz membrana konulmuş 1ml PSC içeren ilaç yüklü mikroemülsiyon formülü 100 ml çözünme ortamına daldırıldı. Çözünme ortamı, 100 ml hacimde % 1 SLS içeren pH 6.8 fosfat tamponudur. Salım ortamının sıcaklığı 37 ± 0.5°C'ye, magnetik karıştırıcı hızı 100 rpm'e ayarlandı. Diyaliz membranlar 1-1,5 ml'lik numuneler konuldu ve belirli zaman aralıklarında (1, 2, 4, 6, 8, 12 ve 24. saat) salım ortamından numuneler alındı. Alınan örnekler UV spektrofotometri analizi için 3 ml, HPLC analizi için 1-1,5 ml'dir. Numuneler alındıktan sonra beher içerisine alınan numune iktarı kadar ilave edildi.

Alınan tüm numuneler 0.45 µm filtre membrandan geçirildi. Numuneler, PSC içeriğini belirlemek için önce 260 nm'de UV görülebilir spektrofotometre ile analiz edildi ve daha sonrada HPLC'de analiz edildi.

4.4.3.1. UV Spektrofotometre ile Elde Edilen Sonuçlar

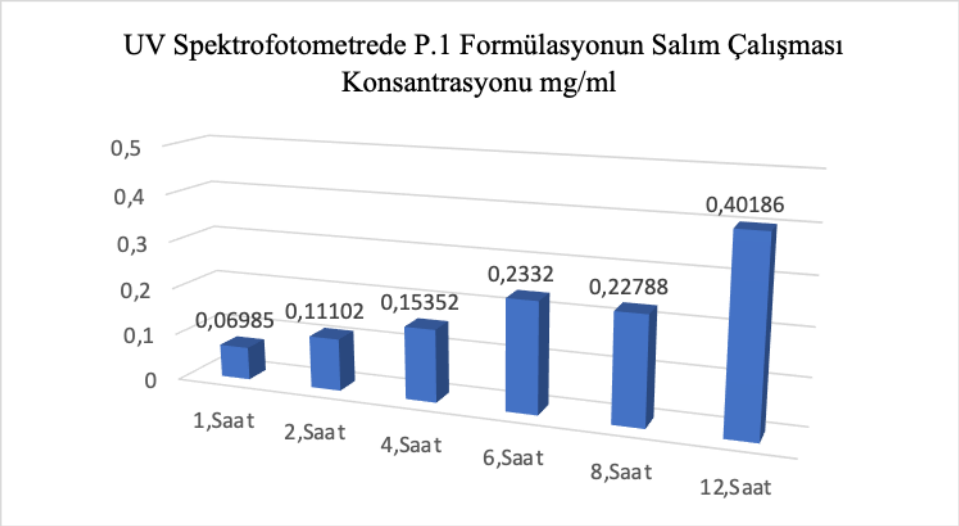
Yöntem 3.2.4.3'de anlatıldığı gibi %1 SLS içeren pH 6,8 fosfat tampon çözeltisi 37°C sıcaklığa getirildikten sonra üretilen mikroemülsiyonlardan 1 ml alındı ve önceden hazırlanan selofan membranların içirisine konuldu. Diyaliz membranları beher içirisine yerleştirildikten sonra 1, 2, 4, 6, 8 ve 12. saatlerde 3ml örnek alınarak UV spektrofotometrede analiz edildi. İn vitro salım

çalışmasından elde edilen sonuçlar Tablo 4-32, 4-33, 4-34, 4-35, 4-36, 4-37, 4-38, 4-39'da ve şekil 4-24'te verilmiştir.

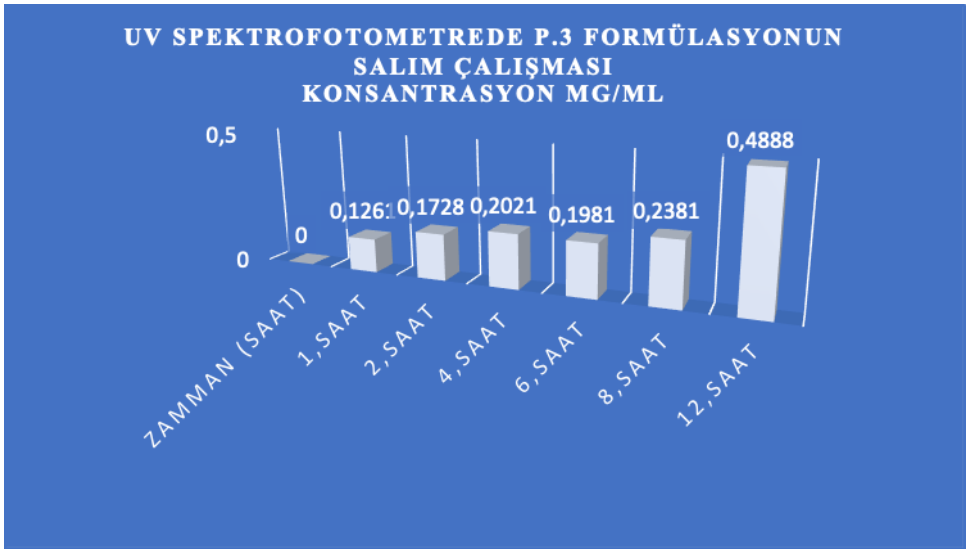
Tablo 4-32: Optimize mikroemülsiyon formülasyonlarının %1 SLS içeren pH 6,8 PBS ortamı içerisindeki salım çalışmasına ait UV spektrofotometre sonuçları

Zaman (Saat)	P.1*	P.3*	P.6*	P.8*	P.9*
1	0,06985	0,1261	0,1221	0,115	0,0751
2	0,11102	0,1728	0,1488	0,1562	0,0871
4	0,15352	0,2021	0,1595	0,1987	0,1668
6	0,2332	0,1981	0,2168	0,2611	0,1973
8	0,22788	0,2381	0,2648	0,2849	0,1854
12	0,40186	0,4888	0,3595	0,4178	0,2983
*Değerler mg/ml üzerinden verilmiştir.					

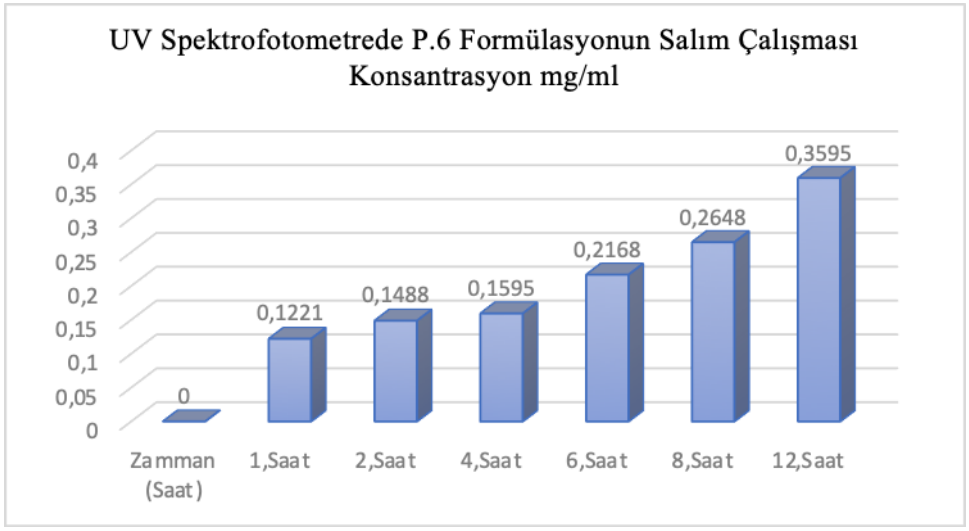
Tablo 4-33: UV Spektrofotometrede üretilen P.1 formülasyonda PSC'un salım çalışmasına ait sonuçlar (PBS pH=6,8 ve %1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi



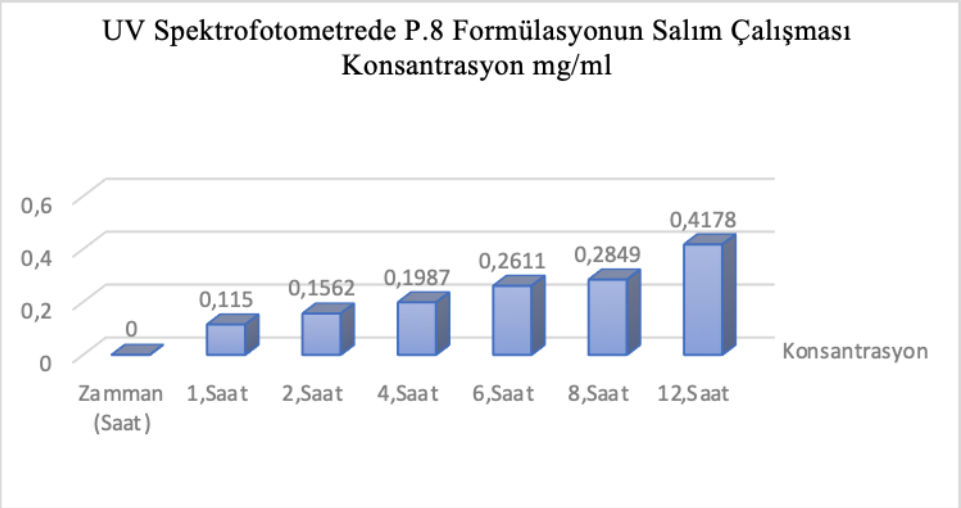
Tablo 4-34: UV Spektrofotometrede üretilen P.3 formülasyonun salım çalışmasına ait sonuçlar (PBS pH=6,8 ve %1 SLS içeren fosfat tampon çözeltis



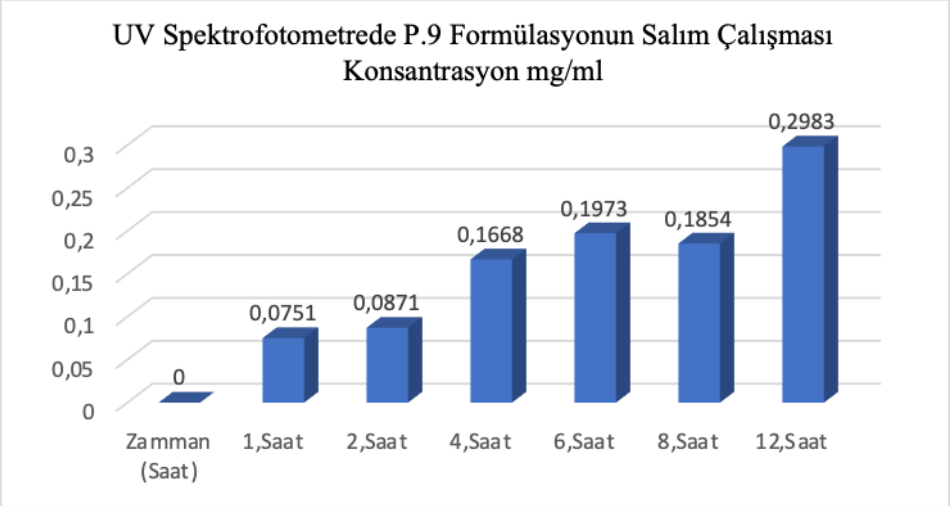
Tablo 4-35: UV Spektrofotometrede üretilen P.6 formülasyonun salım çalışmasına ait sonuçlar (PBS pH=6,8 ve %1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi)



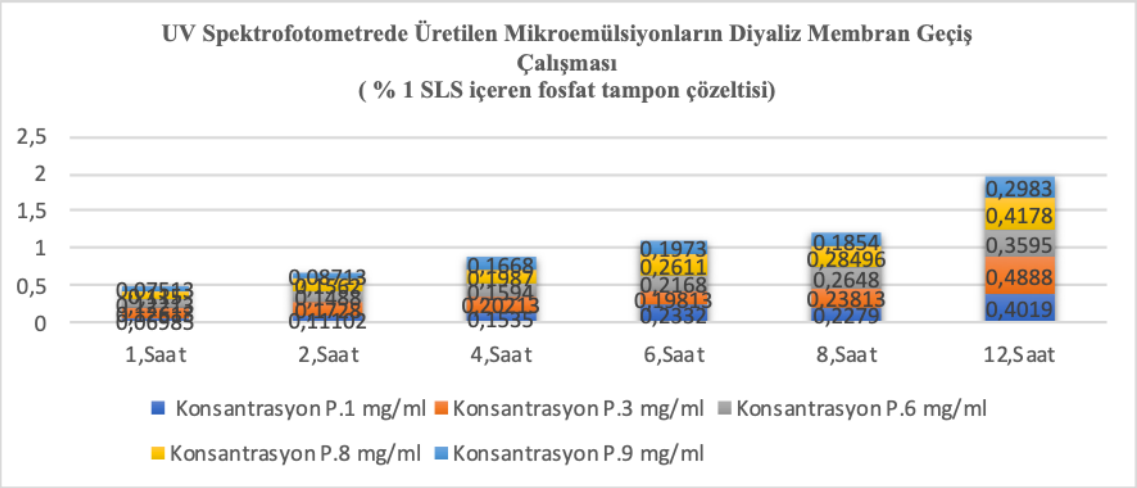
Tablo 4-36: UV Spektrofotometrede üretilen P.8 formülasyonun salım çalışmasına ait sonuçlar (PBS pH=6,8 ve %1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi)



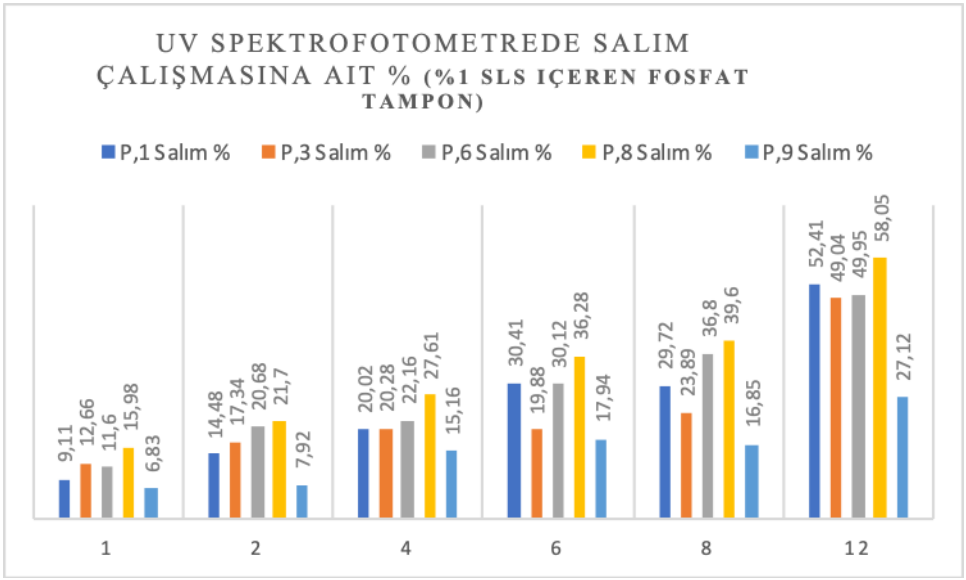
Tablo 4-37: UV Spektrofotometrede üretilen P.9 formülasyonun salım çalışmasına ait sonuçlar (PBS pH=6,8 ve %1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi)

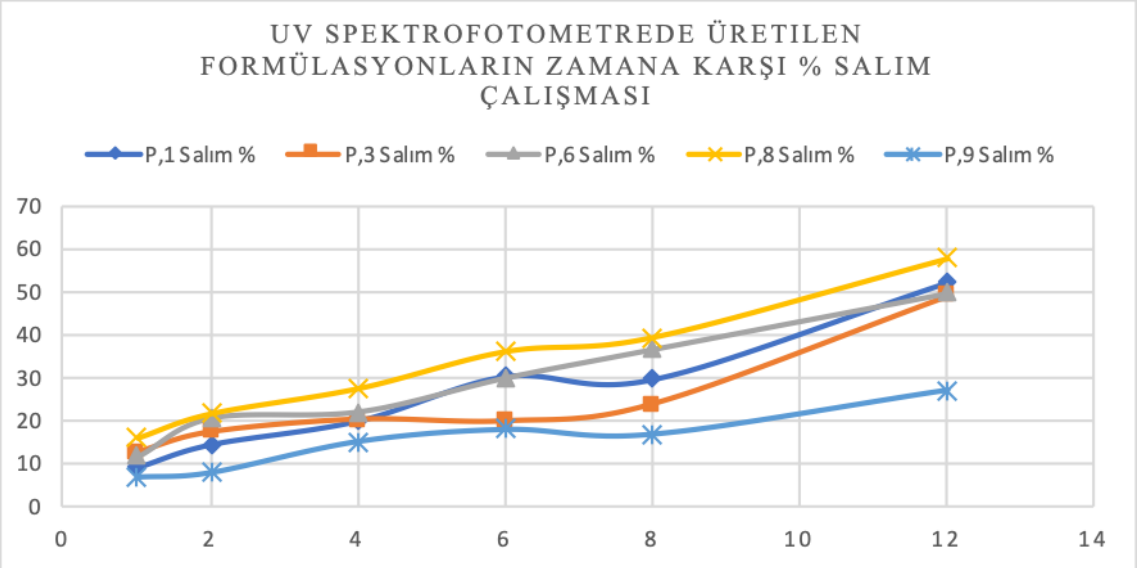


Tablo 4-38 : UV Spektrofotometrede yapılan ve üretilen formülasyonlarda PSC'un salım çalışmasına ait sonuçlar (PBS pH=6,8 ve %1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi



Tablo 4- 39 :UV Spektrofotometrede üretilen formülasyonların zamana karşı % salım grafiği (%1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi



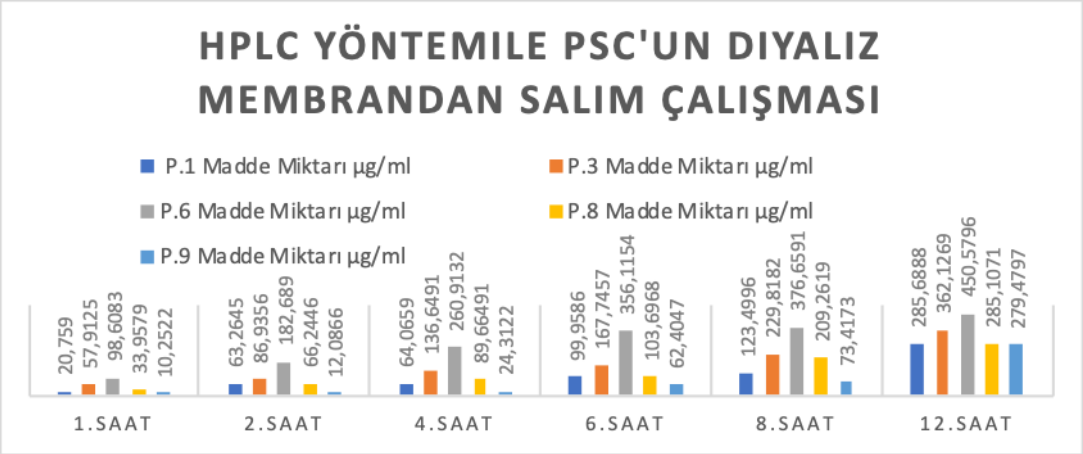


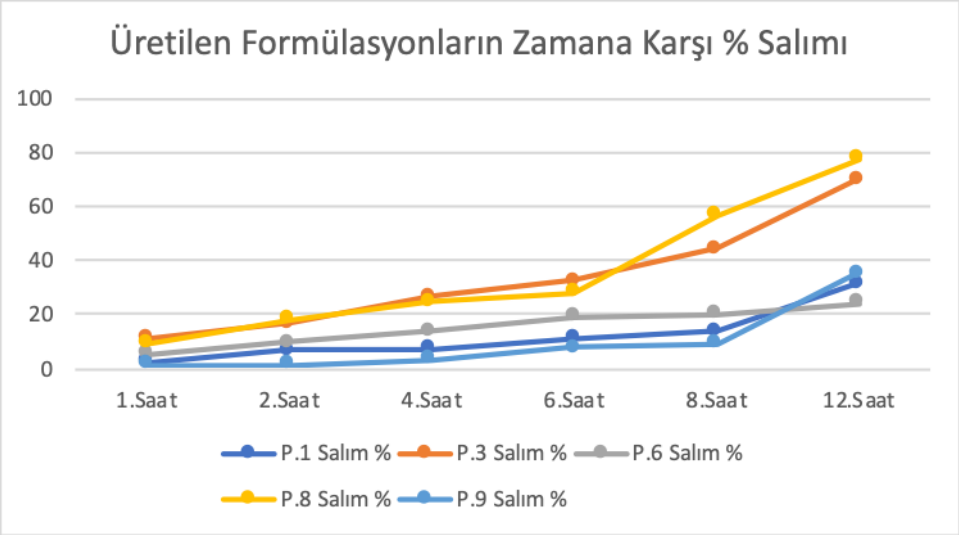
Şekil 4-24: Optimize mikroemülsiyon formülasyonlarının %1 SLS içeren pH 6,8 PBS ortamı içerisindeki salım çalışmasına ait UV spektrofotometre grafiği

4.4.3.2. HPLC Analizi ile Elde Edilen Sonuçlar

Yöntem 3.2.4.3'de anlatıldığı gibi %1 SLS içeren pH 6,8 fosfat tampon çözeltisi 37°C sıcaklığa getirildikten sonra üretilen mikroemülsiyonlardan 1 ml alındı ve önceden hazırlanan selofan membranların içirisine konuldu. Diyaliz membranları beher içirisine yerleştirildikten sonra 1, 2, 4, 6, 8 ve 12. saatlerde 1 ml örnek alınarak HPLC'de analiz edildi. İn vitro salım çalışmasından elde edilen sonuçlar Tablo 4-40 ve şekil 4-25'de verilmiştir.

Tablo 4-40: Optimize mikroemülsiyon formülasyonlarının %1 SLS içeren pH 6,8 PBS ortamı içerisindeki salım çalışmasına ait HPLC analiz sonuçları





Şekil 4-25: Optimize mikroemülsiyon formülasyonlarının %1 SLS içeren pH 6,8 PBS ortamı içerisindeki salım çalışmasına ait HPLC grafiği

4.5. Seçilen PSC Yüklü Mikroemülsiyonların Stabilite Çalışmaları

Yöntem 3.2.5 stabilite bölümünde anlatıldığı şekilde seçilen ve etkin madde ile doğru miktarda yüklenen mikroemülsiyonlar 6 ay boyunca stabilite kabininde bekletilerek her ayın başında fiziksel özellikler, partikül büyüklüğü ve dağılımı, zeta potansiyel, pH ölçümü ve miktar tayin analizleri yapılmıştır. Elde edilen tüm bulgular alt başlıklar şeklinde bu bölümde sunulmaktadır.

4.5.1. Fiziksel görünümler ve özelikler

Seçilen etkin madde yüklü mikroemülsiyonlar stabilite kabinlerinden başlangıç, 1, 2, 3, 4, 5 ve 6. aylarda çıkarıldıktan sonra fiziksel görünümleri incelenerek berraklık, bulanıklık ve çökme açısından gözlemlenmiş ve viskozitelerini korudukları gözlenmiştir. Bu sonuçlar Tablo 4-41'de verilmiştir.

Tablo 4-41: Stabilite çalışması sonrasında seçilen etkin madde yüklü mikroemülsiyonların fiziksel görünümleri

Zaman Noktaları	P.1		P.3		P.6		P.8		P.9	
	25°C, %60 RH	40°C, %75 RH	25°C, %60 RH	40°C, %75 RH	25°C, %60 RH	40°C, %75 RH	25°C, %60 RH	40°C, %75 RH	25°C, %60 RH	40°C, %75 RH
Başlangıç	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak	Berrak
1.ay	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak
2.ay	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak
3.ay	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak
4.ay	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak	Berrak	Berrak çok az sarımtrak
5.ay	Berrak	Berrak az sarımtrak	Berrak	Berrak az sarımtrak	Berrak	Berrak az sarımtrak	Berrak	Berrak az sarımtrak	Berrak	Berrak az sarımtrak
6.ay	Berrak	Berrak az sarımtrak	Berrak	Berrak az sarımtrak	Berrak	Berrak sarımtrak	Berrak	Berrak az sarımtrak	Berrak	Berrak az sarımtrak

4.5.2. Partikül Büyüklüğü Polidispersite İndeksi (PDI)

Seçilen etkin madde yüklü mikroemülsiyonların her biri için 1, 2, 3, 4, 5 ve 6. aylarda partikül büyüklüğü ve PDI dağılımı ölçüldü. Ölçümler Zetasizer Nano ZS'nin küvetinde, 25 ± 0,1°C hassaslığında, 3'er kez ve her birisi 10'lu tekrar olacak şekilde yapılmıştır. Sonuçlar Tablo-4-42 ve Tablo 4-43'de verilmektedir.

