



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**ORAL YOLLA VERİLİŞ İÇİN KANDESARTAN
SİLEKSETİL İÇEREN PRONİOZOMLARIN
HAZIRLANMASI: FORMÜLASYON PARAMETRELERİ VE
ETKİN MADDE SALIMININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Murat ORAL

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL**

2010- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ORAL YOLLA VERİLİŞ İÇİN KANDESARTAN
SİLEKSETİL İÇEREN PRONİOZOMLARIN
HAZIRLANMASI: FORMÜLASYON PARAMETRELERİ VE
ETKİN MADDE SALIMININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Murat ORAL

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL**

2010- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Teknoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 19.10.2010



Prof. Dr. Nilüfer TARIMCI
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Asuman BOZKIR
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı



Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı



Doç. Dr. Ayhan SAVASER
Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı



Yard. Doç. Dr. Canan HASÇİÇEK
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO:

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	x
Simgeler ve Kısaltmalar	xi
Şekiller	xiii
Çizelgeler	xvii
Eşitlikler	xxi
1. GİRİŞ	1
1.1. Yeni Etkin Madde Salım Sistemleri	2
1.2. Etkin Madde Taşıyıcı Sistemler	3
1.3. Veziküler Etkin Madde Taşıyıcı Sistemler	3
1.3.1. Lipozomlar	4
1.3.2. Niozomlar	5
1.3.2.1. Niozom Hazırlamada Kullanılan Maddeler ve Özellikleri	6
1.3.2.2. Niozomlarda Geometrik Özellikler	8
1.3.2.3. Niozomların Hazırlanması	9
1.3.2.4. Niozomların Etkin Madde Yükleme Etkinliği	13
1.3.2.5. Niozomların Stabilitesi	16
1.3.2.5.1. Niozomlarda Zamanla Vezikül Büyüklüğündeki Değişimler	17
1.3.2.5.2. Niozomlarda Polidispersite İndeksi ve Zamanla Değişimi	18
1.3.2.5.3. Etkin Madde Yükleme Etkinliğinin Zamanla Değişimi	18
1.3.2.5.4. Niozomların Zeta Potansiyeli ve Zamanla Değişimi	21
1.3.2.5.5. Niozom Dispersiyonlarında Zamanla Dış Görünüş Değişimi	21

1.3.2.6.	Niozomlarda Camsı Geçiş Sıcaklığının Önemi	22
1.3.2.7.	Niozomların Toksisitesi	22
1.3.2.8.	Niozomların Terapötik Uygulamaları	23
1.4.	Lipozomların ve Niozomların Karşılaştırılması	28
1.4.1.	Lipozomların ve Niozomların Ortak Özellikleri	28
1.4.2.	Niozomların Lipozomlara Üstünlükleri	29
1.5.	Proveziküler Etkin Madde Taşıyıcı Sistemler	29
1.5.1.	Proveziküler Sistemlerin Veziküler Sistemlere Üstünlükleri	33
1.5.2.	Proniozomlar	33
1.5.2.1.	Proniozomların Hazırlanması	38
1.5.2.2.	Proniozomlarda Etkin Madde Yükleme Etkinliği	39
1.5.2.3.	Proniozomlardan Elde Edilen Niozomların Partikül Büyüklüğü ve Dağılımının Tayini	39
1.5.2.4.	Proniozomlardan Etkin Madde Salımı	40
1.5.2.5.	Proniozomların Stabilesi	41
1.5.2.6.	Proniozomlarla Yapılan Çalışma Örnekleri	42
1.6.	Kandesartan Sileksetil	45
1.6.1.	Kimyasal Yapısı	45
1.6.2.	Fizikokimyasal Özellikleri	45
1.6.3.	Farmakolojik Özellikleri	46
1.6.4.	Farmakokinetik Özellikleri	46
1.6.5.	Yan Etki Potansiyeli	47
1.6.6.	Tanım ve Miktar Tayini Yöntemleri	48
2.	GEREÇ VE YÖNTEM	49
2.1.	MATERYALLER	49

2.1.1.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	49
2.1.2.	Kullanılan Aletler	49
2.2.	YÖNTEM	51
2.2.1.	Etkin Maddenin Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi	51
2.2.1.1.	Etkin Maddenin Diferansiyel Tarama Kalorimetrisi ile Analizi	51
2.2.1.2.	Etkin Maddenin X-Işını Toz Difraktometrisi ile Analizi	51
2.2.1.3.	Etkin Maddenin Ultra Viole Spektrofotometrisi ile Analizi	51
2.2.1.3.1.	UV Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak Etkin Maddenin Kalibrasyon Doğrularının Hazırlanması	52
2.2.1.3.2.	Kalibrasyonda ve Çözünme Hızı Analizlerinde Kullanılan Ortamlar	52
2.2.1.3.3.	Ortamlardaki Kalibrasyon Doğrularının İstatistiksel Verileri ve Analitik Validasyonu	54
2.2.1.3.3.1.	Doğruluk ve Geri Elde	54
2.2.1.3.3.2.	Kesinlik	54
2.2.1.3.3.3.	Teşhis ve Tayin Sınırları	55
2.2.2.	Formülasyon Çalışmaları	55
2.2.2.1.	Etkin Maddesiz Formülasyon Çalışmaları	55
2.2.2.1.1.	Proniozom Üretimi Esnasında Kullanılacak Olan Yöntemin Seçimi	55
2.2.2.1.2.	Sorbitolün Partikül Büyüklüğünün Tayin Edilmesi	58
2.2.2.1.3.	Farklı Partikül Büyüklüğünde Sorbitol ile Hazırlanan Formülasyonlar	58
2.2.2.1.4.	Proniozomdan Niozom Elde Edilmesinde Sıcaklığın ve Vorteks İşleminin Etkisinin Değerlendirilmesi	59
2.2.2.2.	Kandesartan Sileksetil İçeren Formülasyonların Hazırlanması	61
2.2.3.	Etkin Maddesiz Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Kontroller	65
2.2.4.	Kandesartan Sileksetil İçeren Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Kontroller	65
2.2.4.1.	Formülasyonlarda Ürün Verimi	65

2.2.4.2.	Formülasyonlarda Etkin Madde Yükleme Etkinliğinin Hesaplanması	66
2.2.4.3.	Proniozomların Hidratasyonu ile Elde Edilen Niozomların Optik Mikroskop ile İncelenmesi	66
2.2.4.4.	Proniozomlardan Etkin Madde Salımının İncelenmesi İçin Çözünme Hızı Test Yönteminin Belirlenmesi	67
2.2.4.5.	Farklı Formülasyonlarla Hazırlanan Proniozomlardan Etkin Madde Salımının İncelenmesi	71
2.2.5.	Seçilen Formülasyon Üzerinde Yapılan İncelemeler	71
2.2.5.1.	Proniozomlardan Hidratasyonla Oluşturulan Niozomların Partikül Büyüklüğünün, Zeta Potansiyelinin ve Polidispersite İndeksinin Ölçülmesi	72
2.2.5.2.	Sorbitol Partikül Büyüklüğünün Etkin Madde Salımına Etkisi	73
2.2.5.3.	Etkin Madde Salımının Farklı pH Değerlerindeki Ortamlarda İncelenmesi	73
2.2.5.4.	Etkin Madde Salım Kinetiklerinin İncelenmesi	74
2.2.5.5.	Etkin Madde Yardımcı Madde Etkileşiminin İncelenmesi	76
3.	BULGULAR	77
3.1.	Etkin Maddenin Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi	77
3.1.1.	Diferansiyel Tarama Kalorimetrisi (DSC) Analizi Bulguları	77
3.1.2.	X Işını Toz Difraktometrisi Analizi Bulguları	78
3.1.3.	Etkin Maddenin Ultra Viole (UV) Spektrofotometrisi Analizi Bulguları	78
3.1.3.1.	Etkin Maddenin UV Spektrofotometrik Yöntemi Kullanılarak Oluşturulan Kalibrasyon Doğruları	81
3.1.3.2.	Kalibrasyon Doğrularının İstatistiksel Verileri ve Analitik Validasyona Ait Bulgular	84
3.1.3.2. 1.	Doğruluk ve Geri Elde	86
3.1.3.2. 2.	Kesinlik	89
3.1.3.2. 3.	Teşhis ve Tayin Sınırı	94

3.2.	Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	97
3.2.1.	Etkin Maddesiz Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	97
3.2.1.1.	Proniozom Üretimi Esnasında Kullanılacak Olan Yöntemin Seçimine Ait Bulgular	97
3.2.1.2.	Sorbitol'ün Partikül Büyüklüğünün Tayin Edilmesine Ait Bulgular	98
3.2.1.3.	Proniozomdan Niozom Eldesinde Ortam Sıcaklığının ve Vorteks İşleminin Etkisinin Değerlendirilmesine Ait Bulgular	99
3.2.1.4.	Etkin Maddesiz Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Kontrollere Ait Bulgular	100
3.2.2.	Kandesartan Sileksetil İçeren Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	107
3.2.2.1.	Ürün Verimi Bulguları	107
3.2.2.2.	Etkin Madde Yükleme Etkinliği Bulguları	107
3.2.2.3.	Proniozomların Hidratasyonu ile Elde Edilen Niozomların Optik Mikroskop ile İncelenmesine Ait Bulgular	108
3.2.2.4.	Proniozomlardan Etkin Madde Salımının İncelenmesi için Çözünme Hızı Test Yönteminin Belirlenmesine Ait Bulgular	112
3.2.2.5.	Farklı Formülasyonlarla Hazırlanan Proniozomlardan Etkin Madde Salımının İncelenmesine Ait Bulgular	118
3.2.3.	Seçilen Formülasyon Üzerinde Yapılan İncelemelere Ait Bulgular	121
3.2.3.1.	Proniozomlardan Hidratasyonla Oluşturulan Niozomların Partikül Büyüklüğünün, Zeta Potansiyelinin ve Polidispersite İndeksinin Ölçülmesi	121
3.2.3.2.	Sorbitol Partikül Büyüklüğünün Etkin Madde Salımına Etkisinin İncelenmesine Ait Bulgular	122
3.2.3.3.	Etkin Madde Salımının Farklı pH Değerlerindeki Ortamlarda İncelenmesine Ait Bulgular	124
3.2.3.4.	Etkin Madde Salım Kinetiklerinin İncelenmesine Ait Bulgular	127
3.2.3.5.	Etkin Madde Yardımcı Madde Etkileşiminin İncelenmesine Ait Bulgular	127
4.	TARTIŞMA	130

4.1.	Etkin Maddeye Ait Bulguların Değerlendirilmesi	130
4.1.1.	Etkin Maddenin DSC Analizi ve X-Işını Toz Difraktometrisi Analizlerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	130
4.1.2.	Etkin Maddenin Ultra Viole (UV) Spektrofotometrisi Analizine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	130
4.1.2.1.	Etkin Maddenin Analitik Yöntem Validasyonuna Ait Bulguların Değerlendirilmesi	131
4.2.	Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi	132
4.2.1.	Etkin Maddesiz Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi	132
4.2.1.1.	Proniozom Üretimi Esnasında Kullanılacak Olan Yöntemin Seçimine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	132
4.2.1.2.	Proniozomdan Niozom Eldesinde Ortam Sıcaklığının ve Vorteks İşleminin Etkisine Yönelik Yapılan Çalışmaların Değerlendirilmesi	133
4.2.1.3.	Etkin Maddesiz Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Kontrollere Ait Bulguların Değerlendirilmesi	134
4.2.2.	Kandesartan Sileksetil İçeren Formülasyonlar Çalışmalarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi	135
4.2.2.1.	Ürün Verimi (%) Bulgularının Değerlendirilmesi	135
4.2.2.2.	Etkin Madde Yükleme Etkinliği (%EE) Bulgularının Değerlendirilmesi	135
4.2.2.3.	Proniozomların Hidratasyonu ile Elde Edilen Niozomların Optik Mikroskop Görüntülerinin Değerlendirilmesi	136
4.2.2.4.	Proniozomlardan Etkin Madde Salımının İncelenmesi İçin Çözünme Hızı Test Yönteminin Belirlenmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	137
4.2.2.5.	Farklı Formülasyonlarla Hazırlanan Proniozomlardan Etkin Madde Salımının İncelenmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	139
4.3.	Hazırlanan Formülasyonlar Arasındaki Son Değerlendirme ve En Uygun Formülün Seçilmesi	140
4.4.	Seçilen Formülasyon Üzerinde Yapılan İncelemelere Ait Bulguların Değerlendirilmesi	141

4.4.1.	Proniozomlardan Hidratasyonla Oluşturulan Niozomların Partikül Büyüklüğünün, Zeta Potansiyelinin ve Polidispersite İndeksinin Ölçülmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	141
4.4.2.	Sorbitol Partikül Büyüklüğünün Etkin Madde Salımına Etkisinin İncelenmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	141
4.4.3.	Seçilen Formülasyondan ve Ticari Preparattan Etkin Madde Salımının Farklı pH Değerlerindeki Ortamlarda İncelenmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	142
4.4.4.	Etkin Madde Salım Kinetiklerinin İncelenmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	142
4.4.5.	Etkin Madde Yardımcı Madde Etkileşiminin İncelenmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	143
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	145
	ÖZET	149
	SUMMARY	150
	KAYNAKLAR	151
	ÖZGEÇMİŞ	156

ÖNSÖZ

Bu çalışmada hipertansiyon tedavisinde kullanılan, anjiyotensin II tip I (AT₁) reseptör antagonisti olan ve suda çözünürlüğü çok düşük olan (0,0003 mg/mL) kandesartan sileksetilin, son yıllarda eczacılık teknolojisinde yeni yeni çalışılmaya başlanan ve proveziküler etkin madde taşıyıcı sistemlerden olan proniozomlar içine yüklenerek vücut sıvılarındaki çözünürlüğünün artırılması ve dolayısıyla biyoyararlanımının artırılması amaçlanmıştır.

Yüksek lisans eğitimim boyunca büyük ilgi ve desteğini gördüğüm,engin bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım tez yöneticim, Sayın Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL'e teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Bu çalışmayı A. Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'nda yapabilmem için sağladıkları imkan ve yardımlardan dolayı Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Asuman BOZKIR'a ve önceki Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Nurten ÖZDEMİR'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince ilgi ve desteklerini gördüğüm Anabilim Dalımızdaki tüm öğretim üyelerine teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında benden yardım ve ilgilerini esirgemeyen Uzm. Ecz. Zerrin SEZGİN BAYINDIR'a ve diğer değerli öğretim üye yardımcılara teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan ve her konuda gösterdikleri büyük manevi desteklerini hissettiğim değerli dostlarım Ecz Berkay ARIKAN'a, Ecz. Tuğrul Mert SERİM'e, Ecz. Umut Can Öz'e, ve Ecz. Selin ÇOBAN'a çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarım süresince, beni maddi olarak destekleyen TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı'na teşekkürlerimi sunarım.

Tüm hayatım boyunca olduğu gibi tez döneminde de gösterdikleri fedakarlıklardan ve özverilerden dolayı haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim, verdikleri destek sayesinde bugünlere geldiğim sevgili annem, meslektaşım Ecz. Nurgül ORAL'a, babam Çetin ORAL'a ve kardeşim Hakan ORAL'a sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

SİMGELER ve KISALTMALAR

A:	Yüzeyler arası alan
a / h:	Ağırlık / hacim
A.Ç.E.M.:	Açığa çıkan etkin madde miktarı
ADE:	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
AII:	Anjiyotensin II
AT1:	Anjiyotensin II reseptörü subtipi 1
AUC:	Serum etkin madde konsantrasyonu zaman eğrisinde eğri altındaki alan
BSS:	Bağıl standart sapma
Ca:	Kalsiyum
C_{MAX}:	Etkin maddenin vücutta maksimum kan konsantrasyonuna ulaşma süresi
CMC:	Kritik misel konsantrasyonu
CPP:	Kritik yerleşme parametresi
DCP:	Disetil fosfat
DLS:	Dinamik ışık saçılımı
FDA:	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Kurumu
HLB:	Hidrofilik lipofilik balans
HPLC:	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
i.p. :	İntraperitoneal
i.v. :	İntravenöz
k:	Kısım
K_{el}:	Eliminasyon hız sabiti
LD:	Lazer difraksiyonu
λ_{max}:	Maddenin maksimum absorbands verdiği dalga boyu
I_n:	Hidrokarbon zincirinin kuyruğunun maksimum ulaşabileceği uzunluk
LOD:	Teşhis sınırı
LOQ:	Tayin sınırı
LUV:	Büyük tek tabakalı vezikül
MAO:	Mono amin oksidaz
MLV:	Çok tabakalı vezikül
μm:	Mikrometre
MSD:	Ortalama standart sapma
mV:	Milivolt
MVV:	Çok veziküllü vezikül
nm:	Nanometre
NSAİD:	Non-steroidal antienflamatuar ilaç
OH:	Hidroksil radikali
OSS:	Ortalama standart sapma
PBS:	Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
PDI:	Polidispersite indeksi
REV:	Ters faz buharlaştırma tekniği
RMS:	Artık kareler ortalaması
rpm:	Dakikadaki dönü sayısı
SA:	Stearil amin
°C:	Santigrat derece

SE:	Standart hata
SF:	Seyreltme faktörü
SGF:	Suni mide sıvısı
SS:	Standart sapma
SUV:	Küçük tek tabakalı vezikül
T_c:	Camsı geçiş sıcaklığı
t_{1/2}:	Yarılanma ömrü
TTS:	Transdermal terapötik sistem
USP:	Amerikan farmakopesi
UV:	Ultraviyole
V_{hc}:	Hidrokarbon hacmi
y.m.:	Yeter miktar

ŞEKİLLER

SAYFA NO:

Şekil 1.1.	Fosfolipit molekülünde su içinde agregasyon sonucu lipit çift tabakanın ve lipozom yapısının oluşumu	5
Şekil 1.2.	Niozom yapısı ve niozomal vezikülü oluşturan maddeler	6
Şekil 1.3.	Yüzey etkin madde yapısının şematik gösterimi	8
Şekil 1.4.	Çift tabakadan çeşitli yapı ve büyüklükteki veziküllerin oluşumu	13
Şekil 1.5.	Jel filtrasyon yönteminin şematik gösterimi	14
Şekil 1.6.	Diyaliz yönteminin şematik gösterimi	15
Şekil 1.7.	Ultrasantrifüjsonrası elde edilen süpernatant ve presipitat kısımları	15
Şekil 1.8.	Niozom içine yüklenmiş olan etkin maddenin ve niozom yapısının şematik gösterimi	16
Şekil 1.9.	Hazırlanan niozomların çeşitli sıcaklıklarda 1 ay süreyle tutulmaları sonucunda ortalama vezikül çaplarında oluşan değişimler	17
Şekil 1.10.	Niozom yapısında yük verici olarak kullanılan maddelerin molekül formülleri	21
Şekil 1.11.	Niozomal veziküllerin oluşumunda hidrasyon sıcaklığının ve kullanılan sürfaktanların camsı geçiş sıcaklıklarının önemi	22
Şekil 1.12.	Asiklovir yüklü niozomlarda biyoyararlanımın arttığını gösteren serum etkin madde konsantrasyonu-zaman grafiği	25
Şekil 1.13.	Ovalbuminyüklü peroral aşı sistemi şeklinde olan niozomlarda Wasag 7 ve Wasag 15'in serum immün cevaplarını gösteren grafikler	26
Şekil 1.14.	İnsülinyüklü çeşitli sorbitan esterleriyle hazırlanan niozomlarda proteolitik enzimlere karşı değişmeden kalan insülin miktarını gösteren grafik	27
Şekil 1.15.	Paklitaksel yüklü çeşitli sorbitan esterleriyle hazırlanan niozomlarda proteolitik enzimlere karşı değişmeden kalan paklitaksel miktarını gösteren grafik	28
Şekil 1.16.	Kuru granüler formda proniozomların eldesinin ve proniozomlardan niozomların eldesinin şematik gösterimi	34

Şekil 1.17.	A: Konvansiyonel niozomların, B: Proniozomların hidrasyonu ile elde edilen niozomların optik mikroskop görüntüleri	36
Şekil 1.18.	Taşıyıcı maddenin ve proniozomların tarayıcı elektron mikroskop görüntüleri	37
Şekil 1.19.	Taşıyıcı madde ile proniozomal tozun yüzey morfolojilerinin tarayıcı elektron mikroskobu ile karşılaştırılması	37
Şekil 1.20.	Selekoksisib yüklü proniozom ile saf selekoksisibin çözünme hızı grafikleri	44
Şekil 1.21.	Selekoksisib yüklü proniozom ile selekoksisib içeren ticari kapsül müstahzarında gerçekleştirilen bioyoyararlanım çalışmasına ait grafik	44
Şekil 2.1.	Sprey yöntemi ile proniozom eldesi	57
Şekil 2.2.	Bulamaç yöntemiyle proniozom eldesi	58
Şekil 2.3.	Niozomal veziküllerin partikül büyüklüğünün, polidispersite indeksinin ve zeta potansiyelinin ölçümünde izlenen yol ve ölçüm cihazı	73
Şekil 3.1.	Kandesartan sileksetilin DSC termogramı	77
Şekil 3.2.	Kandesartan sileksetilin X-ışını difraksiyon spektrumu	78
Şekil 3.3.	Kandesartan sileksetilin çeşitli ortamlarında alınan UV spektrumları	80
Şekil 3.4.	Kandesartan sileksetilin UV spektrumu	81
Şekil 3.5.	Kandesartan sileksetilin pH 1,2 ve % 0,2 a/hTween 80 içeren pH 1,2 ortamlarındaki kalibrasyon doğruları ve denklemleri	82
Şekil 3.6.	Kandesartan sileksetilin metanol ve % 0,2 a/hTween 80 içeren pH 4,5 ortamında kalibrasyon doğruları ve denklemleri	83
Şekil 3.7.	Kandesartan sileksetilin % 0,2 a/hTween 80 içeren pH 6,8 ortamında kalibrasyon doğrusu ve denklemi	84
Şekil 3.8.	İki ayrı yöntemle üretilen proniozomlardan üretilen niozomların optik mikroskop görüntüleri	98
Şekil 3.9.	37 °C 'deki suyla hidrate edilen proniozomlardan üretilen niozomların optik mikroskop görüntüsü	99
Şekil 3.10.	Herhangi bir vorteks işlemi uygulanmadan direkt proniozomların hidrasyonu ile elde edilen niozomların optik mikroskop görüntüsü	100

Şekil 3.11.	Sprey yöntemi ile üretilen K1 kodlu formülasyona ait partikül büyüklüğü dağılımı grafiği	100
Şekil 3.12.	Bulamaç yöntemi ile üretilen K1 kodlu formülasyona ait partikül büyüklüğü dağılımı grafiği	101
Şekil 3.13.	K2 kodlu formülasyona ait partikül büyüklüğü dağılımı grafiği	101
Şekil 3.14.	K2 kodlu formülasyona ait optik mikroskop görüntüsü	101
Şekil 3.15.	Büyük, orta ve küçük partikül büyüklüğü aralığına sahip olan sorbitolle hazırlanan K3 kodlu formülasyona ait partikül büyüklüğü dağılımı grafikleri	102
Şekil 3.16.	Büyük, orta ve küçük partikül büyüklüğü aralığına sahip olan sorbitolle hazırlanan K3 kodlu formülasyona ait optik mikroskop görüntüleri	103
Şekil 3.17.	K4 kodlu formüle ait partikül büyüklüğü dağılımı grafiği	104
Şekil 3.18.	Çeşitli vorteks işlemi dereceleri ile hazırlanan K4 kodlu formülasyonlara ait optik mikroskop görüntüleri	105
Şekil 3.19.	K5 kodlu formüsyona ait partikül büyüklüğü dağılımı grafiği	106
Şekil 3.20.	K5 kodlu formüsyona ait optik mikroskop görüntüsü	106
Şekil 3.21.	F1 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü	109
Şekil 3.22.	F2 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü	109
Şekil 3.23.	F3 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü	109
Şekil 3.24.	F4 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü	110
Şekil 3.25.	F5 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü	110
Şekil 3.26.	F6 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü	110
Şekil 3.27.	F7 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü	111
Şekil 3.28.	F8 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü	111
Şekil 3.29.	F9 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü	111
Şekil 3.30.	Geliştirilen formülasyonlardan elde edilen proniozomların ve ticari preparatın % 0,2 a/hTween 80içeren pH 1,2 ortamında etkin madde salım profilleri	120
Şekil 3.31.	F2 kodlu formülün partikül büyüklüğü dağılımı grafiği	121

Şekil 3.32.	F2 kodlu formülün zeta potansiyeli dağılımı grafiği	121
Şekil 3.33.	Farklı partikül büyüklüğündeki sorbitollerle üretilen proniozomların etkin madde salım profilleri	123
Şekil 3.34.	Seçilen F2 kodlu formülasyondan elde edilen proniozomların ve kandesartan sileksetil içeren ticari preparatın % 0,2 a/hTween 80 içeren pH 1,2, pH 4,5 ve pH 6,8 ortamlarında etkin madde salım profilleri	126
Şekil 3.35.	Etkin maddenin, seçilen formülasyonda yer alan maddelerin, üretilen proniozoun ve hazırlanan fiziksel karışımların diferansiyel tarama kalorimetrisi termogramları	128
Şekil 3.36.	Etkin maddenin, seçilen formülasyonda yer alan maddelerin, üretilen proniozomun ve hazırlanan fiziksel karışımların X-ışını difraksiyon spektrumları	129

ÇİZELGELER

SAYFA NO:

Çizelge 1.1.	Vezikül hazırlamada kullanılan yüzey etkin madde örnekleri	10
Çizelge 1.2.	4 °C’de 2 ay boyunca saklanan niozomların insülin yükleme etkinliklerinde zamanla görülen değişim	19
Çizelge 1.3.	Hidrofilik ve lipofilik karakterde olan çeşitli yüzey etkin maddelerle hazırlanan niozomlarda 30 gün sonunda kalan sitarabin HCl yüzdelерinin gösterimi	20
Çizelge 1.4.	Lipozomların negatif özellikleri ve niozomların pozitif özellikleri	29
Çizelge 1.5.	Taşıyıcı madde olan sorbitol tozu ile proniozomal tozların yığın açılarının karşılaştırılması	38
Çizelge 1.6.	Kromolin sodyum yüklü olan niozom ve proniozomlarda yapılan stabilite çalışmasına ait veriler	42
Çizelge 1.7.	Selekoksisb yüklü proniozomda ve selekoksisb içeren ticari kapsül ürününde biyoyararlanımla ilgili parametreler	44
Çizelge 2.1.	Geliştirilen etkin maddesiz formülasyonlar	60
Çizelge 2.2.	Etkin maddesiz formülasyonlarda kullanılan farklı sorbitol partikül büyüklüğü aralıkları	61
Çizelge 2.3.	Geliştirilen formülasyonlar	62
Çizelge 3.1.	Kandesartan sileksetilin değişik ortamlar içinde maksimum absorbands verdiği dalga boyları	81
Çizelge 3.2.	Kandesartan sileksetilin değişik ortamlarda elde edilen kalibrasyon doğrularına ait parametreler	85
Çizelge 3.3.	pH 1,2 ortamında doğruluk testine ait veriler	86
Çizelge 3.4.	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında doğruluk testine ait veriler	87
Çizelge 3.5.	Metanol ortamında doğruluk testine ait veriler	87
Çizelge 3.6.	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 ortamında doğruluk testine ait veriler	88

Çizelge 3.7.	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8 ortamında doğruluk testine ait veriler	88
Çizelge 3.8.	pH 1,2 ortamında tekrarlanabilirlik testine ait sonuçlar	89
Çizelge 3.9.	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında tekrarlanabilirlik testine ait sonuçlar	90
Çizelge 3.10.	Metanol ortamında tekrarlanabilirlik testine ait sonuçlar	90
Çizelge 3.11.	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 ortamında tekrarlanabilirlik testine ait sonuçlar	91
Çizelge 3.12.	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8 ortamında tekrarlanabilirlik testine ait sonuçlar	91
Çizelge 3.13.	pH 1,2 ortamında tekrar elde edilebilirlik testine ait sonuçlar	92
Çizelge 3.14.	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında tekrar elde edilebilirlik testine ait sonuçlar	92
Çizelge 3.15.	Metanol ortamında tekrar elde edilebilirlik testine ait sonuçlar	93
Çizelge 3.16.	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 ortamında tekrar elde edilebilirlik testine ait sonuçlar	93
Çizelge 3.17.	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8 ortamında tekrar elde edilebilirlik testine ait sonuçlar	94
Çizelge 3.18.	pH 1,2 ortamında teşhis ve tayin alt sınırları tespitine ait veriler	95
Çizelge 3.19.	Metanol ortamında teşhis ve tayin alt sınırları tespitine ait veriler	95
Çizelge 3.20.	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında teşhis ve tayin alt sınırları tespitine ait veriler	96
Çizelge 3.21.	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 ortamında teşhis ve tayin alt sınırları tespitine ait veriler	96
Çizelge 3.22.	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8 ortamında teşhis ve tayin alt sınırları tespitine ait veriler	97
Çizelge 3.23.	Sorbitol elek analizi verileri	98
Çizelge 3.24.	25 °C’de ve 37 °C ‘deki distile su ile hidrate edilen proniozomlardan üretilen niozomlara ait partikül büyüklüğü analizi verileri	99
Çizelge 3.25.	Etkin maddesiz önformülasyon çalışmalarına ait partikül büyüklüğü analizi bulguları	106

Çizelge 3.26.	Geliştirilen formülasyonlara ait ürün verimi bulguları	107
Çizelge 3.27.	Geliştirilen formülasyonlarda (%) etkin madde yükleme etkinlikleri ve standart hatalar	108
Çizelge 3.28.	8 mg e.m.'ye denk F2 kodlu pronizomal tozu ile ve diyaliz keseleri ile pH 1,2 HCl ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri	112
Çizelge 3.29.	8 mg e.m.'ye denk F2 kodlu 4 mL niozomal dispersiyon ile ve diyaliz keseleri ile pH 1,2 HCl ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri	112
Çizelge 3.30.	8 mg e.m.'ye denk F2 kodlu pronizomal tozu ile ve diyaliz keseleri ile % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 HCl ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri	113
Çizelge 3.31.	8 mg saf e.m. ile ve 8 mg e.m. 92 mg sorbitol içeren 100 mg toz ile diyaliz keseleri kullanılarak % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri	113
Çizelge 3.32.	0,1 ml metanol içinde 1 mg e.m. içeren e.m. çözeltisi ile ve 10 mg e.m.90 mg sorbitol içeren 100 mg toz karışımı ile diyaliz keseleri kullanılarak % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri	114
Çizelge 3.33.	1 mg e.m.'ye denk F2 kodlu pronizomal tozu ile ve diyaliz keseleri ile % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri	114
Çizelge 3.34.	Etkin madde miktarının 2 mg'a, diyaliz kesesi içindeki sıvı miktarının 1 mL'ye, çözünme ortamının miktarının 100 ve 50 mL'ye düşürülmesiyle diyaliz keseleri kullanılarak elde edilen çözünme hızı deneyine ait veriler	115
Çizelge 3.35.	Etkin madde miktarının 4 mg'a, diyaliz kesesi içindeki sıvı miktarının 2 mL'ye, çözünme ortamına sorbitol eklenip miktarının 100 mL'ye düşürülmesiyle diyaliz keseleri kullanılarak elde edilen çözünme hızı deneyine ait veriler	115
Çizelge 3.36.	8 mg e.m. içeren F2 kodlu pronizomal tozu ile diyaliz keseleri kullanılmadan % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri	116
Çizelge 3.37.	8 mg e.m. içeren F2 kodlu pronizomal tozu ile diyaliz keseleri kullanılmadan % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri (2.ve 3. paralel)	117

Çizelge 3.38. 8 mg e.m. içeren F2 kodlu pronizomal tozu ile diyaliz keseleri kullanılmadan pH 1,2 tamponu ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri	117
Çizelge 3.39. Geliştirilen formülasyonlardan hazırlanan proniozomların ve ticari preparatın % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında çözünme hızı analizi verileri	119
Çizelge 3.40. 0,125-0,25 mm , 0,25-0,50 mm, 0,5-0,75 mm partikül büyüklüğü aralığındaki sorbitollerle üretilen proniozomlara ait çözünme hızı analizi verileri	122
Çizelge 3.41. Geliştirilen formüller arasından seçilen F2 kodlu formülün % 0,2 a/h Tween 80 içeren farklı pH'lardaki ortamlarda çözünme hızı analizi verileri	124
Çizelge 3.42. 8 mg kandesartan içeren ticari preparatın % 0,2 a/h Tween 80 içeren farklı pH'lardaki ortamlarda çözünme hızı analizi verileri	125
Çizelge 3.43. Geliştirilen formüller arasından seçilen F2 kodlu formülün % 0,2 a/h Tween 80 içeren farklı pH'lardaki ortamlarda çözünme hızı kinetiklerine (modellerine) ait veriler	127

EŞİTLİKLER

SAYFA NO:

Eşitlik 1.1.	CPP (Kritik Yerleşme Parametresi)	8
Eşitlik 1.2.	% Etkin Madde Yükleme Etkinliği	16
Eşitlik 1.3.	Polidispersite İndeksi	18
Eşitlik 2.1.	% Ürün Verimi	65
Eşitlik 3.1.	Elekt analizi sonucu ortalama çap	98

1.GİRİŞ

Hedeflenmiş reseptörlere afinite gösterebilmeleri için etkin maddeler yapılarında genelde hidrofobik gruplar taşırlar. Böyle etkin maddelerin gastrointestinal kanaldaki çözünürlükleri, oral biyoyararlanımlarını kısıtlayan başlıca faktördür (Sezgin ve ark., 2007).

Son yıllarda araştırmalar, oral yolla verilen ve çözünürlükleri düşük olan etkin maddelerin biyoyararlanımlarının artırılması üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu tip etkin maddelerin sudaki ve fizyolojik pH değerlerinde olan biyolojik sıvılardaki çözünürlüklerinin artırılması için pekçok çalışma yapılmaktadır; örn. etkin maddenin inert veziküllere yüklenmesi, kendiliğinden emülsifiye olan sistemlerin geliştirilmesi, sürfaktan dispersiyonların hazırlanması, siklodekstrin komplekslerine dayanan katı dispersiyonların hazırlanması gibi (Yüksel ve ark., 2003).

Kandesartan sileksetil, kandesartanın esterleştirilmiş ön etkin madde şeklidir; hipertansiyon tedavisinde kullanılan, peptid olmayan anjiyotensin II tip I (AT₁) reseptör antagonistidir. Kandesartan sileksetil, gastrointestinal kanaldan absorpsiyonu sırasında ester hidrolizi ile hızlıca ve tamamen biyoaktif edilir ve kandesartana dönüşür. Kandesartan sileksetilin peroral yolla kullanılan dozaj formu olarak terapötik uygulanma ve etkinliği açısından en büyük dezavantajı suda çözünürlüğünün çok düşük olmasıdır (0,0003 mg/mL). Kandesartan sileksetilin fizyolojik pH değerlerindeki düşük çözünürlüğünün gastrointestinal kanaldan tam olmayan absorpsiyona neden olduğu belirtilmiştir. Fizyolojik olarak ilişkili pH durumları ve absorpsiyon özellikleri baz alındığında kandesartan sileksetil, FDA (Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Kurumu) tarafından yapılan etkin maddelerin biyofarmasötik sınıflandırma sistemine göre II. sınıfta yer alan bir etkin maddedir (Amidon ve ark., 1995, Nekkanti ve ark., 2009). Kandesartan sileksetil, çözünürlüğü düşük ancak emilimi yüksek olan bir etkin maddedir; dolayısıyla etkin maddenin vücuttaki biyoyararlanımı için çözünürlük kritik parametredir.

Bu çalışmada kandesartan sileksetilin, son yıllarda eczacılık teknolojisinde yeni yeni çalışılmaya başlanan ve proveziküler etkin madde taşıyıcı sistemlerden olan proniozomlar içine yüklenerek vücut sıvılarındaki çözünürlüğünün artırılması ve dolayısıyla biyoyararlanımının artırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada öncelikle etkin madde içermeyen proniozomal veziküller oluşturulmuştur ve üretim yöntemi optimize edilmiştir. Sonraki aşamada etkin madde içeren proniozomal veziküller seçilen üretim yöntemiyle üretilmiştir; formülasyon parametrelerinin değerlendirilmesi ve optimizasyonu yapıp en uygun sonuç formüle ulaşılmıştır.

Konu ile ilgili kaynak kitaplar ve literatürler incelendiğinde, proniozomların peroral yol ile kullanımları ile ilgili sınırlı sayıda çalışmanın bulunduğu görülmüştür. Genellikle topikal uygulamalar için ve kozmetik amaçlı olarak proniozom formülleri geliştirilmiştir. Lipozomlar ve niozomlar ile karşılaştırıldığında proniozomlar, peroral veriliş için bu sistemlerin avantajlarını taşıırken dezavantajlarının üstesinden gelebilecek etkin madde taşıyıcı sistemlerdir. Bu çalışmada çözünürlük problemi olan kandesartan sileksetilin proniozomal veziküller içine yüklenmesi sonucu elde edilen ürünün peroral yol ile uygulanması amaçlanmıştır.

1.1. Yeni Etkin Madde Salım Sistemleri

Son yıllarda yeni etkin madde salım sistemlerinin geliştirilmesi için çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Niozomlar ve proniozomlar da yeni etkin madde salım sistemleri içerisinde; bu etkin madde salım sistemleri partiküler etkin madde taşıyıcı sistemlerin içinde yer almaktadır.

1.2. Etkin Madde Taşıyıcı Sistemler

Hastalıkların tedavilerinde etkin madde taşıyıcı sistemlerden çeşitli amaçlarla yararlanılmaktadır. Başlıca etkin madde taşıyıcı sistemler (Jain, 2007, Bölüm 12):

- Makromoleküler etkin madde taşıyıcı sistemler: Örneğin implant mikroçipler.
- Supramoleküler etkin madde taşıyıcı sistemler: Örneğin siklodekstrinlerin oluşturduğu inklüzyon kompleksleri.
- Polimer tabanlı etkin madde taşıyıcı sistemler.
- Veziküler etkin madde taşıyıcı sistemler: Geniş spektrumlu immünoglobulinler, serum proteinleri, sentetik polimerler, lipozomlar, niozomlar (Bayındır, Z.S., Yüksel, N., 2010), nanopartiküller, polimerik miseller (Sezgin ve ark., 2006), mikroküreler, ters miseller, farmakozomlar ve virozomlar.

1.3. Veziküler Etkin Madde Taşıyıcı Sistemler

Amfifilik moleküler düzenli birimlerin bir formu olan vezikül sistemi, küresel veya elipsoidal şekilde tek hücreli veya çok hücreli sistemdir. Veziküller vücutta kendiliğinden oluşabilir ve ayrıca fosfolipidlerden, yüzey etkin maddelerden, karışık katyonik ve anyonik yüzey etkin maddelerden hazırlanabilir (Liu ve ark., 2007).

Veziküler sistemler sadece hedeflendirilmiş olarak etkin madde taşımak için kullanılmazlar; bunlara ilave olarak biyolojik membranlar ile proteinlerin ilişkilerinin değerlendirilmesinde kullanılırlar. Veziküllerin başlıca elde ediliş yöntemleri basınç altında membran filtreden geçirme yöntemi, eter enjeksiyonu yöntemi, sonikasyon yöntemi ve ters faz buharlaştırma yöntemidir (Hua ve Liu, 2007).

Lipozomlar ya da niozomlar gibi kolloidal partiküller halinde etkin madde salım sistemlerinin konvansiyonel dozaj formlarına göre ayırıcı üstünlükleri bulunmaktadır; çünkü partikülleri etkin madde içeren depolar gibi davranırlar.

Partikül bileşiminin ya da yüzeyinin modifikasyonu hedeflendirilmiş bölgeye afiniteyi ve/veya etkin madde salım oranını ayarlayabilir; dolayısıyla etkin madde salım oranı yavaşlarsa etkin maddenin toksik etkileri de azaltılabilir. Sonuç olarak bu taşıyıcı sistemler etkin madde salımında giderek artan derecede önemli rol oynayan sistemlerdir (Hao ve ark., 2002).