Tablo 4-42: Stabilite çalışması esnasında seçilen "boş" mikroemülsiyonların Partikül büyüklüğü ve PDI (polidispersite indeksine) bulguları

Mikroemülsiyonlar	Başlangıç		25°C±2, %60±5 RH 6 ay sonra		40°C±2, %70 ± 5 RH 6 ay sonra	
	Partikül Büyüklüğü (d.nm)	PDI	Partikül Büyüklüğü (d.nm)	PDI	Partikül Büyüklüğü (d.nm)	PDI
P.1	96.84 ±0.21	0.11± 0.009	99.19 ± 1.57	0.213±0.013	103±2.1	0.02± 0.001
P.3	64.36± 0.69	0.282 ± 0.01	64.84 ± 1.81	0.272±0.005	66±1.9	0.267±0.003
P.6	117.8 ± 1.6	0.450±0.005	118.9 ± 3.1	0.408±0.014	118.7±1.2	0.380±0.02
P.8	92.94± 1.25	0.360 ± 0.01	98.07± 1.67	0.299±0.001	104±1.8	0.379±0.075
P.9	150.9 ± 2.4	0.183 ±0.002	140.4± 2.3	0.148±0.008	140.7±1.7	0.170±0.02

Tablo 4-43: Stabilite çalışması esnasında seçilen etkin madde yüklü mikroemülsiyonların Partikül büyüklüğü ve PDI bulguları

PSC Yüklü Mikroemülsiyonlar	Başlangıç		25°C±2, %60±5 RH 6 ay sonra		40°C±2, %70 ± 5 RH 6 ay sonra	
	Partikül Büyüklüğü (d.nm)	PDI	Partikül Büyüklüğü (d.nm)	PDI	Partikül Büyüklüğü (d.nm)	PDI
P.1	98.77±0.6	0.127±0.004	105±0.7	0.120±0.013	112.4± 0.6	0.148±0.011
P.3	65.84±0.86	0.290±0.023	64.69±1	0.264±0.003	71.87±1.3	0.282±0.059
P.6	118.9±1.3	0.424±0.017	118.3± 1.7	0.410±0.006	138.5±2.1	0.416±0.013
P.8	96.6±0.3	0.385±0.013	104.2±3.7	0.304±0.075	110.7±2.4	0.428±0.004
P.9	151.9±1	0.188±0.0022	139.4±1.3	0.170±0.02	135.5±1.4	0.160±0.016

4.5.3. Zeta Potansiyel Değeri

Seçilen mikroemülsiyonların ilk gün hazırlandıktan sonra zeta potansiyel ölçümleri yapılmıştır. Daha sonra stabilite kabinlerine kaldırılan mikroemülsiyonların 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. ayda zeta potansiyel değerleri incelendi.

Zeta potansiyel ölçümleri Zetasizer Nano (ZS) cihazında 3'er ölçümden ve her birisi 10'lu tekrar olacak şekilde yapılmıştır. Bu ölçümlere ait sonuçlar Tablo-4-44'de verilmektedir.

Tablo 4-44: Stabilite çalışması esnasında zeta potansiyel ölçümüne ait bulgular

PSC'lu Mikroemülsiyonlar	**Başlangıç Zeta Potansiyel (mv)**	**25°C±2, %60 RH Zeta Potansiyel (mv)**	**40°C±2, %70 RH Zeta Potansiyel (mv)**
P.1	-0.012 ± 0.2	0.631 ± 0.9	1.1 ± 0.09
P.3	-0.221 ± 0.023	0.581 ± 0.4	0.621 ± 0.0 7
P.6	0.226 ± 0.06	0.642 ± 0.5	0.701 ± 0.08
P.8	0.232 ± 0.08	0.508 ± 0.7	0.538 ± 0.08
P.9	0.270 ± 0.04	0.518 ± 0.4	0.528 ± 0.06

4.5.4. pH Analizleri

Mikroemülsiyonlara etkin madde yükledikten sonra dengeye gelene kadar 20 saat bekletilmiş, ve oda sıcaklığında pH ölçümü yapıldı. Stabilite kabinlerine kaldırıldıktan sonra her bir formülasyon için 1, 2, 3, 4, 5 ve 6. aylarda pH ölçümleri tekrarlandı. Bu analizlere ait sonuçlar Tablo 4-45'de verilmektedir.

Tablo 4-45: Stabilite çalışması esnasında pH ölçümüne ait bulgular

PSC'lu Mikroemülsiyonlar	Başlangıç pH	25°C±2, %60 RH 6 ay sonra pH	40°C±2, %75 RH 6 ay sonra pH
P.1	3,93 ± 0,04	3,95 ± 0,04	3,99 ± 0,04
P.3	4,87 ± 0,15	4,91 ± 0,04	4,96 ± 0,05
P.6	4,86 ± 0,21	4,77 ± 0,21	4,82 ± 0,2
P.8	4,31 ± 0,15	4,25 ± 0,06	4,28 ± 0,06
P.9	4,4 ± 0,08	4,65 ± 0,28	4,71± 0,25

4.5.5. Mikroemülsiyonlar İçerisindeki PSC Miktarının Tayin Edilmesi

Stabilite çalışmalarının devamında üretilen ve seçilen mikroemülsiyonlar içerisindeki PSC miktarları üretim yapıldığı zaman hesaplandı. Daha sonra stabilite kabinlerine kaldırılan formülasyonların PSC içeriği 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. aylarda analiz edildi. Bu sonuçlar ait miktarlar Tablo 4-46'da verilmektedir.

Tablo 4-46: Seçilen mikroemülsiyonların miktar tayinine ait sonuçlar (±SD) (UV Spektrofotometrede)

Mikroemülsiyonlar	P.1 (mg/ml)	P.3 (mg/ml)	P.6 (mg/ml)	P.8 (mg/ml)	P.9 (mg/ml)
Başlangıç	1,416 ± 0,14	1,419 ± 0,17	0,753 ± 0,38	1,310 ± 0,18	1,157 ± 0,374
1.ay	1,416 ± 0,2	1,419 ± 0,21	0,752 ± 0,41	1,310 ± 0,173	1,155 ± 0,360
2.ay	1,415 ± 0,27	1,419 ± 0,31	0,750 ± 0,31	1,310 ± 0,2	1,153 ± 0,35
3.ay	1,408 ± 0,21	1,410 ± 0,36	0,740 ± 0,5	1,30 ± 0,216	1,145± 0,37
4.ay	1,400 ± 0,31	1,380 ± 0,5	0,729 ± 0,53	1,26 ± 0,31	1,128 ± 0,37
5.ay	1,310 ± 0,41	1,350 ± 0,55	0,700 ± 0,63	1,21 ± 0,39	1,100 ± 0,48
6.ay	1,29 ± 0,5	1,300 ± 0,56	0,670 ± 0,64	1,19 ± 0,44	1,042 ± 0,603

4.6. Antifungal Aktivite Çalışması

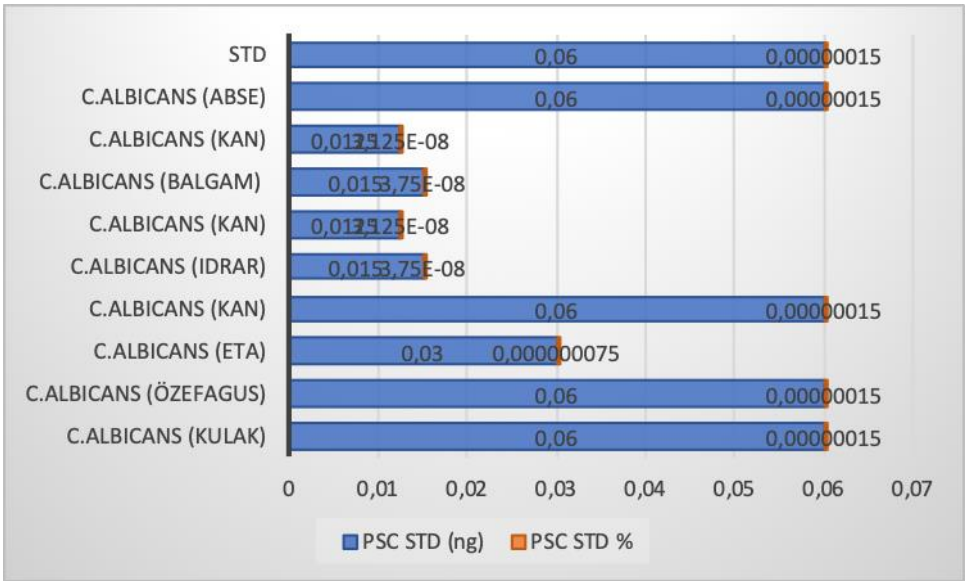
Hazırlanan formülasyonların antifungal aktivitesi, PSC'nin piyasada mevcut olan ürünü Noxafil oral süspansiyonu (40 mg/ml) ile minimum İnhibitör konsantrasyon (MIC) değerleri üzerinden karşılaştırıldı. Noxafil oral süspansiyonunun ve mikroemülsiyon formülasyonlarının MIC değerleri ng/ml üzerinden hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Tablo 4-47, 4-48, 4-49, 4-50 ve 4-51'de ve şekil 4-26, 4-27, 4-28 ve 4-29'da verilmiştir.

Tablo 4-47: Noxafil oral süspansiyonunun ve optimize mikroemülsiyon formülasyonlarının MIC değerleri

		Noxafil	P1	P3	P6	P8	P9
C2	C. albicans (kulak)	0,06	8,98	-	-	3,75	8,98
C3	C. albicans (özefagus)	0,06	0,56	-	-	60,1	35,9
C5	C. albicans (ETA)	0,03	143,7	-	-	120,3	143,7
C7	C. albicans (kan)	0,06	0,56	-	-	1,87	143,7
C9	C. albicans (idrar)	0,015	4,49	-	-	7,51	17,9
C24	C. albicans (kan)	0,0125	17,9	-	-	60,1	35,9
C31	C. albicans (balgam)	0,015	17,9	-	-	120,3	143,7
C13	C. albicans (kan)	0,0125	2,24	-	-	30,07	35,9
C42	C. albicans (abse)	0,06	17,9	-	-	120,3	143,7
STD	C. albicans (ATCC 90028)	0,06	17,9	-	-	30,07	35,9

Tablo 4-48: Piyasada PSC içeren mevcut olan ürün Noxafilin (Süspansiyon 40 mg/ml PSC içerir) antifungal testlerine ait sonuçlar

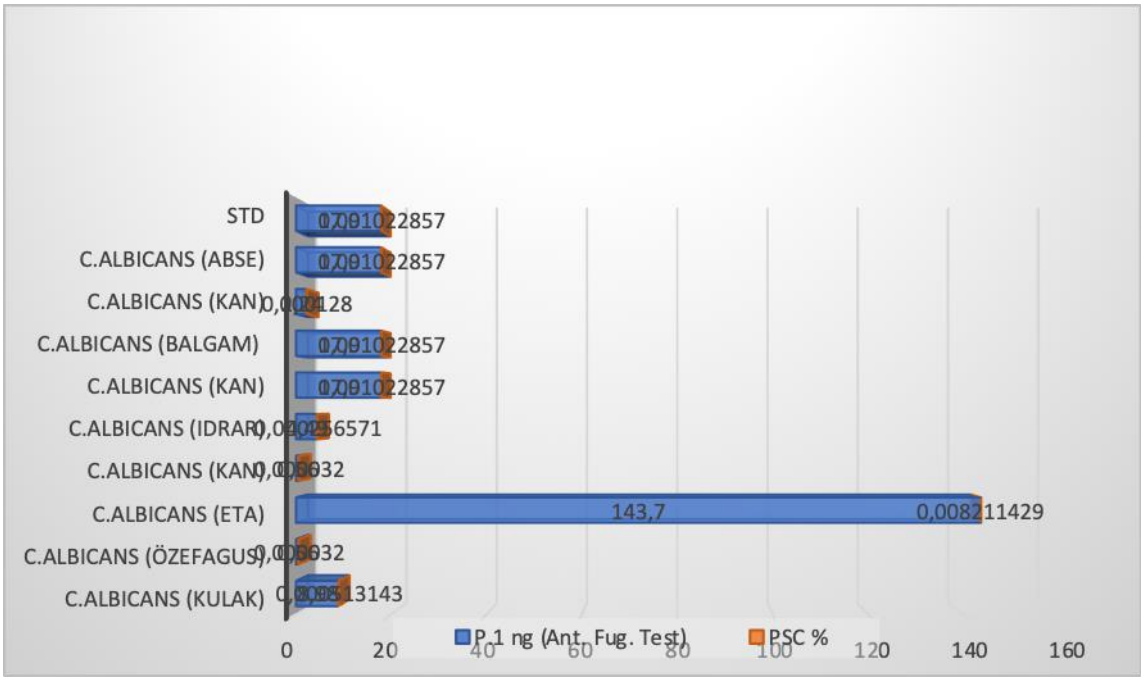
		PSC STD mg/ml	PSC STD ng/ml	PSC STD (Ant. Fng. Test)	PSC STD % Vucut Organlarında
C2	C.albicans (kulak)	40	40000000	0,06	0,00000015
C3	C.albicans (özefagus)	40	40000000	0,06	0,00000015
C5	C.albicans (ETA)	40	40000000	0,03	0,000000075
C7	C.albicans (kan)	40	40000000	0,06	0,00000015
C9	C.albicans (idrar)	40	40000000	0,015	3,75E-08
C24	C.albicans (kan)	40	40000000	0,0125	3,125E-08
C31	C.albicans (balgam)	40	40000000	0,015	3,75E-08
C13	C.albicans (kan)	40	40000000	0,0125	3,125E-08
C42	C.albicans (abse)	40	40000000	0,06	0,00000015
STD	STD	40	40000000	0,06	0,00000015



Şekil 4-26 : Piyasada PSC içeren mevcut olan ürün Noxafi (süspansiyon 40 mg/ml PSC içerir) antifungal testlerine ait grafiği

Tablo 4-49: P.1 formülasyona (mikroemülsiyona) ait antifungal testlerin sonuçları

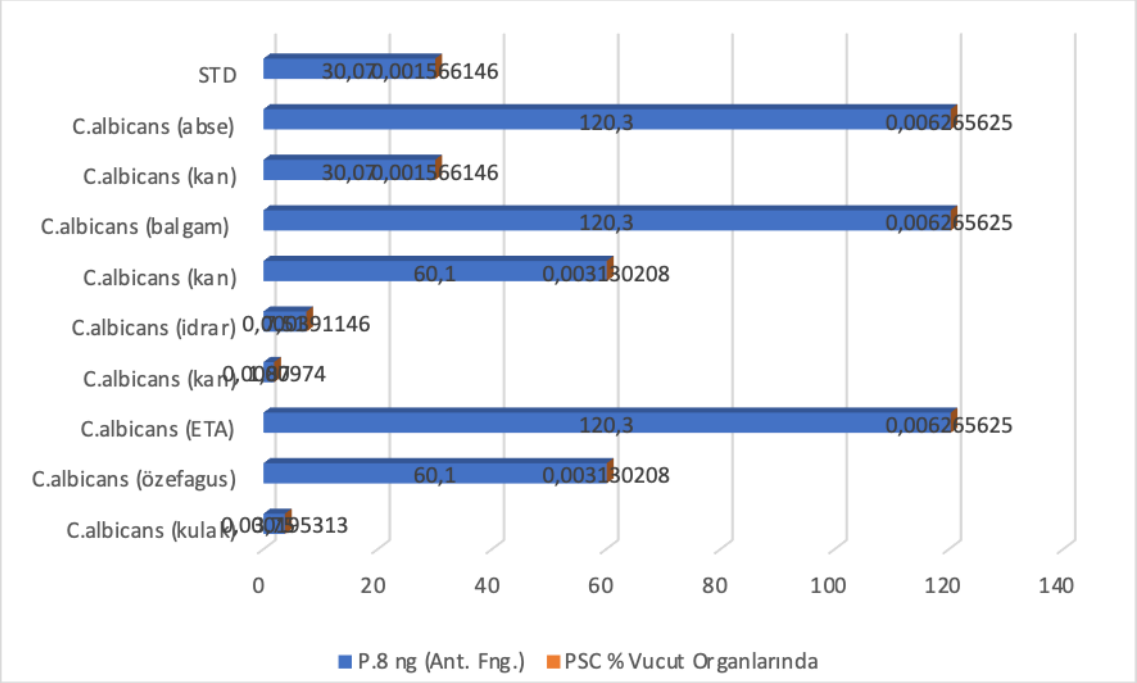
		P.1 mg/ml	P.1 ng/ml	P.1 ng (Ant. Fug. Test)	PSC % Vucut Organlarında
C2	C.albicans (kulak)	1,75	1750000	8,98	0,000513143
C3	C.albicans (özefagus)	1,75	1750000	0,56	0,000032
C5	C.albicans (ETA)	1,75	1750000	143,7	0,008211429
C7	C.albicans (kan)	1,75	1750000	0,56	0,000032
C9	C.albicans (idrar)	1,75	1750000	4,49	0,000256571
C24	C.albicans (kan)	1,75	1750000	17,9	0,001022857
C31	C.albicans (balgam)	1,75	1750000	17,9	0,001022857
C13	C.albicans (kan)	1,75	1750000	2,24	0,000128
C42	C.albicans (abse)	1,75	1750000	17,9	0,001022857
STD	STD	1,75	1750000	17,9	0,001022857



Şekil 4-27: P.1 Formülasyona (Mikroemülsiyona ait antifungal testlerin grafiği)

Tablo 4-50: P.8 formülasyona (mikroemülsiyona) ait antifungal testlerin sonuçları

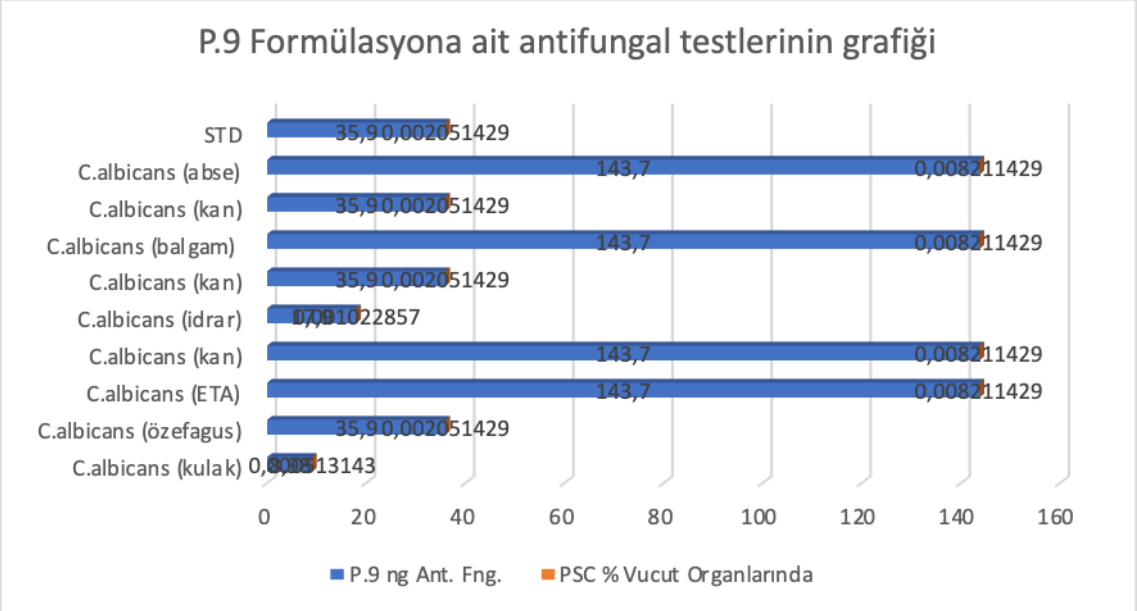
		P.8 mg/ml	P.8 ng/ml	P.8 ng (Ant. Fng.)	PSC % Vucut Organlarında
C2	C.albicans (kulak)	1,92	1920000	3,75	0,000195313
C3	C.albicans (özefagus)	1,92	1920000	60,1	0,003130208
C5	C.albicans (ETA)	1,92	1920000	120,3	0,006265625
C7	C.albicans (kan)	1,92	1920000	1,87	9,73958E-05
C9	C.albicans (idrar)	1,92	1920000	7,51	0,000391146
C24	C.albicans (kan)	1,92	1920000	60,1	0,003130208
C31	C.albicans (balgam)	1,92	1920000	120,3	0,006265625
C13	C.albicans (kan)	1,92	1920000	30,07	0,001566146
C42	C.albicans (abse)	1,92	1920000	120,3	0,006265625
STD	STD	1,92	1920000	30,07	0,001566146



Şekil 4-28: P.8 Formülasyona (Mikroemülsiyona) ait antifungal testlerin grafiği

Tablo 4-51: P.9 formülasyona (mikroemülsiyona) ait antifungal testlerin sonuçları

		P.9 mg/ml	P.9 ng/ml	P.9 ng Ant. Fng.	PSC % Vucut Organlarında
C2	C.albicans (kulak)	1,75	1750000	8,98	0,000513143
C3	C.albicans (özefagus)	1,75	1750000	35,9	0,002051429
C5	C.albicans (ETA)	1,75	1750000	143,7	0,008211429
C7	C.albicans (kan)	1,75	1750000	143,7	0,008211429
C9	C.albicans (idrar)	1,75	1750000	17,9	0,001022857
C24	C.albicans (kan)	1,75	1750000	35,9	0,002051429
C31	C.albicans (balgam)	1,75	1750000	143,7	0,008211429
C13	C.albicans (kan)	1,75	1750000	35,9	0,002051429
C42	C.albicans (abse)	1,75	1750000	143,7	0,008211429
STD	STD	1,75	1750000	35,9	0,002051429



Şekil 4-29: P.9 Formülasyona (Mikroemülsiyona) ait antifungal testlerin grafiği

4.6.1. Üretilen P.1 Formülasyonun (Mikroemülsiyonun) Piyasadaki Mevcut Olan Noxafil (Süspansyon 40 mg/ml PSC içerir) Ürüne Göre Daha Başarılı Olduğü

Piyasadaki mevcut olan Noxafilin antifungal testleri incelendi ve vücut organlarında PSC'un yüzdesi hesaplanmıştır. Aynı şekilde üretilen P.1 formülasyonun'da antifungal testlerin sonuçları analiz edildikten sonra vücut organlarında PSC miktarının yüzdesi elde edildikten sonra üretilen P.1 mikroemülsiyonla STD arasında kıyaslanma yapılmıştır. Bu hesaplamaların ve kıyaslanmanın sonuçları Tablo 4-52'de gösterilmektedir.

Tablo 4-52: Üretilen P.1 formülasyonun ve piyasadaki mevcut olan Noxafilin antifungal testlerin analizlerine ve sonuçlarına göre karşılıştirilmasi

		PSC STD % Vucut Organlarında	P.1 PSC % Vucut Organlarında	P.1'in STD'ye Göre (Noxafile Göre) Daha Başarılığı
C2	C.albicans (kulak)	0,00000015	0,000513143	3420,953333
C3	C.albicans (özefagus)	0,00000015	0,000032	213,3333333
C5	C.albicans (ETA)	0,000000075	0,008211429	109485,72
C7	C.albicans (kan)	0,00000015	0,000032	213,3333333
C9	C.albicans (idrar)	3,75E-08	0,000256571	6841,893333
C24	C.albicans (kan)	3,125E-08	0,001022857	32731,424
C31	C.albicans (balgam)	3,75E-08	0,001022857	27276,18667

C13	C.albicans (kan)	3,125E-08	0,000128	4096
C42	C.albicans (abse)	0,00000015	0,001022857	6819,046667
STD	STD	0,00000015	0,001022857	6819,046667

4.6.2. Üretilen P.8 Formülasyonun (Mikroemülsiyonun) Piyasadaki Mevcut Olan Noxafil (Süspansyon 40 mg/ml PSC içerir) Ürüne Göre Daha Başarılı Olduğü

Piyasadaki mevcut olan Noxafilin antifungal testleri incelendi ve vücut organlarında PSC'un yüzdesi hesaplanmıştır. Aynı şekilde üretilen P.8 formülasyonun'da antifungal testlerin sonuçları analiz edildikten sonra vücut organlarında PSC miktarının yüzdesi elde edildikten sonra üretilen P.8 mikroemülsiyonla STD arasında kıyaslanma yapılmıştır. Bu hesaplamaların ve kıyaslanmanın sonuçları Tablo 4-53'de gösterilmektedir.