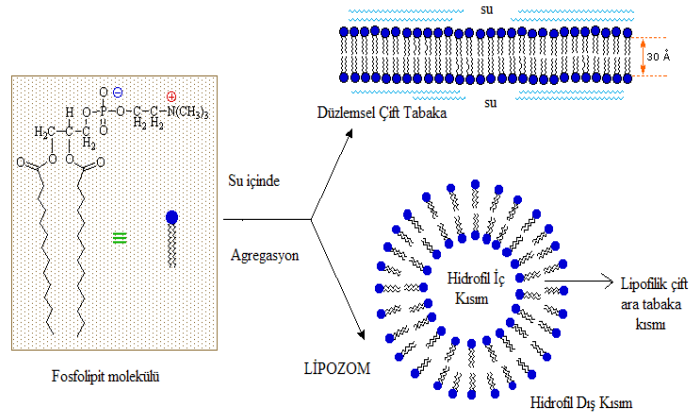
Partiküler etkin madde salım sistemlerinin başarılı bir şekilde geliştirilmesi için bazı şartların sağlanması gerekmektedir. Bu sistemler hem biyolojik olarak iyi bir performansa sahip olmalı, hem de ekonomik özellikleriyle de ilişkili olan arttırılmış stabiliteye sahip olmalıdır (Bayındır, Z.S., Yüksel, N., 2010).

1.3.1. Lipozomlar

Lipozom kelimesi Weissmann tarafından Yunanca'dan türetilmiştir; "lipo" denmesinin sebebi lipofilik bileşime sahip olmalarıdır, "zom" denmesinin sebebi de bir yapı olmalarıdır; yani "lipozom" kelimesi "lipofilik yapı" anlamına gelmektedir (Kaur ve ark., 2007). Lesitin hidratasyonunu takiben veziküler yapıların oluşturulması Lehman tarafından gösterilmesine rağmen, bunların potansiyel uygulamaları 1960'ların ortasında Bangham ve arkadaşları tarafından saptanmıştır. Lipozomlar eski yıllarda çoğu biyolojik membranlarda bulunan çeşitli lipidlerden elde edilmiştir. Lipozomal veziküller ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda elde edilmeleri ve özelliklerinin değerlendirilmesi için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (Önyüksel, H.A., Son, K., 1992; Kozubek ve ark., 2000).

Lipozomlar su veya su içeren tamponlarla ayrılan, bir veya daha fazla eş merkezli lipid film tabakasından oluşan çapları 80 nm ile 10 µm arasında değişen, mikroskobik veziküllerdir (Şekil 1.1.). Bu veziküller hidrofilik ya da hidrofobik etkin maddeleri enkapsüle edebilmektedir ve özellikle suda çözünmeyen etkin maddelerin lipid dozaj formu şeklinde uygulanması mümkün olabilmektedir. Büyüklüklerine bağlı olarak lipozomlar, büyüklükleri 10 ile 100 nm arasında olan küçük tek tabakalı veziküller (SUV), 100 ile 3000 nm arasında olan büyük tek

tabakalı veziküller (LUV), ve eğer bir çift tabakadan daha fazlası yapıda bulunuyor ise çok tabakalı veziküller (MLV) olarak sınıflandırılabilirler (Kaur ve ark., 2004).



Şekil 1.1. Fosfolipit molekülünde su içinde agregasyon sonucu lipit çift tabakanın ve lipozom yapısının oluşumu.

Lipozom yapısında fosfolipidlere ek olarak bazı maddeler de yer almaktadır. Lipozomlarda çift tabakanın özelliklerini geliştirmek için yapıya kolesterol eklenebilmektedir. Kolesterol çift tabakanın mikroviskozitesini arttırmaktadır, membranın suda çözünen moleküllere karşı geçirgenliğini azaltmaktadır, membranı stabilize etmekte ve vezikülün stabilitesini arttırmaktadır (Dhamecha ve ark., 2009). Ayrıca pozitif veya negatif yüklü maddelerin yapıya eklenmesi ile de lipozom yapısı stabilize edilebilmektedir.

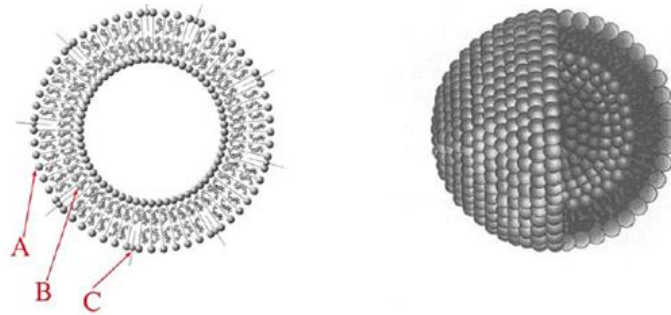
1.3.2. Niozomlar

Noniyonik yüzey etkin maddelerin kendiliğinden vezikül oluşturdıkları ilk defa 1970’lerde kozmetik sanayiindeki araştırmacılar tarafından kaydedilmiştir. Niozomlar, sulu ortamlarda noniyonik yüzey etkin maddelerin kendiliğinden kapalı çift tabakalar oluşturmaları sonucu oluşurlar. Bu oluşum nadiren kendiliğinden olmakla beraber genelde fiziksel olarak çalkalama veya ısıtma gibi enerji girişleri gerektirmektedir. Sonuçta oluşan yapıda molekülün hidrofobik kısımları sulu çözücü tarafından kaplanmaktadır ve molekülün hidrofilik baş grupları kendilerine benzer olan gruplarla maksimum etkileşim halinde olmaktadır. Oluşan bu niozom yapıları fosfolipid veziküller olan lipozomların analoglarıdır, bu yapılar su bazlı maddeleri

enkapsüle edebilmekte ve etkin madde taşıyıcı sistem olarak kullanılabilir (Uchegbu, I.F., Vyas, S.P.,1998).

1.3.2.1. Niozom Hazırlamada Kullanılan Maddeler ve Özellikleri

Niozomlar iki bileşenden oluşurlar, bu iki bileşenden biri ana bileşendir ve diğeri ise membrana eklenen maddelerdir. Ana bileşenin içinde temel olarak noniyonik yüzey etkin maddeler bulunur. Membrana eklenen maddeler ise niozomları stabilize etmek için formülasyona eklenen maddelerdir. Niozomal sistemlerde bulunan ana membrana eklenen madde kolesteroldür (Şekil 1.2.). Kolesterol, lipozomal ve niozomal sistemlerde jel fazından sıvı fazına geçişi engelleyen maddedir; bu özelliği sayesinde veziküllerden sızıntı daha az olmaktadır. Bununla birlikte kolesterolün membran permeabilitesi üzerine, enkapsülasyon etkinliği üzerine, çift tabakanın sertliği üzerine, dondurulmuş kurutulmuş niozomlarda rehidratasyon üzerine ve toksisite üzerine etkileri vardır. Genel olarak fiziksel olarak stabil niozomal veziküllerde kolesterol ile noniyonik yüzey etkin madde arasındaki en uygun molar oranın [1:1] olduğu bulunmuştur. Niozomları stabilize etmede kullanılan yöntemlerden biri de çift tabakaya yük verici madde eklenmesidir. Disetilfosfat (DCP) ve fosfatidik asit negatif yük verici moleküller olarak, stearilamin ve setilpridinyum klorür de pozitif yük verici moleküller olarak bilinirler (Şekil 1.2.) ve bu maddeler esas olarak niozomların agregasyonunun önlenmesi için kullanılmaktadır. Normal olarak niozomal formülasyona yüklü molekül % 2,5-5 mol oranında eklenmektedir, çünkü yüklü maddelerin yüksek konsantrasyonu niozomların oluşumunu engelleyebilmektedir (Junyaprasert ve ark., 2008).



Şekil 1.2. Niozom yapısı ve niozomal vezikülü oluşturan maddeler (A: Noniyonik yüzey etkin maddeler, B: Kolesterol, C: Yük verici maddeler).

Geliştirilmekte olan ve pazarda bulunan çoğu etkin maddenin suda düşük çözünürlükleri nedeniyle biyoyararlanım problemleri vardır. Bu tip etkin maddelerin niozomlar içine yüklenmesi ile bu problemin üstesinden gelinebilir. Niozomlar ozmotik olarak aktif sistemlerdir ve içlerine yüklenen etkin maddelerin stabilitesini arttırmırlar. Yüzey etkin maddelerin taşınması ve depolanması herhangi bir özel durum gerektirmemektedir. Niozomların hidrofilik ve hidrofobik içerikleri beraber bulunduran bir iç yapıları vardır ve bu özelliklerinin sonucu olarak niozomlar çok geniş aralıkta çözünürlüğe sahip olan etkin maddeleri enkapsüle edebilirler (Solanki ve ark., 2008).

Teorik olarak niozom oluşumu özel bir amfifil sınıfının ve sulu bir çözücünün olmasını gerektirir. Bu amfifiller hidrofilik bir baş gruba ve hidrofobik bir kuyruğa sahiptir. Hidrofobik kısım bir veya iki alkil veya perfloroalkil gruplarından oluşabilir ya da özel durumlarda tek bir steroidal gruptan oluşabilir. Alkil grubunun zincir uzunluğu genellikle karbon zinciri cinsinden 12 ile 18 arasında değişmektedir (C_{12} - C_{18}). Moleküller bir, iki veya üç adet alkil zinciri içerebilirler. Vezikül oluşturan perfloroalkil yüzey etkin maddelerinde karbon zinciri cinsinden zincir uzunluğu 10 gibi düşük sayılarda olabilmektedir (C_{10}). Bunlara ek olarak kron eter amfifilleri olan steroidal C_{14} ve C_{16} alkil uzunluğundaki hidrofobik birimlerin vezikül oluşturdıkları gözlenmiştir. Vezikül oluşturan yüzey etkin maddelerde hidrofobik kuyruk kısmına nazaran daha fazla çeşitte hidrofilik baş grup bulunmaktadır. Molekölün bu iki kısmı eter, amid veya ester bağları ile birbirlerine bağlanmaktadır (Uchegbu, I.F., Vyas, S.P.,1998).

Hidrofilik lipofilik balans (HLB), herhangi bir yüzey etkin maddenin vezikül oluşturabilme yeteneğini gösteren iyi bir parametredir. HLB değerleri 4 ile 8 arasında değişen ve lipofilik olan sorbitan monostearat (Span) yüzey etkin maddelerinin vezikül oluşumuna uygun olduğu bulunmuştur. Suda çözünen polisorbitat 20 yüzey etkin maddesi de kolesterol varlığında vezikül oluşturabilmektedir. İlk bakışta polisorbitat 20'nin HLB değeri 16,7 olduğu için yani vezikül oluşturabilmek için çok hidrofilik bir yüzey etkin madde olduğu için vezikül oluşturamayacağı düşünülebilir,

fakat uygun miktarda kolesterol ilavesiyle polisorbat 20 de vezikül oluşturabilmektedir (Uchegbu, I.F., Vyas, S.P.,1998).

1.3.2.2.Niozomlarda Geometrik Özellikler

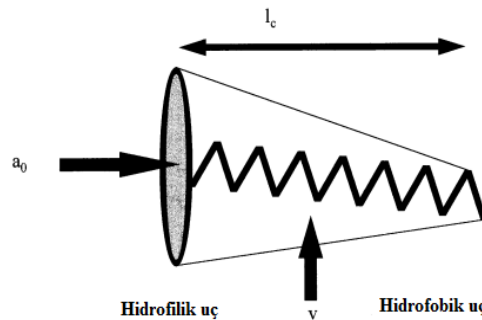
Amfifillerin vezikül oluşturabilme yeteneklerinin tahmininde sadece HLB değerlerinin gözönüne alınması yeterli olmamaktadır, yüzey etkin maddelerin kimyasal yapısı ve çeşitli birçok faktör için içine girmektedir. Yüzey etkin maddelerin kendiliğinden vezikül oluşturabilmeleri için gerekli olan parametreler Israelachvili tarafından tanımlanmıştır; Israelachvili kritik yerleşme parametresini (CPP) tanımlamıştır (Uchegbu, I.F., Vyas, S.P.,1998).

$$CPP = \frac{V}{l_c \times a_0} \text{ (Eşitlik 1.1.)}$$

V hidrofobik grup hacmini, **l_c** kritik hidrofobik grup uzunluğunu, **a₀** ise hidrofilik baş grubun alanını ifade etmektedir (Şekil 1.3).

- 0,5 < CPP < 1 → Yüzey etkin madde vezikül oluşturabilmektedir.
- 0,5 > CPP → Yüzey etkin madde küresel misel oluşturma eğilimindedir.
- CPP > 1 → Yüzey etkin madde ters misel oluşturma eğilimindedir.

Yani yüzey etkin madde yapısında hidrofilik kısım ağırlıkta ise küresel miseller oluşmakta, hirofobik kısımlar ağırlıkta ise ters miseller oluşmaktadır.

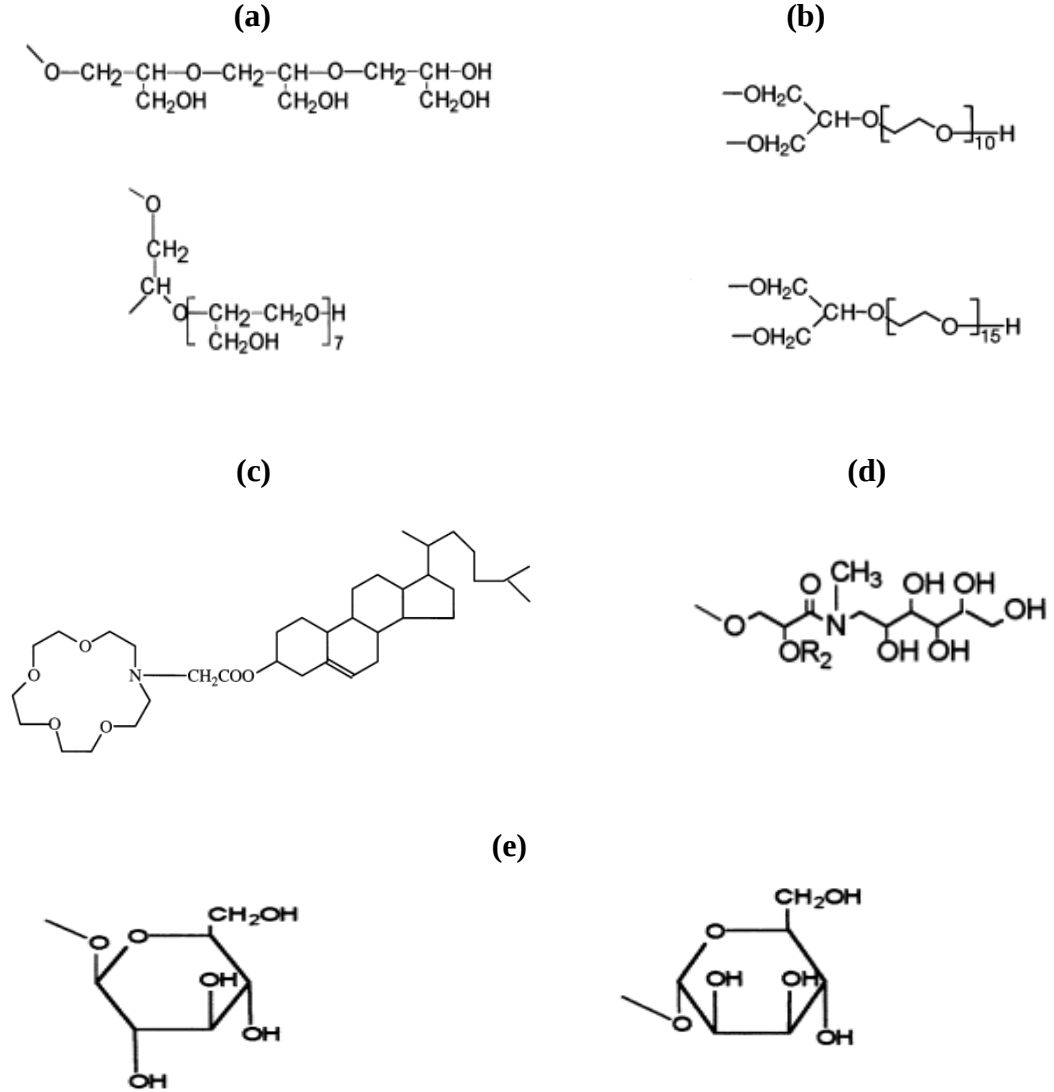


Şekil 1.3. Yüzey etkin madde yapısının şematik gösterimi (Uchegbu, I.F., Vyas, S.P.,1998).

1.3.2.3.Niozomların Hazırlanması

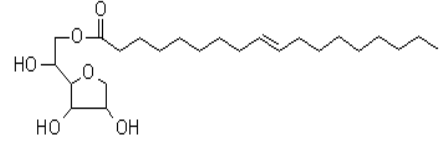
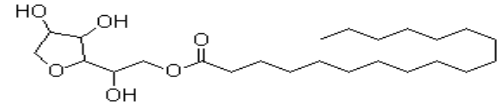
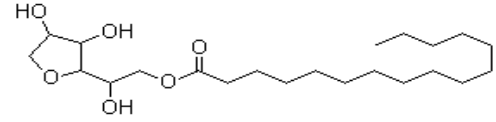
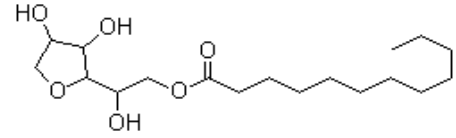
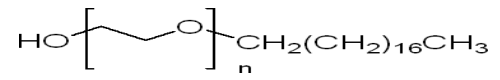
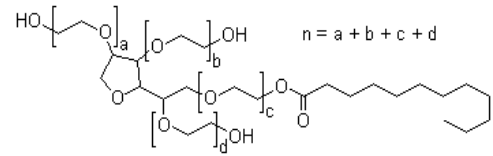
Niozomlar hidrofilik baş grupları gliserol, etilen oksit, kron eter, polihidroksi veya şeker olabilen yüzey etkin maddelerden ve noniyonik yüzey etkin maddelerden oluşabilmektedir. Çizelge 1.1.'de niozom oluşturan çeşitli yüzey etkin maddelerin formülleri verilmektedir.

Çizelge 1.1. Vezikül hazırlamada kullanılan yüzey etkin madde örnekleri ((a) Gliserol baş gruplu yüzey etkin maddeler, (b) Etilen oksit baş gruplu yüzey etkin maddeler, (c) Kron eter baş gruplu yüzey etkin maddeler, (d) Polihidroksi baş gruplu yüzey etkin maddeler, (e) Şeker baş gruplu yüzey etkin maddeler, (f) Noniyonik yüzey etkin maddeler) (Uchegbu, I.F., Vyas, S.P.,1998).



Çizelge 1.1.'in devamı

(f)

Noniyonik yüzey etkin maddeFormül**Span 80:** Sorbitan monooleat**Span 60:** Sorbitan monostearat**Span 40:** Sorbitan monopalmitat**Span 20:** Sorbitan monolaurat**Brij 72:** Polioksietilen (2)
stearyl eter [n: 2]**Tween 20:** Polioksietilen
sorbitan monolaurat

Niozom hazırlama yöntemi niozomun kullanımına uygun olacak şekilde seçilmelidir; çünkü hazırlama yöntemi niozomun çifte tabaka sayısını, büyüklüğünü, büyüklük dağılımını, etkin madde yükleme etkinliğini ve vezikülün membran permeabilitesini etkileyebilmektedir. Başlıca niozom hazırlama yöntemleri şunlardır (Arora,R., Jain,C.P., 2007):

Eter Enjeksiyon Yöntemi: Yüzey etkin madde/kolesterol karışımı dietil eterde çözülür ve bir enjektör yardımıyla yavaşça 60 °C'deki sulu faza enjekte edilir. Eterin buharlaşması sırasında LUV (büyük tek tabakalı veziküller) tipi veziküller elde edilir (Şekil 1.4). Az miktarda da olsa eterin veziküler süspansiyonda kalma ihtimalinin olması ve sistemden uzaklaştırılmasının oldukça zor olması bu yöntemin dezavantajlarıdır.

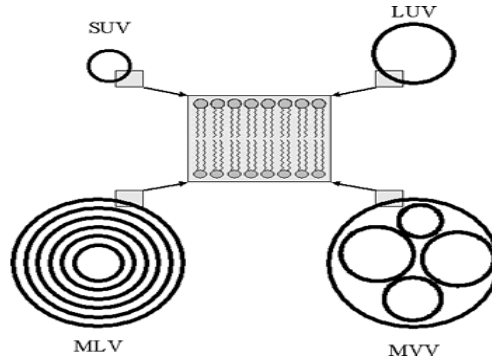
Elle Çalkalama (Film) Yöntemi: Yüzey etkin madde/kolesterol karışımı yuvarlak altlı balon içinde dietil eterde çözülür ve organik çözücü oda sıcaklığında, alçak basınçta uzaklaştırılır. Kuru yüzey etkin madde filmi, 50-60 °C'deki sulu faz ile yavaşça çalkalanarak hidrate edilir. Büyük MLV (çok tabakalı veziküller) tipi veziküller elde edilir.

Sonikasyon Yöntemi: Cam bir flakondaki yüzey etkin madde / kolesterol karışımına sulu faz eklenir. Karışım çubuk tipi sonikatörle belli süre karıştırılır. Elde edilen veziküller küçük tek tabakalı (SUV) ve tekdüze halde veziküllerdir (Şekil 1.4). Bu yolla elde edilen niozomlar, lipozomlardan daha büyük olup büyüklükleri 100 nm'nin altına inmez.

Handjani-Vila ve ark.'nın Yöntemi: Eşdeğer miktardaki lipid (veya lipid karışımı) etkin maddenin sulu çözeltisiyle karıştırılır ve homojen lamellar film elde etmek için çalkalanır. Elde edilen karışım, kontrollü bir sıcaklıkta çalkalanarak veya ultrasantrifüj işlemi ile homojenize edilir.

Ters Faz Buharlaştırma Yöntemi (REV): Lipidler kloroformda ve ¼ hacim fosfat tamponlu tuz çözeltisinde (PBS) çözülür. Karışıma sonikasyon uygulanır ve karışım alçak basınçta buharlaştırılır. Lipidler bir jel oluşturur ve bu jel sonraki aşamada

hidrate edilir. Hidratasyon işlemi tamamlanana kadar buharlaştırma işlemine devam edilir.



Şekil 1.4. Çift tabakadan çeşitli yapı ve büyüklükteki veziküllerin oluşumu. (SUV: Küçük tek tabakalı vezikül, LUV: Büyük tek tabakalı vezikül, MLV: Çok tabakalı vezikül, MVV: Çok veziküllü vezikül).

Alternatif Yöntemler: Polioksietilen alkil eter ve kolesterolden oluşan veziküllerin çift tabakalarının sayısı ve büyüklükleri alternatif bir yol ile değiştirilebilir. 60°C üzerindeki sıcaklık artışı küçük tek tabakalı vezikülleri büyük tek tabakalı veziküllere dönüştürmektedir ($> 1\mu\text{m}$); oda sıcaklığında kuvvetlice çalkalama işlemi ise tam olarak ters etki gösterir yani çok tabakalı vezikülleri tek tabakalı veziküllere dönüştürür (Şekil 1.4). Yüksek sıcaklıkta tek tabakalı veziküllerin çok tabakalı veziküllere dönüşmesi polioksietilen alkil eter yüzey etkin maddelerinin özelliklerindendir; çünkü polietilen glikol (PEG) ve su molekülleri arasındaki hidrojen bağlarının kırılması nedeniyle karışma işlemi yüksek sıcaklıkta olmaktadır.

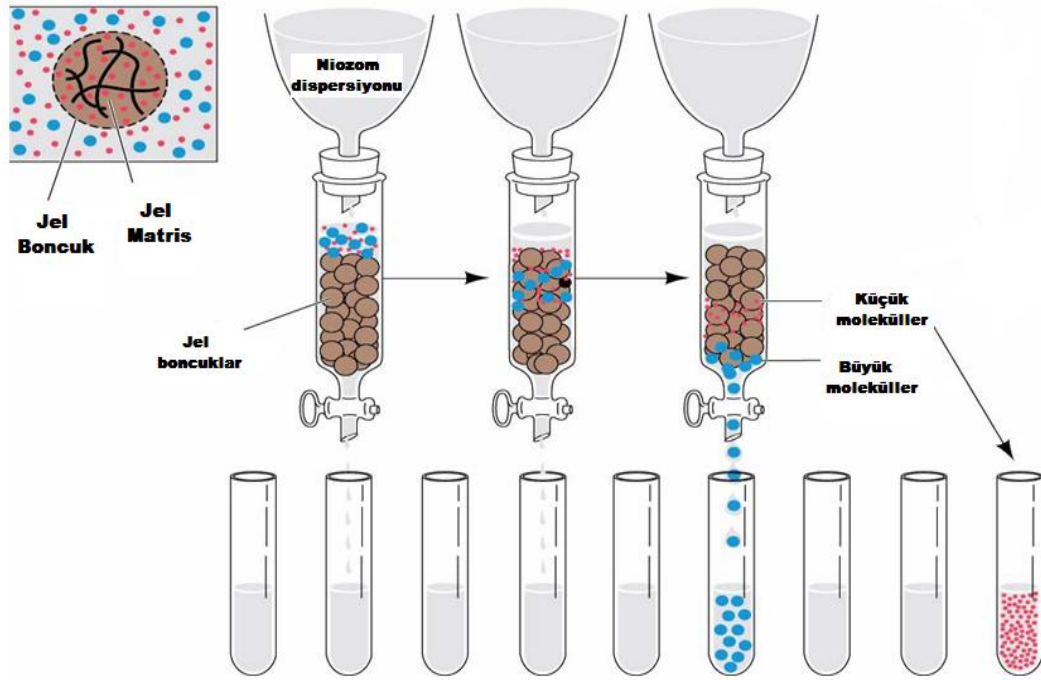
1.3.2.4. Niozomların Etkin Madde Yükleme Etkinliği

Veziküler sistem içine etkin maddenin yüklenme etkinliğinin hesaplanması için önce çeşitli yöntemlerle veziküler sistem içine yüklenemeyen etkin maddenin (serbest etkin maddenin) ayrılıp analiz edilmesi gerekmektedir (Uchegbu, I.F., Vyas, S.P.,1998). Serbest etkin maddeyi tayin etmek için kullanılan yöntemler:

- Jel filtrasyon yöntemi
- Diyaliz yöntemi
- Ultrasantrifüj yöntemi

a. Jel Filtrasyon Yöntemi :

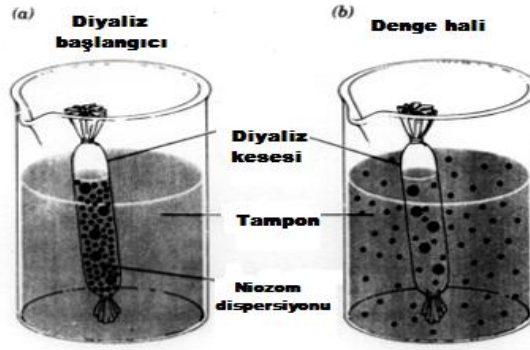
Bu yöntemde sephadex kolonlar kullanılmaktadır. Jel filtrasyon yönteminde üstten kolonlara gönderilen niozomal dispersiyondan ayırım yapılmaktadır. Önce büyük moleküller, sonra küçük moleküller elde edilmektedir. Sonuç olarak alttaki tüplerde elde edilen bulanık sıvı niozomal dispersiyon içine yüklenen etkin maddeyi, berrak sıvı ise veziküler sisteme yüklenemeyen serbest etkin maddeyi içermektedir. Berrak sıvıdan yapılan analizlerle serbest etkin madde miktarı saptanmaktadır (Şekil 1.5.).



Şekil 1.5. Jel filtrasyon yönteminin şematik gösterimi.

b. Diyaliz Yöntemi :

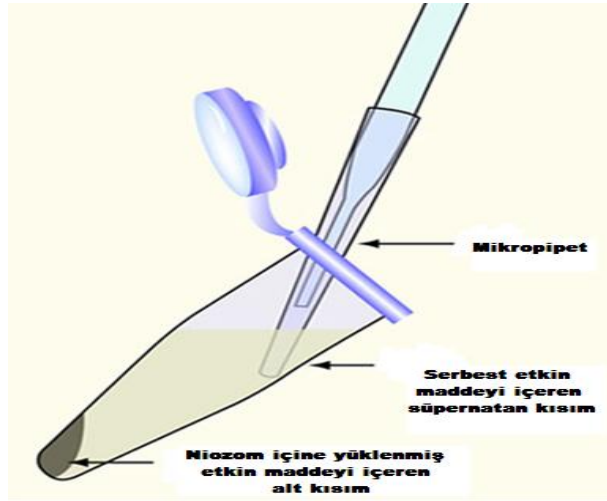
Diyaliz yönteminde etkin madde içeren niozomal dispersiyon diyaliz kesesine konulmaktadır ve uygun bir tampon ortamı ile diyaliz işlemine başlanmaktadır. Belli bir zaman sonra denge hali oluşmaktadır ve diyaliz kesesi içindeki bulanık sıvı niozomal dispersiyon içine yüklenmiş olan etkin maddeyi içerirken, diyaliz kesesi dışındaki berrak sıvı serbest etkin maddeyi içeren sıvıdır. Bu berrak sıvıdan uygun yöntemlerle analizler yapılır ve serbest etkin madde miktarı saptanır (Şekil 1.6.).



Şekil 1.6. Diyaliz yönteminin şematik gösterimi.

c. Ultrasantrifüj Yöntemi :

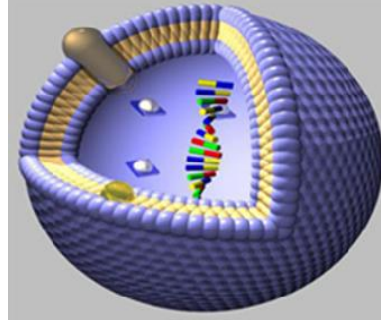
Ultrasantrifüj işleminde niozomal dispersiyonlar yüksek devirde (40.000-45.000 rpm) 4°C’de 1 saat süreyle santrifüj işlemine tabi tutulmaktadır. Ultrasantrifüj sonrası süpernatant kısım serbest etkin maddeyi içermektedir. Alt kısım olan presipitat kısmı ise etkin madde yüklenmiş olan niozom veziküllerini içermektedir. Serbest etkin maddeyi içeren süpernatant kısımda uygun bir analitik yöntemle serbest etkin madde miktarı saptanmaktadır (Junyaprasert ve ark., 2008) (Şekil 1.7.).



Şekil 1.7. Ultrasantrifüj sonrası elde edilen süpernatant ve presipitat kısımları.

Yukarıda anlatılan üç değişik yöntemden biriyle serbest etkin madde miktarı tayin edildikten sonra aşağıdaki formül ile (Alsarra ve ark., 2008) veziküler sistem içinde etkin madde (e.m.) yükleme etkinliği (EE) hesaplanmaktadır (Eşitlik 1.2.) (Şekil 1.8.).

$$\%EE = \left[1 - \left(\frac{Serbest(e.m.)}{Total(e.m.)} \right) \right] \times 100 \quad (\text{Eşitlik 1.2.})$$



Şekil 1.8. Niozom içine yüklenmiş olan etkin maddenin ve niozom yapısının şematik gösterimi.

1.3.2.5. Niozomların Stabilitesi

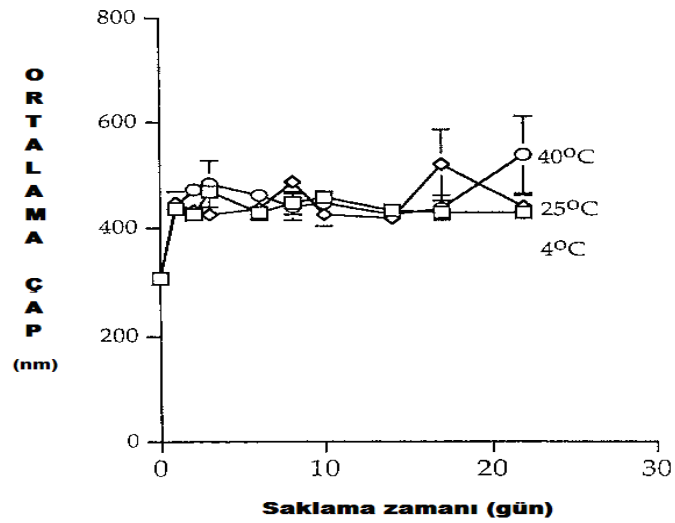
Niozomların stabilitesi incelenirken, öncelikle niozom yapısında bulunan etkin maddenin özellikleri incelenmelidir. Etkin maddenin polimorfizm özelliğinin olup olmaması, nem çekici özelliğinin olup olmaması, pH değerlerinden etkilenip etkilenmemesi, hidrofilik mi lipofilik mi yoksa amfifilik mi olduğu, sıcaktan ve ışıktan etkilenip etkilenmediği, impüritelerinin neler olduğu ve hangi şartlarda ortaya çıktığı, vb. özelliklerinin bilinmesi gerekmektedir. Ayrıca etkin maddenin niozom yapısında bulunan kolesterol, noniyonik yüzey etkin madde ve yük verici madde ile geçimli olup olmadığı da önem taşımaktadır.

Niozomal sistemler, dispers sistemlerdir ve ortamda sıvı bulunduğu için çeşitli stabilite sorunları ortaya çıkmaktadır. Niozomların stabiliteleri incelenirken yapılan testlerde şu özellikler incelenmektedir: Vezikül büyüklüğü, polidispersite indeksi, veziküler yapı içine etkin madde yükleme etkinliği, zeta potansiyeli ve dış görünüş.

1.3.2.5.1. Niozomlarda Zamanla Vezikül Büyüklüğündeki Değişimler

Niozomlarda zamanla görülen en önemli değişimlerden biri vezikül büyüklüğünde olan değişimdir. Zamanla veziküllerin büyüklüğü artmaktadır; bu artışın veziküllerin sedimentasyonu, agregasyonu ve füzyonundan kaynaklandığı belirtilmektedir (Varshosaz ve ark., 2005; Elbary ve ark., 2008; Junyaprasert ve ark., 2008).

Mullen ve ark. (Uchegbu, 2000, Bölüm 6) leşmanyoz hastalığının tedavisinde kullanılan sodyum stiboglukonat etkin maddesini yüzey etkin madde olarak poligliserol stearatların kullanıldığı niozomların içine yüklemişler ve süspansiyon formunda hazırlamışlardır. Yaptıkları incelemelerde vezikülleri 4 °C, 25°C ve 40°C’de 1 ay süreyle ağzı kapalı flakonlarda karanlık ortamda saklamışlardır. Bu araştırmacılar da zamanla veziküllerin agregat oluşturduğunu ve vezikül büyüklüğünün özellikle 40 °C’de artış gösterdiğini saptamışlardır (Şekil 1.9.).



Şekil 1.9. Hazırlanan niozomların çeşitli sıcaklıklarda 1 ay süreyle tutulmaları sonucunda ortalama vezikül çaplarında oluşan değişimler (Uchegbu, 2000, Bölüm 6).

Yapılan çalışmalardan niozomların 2-8 °C’de saklanmalarının uygun olduğu anlaşılmaktadır; yüksek sıcaklıklarda ise zamanla vezikül büyüklüğündeki artış daha fazla olmaktadır.

1.3.2.5.2. Niozomlarda Polidispersite İndeksi (PDI) ve Zamanla Değişimi

Polidispersite indeksi vezikül büyüklüğü dağılımının yaygınlığının bir ölçütüdür; yani niozomal sistemdeki veziküllerinin büyüklük dağılımlarının homojen olup olmadığını gösteren bir indekstir (Eşitlik 1.3.) (Chew, N., Chan, H.K., 2002).

$$PDI = \frac{[d_{av}(V, \%90) - d_{av}(V, \%10)]}{d_{av}(V, \%50)} \quad (\text{Eşitlik 1.3.})$$

$d_{av}(V, \%90)$: Niozomal dispersiyonun kümülatif hacim olarak % 90'ının ortalama partikül büyüklüğü.

$d_{av}(V, \%10)$: Niozomal dispersiyonun kümülatif hacim olarak % 10'unun ortalama partikül büyüklüğü.

$d_{av}(V, \%50)$: Niozomal dispersiyonun kümülatif hacim olarak % 50'sinin ortalama partikül büyüklüğü.

Polidispersite indeksi olabildiğince küçük olmalıdır; ne kadar küçük bir değerde olursa partikül büyüklüğü dağılımı o kadar homojen olmaktadır (Chew, N., Chan, H.K., 2002). Polidispersite indeksinin 1 olması, partikül büyüklüğü dağılımında varyasyonun çok olduğunu ifade etmektedir; 0 olması ise herhangi bir varyasyonun olmadığını göstermektedir (Nasr, M., 2010). Stabilite açısından zamanla bazı partiküller agregat oluşturdıklarından polidispersite indeksi zamanla değişmektedir. Formülasyon tasarımında bu değişimin minimum değerde tutulmasına çalışılması gerekmektedir.

1.3.2.5.3. Etkin Madde Yükleme Etkinliğinin Zamanla Değişimi

Stabilite açısından veziküllerin etkin madde yükleme etkinliklerindeki değişim önem taşımaktadır. Çünkü zamanla veziküllerin etkin madde yükleme etkinlikleri azalmaktadır. Bu da ilacın raf ömrü boyunca ve hasta ilacı kullanıncaya kadar geçecek olan sürede etkinliğinin azalacağını bir göstergesidir. Niozomal sistemlerdeki etkin madde yükleme etkinliğindeki azalma dispers sistemler içindeki

dispersiyon ortamı olan sıvıdan (genellikle sudan) kaynaklanmaktadır. Etkin maddenin niozomal sistemlerden dış ortama sızarak vezikül içinde miktarının azalmasında, saklama sıcaklığı da önemli rol oynamaktadır.

Varshosaz ve ark. (2003) antidiyabetik olan insülin ile 4 °C’de yaptıkları çalışmada, zamanla süspansiyon formundaki çeşitli sorbitan esterleri kullanılarak hazırlanan veziküllerin etkin madde yükleme etkinliğinde ciddi düşüş olduğunu saptamışlardır (Çizelge 1.2.).

Çizelge 1.2. 4 °C’de 2 ay boyunca saklanan niozomların insülin yükleme etkinliklerinde zamanla görülen değişim (Varshosaz ve ark., 2003).

Formülasyonlar	Etkin madde yükleme etkinliği (%) $\pm$ Standart Sapma		
	0 ay	1 ay	2 ay
F1 (Span 20)	30,37 $\pm$ 6,13	21,29 $\pm$ 6,78	10,33 $\pm$ 9,45
F2 (Span 40)	38,68 $\pm$ 2,15	30,00 $\pm$ 9,21	25,63 $\pm$ 17,66
F3 (Span 60)	39,35 $\pm$ 2,34	33,12 $\pm$ 2,65	27,40 $\pm$ 6,34
F4 (Span 80)	37,51 $\pm$ 7,16	21,20 $\pm$ 5,22	8,03 $\pm$ 3,39

Elbary ve ark. (2008) da, kromolin sodyum etkin maddesi ile yaptıkları çalışmada 2-8 °C’de 90 gün süreyle saklanmaları sonucu, zamanla niozomal veziküllerin etkin madde yükleme etkinliğinde % 10,81 oranında bir azalma saptamışlardır. Aynı etkin maddeyi proniozomlar içine yüklediklerinde ise 90 gün sonunda veziküllerin etkin madde yükleme etkinliğinin % 4,59 oranında azaldığını saptamışlardır ve klasik niozomal sistemlere göre daha iyi fiziksel stabiliteye sahip oldukları için proniozomların kullanılmasını önermişlerdir.

Gupta ve ark. (2007), antihipertansif bir ajan olan kaptopril ile yaptıkları çalışmada zamanla veziküler sistem içinde kalan etkin madde yüzdeleri incelemişlerdir. Kaptopril içeren niozomları buzdolabı sıcaklığında (2 °C – 8 °C), oda sıcaklığında (25 $\pm$ 2 °C) ve etüvde (45 $\pm$ 2 °C) 4 hafta boyunca saklamışlardır. Zamanla niozomlar içinde kalan etkin madde yüzdeleri kıyasladıklarında, 4 hafta sonunda en çok etkin madde yüzdesini buzdolabı sıcaklığında saklanan niozomlarda saptamışlardır.