Tablo 4-53: Üretilen P.8 formülasyonun ve piyasadaki mevcut olan Noxafilin antifungal testlerin analizlerine ve sonuçlarına göre karşılıştirilmasi

		STD'de PSC % Vucut Organlarında	P.8'de PSC % Vucut Organlarında	P.8'in STD'ye Göre Daha (NoxafileGöre)Başarılığı
C2	C.albicans (kulak)	0,00000015	0,000195313	1302,086667
C3	C.albicans (özefagus)	0,00000015	0,003130208	20868,05333
C5	C.albicans (ETA)	0,000000075	0,006265625	83541,66667
C7	C.albicans (kan)	0,00000015	0,0000974	649,3333333
C9	C.albicans (idrar)	3,75E-08	0,000391146	10430,56
C24	C.albicans (kan)	3,125E-08	0,003130208	100166,656
C31	C.albicans (balgam)	3,75E-08	0,006265625	167083,3333
C13	C.albicans (kan)	3,125E-08	0,001566146	50116,672
C42	C.albicans (abse)	0,00000015	0,006265625	41770,83333
STD	STD	0,00000015	0,001566146	10440,97333

4.6.3. Üretilen P.9 Formülasyonun (Mikroemülsiyonun) Piyasadaki Mevcut Olan Noxafil (Süspansyon 40 mg/ml PSC içerir) Ürüne Göre Daha Başarılı Olduğü

Piyasadaki mevcut olan Noxafilin antifungal testleri incelendi ve vücut organlarında PSC'un yüzdesi hesaplanmıştır. Aynı şekilde üretilen P.9 formülasyonun'da antifungal testlerin sonuçları analiz edildikten sonra vücut organlarında PSC miktarının yüzdesi elde edildikten

sonra üretilen P.9 mikroemülsiyonla STD arasında kıyaslanma yapılmıştır. Bu hesaplamaların ve kıyaslanmanın sonuçları Tablo 4-54'te gösterilmektedir.

Tablo 4-54: Üretilen P.9 formülasyonun ve piyasadaki mevcut olan Noxafilin antifungal testlerin analizlerine ve sonuçlarına göre karşılıştirilma

		PSC STD % Vucut Organlarında	P.9'da PSC % Vucut Organlarında	P.9'un STD'ye Göre (Noxafile Göre)Daha Başarılı olduğu
C2	C.albicans (kulak)	0,00000015	0,000513143	3420,953333
C3	C.albicans (özefagus)	0,00000015	0,002051429	13676,19333
C5	C.albicans (ETA)	0,000000075	0,008211429	109485,72
C7	C.albicans (kan)	0,00000015	0,008211429	54742,86
C9	C.albicans (idrar)	3,75E-08	0,001022857	27276,18667
C24	C.albicans (kan)	3,125E-08	0,002051429	65645,728
C31	C.albicans (balgam)	3,75E-08	0,008211429	218971,44
C13	C.albicans (kan)	3,125E-08	0,002051429	65645,728
C42	C.albicans (abse)	0,00000015	0,008211429	54742,86
STD	STD	0,00000015	0,002051429	13676,19333

5. TARTIŞMA

Mantar enfeksiyonları küresel bir yük haline gelmekte ve önemli oranda morbidite ve mortalite sebebi oluşturmaktadır. Birkaç etkili antifungal ilaç olmasına rağmen, terapötik yararları, yüksek toksisite veya olumsuz fizikokimyasal özellikler yönünden sınırlıdır. Nanopartiküller, küçük boyutları, çok işlevsel ve biyouyumlu olmaları gibi elverişli özellikleri sayesinde bu sınırlamaların çoğunu aşma potansiyeline sahiptir (10).

Mikroemülsiyon ve nanoemülsiyonlar (NE), yüzey aktif madde molekülleri ile stabilize edilmiş sulu ortam içinde dağılmış yağ damlacıklarından oluşan izotropik, şeffaf (veya yarı saydam) heterojen karışımlardır (8). Ayrıca mikroemülsiyon (ME) ve nanoemülsiyonlar (NE) lipofilik ilaçların stabilitelerini uzun süreli koruyabilmesine olanak sağlamaları, hazırlanmalarındaki kolaylık, çözünürlüğü ve oral biyoyararlanımı geliştirebilmeleri sebebiyle potansiyel bir ilaç verme aracı haline gelirler (8). Nanoemülsiyonlar ve mikroemülsiyonlar, polar olmayan aktif bileşikleri çözme kapasiteleri nedeniyle eczanede ilaç dağıtım sistemleri olarak sayısız uygulama için önerilmektedir (6).

Nanoemülsiyonlar ve mikroemülsiyonlar gelecekte terapötiklerin farklı alanlarında, lipofilik ilaçların geliştirmesinde ve uygulamada çok umut vericidirler. Nano ve mikroemülsiyonların çok yönlü uygulamalarından biri olan ve çeşitli yollarla uygulamayı kolaylaştıran, biyoaktif maddeler için etkili taşıyıcılar olarak ilaç verme alanıdır ki oldukça başarılıdırlar. Oral ilaç uygulamalarında nanoemülsiyonların ve mikroemülsiyonların avantajları ve uygulamaları çok fazladır. Damlacık boyutundaki değişiklikler gastrointestinal sistemdeki emilimle direkt olarak ilişkilidir (6). Nanoemülsiyonların ilaç dağıtımının kendine özgü sorunlarının üstesinden gelmedeki başarı ve avantajlarından yararlanarak ve de formülasyon uzmanlarının yaratıcılığından destek alarak beklentileri yükseltmek mümkündür (6).

Posakonazol, itrakonazol ve vorikonazolün mevcudiyetini takiben, invaziv mantar enfeksiyonlarına karşı kullanım için onaylanan üçüncü geniş spektrumlu triazoldür (11). Posakonazol, Candida türleri de dahil olmak üzere mayalara, ayrıca Cryptococcus neoformans ve Cryptococcus gattii'ye karşı güçlü bir in vitro aktiviteye sahiptir (11). Mantar enfeksiyonları, özellikle bağışıklığı zayıflamış hastalar için önemli bir sağlık tehdidi haline gelmiştir, ve invaziv mantar enfeksiyonlarının oranı ve mantar direncinin ortaya çıkması artmaktadır (12). Daha güçlü ve geniş spektrumlu terapötik seçeneklere duyulan ihtiyacın ışığında, bir triazol antifungal ilaç olan posakonazol (PSC), Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Avrupa'da, invaziv mantar enfeksiyonlarına karşı profilaksi için NoxafilVR ticari markası altında pazarlanmıştır (12). PSC,

zayıf bir sulu çözünürlüğe sahip beyaz bir tozdur. 0,1 M HC1 (pH 1,2'de yaklaşık 0,9 mg / mL) içinde çözülebilir ancak pH bağımlılığına sahip bir çözünürlüğü vardır (pH 6,5'te yaklaşık 0,006 mg / mL) (70). PSC oral yoldan verilir ve oral emilimi daha yüksek dozlardadır (> 80mg / kg) (12).

PSC, mayaların, filamentöz mantarların ve azole dirençli Candida türlerinin (spp.) çoğunluğu dahil olmak üzere çeşitli mantarlara karşı benzersiz geniş spektrumlu aktivitesi nedeniyle başarılı bir antifungal ajan olarak kabul edilir (16).

Posakonazol gecikmeli salimli tabletlerin immün sistemi baskılanmış hastalarda IFI'lerin önlenmesinde etkinliği üzerine yayınlanmış hiçbir klinik çalışma mevcut olmamasına ragmen daha yüksek kan posakonazol seviyesine ulaşmanın en azından IFI'ya karşı süspansiyondan daha iyi bir koruma sağlayabileceği muhtemel görünmektedir (13).

Posakonazolün insanlarda kullanımı ilk kez oral süspansiyon formu olarak onay almıştır. Uzun yıllar boyunca kullanılmış olmakla beraber hala piyasada bulunan tek formülasyondur. Bu formülasyonla ilgili olarak, birçok çalışma kan dolaşımı konsantrasyonlarının genellikle düşük ve hatta birçok hastada saptanamayacağı bildirilmiştir. Ek olarak, oral süspansiyonun etkinliğini değerlendiren klinik çalışmalarda posakonazol düzeyleri ile ilgili anlamlı değişkenlik bildirilmiştir (11). Her ne kadar posakonazolün uzun yarı ömrü (22-35 saat) başlangıçta günde bir kez dozlamanın ardından bir yükleme dozunun mümkün olabileceğini düşündürse de, oral süspansiyon formülasyonu ile sadece yüksek dozlarda doyurulabilir emilimin meydana geldiği bulunmuştur. Ek olarak, gıdaların oral süspansiyonun biyoyararlanımı üzerinde önemli bir etkisi gözlenmiştir (11). Sağlıklı gönüllülerde, Posakonazol oral süspansiyonu yüksek yağ oranı ile uygulandığında, konsantrasyon eğrisinin altında kalan alan (AUC) miktarının % 300 arttığı gözlenmiştir. Benzer şekilde, süspansiyon yemekle birlikte uygulandığında (AUC) 'da% 168 artış olduğu bildirilmiştir. Profilaksi veya terapötik etkinlikle gereken tutarlı kan dolaşımı konsantrasyonlarını elde edebilmek için posakonazolün oral süspansiyonunun günde birkaç kez, tercihen yüksek yağlı bir yemekle alınması gereklidir (11). Düşük veya saptanamayan Posakonazol seviyelerine sahip birçok hastada birçok faktör oral süspansiyonun biyoyararlanımını etkilemiştir (11). Posakonazolün pazarlanan oral süspansiyonunun en büyük dezavantajlarından biri, hastalar arasında gastrik pH düzeylerindeki değişkenlik nedeniyle sistemik maruziyetteki belirsizliktir (15).

Oral süspansiyon ile ilişkili problemler nedeniyle, biyoyararlanımı ve daha tutarlı farmakokinetiği olabilecek yeni bir formülasyon geliştirmek için önemli çalışmalar yapılmalıdır. Bu amaçla, oral uygulama için yeni bir posakonazol formülasyonun geliştirilmesi

gereklidir (11). Posakonazolün yeni gecikmeli salımlı formülasyonların geliştirilmesi, bu azol antifungal ajanın oral süspansiyonu üzerinde önemli bir formülasyon iyileşmesine olanak tanır (11). İnvaziv mantar enfeksiyonlarını önleme ve üretilen formülasyonların etkinliğini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (11). Bu nedenle, bu çalışmada, oral kullanım için spontan yöntemle PSC'un yeni stabil O/W mikroemülsiyonlarının tasarlanması, optimizasyonu ve karakterize edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada deneysel tasarım kullanılarak oral yoldan uygulamak için PSC'un mikroemülsiyonları optimize edilmiştir. Bu mikroemülsiyonların tasarımı için bağımsız değişkenler olarak yağ, sürfaktan ve kosurfaktan konsantrasyonu kullanılmış olup bunların partikül boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli üzerindeki etkisi incelenmiştir. Temel olarak, PSC yüklenmiş ME'lar geliştirerek bunların fizikokimyasal özellikleri ve ilaç salım profilleri değerlendirilmiştir. PSC'un çeşitli yağlarda, sürfaktanlarda ve yağ/sürfaktan karışımlarında çözünürlüğüne bakılmıştır. İlaçların eksipiyanlarda çözünürlüğü, mikroemülsiyon bileşenlerinin seçimi için önemli bir kriterdir.

Halen ilaçların çözünürlüğünü, çözünme hızını ve biyoyararlanımlarını geliştirmek için çeşitli formülasyon stratejileri kullanılmaktadır. Bu stratejiler, ilaç özelliklerinin moleküler düzeyde modifikasyonlarını, kolloidal ilaç verme sistemlerinin (örn., Mikroemülsiyonlar ve kendiliğinden emülsifiye edici sistemler) kullanımını ve/veya partikül seviyesinde ilaç özelliklerinin modifikasyonlarını (örn. partikül boyutunun küçültülmesi) içerir (7).

Nanoteknoloji en yaygın iyileştirme yöntemlerinden biri olarak kabul edilir ve düşük çözünürlük ve dolayısıyla biyoyararlanım sorununun üstesinden gelmek ve hedefli ilaç dağıtımını sağlamak için kullanılmaktadır (7). Düşük suda çözünürlükten muzdarip ilaç adaylarının sayısı artmakta bu da zayıf çözünürlüğü ilaç endüstrisi için büyük bir zorluk haline getirmektedir (7).

PSC suda çözünmeyen bir ilaçdır. Bu ilacın sulu dozaj formunu oluşturmak, PSC'un kendiliğinden emülsifiye olan sistemde O/ W mikroemülsiyonda yağ fazında ilaç olarak, hidroliz ve oksidasyona karşı koruma sağlar. Lipofilik ilacın çözündürülmesi ile daha az enerji gereksinimiyle sıvı dozaj formunda PSC'un biyoyararlanımını arttırmak, etkili ve hızlı penetrasyon sağlamak, hastanın uyumunu arttırmak mümkün olabilmektedir (17).

Kendiliğinden emülsifiye olan sistemlerim optimizasyonu ve geliştirilmesi ile ilacın etkinliği arttırılır, verilen toplam dozun azaltılmasına olanak tanınır böylece yan etkiler en aza indirilmiş olur (17). Kendiliğinden emülsifiye olan sistemlerin hazırlanmasında daha az enerji gereksinimi oluşmaktadır.

Bu çalışmada farklı formülasyon parametrelerinin, özellikle sulu fazdaki yüzey aktif madde konsantrasyonunun, ME damlacıklarının özellikleri üzerindeki etkisi araştırıldı. Her formülasyonu karakterize etmek için farklı formülasyonlar yapılarak incelendi. Daha sonra aralarından seçim yapıldı. Partikül büyüklüğü, ilaç çözünürlüğü, formülasyon stabilitesi ve bulanıklık gibi fiziksel özellikleri incelendi. ME'lerin bileşimine karar verilirken, farklı bileşenlerdeki (yani, yağ, sürfaktan ve ko sürfaktan) PSC çözünürlüğü ve üçgen faz diyagramı çalışması gözönünde bulunduruldu.

Yüzey aktif madde konsantrasyonunun, spontan emülsifikasyon ile üretilen mikroemülsiyonlarda ortalama damlacık çapı ve PDI üzerindeki etkisini incelemek için farklı yüzey aktif madde seviyeleri (SER) kullanıldı (72). Emülsiyonlardaki toplam yağ fazı miktarı sabit (ağırlıkça% 10) tutulurken, mevcut yüzey aktif madde miktarı değiştirildi.

Spontan emülsifikasyon (SE) kullanılarak üretilen PSC yüklü mikroemülsiyonların oluşumunu ve özelliklerini etkileyen faktörler araştırıldı. Çalışmalar ayrıca her bir iletim sistem için kullanılan biyoaktiflerin, yağların ve yüzey aktif maddelerinin yapısına bağlı olarak dikkatle tasarlanması gerektiğini gösterdi.

Bu çalışmada, oluşum ve stabilitesini etkileyen bazı önemli faktörlerin etkilerini inceleyerek stabil PSC yüklü mikroemülsiyon formülasyonları optimize edildi. Bunun için yağ tipi ve bileşimi, yüzey aktif madde tipi ve konsantrasyonu, kosürfaktan tipi ve konsantrasyonu dikkate alındı. PSC için etkili bir iletim sistemi geliştirmek amacıyla, düşük enerjili bir yöntem (SE) kullanarak bir dizi PSC yüklü mikroemülsiyon hazırlandı. Posakonazolün mikroemülsiyonu geliştirilerek yüksek çözünme hızına sahip ve daha iyi biyoyararlanımı olan bir formülasyon elde edilmeye çalışıldı.

Farmasötik teknolojideki son araştırmalar, potansiyel ilaçların verimliliğini artıran yeni ilaç dağıtım sisteminin (NDDS) tasarımı ve geliştirilmesine odaklanmıştır(1). Bu perspektifte nanoemülsiyonlar ve mikroemülsiyonlar hem yağda hem de suda çözünür bileşikler için geniş çözünürlük kabiliyetlerinden ötürü yeni dozaj formları olarak büyük ilgi çekmektedir (1). En yetenekli teknolojilerden biri, lipofilik ilaçların çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını arttırmak için uygulanabilen nanoemülsiyon ve mikroemülsiyon ilaç dağıtım sistemidir (1). Mikroemülsiyonlar ve nanoemülsiyonlar, terapötik ajanların daha iyi verilmesini sağlamak için ilaç taşıyıcıları olarak kullanılan nano boyutlu emülsiyonlardır (1). Bu son derece gelişmiş teknoloji, kontrollü dağıtım ve hedefleme için biyolojik olarak aktif ajanların sistemik salımı için kullanılır. Bunlar 20 ila 200 nm arasında değişen emülsifiye yağ ve su sistemi içeren yeni ilaç verme sistemleridir (1). Suda az çözünen ilaç ürünlerinin formülasyonu ve geliştirilmesi,

temelde yükselen yeni ilaç keşif programları nedeniyle bilim insanlarına meydan okumaya devam etmektedir. Üretim ve ölçek küçültme, kararlı olma durumları ve gelişmiş biyoyararlanım, araştırmacıların dikkatini çeken bu formülasyonların temel özellikleridir (1).

En yeni ilaç dağıtım sistemlerinden biri olan nanopartiküllerin biyoyararlanımı geliştirdiği ilacı hedefleyerek dağıtabildiği ve sistemik uygulama için de salımlarını sürdürerek ilaçların verimliliğini arttırdığı gösterilmiştir (77). Yüzey aktif madde tipinin emülsiyon oluşumu ve stabilitesi üzerindeki etkisi, partikül büyüklüğü, zeta potansiyeli, mikroyapı ve stabilitesi ölçülerek belirlenmiştir (77). Nanoemülsiyonların ve mikroemülsiyonların düşük enerjili yöntemlerle hazırlanması uygundur, çünkü bu yöntem yüksek enerjili emülsifikasyon yöntemlerine göre daha küçük ve daha homojen damlacık boyutlarına ulaşılmasını sağlar (5).

Mikroemülsiyonların Hazırlanması: Formülasyonlar, uygun miktarda/oranda yağ, sürfaktan ve kosürfaktan karıştırılarak hazırlandı, oda sıcaklığında tamamen dispersiyon oluşana kadar formülasyonun karıştırılması devam edildi. Sonra distile su ile titrasyon işlemi yapıldı berrak bir çözelti elde edilene kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Formülasyonlar hazırlandı ve karakterize edildi.
Mikroemülsiyonun Karakterizasyonu: Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksinin Ölçülmesi: Mikroemülsiyonun partikül boyutu ve polidispersite indeksi, Seçilen ME'lerin ortalama damlacık boyutu, dinamik bir ışık saçılım aleti (DLS-nano ZS, Zetasizer, Nanoseries, Malvern Instruments) ile ölçüldü. İlaç dağıtımı için damlacık boyutunun küçük olması gereklidir. Polidispersite endeksi (PI), partikül homojenliğinin bir ölçüsüdür ve 0,0 ila 1,0 arasında değişir. Polidispersite değeri sıfıra yaklaştıkça parçacıklar daha homojen olur. ME'lerin zeta potansiyeli Zetasizer'den (DLS-nano ZS, Nanoseries, Malvern Instruments) elde edilmiştir. Bilindiği gibi, emülsiyonlaştırılacak her malzeme, optimum emülsifikasyona kadar spesifik bir hidrofilik-lipofilik denge (HLB) sayısına sahip bir yüzey aktif madde (veya bir yüzey aktif madde karışımı) gerektirir.

Uygun HLB değerinde bir yüzey aktif maddenin kullanılması, küçük ve dar bir damlacık ile stabil bir emülsiyon oluşumunu sağlamalıdır (86). Bir emülsiyon oluşturmak için gereken serbest enerji çok düşük olduğundan, oluşum termodinamik olarak kendiliğinden olur. Sürfaktanlar, emülsiyon damlacıklarının etrafında bir tabaka oluşturur ve arayüzey enerjisini azaltırlar böylece birleşme için mekanik bir bariyer sağlarlar (9).

5.1. PSC'un çözünürlük çalışması

Bu tez çalışmasında PSC etkin madde olarak mikroemülsiyon formülasyonlarında kullanılan ve planlanan yağ, sürfaktan ve kosürfaktanlardaki çözünürlüğü incelendi. İlaçların eksipiyanlarda çözünürlüğü, nanoemülsiyon bileşenlerinin seçimi için önemli bir kriterdir (87). Bileşenlerin taranması için en önemli kriter, yağ fazında zayıf çözünen ilacın çözünürlüğüdür (87). Son çalışmalar, yeterli ilaç çözünürlüğü kapasitesi için sürfaktanların, kosurfaktanların ve yağ tipi ve konsantrasyonlarının dikkatli bir şekilde optimize edilmesinin önemini göstermiştir (77).

Çözünürlük çalışmasına ait sonuçlar bulgular bölümünde Şekil 4-2'de gösterilmektedir. Seçilen yağlar arasında Isopropil miristat (0,0564 mg / ml), peseol (13,4852 mg/ml) ve oleik asitin (18,4935 mg / ml) en yüksek çözünürlüğe sahip olduğu saptanmıştır. Sürfaktanlar arasında Span 80 (1,5849 mg/ml), Cremophor EL (2,7277 mg / ml), plurol Oleique (3,0096 mg/ml), Labrafil M 2125 (5,1825 mg/ml), Tween 80 (6,2263mg / ml), Labrafil M 1944 (8,1705 mg/ml), Lauro glycol FCC (8,3495 mg/ml), Glucier (20,2284 mg/ml), Tween 20 (20,9381 mg/ml) ve bunların içinde Labrasol (38,4122 mg/ml) en yüksek çözünürlük değerini vermiştir. Kosürfaktanlar arasında propandiol (5,3885 mg/ml), PEG 600 (28,2385 mg/ml), PEG 200 (35,3529 mg/ml), PEG 400 (44,4961 mg/ml) ve Transcutol P (52,4953 mg/ml) olarak en yüksek çözünürlüğü vermiştir. PSC'un distile suda çözünürlüğü 0,0007 mg/ml olarak saptanmıştır ve bu da bu etkin maddenin suda çözünmediğini göstermektedir. Mishra ve arkadaşları da (Lit. numarası verilmeli) PSC'un suda çözünmeyen bir ilaç olduğunu belirtmişlerdir.

Bu nedenle bu çalışmanın amacı nano partikülerin üretimi ve optimizasyonu ile çözünmeyen PSC'un çözünmesini sağlamak ve bir PSC yüklemeli ME geliştirmek ve fizikokimyasal özelliklerini, stabilitesini ve ilaç salım profilini değerlendirmektir. Çözünürlük çalışmasıyla bileşenlerin taranması ve mikroemülsiyonların hazırlanmasındaki ana bileşenler olan yağ, sürfaktan ve kosürfaktan seçimini iyi yaparak, kararlı mikroemülsiyon üretmek amaçlanmıştır ki bu çok önemli bir faktör olarak kabul edilmiştir.

Yağlar içinde oleik asit yüksek çözünürlüğe sahip olduğundan, yağ fazı olarak seçilmiştir. Sürfaktanlar içinde en yüksek çözünürlüğe sahip olan bileşen Labrasol'dur ve kosürfaktanlar içinde en yüksek çözünürlüğe sahip eksipiyan Transcutol P olarak saptanmıştır. Mikroemülsiyon tipi yağ, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif maddenin özelliklerine ve oranlarına bağlıdır.

Bir sürfaktan, bir O / W emülsiyonu oluşturmak için HLB> 10'a sahip olmalıdır. Bu çalışmada sırasıyla 14, 14 ve 15 HLB değerine sahip Labrasol, Cremophor EL ve Tween 80 seçilmiştir.

Her üç sürfaktanda iyonik olmayan yüzey aktif maddelerdir ve iyonik yüzey aktif maddelere kıyasla daha az toksik olduklarından ve pH ve iyonik güçten daha az etkilendikleri için yaygın olarak kullanılırlar. Bunların yanı sıra farklı mikroemülsiyonlar üretmek için Tween 20, PEG 400 ve Cremophorda kullanılmıştır.

Mikroemülsiyonların formülasyonunda kullanılan yüzey aktif maddelerin çoğu tek zincirli yüzey aktif maddelerdir ve mikroemülsiyon oluşturmak için yüzeyler arası gerilimi yeterince düşürmeyebilir. Bu gibi durumlarda, kosurfaktan olarak bilinen sisteme ikinci bir amfifilin eklenmesi gerekir. Bu çalışmada, HLB değeri 11.3 ve 4.2 olan PEG 400 ve Transcutol P seçilmiştir.

Ko-sürfaktanlar, sürfaktan molekülleri arasında ara-madde oluşturur ve polar başı grup etkileşimlerini azaltır. Ayrıca nanoemülsiyon damlacıklarının etrafındaki arayüzey filmin esnekliğini arttırırlar (87).

Çalışmanın amacı, Posaconazolun çeşitli yağlar, yüzey aktif maddeleri ve yardımcı yüzey aktif maddelerindeki çözünürlüğünü değerlendirilmesi ile uygun yağ fazı, surfaktanlar ve kosurfaktanların seçilmesidir. Elde edilen sonuçlar Ljiljana Djekic ve ark. (77), Bapi Gorain ve ark. (37), Sumeet Sood ve ark. (87), yaptıkları çalışmalar ile uyumludur.

5.2. PSC'un Farklı pH'larda (1,2 ; 4,5 ve 6,8) Çözünürlüğü

GI pH, ilaç çözünmesi ve çözünürlüğü, ilaç salımı, ilaç stabilitesi ve bağırsak geçirgenliği üzerinde önemli etkisi olabileceğinden oral ilaç emilimini ve biyoyararlanımını önemli ölçüde etkileyebilen önemli bir faktördür.

GI yolun farklı bölgeleri farklı ilaç emici özelliklere sahiptir. GI kanal boyunca geçiş süresi ve denekler arasındaki değişkenliği, ilaç emiliminin oranında ve derecesinde değişkenlik katkıda bulunabilir (78). Bu nedenle PSC'un farklı pH'larda çözünürlüğünü değerlendirmek oral yoldan verilmesi için önemli bir kriterdir. Bu çalışmaya ait sonuçlar Tablo 4-4'de ve Şekil 4-5'de bulgular kısmında verilmiştir. Sonuçlar PSC'un pH=1,2'de (mide pH'sı) daha iyi çözündüğünü göstermiştir.

Gao ve ark. açlık durumunda simüle edilmiş mide sıvısında (FaSSGF, pH 1,2) ve açlık durumunda simüle edilmiş bağırsak sıvısında (FaSSIF, pH 6,5) NE'lerin in vitro salım çalışması yine diyaliz membran kullanılarak yapmışlardır (10).

5.3. PSC'un Optimizasyon Çalışması

Bu bölüm çalışmanın en kritik bölümü olarak belirlenmiştir. Bir mikroemülsiyon oluşturmak için gereken serbest enerji çok düşük olduğundan, oluşum termodinamik olarak kendiliğinden oluşmuştur.

Sürfaktanlar, emülsiyon damlacıklarının etrafında bir tabaka oluştururlar ve arayüzey enerjisini azaltırlar ve birleşme için mekanik bir bariyer sağlarlar (9). Kendiliğinden emülsifiye olan sistemlerin optimizasyonu ve geliştirilmesi ile ilacın etkinliği arttırılır, toplam dozun azaltılmasına izin verir ve böylece yan etkileri en aza indirilir (17). Kendiliğinden emülsifiye olan sistemlerin hazırlanması daha az enerji gerektirir. Farklı mikroemülsiyon hazırlama yöntemlerinin başlıca avantajları ve sınırlamaları tartışılmış ve nanoemülsiyon uygulamalarının potansiyel alanları dikkate alınmıştır (17). Mikroemülsiyonların ve nano emülsiyonların özellikleri sadece bileşim değişkenlerine değil, aynı zamanda emülsiyonlaştırma yolu, çalkalama ya da emülsifikasyon süresi gibi hazırlama değişkenlerine de bağlıdır (17).

Bu çalışmada farklı yağlar, sürfaktanlar ve kosürfaktanlar kullanılarak çoklu formülasyonlar hazırlanmıştır. Bunlar Tablo 3-2'de ve bu bileşenlerin oranları Tablo 3-3'de verilmiştir. Bu değişkenlerin mikroemülsiyonların nihai özellikleri üzerinde önemli bir etkisi olabilir. Mikroemülsiyonların doğrudan uygulanması, belirli uygulamalar için en iyi özellikleri elde etmek için optimizasyon çalışmalarını gerektirir. Bu mikroemülsiyonlar kendiliğinden emülsifiye olan yöntemle hazırlanmıştır. düşük enerjili emülsiyonlaştırma yöntemleri kullanıldığında emülsifikasyon sırasında yer alan fazlar, küçük damlacık boyutu ve düşük polidispersiteli nanoemülsiyonlar elde etmek için belirleyici olabilir. Optimizasyonun amacı, küçük boyut ve düşük polidispersite indeksini sağlamakdır, ve buda geleneksel emülsiyonlara (yani makroemülsiyona) göre nano boyutlu emülsiyonların avantajlarından yararlanmaya olanak tanır. Genel olarak, optimizasyon minimum damlacık boyutu veya minimum polidispersite elde etmeye yöneliktir.

Mikroemülsiyon optimizasyonundaki bir diğer amaç, stabiliteyi arttırmaktır. Mikroemülsiyonlar için pratik uygulamaları bulmak için "kararlılık" üstesinden gelinmesi gereken temel sorundur. Optimizasyonda ayrıca, nano emülsiyonların kullanılma amacına yönelik bir optimumun formül elde edilmesi amaçlanmıştır (örn. İlaç dağıtımı).

Optimize edilecek özellikler, örneğin damlacık boyutu ve polidispersite indeksi ise elbette, kompozisyon ve hazırlık değişkenlerine bağlı olacaktır. Optimizasyon da bu iki değişken türüne göre gerçekleştirilebilir. Bu sebeple düşük enerjili yöntemlerle emülsifikasyon için bileşim değişkenleri preparasyon değişkenlerinden çok daha yüksek bir etkiye sahip olacaktır (17).

Optimizasyon yöntemleri ile ilgili olarak, bazen emülsifikasyon yolunun özellikleri mikroemülsiyonların optimum özelliklerinin tahmin edilmesine izin verir, bu nedenle optimizasyonlar sistemlerin faz davranışı incelenerek gerçekleştirilir. Diğer durumlarda, optimizasyon deneysel olarak bir değişkenin seçici değişimi ile gerçekleştirilir.

Burada optimizasyon, bileşim parametrelerinin (sürfaktan ve yağ konsantrasyonu) ve hazırlama parametrelerinin seçici değişimi ile incelenmiştir. Diğer yoğunlaştırma yöntemleri içinde, etkisi yaygın olarak incelenen değişkenler ise yüzey aktif madde yağ oranı ve bir yüzey aktif madde karışımı kullanıldığında bu maddeler arasındaki orandır.

Yavaş ve spontan titrasyon yöntemi ile farklı ağırlık oranları kullanılarak (1:1, 1:2, 1:3 ve 2:1) S ve KoS (Smix), yağ ve spesifik bir Smix oranı, bir diğerine göre artan konsantrasyonlarda ve tam tersi oranlarda (1:9 ila 9:1) olacak şekilde ayrı ayrı cam şişelerde çeşitli ME formülasyonları hazırlanmıştır. Eksipiyan karışımı ve ardından distile sulu faza karşı yavaş titrasyon kullanılmıştır. Görünen bulanıklık, titrasyon prosedürü sırasında son nokta olduğundan tüketilen hacim not edildi. Damıtılmış su ilavesiyle, kararlı, viskoz bir sistem, renksiz ve şeffaf bir sıvıya dönüşerek mikroemülsiyonlar elde edildiler.

Mikroemülsiyonlar, uygun konsantrasyonda uygun hidrofilik-lipofilik dengesi (HLB) olan yardımcı maddeler kullanılarak üretildiler. Bu mikroemülsiyonlar, karakterizasyon çalışması için sıkı cam kaplarda saklandı. Hazırlanan mikroemülsiyonların karakterizasyonunu incelemek için çeşitli testler yapıldı. Üretilen boş formülasyonlara ait S/KoS oranları ve Yağ: S/KoS oranları Tablo 3-4, 3-5, 3-6'da açıklanmıştır. Farklı formülasyon parametrelerinin, özellikle sulu fazdaki yüzey aktif madde konsantrasyonunun, ME damlacıklarının özellikleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Çözünürlük çalışmalarına dayanarak yağ fazı olarak oleik asit, Labrasol ve Transcutol P ve PEG ise sırasıyla sürfaktan ve yardımcı sürfaktan olarak seçilmiştir. Yağın viskozitesi arttıkça mikroemülsiyon oluşumu iyi olmamaktadır. Damlacık boyutunun hazırlama esnasında çok hassas noktalardan etkilendiği belirlendi. Bu noktalardan birisi titrasyon sırasında distile su eklemesi ve titrasyonun süresidir. Bir diğer nokta surfaktan ve kosurfaktanın oranları, miktarları ve bunların seçimidir. Bunlar iyi şekilde seçilmeli ve çok hassas biçimde tartılmalıdır. Hazırlanan mikroemülsiyonlardaki bileşenlerin konsatrasyon aralığını belirleyebilmek için üçgen faz diyagramları kullanılmıştır. Bir üçgen faz diyagramının oluşturulması, ME'ların mevcudiyet bölgesindeki konsantrasyon aralığını ve bileşenlerin oranlarını belirlemek için gereklidir. Yağ, Smix ve sulu fazın üçgen faz diyagramları sulu titrasyon yöntemi kullanılarak geliştirilmiştir. Yağ ve Smix'in her bir kütle oranı için sulu faz ile yavaş titrasyon gerçekleştirilmiş ve şeffaf ve kolayca akabilen mikroemülsiyonlar için görsel gözlemler yapılmıştır.

Bu tez çalışmasının optimizasyon çalışmasına benzer çalışmalar Sima Singh ve ark. (116), Mowafaq M. Gharrep ve ark. (83) tarafından yapılan çalışmalarla uyumludur.

Optimizasyon çalışmasından elde edilen verilere göre seçilen mikroemülsiyonların (P.1, P.3, P.6, P.8 ve P.9) damlacık boyutu, PDI, Zeta Potansiyeli Zetasizer (Malvern Zetasizer-Nano ZS, Worcester shire, UK) cihazı ile ve pH ölçümleri de elektronik pH metrede gerçekleştirilmiştir.

5.4. Ön Formülasyonun Optimizasyon Çalışmasında Üçgen Faz Diagram Çalışmaları

Üçgen faz diyagramları, surfaktan, yağ ve sulu fazları farklı oranlarda birleştirerek düşük enerjili yöntemle emülsiyonlar oluşturma sonuçlarını yorumlayabilmek için oluşturulmuştur. Bu faz diyagramları ME bölgelerinin alanını belirlemek için 25 ° C'de su titrasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. Genel olarak, üçgen faz diyagramlarının temelinde, optimum formülasyon seçilmesi vardır. Mikroemülsiyon bölgesi, formülasyon seçiminin temel noktasıdır.

Üçgen faz diyagramlarının oluşturulması:

Üçgen faz diyagramlarının bileşenleri arasında yağ, sürfaktan ve kosürfaktan karışımı (S karışımı) ve deiyonize su vardır ve distile su titrasyon yöntemi kullanılarak geliştirilmişlerdir. Sürfaktan ve kosürfaktan farklı ağırlık oranlarında (1: 1, 1: 2, 2: 1, 3: 1) karıştırılır. Her faz diyagramı için, yağ ve S karışım oranı, maksimum yağ ve S karışım oranı elde edilene kadar farklı ağırlık oranlarında harmanlanarak denenmiştir. Farklı yağ ve S karışımı kombinasyonu hazırlandıktan sonra yavaş yavaş sulu faz (deiyonize su) ile titre edilmiş ve şeffaflık için görsel inceleme yapılmıştır. Deiyonize su titrasyonu, su (O / W) mikroemülsiyonunda berraklık oluştuğunda durdurulur.

Üçgen faz diyagramının mikroemülsiyonları ilaç içermemektedir. Bu mikroemülsiyonlar, Posaconazole mikroemülsiyonlarının hazırlanmasında kullanılan daha kararlı formülasyonlar elde etmek için termodinamik kararlılık testlerine tabi tutulmuştur.

Bir mikroemülsiyon veya bir nanoemülsiyon sistemi, yüzey aktif maddenin bulunduğu yağ ve su fazları arasındaki sınırda mikro-yapılar içermelidir. Bu koloidal sistemler genellikle belirli bir yüzey aktif madde-yağ-su bileşimi için sadece belirli ve sınırlı konsantrasyonlarda oluşturulur. Farklı karışımların faz davranışı ile bunların bileşimi arasındaki ilişki genellikle bir sahte üçgen faz diyagramı kullanılarak gösterilir (38).

Optimizasyon çalışmasına dayanarak, elde edilen üçgen faz diyagramları Tablo 4-9, 4-10, 4-11’de ve Şekil 4-8, 4-9 ve 4-10’da verilmiştir. Üçgen faz diyagramları kullanılarak kararlı formülasyon seçimi Maria Grazia Sarpietro ve ark. (38), Yue Z hang ve ark. (89) ve Mowafaq M. Gharrep ve ark. tarafından yapılan çalışmalarla uyumludur.

5.5. Mikroemülsiyonların Seçimi

Mikroemülsiyonların bileşenlerinin seçimi PSC'un çeşitli yağlarda, sürfaktanlarda ve kosürfaktanlarda çözünürlük çalışmasına dayanarak, etkin madde yüklü olmayan mikroemülsiyonların görünüm yönünden uygun ve su tutma kapasitesi, damlacık boyutu, dağılımları, piklerin kesinliğine göre ve posakonazulun hangi maddelerde yüksek çözünürlüğü

olduğu dikkate alınarak, üçgen faz diyagramları çizilmesi yoluyla belirlendi ve etkin madde yüklemek üzere seçildi.

Mikroemülsiyonlardan yağ fazı Oleik asit, sürfaktanları sırasıyla Labrasol, Tween 20, Tween 80 ve kosürfaktanları Transcutol P olanlar ve S/KoS oranı 1:1 ″OLT ax, OT20T ax, OT80T ax″ olarak ve S/KoS oranları 1:2 olanlar ″OT20T bx, OT80T bx″ olarak kodlandılar. Ayrıca değişik S/KoS oranlarlada fomülasyonlar hazırlanmasına rağmen distile su titrasyonunda hemen bulanık bir görünüm gözlemlendiği ve az su tutma kapasitesi olduğu için uygun bulunmadı. Ayrıca damlacık boyutları ve polidispersite indekslerinin büyük ve az su kullanılarak yapıldıklarında bile kararlı mikroemülsiyonlar oluşmadığı (bir kaç ay sonra bulanıklaşma başladı) gibi stabilitelerininde sorunlu olduğu görüldü. Bu sebeplerden dolayı seçilmediler.

Yağ fazı oleik asit olanlar ise sürfaktanı Tween 20, kosürfaktanları Transcutol P ve PEG 400 ve S/KoS oranı 1:1, 1:2 olan mikroemülsiyonlar ″OT20T-PEG ax, OT20T-PEG bx″ olarak, sürfaktanı Labrasol ve Cremophor El, kosürfaktanı Transcutol P ve S/KoS oranı 1:1, 1:2 olan mikroemülsiyonlar ″OLCreT ax, OLCreTbx″ olarak, sürfaktanları sırasıyla T20, T80 ve kosürfaktaları Transcutol P ve S/KoS oranı 1:1 olanlar ″OT20CreT ax, OT80CreT ax″ olarak kodlandılar. Bu şekilde kodlandırılan mikroemülsiyonlar posakonzol yüklemek için seçildiler. Mikroemülsiyonların önformülasyon çalışmalarına ait sonuçlar Tablo 4-12, 4-13, 4-14'te verilmiştir.

Ön formülasyon çalışmalarının amacı doğru eksipiyan seçimidir. Buna göre uygun yağ fazı ayrıca mikroemülsiyonun iyi stabiliteye sahip üretilmesini amaçlayan uygun yüzey aktif madde ve kosürfaktan seçmek için çeşitli yağlarda posakonazolun çözünürlük sonuçlarının düzenine bakılmıştır. Bunun yanısıra yağların iyi emülsifikasyon yapmasıda büyük önlem taşımaktadır. Yağ fazının tipi ve bileşiminin mikroemülsiyonlarda oluşan damlacıkların büyüklüğü üzerine etkileri de bu tez çalışmasında optimizasyon çalışması sırasında incelenmiştir.

Örnek olarak CasT80Tax ve OT80Tax kodlu formülasyonların her ikisinde kullanılan sürfaktan ve kosürfaktan aynı oranlardadır sadece yağlar farklıdır. Castor oille yapılan mikroemülsiyonun partikül büyüklüğü 186.5 nm ve oleik asitle yapılan ME'unun partikül büyüklüğü 95.46 nm dir. Bu örnek doğru yağ seçimini ispatlamaktadır. Yağ fazı olarak isopropilmiristat kullandığında ise stabil mikroemülsiyon elde edilememiştir. Çoklu formülasyonlar yapılmasına rağmen değişik partikül büyüklüğü ve dağılımı görülmüş ayrıca bulanık emülsiyonlar oluşmuştur. Hatta isopropil miristatın farklı fabrikalardan alınan ürünleriyle de denemeler yapılmış yine de stabil bir mikroemülsiyon elde edilememiş ve isopropilmiristatla çalışmaya devam edilmemiştir. Yağ labrafec olduğu zaman yağın viskozitesi çok yüksek olduğundan partikül büyüklüğü diğer yağlara kıyasla daha büyük olmuş, PDI artmıştır. Mikroemülsiyonlar, sistemin şeffaf doğası, akışkanlıkları (makul yağ konsantrasyonlarında) ve herhangi bir viskozite artırıcı olmadığında

hoş bir estetik karakter vermektedirler. Yağ fazının viskozite ve yoğunluğunun, özellikle düşük enerjili işlemlerde nanoemülsifikasyon sürecini etkileyebileceği bilinmektedir. Bu nedenle, yağ fazının viskozitesi, sürfaktan-yağ karışımları ve düşük enerjili mikroemülsiyonlar değerlendirilerek damlacık boyutuna bakılmıştır. Formülasyonda artan yağ konsantrasyonu ile damlacık boyutundaki artışın ilişkili olduğu bilinmektedir. Partikül büyüklüğü ve dağılımı iyi formülasyonlarda yağ fazı olarak oleik asit kullanıldığında ve adı gereği asit mevcudiyeti nedeniyle hafif asidik emülsiyonlar elde edilmiştir.

Birkaç kosürfaktan ile güçlü emülsifiye edici özelliğe sahip olan yüzey aktif maddeler, formülasyonda kullanılmak üzere seçilmiştir. Kosürfaktan olarak Cremofor EL kullanıldığında Cremofor RH'e göre daha küçük partikül büyüklüğü ve dağılımı elde edildi. Kosürfaktan olarak PEG 400 kullanıldığında propilen glikole göre daha küçük partikül büyüklüğü ve dağılımı saptanmıştır. Partikül büyüklüğü ve dağılımında en önemli kriter sürfaktanın kosürfaktana oranı ve Yağ: S/KoS oranıdır. Bir mikroemülsiyon, bir yüzey aktif madde veya emülsiyonlaştırıcı ve yardımcı yüzey aktif madde ile stabilize edilmiş yağ ve sulu fazın koloidal bir dispersiyonudur. Bu nedenle bu üç eksipıyanın doğru seçimi mikroemülsiyonun optimizsyonun tamamlanmasıdır. Yüzey aktif madde genellikle, yağ fazının oluşturulmasını kolaylaştıran yağa iyi bir afinite göstermelidir. Amfifilik yapıda olmasına rağmen, yüzey aktif maddeler, birçok araştırmada sıklıkla karışık yağ fazının bileşenleri olarak kullanılmıştır. Mikroemülsiyonlardaki toplam yağ fazı miktarı sabit (ağırlıkça% 10) tutulurken, mevcut yüzey aktif madde miktarı ve kosürfaktan miktarları değiştirildi. Bu sonuçların ispatı bulgular kısmında Tablo 4-6, 4-7 ve 4-8'de gösterilmektedir. Seçilen mikroemülsiyonlar Tablo 4-12, 4-13 ve 4-14'te verilmiştir. Bu mikroemülsiyonlar yöntem 4.2.2.1.'de anlatıldığı şekilde PSC yüklendiğinde kodlama yapılmış ve PSC yüklü mikroemülsiyonlar için kodlamalar Tablo 4-15 de verilmiştir.

Emülsiyonların fiziksel durumları, bir ekseni sulu fazı, diğeri yağ fazını ve sonuncusu da sabit kütle oranlarını temsil eden bir yüzey aktif madde ve kosurfaktan karışımının üç bileşenli faz diyagramları üzerinde işaretlenmiştir (89).

5.6. Mikroemülsiyonların Karakterizasyon Çalışmaları

Ön formülasyon ve optimizasyon çalışmasından elde edilen sonuçlara göre mikroemülsiyonlar seçildi, karakterizasyon çalışması için sıkı cam kaplarda saklandı 4 ay boyunca stabil kabininde bekletilerek değerlendirildiler. PSC'un mikroemülsiyonlarının optimize edilmiş formüllerinin seçim kriteri, hazırlanan PSC mikroemülsiyonlarının karakterizasyonu ve optimize edilmiş formül olma özelliklerini taşıdığına dair işaretlerdir.

5.6.1. Fiziksel Görünüşün Değerlendirilmesi

Fiziksel görünüm hem boş mikroemülsiyonlara hemde PSC yüklü mikroemülsiyonlar için 25°C ± 2°C, %60 RH ± 5 ve 40°C ± 2°C, %75 RH ± 5'te yapıldı, Mikroemülsiyonlarda kullanılan yağ oleik asittir ve bu yağ sarı renkli olduğu için 40°C'de birkaç tane etkin madde yüklenmiş mikroemülsiyonlarda sarımtırak renk görülmüştür. Diğerlerinin homojen ve berrak görümlü oldukları saptanmıştır. Formülasyonların bugüne kadar iyi tolere edildikleri görülmektedir. Fiziksel görünüm çalışmaları pek çok literatürde yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Navneet Sharma ve ark. yaptıkları çalışma (17) ile uyumludur.

5.6.2. pH Ölçümü

Boş ve PSC yüklü mikroemülsiyonlar için 25°C pH metrede ölçüldü ve her ölçüm üç kez tekrarlandı. Üretilen mikroemülsiyonlarda oleik asit kullanıldığı ve bu yağ kendisi asitik bir yağ olduğu için yapılan mikroemülsiyonların ortalama pH'larının 5 civarında olduğu saptanmıştır. pH ölçümündeki herhangi bir değişiklik formüle edilmiş mikroemülsiyonun stabilitesini etkileyeceğinden, bu ölçümün, ilaç yüklü mikroemülsiyonun nihai ürünü için önemli bir parametre olduğu kabul edilir. pH ölçümü dijital pH metre kullanılarak yapıldı. Bu sonuçlar Ghareb M. Soliman ve ark. (10) ve Mowafaq M. Gharrep ve ark. (3) yaptıkları çalışmalar ile uyumludur.

5.6.3. Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli

Küçük damlacık boyutu, damlacıkların topaklaşmasını ve birleşmelerini önler. Bu yüzden sistem ayrılma ve dağınık kalmaya devam eder. Polidispersite indeksi (PDI) ölçümü, formüle edilmiş mikroemülsiyon içindeki damlacık dağılımının homojenliği hakkında bilgi verir. Zeta potansiyeli, damlacıkların yüzeyindeki yükün işlevini açıklar.

Düşük enerjili yöntemlerle nano emülsiyonların hazırlanma sırasında optimizasyon ile ilgili olarak, son literatür, emülsifikasyon sırasında küçük damlacık boyutlu ve düşük polidispersite indeksli O / W mikroemülsiyonlarının elde edilmesine izin verdiğini doğrulamaktadır. Parametrelerin veya deneysel tasarımların seçici olarak değiştirilmesiyle yapılan optimizasyonlar, kompozisyon değişkenlerine göre, genellikle optimum bir yüzey aktif madde karışımı bileşimi veya HLB'nin olduğu ve yağ yüzey aktif madde oranının ne kadar yüksek olursa damlacık boyutunun daha büyük olduğu sonucuna varılmasını sağlar (17).

Sürfaktanün HLB değeri, belirli bir yağ fazı için uygun emülgatör seçimi ile yakından ilişkilidir ve ciddiye alınmalıdır. Emülgatörün HLB'si yağ ile iyi eşleşmesi halinde, en iyi emülsiyonlaşma

gerçekleşecek ve çok küçük damlacıklar ile mikroemülsiyon oluşturulacaktır. Yağ / Su (O / W) tipi mikroemülsiyon elde etmek için, emülgatörün HLB değeri 8 ila 18 arasında olmalıdır (89).

Bir mikroemülsiyon, bir yüzey aktif madde veya emülsiyonlaştırıcı ve yardımcı yüzey aktif madde ile stabilize edilmiş yağ ve sulu fazın koloidal bir dispersiyonudur. Mikroemülsiyonlar, uygun konsantrasyonda uygun hidrofilik-lipofilik dengesi (HLB) olan yardımcı maddeler kullanılarak üretilebilir (2).