M. Nasr ve ark. (2008), NSAİD (nonsteroidal antienflamatuvar) olan aseklofenak etkin maddesi ile lipozom ve niozomlar arasında karşılaştırmalı bir çalışma yapmışlardır. 90 gün boyunca aseklofenak yüklü lipozom ve niozomları buzdolabı sıcaklığı olan 2°C – 8°C’de saklamışlardır. Bu araştırmacılar ayrıca veziküler sistemlerin stabilitesi üzerinde formülasyonda yer alan kolesterolün molar oranının etkisini de incelemişlerdir. Buldukları sonuçlara göre 90 gün sonunda kalan etkin madde yüzdeleri kıyasladıklarında, niozomların lipozomlardan çok daha stabil sistemler olduğunu saptamışlardır. Ayrıca kolesterolün formülasyondaki diğer maddelere molar oranı belli bir değere yükseltildiğinde, 90 gün sonunda daha yüksek miktarda etkin maddenin veziküler sistem içinde kaldığını saptamışlardır. Yani kolesterolün uygun oranlarda kullanıldığında veziküler yapıyı stabilize eden bir madde olduğunu saptamışlardır.

Ruckmani ve ark. (2000), meningeal lösemide kullanılan ve miyelosupresan bir etkin madde olan sitarabin HCl ile yaptıkları çalışmada, hidrofilik ve lipofilik karakterde olan çeşitli yüzey etkin maddeler kullanarak oluşturdukları formülasyonlarda 30 gün sonunda kalan etkin madde miktarını incelemişlerdir. Bu araştırmacılar da niozomal dispersiyonların saklanma sıcaklıklarının buzdolabı sıcaklığı olması gerektiğini saptamışlardır (Çizelge 1.3.).

Çizelge 1.3. Hidrofilik ve lipofilik karakterde olan çeşitli yüzey etkin maddelerle hazırlanan niozomlarda 30 gün sonunda kalan sitarabin HCl yüzdelerinin gösterimi (Ruckmani ve ark., 2000).

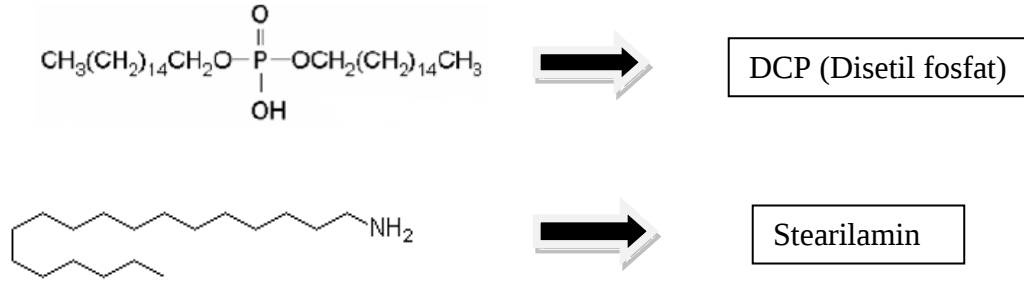
30 gün sonra kalan etkin madde yüzdesi			
	4°C	RT	37°C
Span 60	90.40	68.08	36.21
Span 80	89.60	80.25	40.29
Tween 20	82.47	76.48	59.22
Tween 80	90.03	81.91	45.01

RT = Oda sıcaklığı, 27°C ± 2°C.

Yapılan çalışmalar saklama sırasında etkin madde yükleme etkinliğinin değişimi açısından niozom formülasyonlarının bileşiminin ve saklama sıcaklığının önemini göstermektedir.

1.3.2.5.4. Niozomların Zeta Potansiyeli ve Zamanla Değişimi

Niozom formülasyonlarında veziküler yapıyı stabilize etmek için çeşitli yük verici maddeler kullanılmaktadır. Genelde negatif yük verici olarak DCP (disetil fosfat), pozitif yük verici olarak da stearilamin kullanılmaktadır (Şekil 1.10.).



Şekil 1.10. Niozom yapısında yük verici olarak kullanılan maddelerin molekül formülleri.

Yük verici bu maddeler, veziküller arasında elektrostatik kuvvet oluşturarak bu yapıları stabilize etmekte ve agregasyonu önlemektedir. Niozomların zeta potansiyel değerleri de hem oluşturulmaları ve hem de saklanmaları sırasında ölçülmesi gereken bir parametredir (Junyaprasert ve ark., 2008).

1.3.2.5.5. Niozom Dispersiyonlarında Zamanla Dış Görünüş Değişimi

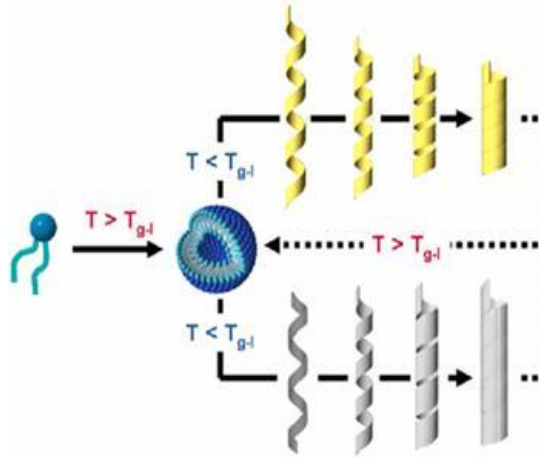
Niozomal sistemler sıvı dispers sistemler oldukları için zamanla faz ayrışması ya da renklenme gibi dış görünüş değişiklikleri gözlemlenebilmektedir.

Lesieur ve ark. (Uchegbu, 2000, Bölüm 4), oktil glikozid ile yaptıkları formülasyon çalışmalarında niozomal dispersiyonlarda bir faz ayrışması gözlemlemişlerdir. Faz ayrışmasının nedeni olarak da kolesterol ile formülasyonda kullandıkları noniyonik yüzey etkin maddeler olan monoalkil digliserol türevleri arasında fiziksel bir geçimsizlik olmasını ileri sürmüşlerdir.

1.3.2.6. Niozomlarda Camsı Geçiş Sıcaklığının (T_c) Önemi

Niozom formülasyonlarında kullanılan sürfaktanların camsı geçiş sıcaklıkları, veziküller oluşturulurken kullanılan hidrasyon sıcaklığı için çok önemlidir.

Veziküller oluşturulurken yapıda bulunan sürfaktanların camsı geçiş sıcaklıklarının üstündeki bir sıcaklıkta hidrasyon yapılmalıdır. Aksi takdirde üretim sırasında ya da zamanla veziküler yapı bozunmaya uğrayabilmektedir (Hao ve ark., 2002). Şekil 1.11.'de veziküler sistemin yapısındaki yüzey etkin maddenin camsı geçiş sıcaklığının üzerinde olan bir sıcaklıkta hidrasyon yapıldığında veziküler sistemin oluştuğu, altında olan bir sıcaklıkta hidrasyon yapıldığında ise veziküler yapının bozunmaya uğradığı görülmektedir.



Şekil 1.11. Niozomal veziküllerin oluşumunda hidrasyon sıcaklığının ve kullanılan sürfaktanların camsı geçiş sıcaklıklarının önemi.

1.3.2.7. Niozomların Toksisitesi

Yüzey etkin maddelerin her birinin toksisitesiyle ilgili pek çok çalışma olmasına karşın, niozomların toksisitesiyle ilgili araştırmaların sayısı çok kısıtlıdır. Teorik bilgi olarak ester tipi yüzey etkin maddelerin eter tipi yüzey etkin maddelerden daha toksik olduğu bilinmektedir.

Alkil polioksietilen niozomlarının nazal mukozada siliotoksik etkilerini incelemek için yapılan *in vitro* çalışmalarda, alkil zincir uzunluğu arttığında siliotoksisitenin azaldığı ve polioksietilen zincir uzunluğu arttığında ise siliotoksisitenin arttığı saptanmıştır. Genel olarak zincir uzunluğundaki artış jel sistemden sıvı sisteme geçiş sıcaklığını arttırmaktadır ama polioksietilen zincir uzunluğundaki artış jel sistemden sıvı sisteme geçiş sıcaklığını azaltmaktadır. Bu çalışma sonucu jel durumundaki niozomların sıvı durumundaki niozomlardan daha az siliotoksik oldukları bulunmuştur (Uchegbu, I.F., Vyas, S.P.,1998).

1.3.2.8. Niozomların Terapötik Uygulamaları

i) *Transdermal Niozom Uygulamaları:*

Flurbiprofen, piroksikam, estradiol, levonorgestrol, nimesulid, ditranol, ketokonazol, enoksazin, ketorolak ve benzeri etkin maddelerin vücuda transdermal yolla uygulanabilmeleri için çalışmalar yapılmıştır (Arora, R., Jain, J.P., 2007).

Niozomların transdermal yol ile uygulamada tercih edilmelerinin çeşitli sebepleri vardır (Kaur ve ark., 2007) :

- ✓ Niozomlar içlerine yüklenen etkin maddeleri derinin iç kısımlarından veya üzerinden salan etkin madde taşıyıcı sistemlerdir.
- ✓ Penetrasyon artırıcı özellikleri bulunmaktadır.
- ✓ Dermal olarak aktif olan etkin maddelerin uzatılmış salımları için depo görevi görmektedirler.
- ✓ Sistemik emilimin modülasyonu için sınırlayıcı bir membran özelliği taşırlar ve dolayısıyla kontrollü bir transdermal salım sistemi özelliği gösterirler.

ii) *Parenteral Niozom Uygulamaları:*

Bu yolla uygulamada niozomun yüzey özellikleri, *in vivo* stabilitesi ve vezikül büyüklüğü etkin maddenin vücuttaki dağılımın etkileyen faktörlerdir. Yük verici

madde olarak pozitif yüklü stearilamin içeren iopromid yüklü niozomlar i.v. olarak uygulandıklarında, etkin maddenin böbreklerde biriktiği saptanmıştır (Uchegbu, I.F., Vyas, S.P.,1998).

Doksorubisin, metotreksat, sodyum stiboglukonat, iopromid, diklofenak sodyum, vinkristin, kolşisin, indometazin, rifampisin, zidovudin, sisplatin, kamfotesin ve benzeri etkin maddelerin vücuda i.v. yolla uygulanabilmeleri için çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucu antitümör etkili etkin maddelerin tümör yapısında birikimleri arttırılmıştır ve dolayısıyla antitümör etkinlikleri arttırılmıştır. Antitümör etkili etkin maddelerin yan etkileri azaltılmıştır ve serbest etkin maddeye kıyasla niozom içine yüklendiklerinde serum ve plazmadaki konsantrasyonları önemli derecede arttırılmıştır. Antienflamatuvar etkili etkin maddelerin biyoyararlanımları arttırılmıştır (Arora, R., Jain, J.P., 2007).

iii) *Oftalmik Niozom Uygulamaları:*

Niozomların topikal oküler etkin madde salımında diğer veziküler sistemlere nazaran tercih edilmelerinin çeşitli sebepleri vardır (Kaur ve ark., 2004) :

- ✓ Analogları olan lipozomlarla karşılaştırıldıklarında kimyasal olarak stabil sistemlerdir.
- ✓ Noniyonik yapılarından dolayı toksisiteleri düşüktür.
- ✓ Biyolojik olarak parçalanabilir, biyolojik olarak uyumlu ve immünojenik olmayan sistemlerdir.
- ✓ Etkin maddenin biyoyararlanımını arttırmaktadırlar.

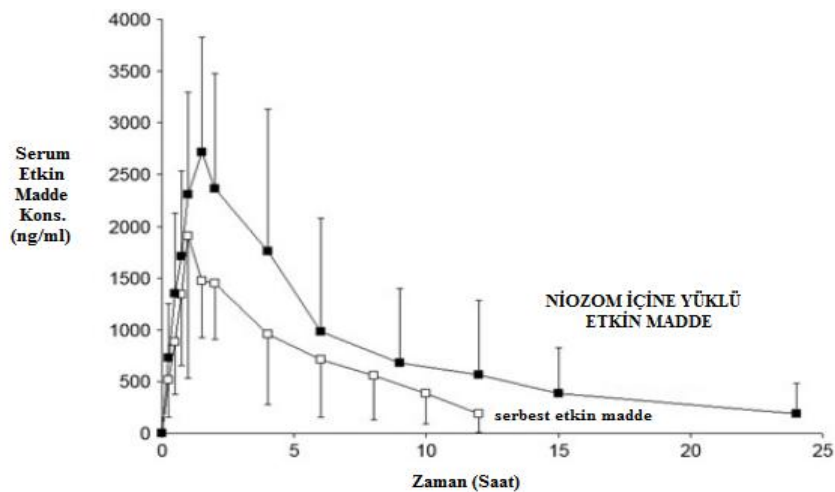
Timolol maleat ve siklopentolat etkin maddelerinin oftalmik niozomal sistemlerinin oluşturulduğu çalışmalar yapılmıştır. Timolol maleat etkin maddesi niozomların içine yüklendiğinde çözeltisine kıyasla oküler biyoyararlanımında 2,48 kat artış saptanmıştır (Kaur ve ark., 2004).

iv) *Nazal Niozom Uygulamaları:*

Sumatriptan etkin maddesi ve influenza viral aşısının nazal yolla uygulanabilmesi için çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Sumatriptan ile yapılan çalışmada, niozomların etkin madde absorpsiyonunu ve vücutta bulunma süresini uzattığı saptanmıştır (Arora, R., Jain, J.P., 2007).

v) *Peroral Niozom Uygulamaları:*

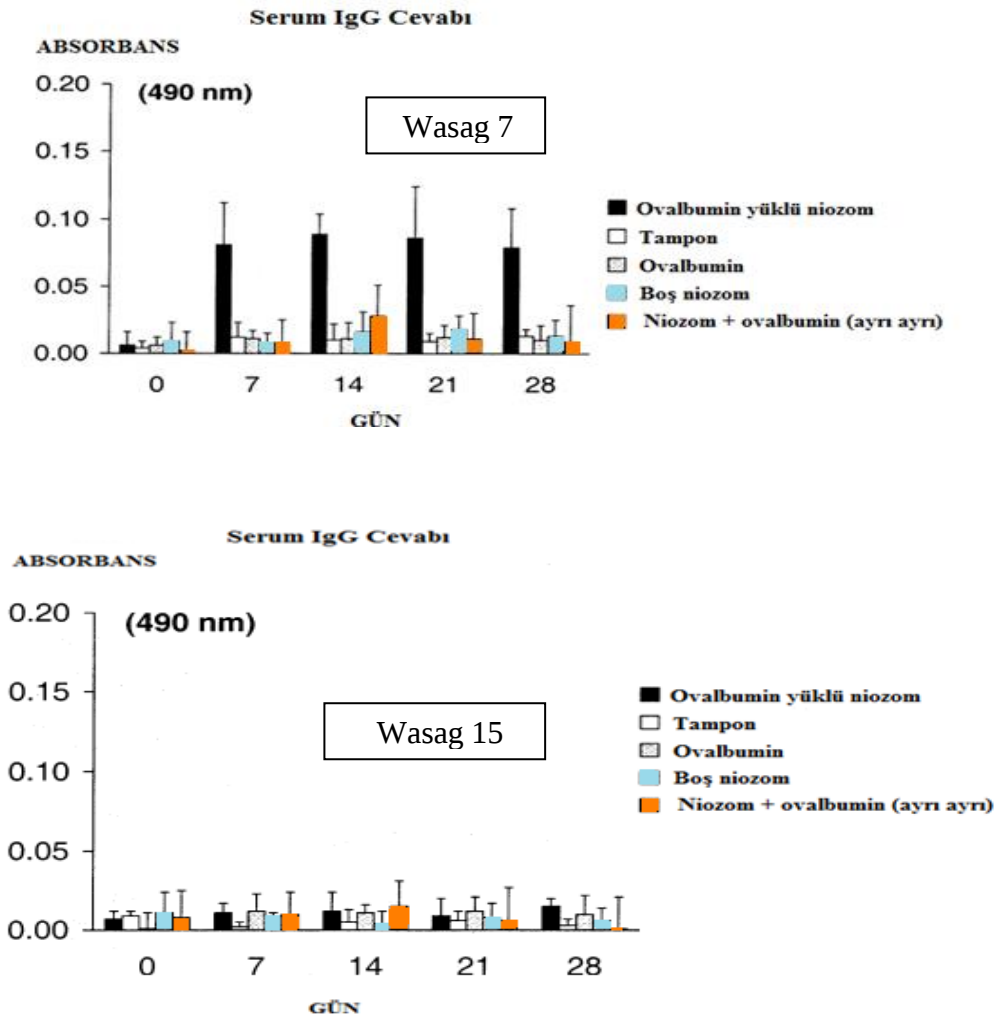
Düşük değerlerde ve değişken bir biyoyararlanıma sahip olan asiklovir etkin maddesi niozomal sistemler içine yüklenmiştir. Niozomlar, film hidrasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. Lipid karışımı molar oranları sırasıyla 65:60:5 olan kolesterol, Span 60 ve disetil fosfattan oluşmaktadır. Niozomların asiklovir yükleme etkinliği % 11 olarak bulunmuştur. *In vivo* çalışmalarda tavşanlara tek bir oral doz olarak 40 mg kg⁻¹ asiklovir uygulandığında, niozomal dispersiyonun asiklovirin oral biyoyararlanımını önemli derecede arttırdığı saptanmıştır. Niozomal dispersiyon içindeki asiklovirin serbest asiklovir çözeltisine göre ortalama bağıl biyoyararlanımı 2,55 olarak saptanmıştır; yani serbest asiklovir çözeltisinin biyoyararlanımı 2 kattan daha fazla arttırılmıştır (Şekil 1.12.) (Attia ve ark., 2007).



Şekil 1.12. Asiklovir yüklü niozomlarda biyoyararlanımın arttığını gösteren serum etkin madde konsantrasyonu-zaman grafiği (Attia ve ark., 2007).

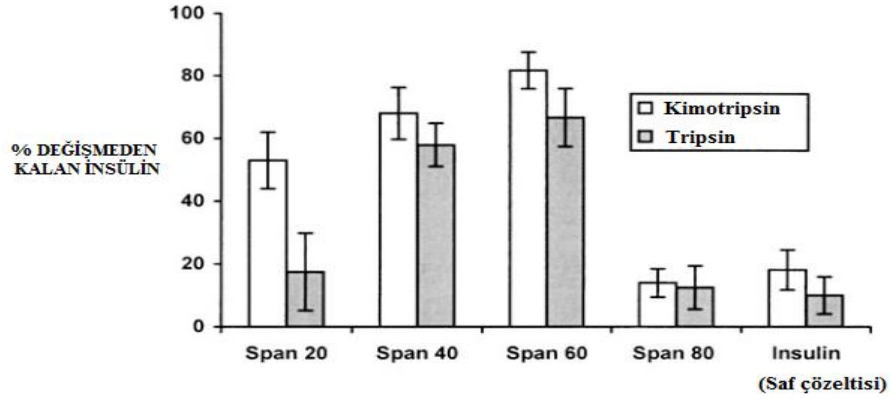
Diğer bir çalışmada BALB/c fareleri kullanılarak niozomal sistemlere etkin madde olarak ovalbumin yüklenerek peroral yolla uygulanacak olan aşı sistemi

geliştirilmiştir. Ovalbumin etkin maddesi sükroz esterleri, kolesterol ve disetil fosfattan oluşan çeşitli liyofilize niozomal sistemlerin içine yüklenmiştir. Bu çalışmada 2 ayrı formülasyon karşılaştırılmıştır. İntragastrik uygulamadan sonra serum, tükürük ve barsaktaki spesifik antikor titreleri ELISA yöntemi ile 7, 14, 21 ve 28. günlerde saptanmıştır. Wasag 7 (%70 stearat sükroz esteri, %30 palmitat sükroz esteri (%40 mono, %60 di-tri ester)) niozomları antikor titrelerinde önemli derecede artış sağlarken; ovalbuminin, boş niozomların veya herhangi bir kontrol formülasyonunun uygulanması, benzer bir etki meydana getirememiştir. Wasag 7 niozomlarının aksine daha hidrofilik olan Wasag 15 (%30 stearat sükroz esteri, %70 palmitat sükroz esteri (%70 mono, %30 di-tri ester)) niozomları araştırıldığında antikor titrelerinde herhangi bir artış görülmemiştir (Şekil1.13.) (Rentel ve ark., 1999).



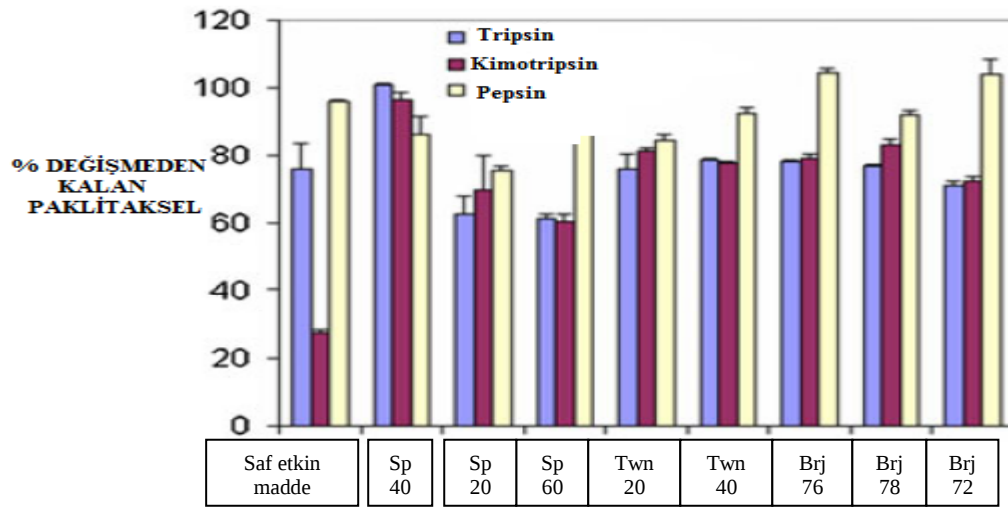
Şekil 1.13. Ovalbumin yüklü peroral aşı sistemi şeklinde olan niozomlarda Wasag 7 ve Wasag 15'in serum immün cevaplarını gösteren grafikler (Rentel ve ark., 1999).

Başka bir çalışmada peroral yol ile kullanılmak üzere peptid yapılı bir etkin madde olan insülin, sorbitan esterlerinden (Span 20, 40, 60 ve 80) hazırlanan niozomların içine yüklenmiştir ve Span 60 ile oluşturulan niozomların insülini proteolitik enzimlerden en çok koruyan niozomlar olduğu saptanmıştır (Şekil 1.14.) (Varshosaz ve ark., 2003).



Şekil 1.14. İnsülin yüklü çeşitli sorbitan esterleriyle hazırlanan niozomlarda proteolitik enzimlere karşı değişmeden kalan insülin miktarını gösteren grafik (Varshosaz ve ark., 2003).

Yapılan bir diğer çalışmada antineoplastik bir ajan olan paklitaksel peroral yolla uygulama için çeşitli yüzey etkin maddelerden (Tween 20, 60; Span 20, 40, 60; Brij 78, 76, 72) oluşan niozomların içine yüklenmiştir. Hazırlanan niozomların paklitaksel yükleme etkinlikleri % 12,1 ile % 96,6 arasında değişim göstermiştir. Paklitakselin niozomlardan difüzyon kontrollü sistem ile yavaşça salındığı bulunmuştur ve bu yavaş salımın toksik etkileri azaltabileceği saptanmıştır. Paklitakselin gastrointestinal enzimlerden (pepsin, tripsin, kimotripsin) korunabilip korunamadığı araştırılmıştır ve en etkin korumanın Span 40 ile hazırlanan niozomlar ile sağlandığı bulunmuştur (Şekil 1.15.) (Bayındır, Z.S., Yüksel, N., 2010).



Şekil 1.15. Paklitaksel yüklü çeşitli sorbitan esterleriyle hazırlanan niozomlarda proteolitik enzimlere karşı değişmeden kalan paklitaksel miktarını gösteren grafik (Sp: Span, Twn: Tween, Brj: Brij) (Bayındır, Z. S., Yüksel, N., 2010).

1.4. Lipozomların ve Niozomların Karşılaştırılması

Hem lipozomlar hem de niozomlar etkin madde taşıyıcı veziküler sistemler içinde yer almaktadır. Bu iki veziküler etkin madde taşıyıcı sistemin hem ortak özellikleri hem de birbirlerine olan bazı üstünlükleri bulunmaktadır.

1.4.1. Lipozomların ve Niozomların Ortak Özellikleri

- İki veziküler sistem de çifte tabakalı sistemdir (Kaur ve ark., 2004).
- İki veziküler sistem de hem hidrofilik hem de lipofilik etkin maddeleri enkapsüle edebilmektedir. Hidrofilik etkin maddeleri sulu merkez veya ara tabakalara, hidrofobik etkin maddeyi ise lipidlerden oluşan vezikül membranına yükleyebilirler (Kaur ve ark., 2004).
- İki veziküler sistemin de fiziksel özellikleri, yapıları ve üretim yöntemleri birbirlerine benzemektedir (Junyaprasert ve ark., 2008).

1.4.2. Niozomların Lipozomlara Üstünlükleri

Lipozomların yapısında bulunan fosfolipid molekülünün hidrolizi stabilite ile ilgili ciddi sorunlar ortaya çıkarmaktadır. Fosfolipidlerin hidrolizi sonucu lizofosfolipidler ve yağ asitleri oluşmaktadır. Fosfolipit molekülünün hidrolizi sonucu oluşan yağ asitleri lipit peroksidasyonuna uğrayabilmektedir. Niozomların lipozomlara olan en önemli üstünlükleri, lipozomların kimyasal stabilite sorunlarının üstesinden gelmeleridir; lipozom yapısındaki fosfolipidler oksidatif bozunmaya uğrayabilmektedir (Bozkır, A., Koçyiğit, S., 1995). (Çizelge 1.4.).

Çizelge 1.4. Lipozomların negatif özellikleri ve niozomların pozitif özellikleri (Dhamecha ve ark, 2009; Kaur ve ark., 2004; Kaur ve ark., 2007).

LİPOZOMLAR (-)	NİOZOMLAR (+)
Pahalı sistemlerdir.	Ucuz sistemlerdir.
Fosfolipidlerin depolanmaları ve işlenmeleri özel koşullar gerektirir.	Yüzey aktif maddeler herhangi bir özel koşul gerektirmemektedir.
Doğal fosfolipidlerin saflıkları değişkendir.	Yüzey aktif maddelerin herhangi bir saflık problemleri bulunmamaktadır.
Fosfolipidler oksidasyon ile bozunmaya uğrayabilmektedir.	Yüzey aktif maddelerde böyle bir bozunma görülmemektedir.

1.5. Proveziküler Etkin Madde Taşıyıcı Sistemler

Etkin madde salımı için uygulanan veziküler sistemlerde genel uygulama açısından önemli bir problem vardır. Disperse edilmiş sulu bir sistemde konvansiyonel veziküllerin hidroliz, oksidasyon, sedimentasyon, agregasyondan kaynaklanan bozulmaya dayalı problemleri veya depolama sırasında füzyona dayalı problemleri vardır. Modifiye edilmiş olan proveziküllerin yapıları ve özellikleri konvansiyonel

veziküler sistemlere benzerdir; ama onlara ek olarak gelişmiş bir stabilite (fiziksel stabilite) sağlarlar.

Prolipozomlar ve proniozomlar proveziküler sistemlerdir. Prolipozomlar ve proniozomlar, yapılarında fosfolipidler, kolesterol ve çeşitli yüzey etkin maddeler taşıyan, su ile hidrate edildiklerinde kendiliğinden lipozomlara veya niozomlara dönüşebilen kuru toz, miseller çözelti ya da jel halindeki formülasyonlardır. Yapı olarak birbirlerine çok benzeyen bu iki formülasyondan proniozomların prolipozomlardan farkı, yapılarında fosfolipidler yerine noniyonik yüzey etkin maddeleri içermesidir. Genel olarak bu etkin madde taşıyıcı sistemler kuru granüler form ve sıvı kristal jel formu olmak üzere 2 farklı tipte formüle edilebilmektedir (Jain, 2007, Bölüm 12):

i) Kuru Granüler Form: Kuru granüler tipteki proniozomlar, sorbitol ya da maltodekstrin gibi suda çözünebilen bir taşıyıcının yüzey etkin madde ile kaplanmasını gerektirir. Kaplama işlemi sonucunda, suda çözünen her partikülün etrafının ince bir yüzey etkin madde tabakasıyla kaplandığı kuru bir formülasyon elde edilir. Sulu fazın, yapıdaki maddelerin camsı geçiş sıcaklıklarından daha yüksek bir sıcaklıkta eklenmesiyle ve çalkalamayla niozomlar yeniden oluşturulur. Formülasyonda kullanılan noniyonik yüzey etkin maddenin camsı geçiş sıcaklığının üzerinde bir sıcaklıkta veziküllerin hazırlanması gerekir.

Kuru filmlerden niozom elde etmede yüzey etkin maddenin başarılı rehidratasyonunda, saf granüler yüzey etkin madde doğrudan hidrate edildiğinde görülen yığınlaşma ve çökme gibi durumları önlemek için film olabildiğince ince olmalıdır. Etkisiz olan rehidratasyon, proniozomlar üzerinde kırılmış olan yüzeylere ve final niozomal üründe/süspansiyonda agregasyonun ya da çökelmenin gözükmesine neden olur.

Taşıyıcının tipine ve kuru granüler proniozom hazırlama yöntemine göre genel olarak iki alt başlıkta incelenirler: Sorbitol tabanlı proniozomlar, maltodekstrin tabanlı proniozomlar.

Sorbitol tabanlı proniozomlar taşıyıcı madde olarak sorbitol içeren kuru formülasyonlardır. Sorbitol, noniyonik yüzey etkin maddeyle kaplanır ve sıcak su eklenmesini takiben çalkalamayla birkaç dakika içinde niozom olarak kullanılır hale gelir. Sorbitol tabanlı proniozomlar genelde organik bir çözücüde hazırlanmış olan yüzey etkin madde karışımının toz halindeki sorbitole püskürtülmesiyle veya birden tüm karışımın sorbitol üzerine dökülmesiyle ve sonra da çözücünün buharlaştırılmasıyla elde edilirler. Taşıyıcı olan sorbitol organik çözücüde çözündüğü için istenen yüzey etkin madde kaplaması elde edilene dek işleme devam edilir. Taşıyıcı üzerindeki yüzey etkin madde tabakası çok incedir ve taşıyıcının çözünmesiyle beraber bu tabakanın hidratasyonu çok lamelli veziküllerin oluşmasına olanak sağlar. Sorbitol tabanlı proniozomların konvansiyonel yöntemle hazırlanan niozomlara çok benzemesi ve büyüklük dağılımının tekdüze olması avantajıdır (Jain, 2007, Bölüm 12).

Maltodekstrin tabanlı proniozomlarda taşıyıcı olarak maltodekstrin kullanılır ve hazırlanmaları için hızlı bulamaç yöntemi kullanılır. Bulamaç yöntemiyle proniozom üretmenin zamanı yüzey etkin madde çözeltisinin taşıyıcıya oranından bağımsızdır. Yüzey etkin madde ve taşıyıcı oranı yüksek olan proniozomlar hazırlanabilir. Bu yöntem endüstri ölçüsüne uygundur. Proniozom üretimindeki bu esneklik, final formülasyonda maltodekstrinin tipine ve miktarına göre etkin maddenin optimizasyonuna olanak sağlar. Böyle bir yöntemle proniozom formülasyonundan niozom elde etmek çok kolaydır. Maltodekstrinin morfolojisi korunduğu halde oyuk ve şişmiş olan maltodekstrinler yüzey alanında önemli bir kazanç sağlamak için kullanılabilirler. Yüksek yüzey alanı, yüzey etkin madde tabakasını inceltir ve böylece rehidratasyon işlemi daha etkili hale getirilmiş olur. (Jain, 2007, Bölüm 12).

ii) Sıvı Kristal Jel Formu: Yüzey etkin madde molekülleri su ile temas halinde olduklarında, yüzey etkin maddenin lipofilik zincirlerinin “liyotrofik sıvı kristal durumu” denen düzensiz, sıvı duruma dönüştürülmesi üç yolla mümkündür:

- 1) Kraft noktasındaki sıcaklığı yükseltmek (T_c).
- 2) Yağları çözen bir çözücü ilavesi.
- 3) Hem sıcaklık hem de çözücünün kullanılması.

Bu liyotrofik sıvı kristal durumu ya da lamel fazı, su ortamında birbirinin üzerine gelecek şekilde düzenlenmiş çift tabakalar içerir. Bu tipteki yapılar tipik x-ışını kırınımı gösterir ve polarize mikroskopta çift kırılan yapıda lifler gözükür.

Üçlü lesitinler için monogliserit gibi yüzey etkin maddeler ve alkol sistemi kullanılır; lamelli sıvı kristaller kraft sıcaklığında alkol varlığında oluşur. Bu lamelli sıvı kristal fazı, yüksek su konsantrasyonlarında niozomal dispersiyonlara çevrilir. Bu yöntem farmasötik olarak uygulanamayan çözücülerini önler ve bu yöntemle ölçümler kolaydır. Bu sistem doğrudan transdermal olarak uygulanmak üzere formüle edilebilir ve üretilen proniozomlar derideki su tarafından hidrasyona uğrayıp niozom şekline dönüşebilirler. Formülasyon deriyle doğrudan temas halindeyse, kendisi bir penetrasyon arttırıcıdır (Jain, 2007, Bölüm 12).

Sıvı kristal proniozomların avantajları şunlardır:

- 1) Daha stabil olmaları,
- 2) Yüksek yükleme kapasiteleri,
- 3) Penetrasyon arttırıcı olmaları,
- 4) Stratum corneum tabakasının membran özelliklerine hiçbir etki göstermemeleri,
- 5) Doğrudan transdermal yolla uygulanabilir olmaları ve vezikül dispersiyonu için polimer bir matrise gerek olmaması.

1.5.1. Proveziküler Sistemlerin Veziküler Sistemlere Üstünlükleri

Konvansiyonel veziküllerle karşılaşılabilir olan sorunlar:

- 1) Disperse edilmiş olan bir sulu sistemde lipozomlar hidrolizle veya oksidasyonla bozunmaya elverişlidir.
- 2) Depolama esnasında veziküllerin sedimentasyonu, agregasyonu, veya füzyonu kontrol altına alınamaz (Solanki ve ark., 2008).
- 3) Sterilizasyon sırasında ve yeniden elde edilemeyen özellikler nedeniyle büyük oranda üretim esnasında zorluklar yaşanır.
- 4) Vezikül içinde yüklenmiş olan etkin maddenin sızıntısı ve hidrolizi dispersiyonun raf ömrünü sınırlandırır.

Sonuç olarak bu veziküler dispersiyonları proveziküller halinde hazırlayarak kuru ya da jel sistemler haline getirmek, veziküler etkin madde salımına yeni bir alan doğurmuştur. Bu sayede ulaşım sırasında, dağıtım sırasında, depolama sırasında ve dozlamada daha fazla olanaklar elde edilmiş olur (Jain, 2007, Bölüm 12).

1.5.2. Proniozomlar

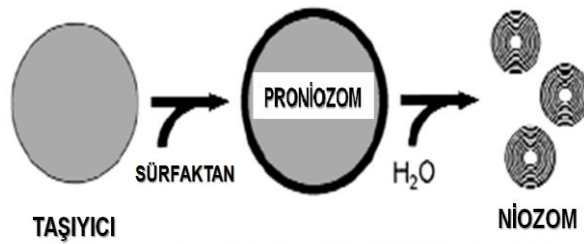
Niozomal sistemlerin özelliklerini etkilemeden stabilize etmek için oluşturulan yaklaşımlar proniozomal sistemlerin gelişmesini sağlamıştır. Lipozomların alternatif ve analogu olan niozomlar lipozomlara göre üstün özellikleri olmasına rağmen (Bkz. Bölüm 1.4.2.), bu sistemler de sıvı dispers sistemler oldukları için depolama sırasında füzyon, agregasyon, sedimentasyon ve etkin madde sızıntısı gibi fiziksel stabilite ile ilgili sorunlar yaratmaktadır.

Proniozomlar yüzey etkin madde ile kaplı olan suda çözünabilir özellikte olan taşıyıcı materyallerin kuru formülasyonlarıdır. Proniozomlar birkaç dakika içinde, sıcak sulu bir ortamda kısa bir çalkalama işlemi ile niozomal dispersiyonlara dönüştürülebilen sistemlerdir. Proniozomlardan oluşan niozomlar konvansiyonel niozomlara çok benzer özellikler taşırlar ve hatta daha tekdüze vezikül büyüklüğüne

sahiptir. Proniozomlar kuru ve serbest akan toz ürünler oldukları için niozomal sistemlerin stabilite ile ilgili sorunlarını önemli derecede azaltırlar; depolama ve sterilizasyon sırasında niozomlara göre daha stabil sitemlerdir. Taşıma, dağıtma, depolama ve ölçüm yapma kolaylığı proniozomları geniş bir etkin madde çeşitliliği ile kullanılabilir kılan sistemler haline getirmiştir (Sankar ve ark., 2010).

Kuru granüler form ve sıvı kristal jel formu olmak üzere iki farklı tipte formüle edilebilen proniozomlardan kuru granüler formda olanlar, peroral yol ile vücuda uygulanabilmeleri için daha uygun görülmektedir.

Kuru granüler formdaki proniozomlar, maltodekstrin ya da sorbitol gibi bir taşıyıcı maddenin, kolesterol ve yük verici maddeler varlığında noniyonik yüzey etkin bir maddeyle muamele edilmesi sonucu oluşan (kaplanması sonucu oluşan) akışkan ve kuru olan tozlardır. Proniozomlar kullanılmadan hemen önce kolayca hidrate edilip niozomal dispersiyon haline getirilebilmektedir (Hu ve Rhodes, 1999) (Şekil 1.16.). Böylece raf ömrü süresince ve hasta ilacı alıp kullanana dek sıvı sistemler olan niozomal dispersiyonlarda, yapılarındaki sıvı nedeniyle oluşabilecek olan stabilite sorunlarının üstesinden gelinmiş olur.



Şekil 1.16. Kuru granüler formda proniozomların eldesinin ve proniozomlardan niozomların eldesinin şematik gösterimi.

Proniozomlar kuru tozlar oldukları için, eğer peroral yolla uygulanacak olan etkin maddeler tedavide kullanılacaksa doğrudan tablet, kapsül ya da boncuk gibi katı dozaj formları haline dönüştürülebilmektedir. Bu sayede de hasta ilacı kullanana dek ilaç hiçbir şekilde sıvı ile etkileşmemiş olur. Katı ilaç şekilleri içinde bulunan

proniozomlar, vücuda alındıktan sonra vücut sıvılarıyla niozomal dispersiyon haline gelebilmektedir.

Niozom yapısında bulunan noniyonik yüzey etkin maddeler, kolesterol, çeşitli yük verici maddeler proniozomların yapısında da bulunmaktadır. Kuru granüler formdaki proniozomların niozomlardan tek farkı, yapısında sorbitol veya maltodekstrin gibi taşıyıcı bir madde içermesidir.

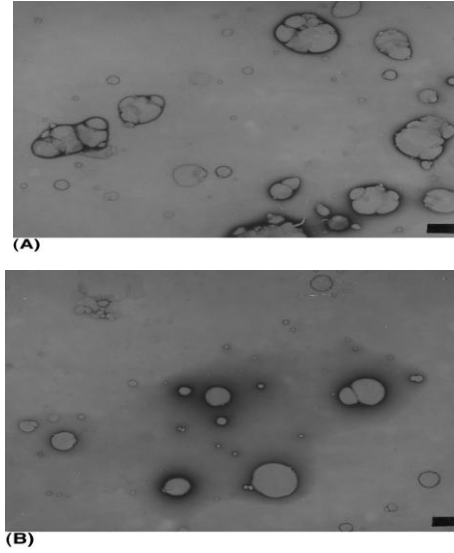
Proniozomlar ile ilgili yapılan bilimsel çalışmalarda kullanılan maddeler şunlardır:

- ✓ Taşıyıcı maddeler: Sükroz stearat (Elbary ve ark., 2008), Sorbitol (Hu ve Rhodes, 1999; Gupta ve ark., 2007), Maltodekstrin (Maltrin M500 ve 700) (Blazek-Welsh ve Rhodes, 2001), Glukoz monohidrat (Elbary ve ark., 2008), Laktoz monohidrat (Elbary ve ark., 2008), Püskürtme ile kurutulmuş laktoz (Elbary ve ark., 2008).
- ✓ Noniyonik yüzey etkin maddeler: Span 20 (Alsarra ve ark., 2008), Span 40 (Fang ve ark., 2001), Span 60 (Blazek-Welsh ve Rhodes, 2001), Span 80 (Gupta ve ark., 2007), Span 85 (Fang ve ark., 2001), Tween 20 (Alsarra ve ark., 2008), Tween 60 (Alsarra ve ark., 2008), Tween 80 (Fang ve ark., 2001).
- ✓ Membran stabilize ediciler: Kolesterol (Solanki ve ark., 2007; Elbary ve ark., 2008), Lesitin (Fang ve ark., 2001; Gupta ve ark., 2007).
- ✓ Yüzey yükü sağlayan maddeler: Disetil fosfat (DCP) (Azeem ve ark., 2008), Stearilamin (Mokhtar ve ark., 2008).