Damlacıkların, polidispersite indeksi (PI) ve zeta potansiyeli Malvern Zetasizer Nano aleti üzerinde dinamik ışık saçılımı (DLS) ve elektrokinetik hareketlilik deneyleri ile ölçülmüştür.

Zeta potansiyeli, kolloidal dispersiyonlardaki elektro kinetik potansiyeli açıklamak için kullanılan bir terimdir (3).

Optimizasyon çalışmasının devamında seçilen boş ve etkin madde yüklü mikroemülsiyonların, damlacık boyutu ve polidispersite indeksileri Tablo 4-19'da verilmiştir ama bunlar nihai olanlar değildir. Nihai formülasyon seçimi en son yapılacaktır.

Tablo 4-19 da göze çarpan formülasyon OT20TPEG bx dir çünkü damlacık boyutu en büyük ve polidispersite indeksi en az olandır. Bunun nedeni Yağ: S/koS oranından kaynaklanır. Yağ fazının tipi ve bileşiminin mikroemülsiyonlarda oluşan damlacıkların büyüklüğü üzerindeki etkisini ispatlamaktadır. Aynı formülasyonun (OT20TPEG ax) yağı az olduğu zaman damlacık boyutunun daha az olduğu ve PDI'nin daha normal olduğu görülmüştür ama yağ oranı çok olduğunda damlacık boyutu yükselmektedir.

Bir başka tartışmalı konu sürfaktan olarak Cremophor El'le yapılan formülasyonların damlacık boyutunun diğerlerine kıyasla biraz büyük olmasıdır bu da Cremophor EL'in viskozitesinin daha yüksek olmasından kaynaklanır. Bu durum yağların, sürfaktanların ve kosürfaktanların viskozitelerinin damlacık dağılımı üzerindeki büyük etkisi olduğunu ve yüzey aktif madde konsantrasyonunun, spontan emülsifikasyon ile üretilen mikroemülsiyonların ortalama damlacık çapı ve PDI üzerindeki etkisini ispatlamaktadır. Zeta potansiyeline ait sonuçlarda Tablo 4-20'de verilmektedir. Formülasyonların zeta potansiyelleri negatif veya sefera çok çko yakın olduklarını göstermektedir.

Yapılan testler, formülasyonların ortalama damlacık büyüklüğünün nanometre aralığında olduğunu ve iyi bir dağılıma sahip olduklarını ortaya koymaktadır. Elde edilen sonuçların Yue Zhang ve ark. (89), ve Mowafaq M. Gharrep ve arkadaşlarının (3) yaptıkları çalışmalar ile uyumlu olduğu söylenebilir.

5.7. Seçilen Formülasyonlar (Nihai Seçilen formülasyonlar)

Yukarıda elde edilen sonuçlardan hazırlanan formülasyonların nano aralıkta olduğu ve formüle edilebileceği sonucuna varılmıştır. İlaç dağıtımı için damlacık boyutunun küçük olması çok gereklidir. Polidispersite indeksi (PI), partikül homojenliğinin bir ölçüsüdür ve 0,0 ila 1,0 arasında değişir.

Formülasyonların içinden beş formülasyon bu tez çalışmasının devami için uygun bulundu. Bu mikroemülsiyonların formülasyon kodu, bileşenleri ve oranları Tablo 4-21'de, bu beş mikroemülsiyonun damlacık boyutu ve dağılımı boş ve PSC yüklü halde Tablo 4-22'de, pH değerleri boş ve etken madde yüklü durumunda Tablo 4-23'de ve zetapotansiyeline ait değerler Tablo 4-24'te verilmektedir. Bu beş formülasyonun damlacık boyutları nanometer olarak, düşük ve homojen dağılıma sahip oldukları zetasizerden alınan grafiklerde şekil 4-11, 4-12, 4-13, 4-14 ve 4-15'de gösterilmiştir. Geleneksel olarak düşük polidispersite endeksi, sistemin daha fazla homojen olduğunu gösterir. Grafiklerde bu mikroemülsiyonların iyi ve yüksek pik verdikleri de görülmektedir. Bu beş mikroemülsiyonun P.1, P.3, P.6, P.8 ve P.9 kodlu mikroemülsiyonların polidispersite indeksleri sırası ile 0,138, 0,280, 0,394, 0,297 ve 0,183 olarak Tablo 4-22'de verilmiştir, bu da sistemlerin homojen olduklarını ispatlamaktadır. Sonuçlar ME'lerin kararlı, viskozitesi düşük, nanometre boyutunda küresel ve düşük PDI'ya sahip olduklarını göstermiştir. Buna bağlı olarak iyi optimize edildikleri söylenebilir. Mevcut klasik formülasyonların özellikle zayıf çözünürlük, düşük biyoyararlanım ve düşük oral absorpsiyon problemlerini çözmek adına seçilen mikroemülsiyonların avantajlı oldukları görünmektedir. Mikroemülsiyonlar suda çözünmeyen ilaçların çözünürlüğünü ve geçirgenliğini büyük ölçüde arttırmak için son derece küçük damlacık boyutlarına getirilerek biyoyararlanım problemleri çözülebilmektedir. Bu emülsiyonların PSC'un salım performansını önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür ayrıca posakonazolün biyoyararlanımı üzerinde de etkili olması beklenmektedir. Bu tez çalışmasında PSC'un çözünürlüğünü, stabilitesini ve kontrollü salımını geliştirmek için kullanılabilecek mikroemülsiyonlar geliştirilmeye çalışılmıştır. Posaconazol önemli biyolojik aktivitelere ve farmasötik alanlarda büyük potansiyel uygulamalara sahiptir.

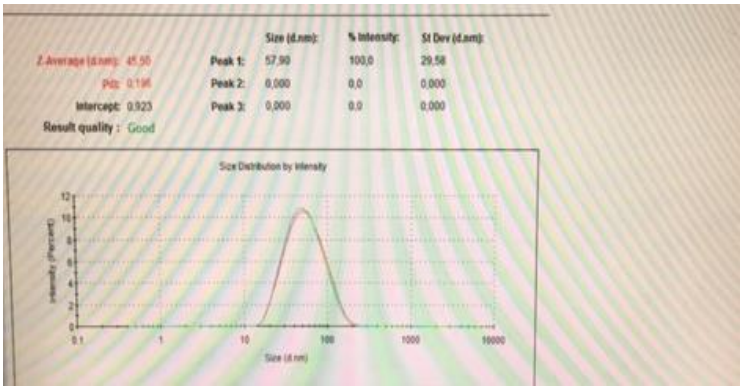
Mikroemülsiyonların nihai özelliklerini etkileyebilecek çok sayıda değişken göz önüne alındığında, gerekli deney sayısının azaltılmasına izin veren deneysel optimizasyonla çalışmalar gerçekleştirildi.

Optimizasyon konusundaki bilimsel makalelerin sayısı gerçekten çok fazladır. Mikroemülsiyon özelliklerinin optimizasyonu için faz davranışı ile ilgili çalışmalara yoğunlaşılmış ve kendi kendine emülsiyonlaştırma yöntemleri üzerinde de çalışmalar yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Navneet Sharma ve arkadaşlarının da yapdıkları çalışma (17) ile uyumludur.

5.7.1. Nihai Seçilmiş Mikroemülsiyonlarda Çözünen Posakonazol Miktarı

Çözünen PSC miktarı Tablo 4-25'de ve grafiği ise şekil 4-16'da verilmiştir. Bu bölümde mikroemülsiyonlardan PSC'un çözünürlük çalışmaları yöntem 3.2.2.2'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. PSC'un en iyi çözündüğü mikroemülsiyonlar sırasıyla P.8> P.1> P.6> P.9> P.3 dır. Bu sıralamaya göre P.8 de kullanılan yağ Oleik asit ki yağlar içinde PSC'un en çok çözündüğü yağ olarak, sürfaktan olarak Labrasol ise PSC'un en çok çözündüğü sürfaktan olarak seçilmiştir. P.1 ile P.8 mikroemülsiyonları aynıdır. Tek fark kosürfaktanın farklı olmasıdır. P.8 iki kosürfaktanlı bir mikroemülsiyondur ama P.1 tek sürfaktanlı bir mikroemülsiyondur. Bu farka bağlı olarak kosürfaktanın PSC'un çözünmesinde etkili olduğu gözlenmiştir. Ayrıca P.8'nın ve P.9'u karşılaştırıldığında bileşenler aynıdır ama S/KoS oranlarında fark vardır. P.8'de S/KoS oranı 1:1 ve P.9'da 1:2'dir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara dayanarak S/KoS oranı yarı yarı olduğunda PSC'un daha iyi çözündüğü söylenebilir. P.1, P.8, P.9'u P.3 ve P.6'yla karşılaştırıldığında her beş mikroemülsiyonda kullanılan yağ aynıdır ama P.3 ve P.6'da kullanılan sürfaktan farklıdır. Sürfaktan Labrasol olduğunda Tween 20'ye göre daha iyi sonuc elde edilmiştir. Aynı sonuç PSC'un tek tek bileşenlerde çözündürüldüğünde de elde edilmiştir. Bu sonuçlar bir mikroemülsiyonda kullanılan bileşenlerin, Sürfaktan, kosürfaktanların oranlarını ve Yağ: S/KoS oranlarının ne kadar önemli olduğunu göstermektedir.

Tablo 4-25'de ve şekil 4-16'da P.12 mikroemülsiyon gösterilmiştir. P.1'de ve P.12'de çözünen PSC miktarı sırasıyle 4,105 mg/ml ve 0,435 mg/ml olarak saptanmiştir. P.12'de kullanılan yağ Peceol Sürfaktan olarak labrasol ve kosürfaktan olarak transcutol P kullanılmıştır. P.1 ve P.12'deki sürfaktan ve kosürfaktan aynı, S/KoS oranı ve Yağ: S/KoS oranı aynıdır, fark sadece yağ tipi ve seçimidir, yağ seçiminden kaynaklı olan farkın PSC'un çözünürlüğünü ne kadar yüksek seviyede etkilediği ve gerçekten belirleyici olduğu ispatlanmaktadır. P.12 PSC yüklü mikroemülsiyonun damlacık boyutu 45,50 nm ve dağılımı 0,136 olarak bulunmuştur. Zetasizerden alınan grafik şekil 5-1'de gösterilmektedir. Çok iyi bir mikroemülsiyon olmasına rağmen amacımız suda çözünmeyen PSC'un, nano boyutlu mikroemülsiyonlarda çözünürlüğünü sağlamaktır. Bu hedef bu mikroemülsiyonla gerçekleşmemiştir. Peceol yağında da PSC'un çözünürlüğünün çok az olduğu Tablo 4-2'de verilmiştir. Bu durum P.12 ME'unun P.1'e göre daha yüksek miktarda su kapasitesine sahip olduğundan da kaynaklanabilir.



Şekil 5-1: P.12 PSC yüklü mikroemülsiyonun partikül büyüklüğü ve dağılımına ait grafik

Bu sonuçların ışığında bileşenlerin, S/KoS oranı ve Yağ: S/KoS oranının, mikroemülsiyonların üretiminde, yapılarında, damlacık boyutunda ve dağılımda önemli kriterler olduğu bir kez daha ispatlanmıştır.

5.7.2. Seçilen Mikroemülsiyonlara Eklenen PSC'un (DOZ) miktarı (Yükleme Kapasitesi)

Yöntem 5.7.1'de her mikroemülsiyon içinde PSC aşırı miktarda çözündürüldü ve farklı prosedürlerden geçerek sonunda her ME içinde eklenen PSC miktarı elde edildi. Bu miktarlar Tablo 4-26'da verilmiştir. PSC yüklü formülasyonların hazırlanmasında, ilk önce yağ fazı ve yüzey aktif maddeler karıştırılır sonra distile su ile titre edilir. Şeffaf mikroemülsiyon elde edildikten sonra etkin madde eklenir ve şeffaf çözelti elde edilene kadar çözündürülür. Posaconazol, mikroemülsiyonlardaki son konsantrasyon Tablo 4-25'de olacak şekilde çözündürüldü ve maksimum çözünme kapasitesi elde edildi. Hazırlandıktan sonra her mikroemülsiyon, kıvrımlı bir cam şişeye dolduruldu ve 25 ° C'de saklandı. Yağ fazının viskozitesinin ve yoğunluğunun, özellikle düşük enerjili işlemlerde çok önemli olan mikroemülsifikasyon sürecini etkileyebileceği bilinmektedir. Bu nedenle, yağ fazının viskozitesi, sürfaktan-yağ karışımları ve düşük enerjili mikroemülsiyonlar değerlendirilmiştir.

Bu bölümde hadefimiz her mikroemülsiyon için çözünen PSC miktarıdır. Bu durumu saptamak için önce grafik 4-16'daki miktarlar konularak UV Spektrofotometrede ve HPLC'de bakıldı o miktarda çözünmedi ve bulanıklık oluştu. İkinci adımda o miktarın yarısı konuldu yeniden önce UV Spektrofotometrede sonra HPLC'de bakıldı, bu şekilde adım adım yapılan değişikliklerle önce fiziksel durum sonra çözünen miktar hesaplandı sonunda her mikroemülsiyon için konulan 4 miktar elde edildi. Bu miktarlar Tablo -26'da ve Şekil 4-17'de verilmiştir. Çözünen bu miktarlardan sonra bu seçilen beş mikroemülsiyonun tam berrak bir görüntüye sahip oldukları gözlenmiştir.

P.8 ME'u PSC'un en çok çözündüğü formülasyondur, PSC'un en yüksek çözünürlük miktarı da aynı ME da görülmüştür. Çözünen miktarlar sırasıyle P.8 > P.1 = P.9 > P.3 > P.6 olarak saptanmıştır. Bu adımdan sonra önemli olan bu MElerin berraklıklarını koruma ve çözünen miktarın salım için saklanabilmesidir. Sırasıyla Tablo 4-27'de ve şekil 4-19'da UV Spektrofotometre kullanılarak yüklenen etkin maddenin yüzdesi verilmiştir. Bu bulgulara dayanarak, P.3 mikroemülsiyonu en yüksek ve P.6 formülasyonunun da en düşük yükleme kapasitesine sahip olduğu söylenebilir. Tablo 4-43'den elde edilen verilere göre P.3 formülasyonunun dağılmış yağ damlacıklarının 64,5 nm civarında dağılımının ise 0.272 olduğu görülmüştür. Bu bölümün sonunda her bir mikroemülsiyon için yüklenen miktar ve yüzdesi elde edildi. Buraya kadar suda çözünmeyen PSC'un üretilen mikroemülsiyonlarda çözündürülmesini sağlamak ve böylece antifungal ilacın çözünürlüğünü, antifungal etkinliğini, stabiliteyi arttırmak ve enfekte olmuş dokulara göndermek hedeflenmiştir. Her bir işlemden sonra fiziksel görünümler, partikül büyüklüğü, dağılımı, zeta potansiyel, pH ölçümleri, stabilite durumlarında incelemeler yapıldı. Çözünen PSC miktarı, sonra PSC'un yüklenen miktarı her bir ME için önce UV Spektrofotometrede sonra HPLC kullanılarak hesaplandı ve bunlar Tablolar ve grafiklerde gösterildi. Ama PSC'un mikroemülsiyonlardan salımı, antifungal testlerin sonucu bu verileri destekleyecektir. Posakonazolün yeni gecikmeli salımlı formülasyonunu formüle etmekle, bu azol antifungal ajanın formülasyonunun iyileştirilmesi amaçlanmıştı. Ancak invaziv mantar enfeksiyonlarına karşı önleme ve tedavisinde kullanılacak olan formülasyonların etkinliğini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Posaconazol lipofilik doğası nedeniyle, hücre zarlarının lipofilik bölgeleri içinde konsantre olup hücrelerin mantarlar tarafından istilasını önleyebilir ve böylece enfeksiyonu önleyebilir. Bununla birlikte, birçok klinisyen hem tedavi olarak hem de profilaksi olarak kullanıldığında posakonazolün terapötik ilaç izlemesini hala yapmaktadırlar (11).

Nanoteknoloji en yaygın iyileştirme yöntemlerinden biri olarak kabul edilir ve düşük çözünürlük ve dolayısıyla biyoyararlanım sorununun üstesinden gelmek ve hedefli ilaç dağıtımını sağlamak için kullanılmaktadır (7). Düşük suda çözünürlükten muzdarip ilaç adaylarının sayısı çok fazladır, bu da zayıf çözünürlüğü ilaç endüstrisi için büyük bir zorluk haline getirmektedir (7).

5.8. İn Vitro Salım Çalışmasında Etkin maddenin Geçişine Yardımcı Maddelerin Kullanımı

PSC'un salım çalışması için diyaliz membran seçildi. İlk olarak beş mikroemülsiyon içinden random olarak farklı mikroemülsiyonler seçildi ve tek başına salım çalışması denendi. Yöntem 3.2.10'da anlatıldığı şekilde PSC'un geçişi için farklı sürfaktanlar ve etil alkol kullanıldı UV

Spektrofotometrede 262 nm'de kullanılan yardımcı maddelerin absorbansı 0,1'in altıda olmalıdır. Çünkü bunun üstünde olduğunda PSC'un kendi absorbansı ile karışarak Spektrofotometreden doğru sonuç elde edilmesini önleyebilir. Labrasol, SLS farklı konsantrasyonlarda, etil alkol, Tween 20 ve Tween 80 PSC'un geçişine yardımcı maddeler olarak seçildiler. Seçildikten sonra UV Spektrofotometrede 262 nm'de absorbansleri okundu. Labrasolun absorbansı 0.111 olarak okundu, bu sonuç 0,1'e çok çok yakın olduğu için ilk geçiş çalışması %1 labrasol kullanılarak yapıldı. Geçiş denemesi için P.3 kodlu mikroemülsiyon seçildi ve geçişi UV spektrofotometrede incelendi. Bu işlemin sonuçları Tablo 4-28'de ve şekil 4-20'de verilmiştir. Bu bulgulardan elde edilen sonuçlara dayanarak labrasolun PSC'un geçişi için iyi bir yardımcı madde olduğu düşünülmektedir, 12. saatte %90'nun üzerinde bir geçiş göründüğü şekil 4-20'de verilmiştir. PSC'un çözünürlük çalışmasında sürfaktanlar içinde en çok çözündüğü eksipiyanın labrasol olduğu tespit edilmiştir.

İkinci yardımcı madde SLS olarak seçildi bu maddenin spektrofotometre kullanarak 262 nm'de absorbansi 0,1 dir dolayısıyla PSC'un geçişinde yardımcı madde olarak kullanılması problem yaratmaz. SLS başlangıçta yüksek konsantrasyonda kullanıldı.

Önce % 1,7 SLS içeren fosfat tampon hazırlandı ve üretilen mikroemülsiyonlardan birer ml alınarak diyaliz membranın içine konuldu ve yöntem 3.2.10 ve 3.2.10.1 deki salım koşuları hazırladıktan sonra kendiliğinden emülsifye olabilen mikroemülsiyonların geçişleri incelendi. Bu analizlere ait geçiş grafiği Şekil 4-21'de gösterilmektedir. Elde edilen verilere dayanarak %1,7 SLS içeren fosfat tamponla yapılan geçişte SLS'un fazla olduğu görülmektedir.

5.8.1. İn Vitro Salım Çalışması

ME'lerin in vitro salım çalışması diyaliz membranı kullanılarak gerçekleştirildi. Formülasyon (1 ml) olarak diyaliz membranı üzerine yerleştirildi ve yöntem 3.2.10.1'de anlatıldığı gibi PBS (pH= 6,8) ve %1 SLS içeren fosfat tampon çözeltisi (100 ml) içeren behere asıldı. Bu fosfat tamponu salin reseptör bölmesi görevi görür (4).

İlaç salımı 12 saat boyunca 37 ± 0,5°C'de ve karıştırma manyetik karıştırıcı kullanılarak 100 rpm hızında çalkalanarak yapıldı. Numuneler 3 ml olarak 1, 2, 4, 6, 8, 10 ve 12. saat aralıklarında alındı, ardından aynı tampon çözeltisinin eşit hacimleri eklendi ve örneklere filtrasyon işlemi yapıldı. Her periyodik zamanda rapor edilen numune miktarı çekilmesi ve aynı hacimde taze numune ile değiştirilmesi işlemine salım boyunca devam edildi. İlaç, üç kez λmax = 262 nm'de UV-Vis Spektrofotometresi kullanılarak test edildi. Salım çalışmasının sonuçları ilk önce UV spektrofotometrede sonra da aynı ortam kullanılarak HPLC'de 0,45 μm filtreden geçirilerek yapıldı. İn vitro salım çalışmasından UV spektrofotometre kullanılarak elde edilen sonuçlar Tablo 4-29, 4-30, 4-31, 4-32 ve 4-33'de ve % salım miktarı grafiği şekil 4-22, 4-23, 4-

24, 4-25 ve 4-26'da tek tek olarak ve Tablo 4-34'de ve şekil 4-27'de hepsi bir arada olarak gösterilmiştir. PSC yüklü ME'ler, PSC'un salım miktarını artırmış ve sürekli salımda da başarılı olduğu görülmüştür.

Bu bulgulara dayanarak, PSC ME'lerin in vitro salım çalışmasında en az geçişe sahip P.9 kodlu ME olarak % 27,12 değerine sahip ve en yüksek PSC salımı ise P.8 kodlu mikroemülsiyonda %58,05 olduğu görülmektedir. Ayrıca P.1, P.3 ve P.6 kodlu mikroemülsiyonlarda sırasıyla %52,41, %49.04 ve %49,95 oranlarıyla iyi bir salım göstermişlerdir.

PSC mikroemülsiyonlarının in vitro salım analizi:

Beş PSC yüklü mikroemülsiyon formülasyonundaki ilaç içeriğinin sonuçları (%52,65 - %94,60) aralıktadır. Daha yüksek ilaç içeriği yüzdesi (% 94,60) (1: 2) S karışımına sahip ME P.3'te, en düşük ilaç içeriği yüzdesi (% 52,65) (1:1) S karışımına sahip P.6'da bulunmuştur.

PSC mikroemülsiyonlarının (P.1, P.3, P.6, P.8 ve P.9) salınması fazladan aza olacak şekilde sırası ile P.8> P.1> P.6> P.3> P.9 şeklindedir. Varyans analizi yapılıp, tüm mikroemülsiyonlarda PSC salımı ile zaman arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür (P <0,05).

S karışımı (1: 1) ve S karışımı (1: 2) içeren PSC mikroemülsiyonları için sırası ile ilaç salım profili: P.8> P.1> P.6 ve S karşımı (1:2) oranı olanlarda P.3>P.9 olduğu görülmüştür (Şekil 4-27). Sıralama P.8 > P.1 > P.6 ve P.3 > P.9 şeklindedir.

Çözünme ortamında PSC mikroemülsiyonlarından (P.1, P.3, P.6, P.8 ve P.9) ilacın salımı, yüzey aktif madde konsantrasyonunun (% w / w) her bir S karışımı oranı için PSC salımı üzerindeki etkisini açıklar. Her bir S karışım oranında, konsantrasyon arttıkça, PSC salınımı azalır. Bu, surfaktan konsantrasyonunun arttırılmasının, PSC moleküllerinin çözünme ortamı için diyaliz membrandan difüzyonunun artmasına neden olması nedeniyle oluşur.

PSC'un daha yüksek salımı, formülde PSC moleküllerinin çözünme ortamı için diyaliz membrandan düşük difüzyonuna yol açan düşük surfaktan konsantrasyonu nedeniyle S karışımı (1: 1) olan P.8'de bulunmuştur.

PSC'un salımının daha az olduğu durum P.9 formülasyonunda, çözünme ortamı için diyaliz membrandan PSC'un yüksek difüzyonuna yol açan kosürfaktanın yüksek konsantrasyonundan dolayı S karışımı (1:2) oranında bulunan mikroemülsiyonda bulunmuştur.

Aslında Sürfaktan oranı Kosürfaktana 1:1 olduğu ME'lerde in vitro salımları S/KoS oranı 1:2 olduğundan daha iyi ve yüksek olduğu Tablo 4-34 ve Şekil 4-27'den görülmektedir.