İyi bir taşıyıcı maddenin sahip olması gereken özellikler (Elbary ve ark., 2008):

- ✓ Güvenli olmalıdır.
- ✓ Toksik olmamalıdır.
- ✓ Hidratasyonu kolaylaştırmak için suda iyi çözünmelidir.
- ✓ Organik çözücude ve yüklenen karışım çözeltisinde az çözünmelidir.
- ✓ Rahat akabilmelidir.
- ✓ Hausner indeksi küçük olmalıdır.
- ✓ Şekli küresel ya da küresele yakın olmalıdır.

Elektron mikroskop bulgularına göre, proniozomların hidratasyonu ile elde edilen niozomlar, klasik niozomlara göre daha tekdüze ve daha homojendir (Hu ve Rhodes, 1999) (Şekil 1.17.).

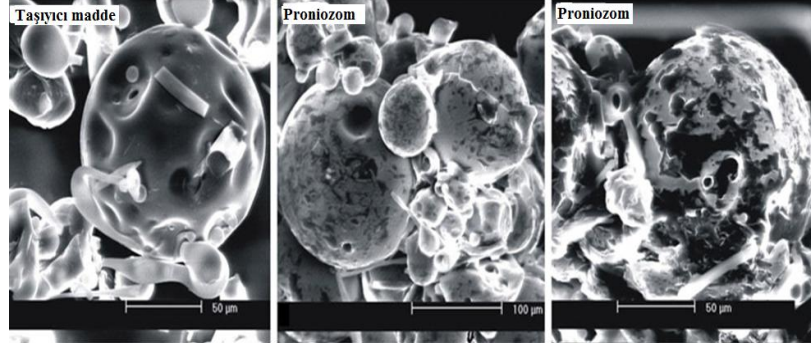


Şekil 1.17. A: Konvansiyonel niozomların, B: Proniozomların hidratasyonu ile elde edilen niozomların optik mikroskop görüntüleri (Hu ve Rhodes, 1999).

Proniozomların morfolojileri, partikül büyüklükleri ve partikül büyüklüğü dağılımları ve *in vitro* mide ya da barsak sıvısı içindeki etkin madde salım performanslarının en az klasik niozomlar kadar iyi olduğu saptanmıştır (Hu ve Rhodes, 1999).

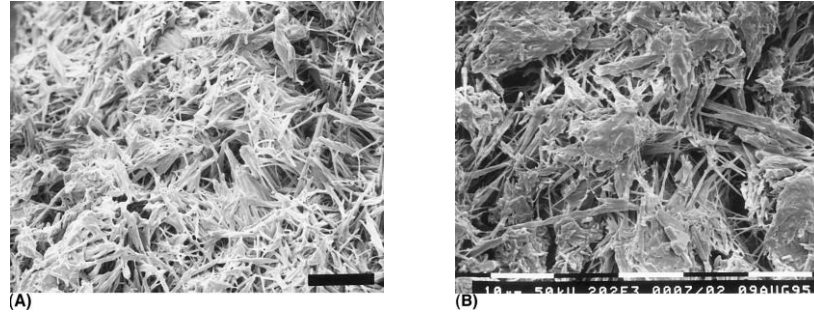
Proniozomlara pek çok ilaç etkin maddesinin yüklenebilmesi mümkündür. Hapsettiği etkin maddenin biyoyararlanımını ve aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir. Proniozomların klinik etkinlikleri gözönüne alındığında ekonomik ve güvenli sistemlerdir; bu sistemler biyolojik olarak toksik ve iritan özellik göstermez. Proniozomların kullanımdan hemen önce hidrate edilmese bile uygulandığı bölgeden su alarak, terle ya da mukozal sıvı ile kendiliğinden niozomlara dönüştükleri tespit edilmiştir.

Solanki ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada taşıyıcı maddenin ve proniozom tozunun yüzey morfolojilerini incelemişlerdir; proniozomların yüzeyinin taşıyıcı maddenin yüzeyinden daha pürüzsüz bir yapıda olduğunu saptamışlardır (Şekil 1.18.).



Şekil 1.18. Taşıyıcı maddenin ve proniozomların tarayıcı elektron mikroskop görüntüleri (Solanki ve ark., 2007).

Hu ve Rhodes (1999) yaptıkları çalışmada taşıyıcı maddenin ve proniozomal tozun yüzey morfolojisini tarayıcı elektron mikroskobu ile incelemişlerdir. Taşıyıcı maddede keskin kenarlı yapılar gibi birçok düzensizlik olduğunu saptamışlardır, proniozomal tozda ise bu düzensizliklerin azaldığını ve yapının daha pürüzsüz hale geldiğini saptamışlardır (Şekil 1.19.).



Şekil 1.19. Taşıyıcı madde ile proniozomal tozun yüzey morfolojilerinin tarayıcı elektron mikroskobu ile karşılaştırılması (Hu ve Rhodes, 1999).

Hu ve Rhodes (1999) yaptıkları çalışmada, taşıyıcı madde olan sorbitolün yığın açısının proniozomal tozdan fazla olduğunu saptamışlardır. Hatta proniozom yapısındaki sorbitol miktarı iki katına çıkarıldığında bile yığın açısı değerinin sade haldeki sorbitolden daha az olduğunu saptamışlardır. Yani proniozomal tozun,

serbest haldeki taşıyıcı maddeden daha iyi akış özelliği gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 1.5.).

Çizelge 1.5. Taşıyıcı madde olan sorbitol tozu ile proniozomal tozların yığın açılarının karşılaştırılması (2x: İki kat sorbitol içeren proniozom) (Hu ve Rhodes 1999).

	Yığın Açısı $\pm$ S.S.*
Sorbitol	43,19 $\pm$ 0,75
Proniozom	34,66 $\pm$ 2,10
Proniozom (2x)	37,65 $\pm$ 1,07

*: Standart Sapma

1.5.2.1. Proniozomların Hazırlanması

Kuru granüler formdaki niozomlar iki ayrı yöntemle hazırlanabilirler. Yöntemlerin ilki sprey yöntemi, ikincisi ise bulamaç yöntemidir.

Sprey yönteminde taşıyıcı madde yuvarlak dipli cam balona konulur, etkin madde, noniyonik yüzey etkin madde, kolesterol ve yük verici maddenin ise uygun bir organik çözücünde çözeltisi hazırlanır. Taşıyıcı maddeyi içeren yuvarlak dipli cam balon bir rotavapora bağlanır ve rotavapordaki suyun sıcaklığı 65-70 °C'ye ayarlanır. Organik çözücülü çözeltinin bir kısmı yuvarlak dipli cam balonun içindeki taşıyıcı maddenin yüzeyine püskürtülür, ama bu püskürtme işlemi porsiyonlar halinde yapılır; çünkü taşıyıcı madde tamamen ıslanmamalıdır. Bu işlemden sonra yuvarlak dipli cam balon rotavapora bağlanır ve taşıyıcı maddenin yüzeyi kuru olana dek rotavapor çalıştırılır. Bu porsiyonlar halindeki püskürtme işlemine organik çözeltinin tamamı bitene dek devam edilir. En son rotavapora bağlı olan yuvarlak dipli cam balonun içinde tamamen kuru görünümlü toz elde edilir; bu toz proniozomal tozdur. Fakat en son olarak yuvarlak dipli cam balonun üstü parafilmle kaplanır ve parafilmin üzeri yer yer delinerek cam balon bir gece boyunca vakumlu etüvde veya vakumlu desikatörde bekletilir, çünkü rotavaporda tamamen uçamayan organik çözücü kalıntılarının da tamamen uçması gerekmektedir. En sonda elde edilen

tamamen kuru toz, tam anlamıyla kuru olan proniozomal tozdur (Hu ve Rhodes, 1999).

Bulamaç yönteminde ise taşıyıcı madde yuvarlak dipli cam balona konulur; etkin madde, noniyonik yüzey etkin madde, kolesterol ve yük verici maddenin ise uygun bir organik çözücünde çözeltisi hazırlanır. Rotavapordaki suyun sıcaklığı 45-50°C'ye ayarlanır. Organik çözücülü çözeltinin tamamı birden yuvarlak dipli cam balonun içindeki taşıyıcı maddenin üzerine boşaltılır ve yuvarlak dipli cam balon rotavapora bağlanır ve taşıyıcı maddenin yüzeyi kuru olana dek rotavapor çalıştırılır. En son rotavapora bağlı olan yuvarlak dipli cam balonun içinde tamamen kuru görünümlü toz elde edilir, bu toz proniozomal tozdur. Daha sonra yuvarlak dipli cam balonun üstü parafilmle kaplanır ve parafilmin üzeri yer yer delinerek cam balon bir gece boyunca vakumlu etüvde veya vakumlu desikatörde bekletilir, böylece organik çözücü kalıntılarının tamamen uçması sağlanır. En sonda elde edilen kuru toz, proniozomal tozdur (Hu ve Rhodes, 1999).

1.5.2.2. Proniozomlarda Etkin Madde Yükleme Etkinliği

Proniozom toz yapısı dış ortamda hidrate edilip, vücut sıvılarıyla hidrate olup ya da topikal yolla vücuda uygulandığında deriden su alıp niozomal vezikül haline döner. Dolayısıyla niozomlarda etkin madde yükleme etkinliği nasıl saptanıyorsa, proniozomlar da hidrate olup niozomal vezikül olacakları için niozomlar için kullanılan yöntemlerin aynısı kullanılır (Bkz. Bölüm 1.3.2.4.).

1.5.2.3. Proniozomlardan Elde Edilen Niozomların Partikül Büyüklüğü ve Dağılımının Tayini

Kolloidal sistemlerde partikül büyüklüğü ve dağılımının tayin edilmesi, hazırlanan sistemin amaca uygunluğunun belirlenmesi, kullanılan madde ve yöntemin standardize edilmesi, hazırlanan proniozomların stabilitesinin incelenmesi açısından

önemlidir. En sık kullanılan yöntemler arasında lazer difraksiyonu (LD) (Solanki ve ark., 2007), coulter counter (Fang ve ark., 2001), optik mikroskop yöntemi (Gupta ve ark., 2007) ve dinamik ışık saçılımı (DLS) yöntemi (Varshosaz ve ark., 2005) yer almaktadır.

1.5.2.4.Proniozomlardan Etkin Madde Salımı

Kuru granüler formdaki proniozomal tozların *in vitro* salım çalışmalarının yapılabilmesi için proniozomal tozların hidrasyonla niozomal dispersiyon şekline dönüştürülmesi gerekmektedir. Oluşturulan niozomal dispersiyonlar diyaliz membranların içine belli bir miktarda konulmaktadır; diyaliz membranların uçları bağlanmaktadır ve çözünme ortamını içeren tampon sıvıya diyaliz membranlar atılmaktadır. Belli zaman aralıklarında belli miktarda numuneler alınmakta ve ortama taze çözünme ortamı ilave edilmektedir. Alınan numuneler uygun yöntemlerle analiz edilmektedir (Azeem ve ark., (2008); Gupta ve ark., (2007); Hu ve Rhodes, (1999)). Çözünme hızı analizlerinde diyaliz membran kullanılmayan çalışmalar da mevcuttur. Elbary ve ark., (2007) kromolin sodyum yüklü proniozomlardan etkin madde salımı için yaptıkları deneyleri Amerikan Farmakopesi'nin çözünme hızı testi kısmında yer alan döner sepet (Apparatus 1) yöntemi ile, Nasr, M. (2010) ise selekoksib yüklü proniozomlarda etkin madde salım çalışmalarını Amerikan Farmakopesi'nin çözünme hızı testi kısmında yer alan döner palet (Apparatus 2) yöntemi ile gerçekleştirmiştir.

Hu ve ark. (1999), ibuprofen ve karboksifloressein yüklü toz proniozomları hazırlamışlar, her iki maddenin de ayrı ayrı *in vitro* salımını incelemişlerdir. Her iki etkin maddenin de toz proniozom sistemlerinden salımının, en az klasik niozomlar kadar etkin olduğunu ortaya çıkarmışlardır.

Varshosaz ve ark., (2005) ve Fang ve ark., (2001) transdermal yolla uygulanacak olan proniozomlar için Franz difüzyon hücresi kullanmışlardır.

Alsarra ve ark. (2008), proniozomal jel formülasyonları hazırlamışlardır; hazırladıkları bu formülasyonların *in vitro* salım çalışmaları için proniozomal jelleri yuvarlak cam disklerle koymuşlardır ve üzerlerini diyaliz membranlarla kaplamışlardır.

In vitro salım çalışmaları incelendiğinde genellikle proniozom sistemlerinden etkin madde salımının klasik niozomlara göre daha yüksek değerlerde olduğu ya da bu sistemlerin en az klasik niozomlar kadar etkin sistemler oldukları kaydedilmiştir. Bu sistemlerin, düşük çözünürlüğe sahip etkin maddelerin biyoyararlanımlarının artırılmasında, kontrollü ya da sürekli salım sistemlerinin geliştirilmesinde ve etkin maddelerin yan etkilerinin azaltılmasında ümit verici sistemler oldukları anlaşılmaktadır.

1.5.2.5. Proniozomların Stabilitesi

Proniozomlar kuru ya da jel sistemler oldukları için sıvı dispers sistemler olan niozomların fiziksel stabilite ile ilgili sorunlarının üstesinden gelebilmektedir. Dispers sistemler olan niozomların bünyelerinde bulunan sıvı nedeniyle stabilite ile ilgili sorunları ortaya çıkabilmektedir. Bu sorunlar:

- Disperse edilmiş olan bir sulu sistem hidrolizle veya oksidasyonla bozunmaya elverişlidir.
- Depolama esnasında veziküllerin sedimentasyonu veya agregasyonu kontrol altına alınamaz.

Çizelge 1.6.'dan anlaşılabacağı gibi proniozomal sistemler niozomlardan çok daha stabil sistemlerdir.

Çizelge 1.6. Kromolin sodyum yüklü olan niozom ve proniozomlarda yapılan stabilite çalışmasına ait veriler (Elbary ve ark., 2008).

Niozom ve proniozomların 90 gün boyunca 2-8 °C’de saklanması sonucu vezikül büyüklüğü ve etkin madde yükleme etkinliğindeki % değişimler (Ortalama $\pm$ standart sapma, n=3)				
Saklama Zamanı	Vezikül büyüklüğü (μ m)		Etkin madde yükleme etkinliği (%)	
	Niozom	Proniozom	Niozom	Proniozom
Taze Hazırlanan	2,50 $\pm$ 0,51	1,75 $\pm$ 0,12	42,15 $\pm$ 2,19	49,96 $\pm$ 2,36
90 gün sonra	2,87 $\pm$ 0,48	1,87 $\pm$ 0,36	37,59 $\pm$ 2,45	47,66 $\pm$ 2,21
% Değişim	↑ 14,84	↑ 6,85	↓ 10,81	↓ 4,59

1.5.2.6. Proniozomlarla Yapılan Çalışma Örnekleri

Alsarra ve ark. (2008), NSAİD olan piroksikam etkin maddesini proniozomal kuru tozlar içine yükleyip TTS (transdermal terapötik sistem) şeklinde vücuda uygulamayı amaçlamışlardır. Piroksikam yüklü niozomal jel formüllerinin sıçan derisinden in vivo permeasyonu incelenmiştir. Noniyonik sürfaktan olarak Span 80, Span 60, Span 20, Tween 80 ve Tween 20 kullanılmıştır. Sıçan derisinden en yüksek permeasyonun Span 60 ile hazırlanan niozomal jellerden elde edildiği saptanmıştır.

Azeem ve ark. (2008), diüretik bir ajan olan furosemid etkin maddesini proniozomlar içine yükleyip TTS şeklinde vücuda uygulamayı amaçlamışlardır. Vezikül üretiminde Span 40, soya lesitini ve kolesterol kullanılmıştır. Deneyler sonucunda proniozomal veziküllerin uzatılmış etkin madde salımı gerçekleştirdiği saptanmıştır.

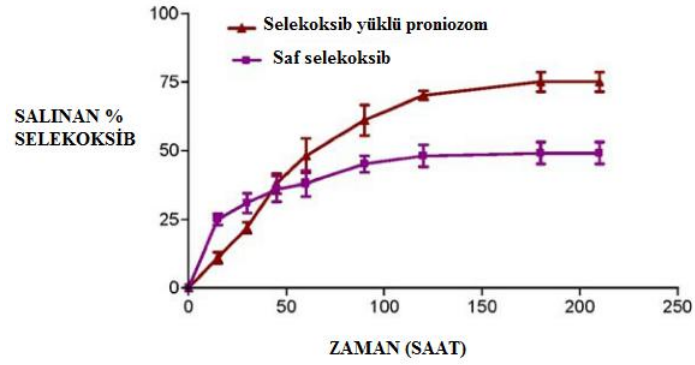
Mokhtar ve ark. (2008), NSAİD olan flurbiprofen etkin maddesini proniozomlar içine yükleyip jel ve çözelti halinde vücuda uygulamayı amaçlamışlardır. Çalışmada noniyonik yüzey etkin madde olarak Span 80, Span 60, Span 40 ve Span 20 kullanılmıştır. Sonuç olarak etkin madde yükleme etkinliğinin formülasyondaki lipid miktarına, kolesterol miktarına, etkin madde miktarına ve serbest etkin maddenin niozomal veziküllerden ayrılmasında kullanılan yöntemle bağlı olduğunu

saptamışlardır. Ayrıca en stabil veziküllerin, kolesterol miktarı formülasyonun % 10'u olduğunda elde edildiği saptanmıştır.

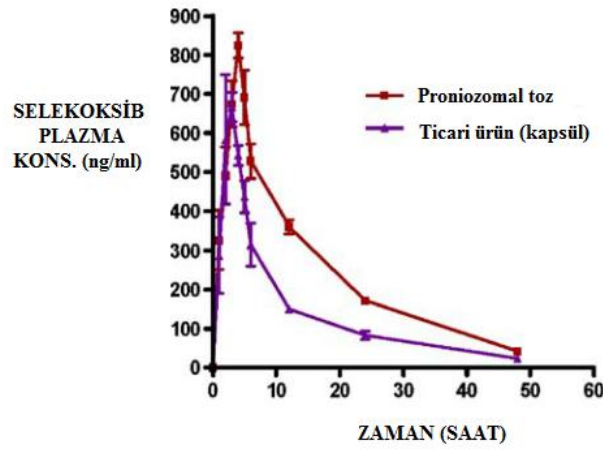
Varshosaz ve ark. (2005), klorfeniramin maleat etkin maddesini proniozomlar içine yükleyip TTS şeklinde vücuda uygulamayı amaçlamışlardır. Formülasyonlarda Span 40, kolesterol, disetil fosfat ve çeşitli alkoller kullanmışlardır (etanol, propanol ve izopropanol). Çalışma sonucunda kullanılan alkol tipinin vezikül stabilitesini etkilemediği saptanmıştır. En büyük veziküller etanol ile üretilen veziküllerdir ve dolayısıyla en fazla etkin madde bu veziküllere yüklenmiştir. Ayrıca kolesterol ve disetil fosfat yerine lesitin kullanıldığında daha stabil ve daha büyük veziküllerin elde edildiği saptanmıştır.

Fang ve ark. (2001), hormonal yapıda bir etkin madde olan estradiolü proniozomlar içine yükleyip TTS şeklinde vücuda uygulamayı hedeflemişlerdir. Noniyonik yüzey etkin madde olarak Span 40, Span 60, Span 85, Tween 20, Tween 60 ve Tween 80 kullanılmıştır. Proniozomların deride penetrasyon artırıcı olarak etki gösterdikleri saptanmıştır. En yüksek estradiol penetrasyon artışının Span 40 ve Span 60 ile üretilen proniozomlardan elde edildiği saptanmıştır.

Mohamed Nasr (2010), suda çözünürlüğü düşük olan selekoksib etkin maddesini proniozomlar içine yüklemiştir ve peroral yol ile kullanılmak üzere proniozomal toz üretmiştir. Formülasyonda Span 60, kolesterol ve disetil fosfat sırasıyla 1:1:0,1 molar oranlarında kullanılmıştır. *In vitro* çözünme hızı çalışmalarında, selekoksib yüklü proniozomal tozdan saf haldeki selekoksib tozuna göre daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. 200'er mg selekoksib içeren proniozomal tozun ve ticari kapsül şeklindeki müstahzarın biyoyararlanım çalışmaları gönüllü insanlarda gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgulardan proniozomal tozun selekoksibin biyoyararlanımını ticari ürününe göre önemli derecede arttırdığı saptanmıştır (Şekil 1.20., 1.21., Çizelge 1.7.) (Nasr, M., 2010).



Şekil 1.20. Selekoksib yüklü proniozom ile saf selekoksibin çözünme hızı grafikleri (Nasr, M., 2010).



Şekil 1.21. Selekoksib yüklü proniozom ile selekoksib içeren ticari kapsül müstahzarında gerçekleştirilen biyoyararlılık çalışmasına ait grafik (Nasr, M., 2010).

Çizelge 1.7. Selekoksib yüklü proniozomda ve selekoksib içeren ticari kapsül ürününde biyoyararlanımla ilgili parametreler (C_{max} : Etkin maddenin vücutta eriştiği maksimum kan konsantrasyonu, T_{max} : Etkin maddenin vücutta maksimum kan konsantrasyonuna ulaşma süresi, K_a : Absorpsiyon hız sabiti, K : Salım sabiti, $T_{1/2}$: Yarılanma ömrü, AUC: Serum etkin madde konsantrasyonu zaman eğrisinde eğri altındaki alan, K_{el} : Eliminasyon hız sabiti) (Nasr, M., 2010).

Farmakokinetik parametreler	Müstahzar (kapsül)	Proniozomal ürün
C_{max} (ng/ml)	705.17±31.89	842.5±34.72*
AUC_{0-48} (ng.h/ml)	6,761.58±612.73	11,681.21±523.90*
$AUC_{0-\infty}$ (ng.h/ml)	7,210.58±689.02	12,406.21±469.11 ^a
T_{max} (h)	2.5±0.55	4±0.00**
K_a (h ⁻¹)	1.52±0.17	0.73±0.05*
K_{el} (h ⁻¹)	0.051±0.01	0.059±0.002
$t_{1/2}$ (h)	13.33±1.98	11.75±0.55

1.6. Kandesartan Sileksetil

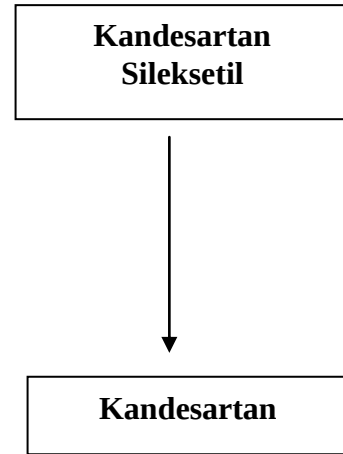
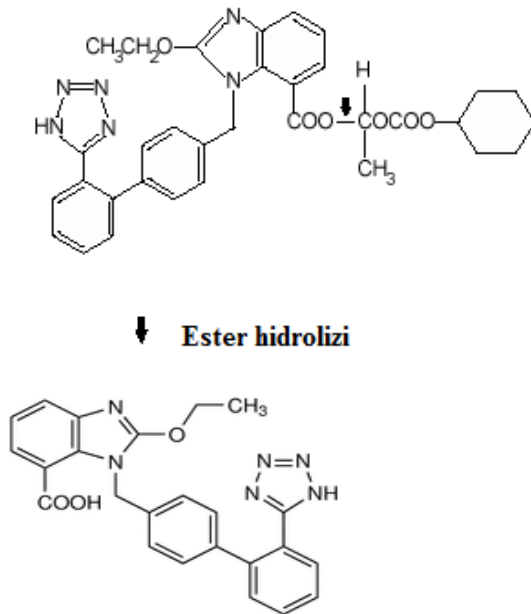
Kandesartan sileksetil bir ön etkin maddedir ve peptid olmayan yapıdadır. Ester hidrolizi ile kandesartana dönüşür (Nekkanti ve ark., 2009).

1.6.1. Kimyasal Yapısı (PDR 2005)

Kimyasal Formülü: 1-Hidroksietil-2-etoksi-1-[p-(o-1H-Tetrazol-5-il-fenil)benzil]-7-benzimidazolkarboksilat,sikloheksilkarbonat esteri

Kapalı formülü: $C_{33}H_{34}N_6O_6$

Açık Formülü:



1.6.2. Fizikokimyasal Özellikleri (PDR 2005)

Kandesartan sileksetil beyazla kirli beyaz arasında bir tozdur. Çözücülerden kristalizasyonu sırasında form I ve form II olarak iki polimorfu elde edilmektedir. Ticari olarak bulunan polimorfu, stabil olan form I'dir (Matsunaga ve ark., 1999).

Molekül Ağırlığı: 610,67.

Çözünürlüğü: Pratik olarak suda çözünmez (0,0003 mg/ml) (Nekkanti ve ark., 2009); metanolde zor çözünür, ve kloroformda çok çözünür.

Optik Yapısı: Kandesartan sileksetil, sikloheksiloksikarboniloksi etil ester grubunda bir kiral merkez içeren rasemik bir karışımdır. Oral yolla uygulamayı takiben kandesartan sileksetil yapısı ester hidrolizine uğrayıp kiral olmayan kandesartana dönüşür.

1.6.3. Farmakolojik Özellikleri (PDR 2005)

Esas etkin maddeye dönüşüm şekli ve yeri: Kandesartan sileksetil maddesi bir ön etkin maddedir ve gastrointestinal kanaldan absorpsiyonu sırasında ester hidrolizi ile esas etkin madde olan kandesartana dönüşür.

Farmakolojik sınıfı: Kandesartan anjiyotensin-II (A-II) reseptörlerinin AT₁ alt tipinin selektif antagonistidir (Nekkanti ve ark., 2009).

Endikasyonları: Hipertansiyon tedavisinde endikedir (Nekkanti ve ark., 2009).

Kombine olarak kullanıldığı etkin madde grubu: Tiyazid grubu diüretiklerden hidroklorotiyazid ile kombine olarak kullanılabilir. Hidroklorotiyazid ile birlikte kullanıldığında aditif antihipertansif etki ortaya çıkmakta ve kandesartan iyi tolere edilmektedir.

Dozu: Peroral kullanım için tabletlerde 4 mg, 8 mg, 16 mg ya da 32 mg'dır.

1.6.4. Farmakokinetik Özellikleri (PDR 2005, Atacand® prospektüs)

Absorpsiyonu: Oral yolla uygulandıktan sonra kandesartan sileksetil, gastrointestinal kanaldan absorpsiyonu sırasında ester hidrolizi ile biyoaktivasyonu sonucu hızlıca ve tamamen kandesartana dönüşür.

Karaciğerde ilk geçiş etkisi: Karaciğerde çok az da olsa O-deetilasyon reaksiyonu nedeniyle inaktif metabolitine dönüşür. Bu reaksiyonda, sitokrom P 450 izoenzimi CYP 2C9 rol oynar.

Biyoyararlanımı: Oral yolla kandesartan sileksetil uygulanmasından sonra, kandesartanın biyoyararlanımı yaklaşık %15'tir.

Yarı ömrü: Kandesartanın eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 9 saattir.

Farmakokinetik özelliklerinin lineerliği: Tekli veya tekrarlı alımdan sonra oral uygulamada kandesartan sileksetil maddesi, dozu 32 mg'a kadar lineer farmakokinetik gösterir.

Serumda birikme: Günlük tek dozun tekrarlanmasıyla kandesartan ve kandesartanın inaktif metaboliti (karaciğerde ilk geçiş etkisiyle oluşan) serumda birikmez.

Maksimum kan konsantrasyonuna (C_{max}) ulaşma süresi (T_{max}): Oral yolla uygulamadan sonra C_{max} 'a 3 ila 4 saat arasında ulaşır.

Besinlerden etkilenme: Yüksek oranda yağ içeren besinler kandesartan sileksetil maddesinin biyoyararlanımını etkilemez. Kandesartanın serum konsantrasyonu-zaman eğrisi altındaki alan (AUC), gıda alımından belirgin olarak etkilenmez.

Dağılım ve plazma proteinlerine bağlanma özelliği: Kandesartanın dağılım hacmi (V_d) 0,13 L/kg 'dır. Kandesartan plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır (>%99) ve kırmızı kan hücrelerine penetre olmaz. Yapılan deneylere göre kandesartan kan-beyin bariyerini çok az aşabilir; ama plasenta bariyerini aşar ve fetüse dağılır.

Metabolizması ve uzaklaştırılması: Kandesartan esas olarak idrar ve safra yoluyla değişmeden atılır, çok küçük bir kısmı karaciğerde metabolize edildikten sonra atılır. Kandesartanın toplam plazma klerensi yaklaşık 0,37 mL/dak/kg, renal klerensi ise yaklaşık 0,19 mL/dak/kg'dır. Kandesartanın renal eliminasyonu, hem glomerüler filtrasyon hem de aktif tübüler sekresyon ile gerçekleşir. C^{14} işaretli kandesartan sileksetilin oral uygulanmasından sonra idrarla dozun yaklaşık % 26'sı kandesartan ve % 7'si inaktif metabolit olarak, feçeste yaklaşık % 56'sı kandesartan ve % 10'u inaktif metabolit olarak atılır.

1.6.5. Yan Etki Potansiyeli

Yan etkileri arasında baş ağrısı, üst solunum yolu enfeksiyonu, ağrı, uyuşukluk sayılabilir. Döküntü, kaşınma, nöropsikiyatrik bozukluklar, hiperglisemi, karaciğer

işlev bozukluğu ve hiperkalemi seyrek olarak gözlenebilir. Yan etki özellikleri plasebo ile benzerdir. ATII reseptör antagonistlerine oranla sadece kandesartanın, digoksin, warfarin, hidroklorotiyazid gibi etkin maddelerle önemli etkileşimi yoktur. ADE (anjiyotensin dönüştürücü enzim) inhibitörleri gibi gebelikte ve renal arter stenozunda kullanımları kontrendikedir (Kayaalp, 2005, Bölüm 38).

1.6.6. Tanıma ve Miktar Tayini Yöntemleri

- Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi: Serumda kandesartan ve kandesartan sileksetilin teşhis konsantrasyonu 2 µg/L, ürede ise kandesartan sileksetilin teşhis konsantrasyonu 10 µg/L'dir (Moffat, 2005, s:740).
- UV Spektrofotometrik Yöntem: Kandesartan sileksetilin maksimum pik verdiği dalga boyları sulu asit ortamda 246-281 nm, etanol ortamında 253 nm, sulu baz ortamında ise 251 nm olarak belirtilmiştir (Moffat, 2005, s:740).
- Kandesartan sileksetilin kare dalgalı adsorblayıcı voltametrik tayini (Süslü ve ark., 2009).
- Sıvı kromatografisi ve sıvı kromatografisi-kütle spektroskopisi (Mehta ve ark., 2009).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. MATERYALLER

2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Brij 72	: Fluka (İsviçre)
Brij 76	: Fluka (İsviçre)
Brij 78	: Fluka (İsviçre)
Disetil fosfat	: Sigma Aldrich (A.B.D.)
Etanol	: Al Abbas Sugar Mills (Pakistan)
Hidroklorik asit (konsantre)	: Riedel-de-Haen (Almanya)
Kalsiyum klorür 2 hidrat	: MERCK (A.B.D.)
Kandesartan sileksetil	: Abdi İbrahim İlaç San.ve Tic. A.Ş.
Kandesartan sileksetil ticari preparatı	: Astra Zeneca (Atacand®) seri no:LL1529
Kloroform	: MERCK (A.B.D.)
Kolesterol	: Sigma Aldrich (A.B.D.)
Metanol	: Riedel-de-Haen (Almanya)
Propilen glikol	: Aklar Kimya (Türkiye)
Sodyum klorür	: Carlo Erba Reagent (İtalya)
Sorbitol	: MERCK (A.B.D.)
Span 20	: MERCK (A.B.D.)
Span 40	: Fluka (İsviçre)
Span 60	: Sigma Aldrich (A.B.D.)
Span 80	: Fluka (İsviçre)
Tween 20	: MERCK (A.B.D.)
Tween 80	: MERCK (A.B.D.)

2.1.2. Kullanılan Aletler

Cam malzeme	: Isolab, İldam (Türkiye)
-------------	---------------------------

Cam pipetler	: Rainin10-100,100-1000 μ m (A.B.D.)
Çalkalayıcı su banyosu	: Memmer WB14 (Almanya)
Diyaliz membran	: Sigma Aldrich (A.B.D.)
Diyaliz membran tucucu	: Spectrum Laboratories, Inc (A.B.D.)
DSC cihazı	: Q100-MET (A.B.D.)
Elek Takımı	: Prüfsieb DIN (Almanya)
Elek Analizi Cihazı	: Retsch RV (Almanya)
Elektrikli hassas terazi	: Sartorius (Almanya)
Etüv	: Heraeus T 5042 (Almanya)
Filtre tutucu	: Sartorius (Almanya)
Filtreler	: Sartorius,Whatman (Alm.,A.B.D.)
İstatistiksel Analiz Programları	: SPSS 11 for Windows (A.B.D.) INSTAT 5.0. for Windows (A.B.D.)
Liyofilizatör	: Christ Gamma 2-16 LSC (Almanya)
Manyetik Karıştırıcı	: Heidolph (Almanya)
Mikropipetler	: Precicolor HBG, Witeg (Almanya)
Optik Mikroskop	: Leica DM 4000B (A.B.D)
Rotavapor	: BUCHI R200 (Almanya)
Üstten Kefeli Terazi	: Mettler P 203 (A.B.D.)
Parafilm	: Parafilm, Chicago (A.B.D.)
Partikül büyüklüğü analizi cihazı	: Malvern Zetasizer NanoZS (İng.)
Partikül büyüklüğü analizi cihazı	: Sympatec GmbH Helos (A.B.D.)
pHmetre	: İmolab WTWSeries pH720 (İspanya)
Plastik enjektör	: Tıbset inject (Türkiye)
Termometre	: İsolab (Türkiye)
Tygon boru	: Tygon R 3603 (A.B.D.)
Ultrasantrifüj cihazı ve tüpleri	: Beckman (A.B.D.)
UV-Spektrofotometresi	: Shimadzu UV-1202 (Japonya)
Vakumlu etüv	: Selecta Vaciotem (İtalya)
Vorteks cihazı	: Heidolph D91126 (Almanya)
XRD cihazı	: Rigahu-Miniflex (A.B.D.)

2.2. YÖNTEM

2.2.1. Etkin Maddenin Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada model etkin madde olarak kandesartan sileksetil kullanılmıştır.

2.2.1.1. Etkin Maddenin Diferansiyel Tarama Kalorimetrisi ile Analizi

Etkin maddenin termal davranışını incelemek ve kristal formunu belirlemek için bilgisayar ve plotter donanımlı MET Q100 diferansiyel tarama kalorimetrisi cihazı kullanılmıştır. 5 mg miktarda hassas olarak tartılmış numune, alüminyum kapsül içine konmuş ve preslendikten sonra alete yerleştirilmiştir. 0-300 °C sıcaklık aralığında, dakikada 10 °C artışla, 1,5 bar azot gazı altında hazırlanan numunenin termogramı alınmıştır.

2.2.1.2. Etkin Maddenin X-Işını Toz Difraktometrisi ile Analizi

Kandesartan sileksetil cam bir lamele yayıldıktan sonra X-ışını toz difraksiyon spektrumları, nikel filtreli CuK α radyasyonu (0,154 nm) ile 30 kV'ta ve 15 mA'de 2-40° açı aralığında 2 θ difraksiyon açısı ile elde edilmiştir.

2.2.1.3. Etkin Maddenin Ultra Viole (UV) Spektrofotometrisi ile Analizi

Kandesartan sileksetilin metanol içinde 25 mg / 50 mL konsantrasyonda stok çözeltileri hazırlanmıştır. Bu stok çözelti, metanol ile, pH 1,2 suni mide sıvısı ile, %0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 suni mide sıvısı ile, %0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 asetat tamponu ile, %0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8 suni barsak sıvısı ile seyreltilerek etkin maddenin bu ortamlarda UV spektrofotometresinde 200-400 nm

arasında spektrumları alınmış ve maksimum absorbens gösterdikleri dalga boyları ($\lambda_{\max}$) saptanmıştır.

2.2.1.3.1. UV Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak Etkin Maddenin Kalibrasyon Doğrularının Hazırlanması

Kandesartan sileksetilin standart doğru denklemlerinin belirlenmesinde metanol içinde 25 mg / 50 mL konsantrasyondaki stok çözeltisinden metanol ile, pH 1,2 suni mide sıvısı ile, %0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 suni mide sıvısı ile, %0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 asetat tamponu ile, %0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8 suni barsak sıvısı ile uygun seyreltmeler yapılarak herbir ortam için bir seri farklı konsantrasyonda çözelti elde edilmiştir. Bu çözeltilerin absorbens değerleri $\lambda_{\max}$ dalga boylarında okunmuştur. Her bir konsantrasyon (x) ve buna karşılık gelen absorbens (y) değerleri kullanılarak doğru denklemleri hesaplanmıştır. Doğru denklemlerinin oluşturulmasında SPSS paket programı kullanılmıştır. Çözünme hızı tayininde ve etkin madde yükleme etkinliği tayininde konsantrasyon hesapları için bu doğru denklemlerinden yararlanılmıştır.

2.2.1.3.2. Kalibrasyonda ve Çözünme Hızı Analizlerinde Kullanılan Ortamlar

1. pH 1,2 Enzimsiz suni mide sıvısı
2. % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 enzimsiz suni mide sıvısı
3. % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 asetat tamponu
4. % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8 enzimsiz suni barsak sıvısı

pH 1,2 Enzimsiz Suni Mide Sıvısı (USP 30-NF 25)

Hidroklorik asit, derişik7 mL

Sodyum klorür.....2 g

Distile su.....y.m.....1000 mL

Hazırlanışı:

Sodyum klorür derişik hidroklorik asit çözeltisinde çözölür ve distile su ile 1 L'ye tamamlanır.

% 0,2 a/h Tween 80 İçeren pH 1,2 Enzimsiz Suni Mide Sıvısı (USP 30-NF 25)

Hidroklorik asit, derişik	7 mL
Sodyum klorür.....	2 g
Tween 80.....	2 g
Distile su.....y.m.....	1000 mL

Hazırlanışı:

Sodyum klorür derişik hidroklorik asit çözeltisinde çözölür; Tween 80 eklenir ve distile su ile 1 L'ye tamamlanır.

% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 Asetat tamponu (USP 30-NF 25)

Sodyum asetat ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$).....	2,99 g
Asetik asit (2N CH_3COOH).....	14 mL
Tween 80.....	2 g
Distile su.....y.m.....	1000 mL

Hazırlanışı:

Sodyum asetat ve asetik asit konulur, üzerine Tween 80 eklenir ve distile su ile 1 L'ye tamamlanır.

% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8 Enzimsiz Suni Barsak Sıvısı (USP 30-NF 25)

I. Monobazik potasyum fosfat (KH_2PO_4) çözeltisi.....	250 mL
II 0,2 N Sodyum hidroksit(NaOH) çözeltisi.....	77 mL
Tween 80.....	2 g
Distile su.....y.m.....	1000 mL

I. 6,8 g monobazik potasyum fosfat 250 mL distile suda çözölür.

II. 8g sodyum hidroksit 1000 mL distile suda çözölür.

Hazırlanışı:

250 mL I. çözelti üzerine 77 mL II. çözelti eklenir ve 2g Tween 80 eklenir. 0,2 N hidroklorik asit veya 0,2 N sodyum hidroksit ile pH $6,8 \pm 1$ 'e ayarlanır; ve distile su ile 1 L'ye tamamlanır.