P.3 ve P.8 kodlu ME'lar kıyaslandıklarında Tablo 4-44'te en küçük damlacık boyutu P.3 kodlu ME'da (65,84 ± 0,86) ve dağılımı (0,290 ± 0,023), bu formülasyonda sürfaktan olarak Tween 20 kullanıldığı ve Tween 20'de PSC'un çözünürlüğünün 20,94 mg/ml olduğu, Şekil 4-2'de görülmektedir. Ayrıca kosürfaktan olarak Trancutol P kullanmış ve S/KoS oranı 1:2 yani kosurfaktan konsantrasyonu daha yüksek olduğu da anlaşılmaktadır. PSC'un P.3 kodlu ME'da çözünürlüğü 3.085 mg/ml olarak Tablo 4-25'de gösterilmiştir. P.8 kodlu ME'de damlacık boyutu (96,6 ± 0.3) ve dağılımı (0,385 ± 0,013) idi. Kullanan sürfaktan labrasoldur ve PSC'un en yüksek çözünen eksipıyanlardan biri olarak 38,41 mg/ml dir. Ayrıca sürfaktanlar içinde PSC'un en çok çözünen sürfaktanı olarak Şekil 4-2'de gösterilmektedir, bunun S/KoS oranıda 1:1 di, PSC'un P.8 kodlu ME'da çözünürlüğü 4,519 mg/ml olarak gösterilmiştir, bu beş ME içinde PSC'un en yüksek çözündüğü formülasyondur.

P.8 ve P.1 kodlu ME'leri karşılaştırdığımız zaman:

P.8 kodlu formülasyonun özelikleri yukarıda anlatılmıştır. P.1 kodlu ME'da partikül büyüklüğü (98,84 ± 0,6) ve dağılımı (0,127 ± 0,004) dır. P.8 ve P.1'de kullanılan sürfaktan aynı ve sürfaktanın oranı ve kosürfaktanı da aynı, sadece P.8 formülasyon iki kosürfaktanlıdır ve PSC'un çözündüğü miktar bu formülasyon içinde 4,105 mg/ml olduğu Tablo 4-25'de gösterilmektedir. Bu iki formülasyonun partikül büyüklüğünde de fark çok azdır, PSC'un çözündüğü her iki formülasyonda da bir birine çok yakın ve in vitro salım çalışmalarında da farkın az olduğu görülmüştür. Fakat genel olarak P.8 kodlu formülasyonun P.1'e göre daha iyi olduğu saptanmıştır.

P.9 kodlu formülasyonda damlacık boyutu diğer beş mikroemülsiyonla karşılaştırdığımız zaman daha büyük (151,9 ± 1) ama dağılımı daha iyi (0,188 ± 0,0022) dır. PSC'un çözünürlüğü bu ME içinde diğer mikroemülsiyonlara göre daha az (3,4 mg/ml), S/KoS oranı 1:2 olarak salınım çalışmasında daha iyi ve yüksek oranda performans sergilemediği görülmektedir.

PSC'un mikroemülsiyonlarının optimize edilmiş formüllerinin seçimi esnasında bahsi geçen P.1, P.3, P.6, P.8 ve P.9'un optimize edilmiş formül olduklarına dair işaretler, iyi damlacık boyut aralığı ve dağılımı, pH aralığının çok çok az olması (5 civarında), fiziksel görünüm ve stabilite durumlarına bakarak değerlendirilmiştir.

Nanoteknoloji bu anlamda en yaygın iyileştirme yöntemlerinden biri olarak bu tip sorunları azaltmak, düşük çözünürlük ve dolayısıyla biyoyararlanım sorununun üstesinden gelmek ve hedefli ilaç dağıtımını sağlamak için kullanılmaktadır. Düşük suda çözünürlükten muzdarip ilaç adaylarının zayıf çözünürlüğünün ilaç endüstrisi için getirdiği büyük bir zorlukları yenmek için olanak tanımaktadır (7).

Elde edilen bu sonuçlar ve veriler Ghareb M. Soliman ve ark. (10), Sima Singh, MPharm ve ark. (116), Mowafaq M. Gharrep ve ark. (3), Amit saker ve arkadaşlarının çalışmaları (4) ile uyumludur.

5.9. Yüksek Basınçlı Kromatografi (HPLC) Yönteminin Validasyon Çalışması

Modifiye edilen HPLC metodunun validasyon çalışmaları için Garcia ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmayla uyumlu bir yol izlendi (113) ve bu analitik yöntemle çalışmalarımıza devam edildi.

Doğrusallık:

Çalışmamızın doğru denklemi y = 51706x ve R^2 değerimiz de 0,9999 olarak saptanmıştır. Doğrusalık çalışmanın devamında 15 farklı nokta kullanarak 5 farklı konsantrasyon değeri ile yapıldı, 0,05 – 50 µg/ml konsantrasyon aralığında yöntemimizin doğrusal olduğu gösterildi.

Doğruluk

Bu çalışmada 0,05, 1 ve 50 µg / ml konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandıktan sonra % geri kazanım değerleri analiz edildi. Elde edilen sonuçlar ve % RSD değerleri değerlendirildikten sonra, yöntemin geliştirmesinde 0,05 – 50 µg / ml konsantrasyon aralığında doğruluğun bulunduğu ve kullanılabilirliği ile sonuçlandı.

Kesinlik

Kesinlik çalışması iki şekilde; birisi gün içi kesinlik diğeri günler arası kesinlik olarak yapıldı. Hazırlanan çözeltiler 0,05, 1 ve 50 µg / ml'de HPLC'de analiz edildiklerinde % RSD değerleri "2 >" çıktığı için mevcut olan yöntemin kesinliği gösterilmiş oldu.

Seçilik

Seçicilik yönteminde tüm formülasyon çalışmalarında kullanılan yardımcı maddelerin 260 nm'de HPLC kromatogramları hazırlandıktan sonra incelendiler. Bu incelemelerin sonucu yardımc maddelerin hiç birisinin PSC ile aynı zamanda pik vermedikleri tespit edilmiştir. Buda kullandığımız yöntemin PSC için seçiciliği olduğunu ispatlamaktadır.

Duyarlılık

Doğrusalık ve doğruluk yöntemi 0,05 – 50 µg / ml konsantrasyon aralığında yapıldığı ve iyi sonuçlandığı için duyarlılık çalışmalarında teşhis limiti 0,0025 µg / ml ve miktar tayin limiti 0, 02 µg / ml olarak elde edilmiştir. Bu veriler çalıştığımız yöntemin yukarıdaki konsantrasyon aralığında duyarlılığının yeterli olduğunu ispatlamıştır.

Stabilite

PSC'un stabil olduğunu göstermek için 1 µg /ml konsantrasyonda PSC çözeltileri hazırlandı ve 1., 2., 4., 6., 8., 12., 24. ve 48. saatlerde HPLC'de analizleri yapıldı. Verilerin incelenmesi sonucunda hazırladığımız çözeltinin stabil kaldığı ispatlamıştır.

Bir in vitro çalışma, sıvı kromatografi teknikleriyle PSC'un antifungal mekanizmasını doğrulamıştır (7).

5.10. Mikroemülsiyonların Diyaliz Membrandan İn vitro Salım Çalışmaları (HPLC)

Yüksek basınçılı kromatografi (HPLC) yöntemin validasyon çalışması yapıldıktan sonra PSC içeren mikroemülsiyonlardaki PSC'un miktarının belirlenmesi HPLC sisteminde UV saptama ile yapıldı. Hazırlanan formülasyonların diyaliz membranı kullanılarak yöntem 3.2.10.3'de anlatıldığı gibi in vitro salım çalışmaları gerçekleştirildi. Bu sonuçlar Tablo 4-41 ve Şekil 4-29'da gösterilmiştir. Önceki sonuçlarla uyumlu olarak UV Spektrofotometre ile karşılaştırdığında çok önemli bir fark ortaya çıkmadığı gösterilmiştir. İn vitro salım çalışmasında her iki yöntemde de en yüksek ilaç konsantrasyonları P.8 kodlu formülasyondan elde edildi. Bu bulgu, formüle edilmiş mikroemülsiyonun daha küçük yağ damlacık boyutuna ve dağılımına atfedilebilir çünkü böylece daha geniş yüzey alanı sağlanmış olur. P.9 ve P.3 kodlu mikroemülsiyonlarda salım miktarı iki yöntemin sonucunda çok fazla fark göstermemiştir. P.6 kodlu mikroemülsiyonda HPLC yönteminden elde edilen sonuc UV spektrofotometredekine göre daha yüksektir bu da bu formülasyonda daha öncede diğer formülasyonlara göre PSC'un yüklemesinde sorun oluşturmuştur.

Beş PSC yüklü mikroemülsiyon formülasyonundaki ilaç içeriğinin sonuçlarının değerlendirmesi:

Daha yüksek ilaç içeriği yüzdesi (% 77,56) S karışımına (1: 1) sahip P.8'de, en düşük ilaç içeriği yüzdesi (% 24.8) S karışımı (1:1) olarak P.6'da, iki kosürfaktanlı mikroemülsiyonda bulunmuştur. Ayrıca P.9 kodlu ME'da P.8'e göre daha az salnım göstermiştir bunların her iksinin bileşenleri aynı ve iki kosürfaktanlıdılar sadece S karışımı (sürfaktanın kosürfaktana) oranı P.8'de 1:1 ve P.9'da 1:2 olduğundan dolayı salımda bu fark ortaya çıkmıştır.

Partikül büyüklüğü ve dağılımıda çok fark açmaya neden olarak salım değerinde büyük artışa yol açmıştır. Kosürfaktan (Trancutol P ve Cremofor EL'in) konsantrasyonu P.9'da yüksek olduğu daha büyük damlacık boyutu da düşük salım ortaya çıkarmıştır. Buda partikül büyüklüğünün in vitro salınım çalışmasında anlamını açıklamaktadır. Ayrıca yüzey aktif madde konsantrasyonunun, spontan emülsifikasyon ile üretilen mikroemülsiyonların ortalama damlacık çapı ve PDI üzerindeki etkisinide göstermektedir. PSC yüklü ME'lar, PSC'un sürekli salımında önemli değerler gösterdiği açıktır.

Varyans analizine yapılıp, tüm mikroemülsiyonlarda PSC salımı ile zaman arasında anlamlı bir fark olduğu gösterilmiştir (P <0,05). Bir kaç in vitro çalışma, sıvı kromatografi teknikleriyle PSC'nin antifungal mekanizmasını doğrulayacak sonuçlar elde etmişler. Sonuçlar Simon Leong ve ark. (16), Harikrishna Devalapally ve ark. (2) tarafından yapılan çalışmalarla uyumludur.

5.11. Seçilen Etkin madde Yüklü (PSC) Mikroemülsiyonların Stabilite Çalışmaları

Etkin madde ile doğru miktarda yüklenen mikroemülsiyonlar 6 ay boyunca stabilite kabininde (25°C ± 2°C, %60 RH ± 5) ve (40°C ± 2°C, %75 RH ± 5) bekletilerek her ayın başında fiziksel özellikler, partikül büyüklüğü ve dağılımı, zeta potansiyel, pH ölçümü ve miktar tayin analizleri yapıldı. Elde edilen tüm sonuçlar bulgular bölümünde verilmiştir.

5.11.1. Fiziksel Görünüm

Tablo 4-42'de de görüldüğü gibi fiziksel görünümlerde 40°C ve %75 RH'da bekletilen formüllerde son aylara doğru biraz sarımtrak renk gözlemiştir. Bu da yağ fazının kendi renginden kaynaklanmaktadır.

5.11.2. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı

Mikroemülsiyonların (kendiliğinden mikroemülsifiye olan sistemlerin) damlacık boyutu, ilacın sistemik emilimi için kritiktir. Polidispersite endeksi (PDI) ölçümü ise formüle edilmiş nanoemülsiyon içindeki damlacık dağılımının homojenliği hakkında bilgi verir.

Partikül büyüklüğü ve dağılımına dair bilgiler Tablo 4-43'de ve Tablo 4-44'te verilmiştir. Bu bulgulara dayanarak, P.3 formülasyonunun, 0,290 ± 0,023 polidispersite indeksine sahip dağılmış yağ damlacıklarının ise daha küçük çaplı (65,84 ± 0,86 nm civarında) bulunmuştur. Bu ME'da sürfaktan olarak Tween 20 ve kosürfaktan olarak Transcutol P 1:1 oranında kullanılmıştır. Çok şefaf ve berrak bir mikroemülsiyondur, salım çalışmasında gösterdiği performansın orta seviyelerde olduğu saptanmıştır.

En yüksek partikül büyüklüğü 151,9 ± 1 nm ile P.9 kodlu formülasyonundur. Polidispersite indeksi ise 0,188 ± 0,0022 dır. Bu mikroemülsiyonda S:KoS oranı 1:2, iki kosürfaktandan

oluşmuş ve her ikiside konsantrasyonları yüksek eksipiyanlardılar. Bu nedenle diğer formülasyonlara kıyasla daha büyük damlacık boyutuna sahip olduğu saptanmıştır. Aynı bileşenleri içeren başka formülasyon P.8 mikroemülsiyondur sadece S/KoS oranı 1:1 dir. Bu formülünün sürfaktan oranının P.9 formülasyonuna göre daha yüksek olduğu ve daha küçük partikül büyüklüğüne sahip olduğu görülmüştür. Bu, yüzey geriliminde yüzey aktif madde moleküllerinin artan adsorpsiyonuna ve bunun sonucunda arayüzey geriliminin azalmasına ve daha küçük damlacıkların oluşumuna yol açmasına atfedilebilir. PSC yüklü mikroemülsiyonlar için özelliklerin (damlacık boyutu, PDI, pH ve) analizi, S karışım oranının artışıyla damlacık boyutunun azaldığını açıklar. Ayrıca PSC'un invitro salım çalışmasında hem HPLC kullanarak hemde UV Spektrofotometrede en yüksek salınım P.8 formülasyonundan elde edildi. HPLC'de %77,56 PSC'un salınımı ve UV Spektrofotometrede %58,05 olarak gerçekleştirildi. Buda farklı formülasyon parametrelerinin, özellikle sulu fazdaki yüzey aktif madde konsantrasyonunun, ME damlacıklarının özellikleri üzerindeki etkisini göstermektedir.

Ayrıca P.8, P.6 ve P.9 formülasyonlarının hepsi iki kosürfaktanlıdır ve P.8 ve P.9 mikroemülsiyonda olan kosürfaktanlar transcutol P ve Cremofor EL'dir. P.6 formülasyonunda olan kosürfaktanlar ise Transcutol P ve PEG 400 dür. P.8 ve P.9'un P.6'ya kıyasla daha iyi performans sergiledikleri gözlenmiştir.

Saklama süresinde boş mikroemülsiyonlarda partikül büyüklüğü ve dağılımında bir artış söz konusu olabilir ama çok göze çarpan bir artış değildir. PSC yüklü mikroemülsiyonlarda boş mikroemülsiyonlara göre partikül büyüklüğü ve dağılımındaki artış boş olduğu halinden daha yüksek ama yine de problemli bir artış değildir. Sadece P.9 formülasyonunda hem boş olduğunda hemde PSC yüklü olduğu zaman partikül büyüklüğü ve dağılımında zaman içerisinde düşüş görünüyor bu durum kosürfaktanların viskozitelerinin ve konsantrasyonlarının azalmasına atfedilebilir. Burada zamanın partikül büyüklüğü ve dağılımı üzerindeki etkili bir faktör olduğu söylenebilir. Geliştirilen ME'lerin, damlacıkların büyüklüğü ve farklı depolama sıcaklıklarında zaman içindeki stabilitesi açısından ilginç özelliklere sahip oldukları bulunmuştur. Üretilen mikroemülsiyonların polidispersite indeksilerinin sonucuna bakıldığında iyi dağılıma sahip oldukları söylenebilir. Literatürlerde 1'in altındaki dağılım iyi olarak açıklanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları 0,5'in altındadır bu da mikroemülsiyonların partikül büyüklüğünün homojen dağılımlı olduğunu göstermektedir.

Varyans analizi, bu mikroemülsiyonların damlacık büyüklüğü ile S karışımının yüzdesi (a / a) arasında anlamlı korelasyonlar olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$).

Mikroemülsiyonların düşük enerjili yöntemlerle hazırlanması uygundur, çünkü bu yöntemler yüksek enerjili emülsifikasyon yöntemlerine göre daha küçük ve daha homojen damlacık boyutlarına ulaşmayı sağlar (5). Bu da daha yüksek çözünme hızına ve daha iyi biyoyararlanıma yol açar. Elde edilen bu sonuçlar Virginia Campani ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma (95) ile uyumludur.

5.11.3. Zeta Potansiyel

ME'lerin zeta potansiyeli Zetasizer'den (DLS-nano ZS, Nanoseries, Malvern Instruments) elde edilmiştir (Tablo 4-45). Bulgular, PSC ME'lerin ilaç geçirgenliğini, stabilitesini ve böylece formülasyonun etkinliğini kolaylaştırması beklenen negatife yakın zeta potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Zeta potansiyeli, damlacıkların yüzeyindeki yükün işlevini açıklar. Zeta potansiyelinde zaman içinde ve yüksek sıcaklıkda küçük bir artış görünmektedir.

Zeta potansiyeli, kolloidal dispersiyonlardaki elektro kinetik potansiyeli açıklamak için kullanılan terimdir (3).

5.11.4. pH Ölçümü

pH ölçümündeki herhangi bir değişiklik formüle edilmiş mikroemülsiyonun stabilitesini etkileyeceğinden, pH ölçümü, ilaç yüklü mikroemülsiyonun nihai ürünü için önemli bir parametre olarak kabul edilir. pH ölçümü dijital pH metre kullanılarak yapılmıştır (3).

PSC yüklü mikroemülsiyonlar için pH ölçümü sonuçlarının analizi Tablo 4-46'da verilmiştir. Bu sonuçlara göre pH değerlerinde çok değişiklik olmadığı görülmektedir. Buda formülasyonların stabil olduklarını ispatlamaktadır. pH değerlerinin, formülasyonlarda yağ fazı olarak kullanılan oleik asit zaten bir asit olan mevcudiyeti nedeniyle hafif asidik olmalarını açıklamaktadır. Sonuçta elde edilen PSC yüklü mikroemülsiyonların pH değerleri çok çok az artmıştır. Bu nedenle, pH ölçüm sonuçları anlamlıdır ($P < 0,05$).

5.11.5. UV Spektrofotometrede Seçilen Mikroemülsiyonların Miktar Tayini

Miktar tayini, seçilen formülasyonlar üzerinden stabilite kabininde bekletilerek başka özelliklerle beraber yapıldı bu sonuçlar Tablo 4-47'de verilmiştir.

P.1 kodlu formülasyonda yüklenen madde miktarı 1,416 mg/ml den 1,29'e düşerek küçük bir azalma gözlemlenmiştir. P.1 kodlu formülasyonunda (25 ± 2 ^{O}C - % 60 ± 5 bağıl nem) koşullarındaki miktar tayin sonuçlarının analizinde O/W kendiliğinden mikroemülsifiye olan yöntemi ile üretilen mikroemülsiyonların 6 ayın sonuna kadar içeriklerindeki PSC miktarının % 91'inin stabil kaldığı gözlemlenmiştir.

P.3 formülasyonda yüklenen madde miktarında 1,419 mg/ml den 1,300 mg/ml'ye olacak şekilde küçük bir azalma söz konusudur. P.3 kodlu formülasyonunda 25 ± 2 ^{O}C - % 60 ± 5 bağıl nem koşullarındaki miktar tayin sonuçlarının analizinde O/W kendiliğinden mikroemülsifiye olan yöntemi ile üretilen mikroemülsiyonların 6 ayın sonuna kadar içeriklerindeki PSC miktarının % 91'inin stabil kaldığı gözlemlenmiştir.

P.6 formülasyonda yüklenen madde miktarının 0,753 mg/ml'den 0,670 mg/ml'ye olacak şekilde küçük bir azalma gözlemlenmiştir. P.6 kodlu formülasyonunda 25 ± 2 ^{O}C - % 60 ± 5 bağıl nem koşullarındaki miktar tayin sonuçlarının analizinde O/W kendiliğinden mikroemülsifiye olan yöntemi ile üretilen mikroemülsiyonların 6 ayın sonuna kadar içeriklerindeki PSC miktarının % 91'inin stabil kaldığı gözlemlenmiştir.

P.8 formülasyonunda yüklenen madde miktarının 1,310 mg/ml'den 1,19 mg/ml'ye olacak şekilde küçük bir azalma olmuştur. P.9 formülasyonunda yüklenen madde miktarının 1,157 mg/ml'den 1,042 mg/ml'e küçük bir azalma söz konusu olmuştur. P.8 ve P.9 kodlu formülasyonlarda 25 ± 2 ^{O}C - % 60 ± 5 bağıl nem koşullarındaki miktar tayin sonuçları incelendiğinde O/W kendiliğinden emülsifiye olan yöntemle üretilen mikroemülsiyonların 6 ayın sonuna kadar içeriklerindeki PSC miktarı sırasıyla % 90,83 ve %90'unun stabil kaldığı görülmüştür.

Tüm bu sonuçlar, PSC miktarının formülasyonlar içinde stabil kaldığını kanıtlamaktadır.

Varyasyon katsayısı da ($p < 0,05$), istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir. Bu çalışmadan elde edilen in vitro salım sonuçlarına "one-way ANOVA" testi uygulandığında formülasyonlar ve kontrol grubunun PSC geçişleri arasında anlamlı olarak fark olduğu görülmüştür ($p < 0,0001$, $p < 0,05$).

5.12. Üretilen Formülasyonların Ticari Ürünle Kıyaslanması

Bu bölüm çalışmanın en önemli bölümüdür. Üretilen küçük boyutlu mikroemülsiyonlar, işlevsellik ve biyouyumluluk gibi elverişli özellikleri sayesinde küresel bir yük haline gelmiş mantar enfeksiyonlarını aşabilme potansiyeline sahiptirler. Üretilen mikroemülsiyonların mantar enfeksiyonlarını karşı etkili olup, olmadıkları yapılan antifungal testleri sayesinde araştırılmıştır. Ayrıca üretilen formülasyonların, piyasada mevcut olan süspansiyona kıyasla daha iyi ilaç salımı gösterdiğinin anlaşılması için antifungal testlerin yapılması gereklidir.

Antifungal ilaçların dağıtımı alanındaki araştırmalar, nanoparçacık bazlı formülasyonların klinik cevabını engelleyen zorlukların üstesinden gelmeye odaklanmaktadır (10). Oral süspansiyon kullanıldığında birçok hastada subterapötik veya saptanamayan posakonazol seviyelerinin olduğu tespit edilmiştir (11). Oral süspansiyon klinik olarak yıllardır kullanılmakla birlikte

oldukça değişkendir ve çeşitli faktörlerden olumsuz etkilenebilir. Bu sınırlamanın üstesinden gelmek için, gecikmeli salimli formülasyonların geliştirilmesi önerilir (11).

Posakonazol (Noxafil; Merck & Co, Inc., Whitehouse Station, NJ, ABD), hem antifungal profilaksi hem de invaziv mantar enfeksiyonlarına karşı tedavi olarak kullanılan geniş spektrumlu bir antifungal ajandır (11). Lipofilik doğası nedeniyle, posakonazol, memeli hücre zarlarının lipofilik bölgeleri içinde konsantre olur ve bu hücrelerin mantarlar tarafından istilasını dolayısıyla da enfeksiyonu önleyebilir. Bununla birlikte, birçok klinisyen hem tedavi olarak hem de profilaksi olarak kullanıldığında posakonazolün terapötik ilaç izlemesini hala yapmaktadır (11). İnvaziv mantar enfeksiyonlarına karşı önleme ve tedavi olarak yapılan formülasyonunun etkinliğini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (11).

İnsanlarda kullanım için ilk onaylandığından beri, oral süspansiyon yıllardır kullanılan tek formülasyondur (11). Ek olarak, oral süspansiyonun etkinliğini değerlendiren klinik çalışmalarda posakonazol düzeyleri ile ilgili anlamlı açıklayıcı değişkenlik bildirilmiştir (11).

Oral süspansiyon ile ilişkili problemler nedeniyle, biyoyararlanımı ve farmakokinetiği geliştiren ve daha tutarlı hale getirebilecek yeni bir formülasyon geliştirmek için önemli çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla, oral uygulama için yeni bir posakonazol formülsyonların geliştirilmesi gerekir.

Piyasada PSC içeren mevcut ürün Noxafilin (Süspansiyon 40 mg/ml PSC içerir) antifungal testlerine ait sonuçlar Tablo 4-48'de verilmiştir. Noxafil süspansiyona ait PSC STD vücut organlaında yüzdesi Tablo 4-48'de ve üretilen P.1 kodlu formülasyona (Mikroemülsiyona) ait antifungal testlerinin sonuçları Tablo 4-49'da, P.8 kodlu formülasyonun antifungal testlerinin sonuçlarına ait bulgular Tablo 4-50'de ve P.9 kodlu formülasyona ait antifungal testlerinin sonuçları Tablo 4-51'de verilmiştir.
Bu çalışmada üretilen formülasyonlar Noxafil'le karşılaştırıldığında:

1. Antifungal Testlerin sonucunda C2 C.albikans (kulak) PSC yüzdesi Noxafilde 0,00000015% ve P.1 formülasyonunda aynı organda 0,000513143% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.1 formülasyonunun kulakta C.albikansa karşı daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

2. Antifungal Testlerin sonucunda C3 C.albikans (özefagus) PSC yüzdesi Noxafilde 0,00000015% ve P.1 formülasyonunda aynı organda 0,000032% olarak bulunmuştur.