2.2.1.3.3. Ortamlardaki Kalibrasyon Doğrularının İstatistiksel Verileri ve Analitik Validasyonu

USP 30–NF25'e göre parametreler belirlenerek analitik validasyon yapılmıştır.

2.2.1.3.3.1. Doğruluk ve Geri Elde

Bunun için her bir ortamda 3 farklı konsantrasyonda numune çözeltileri hazırlanmış ve 6 kez ölçüm yapılmıştır. Standart doğru denklemlerinden hesaplanan konsantrasyon değerlerinden hareketle % geri elde değerleri bulunmuştur. Sonuçlar % geri elde değerlerinin ortalaması, standart sapması (SS) ve % bağıl standart sapması (BSS) şeklinde verilmiştir.

2.2.1.3.3.2. Kesinlik

Bir analitik yöntemin kesinliği, normal test koşullarında testin tekrarlanabilirliğinin ve tekrar elde edilebilirliğinin bir ölçüsüdür. Tekrarlanabilirlik iki ayrı günde kısa bir zaman süreci içinde, aynı analist tarafından ve aynı cihazlar kullanılarak tayin edilmiştir. Her bir ortam için hazırlanan numunelerde 6'şar kez okuma yapılmıştır ve okunan değerle karşılık gelen konsantrasyonlar hesaplanmıştır. Tekrar elde edilebilirlik ise aynı analitik yöntemin farklı analist ve aynı cihazlar kullanılarak uygulanması ile tayin edilmiştir. Aynı stoktan farklı kişiler tarafından spektrofotometrede absorbansları 6'şar kez okunan numunelerin okunan değerlere

karşılık gelen konsantrasyonları hesaplanmıştır. Sonuçlar hesaplanan konsantrasyonların ortalaması, SS ve % BSS şeklinde verilmiştir.

2.2.1.3.3. Teşhis ve Tayin Sınırları

Teşhis ve tayin sınırları, düşük konsantrasyona sahip bir seri örneğin analiz edilmesiyle belirlenmiştir. Herbir ortam için üç paralel kalibrasyonun en düşük değerindeki absorbanslarından standart sapma değerleri hesaplanmış ve bu değerlerin ortalaması, seçilen kalibrasyon doğrusunun eğimine bölünmüştür. Bu değer 3,3 ile çarpılarak teşhis sınırı (LOD), 10 ile çarpılarak da tayin sınırı (LOQ) belirlenmiştir.

2.2.2. Formülasyon Çalışmaları

2.2.2.1. Etkin Maddesiz Formülasyon Çalışmaları

Öncelikle etkin madde olmadan boş proniozomların oluşup oluşmadığı denenmiştir. Bu formülasyon çalışmalarında üretim yöntemi, organik çözücü olarak kullanılacak kloroformun miktarı, taşıyıcı madde olan sorbitolün formülasyondaki miktarı ve diğer maddelere olan oranı ile kullanılan sorbitolün partikül büyüklüğünün niozom oluşumuna etkisi değerlendirilmiştir.

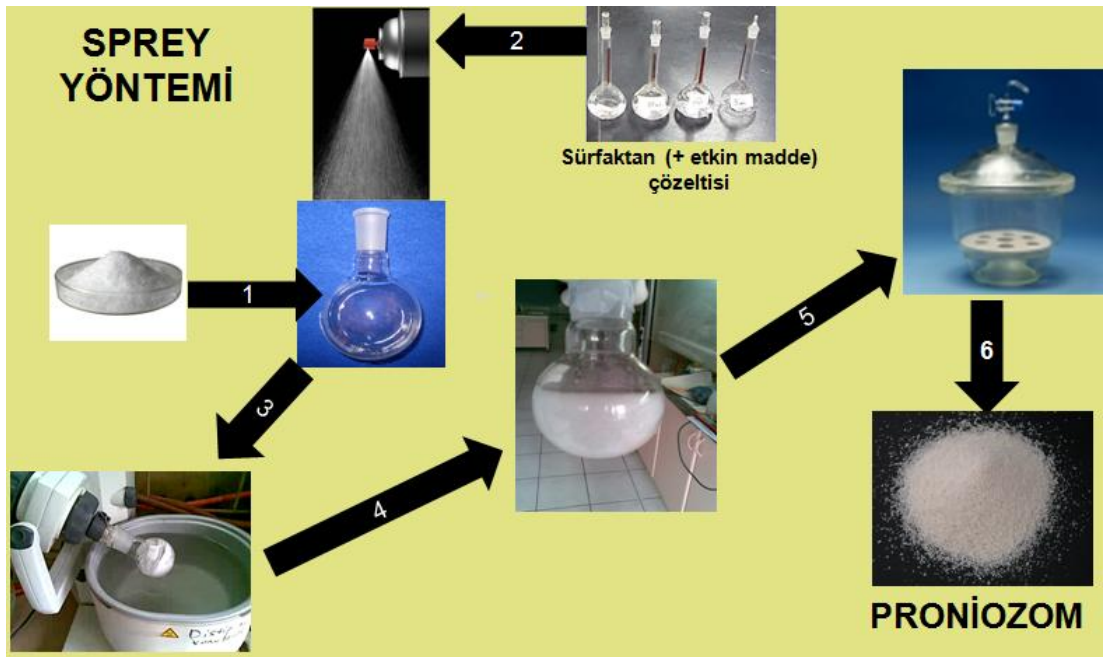
2.2.2.1.1. Proniozom Üretimi Esnasında Kullanılacak Olan Yöntemin Seçimi

Kuru granüler formdaki proniozomlar sprey yöntemi ve bulamaç yöntemi olmak üzere iki ayrı yöntemle üretilebilmektedirler. Formülasyon çalışmalarında öncelikle etkin madde içermeyen formüller iki ayrı yöntemle oluşturulmaya çalışılmıştır. Sonra elde edilen bulgulara göre hangi yöntemin uygun yöntem olarak seçilmesi gerektiğine karar verilmiştir.

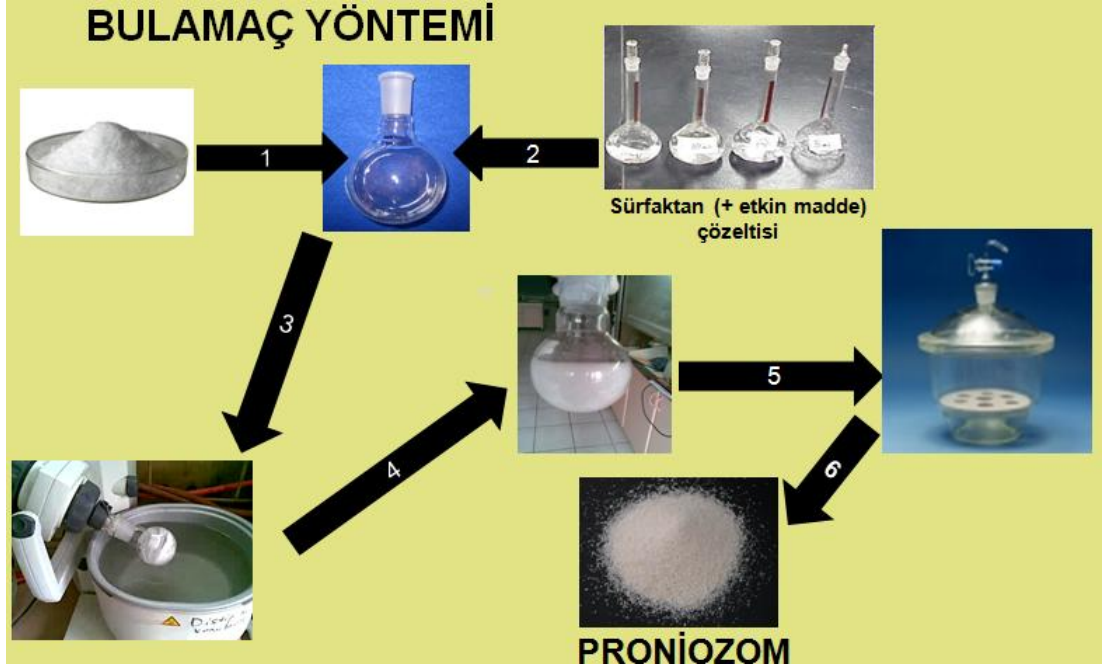
Sprey Yöntemi: 1g taşıyıcı materyal olan sorbitol tozu yuvarlak dipli cam balona konulmuştur. 12 mL kloroform içinde noniyonik yüzey etkin maddenin, kolesterolün ve yük verici madde olan disetil fosfatın stok çözeltisi hazırlanmıştır. Stok çözelti hazırlanırken 59,13 mg Span 60, 53,08 mg kolesterol ve 7,79 mg disetil fosfat tartılmıştır ve bu maddeler uygun bir renkli cam şişeye konulmuştur; maddelerin üzerlerine 12 mL kloroform eklenmiştir. Cam şişenin içine magnet atılmıştır ve kapağı kapatıldıktan sonra şişenin kapak kısmı parafilm ile sarılmıştır. Şişenin içinde berrak olan ve homojen görünümlü bir çözelti olana dek sıvı magnetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Şişe içindeki çözeltinin 10 mL'si spreyleme yapılacak olan kabın içine konulmuştur. Taşıyıcı maddeyi içeren yuvarlak dipli cam balon rotavapora bağlanmıştır ve rotavapordaki suyun sıcaklığı 65-70 °C'ye ayarlanmıştır. Organik çözücülü çözeltinin bir kısmı yuvarlak dipli cam balonun içindeki taşıyıcı maddenin yüzeyine püskürtülmüştür; ama bu püskürtme işlemi porsiyonlar halinde yapılmıştır, çünkü taşıyıcı madde tamamen ıslanmamalıdır. Bu püskürtme işleminden sonra yuvarlak dipli cam balon rotavapora bağlanmıştır ve taşıyıcı maddenin yüzeyi kuru olana dek rotavapor 60 rpm dönü hızında çalıştırılmıştır. Bu porsiyonlar halindeki püskürtme işlemine organik çözücüdeki karışım çözeltisinin tamamı bitene dek devam edilmiştir. En son rotavapora bağlı olan yuvarlak dipli cam balonun içinde tamamen kuru görünümlü toz elde edilmiştir. Fakat en son olarak yuvarlak dipli cam balonun üstü parafilmle kaplanmıştır ve parafilmin üzeri yer yer delinerek cam balon bir gece boyunca vakumlu etüvde bekletilmiştir, Elde edilen kuru toz halindeki proniozom preparatı, içinde desikan olarak kalsiyum klorür dihidrat ve silikajel bulunan bir desikatör içinde muhafaza edilmiştir (K1 formülasyonu, Çizelge 2.1., Şekil 2.1.).

Bulamaç Yöntemi: Bu yöntemde taşıyıcı materyal olan sorbitol, 1-3 g arası miktarlarda olmak üzere yuvarlak dipli cam balona konulmuştur. 12 mL kloroform içinde noniyonik yüzey etkin maddenin, kolesterolün ve yük verici madde olan disetil fosfatın stok çözeltisi hazırlanmıştır. Stok çözelti hazırlanırken 59,13 mg Span 60, 53,08 mg kolesterol ve 7,79 mg disetil fosfat tartılmıştır ve bu maddeler uygun bir renkli cam şişeye konulmuştur; maddelerin üzerlerine 12 mL kloroform eklenmiştir. Cam şişenin içine magnet atılmıştır ve kapağı kapatıldıktan sonra şişenin

kapak kısmı parafilm ile sarılmıştır. Şişenin içinde berrak olan ve homojen görünümlü bir çözelti olana dek sıvı magnetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Şişe içindeki çözeltinin farklı miktarları (5 mL ve 10 mL), içinde sorbitol bulunan yuvarlak dipli cam balona doğrudan konulmuştur. Yuvarlak dipli cam balon rotavapora bağlanmıştır ve rotavapordaki suyun sıcaklığı 45-50°C'ye ayarlanmıştır. Yuvarlak dipli cam balonun içinde tamamen kuru görünümlü toz elde edilene dek rotavapor 60 rpm dönü hızında çalıştırılmıştır. Cam balonun içinde kuru görünümlü toz elde edilmiştir; fakat en son olarak yuvarlak dipli cam balonun üstü parafilmle kaplanmıştır ve parafilmın üzeri yer yer delinerek cam balon bir gece boyunca vakumlu etüvde bekletilmiştir. Elde edilen kuru toz halindeki proniozom preparatı, içinde desikan olarak kalsiyumklorür dihidrat ve silikajel bulunan bir desikatör içinde muhafaza edilmiştir (K1-K5 formülasyonları, Çizelge 2.1, şekil 2.2.).



Şekil 2.1. Sprey yöntemi ile proniozom eldesi.



Şekil 2.2. Bulamaç yöntemi ile proniozom eldesi.

2.2.2.1.2. Sorbitol'ün Partikül Büyüklüğünün Tayin Edilmesi

Proniozom yapısında taşıyıcı madde olarak bulunan sorbitol tozunun partikülleri çok heterojen bir dağılıma sahip olduğu için sorbitol partikülleri elenmiştir. Bunun için 1,25mm, 1mm, 0,75mm, 0,50mm, 0,25mm, 0,125mm çaplı elekler titreşimli elek analizi cihazına yerleştirilmiştir ve 100 g sorbitol tozunun elek analizi yapılmıştır.

2.2.2.1.3. Farklı Partikül Büyüklüğünde Sorbitol ile Hazırlanan Formülasyonlar

Bulamaç yöntemi ile Çizelge 2.2.'de verilen partikül büyüklüğü aralığına sahip olan sorbitoller kullanılarak çeşitli formülasyonlar geliştirilmiştir (K1-K5).

2.2.2.1.4. Proniozomdan Niozom Elde Edilmesinde Sıcaklığın ve Vorteks İşleminin Etkisinin Değerlendirilmesi

Oda sıcaklığında ve 37°C vücut sıcaklığında K4 kodlu formülasyonlarla hazırlanan proniozomlardan niozomların elde edilebilirliği araştırılmıştır. 0,1'er gram proniozomal toz 1 ml oda sıcaklığındaki ve 1 ml 37 °C'deki su ile hidrate edilmiş ve 2 dakika süre ile vorteks işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen dispersiyonlar optik mikroskopta incelenmiştir ve dispersiyonların partikül büyüklükleri dinamik ışık saçılımı yöntemiyle bulunmuştur. Ayrıca proniozomların hidratasyonundan sonra herhangi bir vorteks işlemi uygulanmadığında da niozomal veziküllerin oluşup oluşmadığı incelenmiştir.

Çizelge 2.1. Geliştirilen etkin maddesiz formülasyonlar.

	K1			K2			K3			K4			K5		
	mg	M*	mL	mg	M	mL	mg	M	mL	mg	M	mL	mg	M	mL
Span 60	49,28	0,0114	---	49,28	0,0228	---	49,28	0,0114	---	49,28	0,0114	---	49,28	0,0114	---
Kolesterol	44,23	0,0114	---	44,23	0,0228	---	44,23	0,0114	---	44,23	0,0114	---	44,23	0,0114	---
DCP	6,490	0,0012	---	6,490	0,0024	---	6,490	0,0012	---	6,490	0,0012	---	6,490	0,0012	---
Sorbitol	1000	0,5488	---	1000	1,098	---	1000	0,5488	---	2000	1,098	---	3000	1,646	---
Kloroform	---	---	10	---	---	5	---	---	10	---	---	10	---	---	10

*: Molar konsantrasyon

	K1	K2	K3	K4	K5
Span 60 : Kolesterol : DCP (Molar oran)	47,5 : 47,5 : 5	47,5 : 47,5 : 5	47,5 : 47,5 : 5	47,5 : 47,5 : 5	47,5 : 47,5 : 5
Sürfaktan karışımı : Sorbitol (Kısım cinsinden oran)	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10

Çizelge 2.2. Etkin maddesiz formülasyonlarda kullanılan farklı sorbitol partikül büyüklüğü aralıkları.

Kullanılan Sorbitolün Partikül Büyüklüğü Aralıkları (mm)						
K1	K2	K3-Büyük Partiküllü	K3-Orta Partiküllü	K3-Küçük Partiküllü	K4	K5
0,25-0,50	0,25-0,50	0,75-1	0,25-0,50	0-0,125	0,25-0,50	0,25-0,50

2.2.2.2. Kandesartan Sileksetil İçeren Formülasyonların Hazırlanması

Çizelge 2.3.'te verilen formülasyonlar bölüm 2.2.2.1.1.'de belirtildiği şekilde ve bulamaç yöntemi ile hazırlanmıştır. Kandesartan sileksetil, kloroform içinde hazırlanan organik faza ilave edilmiştir (Şekil 2.2.). Tüm formüllerde sürfaktanlar 0,0114M ve etkin madde 0,0114M olarak ayarlanmıştır. Formüllerdeki sürfaktan : kolesterol : DCP oranı 47,5 : 47,5 : 5'tir (Çizelge 2.3.).

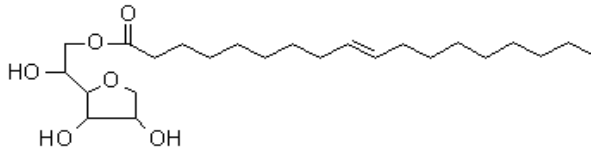
Çizelge 2.3. Geliştirilen formülasyonlar.

	Kandesartan (mg)	Kolesterol (mg)	Sorbitol (mg)	DCP (mg)	Span 80 (mg)	Span 60 (mg)	Span 40 (mg)	Span 20 (mg)	Brij 72 (mg)	Brij 76 (mg)	Brij 78 (mg)	Tween 80 (mg)	Tween 20 (mg)
F1	69,61	44,23	2000	6,490	48,86	---	---	---	---	---	---	---	---
F2	69,61	44,23	2000	6,490	---	49,28	---	---	---	---	---	---	---
F3	69,61	44,23	2000	6,490	---	---	45,89	---	---	---	---	---	---
F4	69,61	44,23	2000	6,490	---	---	---	39,49	---	---	---	---	---
F5	69,61	44,23	2000	6,490	---	---	---	---	40,75	---	---	---	---
F6	69,61	44,23	2000	6,490	---	---	---	---	---	81,00	---	---	---
F7	69,61	44,23	2000	6,490	---	---	---	---	---	---	131,3	---	---
F8	69,61	44,23	2000	6,490	---	---	---	---	---	---	---	149,3	---
F9	69,61	44,23	2000	6,490	---	---	---	---	---	---	---	---	140,0

Kullanılan sürfaktanların açık formülleri ve HLB (hidrofilik lipofilik balans) değerleri aşağıda verilmektedir.

F1-Span 80: Sorbitan monooleat

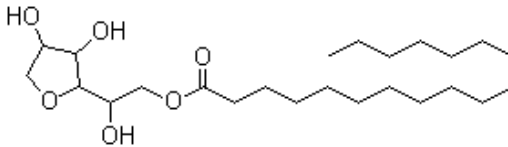
HLB: 4,3



$C_{24}H_{44}O_6$

F2-Span 60: Sorbitan monostearat

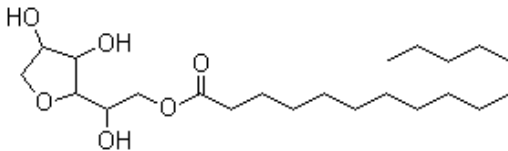
HLB: 4,7



$C_{24}H_{46}O_6$

F3-Span 40: Sorbitan monopalmitat

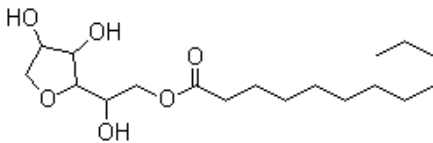
HLB: 6,7



$C_{22}H_{42}O_6$

F4-Span 20: Sorbitan monolaurat

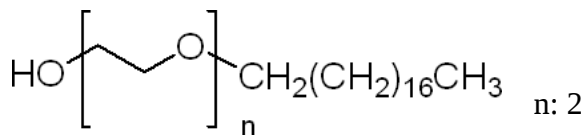
HLB: 8,6



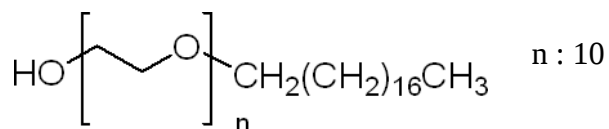
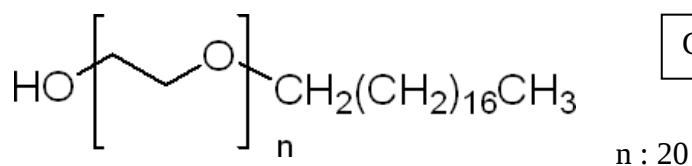
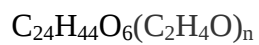
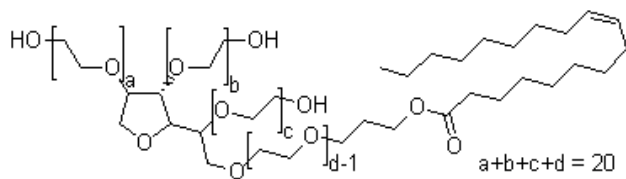
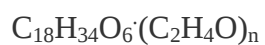
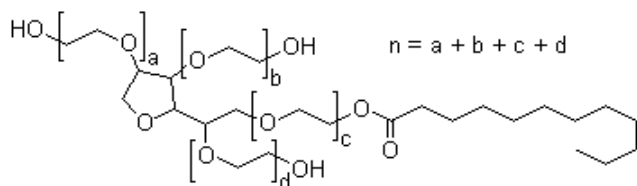
$C_{18}H_{34}O_6$

F5-Brij 72: Polioksietilen (2) stearyl eter

HLB: 4,9



$C_{18}H_{37}(OCH_2CH_2)_2OH$

F6-Brij 76: Polioksietilen (10) stearil eter**HLB:** 12,4**F7-Brij 78:** Polioksietilen (20) stearil eter**HLB:** 15,3**F8-Tween 80:** Polioksietilen sorbitan monooleat**HLB:** 15**F9-Tween 20:** Polioksietilen sorbitanmonolaurat**HLB:** 16,7

2.2.3. Etkin Maddesiz Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Kontroller

a) Partikül Büyüklüğü Analizi

Üretilen proniozomlardan 0,1'er gram tartılmıştır ve 1'er ml 80 °C'deki distile su ile hidrate edilip 2'şer dakika vorteks işlemine tabi tutulmuştur. Oluşan niozomal veziküllerin partikül büyüklüğü lazer ışığı kırınımı yöntemi ile ölçülmüştür. Ölçümler sonucu elde edilen verilerden yararlanılarak polidispersite indeksleri de Bölüm 1.3.2.5.2.'de anlatılan Eşitlik 1.3.'e göre hesaplanmıştır.

b) Optik Mikroskop Analizi

Üretilen proniozomal tozlardan lamlara konulmuştur ve üzerlerine damla damla distile su ilave edilmiştir. Daha sonra lam üzerine yayma işlemi uygulanmıştır ve lam üzerine lamel konulup farklı büyüklükteki objektiflerle optik mikroskop analizi gerçekleştirilmiştir.

2.2.4. Kandasantan Sileksetil İçeren Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Kontroller

2.2.4.1. Formülasyonlarda Ürün Verimi

Formülasyonda yer alan toplam katı miktarından ve final ürün olarak elde edilen proniozomal tozdan hareketle % ürün verimi hesaplanmıştır. (Eşitlik 2.1.)

$$\% \text{ Ürün Verimi} = (A / B) \times 100 \quad (\text{Eşitlik 2.1.})$$

A: Elde edilen kütlenin miktarı (mg)

B: Formülasyondaki toplam katı miktarı (mg)

2.2.4.2. Formülasyonlarda Etkin Madde Yükleme Etkinliğinin Hesaplanması

Tüm formülasyonlardan elde edilen 1'er g proniozomal toz, 10 mL'ye 80 °C'deki distile su ile tamamlanıp hidrate edilmiştir ve 2 dakika vorteks işlemi uygulanmıştır. Sonra elde edilen niozomal dispersiyonlara ultrasantrifüj işlemi uygulanmıştır. Ultrasantrifüj işlemi 45.000 rpm'de 4 °C'de 1 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Ultrasantrifüj işlemi sonrasında, santrifüj tüpünde üstteki bulanık süpernatant kısım niozomal veziküllerin içine yüklenemeyen serbest etkin maddeyi içermektedir; alt kısımdaki presipitat kısmı ise etkin madde yüklenmiş olan niozomal vezikülleri içermektedir.

Süpernatant kısmından analiz için süpernatantlardan üçer ayrı deney tüpüne üçer paralel yapmak için 1'er mL alınmıştır ve üzerlerine berraklaşana kadar metanol eklenmiştir. Formülasyonlardan elde edilen süpernatantların berraklaşması için eklenen metanol miktarları kaydedilmiştir. Sonra elde edilen bu berrak çözeltilerin verdiği absorbans değerleri etkin maddenin metanol ortamında maksimum pik verdiği dalga boyunda UV-spektrofotometresi kullanılarak okunmuştur. Bulunan absorbans değerlerinden, etkin maddenin metanol ortamındaki kalibrasyon doğrusunun denklemi kullanılarak konsantrasyonlar hesaplanmıştır. Sonuçlar, yüzde etkin madde yükleme etkinliği (% EE) şeklinde verilmiştir (Bkz. Eşitlik 1.2.).

2.2.4.3. Proniozomların Hidratasyonu ile Elde Edilen Niozomların Optik Mikroskop ile İncelenmesi

Elde edilen niozomal dispersiyonlardan mikropipet yardımıyla damla damla lam üzerine damlatılmıştır ve birkaç damla distile su ile lam üzerinde seyreltme ve lam üzerinde yayma işlemi yapılmıştır. Sonra üzerlerine lamel kapatılmıştır ve çeşitli büyütme dercelerinde elde edilen niozomal veziküllerin optik mikroskop görüntüleri incelenmiştir.

2.2.4.4. Proniozomlardan Etkin Madde Salımının İncelenmesi İçin Çözünme Hızı Test Yönteminin Belirlenmesi

Proniozomlardan etkin madde çıkışının incelenmesi için farklı çözünme hızı yöntemleri, farklı çözünme koşulları ve farklı ortamlar denenmiştir. Bu denemelerde incelenen formül, F2 kodlu formüldür. Yapılan çözünme hızı çalışmaları aşağıda verilmektedir (n=3).

Diyaliz yöntemi:

A- Doğrudan proniozomların kullanıldığı deney

Kandesartan sileksetilin dozu 8 mg olarak seçilmiştir ve formülasyonların etkin madde yükleme etkinlikleri de dikkate alınarak pronizomal tozlardan 8 mg etkin madde içerek şekilde proniozomal toz tartılmıştır. Diyaliz keseleri 1 gece önceden distile su ile muamele edilmiştir. Ertesi gün diyaliz keseleri sivri uçlu bir materyal yardımıyla açılmıştır ve içlerine önce çözünme ortamı olan pH 1,2 HCl çözeltisinden 2 mL konulmuştur; sonra 8 mg etkin maddeyi içeren proniozomal toz konulmuştur ve üzerine tekrar 2 mL çözünme ortamı eklenmiştir. Diyaliz keselerinin uçları uygun materyallerle sıkıca kapatılmıştır. Proniozom tozunu içeren diyaliz keseleri 400 mL çözünme ortamı içeren beherlerin içine atılmıştır, ve bu beherler çalkalayıcı su banyosunun haznelerine yerleştirilmiştir.

“Deneyin Devamı” : Bir behere de sadece ortam sıvısı konulmuştur ve bu beher de çalkalayıcı su banyosunun haznelerinden birine yerleştirilmiştir. Çalkalayıcı su banyosundaki suyun sıcaklığı 37 °C’ye ayarlanmıştır ve dakikada 60 kez çalkalayacak şekilde cihaz 6. hız kademesinde çalıştırılmıştır. Belirli zaman aralıklarında 3’er mL numune 0,45 µm’lik filtrelerle süzülerek ortamdan alınmıştır ve çözünme ortamına aynı anda 3 mL taze çözünme ortamı eklenmiştir. Alınan numunelerin verdiği absorbans değerleri, etkin maddenin kullanılan çözünme ortamında maksimum pik verdiği dalga boyunda UV-spektrofotometresi kullanılarak ölçülmüştür. Bulunan absorbans değerlerinden, etkin maddenin kullanılan çözünme ortamındaki kalibrasyon denklemlerinden yararlanılarak konsantrasyon değerleri

hesaplanmıştır. Her zaman diliminde açığa çıkan etkin madde miktarları, formülasyonda bulunan total etkin madde miktarına oranlanarak açığa çıkan % etkin madde miktarı belirlenmiştir.

B- Niozomal dispersiyonun kullanıldığı deney

3 adet diyaliz kesesinin içine konulmak üzere 8'er mg etkin madde içeren F2 kodlu proniozomal tozları 4'er mL 80 °C'deki distile su ile hidrate edilmiştir ve niozomal dispersiyonlar elde edilmiştir. Elde edilen bu niozomal dispersiyonlar diyaliz keselerinin içine konulmuştur. Diyaliz keselerinin ağızları kapatılmıştır ve diyaliz keseleri çalkalayıcı su banyosunda bulunan ve 400'er mL pH 1,2 HCl tamponu içeren beherlerin içine atılmıştır ve bu beherler çalkalayıcı su banyosunun haznelere yerleştirilmiştir. Deneyin devamı A sekmesindeki "Deneyin Devamı" kısmında anlatılan şekilde yapılmıştır.

C- Çözünme ortamı olarak % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 HCl çözeltisinin kullanıldığı deney

A sekmesinde yapılan deneyim aynısı % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında gerçekleştirilmiştir.

D- Saf etkin maddenin, etkin madde-sorbitol karışımının ve etkin maddenin metanol içindeki çözeltisinin kullanıldığı deneyler

D-1: Bir adet diyaliz kesesinin içine önce 2 mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF konulmuştur, sonra 8 mg saf etkin madde konulmuştur, sonra da 2 mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF daha konulmuştur. Başka bir diyaliz kesesine ise 2 mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF konulmuştur, sonra 8 mg saf etkin madde ve 92 mg sorbitol içeren 100 mg toz konulmuştur, sonra da 2 mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF daha konulmuştur. Diyaliz keselerinin ağızları kapatılmıştır ve diyaliz keseleri çalkalayıcı su banyosunda bulunan ve içlerinde 400'er mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF bulunan beherlerin içine atılmıştır ve bu beherler çalkalayıcı su

banyosunun haznelerine yerleştirilmiştir. Deneyin devamı A sekmesindeki “Deneyin Devamı” kısmında anlatılan şekilde yapılmıştır.

D-2 : Bir adet diyaliz kesesinin içine önce 2 mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF konulmuştur, sonra 1 mg saf etkin madde içeren 0,1 mL metanoldeki etkin madde çözeltisi konulmuştur, sonra da 2 mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF daha konulmuştur. Başka bir diyaliz kesesine ise 2 mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF konulmuştur, sonra 10 mg saf etkin madde ve 90 mg sorbitol içeren 100 mg toz konulmuştur ve bu işlemin ardından da 2 mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF daha konulmuştur. Diyaliz keselerinin ağızları kapatılmıştır ve diyaliz keseleri çalkalayıcı su banyosunda bulunan ve içlerinde 400'er mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF bulunan beherlerin içine atılmıştır ve bu beherler çalkalayıcı su banyosunun haznelerine yerleştirilmiştir. Deneyin devamı A sekmesindeki “Deneyin Devamı” kısmında anlatılan şekilde yapılmıştır.

E- Proniozom içindeki etkin madde dozunun azaltılmasıyla gerçekleştirilen deney

3 adet diyaliz kesesinin her birinin içine önce 2 mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF (suni mide sıvısı pH 1,2) konulmuştur; sonra 1 mg etkin madde içeren F2 kodlu proniozomal toz konulmuştur; sonra 2 mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF daha konulmuştur. Diyaliz keselerinin ağızları kapatılmıştır ve diyaliz keseleri çalkalayıcı su banyosunda bulunan ve içlerinde 400'er mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF bulunan beherlerin içine atılmıştır ve bu beherler çalkalayıcı su banyosunun haznelerine yerleştirilmiştir. Deneyin devamı A sekmesindeki “Deneyin Devamı” kısmında anlatılan şekilde yapılmıştır.

F- Ultrasantrifüj sonrası elde edilen presipitatların ve proniozomal tozların kullanıldığı, çözünme ortamının miktarının düşürüldüğü, etkin madde dozunun düşürüldüğü ve çözünme ortamına sorbitolün eklendiği deneyler

F-1 : Bu deneylerde F4 ve F8 ve F9 kodlu formülasyonlardan elde edilen 1'er gram proniozomal tozların ultrasantrifüj işlemine tabi tutulmaları ile elde edilen **presipitat** kısımları kullanılmıştır. Presipitat kısmında niozomlar içine yüklenemeyen serbest

etkin madde ve suda çözünen taşıyıcı materyal olan sorbitol bulunmamaktadır; sadece niozomal toz yapısı (sürfaktan, kolesterol, DCP) ve niozomal toz içine yüklenen etkin madde bulunmaktadır. Diyaliz keseleriyle eskiden yapılan deneylerin aksine; bu çalışmada çözünme ortamının miktarı 400 mL'den **100** ve **50 mL**'ye düşürülmüştür. Ayrıca bu çalışmada çözünme hızı analizlerinde ortama konulan etkin madde dozu 8mg'dan **2mg**'a düşürülmüştür. Ayrıca bu çalışmada bazı numunelerde diyaliz kesesinin içine konulan çözünme ortamının miktarı da **4mL**'den **1 mL**'ye düşürülmüştür. Çözünme ortamı olarak % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF'nin kullanıldığı deneylerin devamı A sekmesindeki "Deneyin Devamı" kısmında anlatılan şekilde yapılmıştır.

F-2 : Bu deneylerde F8 ve F9 kodlu formülasyonlardan elde edilen 1'er gram proniozomların ultrasantrifüj işlemine tabi tutulmaları ile elde edilen **presipitat** kısımları kullanılmıştır. Bu çalışmada çözünme ortamının miktarı 400 mL'den **100 mL**'ye düşürülmüştür. Ayrıca bu çalışmada çözünme hızı analizlerinde ortama konulan etkin madde dozu 8mg'dan **4mg**'a düşürülmüştür. Ayrıca bu çalışmada diyaliz kesesinin içine konulan çözünme ortamının miktarı da **4mL**'den **2 mL**'ye düşürülmüştür. Deneyin diğer kısmında ise, F2 ve F6 kodlu formüllerden elde edilen **proniozomal tozlar** diyaliz keselerinin içerisine konulmuştur ve diğer tüm çözünme hızı deneylerinden farklı olarak dış ortama diyaliz kesesi içinde bulunan miktar kadar **sorbitol** eklenmiştir. Çözünme ortamı olarak % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF'nin kullanıldığı deneylerin devamı A sekmesindeki "Deneyin Devamı" kısmında anlatılan şekilde yapılmıştır.

Beher yöntemi:

A- % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında gerçekleştirilen deney

Bir adet beherin içine 8 mg etkin madde içeren F2 kodlu proniozomal tozu konulmuştur; üzerine de doğrudan 400 mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 HCl çözeltisi konulmuştur (Diyaliz kesesi kullanılmamıştır.). Bu beher çalkalayıcı su

banyosuna yerleştirilmiştir. Deneyin devamı “Diyaliz Yöntemi’nin” A sekmesindeki “Deneyin Devamı” kısmında anlatılan şekilde yapılmıştır.

B- pH 1,2 ortamında gerçekleştirilen deney

A sekmesinde yapılan deneyin aynısı pH 1,2 ortamında gerçekleştirilmiştir.

2.2.4.5. Farklı Formülasyonlarla Hazırlanan Proniozomlardan Etkin Madde Salımının İncelenmesi

Bölüm 2.2.4.4.’te anlatılan beher yöntemi kullanılarak 400’er mL % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamlarında F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8, F9 kodlu formülasyonlardan üretilen ve 8’er mg etkin madde içerecek şekilde tartılan proniozomal tozlardan etkin madde salımı incelenmiştir. Ayrıca 8 mg kandesartan sileksetil içeren ticari preparattan da etkin madde çıkışı aynı ortamda incelenmiştir.

2.2.5. Seçilen Formülasyon Üzerinde Yapılan İncelemeler

Yapılan deneyler sonucu seçilen formülasyon:



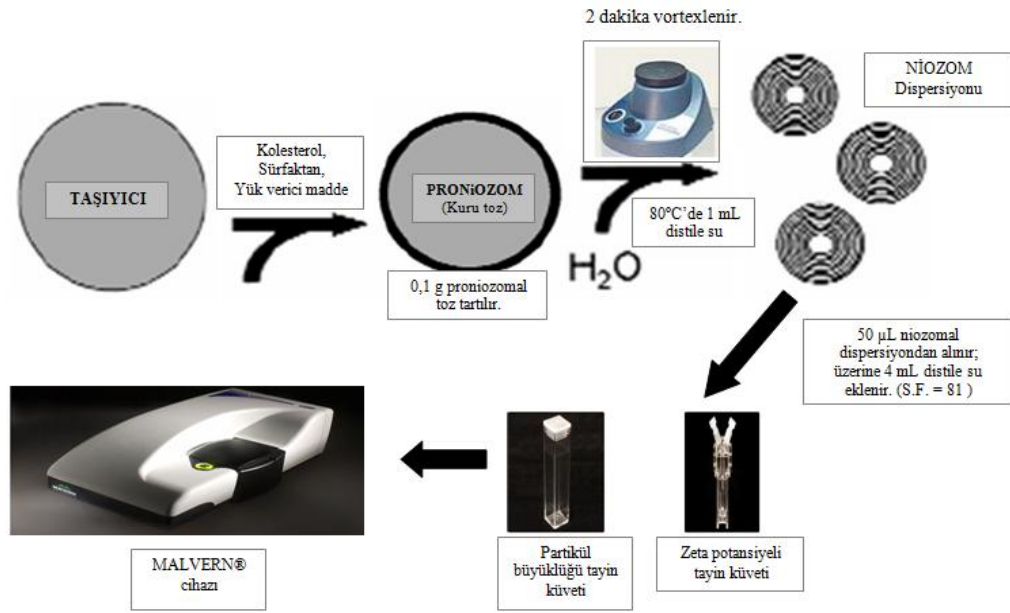
(10 mL kloroform içinde)

Rotavapor dönü hızı: 60 rpm
Sıcaklık: $45 \pm 2^{\circ}\text{C}$

	<u>mg</u>	<u>Molar</u>	
Kandesartan :	69,61	0,0114	
1k { Span 60 :	49,28	0,0114	[Span 60 : Kolesterol : DCP] 47,5 : 47,5 : 5
Kolesterol :	44,23	0,0114	
DCP :	6,490	0,0012	
20k { Sorbitol :	2000 (2g)	1,0976	
↓ (0,25-0,50mm)			

2.2.5.1. Proniozomlardan Hidratasyonla Oluşturulan Niozomların Partikül Büyüklüğünün, Zeta Potansiyelinin ve Polidispersite İndeksinin Ölçülmesi

Geliştirilen etkin maddeli formüllerden seçilen final formülde ise üretilen niozomal veziküller 0,8 μm 'lik filtreden geçirilmiştir ve niozomal veziküllerin partikül büyüklüğü, zeta potansiyeli, polidispersite indeksi indeksi dinamik ışık saçılımı (DLS) yöntemi ile tayin edilmiştir (Malvern Zetasizer Nano ZS). Ölçüm için 0,1 g proniozomal toz, 1 mL 80 $^{\circ}\text{C}$ 'deki distile su ile hidrate edilir ve 2 dakika vorteks işlemine tabi tutulur.. Plastik ve contalı olan bir enjektöre oda sıcaklığındaki distile sudan 4 mL konulur ve üzerine elde edilen niozomal dispersiyondan mikropipet ile 50 μL konulur. Cihazın kuvvetlerine yeterli seviyeye kadar elde edilen bu karışımdan konulur. Partikül büyüklüğü ve zeta potansiyeli ölçmek için farklı kuvvetler kullanılmaktadır.



Şekil 2.3. Niozomal veziküllerin partikül büyüklüğünün, polidispersite indeksinin ve zeta potansiyelinin ölçümünde izlenen yol ve ölçüm cihazı.