Bu da bize P.1 formülasyonunun özefagusta C.albikansa karşı daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

3. Antifungal Testlerin sonucunda C5 C.albikans (ETA) PSC yüzdesi Noxafilde 0,000000075% ve P.1 formülasyonunda aynı organda 0,008211429% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.1 formülasyonunun ETA'da C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

4. Antifungal Testlerin sonucunda C7 C.albikans (kan) PSC yüzdesi Noxafilde 0,00000015% ve P.1 formülasyonunda aynı organda 0,000032% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.1 formülasyonunun C7 kanda C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

5. Antifungal Testlerin sonucunda C9 C.albikans (idrar) PSC yüzdesi Noxafilde çok çok az 3,75E-08 ve P.1 formülasyonunda aynı organda 0,000256571% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.1 formülasyonunun C9 idrarda C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

6. Antifungal Testlerin sonucunda C24 C.albikans (kan) PSC yüzdesi Noxafilde çok çok az 3,125E-08 ve P.1 formülasyonunda aynı organda 0,001022857% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.1 formülasyonunun C24 kan seviesinde C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

7. Antifungal Testlerin sonucunda C31 C.albikans (Balgam) PSC yüzdesi Noxafilde çok çok az 3,75E-08 ve P.1 formülasyonunda aynı organda 0,001022857% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.1 formülasyonunun C31 balgam seviyesinde C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

8. Antifungal Testlerin sonucunda C13 C.albikans (kan) PSC yüzdesi Noxafilde çok çok az 3,125E-08 ve P.1 formülasyonunda aynı organda 0,000128% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.1 formülasyonunun C13 kan seviyesinde C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

9. Antifungal Testlerin sonucunda C42 C.albikans (abse) PSC STD yüzdesi Noxafilde çok az 0,00000015 ve P.1 formülasyonunda aynı organda 0,001022857% olarak

bulunmuştur. Bu da bize P.1 formülasyonunun C42 abse seviyesinde C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

Antifungal Testlerin sonucunda STD yüzdesi Noxafilde çok az 0,00000015 ve P.1 formülasyonunda STD'de 0,001022857% olarak değerlendirilmiştir. Bu da bize P.1 formülasyonunun STD seviyesindeki etkisinin çok çok daha yüksek olduğunu ifade etmektedir.

P.8 formülasyonunun Antifungal Testlerini Piyasa ürünü Noxafil'in (Süspansiyon 40 mg/ml PSC) antifungal testleri ile kıyaslamalara ait değerlendirmeler:

1. Antifungal Testlerin sonucunda C2 C.albikans (kulak) PSC yüzdesi Noxafilde 0,00000015% ve P.8 formülasyonunda aynı organda 0,000195313% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.8 formülasyonunun kulakta C.albikansa karşı daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

2. Antifungal Testlerin sonucunda C3 C.albikans (özefagus) PSC yüzdesi Noxafilde 0,00000015% ve P.8 formülasyonunda aynı organda 0,003130208% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.8 formülasyonunun özefagusta C.albikansa karşı daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

3. Antifungal Testlerin sonucunda C5 C.albikans (ETA) PSC yüzdesi Noxafilde 0,000000075% ve P.8 formülasyonunda aynı organda 0,006265625% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.8 formülasyonunun ETA'da C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

4. Antifungal Testlerin sonucunda C7 C.albikans (kan) PSC yüzdesi Noxafilde 0,00000015% ve P.8 formülasyonunda aynı organda 0,0000974% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.8 formülasyonunun C7 kanda C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

5. Antifungal Testlerin sonucunda C9 C.albikans (idrar) PSC yüzdesi Noxafilde çok çok az 3,75E-08 ve P.8 formülasyonunda aynı organda 0,000391146% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.8 formülasyonunun C9 idrarda C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

6. Antifungal Testlerin sonucunda C24 C.albikans (kan) PSC yüzdesi Noxafilde çok çok az 3,125E-08 ve P.8 formülasyonunda aynı organda 0,003130208% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.8 formülasyonunun C24 kan seviyesinde C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

7. Antifungal Testlerin sonucunda C31 C.albikans (Balgam) PSC yüzdesi Noxafilde çok çok az 3,75E-08 ve P.8 formülasyonunda aynı organda 0,006265625% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.8 formülasyonunun C31 balgam seviyesinde C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

8. Antifungal Testlerin sonucunda C13 C.albikans (kan) PSC yüzdesi Noxafilde çok çok az 3,125E-08 ve P.8 formülasyonunda aynı organda 0,001566146% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.8 formülasyonunun C13 kan seviyesinde C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

9. Antifungal Testlerin sonucunda C42 C.albikans (abse) PSC STD yüzdesi Noxafilde çok az 0,00000015 ve P.8 formülasyonunda aynı organda 0,006265625% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.8 formülasyonunun C42 abse seviyesinde C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

Antifungal Testlerin sonucunda STD yüzdesi Noxafil'de çok az 0,00000015 ve P.8 formülasyonunda STD'de 0,001566146% olarak değerlendirilmiştir. Bu da bize P.8 formülasyonunun STD seviyesinde çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

P.9 formülasyonunun Antifungal Testlerini Piyasa ürünü Noxafil'in (Süspansiyon 40 mg/ml PSC) antifungal testleri ile kıyaslamalara ait değerlendirmeler:

1. Antifungal Testlerin sonucunda C2 C.albikans (kulak) PSC yüzdesi Noxafilde 0,00000015% ve P.9 formülasyonunda aynı organda 0,000513143% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.9 formülasyonunun kulakta C.albikansa karşı daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

2. Antifungal Testlerin sonucunda C3 C.albikans (özefagus) PSC yüzdesi Noxafilde 0,00000015% ve P.9 formülasyonunda aynı organda 0,002051429% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.9 formülasyonunun özefagusda C.albikansa karşı daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

3. Antifungal Testlerin sonucunda C5 C.albikans (ETA) PSC yüzdesi Noxafilde 0,000000075% ve P.9 formülasyonunda aynı organda 0,008211429% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.9 formülasyonunun ETA'da C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili ifade etmektedir.

4. Antifungal Testlerin sonucunda C7 C.albikans (kan) PSC yüzdesi Noxafilde 0,00000015% ve P.9 formülasyonunda aynı organda 0,008211429% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.9 formülasyonunun C7 kanda C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

5. Antifungal Testlerin sonucunda C9 C.albikans (idrar) PSC yüzdesi Noxafilde çok çok az 3,75E-08 ve P.9 formülasyonunda aynı organda 0,001022857% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.9 formülasyonunun C9 idrarda C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

6. Antifungal Testlerin sonucunda C24 C.albikans (kan) PSC yüzdesi Noxafilde çok çok az 3,125E-08 ve P.9 formülasyonunda aynı organda 0,002051429% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.9 formülasyonunun C24 kan seviyesinde C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

7. Antifungal Testlerin sonucunda C31 C.albikans (Balgam) PSC yüzdesi Noxafilde çok çok az 3,75E-08 ve P.9 formülasyonunda aynı organda 0,008211429% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.9 formülasyonunun C31 balgam seviyesinde C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

8. Antifungal Testlerin sonucunda C13 C.albikans (kan) PSC yüzdesi Noxafilde çok çok az 3,125E-08 ve P.9 formülasyonunda aynı organda 0,002051429% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.9 formülasyonunun C13 kan seviyesinde C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

9. Antifungal Testlerin sonucunda C42 C.albikans (abse) PSC STD yüzdesi Noxafilde çok az 0,00000015 ve P.9 formülasyonunda aynı organda 0,008211429% olarak bulunmuştur. Bu da bize P.9 formülasyonunun C42 abse seviyesinde C.albikansa karşı çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

Antifungal Testlerin sonucunda STD yüzdesi Noxafilde çok az 0,00000015 ve P.9 formülasyonunda aynı STD'de 0,002051429% olarak değerlendirilmiştir. Bu da bize P.9 formülasyonun STD seviyesinde çok çok daha yüksek etkili olduğunu ifade etmektedir.

Posakonazolün ticari oral süspansiyonunun en büyük dezavantajlarından biri, hastalar arasında gastrik pH düzeylerindeki değişkenlik nedeniyle sistemik maruziyetteki belirsizliktir (15).

Bu çalışmada Posakonazolün çözünürlüğünü, stabilitesini ve in vitro salımını geliştirmek için bir ilaç dağıtım sistemi olarak kullanılan nano boyutlu mikroemülsiyon araştırılmıştır. Posakonazol önemli antifungal aktivitelere ve farmasötik alanlarda büyük potansiyel uygulamalara sahiptir. Üretilen formülasyonların antifungal aktiviteleri, antifungal testlerin sonucunda ticari ürün Noxafil'den kat kat daha yüksek olduklarını ispatlanmaktadır. Bunun yanısıra Noxafil'deki PSC miktarının 40 mg/ml olduğu bilinmekte olup, bu çalışmada üretilen mikroemülsiyonlardaki PSC miktarının ise 1,76 mg/ml' nin altında olduğu Tablo 4-26'dan görülmektedir. Üretilen formülasyonlar hem az miktarda PSC içerirler hem de funguslara karşı piyasadaki Noxafil'e göre kat kat etkili oldukları antifungal testlerinin sonucunda anlaşılmıştır.

Çözünürlük, stabilite ve kontrol salım testleri, mikroemülsiyon sisteminin Posaconazolun stabilitesini ve çözünürlüğünü önemli ölçüde geliştirdiğini ve posaconazolun in vitro salımının önemli ölçüde iyileştirildiğini gösterdi. Bu çalışmanın en önemli sonucu üretilen mikroemülsiyon sistemlerinin ticari ürün olan süspansiyonuna kıyasla önemli ölçüde funguslara karşı güçlü ve etkili olduklarını gösterilmiş olmasıdır.

Çözünürlük çalışmalarından elde edilen sonuçlardan anlaşıldığı üzere Posaconazol su ve fosfat tamponu içinde son derece zayıf çözünürlük göstermiştir. Kendiliğinden mikroemülsifiye olan yöntemle yapılan nano boyutlu mikroemülsiyonlar Posaconazol için yeni bir dağıtım sistemi olarak çözünürlüğünü ve in vitro salımını artırarak biyoyararlanımının artmasına sebep olabilir.

Üretilen nano boyutlu mikroemülsiyonlar, suda çözünmeyen Posaconazolün çözünmesini iyileştirmiş dolayısıyla geçirgenliğinin de büyük ölçüde artmasını sağlamıştır. Ayrıca son derece küçük parçacıklarla vücuda dağıtarak biyoyararlanımı arttırmak ve farmasötik uygulamalarda kullanılmasını sağlamaya olanak tanımıştır.

İstatistiksel analiz: Çalışmanın sonuçları, her örnek için ortalama üç kopya okuma olarak yapıldı.

Çalışma sonuçlarının anlamlı (P <0,05) ve anlamlı olmadığını (P> 0,05) değerlendirmek için varyans (ANOVA) analizi kullanılmıştır. Bu çalışmada elde edilen verilerine dayanarak sonuçların (P < 0,05) anlamlı olduğu söylenebilir.

5.13. SONUÇ

Kendiliğinden emülsifye olan yöntemlerle hazırlanan mikroemülsiyonlarla, BCS Sınıf II'ye ait zayıf suda çözünen Posakonazolün (lipofilik bir ilaç) biyoyararlanımını iyileştirmek için çözünürlüğünü artırarak olası ilk geçiş metabolizasyonunu en aza indirgemek amaçlanmıştır. Çalışmada formülasyonların başarılı oldukları gösterilmiştir.

Çok küçük damlacık boyutu nedeniyle depolamada ve stabilte kabininde saklandıklarında herhangi bir çökelme veya sedimantasyon meydana gelmemiştir. Küçük damlacık boyutu, damlacıkların topaklaşmasını ve birleşmelerini önler. Bu yüzden sistem ayrılmadan dağınık kalmaya devam eder. Mikroemülsiyon sisteminin geniş yüzey alanı, aktif bileşenlerin cilde hızla nüfuz etmesini sağlar. Mikroemülsiyonlar, sistemin şeffaf doğası, akışkanlıkları (makul yağ konsantrasyonlarında) ve herhangi bir viskozite artırıcı olmaması nedeniyle hoş bir estetik karakter ve cilt hissi verebilirler.

Mikroemülsiyonlar genellikle insan tüketimi (GRAS) için onaylanmış makul konsantrasyonda yüzey aktif maddeler kullanılarak formüle edilirler. % 20 - % 10 mikroemülsiyon hazırlamak için % 5 -% 10 bir yüzey aktif madde konsantrasyonu yeterli olabilir. Tüm sistemin düşük yüzey gerilimi, damlacıkların ıslanmasını, yayılmasını ve nüfuzunu arttırır.

Nano boyutlu damlacıklar ilacın taşıma özelliklerini etkileyecektir. Bu, sürekli ve hedefe yönelik ilaç dağıtımında önemli bir faktördür. Oral yoldan alındığı zaman ince yağ damlacıkları nedeniyle ilacın ve bağırsak duvarına uzun süreli temasla sıklıkla karşılaşılan tahrişi en aza indirir. Çünkü ince yağ damlacıkları ilacın bağırsak sistemi boyunca geniş dağılımını teşvik eder. İlaçlar topikal, oral ve intravenöz gibi birçok yolla verilebilir.

Mikroemülsiyonlar (spontan emülsifikasyonla), az çözünür ilaçların verilmesi için birçok avantaj sunar. Ayrıca, etkili hedefleme ve kontrollü ilaç dağıtımı ile kapsüllenmiş biyoaktif maddelerin korunmasını da sağlarlar. Mikroemülsiyonların damlacık boyutunun nano ölçekli seviyelere indirilmesinin ve geliştirilmesinin önemi özellikle ticari amaçlar için her geçen gün artmaktadır.

Mikroemülsiyonlar ve nanoemülsiyonlar gelecekte kozmetiklerin yanı sıra terapötiklerin farklı alanlarında çok umut vericidirler. Mikroemülsiyonlar, polar olmayan aktif bileşikleri çözme

kapasiteleri nedeniyle eczacılıkda ilaç dağıtım sistemleri olarak sayısız uygulama için önerilmektedirler. Mikroemülsiyonlar gelecekte terapötiklerin farklı alanlarının geliştirilmesinde ve uygulamada çok umut vericidir. Mikroemülsiyonlar çok yönlü olarak uygulanmayı kolaylaştırdığından, biyoaktif maddeler için etkili taşıyıcılar olarak ilaç verme alanında kullanıldıklarında çok etkili olabilirler. Oral ilaç verilmesi için mikroemülsiyonların ve nanoemülsiyonların avantajları ve uygulamaları çoktur, burada damlacık boyutu gastrointestinal sistemdeki emilimle ilişkilidir.

Nanoemülsiyon ve mikroemülsiyon taşıyıcılar, ilaç dağıtımının kendine özgü sorunlarının üstesinden gelmedeki avantajlarından dolayı formülasyon uzmanlarının yaratıcılığından da yararlanarak sektörde çok ilgi çekmektedir. Neredeyse tüm salınım yollarına uygulanabildiklerinden kozmetik, terapötik veya biyoteknoloji gibi farklı alanlar için umut vaat ederler.

Çalışmanın amacı, kendiliğinden emülsifikasyon yöntemi kullanılarak oral yoldan uygulama için PSC'un mikroemülsiyonlarını optimize etmek ve geliştirmektir. Bu mikroemülsiyonların tasarımı için bağımsız değişkenler olarak yağ, sürfaktan ve kosürfaktan konsantrasyonu kullanılmış ve bunların partikül boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli üzerindeki etkisi incelenmiştir. Spontan emülsifikasyon (SE) kullanılarak üretilen PSC yüklü mikroemülsiyonların oluşumunu ve özelliklerini etkileyen faktörler araştırılmıştır. Bu araştırmanın amacı Posakonazol mikroemülsiyonlarının optimizasyonu, tasarımı, geliştirmesi, fiziksel ve kimyasal özelliklerini incelemek, partikül büyüklüğünü ve dağılımını karakterize etmek, in vitro salımını sağlamak ve oral yoldan alınması için hazırlamaktır. ME formülasyonları ayrıca lokal ilaç etkilerini en üst düzeye çıkarabilmekte ve hedeflenmiş oral antifungal ilaç verilmesine izin verebilmektedir.

NP'ler, patojenlerin barındırıldığı spesifik ve ulaşılması zor bölgeleri hedefleyerek bulaşıcı hastalıklar için umut verici tedaviler sunar. Dahası, dirençli bakteri suşları durumunda bile ilaçların etkisini arttırırlar. Aynı zamanda fizikokimyasal özellikleri optimize ederek yeni ajanların klinik kullanımına veya daha rahat yollarla uygulanmasına izin verirler. Ayrıca, bu eylemler daha düşük ilaç dozajı, daha iyi uygulama programları, daha iyi biyoyararlanım ve daha az ciddi yan etkiler sağlayabilir (29).

Sonuçlar ME'lerin stabil olarak kararlı, viskozitesi düşük, nanometre boyutunda küresel yağ damlacıklı, düşük PDI ile simüle edilmiş sıvılarda daha iyi in vitro salınım olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, oral kullanım için spontan yöntemle PSC'un yeni, stabil O/W mikroemülsionların tasarlanması, geliştirilmesi ve karakterize edilmesi için girişimde

bulunulmuştur. PSC'un çeşitli yağlarda, sürfaktanlarda ve yağ/sürfaktan karışımlarında çözünürlüğü araştırılmıştır. İlaçların eksipiyanlarda çözünürlüğü, mikroemülsiyon bileşenlerinin seçimi için önemli bir kriterdir. Farklı formülasyon parametrelerinin, özellikle sulu fazdaki yüzey aktif madde konsantrasyonunun, mikroemülsiyon damlacıklarının özellikleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. İn vitro salım çalışmaları, mikroemülsiyonların ilaç çözeltisine kıyasla önemli ölçüde yüksek bir salım gösterdiğini ortaya koymuştur.

Farmasötik teknolojideki son araştırmalar, potansiyel ilaçların verimliliğini artıran yeni ilaç dağıtım sistemlerinin tasarımı ve geliştirilmesine odaklanmıştır. Deneyerek hatayı bulma metodolojisiyle üretilebilecek herhangi bir dozaj formunun geleneksel farmasötik gelişimi, zaman alıcı, pahalı, öngörülemez ve zahmetlidir.

Halen nano partiküllerin metabolizasyonu, klerensi ve toksisitesi, bazı enfeksiyonların optimal hedeflerinin doğası ve patojenlerin hedef bölgesindeki terapötik aktivitesi için optimum ilaç düzeyleri hakkında çok az şey bilinmektedir. Bu problemler, preklinik çalışmaların çoğaltılması ve sonraki adımlara taşınması konusunda getirdiği zorluklarla birlikte NP sistemlerinin başarılı bir şekilde geliştirilmesi olasılığını azaltır (29).

Mikroemülsiyon / nanoemülsiyon sistemlerinin temel dezavantajı, toksisite veya cilt tahrişine yol açabilecek yüksek yüzey aktif madde/(ler) konsantrasyonları nedeniyle oluşabilecek biyouyumluluk eksikliğidir. Ayrıca nanocarrrier hazırlamak için kullanılan farmasötik dereceli lipitler ve bazı eksipiyanlar oldukça pahalıdır.

6. KAYNAKLAR

1- Suyal J, Bhatt G ve Singh N. Formulation and evalution of nanoemülsiyon for enhanced bioavailability of itraconazole. IJPSR 2018; 9 (7): 2927-2931.

2. Devalapally H, Silchenko S, Zhou F, McDade J, Goloverda G, Owen A ve J. Hidalgo I. Evaluation of a nanoemulsion formulation strategy for oral bioavailability enhancement of danazol in rats and dogs. J. Pharm Instıtutes of Health 2013; 102: 3808-3815.

3. Ghareeb M.ve. Neamah M J. Formulatıon and charactarization of nimodipin nanoemülsiyon as ampoule for oral route. Int. J. of Pharmaceutical Sciences and Research 2015; 1:11-19.

4. Sarker A, Shimu I J, Riazul Haque Tuhin M d. Ve Raju A. Nanoemulsion: An excellent mode for delivery of poorly soluble drug through different routes. J. of Chemical and Pharmaceutical Research 2015; 7 (12): 966-976.

5. Leitner T S., Solans C., García-Celma M J., Caldero G. Low-energy nano- emulsification approach as a simple strategy to prepare positively charged ethylcellulose nanoparticles. Carbohydrate Polymers 2019; 205: 117-124.

6. Chime S A., Kenechukwu F C. ve Attama A A. Nanoemulsions — Advances in formulation, characterization and applications in drug delivery. http://www.intechopen.com/books/application-of-nanotechnology- in-drug-delivery: 77- 126 http://dx.doi.org/10.5772/153717

7. Malamatari M., Taylor M G K., Malamataris S., Douroumis D., Kachrimanis K., Pharmaceutical nanocrystals: production by wet milling and applications. Drug Discovery Today 2018; 23; 534-542.

8. Gorain B., Choudhury H., Kundu A., Sarkar L., Karmakar P., Kumar Pal T., Nanoemulsion strategy for olmesartan medoxomil improves oral absorption and extended antihypertensive activity in hypertensive rats. Colloids and Surfaces B: Bioiterfaces 2014; 115: 286-294.

9. Kotta S., Wadood Khan A., Ansari S H., Kumar Sharma R., Ali J., Pharmaceutical Nanotechnology Anti HIV nanoemulsion formulation: Optimization and in vitro–in vivo evaluation. Int. J. Of Pharmaceutics 2014; 462: 129-134.

10. Soliman G M., Nanoparticles as safe and effective delivery systems of antifungal agents: Achievements and challenges. Int. J. Of Pharmaceutic 2017; 523: 15-32.

11. Wiederhold N P., Pharmacokinetics and safety of posaconazole delayed-release tablets for invasive fungal infections. Clinical Pharmacology: Advances and Applications 2016; 8.

12. Yang M., Dong Z., Zhang Y., Zhang F., Wang Y. Ve Zhao Z., Preparation and evaluation of posaconazole- loaded enteric microparticles in rats. Drug Development and Industrial Pharmacy 2017; 43: 618-627.

13. Andrey D O., Kaiser L., Emonet S., Erard V., Chalandon Y., Delden C V., Cerebral Rhizomucor Infection Treated by Posaconazole Delayed- Release Tablets in an Allogeneic Stem Cell Transplant Recipient. Int. J. of Infectıous Recipient 2017; 55: 24-26.

14. Kim E J., Yu K S., Na S H., Nam E Y., Oh H S., Kim M., Yoon S H., Lee J O., Koh Y., Song KH., Choe PG., Cho JY., Song SH., Kim ES., Kim HB., Bang SM., Kim NJ., Oh MD., Kim I., Park WB., Risk factors for suboptimal drug concentration of posaconazole oral suspension in patients with hematologic malignancy. J.de Mycologie Medical 2017; 27: 539-542.

15. Hens B., Corsetti M., Brouwers J., Augustijns P. Gastrointestinal and systemic monitoring of posaconazole in humans after fasted and fed state administration of a solid dispersion. J. of Pharmaceutical Sciences, Drug Delivery and Pharmaceutical Technology 2016;105: 2904-2912.

16. Leung S., Mara N., Poulakos M N. ve Machin J. Posaconazole: An Update of Its Clinical Use. 2015; 3: 210-268.

17. Sharma N., Mishra S., Sharma S., Deshpande R D., Sharma R K., Preparation and Optimization of Nanoemulsions for targeting Drug Delivery. Int. J. Drug Dev. 2013; 5:4

18. Tang L., Yang X-F., Qiao M., Zhang L., Tang X-W., Qiu H-Y., Wu D-P., Sun A-N., Posaconazole vs. voriconazole in the prevention of invasive fungal diseases in patients with haematological malignancies: A retrospective study. Journal de Mycologie Médicale 2017; 742, No. Of Pages 5.

19. Jenkins N., Black M., Schneider H G., Simultaneous determination of voriconazole, posaconazole, itraconazole and hydroxy-itraconazole in human plasma using LCMS/MS. Clinical Biochemistry 2018; 53: 110-115.