2.2.5.2. Sorbitol Partikül Büyüklüğünün Etkin Madde Salımına Etkisi

Elek analizi sonucunda elde edilen sorbitol fraksiyonlarından çeşitli partikül büyüklüğü aralığındaki sorbitoller (0,125-0,25 mm; 0,25-0,50 mm; 0,50-0,75 mm) kullanılarak Bölüm 2.2.1.1.'de anlatılan bulamaç yöntemi kullanılarak F2 kodlu formülasyondan oluşturulan 8'er mg etkin madde içeren proniozomal tozların % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında çözünme hızı analizleri Bölüm 2.2.4.4.'te anlatılan beher yöntemine göre yapılmıştır ve sorbitol partikül büyüklüğünün etkin madde salımı üzerine etkisi incelenmiştir.

2.2.5.3. Etkin Madde Salımının Farklı pH Değerlerindeki Ortamlarda İncelenmesi

Seçilen F2 kodlu formülasyondan elde edilen 8'er mg etkin madde içeren proniozomal tozların ve ticari preparatın % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 , pH 4,5

ve pH 6,8 ortamlarında çözünme hızı analizleri Bölüm 2.2.4.4.'te anlatılan beher yöntemine göre yapılmıştır. Anlatılan beher yönteminden farklı olarak zaman birimlerinde 5'er mL numune alınmıştır ve çözünme ortamı 5'er mL taze ortam sıvısı ile tamamlanmıştır. Alınan numuneler 45.000 rpm'de 4 °C 'de 1 saat süreyle ultrasantrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Ultrasantrifüf sonrası santrifüj tüplerinin üst kısmındaki, alt kısmına göre daha berrakımsı olan sıvıdan UV spektrofotometrik analiz gerçekleştirilmiştir.

2.2.5.4. Etkin Madde Salım Kinetiklerinin İncelenmesi

Seçilen formülde % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 , pH 4,5 ve pH 6,8 ortamlarında yapılan çözünme hızı deneylerinden elde edilen veriler yardımıyla çeşitli çözünme hızı kinetiklerindeki (0. derece kinetik, 1. derece kinetik, Hixson Crowell modeli, Weibull modeli ve Higuchi modeli) parametreler, determinasyon katsayıları (r^2) ve artık kareler ortalamaları (RMS) lineer regresyon yardımıyla hesaplanmıştır.

a) 0. derece kinetik (Costa ve Lobo, 2001)

$$Q_t = Q_0 + k_0 t$$

Q_t : t zamanında açığa çıkan etkin madde miktarı

Q_0 : Çözeltide başlangıçtaki etkin madde miktarı

k_0 : 0. derece hız sabiti (% / dak)

t : zaman (dakika)

b) 1. derece kinetik (Costa ve Lobo, 2001)

$$\ln Q_t = \ln Q_0 + \ln k_1 t$$

Q_t : t zamanında açığa çıkan etkin madde miktarı

Q_0 : Çözeltide başlangıçtaki etkin madde miktarı

k_1 : 1. derece hız sabiti (dak^{-1})

t : zaman (dakika)

c) Hixon Crowell Modeli (Costa ve Lobo, 2001)

$$W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = K_s t$$

$W_0^{1/3}$: Farmasötik dozaj formunda başlangıçtaki etkin madde miktarının küpkökü

$W_t^{1/3}$: t zamanında farmasötik dozaj formunda açığa çıkmadan kalan etkin madde miktarının küpkökü

K_s : Yüzey-hacim ilişkisi ifade eden sabit (dak^{-1})

d) Weibull Modeli (Yüksel ve ark., 2000)

$$\% Q_t = 100 [1 - e^{-(t/T_d)^\beta}]$$

$\% Q_t$: t zamanında açığa çıkan etkin madde yüzdesi

t: zaman (dakika)

β : Şekil faktörü

T_d : Etkin maddenin % 63,2'sinin açığa çıktığı süre

e) Higuchi Modeli (Costa ve Lobo, 2001)

$$Q_t = K_H \sqrt{t}$$

Q_t : t zamanında açığa çıkan etkin madde miktarı

K_H : Higuchi çözünme hızı sabiti ($\text{dak}^{-1/2}$)

t: zaman (dakika)

2.2.5.5. Etkin Madde Yardımcı Madde Etkileşiminin İncelenmesi

Etkin maddenin yardımcı maddelerle etkileşiminin olup olmadığının incelenmesi için diferansiyel tarama kalorimetrisi ve x-ışını toz difraktometrisi yöntemlerinden yararlanılmıştır. Numuneler, Bölüm 2.2.1.1. ve 2.2.1.2.'de belirtildiği şekilde incelenmiştir. Seçilen F2 kodlu formülasyonun içinde yer alan kandesartan sileksetil, Span 60, kolesterol, sorbitol ve DCP Çizelge 2.3.'te belirtilen miktarlarda tartılarak küçük cam flakonlara konulmuştur. Bu maddeler dışında etkileşimin incelenmesi için F2 kodlu formülasyondan üretilen proniozomal toz da ayrı bir cam flakona konulmuştur. Ayrıca geometrik seyreltme ile iki adet fiziksel karışım hazırlanmıştır.

Fiziksel karışım (sorbitollü): Seçilen F2 kodlu formülasyonun içinde yer alan kandesartan sileksetil, Span 60, kolesterol, sorbitol ve DCP Çizelge 2.3.'te belirtilen miktarlarda tartılmıştır ve geometrik seyreltme ile porselen bir kapsülde karıştırılmıştır. Hazırlanan bu fiziksel karışım başka bir cam flakona konulmuştur.

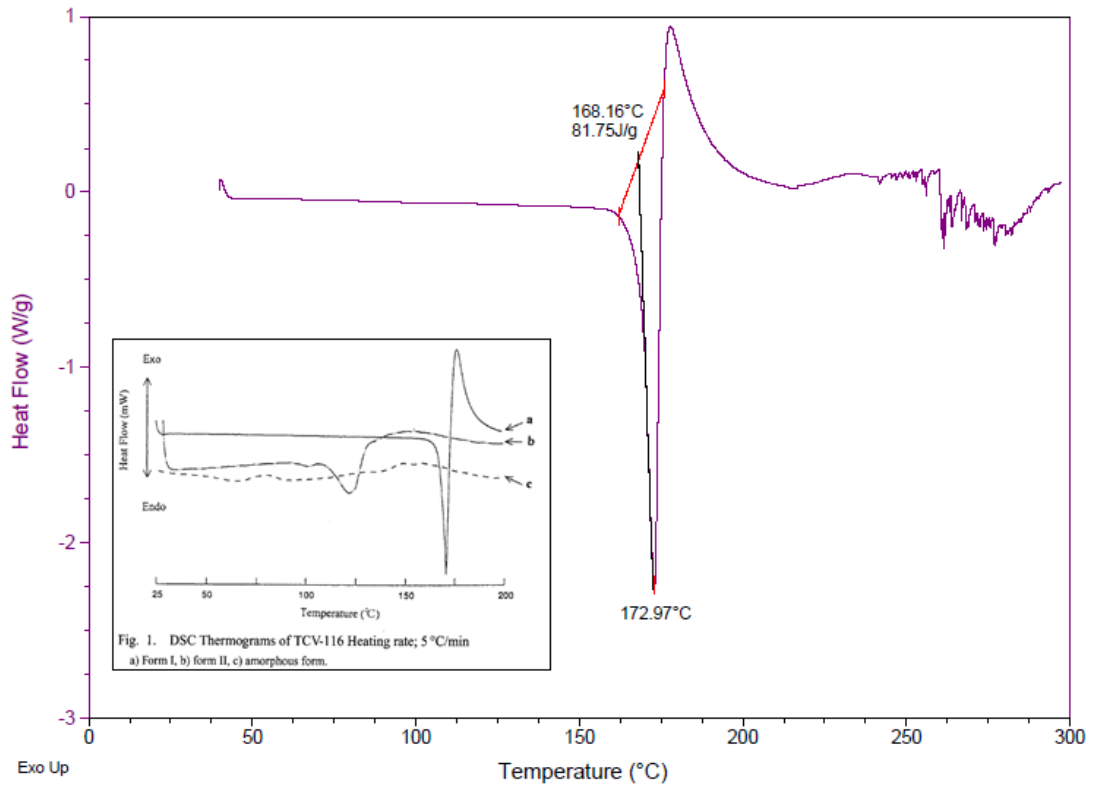
Fiziksel karışım (sorbitolsüz): Seçilen F2 kodlu formülasyonun içinde yer alan kandesartan sileksetil, Span 60, kolesterol ve DCP Çizelge 2.3.'te belirtilen miktarlarda tartılmıştır ve geometrik seyreltme ile porselen bir kapsülde karıştırılmıştır. Bu toz karışımına 10 mL kloroform eklenmiştir ve kloroform uçana kadar porselen kapsül içindeki karışım ısıtılmıştır. Kloroformun uçması sonucu porselen kapsülün içinde kalan toz başka bir cam flakona konulmuştur.

3. BULGULAR

3.1. Etkin Maddenin Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

3.1.1. Diferansiyel Tarama Kalorimetrisi (DSC) Analizi Bulguları

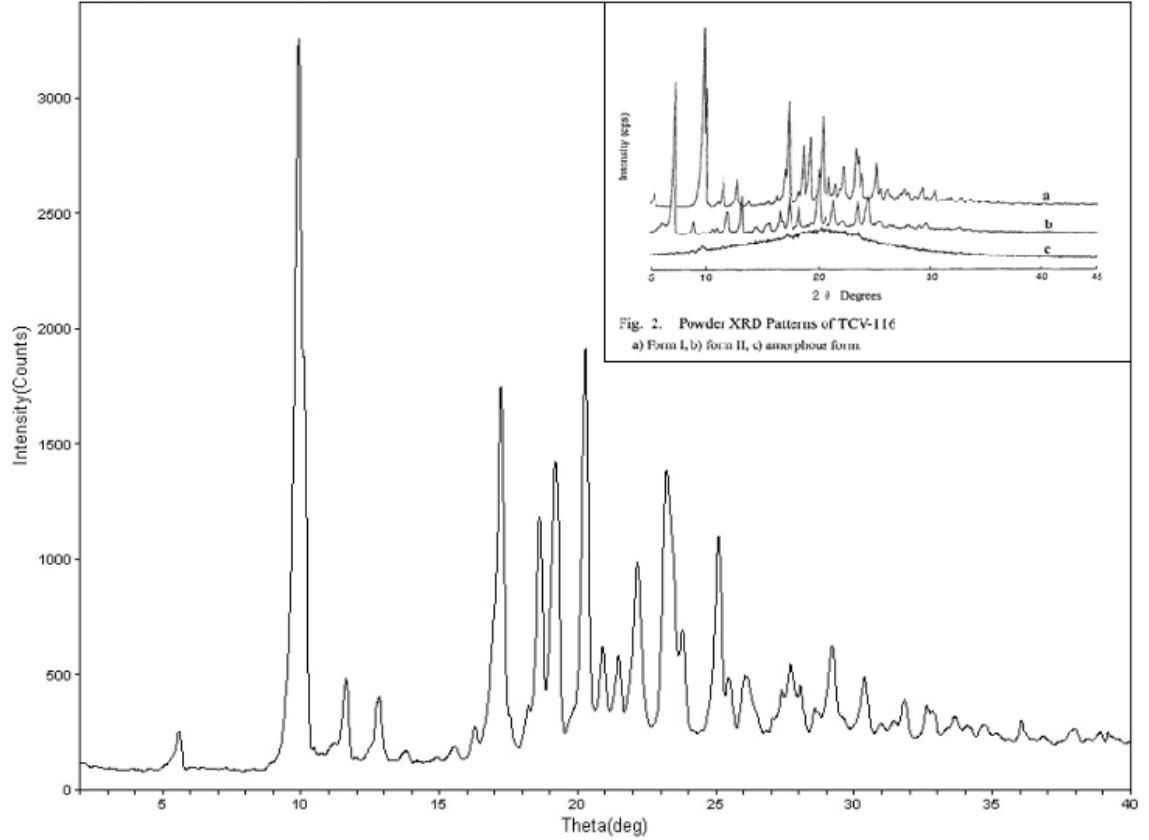
Şekil 3.1.'de kandesartan sileksetilin DSC ile alınan termogramı, küçük şekilde ise etkin maddenin literatürde verilen termogramı görülmektedir (Matsunaga ve ark., 1999). Literatürde kaydedilen etkin maddeye ait erime noktası, 169 °C ve bir diğerinde 168 °C'dir (Matsunaga ve ark., 1999; Satturwar ve ark., 2007). Yaptığımız DSC analizinde kandesartan sileksetilin erime derecesi, 168,2 °C'dir.



Şekil 3.1. Kandesartan sileksetilin DSC termogramı (Küçük şekilde etkin maddenin literatürde verilen termogramı görülmektedir (Matsunaga ve ark., 1999)).

3.1.2. X Işını Toz Difraktometrisi Analizi Bulguları

Şekil 3.2.'de çalışmada kullandığımız kandesartan sileksetilin x-ışını difraksiyon spektrumu görülmektedir. Küçük şekildeki spektrumlarla karşılaştırıldığında etkin maddenin form I şeklinde olduğu anlaşılmaktadır (Matsunaga ve ark., 1999).



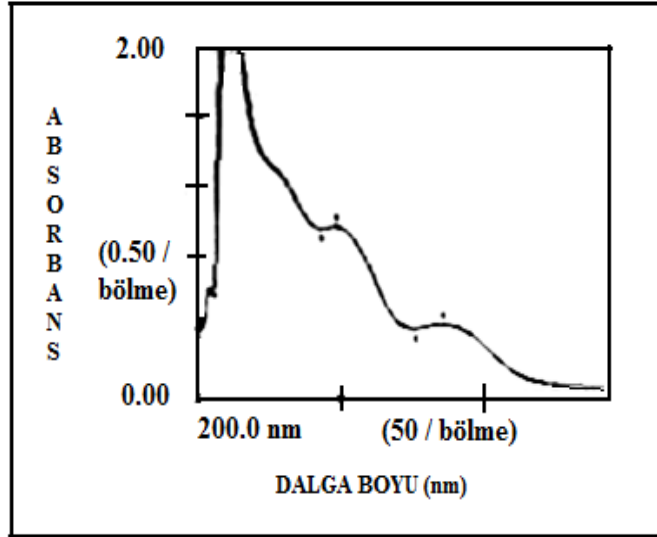
Şekil 3.2. Kandesartan sileksetilin X-ışını difraksiyon spektrumu (Küçük şekilde etkin maddenin literatürde verilen spektrumu görülmektedir (Matsunaga ve ark., 1999)).

3.1.3. Etkin Maddenin Ultra Viole (UV) Spektrofotometrisi Analizi Bulguları

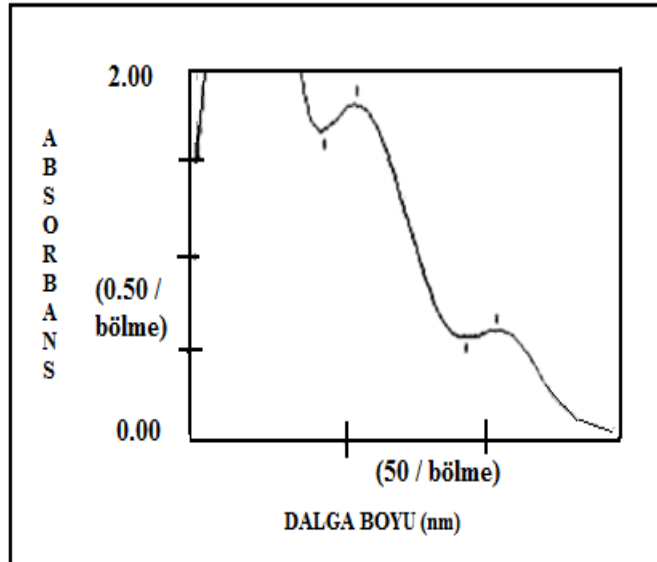
Etkin maddenin Bölüm 2.2.1.3.'de belirtildiği şekilde pH'sı 1,2 olan ortamda, pH'sı 1,2, 4,5 ve 6,8 olan ortamlara % 0,2 a/h oranında Tween 80 eklenmesiyle elde edilen ortamlarda ve metanol içinde alınan UV spektrumları Şekil 3.3.'te görülmektedir.

Çizelge 3.1.'de ise bu analiz sonucunda etkin maddenin değişik pH ortamlarında ve metanol içinde maksimum absorbans verdiği dalga boyları ($\lambda_{\max}$) verilmektedir.

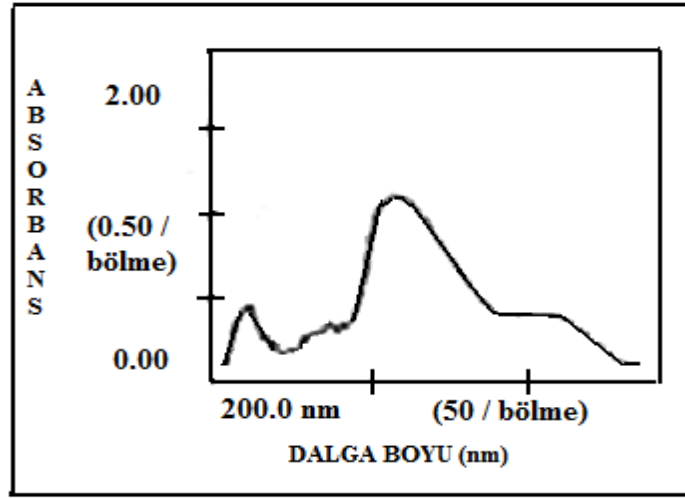
a) pH 1,2



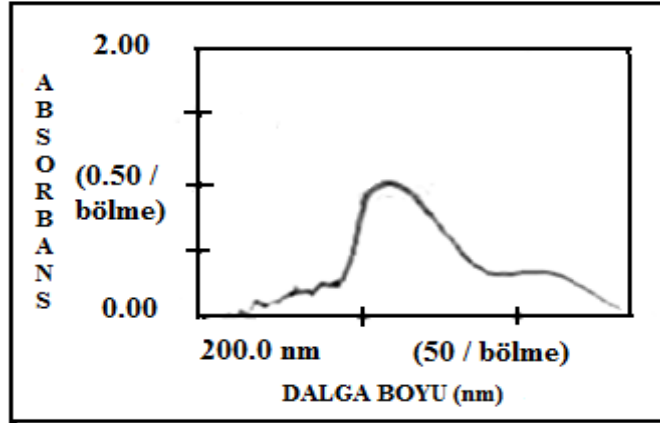
b) Metanol



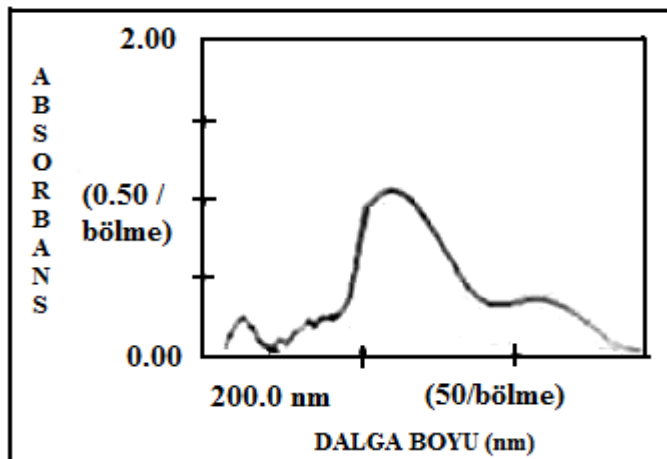
c) % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2



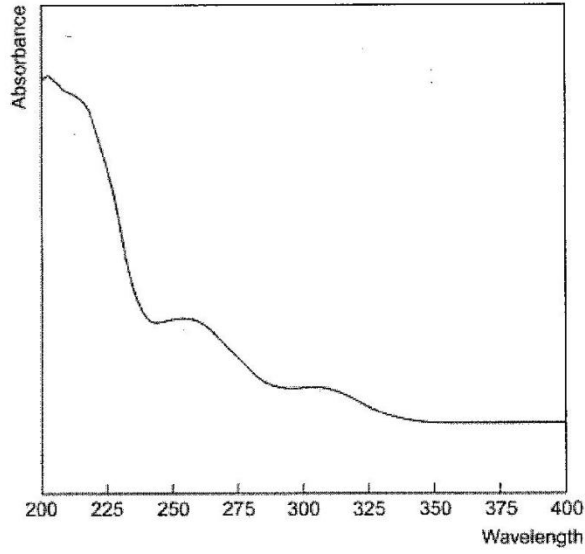
d) % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5



e) % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8



Şekil 3.3. Kandesartan sileksetilin (a) pH 1,2; (b) metanol; (c) % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2; (d) % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5; (e) % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8 ortamlarında alınan UV spektrumları.



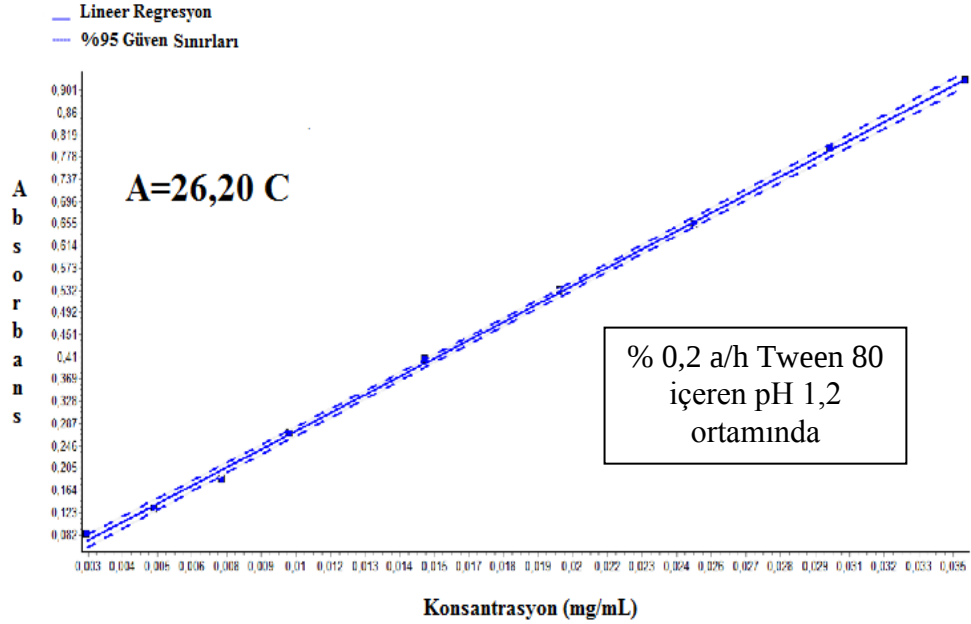
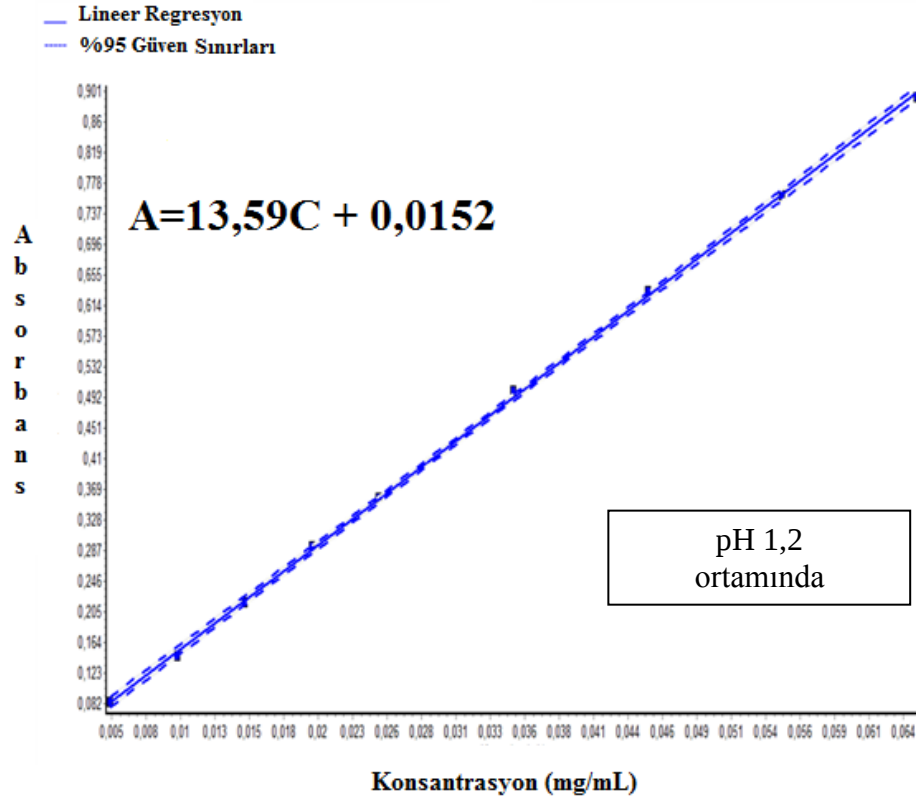
Şekil 3.4. Kandesartan sileksetilin metanol ortamında UV spektrumu (Moffat, 2005, s:740).

Çizelge 3.1. Kandesartan sileksetilin değişik ortamlar içinde maksimum absorbans verdiği dalga boyları ($\lambda_{\max}$).

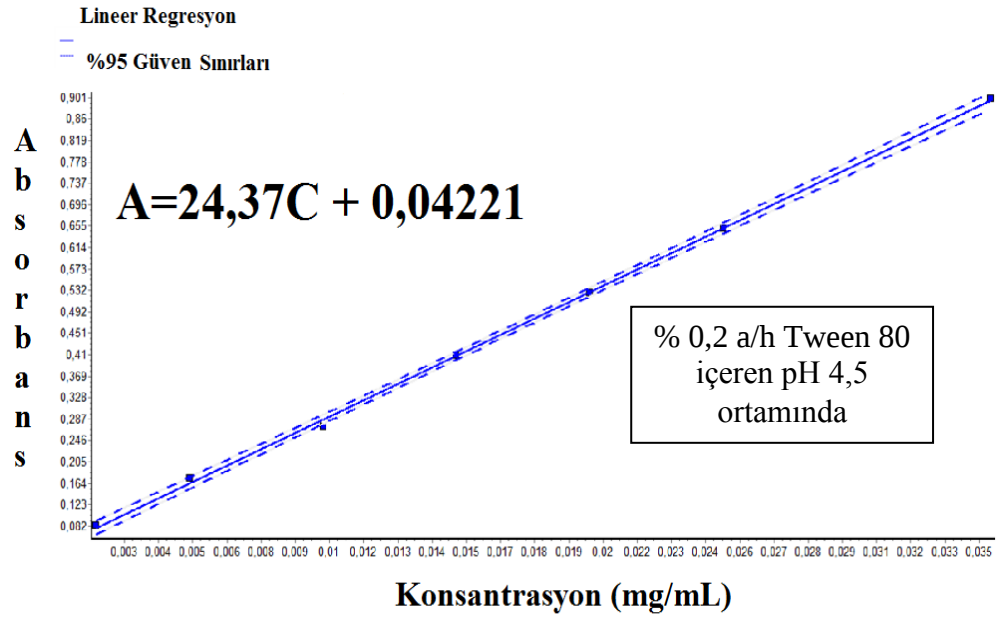
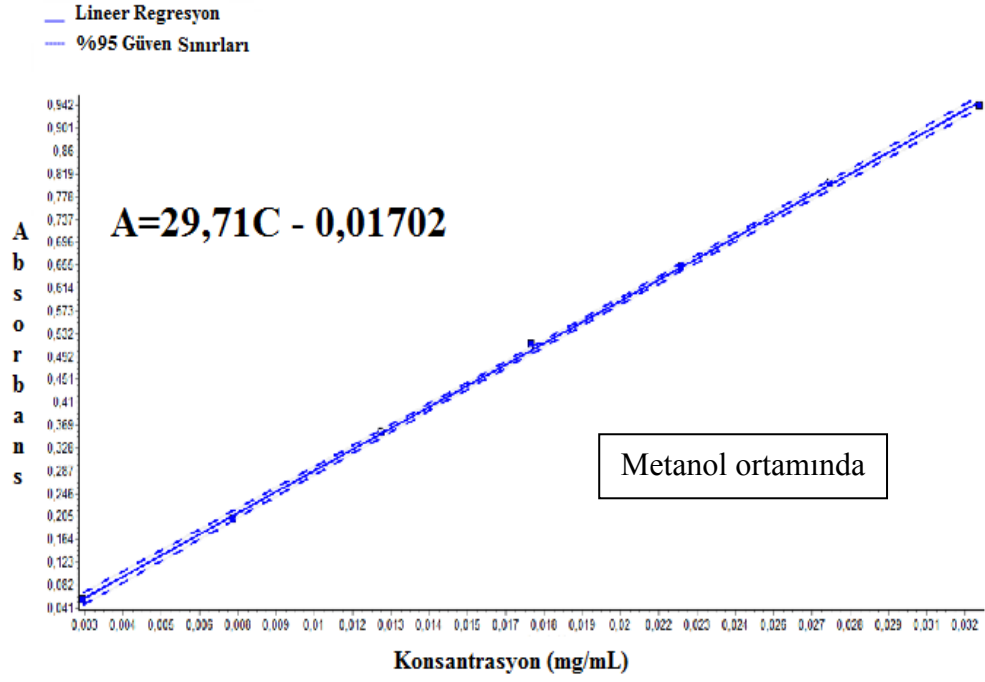
	ORTAM				
	pH 1,2	Metanol	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5	% 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8
($\lambda_{\max}$) (nm)	286,5	254,5	257,5	257,5	260,5

3.1.3.1. Etkin Maddenin UV Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak Oluşturulan Kalibrasyon Doğruları

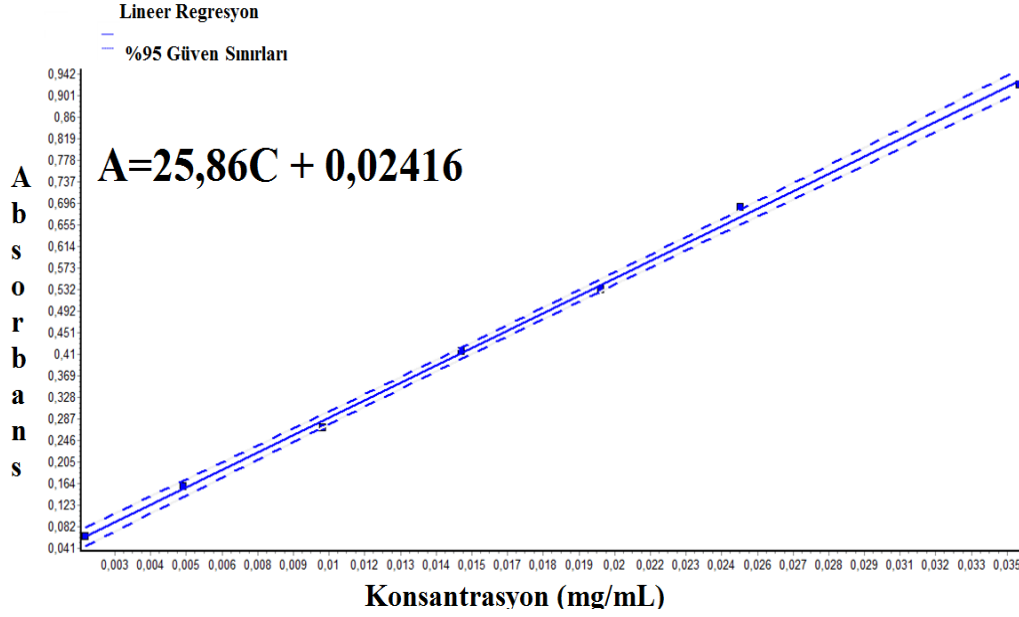
Etkin maddenin Bölüm 2.2.1.3.1.'de anlatıldığı üzere yapılan ölçümlerinden sonra elde edilen deney sonuçlarına göre oluşturulan kalibrasyon doğruları Şekil 3.5. – Şekil 3.7.'de verilmiştir.



Şekil 3.5. Kandesartan sileksetilin pH 1,2 ve % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamlarındaki kalibrasyon doğruları ve denklemleri.



Şekil 3.6. Kandesartan sileksetilin metanol ve % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 ortamında kalibrasyon doğruları ve denklemleri.



Şekil 3.7. Kandesartan sileksetilin % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8 ortamında kalibrasyon doğrusu ve denklemi.

3.1.3.2. Kalibrasyon Doğrularının İstatistiksel Verileri ve Analitik Validasyona Ait Bulgular

Oluşturulan kalibrasyon doğrularına ait parametreler Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kandesartan sileksetilin değişik ortamlarda elde edilen kalibrasyon doğrularına ait parametreler.

Ortam	pH 1,2	%0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2	Metanol	%0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5	%0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8
Eğim (m)	13,59	26,20	29,71	24,37	25,86
Standart Hatası	$9,5 \times 10^{-2}$	28×10^{-2}	24×10^{-2}	28×10^{-2}	39×10^{-2}
Güven Sınırları(%95)	13,36-13,81	25,54-26,87	29,10-30,32	23,65-25,10	24,85-26,86
Kesişim (n)	$15,2 \times 10^{-3}$	$4,00 \times 10^{-3}$	$(-)17,02 \times 10^{-3}$	$42,21 \times 10^{-3}$	$24,16 \times 10^{-3}$
Standart Hatası	$3,5 \times 10^{-3}$	$5,6 \times 10^{-3}$	$4,8 \times 10^{-3}$	$5,4 \times 10^{-3}$	$7,5 \times 10^{-3}$
Güven Sınırları(%95)	$7,1 \times 10^{-3} - 23 \times 10^{-3}$	$(-)9,3 \times 10^{-3} - 17 \times 10^{-3}$	$(-)29 \times 10^{-3} - (-)4,7 \times 10^{-3}$	$2,8 \times 10^{-3} - 56 \times 10^{-3}$	$4,8 \times 10^{-3} - 43 \times 10^{-3}$
Determinasyon Katsayısı (r^2)	0,9997	0,9992	0,9997	0,9993	0,9990
Artık Kareler Ortalaması (RMS)	$3,15 \times 10^{-5}$	$8,38 \times 10^{-5}$	$3,94 \times 10^{-5}$	$6,45 \times 10^{-5}$	$12,6 \times 10^{-5}$

3.1.3.2. 1. Doğruluk ve Geri Elde

Herbir ortam için elde edilen doğruluk ve % geri elde değerleri ve bu değerlere ait ortalama, standart sapma (SS) ve bağıl standart sapma değerleri (%), Çizelge 3.3. – 3.7.’de yer almaktadır.

Çizelge 3.3. pH 1,2 ortamında doğruluk testine ait veriler.

Okuma No	1. Konsantrasyon (10,00x10 ⁻³ mg/mL)			2. Konsantrasyon (35,00x10 ⁻³ mg/mL)			3. Konsantrasyon (65,00x10 ⁻³ mg/mL)		
	Absorbans (Abs.)	Bulunan kons. (C) (mg/mL)	Geri Elde (%)	Abs.	Bulunan C (mg/mL)	Geri Elde (%)	Abs.	Bulunan C (mg/mL)	Geri Elde (%)
1	0,137	8,964x10 ⁻³	89,64	0,482	34,36x10 ⁻³	98,17	0,871	62,99x10 ⁻³	96,91
2	0,138	9,038x10 ⁻³	90,38	0,482	34,36x10 ⁻³	98,17	0,870	62,91x10 ⁻³	96,78
3	0,138	9,038x10 ⁻³	90,38	0,481	34,28x10 ⁻³	97,94	0,871	62,99x10 ⁻³	96,91
4	0,138	9,038x10 ⁻³	90,38	0,483	34,43x10 ⁻³	98,37	0,872	63,06x10 ⁻³	97,02
5	0,139	9,112x10 ⁻³	91,12	0,484	34,50x10 ⁻³	98,57	0,871	62,99x10 ⁻³	96,91
6	0,139	9,112x10 ⁻³	91,12	0,482	34,36x10 ⁻³	98,17	0,871	62,99x10 ⁻³	96,91
Ort.		9,050x10 ⁻³	90,50		34,38x10 ⁻³	98,23		62,98x10 ⁻³	96,91
SS*		5,571 x 10 ⁻⁵	0,5571		7,494 x 10 ⁻⁵	0,2145		4,750 x 10 ⁻⁵	76,07 x 10 ⁻³
(%) BSS**		0,6155	0,6155		0,2180	0,2183		0,07543	0,0785

* SS : Standart Sapma

** BSS : (%) Bağıl Sapma

Çizelge 3.4. % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında doğruluk testine ait veriler.

Okuma No	1. Konsantrasyon (5,000x10 ⁻³ mg/mL)			2. Konsantrasyon (20,00x10 ⁻³ mg/mL)			3. Konsantrasyon (35,00x10 ⁻³ mg/mL)		
	Absorbans (Abs.)	Bulunan kons. (C) (mg/mL)	Geri Elde (%)	Abs.	Bulunan C (mg/mL)	Geri Elde (%)	Abs.	Bulunan C (mg/mL)	Geri Elde (%)
1	0,129	4,923x10 ⁻³	98,46	0,531	20,27x10 ⁻³	101,4	0,919	35,07x10 ⁻³	100,2
2	0,131	4,999x10 ⁻³	99,98	0,530	20,23x10 ⁻³	101,2	0,926	35,34x10 ⁻³	100,9
3	0,133	5,076x10 ⁻³	101,5	0,532	20,30x10 ⁻³	101,5	0,920	35,11x10 ⁻³	100,3
4	0,129	4,923x10 ⁻³	98,46	0,532	20,30x10 ⁻³	101,5	0,923	35,23x10 ⁻³	100,7
5	0,126	4,809x10 ⁻³	96,18	0,531	20,27x10 ⁻³	101,4	0,919	35,07x10 ⁻³	100,2
6	0,132	5,038x10 ⁻³	100,8	0,532	20,30x10 ⁻³	101,5	0,920	35,11x10 ⁻³	100,3
Ort.		4,961x10 ⁻³	99,23		20,28x10 ⁻³	101,4		35,16x10 ⁻³	100,4
SS		9,653 x 10 ⁻⁵	1,932		2,787 x10 ⁻⁵	0,1169		10,80 x 10 ⁻⁵	0,2944
(%) BSS		1,946	1,947		0,1374	0,1153		0,3072	0,2932

Çizelge 3.5. Metanol ortamında doğruluk testine ait veriler.

Okuma No	1. Konsantrasyon (2,500x10 ⁻³ mg/mL)			2. Konsantrasyon (17,50x10 ⁻³ mg/mL)			3. Konsantrasyon (32,50x10 ⁻³ mg/mL)		
	Absorbans (Abs.)	Bulunan kons. (C) (mg/mL)	Geri Elde (%)	Abs.	Bulunan C (mg/mL)	Geri Elde (%)	Abs.	Bulunan C (mg/mL)	Geri Elde (%)
1	0,071	2,963x10 ⁻³	118,5	0,514	17,88 x10 ⁻³	102,2	0,922	31,61x10 ⁻³	97,26
2	0,070	2,929x10 ⁻³	117,2	0,519	18,04 x10 ⁻³	103,1	0,922	31,61x10 ⁻³	97,26
3	0,072	2,997x10 ⁻³	119,9	0,521	18,11 x10 ⁻³	103,5	0,922	31,61x10 ⁻³	97,26
4	0,070	2,929x10 ⁻³	117,2	0,520	18,08 x10 ⁻³	103,3	0,919	31,51x10 ⁻³	96,95
5	0,069	2,896x10 ⁻³	115,8	0,516	17,94 x10 ⁻³	102,5	0,921	31,58x10 ⁻³	97,17
6	0,069	2,896x10 ⁻³	115,8	0,520	18,08 x10 ⁻³	103,3	0,921	31,58x10 ⁻³	97,17
Ort.		2,935 x10 ⁻³	117,4		18,02 x10 ⁻³	102,9		31,58 x10 ⁻³	97,18
SS		3,935 x 10 ⁻⁵	1,591		9,131 x10 ⁻⁵	0,5154		3,882 x 10 ⁻⁵	0,1202
(%) BSS		1,341	1,355		0,5067	0,5009		0,1229	0,1237

Çizelge 3.6. % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 ortamında doğruluk testine ait veriler.

Okuma No	1. Konsantrasyon (5,000x10 ⁻³ mg/mL)			2. Konsantrasyon (15,00x10 ⁻³ mg/mL)			3. Konsantrasyon (25,00x10 ⁻³ mg/mL)		
	Absorbans (Abs.)	Bulunan kons. (C) (mg/mL)	Geri Elde (%)	Abs.	Bulunan C (mg/mL)	Geri Elde (%)	Abs.	Bulunan C (mg/mL)	Geri Elde (%)
1	0,168	5,161x10 ⁻³	103,2	0,407	14,97x 10 ⁻³	99,80	0,654	25,10x10 ⁻³	100,4
2	0,166	5,079x10 ⁻³	101,6	0,415	15,29x10 ⁻³	101,9	0,659	25,31x10 ⁻³	101,2
3	0,165	5,038x10 ⁻³	100,8	0,405	14,89x10 ⁻³	99,27	0,654	25,10x10 ⁻³	100,4
4	0,168	5,161x10 ⁻³	103,2	0,405	14,89x10 ⁻³	99,27	0,652	25,02x10 ⁻³	100,1
5	0,165	5,038x10 ⁻³	100,8	0,404	14,84x10 ⁻³	98,93	0,660	25,35x10 ⁻³	101,4
6	0,170	5,243x10 ⁻³	104,9	0,410	15,09x10 ⁻³	100,6	0,652	25,02x10 ⁻³	100,1
Ort.		5,120x10 ⁻³	102,4		14,99 x 10 ⁻³	99,96		25,15x10 ⁻³	100,6
SS		8,200x10 ⁻⁵	1,630		16,89x10 ⁻⁵	1,115		14,45 x 10 ⁻⁵	0,5621
(%) BSS		1,602	1,592		119 x 10 ⁻²	1,115		0,5745	0,5588

Çizelge 3.7. % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8 ortamında doğruluk testine ait veriler.

Okuma No	1. Konsantrasyon (5,000x10 ⁻³ mg/mL)			2. Konsantrasyon (15,00x10 ⁻³ mg/mL)			3. Konsantrasyon (25,00x10 ⁻³ mg/mL)		
	Absorbans (Abs.)	Bulunan kons. (C) (mg/mL)	Geri Elde (%)	Abs.	Bulunan C (mg/mL)	Geri Elde (%)	Abs.	Bulunan C (mg/mL)	Geri Elde (%)
1	0,159	5,215x10 ⁻³	104,3	0,413	15,04 x10 ⁻³	100,3	0,674	25,13 x10 ⁻³	100,5
2	0,153	4,983x10 ⁻³	99,66	0,404	14,69x10 ⁻³	97,93	0,685	25,56 x10 ⁻³	102,2
3	0,157	5,138x10 ⁻³	102,8	0,408	14,85x10 ⁻³	99,00	0,674	25,13 x10 ⁻³	100,5
4	0,157	5,138x10 ⁻³	102,8	0,410	14,92x10 ⁻³	99,47	0,680	25,37 x10 ⁻³	101,5
5	0,156	5,099x10 ⁻³	101,9	0,410	14,92x10 ⁻³	99,47	0,677	25,25 x10 ⁻³	101,0
6	0,154	5,022x10 ⁻³	100,4	0,403	14,65x10 ⁻³	97,67	0,676	25,21x10 ⁻³	100,8
Ort.		5,099x10 ⁻³	101,9		14,85x10 ⁻³	98,97		25,28 x 10 ⁻³	101,1
SS		8,471 x 10 ⁻⁵	1,709		14,92 x 10 ⁻⁵	1,004		16,56 x 10 ⁻⁵	0,6616
(%) BSS		1,661	1,678		1,005	1,015		0,6551	0,6544

3.1.3.2. 2. Kesinlik

İki farklı gün içinde tekrarlanabilirlik ve iki farklı analist tarafından yapılan tekrar elde edilebilirlik parametreleri incelenmiştir. Deneyler ve teste ait veriler Çizelge 3.8. – Çizelge 3.17.'de verilmiştir.

✓ Tekrarlanabilirlik

Çizelge 3.8. pH 1,2 ortamında tekrarlanabilirlik testine ait sonuçlar.

Teorik C (mg/mL)	1. Günde Bulunan C (mg/mL)	2. Günde Bulunan C (mg/mL)
0,0250	0,0246	0,0232
0,0250	0,0247	0,0232
0,0250	0,0247	0,0230
0,0250	0,0246	0,0227
0,0250	0,0246	0,0230
0,0250	0,0245	0,0230
Ortalama C (mg/mL)	0,02462	0,02302
SS	$7,528 \times 10^{-5}$	$18,35 \times 10^{-5}$
% BSS	0,3058	0,7971

Çizelge 3.9. % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında tekrarlanabilirlik testine ait sonuçlar.

Teorik C (mg/mL)	1. Günde Bulunan C (mg/mL)	2. Günde Bulunan C (mg/mL)
0,0200	0,0202	0,0202
0,0200	0,0202	0,0202
0,0200	0,0203	0,0203
0,0200	0,0203	0,0204
0,0200	0,0202	0,0204
0,0200	0,0202	0,0202
Ortalama C (mg/mL)	0,02023	0,02028
SS	$5,164 \times 10^{-5}$	$9,832 \times 10^{-5}$
% BSS	0,2553	0,4848

Çizelge 3.10. Metanol ortamında tekrarlanabilirlik testine ait sonuçlar.

Teorik C (mg/mL)	1. Günde Bulunan C (mg/mL)	2. Günde Bulunan C (mg/mL)
0,0225	0,0228	0,0231
0,0225	0,0226	0,0234
0,0225	0,0226	0,0236
0,0225	0,0226	0,0232
0,0225	0,0227	0,0234
0,0225	0,0228	0,0234
Ortalama C (mg/mL)	0,02268	0,02335
SS	$9,832 \times 10^{-5}$	$17,61 \times 10^{-5}$
% BSS	0,4335	0,7540

Çizelge 3.11. % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 ortamında tekrarlanabilirlik testine ait sonuçlar.

Teorik C (mg/mL)	1. Günde Bulunan C (mg/mL)	2. Günde Bulunan C (mg/mL)
0,0200	0,0205	0,0200
0,0200	0,0203	0,0199
0,0200	0,0203	0,0199
0,0200	0,0200	0,0205
0,0200	0,0200	0,0203
0,0200	0,0200	0,0203
Ortalama C (mg/mL)	0,02018	0,02015
SS	$2,137 \times 10^{-4}$	$2,509 \times 10^{-4}$
% BSS	1,059	1,246

Çizelge 3.12. % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8 ortamında tekrarlanabilirlik testine ait sonuçlar.

Teorik C (mg/mL)	1. Günde Bulunan C (mg/mL)	2. Günde Bulunan C (mg/mL)
0,0200	0,0200	0,0197
0,0200	0,0198	0,0197
0,0200	0,0200	0,0197
0,0200	0,0199	0,0198
0,0200	0,0199	0,0197
0,0200	0,0199	0,0197
Ortalama C (mg/mL)	0,01992	0,01972
SS	$7,528 \times 10^{-5}$	$4,082 \times 10^{-5}$
% BSS	0,3779	0,2070

✓ **Tekrar Elde Edilebilirlik**

Çizelge 3.13. pH 1,2 ortamında tekrar elde edilebilirlik testine ait sonuçlar.

Teorik C (mg/mL)	1. Analist'in bulduğu C (mg/mL)	2. Analist'in bulduğu C (mg/mL)
0,0250	0,0239	0,0235
0,0250	0,0242	0,0233
0,0250	0,0243	0,0233
0,0250	0,0244	0,0236
0,0250	0,0244	0,0232
0,0250	0,0241	0,0238
Ortalama C (mg/mL)	0,02422	0,02345
SS	$1,941 \times 10^{-4}$	$2,258 \times 10^{-4}$
% BSS	0,8013	0,9630

Çizelge 3.14. % 0,2 Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında tekrar elde edilebilirlik testine ait sonuçlar.

Teorik C (mg/mL)	1. Analist'in bulduğu C (mg/mL)	2. Analist'in bulduğu C (mg/mL)
0,0300	0,0300	0,0307
0,0300	0,0300	0,0309
0,0300	0,0300	0,0308
0,0300	0,0300	0,0308
0,0300	0,0310	0,0308
0,0300	0,0300	0,0308
Ortalama C (mg/mL)	0,03016	0,03080
SS	$40,82 \times 10^{-5}$	$6,325 \times 10^{-5}$
% BSS	1,354	0,2053

Çizelge 3.15. Metanol ortamında tekrar elde edilebilirlik testine ait sonuçlar.

Teorik C (mg/mL)	1. Analist'in bulduğu C (mg/mL)	2. Analist'in bulduğu C (mg/mL)
0,0225	0,0223	0,0223
0,0225	0,0223	0,0224
0,0225	0,0223	0,0224
0,0225	0,0223	0,0224
0,0225	0,0222	0,0224
0,0225	0,0222	0,0223
Ortalama C (mg/mL)	0,02226	0,02236
SS	$5,164 \times 10^{-5}$	$5,164 \times 10^{-5}$
% BSS	0,2319	0,2309

Çizelge 3.16. % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 ortamında tekrar elde edilebilirlik testine ait sonuçlar.

Teorik C (mg/mL)	1. Analist'in bulduğu C (mg/mL)	2. Analist'in bulduğu C (mg/mL)
0,0100	0,0100	0,0100
0,0100	0,0097	0,0098
0,0100	0,0097	0,0098
0,0100	0,0097	0,0096
0,0100	0,0096	0,0096
0,0100	0,0096	0,0097
Ortalama C (mg/mL)	0,009716	0,00975
SS	$1,4719 \times 10^{-4}$	$1,5166 \times 10^{-4}$
% BSS	1,5149	1,555

Çizelge 3.17. % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8 ortamında tekrar elde edilebilirlik testine ait sonuçlar.

Teorik C (mg/mL)	1. Analist'in bulduğu C (mg/mL)	2. Analist'in bulduğu C (mg/mL)
0,0100	0,0100	0,0096
0,0100	0,0098	0,0095
0,0100	0,0100	0,0098
0,0100	0,0100	0,0096
0,0100	0,0100	0,0097
0,0100	0,0100	0,0100
Ortalama C (mg/mL)	0,009966	0,00970
SS	$8,165 \times 10^{-5}$	$17,89 \times 10^{-5}$
% BSS	0,8193	1,844

3.1.3.2. 3. Teşhis ve Tayin Sınırı

Teşhis ve tayin sınırları Bölüm 2.2.1.3.3.'de belirtildiği şekilde hesaplanmıştır. Deneyler ve teste ait veriler Çizelge 3.18. – Çizelge 3.22.'de görülmektedir.

Çizelge 3.18. pH 1,2 ortamında teşhis ve tayin alt sınırları tespitine ait veriler.

	C (mg / mL)		
	5x10⁻³ mg / mL	10x10⁻³ mg / mL	15x10⁻³ mg / mL
1. paralel absorbanısı	0,082	0,145	0,216
2. paralel absorbanısı	0,067	0,139	0,208
3. paralel absorbanısı	0,070	0,145	0,205
OSS*	5,696 x 10 ⁻³		
LOD**	1,383 x 10 ⁻³		
LOQ***	4,192 x 10 ⁻³		

* : Ortalama Standart Sapma

** : Teşhis Sınırı

*** : Tayin Alt Sınırı

Çizelge 3.19. Metanol ortamında teşhis ve tayin alt sınırları tespitine ait veriler.

	C (mg / mL)		
	2,5x10⁻³ mg / mL	7,5x10⁻³ mg / mL	12,5x10⁻³ mg / mL
1. paralel absorbanısı	0,055	0,201	0,355
2. paralel absorbanısı	0,075	0,225	0,373
3. paralel absorbanısı	0,072	0,202	0,370
OSS	11,34x10 ⁻³		
LOD	1,259 x 10 ⁻³		
LOQ	3,817 x 10 ⁻³		

Çizelge 3.20. % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında teşhis ve tayin alt sınırları tespitine ait veriler.

	C (mg / mL)		
	$2,5 \times 10^{-3}$ mg / mL	5×10^{-3} mg / mL	$7,5 \times 10^{-3}$ mg / mL
1. paralel absorbansı	0,082	0,129	0,184
2. paralel absorbansı	0,119	0,156	0,226
3. paralel absorbansı	0,097	0,167	0,248
OSS	$23,56 \times 10^{-3}$		
LOD	$2,967 \times 10^{-3}$		
LOQ	$8,992 \times 10^{-3}$		

Çizelge 3.21. % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 ortamında teşhis ve tayin alt sınırları tespitine ait veriler.

	C (mg / mL)		
	$1,5 \times 10^{-3}$ mg / mL	$2,5 \times 10^{-3}$ mg / mL	5×10^{-3} mg / mL
1. paralel absorbansı	0,075	0,104	0,173
2. paralel absorbansı	0,069	0,099	0,176
3. paralel absorbansı	0,083	0,112	0,173
OSS	$51,04 \times 10^{-3}$		
LOD	$6,910 \times 10^{-4}$		
LOQ	$20,94 \times 10^{-4}$		

Çizelge 3.22. % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 6,8 ortamında teşhis ve tayin alt sınırları tespitine ait veriler.

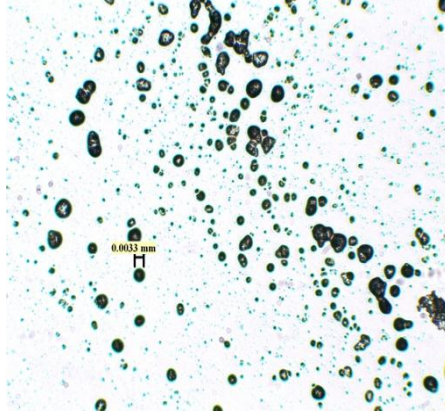
	C (mg / mL)		
	$1,5 \times 10^{-3}$ mg / mL	$2,5 \times 10^{-3}$ mg / mL	5×10^{-3} mg / mL
1. paralel absorbansı	0,064	0,102	0,168
2. paralel absorbansı	0,085	0,112	0,173
3. paralel absorbansı	0,088	0,108	0,179
OSS	$77,87 \times 10^{-4}$		
LOD	$9,036 \times 10^{-4}$		
LOQ	$30,12 \times 10^{-4}$		

3.2. Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

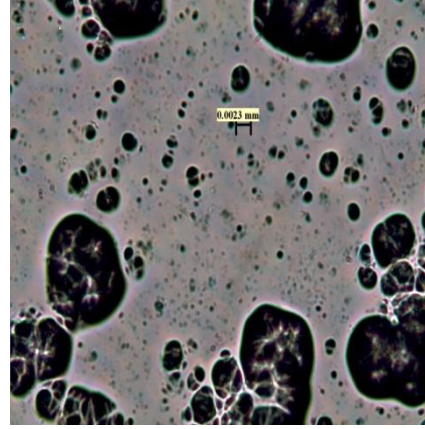
3.2.1. Etkin Maddesiz Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

3.2.1.1. Proniozom Üretimi Esnasında Kullanılacak Olan Yöntemin Seçimine Ait Bulgular

Etkin madde içermeyen proniozomlar Bölüm 2.2.2.1.1.'de anlatılan iki ayrı yöntemle üretilmiştir. İki ayrı yöntemle üretilen proniozomların optik mikroskop görüntüleri Şekil 3.8.'de verilmektedir.



Bulamaç Yöntemi



Sprey Yöntemi

Şekil 3.8. İki ayrı yöntemle üretilen proniozomlardan üretilen niozomların optik mikroskop görüntüleri (x 100).

3.2.1.2. Sorbitol'ün Partikül Büyüklüğünün Tayin Edilmesine Ait Bulgular

Proniozom üretimi esnasında taşıyıcı materyal olarak kullanılan sorbitolün partikül büyüklüğü elek analizi ile Bölüm 2.2.2.1.2.'de anlatıldığı şekilde tayin edilmiştir. Elek analizi sonucu farklı partikül büyüklüğü aralığında olan sorbitol fraksiyonları elde edilmiştir. Çizelge 3.23.'te sorbitol tozunun elek analizi verileri gösterilmektedir.

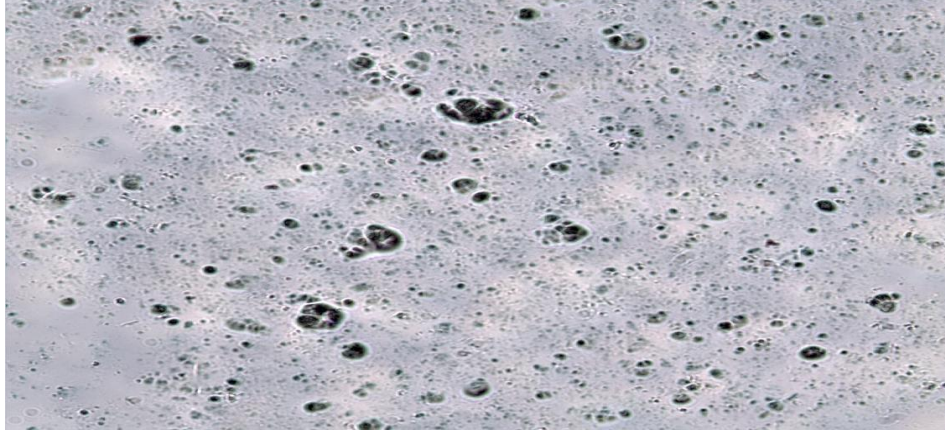
Çizelge 3.23. Sorbitol elek analizi verileri.

Elek Gözenek Çapı (mm)	Gözenek Çaplarının Aritmetik Ortalaması (mm)	Daha Küçük Eleğin Üstünde Kalan Miktar		% Yığılmalı Miktar	% Toz Miktarı x Ortalama Elek Çapı
		g	%		
1,5-1,25	1,375	21,74	20,35	20,35	27,98
1,25-1	1,125	0	0	20,35	0
1-0,75	0,875	16,30	15,25	35,60	13,34
0,75-0,5	0,625	14,33	13,41	49,01	8,38
0,5-0,25	0,375	15,56	14,56	63,57	5,46
0,25-0,125	0,1875	19,98	18,70	82,27	3,50
0,125-0	0,0625	18,92	17,71	100	1,10

$$d_{av} = \frac{\sum (\%toz \times elek\ çapı)}{100} = \frac{59,76}{100} = 0,598mm \quad (\text{Eşitlik 3.1.})$$

3.2.1.3. Proniozomdan Niozom Eldesinde Ortam Sıcaklığının ve Vorteks İşleminin Etkisinin Değerlendirilmesine Ait Bulgular

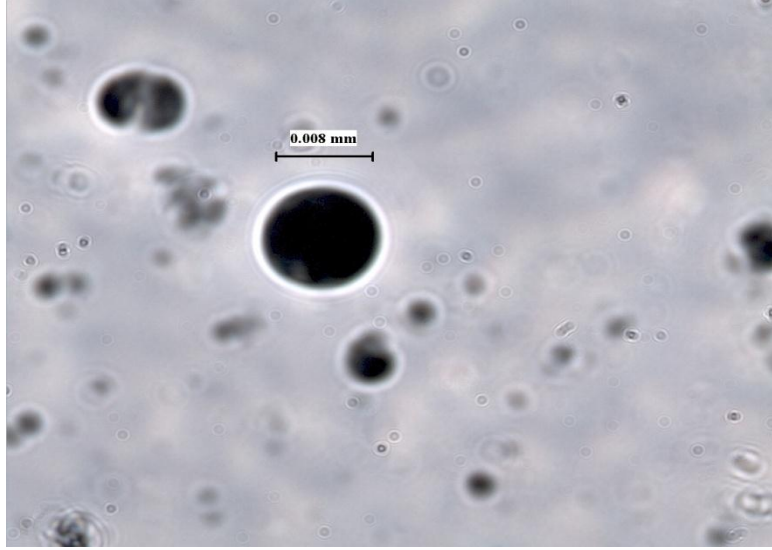
Proniozomlardan niozom eldesinde ortam sıcaklığının ve vorteks işleminin etkisi Bölüm 2.2.2.1.4.'te anlatıldığı şekilde değerlendirilmiştir. Deneylere ait optik mikroskop görüntüleri Şekil 3.9. ve 3.10.'da, partikül büyüklüğü verileri ise Çizelge 3.24.'te verilmektedir.



Şekil 3.9. 37 °C'deki suyla hidrate edilen proniozomlardan üretilen niozomların optik mikroskop görüntüsü (x 100).

Çizelge 3.24. 25°C'de ve 37 °C'deki distile su ile hidrate edilen proniozomlardan üretilen niozomlara ait partikül büyüklüğü analizi verileri.

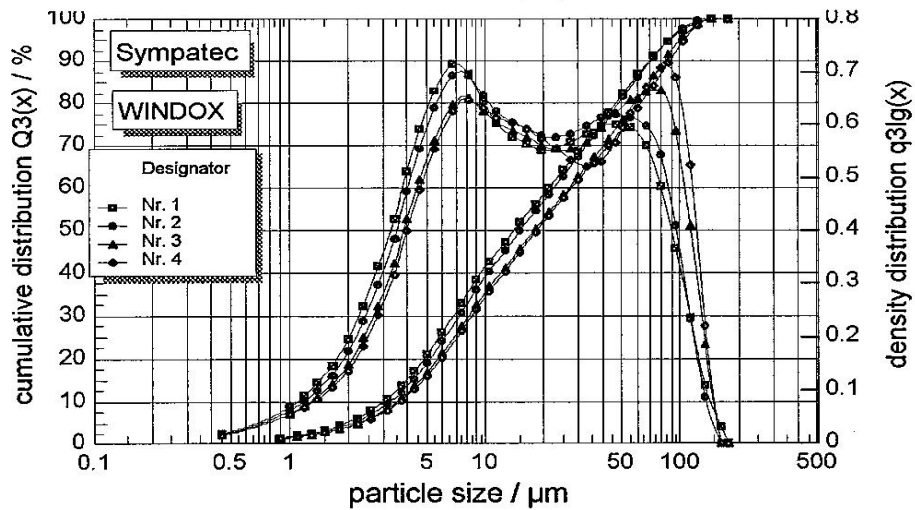
	Ortalama partikül büyüklüğü (μm)
25 °C'de hidrate edilen proniozom	3,198
37 °C'de hidrate edilen proniozom	3,860



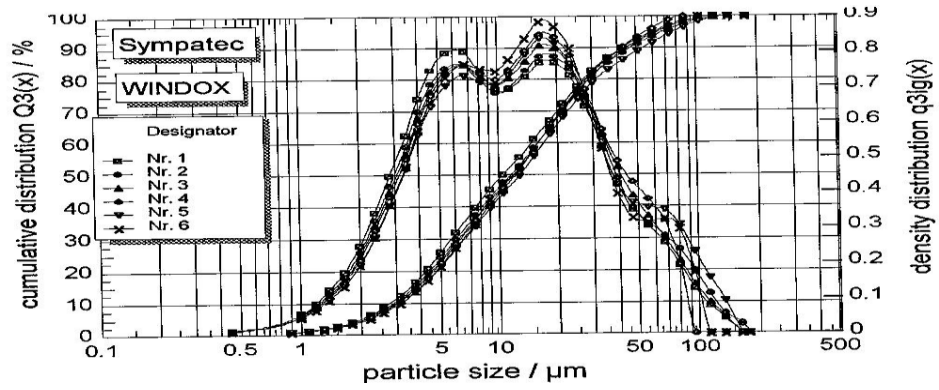
Şekil 3.10. Herhangi bir vorteks işlemi uygulanmadan doğrudan proniozomların hidrasyonu ile elde edilen niozomların optik mikroskop görüntüsü (x 400).

3.2.1.4. Etkin Maddesiz Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Kontrollere Ait Bulgular

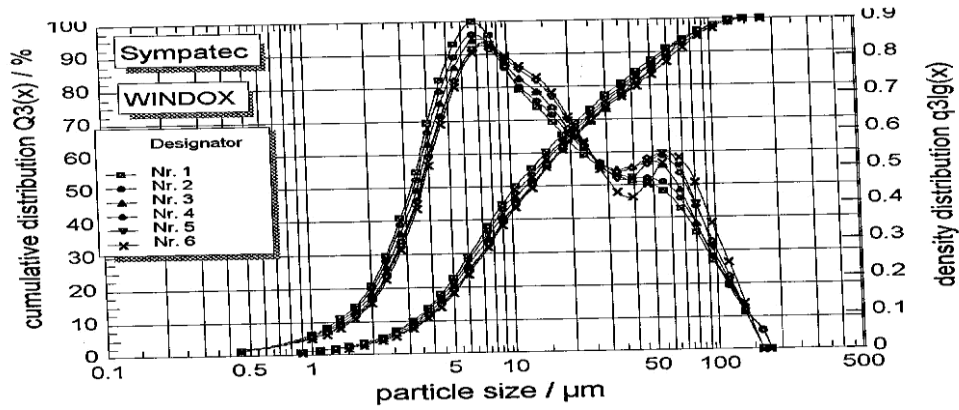
K1, K2, K3, K4 ve K5 kodlu etkin maddesiz formülasyonların partikül büyüklüğü analizleri ve optik mikroskop analizleri Bölüm 2.2.3.'te belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir. Deneylere ait sonuçlar Şekil 3.11. - 3.20.'de ve Çizelge 3.25.'te verilmektedir.



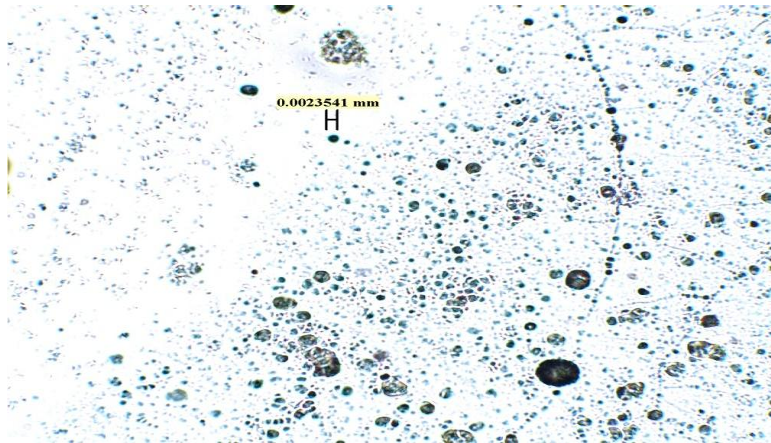
Şekil 3.11. Sprey yöntemi ile üretilen K1 kodlu formülasyona ait partikül büyüklüğü dağılımı grafiği.



Şekil 3.12. Bulamaç yöntemi ile üretilen K1 kodlu formülasyona ait partikül büyüklüğü dağılımı grafiği.

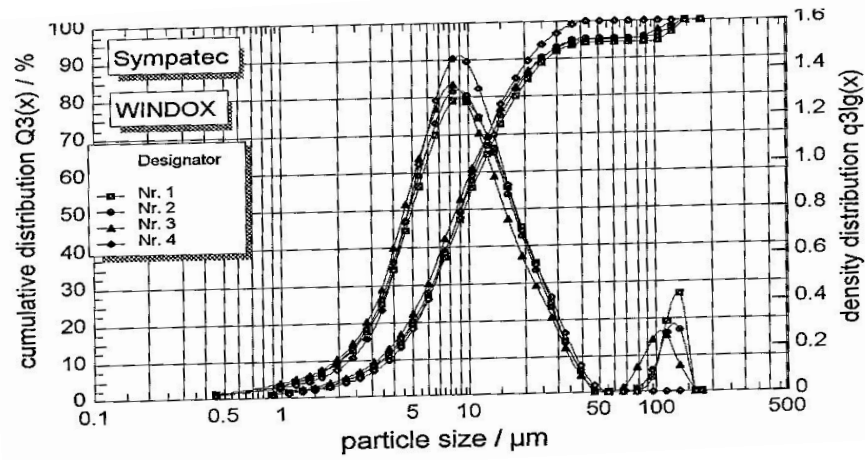


Şekil 3.13. K2 kodlu formülasyona ait partikül büyüklüğü dağılımı grafiği.

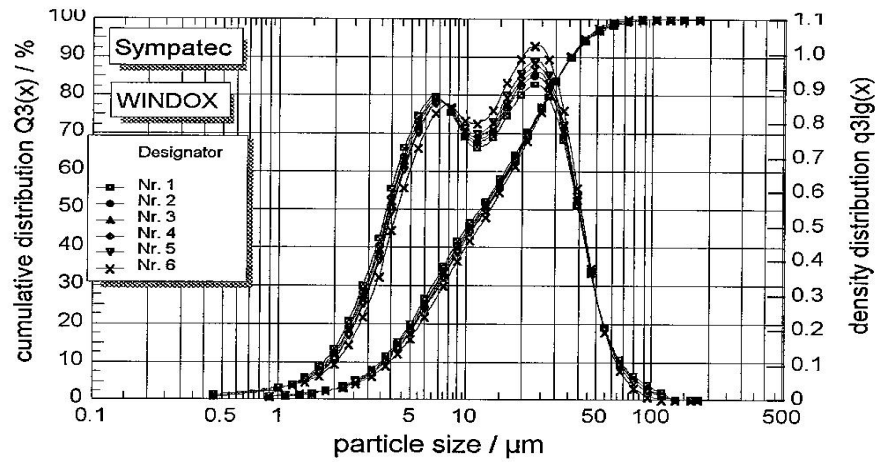


Şekil 3.14. K2 kodlu formülasyona ait optik mikroskop görüntüsü (x 100).

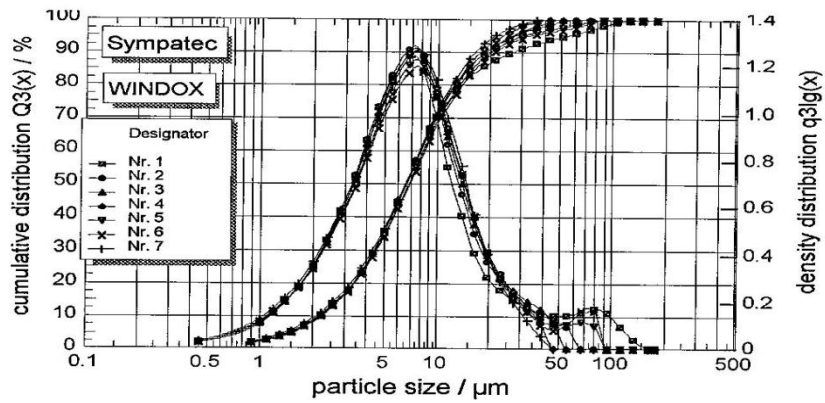
(a) K3-büyük



(b) K3-orta

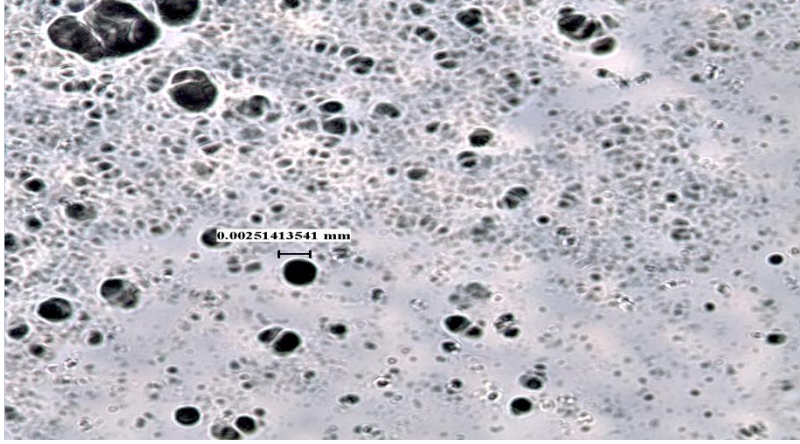


(c) K3-küçük

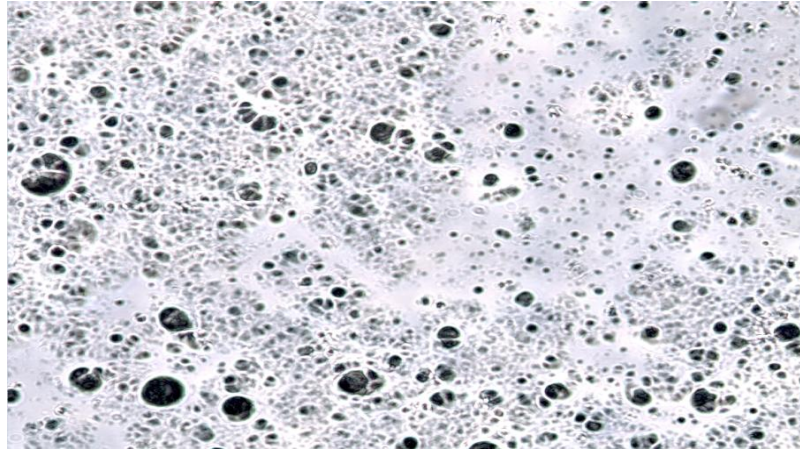


Şekil 3.15. Büyük, orta ve küçük partikül büyüklüğü aralığına sahip olan sorbitolle hazırlanan K3 kodlu formülasyona ait partikül büyüklüğü dağılımı grafikleri.

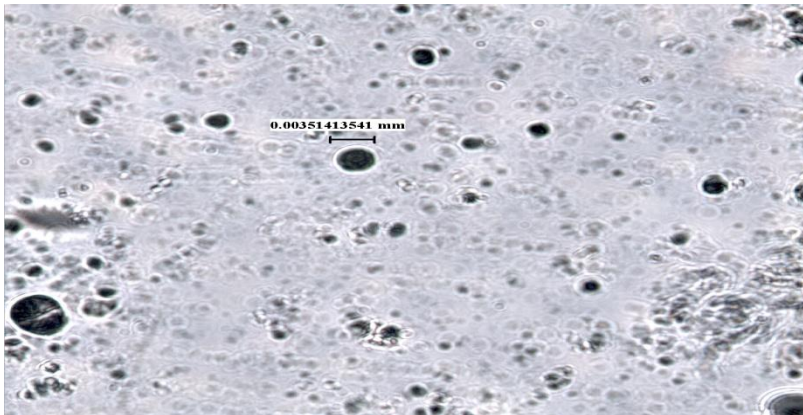
(a) K3-büyük



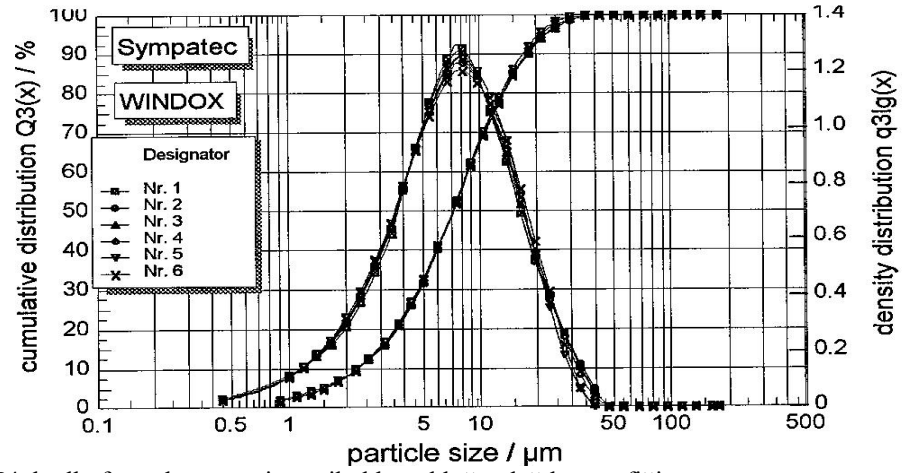
(b) K3-orta



(c) K3-küçük

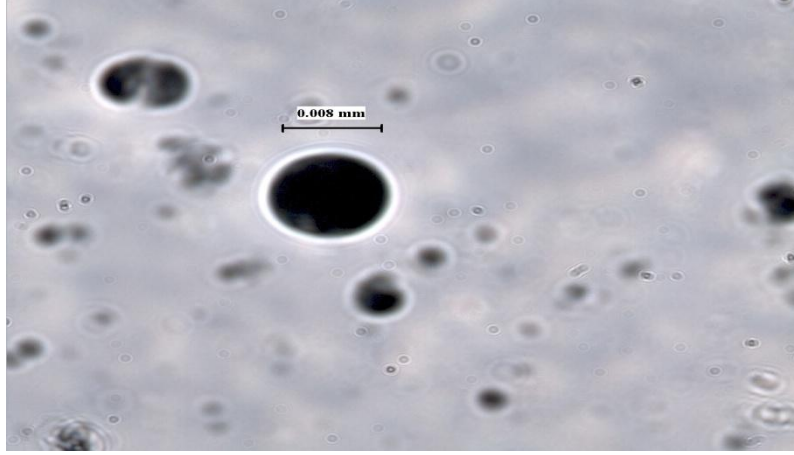


Şekil 3.16. Büyük, orta ve küçük partikül büyüklüğü aralığına sahip olan sorbitolle hazırlanan K3 kodlu formülasyona ait optik mikroskop görüntüleri (x 100).

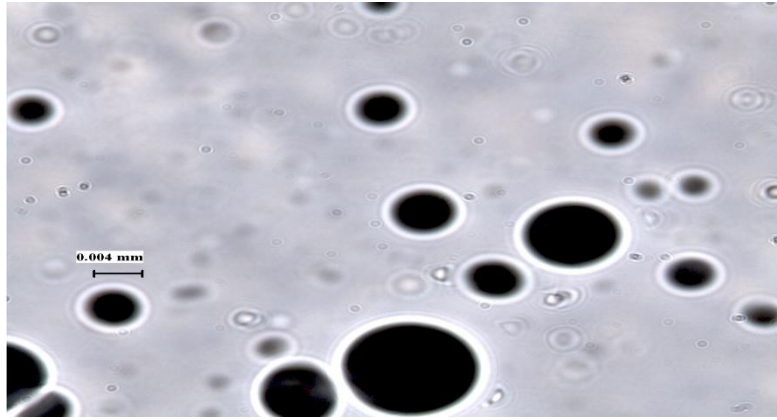


Şekil 3.17. K4 kodlu formülasyona ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği.

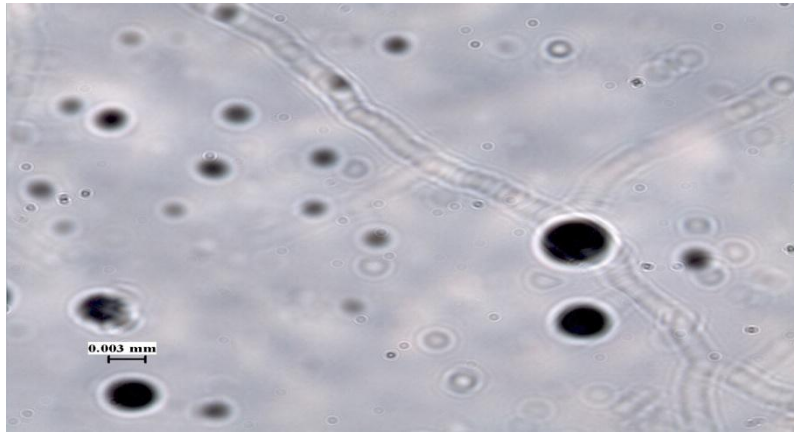
(a) K4-vortekssiz



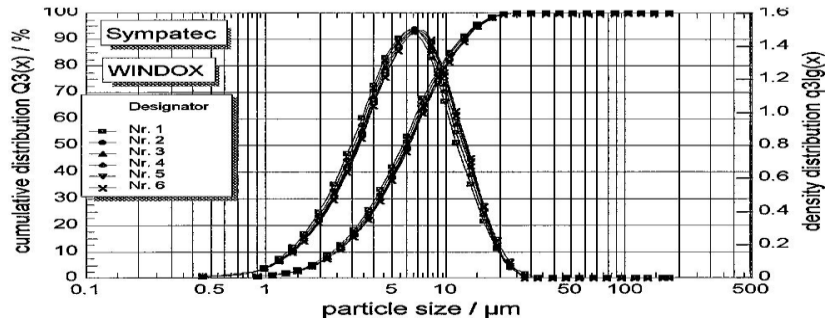
(b) K4-2 dakika vorteksli



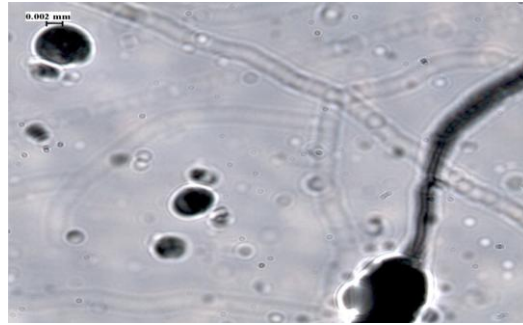
(c) K4-10 dakika vorteksli



Şekil 3.18. Çeşitli vorteks işleme dereceleri ile hazırlanan K4 kodlu formülasyona ait optik mikroskop görüntüleri (x 400).