20. Qinggang Ji., Zhiqiang Ge., Zhixing Ge., Chen K., Hualong Wu., Liu X., Huang Y., Yuan L., Yang X., Liao F. Synthesis and biological evaluation of novel phosphoramidate derivatives of coumarin as chitin synthase inhibitors and antifungal agents. European J. of Medical Chemistry 2016; 108: 166-176

21. Gomez-Lopez A., Alcazar-Fuoli L., Bernal-Martínez L. Simultaneous quantification of systemic azoles and their major metabolites in human serum by HPLC/PDA: role of azole metabolic rate. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2018; 92: 78-83

22. Yang L., Yang M., Li S., Zhao Z. S-allylmercaptocysteine attenuates posaconazole-induced adverse effects in mice through antioxidation and anti-inflammation. International Immunopharmacology page: 1-6.

23. Cavallaro G., Fabiola Craparo E., Sardo C., Lamberti G., Angela Barba A., Dalmoro A. PHEA–PLA biocompatible nanoparticles by technique of solvent evaporation from multiple emulsions. Int. J. of Pharmaceutical 2015; 495: 719-727.

24. Du J., Li X., Zhao H., Zhou Y., Wang L., Tian S., Wang Y. Nanosuspensions of poorly water-soluble drugs prepared by bottom-up Technologies. Int. J. of Pharmaceutics 2015; 495: 738-749.

25. Yu M., Ma H., Lei M., Li N., Tan F. In vitro/in vivo characterization of nanoemulsion formulation of metronidazole with improved skin targeting and anti-rosacea properties. Eur. J. of Pharm and Bio pharm 2014; 88: 92-103.

26. Bouchemal K., Briançon S., Perrier E., Fessi H. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation. International Journal of Pharmaceutics 2004; 280: 241–251.

27. İlyasoğlu H., Nehir El S. Nanoemülsiyonlar: Oluşumları, Yapıları ve kolloidal salınım sistemleri olarak gıda sektöründe kullanım alanları. GIDA 2010; 35 (2): 143-150.

28. Hens B., Bermejo M., Tsume Y., Gonzales I., Ruan H., Matsui K., Amidon E G., Cavanagh K L., Kuminek G., Bennnghoff G., Fan J., Rodrıguez-Hornedo N., Evaluation and optimized selection of supersaturating drug delivery systems of posaconazole (BCS class 2b) in the gastrointestinal simulator (GIS): An in vitro-in silico-in vivo approach. European J. of Pharmaceutical Sciences 2018; 115: 258-269.

29. Zazo H., Colino C I., LanaoJ M., Current applications of nanoparticles in infectious diseases. Journal of Controlled Release 2016; 224: 86-102.

30. Grumezescu A M., Anca Dumitru A., Ion Jinga S., Advanced nano- and bio-materials: A pharmaceutical approach. Int. J. of pharmaceutical 2016; 510: 407-408.

31. Maestrelli F., Bragagni M., Mura P. Advanced formulations for improving therapies with anti- inflammatory or anaesthetic drugs. J. Drug Delivery Science and Technology 2016; 32: 192-205.

32. Vale Morais A., Nascimento Alencar E., Humberto Xavier Júnior F., Melo de Oliveira C., Rodrigues Marcelino H., Barratt G., Fessi H., Sócrates Tabosa do Egito E., Elaissar A. Freeze-drying of emulsified systems. Int. J. of Pharmaceutical 2016; 503: 102-114.

33. Reis Antunes Junior O., Antônio E., Mara Mainardes R., Maissar Khalil N. Preparation, physicochemical characterization and antioxidant activity of diphenyl diselenide-loaded poly (lactic acid) nanoparticles. Journaf of Trace Elements in Medicine and Biology 2017; 39: 176-185.

34. Miao L., Michael Lin C., Huang L. Stromal barriers and strategies for the delivery of nanomedicine to desmoplastic tumo. J. Controlled Release 2015; 219: 192-204.

35. Yong Z., Lili C., Feng L., Nianqiu S., Chunlei L., Xianghui Y., Yan C., Wei K. Design, fabrication and biomedical applications of zein-based nano/micro-carrier systems. Int. J. of Pharmaceutics 2016; 513: 191-210.

36. Inês Teixeira M., Lopes C M., Amaral M H., Costa P C. Current insights on lipid nanocarrier- assisted drug delivery in the treatment of neurodegenerative diseases. Euro. J. of Pharm. And Biopharm 2020; 149: 192-217

37. Gorain B., Choudhury H., Kundu A., Sarkar L., Karmakar S., Jaisankar P., Kumar Pal T. Nanoemulsion strategy for olmesartan medoxomil improves oral absorption and extended antihypertensive activity in hypertensive rats. Colloids and surfaces B: Biointerfaces 2014; 115: 286-294.

38. Montenegro L., Lai F., Offerta A., Grazia Sarpietro M., Micicche L., Maccioni A M., Valenti D., Anna Maria Fadda A.M. From nanoemulsions to nanostructured lipid carriers: A relevant development in dermal delivery of drugs and cosmetics. Journal of Drug delivery Science and Technology 2016; 32: 100-112.

39. Gorain B., Hira Choudhury H., Kumar Tekade R., Karan S., Jaisankar P., Kumar Pal T. Comparative biodistribution and safety profiling of olmesartan medoxomil oil-in-water oral nanoemulsion. Regulatory Toxicology and Pharmacology 2016; 82: 20-31.

40. Solè I., Solans C., Maestro A., González C., Gutiérrez J M. Study of nano-emulsion formation by dilution of microemulsions. J. Colloid and Interface Sci. 2012; 376: 133-139.

41. Khullar R., Kumar D., Seth N., Seema Saini S. Formulation and evaluation of mefenamic acid emulgel for topical delivery. Saudi Pharmaceutical Journal 2012; 20: 63-67.

42. Matougu N., Boge L., Groo A C., Umerska A., Ringstad L., Bysell H., Saulnier P. Lipid-based nanoformulations for peptide delivery. Int. J. Of Pharmaceutical 2016; 502: 80-97.

43. Singh Y., Gopal Meher J., Raval K., Ali Khan F., Chaurasia M., Hain N K., Chourasia M K. Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. J. of Controlled Release 2017; 252: 28-49.

44. Zhang W., Qin Y, Gao Z., Ou W., Zhu H., Zhang Q. Phase behavior and stability of nano-emulsions prepared by D phase emulsification method. Journal of Molecular Liquids 2019; 285: 424-429.

45. Ibrahim N., Ibrahim H., Moreno sabater A., Mazier D., Valentin A., Nepveu F. Artemisinin nanoformulation suitable for intravenous injection: Preparation, characterization and antimalarial activities. Int. J. Pharm 2015; 495: 671-679.

46. Limbani M D., Patel L D. Studies on Drug Solubilization and Role of Lipid Vehicle in Pseudo Ternary Phase Diagram in Formulation Development of SNEDDS Containing Poorly WaterSoluble Drug. Int. J. Pharm. Sci. 2016; 43: 228-237.

47. Matsaridou I. Barmpalexis P., Salis A. Ve Nikolakakis I. The Influence of Surfactant HLB and Oil/Surfactant Ratio on the Formation and Properties of Self-emulsifying Pellets and Microemulsion Reconstitution. AAPS Pharm. Sci. Tech 2012; 13(4): 1319-1330.

48. Duchêne D., Gref R. Small is beautiful: Surprising nanoparticles. Int. J. of Pharmaceutics. 2016; 502: 219-231.

49. Calvo N L., Sreekumar S., Svetaz L A., Lamas M C., Bruno M. Moerschbacher B M. ve Leonardi D. Design and Characterization of Chitosan Nanoformulations for the Delivery of Antifungal Agents. Int. J. of Mol. Sci. 2019; 20: 3686.

50. Zhang Y., Zhang K., Wu Z., Guo T, Ye B, Lu M., Zhao J, Chunyun Zhu Ch., Feng N. Evaluation of transdermal salidroside delivery using niosomes via in vitro cellular uptake. Int. J. of Pharm 2015; 478: 138-146.

51. Sultan M A., Abou El-Alamin M M., Atia M A., Aboul-Enein H Y. Spectrophotometric and fluorimetric determination of posaconazole ın dosage form and spiked human plasma. Indo American J of Pha 2016; 6: 6573-6582.

52. Wiederhold N. Pharmacokinetics and safety of posaconazole delayed-release tablets for invasive fungal infections. Clin Pharmacol 2016; 8: 1-8.

53. Fungi K. From the Clinical Mycology Laboratory: New Species and Changes in Fungal Taxonomy and Nomenclature. J. Fungi (Basel) 2018; 4(4): 138-146.

54. El-Serafi I., Pettersson T., Blennow O., Mattsson J., Eliasson E., Pohanka A. Ve Hassan M. Quantitative Method for the Determination of Posaconazole in Mouse Tissues using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. Analytical and Bioanalytical techniques 2014; 5(3).

55. Skolnik S M., Geraci G M., Stephanie Dodd S. Automated supersaturation stability assay to differentiate poorly soluble compounds in drug discovery. J.of Pharmaceutical Sciences 2018,107: 84-93.

56. Cho S Y., Lee D G. ve ark. Cost–benefit Analysis of Posaconazole Versus Fluconazole or Itraconazole as a Primary Antifungal Prophylaxis in High-risk Hematologic Patients: A Propensity Score-matched Analysis. Clinical Therapeutics 2015; 37 (9).

57. Liao H W., Lin Sh W., Wu U I., Kuo Ch H. Rapid and sensitive determination of posaconazole in patient plasma by capillary electrophoresis with field-amplified sample stacking Journal of Chromatography A 1226 2012; 48-54.

58. Rose S R., Mark D., Hurst L S F., Paddock Ch D., Thara Damodaran T., Bennett J. Gastrointestinal basidiobolomycosis treated with posaconazole. Medical Mycology 2013; 2: 11-14.

59. Almoosa Z., Alsuhaibani M., AlDandan S., Alshahrani D. Pediatric gastrointestinal basidiobolomycosis mimicking malignancy. Medical Mycology Case Reports 2017; 18: 11-14.

60. Chae H., Cho S-Y., Yu H., Cha K., Lee S., Kim M., Kim Y., Yoo-Jin Kim Y-J., Kim H-J., Lee D-G. Determination of posaconazole concentration with LC–MS/MS in adult patients with hematologic malignancy. Clinical Chimica Acta 2015; 450: 220-226.

61. Busca A., Candoni A., Audisio E., Passera R., Bruno B., Monaco F., Nicola Mordini N., Vacca A., Delia M., Aversa F., Pagano L. Long-Lasting protective effect of posaconazole prophylaxis in patients with acute myeloid leukemia receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Biology of Blood and Marrow Tranplantation 2016; 22: 2214-2219.

62. Kitazawa K., Wakimasu K., Kazuhito Yoneda K., Iliakis B., Chie Sotozono Ch., Shigeru Kinoshita Sh. A case of fungal keratitis and endophthalmitis post penetrating keratoplasty resulting from fungal contamination of the donor cornea. American journal of ophthalmology case reports 2017; 5: 103-106.

63. Tu E Y., Mccartney D L., Beatty R F., Springer K L., Levy J. ve Edward D. Successful treatment of resistant ocular fusariosis with posaconazole (SCH-56592). Am J Ophthalmol 2007; 143: 222–227.

64. Vyzantiadis T A., Yannaki E., Oliver D A., Markantonatou A M., Boussiou Z., Louka A., Zachrou E., Johnson E M. Alternative approaches to the therapeutic drug monitoring of prophylactic posaconazole in haematology patients. J.de Mycologie Medicale 2018; 28: 65-69.

65. Khalil H A., Ahmed F. El-Yazbi A F., Belal T S. ve Hamdy D A. High performance liquid chromatographic assay for the simultaneous determination of posaconazole and vincristine in rat plasma. Int. J. of Analytical Chemistry 2015, Article ID 743915.

66. Märtson A G., Veringa A., Bakker M., Heuvel E., Daan D J., Werf T., Span L F R., Jan-Willem C., Alffenaar J W C. Posaconazole trough concentrations are not influenced by inflammation: A prospective study. Int. J. of Antimicrobial Agents 2019; 53: 325-329.

67. Melo Figueirêdo C B., Nadvorny D., Quintas de Medeiros Vieira A C., Lamartine Soares Sobrinho J., Rolim Neto P J., Lee P I., Felts de La Roca Soares M. Enhancement of dissolution rate through eutectic mixture and solid solution of posaconazole and benznidazole. Int. J. of Pharmaceutics 2017; 525: 32-42.

68. Duarte R F., López-Jiménez J., Cornely O A., Laverdiere M., Helfgott D., Haider Sh., Chandrasekar P., Langston A, Perfect J., Ma L., L. P. S. van Iersel M., Connelly N., Kartsonis, Waskin H. Phase 1b study of new posaconazole tablet for prevention of invasive fungal infections in high-risk patients with neutropenia. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2014; 58: 5758- 5765.

69. Patel D., Popple S., Claydon A., Modha D E. ve Erol A. Gaillard E A. Posaconazole therapy in children with cystic fibrosis and Aspergillus-related lung disease. Medical Mycology 2019; 0: 1–11.

70. Stability-indicating HPLC method development and structural elucidati on of novel degradation products in posaconazole injection by LC–TOF/MS, LC–MS/MS and NMR Yidi Yang Y., Zhu X., Zhang F., Li W., Wu Y., Ding L J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2016; 125: 165-177.

71. Meirelles G C., Mendes C., Caon Th., Teixeira H F., Von Poser G., Ponchel G. Intestinal permeability enhancement of benzopyran HP1-loaded nanoemulsions. European J. of Pharmaceutical Sciences 2019; 127: 115-120.

72. Davidov-Pardo G., McClements D J. Nutraceutical delivery systems: Resveratrol encapsulation in grape seed oil nanoemulsions formed by spontaneous emulsification. Food chemistry 2015; 167: 205-212.

73. Surh J., Andrew Decker E. & Julian McClements D. Utilisation of spontaneous emulsification to fabricate lutein- loaded nanoemulsion-based delivery systems: factors influencing particle size and colour. International Journal of Food Science and Technology 2017; 52: 1408–1416.

74. Kumar S., Shen J., Zolnik B., Sadrieh N., Burgess D J. Optimization and dissolution performance of spray-dried naproxen nano-crystals. Int. J. of Pharm. 2015; 486: 159-166.

75. Nielsen Ch K., Kjems J., Mygind T., Snabe T. Ve Meyer R L. Effects of tween 80 on growth and biofilm formation in laboratory media. Frontiers Microbiol 2016; 7: article 1878.

76. Chu Y., Xu T., Gao Ch., Liu X., Zhang Ni., Feng X., Liu X., Shen X., Tang X. Evaluations of physicochemical and biological properties of pullulan-based films incorporated with cinnamon essential oil and Tween 80. Int. J. of Biological Macromolecules 2019; 122: 388-394.

77. Zho Z., Wen Y., Cao Y., Yi.J., Liu F., Mc Clements D.J., Comparison of natural and synthetic surfactants at forming and stabilizing nanoemulsions: Tea saponin, Quillaja saponin, and Tween 80. J. of colloid and Interface science 2019; 536: 80-87.

78. Hassan A.K. Effective surfactants blend concentration determination for O/W emulsion stabilization by two nonionic surfactants by simple linear regression. Indian J pharm sci 2015; 77(4): 461-469.

79. Guo P. Ve ark. Study of penetration mechanism of labrasol on rabbit cornea by Ussing chamber, RT-PCR assay, Western blot and immunohistochemistry. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences AJPS 2019; 14: 329-339.

80. Zhaopeng Hu, Rama Prasad Yv, Tawa R., Konishi T., Ishida M., Shibata N., Takada K. Diethyl ether fraction of Labrasol having a stronger absorption enhancing effect on gentamicin than Labrasol itself. International Journal of Pharmaceutics 2002; 234: 223-235.

81. Mc Cartney F. Ve Ark. Labrasol® is an efficacious intestinal permeation enhancer across rat intestine: *Ex vivo* and *in vivo* rat. studies Journal of Controlled Release 2019; 310: 115-126.

82. Hong E P., Kim J Y., Hwang K M. Formulation and Evaluation of a Self-microemulsifying Drug Delivery System Containing Bortezomib. Chem. Pharm. Bull 2016; 64: 1108–1117.

83. Suys E J A., Warren D.B., Pham A C., Nowell C J., Clulow A J., Benameur H., Porter C J H., Pouton C.W., Chalmers D.K. A Nonionic polyethylene oxide (PEO) Ssurfactant model: experimental and molecular dynamics studies of kolliphor EL. Journal of Pharmaceutical Sciences 2019; 108: 193-204.

84. Sullivan D W., Gad S C., Julien M. A review of the nonclinical safety of Transcutol®, a highly purified form of diethylene glycol monoethyl ether (DEGEE) used as a pharmaceutical excipient. Food and Chemical Toxicology 2014; 72: 40-50.

85. Björklund S., Dat Pham Q., Bastholm Jensen L., Østergaard Knudsen N., Dencker Nielsen L., Ekelund K., Ruzgas T., Engblom J., Sparr E. Regular Article The effects of polar excipients

transcutol and dexpanthenol on molecular mobility, permeability, and electrical impedance of the skin barrier. J. of Colloidal and Interface Sci 2016; 479: 207-220.

86. Cho H Y., Kang J H., Ngo L., Tran P., ve Yong-Bok Lee Y B. Preparation and evaluation of solid-self-emulsifying drug delivery system containing paclitaxel for lymphatic delivery. Journal of Nanomaterials 2016; Article ID 3642418: 14 pages http://dx.doi.org/10.1155/2016/3642418.

87. Zhao Sh., Tian G. ve ark. The stability of three different citrus oil-in-water emulsions fabricated by spontaneous emulsification Food Chemistry2018; 269: 577-587

88. kumar Dey T., Ghosh S., Ghosh M., Koley H., Dhar P. Comparative study of gastrointestinal absorption of EPA & DHA rich fish oil from nano and conventional emulsion formulation in rats. Food Research International 2012; 49: 72-79.

89. Zhang Y., Shang Z. ve ark. Nanoemulsion for Solubilization, Stabilization, and In Vitro Release of Pterostilbene for Oral Delivery. AAPS Pharm Sci Tech 2014; 15: 4.

90. He S., Yang H., Zhang R., Li Y., Duan L. Preparation and in vitro–in vivo evaluation of teniposide nanosuspensions. Int. J. of Pharm 2015; 478: 131-137.

91. Sjögren E., Abrahamsson B., Augustijns P. Ve ark. In vivo methods for drug absorption – Comparative physiologies, model selection, correlations with in vitro methods (IVIVC), and applications for formulation/API/excipient characterization including food effects. European J. Of Pharmaceutical Sciences 2014; 57: 99-151.

92. Hörmann K., Zimmer A., Drug delivery and drug targeting with parenteral lipid nanoemulsions. J. Controlled Release 2016; 223: 85-98.

93. Li Y., Zhao X., Zu Y., Zhang Y. Preparation and characterization of nanosuspension using novel emülsification method by combining high speed homogenizer and highpressure homogenization. Int. J. of Pharm 2015; 490: 324-333.

94. Joseph S., Bunjes H. Evaluation of shirasu porous glass (SPG) membrane emulsification for the preparation of colloidal lipid drug carrier dispersions. European J. of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 2014; 87: 178-186.

95. Campani V., Biondi M., Mayol L., Cilurzo F., Pitaro M., Giuseppe De Rosa G. Development of nanoemulsions for topical delivry of vitamin K1. Int. J. of Pharm. 2016; 511: 170-177.

96. Nikolic I., Mitsou E. Ve ark. Microstructure and biopharmaceutical perormances of curcumin-loaded low-energy nanoemulsions containing eucalyptol and pinene: Terpenes' role overcome penetration enhancement effect. European J. of Pharmaceutical Sciences 2020; 142: 105-135.

97. Lim Ch., Kim D.W., Sim T. ve ark. Preparation and characterization of a lutein loading nanoemulsion system for ophthalmic eye. J. Drug Delivery Sci. And Tech. 2016; 36: 168-174.

98. Morsi M., Mohamed M I., Refai H., EL Sorogy H M. Nanoemulsion as a novel ophthalmic delivery system for acetazolamide. Int. J. of Pharmacy and pharmaceutical sci. 2014; 6:

99. Çelebi N. Emülsiyonlar. Dergi.fabed.org.tr. Fabed J. Pharm Sci. 2017; 277-299.

100. Barot B S., Parejiya P B., Patel H K., Gohel M C. ve Shelat P K. Microemulsion-Based Gel of Terbinafine for the Treatment of Onychomycosis: Optimization of Formulation Using D-Optimal Design. AAPS Pharm. Sci. Tech 2012; 13(1): 184-192.

101. Szumała P., Wysocka I. Effect of gelation and storage conditions on the oxidative stability of microemulsion and nanoemulsion delivery systems. Eurpean Journal of Pharmaceutical Sciences 2018; 124:17-25.

102. Dening T J., Rao Sh., Thomas N., Prestidge C A. Oral nanomedicine approaches for the treatment of psychiatric illnesses. J. of Controlled Release 2016; 223: 137-156.

103. Bu P., Ji Y., Narayanan S., Dalrymple D., Cheng X., Abu T.M. Serajuddin A T M. Assessment of cell viability and permeation enhancement in presence of lipid-based self-emulsifying drug delivery systems using Caco-2 cell model: Polysorbate 80 as the surfactant. European J. of Pharmaceutical Science 2017; 99: 350-360.

104. Bergströmn Ch A S., Holm R., Jørgensen S A., Sara B E. Andersson S B E. ve ark. Early pharmaceutical profiling to predict oral drug absorption: Current status and unmet needs. Eur. J. Pharm. Sci. 2014; 57: 173-199.

105. Ritu Goyal R., Macri L K., Kaplan H M., Kohn J. Nanoparticles and nanofibers for topical drug delivery. J. Controlled Release 2016; 240: 77-92.

106. Firooz A., Nafisi Sh., I. Maibach H I. Novel drug delivery strategies for improving econazole antifungal action. Int. J. Of Pharmaceutical. 2015; 495: 599- 607.

107. Aguirre T A S., Teijeiro-Osorio D., Rosa M., Coulter I S., Alonso M J., Brayden D J., Current status of selected oral peptide technologies in advanced preclinical development and in clinical trials. Advenced Drug Delivery 2016; 106: 223-241.

108. Kostewicz E S., Abrahamsson B., Brewster M., In vitro models for the prediction of in vivo performance of oral dosage forms. Int. J. of Pharm. 2014; 57: 173-199.

109. Yang D., Li W., Fang L. Ve Liu Ch. Investigation of Controlled Release Molecular Mechanism of Oil Phase. AAPS Pharm Sci Tech 2019; 20: 227-231.

110. Sood S., Jain K., Gowthamaraj K. Optimization of curcumin nanoemulsion for intranasal delivery using design of experiment and its toxicity assessment. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2014; 113: 330-337.

111. Janas Ch., Mast M Ph., Kirsamer L., Angioni C., Gao F., Mäntele W., Dressman J., Wacker M.G. The dispersion releaser technology is an effective method for testing drug release from nanosized drug carriers. Eur. J. of Pharm. Biopharm. 2017; 115: 73-83.

112. Djekic L., Jankovic J., Calija B., Primorac M. Development of semisolid self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDSs) filled in hard capsules for oral delivery of aciclovir. Int. J. of Pharm. 2017; 528: 372-380.

113. Garcia C V., Cpsta R G. ve Mendez A S L. Stability-Indicating HPLC Method for Posaconazole Bulk Assay. *Sci Pharm* 2012; 80: 317–27.

114. Caldero G., Mon.tes R., Llinàs M., García-Celma M J., Porras M., Solans C. Studies on the formation of polymeric nano-emulsions obtained via low-energy emulsification and their use as templates for drug delivery nanoparticle dispersions. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2016; 145: 922-931.

115. Güncü E., Bakırel T., Novel amoxicillin nanoparticles formulated as sustained release delivery system for poultry use. J. Vet. Pharmacol. Ther. 2018; 41(4): 588-598.

HAM VERİLER

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

PATENT HAKKI İZNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	SOUSAN	**Soyadı**	SANAEI OSKOUEI
Doğ.Yeri	IRAN-TABRIZ	**Doğ.Tar.**	
Email	Sousansanaei@ymail.com	**Uyruğu**	IRAN

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Doktora		
Yük.Lis.	Marmara Üniversite Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı	2009
Lisans	Tabriz Üniversite	
Lise	Zeyneb Kobra	

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.	Kız yurtlarının müdürü	Tabriz University	-
2.	Cosmetic and health expert	Tabriz University of Medical Sciences	10 -yıl
3.			-

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**	**(Diğer) Puanı**
İnglizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	78	
Farsca	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	100	

*****Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Microsoft Office	Çok iyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):