Şekil 3.19. K5 kodlu formülasyona ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği.



Şekil 3.20. K5 kodlu formülasyona ait optik mikroskop görüntüsü (x 400).

Çizelge 3.25. Etkin maddesiz önformülasyon çalışmalarına ait partikül büyüklüğü analizi bulguları.

Formülasyon kodu	Z-av.* $\pm$ SE** (μm)	PDI*** $\pm$ SE	Geometrik Standart Sapma $\pm$ SE
K1-Bulamaç	$11,83 \pm 0,29$	$3,72 \pm 0,11$	$2,91 \pm 0,06$
K1-Sprey	$16,47 \pm 1,21$	$4,59 \pm 0,07$	$3,85 \pm 0,05$
K2	$11,96 \pm 0,34$	$5,01 \pm 0,06$	$4 \pm 0,03$
K3-büyük partiküllü	$9,13 \pm 0,18$	$2,32 \pm 0,13$	$2,11 \pm 0,05$
K3-orta partiküllü	$12,58 \pm 0,22$	$2,6 \pm 0,05$	$2,42 \pm 0,05$
K3-küçük partiküllü	$6,77 \pm 0,055$	$2,43 \pm 0,08$	$2,16 \pm 0,06$
K4	$7,28 \pm 0,013$	$2,12 \pm 0,02$	$2,03 \pm 0,01$
K5	$6,06 \pm 0,08$	$2,91 \pm 0,05$	$1,79 \pm 3 \times 10^{-3}$

* : Ortalama vezikül büyüklüğü

** : Standart hata

*** : Polidispersite indeksi

3.2.2. Kandesartan Sileksetil İçeren Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

3.2.2.1. Ürün Verimi Bulguları

Geliştirilen formülasyonların ürün verimleri Bölüm 2.2.4.1.'de ifade edildiği şekilde hesaplanmıştır. Elde edilen ürün verimi bulguları Çizelge 3.26.'da verilmektedir.

Çizelge 3.26. Geliştirilen formülasyonlarda ürün verimi bulguları.

	Teorik kütle (mg)	Pratik kütle (mg)	Ürün Verimi (%)
F1	2169,19	2140	98,65
F2	2169,61	2135,5	98,42
F3	2166,22	2140	98,78
F4	2159,82	2130	98,61
F5	2161,08	2136	98,83
F6	2201,33	2155	97,89
F7	2251,58	2209,1	98,11
F8	2269,66	2206	97,19
F9	2260,33	2220	98,21

3.2.2.2. Etkin Madde Yükleme Etkinliği Bulguları

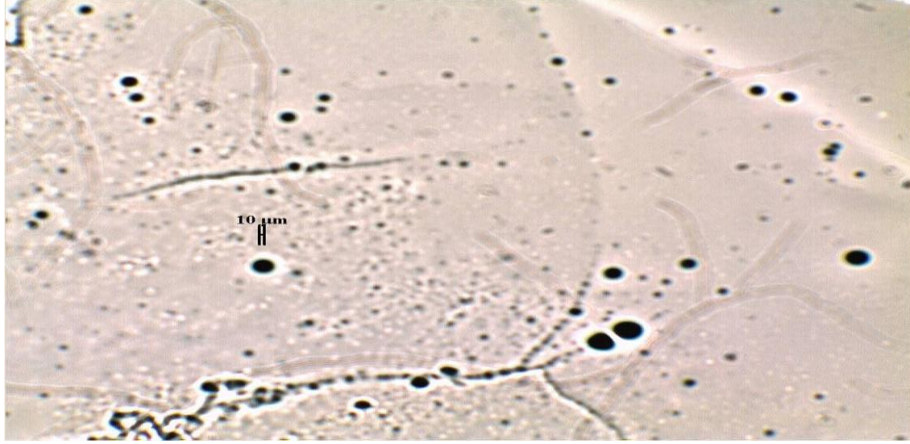
Geliştirilen formülasyonların etkin madde yükleme etkinlikleri Bölüm 2.2.4.2.'de ifade edildiği şekilde hesaplanmıştır. Elde edilen etkin madde yükleme etkinliği bulguları Çizelge 3.27.'de verilmektedir.

Çizelge 3.27. Geliştirilen formülasyonlarda (%) etkin madde yükleme etkinlikleri ve standart hatalar.

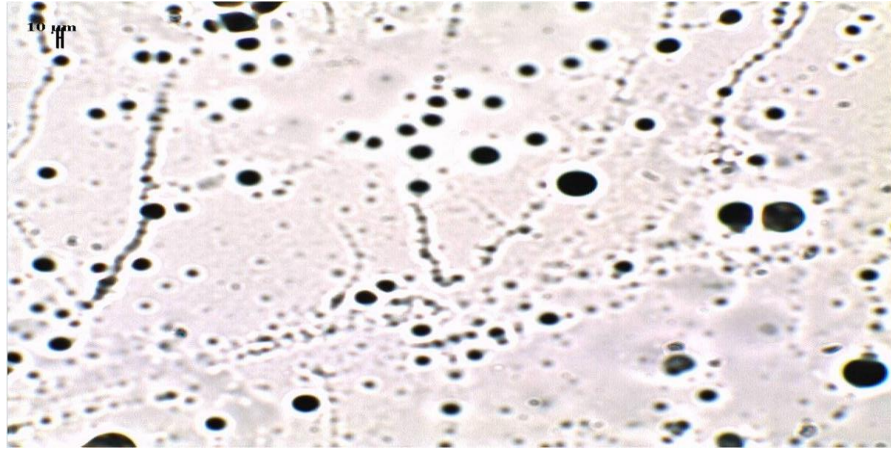
Formülasyon Kodu	Teorik Etkin Madde Miktarı (mg)	Yüklenen Etkin Madde Miktarı (mg)	Etkin Madde Yükleme Etkinliği ($\pm$ Standart Hata) (n:3)
F1	32,09	31,44	$97,97 \pm 1,52 \times 10^{-4}$
F2	32,08	31,56	$98,38 \pm 5,14 \times 10^{-4}$
F3	32,13	31,57	$98,25 \pm 1,30 \times 10^{-4}$
F4	32,23	31,96	$99,16 \pm 8,69 \times 10^{-5}$
F5	32,21	31,57	$98,01 \pm 8,33 \times 10^{-4}$
F6	31,62	28,66	$90,64 \pm 2,60 \times 10^{-4}$
F7	30,92	21,52	$69,60 \pm 4,66 \times 10^{-4}$
F8	30,66	22,66	$73,90 \pm 2,52 \times 10^{-4}$
F9	30,79	27,79	$90,25 \pm 2,60 \times 10^{-4}$

3.2.2.3. Proniozomların Hidratasyonu ile Elde Edilen Niozomların Optik Mikroskop ile İncelenmesine Ait Bulgular

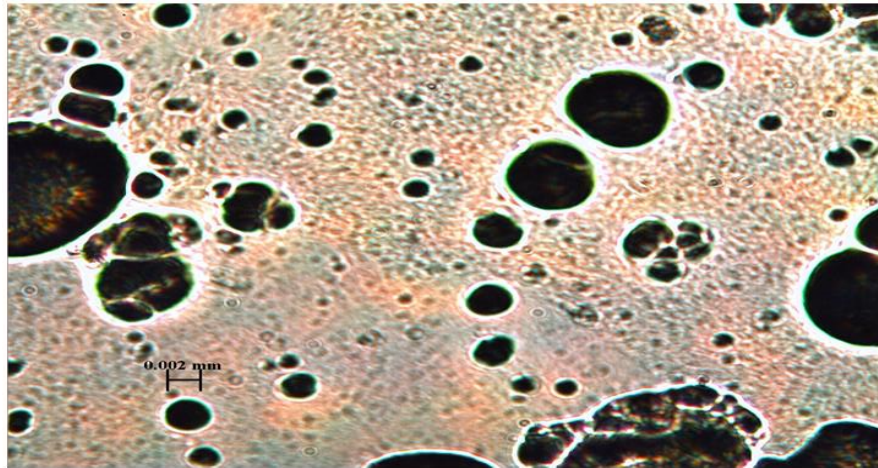
Üretilen proniozomların hidratasyonu ile elde edilen niozomların optik mikroskop incelemeleri Bölüm 2.2.4.3.'te ifade edildiği şekilde yapılmıştır. Elde edilen optik mikroskop görüntüleri Şekil 3.21.-3.29.'da verilmektedir.



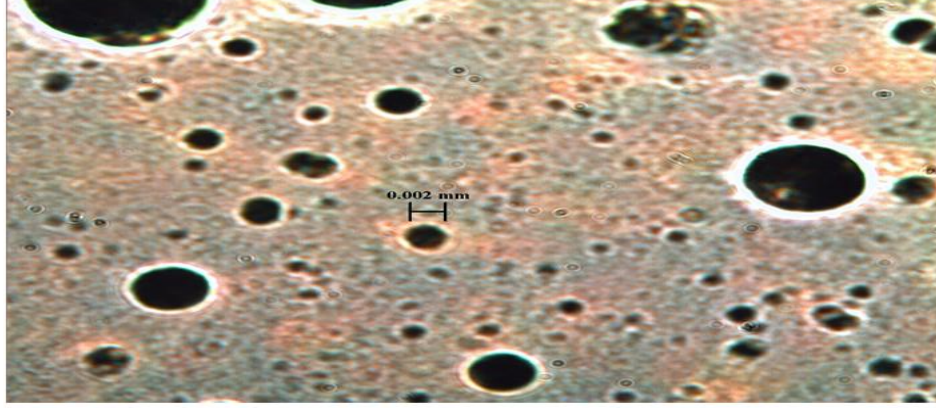
Şekil 3.21. F1 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü (X 100).



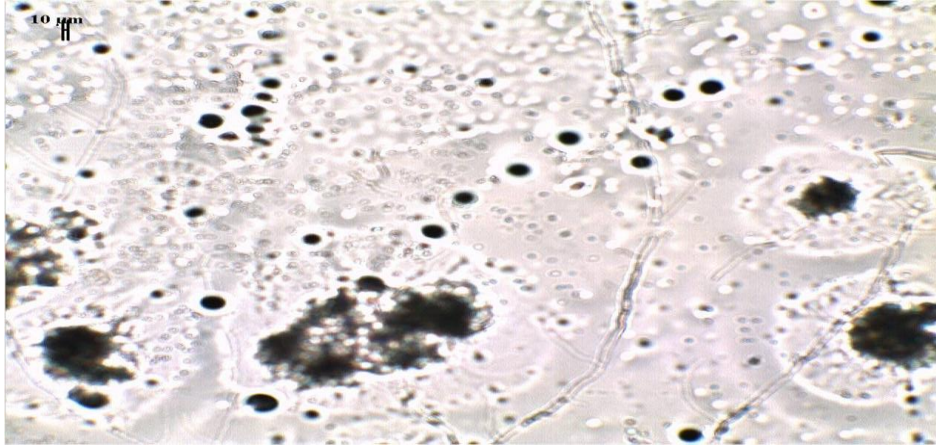
Şekil 3.22. F2 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü (X 100).



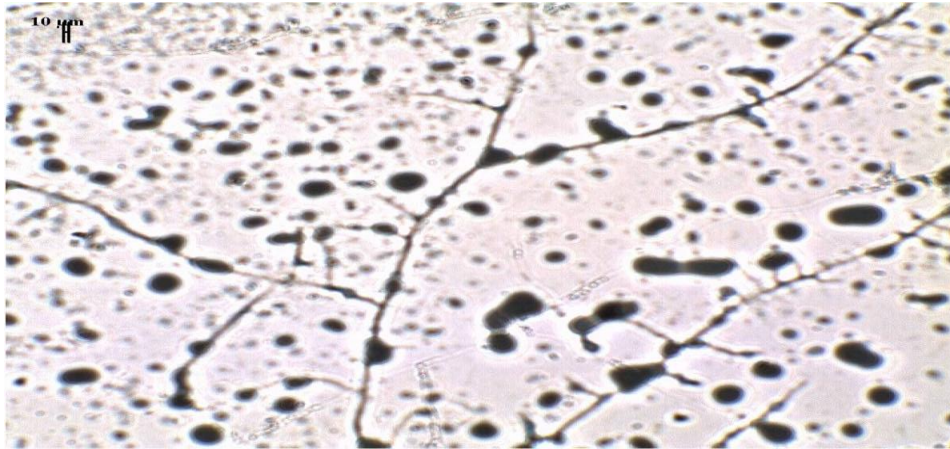
Şekil 3.23. F3 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü (X 100).



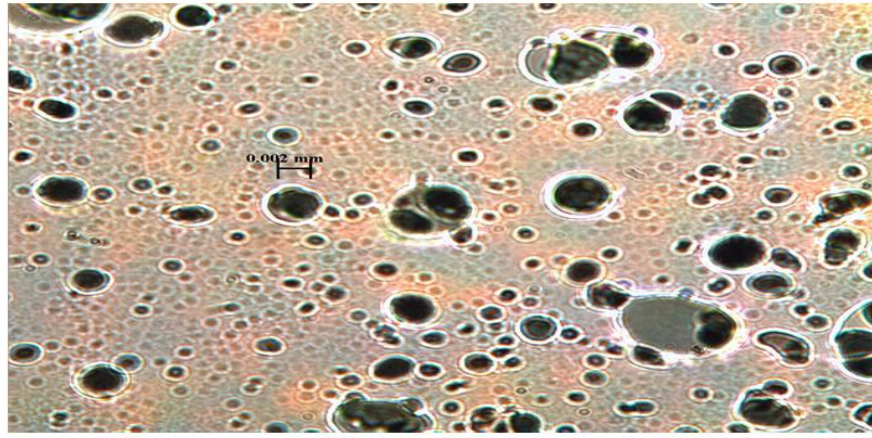
Şekil 3.24. F4 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü (X 100).



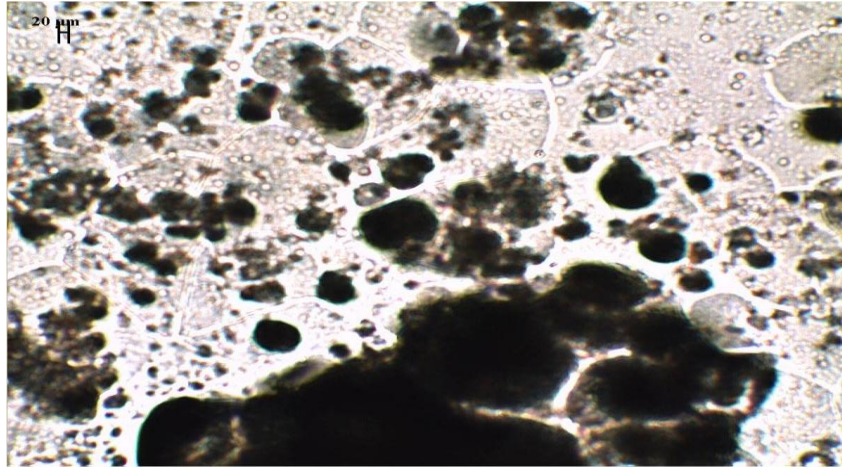
Şekil 3.25. F5 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü (X 100).



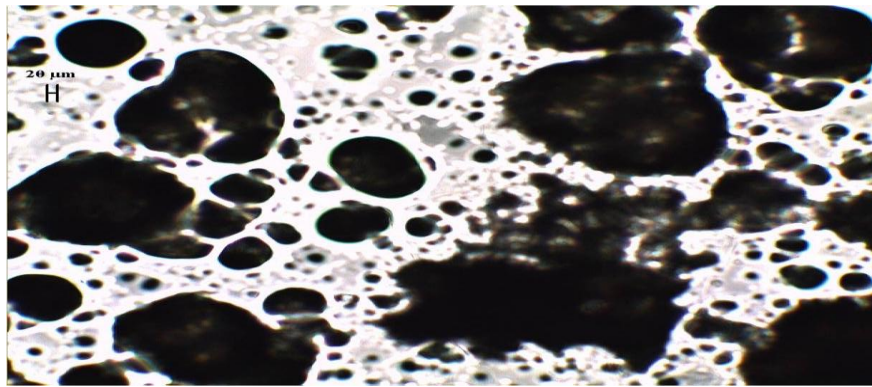
Şekil 3.26. F6 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü (X 100).



Şekil 3.27. F7 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü (X 100).



Şekil 3.28. F8 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü (X 100).



Şekil 3.29. F9 kodlu formülasyondan elde edilen optik mikroskop görüntüsü (X 100).

3.2.2.4. Proniozomlardan Etkin Madde Salımının İncelenmesi İçin Çözünme Hızı Test Yönteminin Belirlenmesine Ait Bulgular

Diyaliz yönteminin kullanıldığı deneylere ait bulgular:

A-Doğrudan proniozomların kullanıldığı deney: Bölüm 2.2.4.4.'te yer alan diyaliz yönteminin A sekmesinde anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Deney sonucu Çizelge 3.28.'de verilmektedir.

Çizelge 3.28. 8 mg e.m.'ye denk F2 kodlu proniozomal tozu ile ve diyaliz keseleri ile pH 1,2 HCl ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri.

Zaman (dakika)	% A.Ç.E.M.* $\pm$ S.E. (n:3)
600'	4,586 $\pm$ 0,3242

* : Açığa Çıkan Yüzde Etkin Madde Miktarı

B-Niozomal dispersiyonun kullanıldığı deney: Bölüm 2.2.4.4.'te yer alan diyaliz yönteminin B sekmesinde anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Deney sonucu Çizelge 3.29.'da verilmektedir.

Çizelge 3.29. 8 mg e.m.'ye denk F2 kodlu 4 mL niozomal dispersiyon ile ve diyaliz keseleri ile pH 1,2 HCl ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri.

Zaman (dakika)	% A.Ç.E.M. $\pm$ S.E. (n:3)
600'	5,445 $\pm$ 0,7657

C- Çözünme ortamı olarak % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 HCl çözeltisinin kullanıldığı deneyden (Bölüm 2.2.4.4.) elde edilen sonuç Çizelge 3.30.'da verilmektedir.

Çizelge 3.30. 8 mg e.m.'ye denk F2 kodlu proniozomal tozu ile ve diyaliz keseleri ile % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF (pH 1,2) ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri.

Zaman (dakika)	% A.Ç.E.M. $\pm$ S.E. (n:3)
240'	4,707 $\pm$ 1,978

D- Saf etkin maddenin, etkin madde-sorbitol karışımının ve etkin maddenin metanol içindeki çözeltisinin kullanıldığı deneyler:

D-1: Bölüm 2.2.4.4.'te yer alan diyaliz yönteminin D-1 sekmesinde anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Deney sonucu Çizelge 3.31.'de verilmektedir.

Çizelge 3.31. 8 mg saf e.m. ile ve 8 mg e.m. 92 mg sorbitol içeren 100 mg toz ile diyaliz keseleri kullanılarak % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF (pH 1,2) ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri.

Zaman (dakika)	% A.Ç.E.M	
	8 mg saf etkin madde	8 mg e.m. + 92 mg sorbitol
600'	4,198	2,099

D-2: Bölüm 2.2.4.4.'te yer alan diyaliz yönteminin D-2 sekmesinde anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Deney sonucu Çizelge 3.32.'de verilmektedir.

Çizelge 3.32. 0,1 mL metanol içinde 1 mg e.m. içeren e.m. çözeltisi ile ve 10 mg e.m. 90 mg sorbitol içeren 100 mg toz karışımı ile diyaliz keseleri kullanılarak, % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF (pH 1,2) ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri.

Zaman (dakika)	% A.Ç.E.M	
	1 mg e.m. / 0.1 ml metanol	10 mg e.m. + 90 mg sorbitol
600'	7,938	9,008

E- Proniozom içindeki etkin madde dozunun azaltılmasıyla gerçekleştirilen deney: Bölüm 2.2.4.4.'te yer alan diyaliz yönteminin E sekmesinde anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Deney sonucu Çizelge 3.33.'te verilmektedir.

Çizelge 3.33. 1 mg e.m.'ye denk F2 kodlu proniozomal tozu ile ve diyaliz keseleri ile % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF (pH 1,2) ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri.

Zaman (dakika)	% A.Ç.E.M. $\pm$ S.E. (n:3)
300'	27,99 $\pm$ 11,33

F- Ultrasantrifüj sonrası elde edilen presipitatların kullanıldığı, çözünme ortamının miktarının düşürüldüğü, etkin madde dozunun düşürüldüğü ve çözünme ortamına sorbitolün eklendiği deneyler:

F-1: Bölüm 2.2.4.4.'te yer alan diyaliz yönteminin F-1 sekmesinde anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Deney sonuçları Çizelge 3.34.'te verilmektedir.

Çizelge 3.34. Etkin madde miktarının 2 mg'a düşürülmesiyle, diyaliz kesesi içindeki sıvı miktarının 1 ml'ye düşürülmesiyle ve çözünme ortamının miktarının 100 ve 50 mL'ye düşürülmesiyle diyaliz keseleri kullanılarak elde edilen çözünme hızı deneyine ait veriler.

	% A.Ç.E.M.				
Zaman (dakika)	F4 presipitat (1mL ortam sıvısı diyaliz kesesinde) - 50 mL dış ortam	F4 presipitat (1mL ortam sıvısı diyaliz kesesinde) - 100 mL dış ortam	F4 presipitat (4ml ortam sıvısı diyaliz kesesinde) - 100 ml dış ortam	F8 presipitat (4ml ortam sıvısı diyaliz kesesinde) - 50 ml dış ortam	F8 presipitat (4ml ortam sıvısı diyaliz kesesinde) - 100 ml dış ortam
240'	2,481	2,099	7,061	1,240	1,718

F-2: Bölüm 2.2.4.4.'te yer alan diyaliz yönteminin F-2 sekmesinde anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Deney sonuçları Çizelge 3.35.'te verilmektedir.

Çizelge 3.35 Etkin madde miktarının 4 mg'a düşürülmesiyle, diyaliz kesesi içindeki sıvı miktarının 2 mL'ye düşürülmesiyle ve çözünme ortamına sorbitol eklenip miktarının 100 mL'ye düşürülmesiyle diyaliz keseleri kullanılarak elde edilen çözünme hızı deneyine ait veriler.

	% A.Ç.E.M.			
Zaman (dakika)	F2 proniozom (2mL ortam sıvısı diyaliz kesesinde) - 100 mL sorbitollü dış ortam	F6 proniozom (2mL ortam sıvısı diyaliz kesesinde) - 100 mL sorbitollü dış ortam	F8 Presipitat (2ml ortam sıvısı diyaliz kesesinde) - 100 ml normal dış ortam	F9 presipitat (2ml ortam sıvısı diyaliz kesesinde) - 100 ml normal dış ortam
240'	2,195	0,859	1,145	4,485

Beher yönteminin kullanıldığı deneylere ait bulgular:

A- %0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında gerçekleştirilen deney: Bölüm 2.2.4.4.'te yer alan beher yönteminin A sekmesinde anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Deney önce tek paralel olarak gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.36.) . Olumlu sonuç elde edilince 2 paralel test daha yapılmıştır (Çizelge 3.37.).

Çizelge 3.36. 8 mg e.m. içeren F2 kodlu proniozomal tozu ile diyaliz keseleri kullanılmadan % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF (pH 1,2) ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri.

Zaman (dakika)	% A.Ç.E.M
	8 mg e.m. içeren proniozom için
60'	57,82
120'	71,37
180'	75,00

Çizelge 3.37. 8 mg e.m. içeren F2 kodlu proniozomal tozu ile diyaliz keseleri kullanılmadan % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF (pH 1,2) ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri (2. ve 3. paralel verileri).

Zaman (dakika)	% A.Ç.E.M. $\pm$ S.E. (n:2)
5	12,79 $\pm$ 0,385
15	15,75 $\pm$ 0,665
30	30,54 $\pm$ 0,385
45	41,61 $\pm$ 1,335
60	43,42 $\pm$ 0,48
120	58,78 $\pm$ 0,575
180	68,51 $\pm$ 1,335
240	74,52 $\pm$ 1,05
300	75,09 $\pm$ 0,29
420	75,19 $\pm$ 0,19

B- pH 1,2 ortamında gerçekleştirilen deney: Bölüm 2.2.4.4.'te yer alan beher yönteminin B sekmesinde anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Deney sonucu Çizelge 3.38.'de verilmektedir.

Çizelge 3.38. 8 mg e.m. içeren F2 kodlu proniozomal tozu ile diyaliz keseleri kullanılmadan pH 1,2 tamponu ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı analizi verileri.

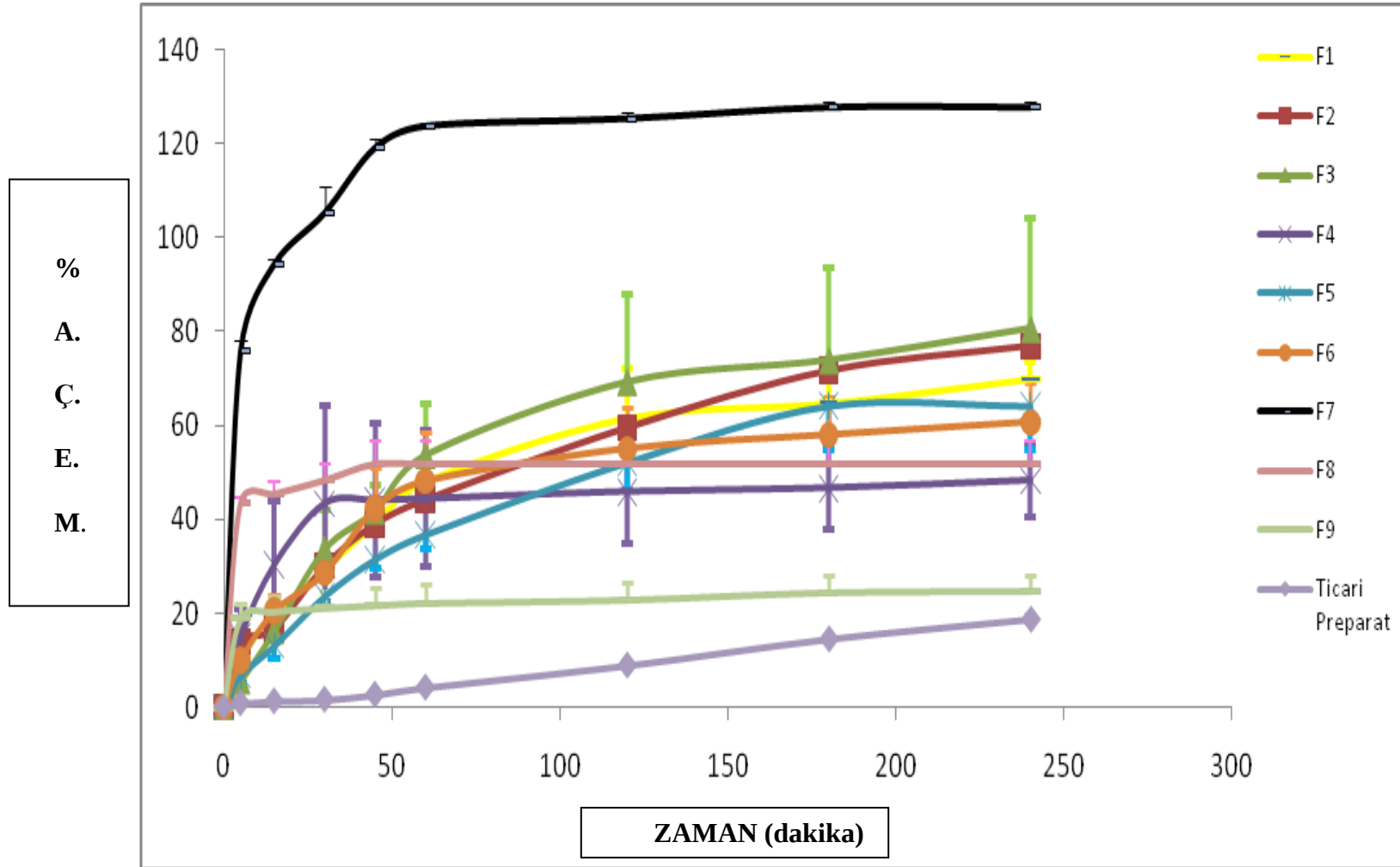
Zaman (dakika)	% A.Ç.E.M.
45'	4,709

3.2.2.5. Farklı Formülasyonlarla Hazırlanan Proniozomlardan Etkin Madde Salımının İncelenmesine Ait Bulgular

Geliştirilen formülasyonlardan ve ticari preparattan etkin madde salım deneyi Bölüm 2.2.4.5.'te belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler Çizelge 3.39.'da ve Şekil 3.30.'da verilmektedir.

Çizelge 3.39. Geliştirilen formülasyonlardan hazırlanan proniozomların ve ticari preparatın %0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında çözünme hızı analizi verileri (n:3).

Zaman (dakika)	% A.Ç.E.M. ± S.E. (F1)	% A.Ç.E.M. ± S.E. (F2)	% A.Ç.E.M. ± S.E. (F3)	% A.Ç.E.M. ± S.E. (F4)	% A.Ç.E.M. ± S.E. (F5)	% A.Ç.E.M. ± S.E. (F6)	% A.Ç.E.M. ± S.E. (F7)	% A.Ç.E.M. ± S.E. (F8)	% A.Ç.E.M. ± S.E. (F9)	% A.Ç.E.M. ± S.E. (Ticari preparat)
5	10,45 ± 0,55	13,88 ± 1,00	5,520 ± 1,64	14,93 ± 6,00	6,730 ± 1,57	10,00 ± 0,87	75,83 ± 2,20	43,60 ± 1,2	18,86 ± 3,22	0,83 ± 0,23
15	19,85 ± 0,33	16,82 ± 1,73	16,19 ± 2,14	30,30 ± 13,6	13,13 ± 2,67	20,46 ± 3,3	94,23 ± 1,35	45,48 ± 2,45	20,35 ± 3,38	1,27 ± 0,12
30	29,44 ± 3,00	30,13 ± 0,54	33,65 ± 8,26	43,3 ± 21,00	23,67 ± 1,56	28,65 ± 1,4	105,2 ± 5,52	48,42 ± 3,5	21,14 ± 3,57	1,6 ± 0,17
45	39,30 ± 2,85	39,06 ± 2,75	41,76 ± 5,31	44,00 ± 16,3	31,52 ± 2,08	42,37 ± 8,7	119 ± 1,85	51,88 ± 4,76	21,70 ± 3,9	2,68 ± 0,19
60	48,17 ± 4,12	44,21 ± 0,57	53,67 ± 11,03	44,30 ± 14,5	36,78 ± 3,18	48,14 ± 10,25	123,6 ± 0,80	----	22,2 ± 3,88	4,20 ± 0,4
120	61,64 ± 10,48	59,50 ± 0,75	69,25 ± 18,54	45,83 ± 11,00	52,16 ± 5,85	55,04 ± 8,77	125,2 ± 0,55	----	22,91 ± 3,71	8,90 ± 0,78
180	64,79 ± 7,6	71,61 ± 2,82	73,92 ± 19,56	46,60 ± 8,6	64,17 ± 9,47	57,96 ± 7,97	127,6 ± 1,45	----	24,47 ± 3,43	14,50 ± 0,5
240	69,98 ± 3,73	76,86 ± 1,94	80,63 ± 23,35	48,20 ± 7,86	----	60,67 ± 8,35	----	----	24,73 ± 3,48	18,68 ± 0,68



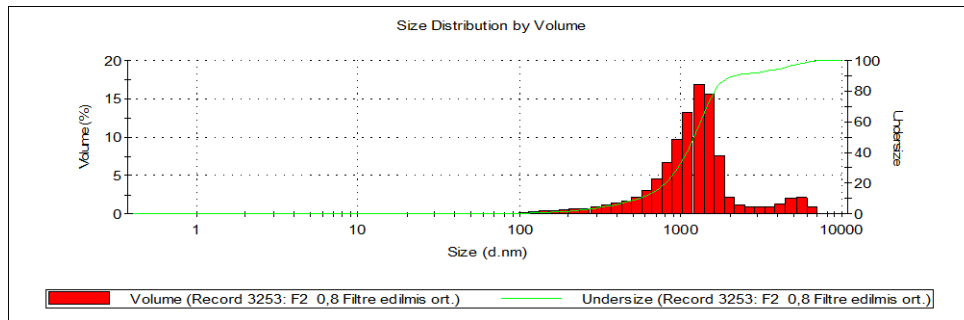
Şekil 3.30. Geliştirilen formülasyonlardan elde edilen proniozomların ve ticari preparatın % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında etkin madde salım profilleri.

3.2.3. Seçilen Formülasyon Üzerinde Yapılan İncelemelere Ait Bulgular

Yapılan çalışmalar sonucu etkin madde yükleme etkinliği bulguları, optik mikroskop görüntüleri ve *in vitro* etkin madde salım deneyleri sonucu elde edilen bulgular değerlendirilmiştir ve final formül olarak F2 kodlu formül seçilmiştir.

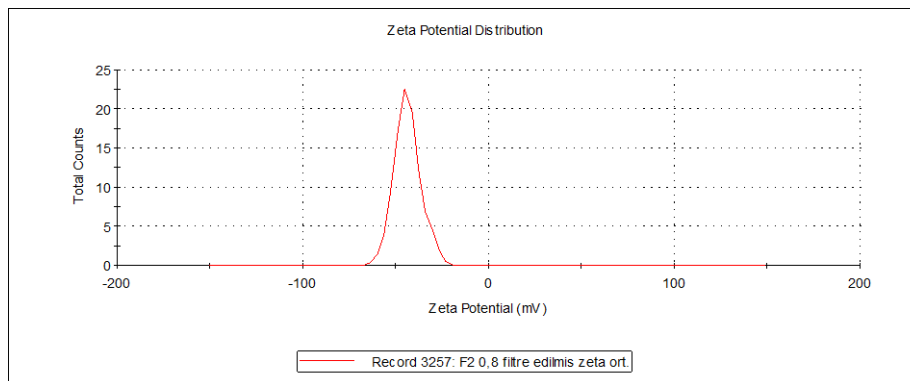
3.2.3.1. Proniozomlardan Hidratasyonla Oluşturulan Niozomların Partikül Büyüklüğünün, Zeta Potansiyelinin ve Polidispersite İndeksinin Ölçülmesi

Bölüm 2.2.5.1.'de belirtildiği şekilde yapılmıştır. Ortalama partikül büyüklüğü 679,9 nm, polidispersite indeksi 0,493 olarak bulunmuştur (Şekil 3.31.).



Şekil 3.31. F2 kodlu formülün partikül büyüklüğü dağılımı grafiği.

F2 kodlu formül ile üretilen proniozomlarda türetilen niozomların ortalama zeta potansiyeli – 43,6 mV bulunmuştur (Şekil 3.32.).



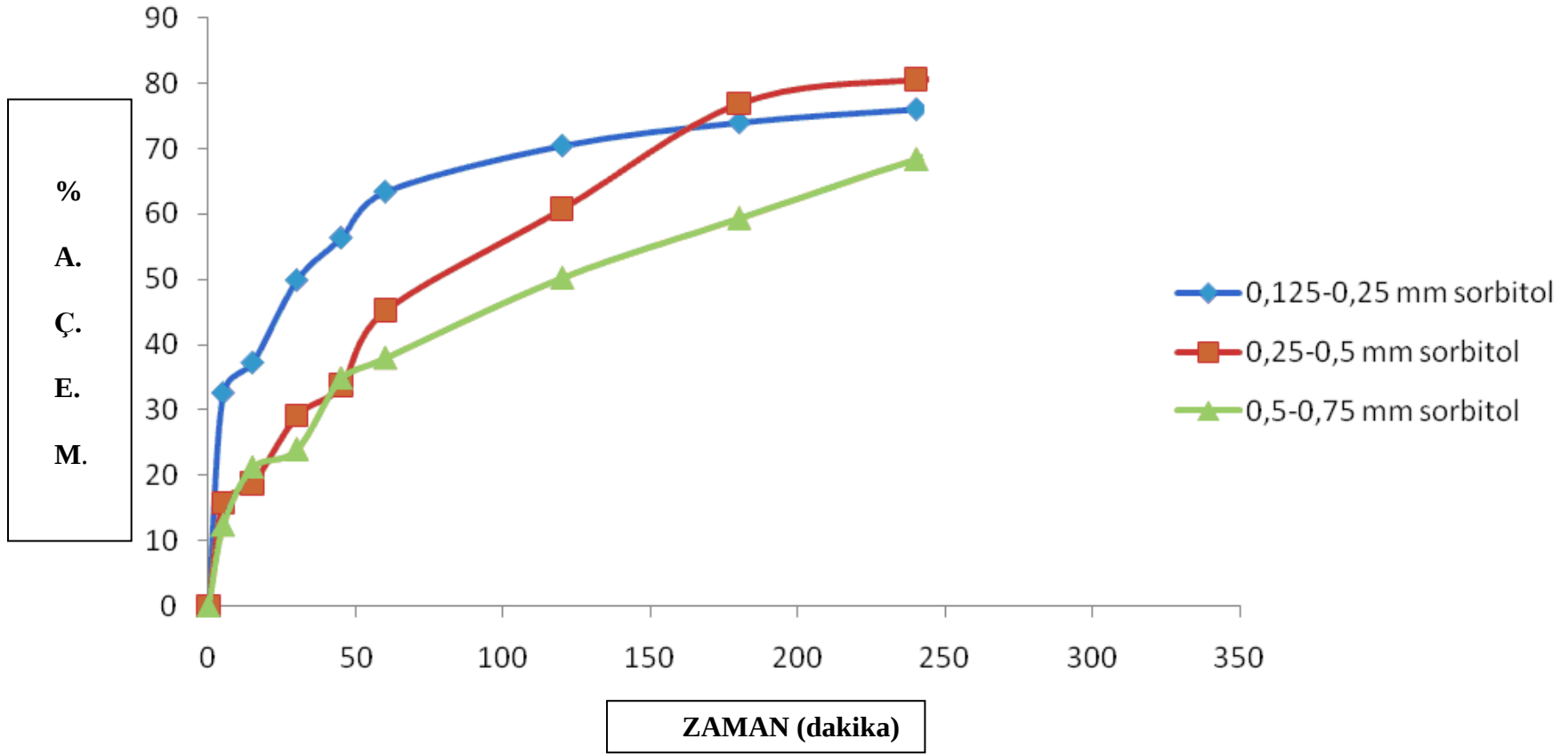
Şekil 3.32. F2 kodlu formülün zeta potansiyeli dağılımı grafiği.

3.2.3.2. Sorbitol Partikül Büyüklüğünün Etkin Madde Salımına Etkisinin İncelenmesine Ait Bulgular

Sorbitol partikül büyüklüğünün etkin madde salımına etkisi Bölüm 2.2.5.2.'de belirtilen şekilde incelenmiştir. Elde edilen veriler Çizelge 3.40.'da ve Şekil 3.33.'de verilmektedir.

Çizelge 3.40. 0,125-0,25 mm , 0,25-0,50 mm, 0,5-0,75 mm partikül büyüklüğü aralığındaki sorbitollerle üretilen proniozomlara ait çözünme hızı analizi verileri (F2 kodlu formül %EE: 98,38).

Zaman	0,125-0,25 mm partikül büyüklüğü aralığındaki sorbitolle üretilen F2 kodlu proniozomdan % A.Ç.E.M.	0,25-0,50 mm partikül büyüklüğü aralığındaki sorbitolle üretilen F2 kodlu proniozomdan % A.Ç.E.M.	0,5-0,75 mm partikül büyüklüğü aralığındaki sorbitolle üretilen F2 kodlu proniozomdan % A.Ç.E.M.
5	32,60	15,80	12,40
15	37,23	18,81	21,23
30	49,87	29,13	24,00
45	56,36	33,76	34,87
60	63,41	45,25	38,00
120	70,47	60,83	50,27
180	74,02	76,95	59,38
240	76,05	80,57	68,43



Şekil 3.33. Farklı partikül büyüklüğünde sorbitollerle üretilen proniozomların etkin madde salım profilleri.

3.2.3.3.Etkin Madde Salımının Farklı pH Değerlerindeki Ortamlarda İncelenmesine Ait Bulgular

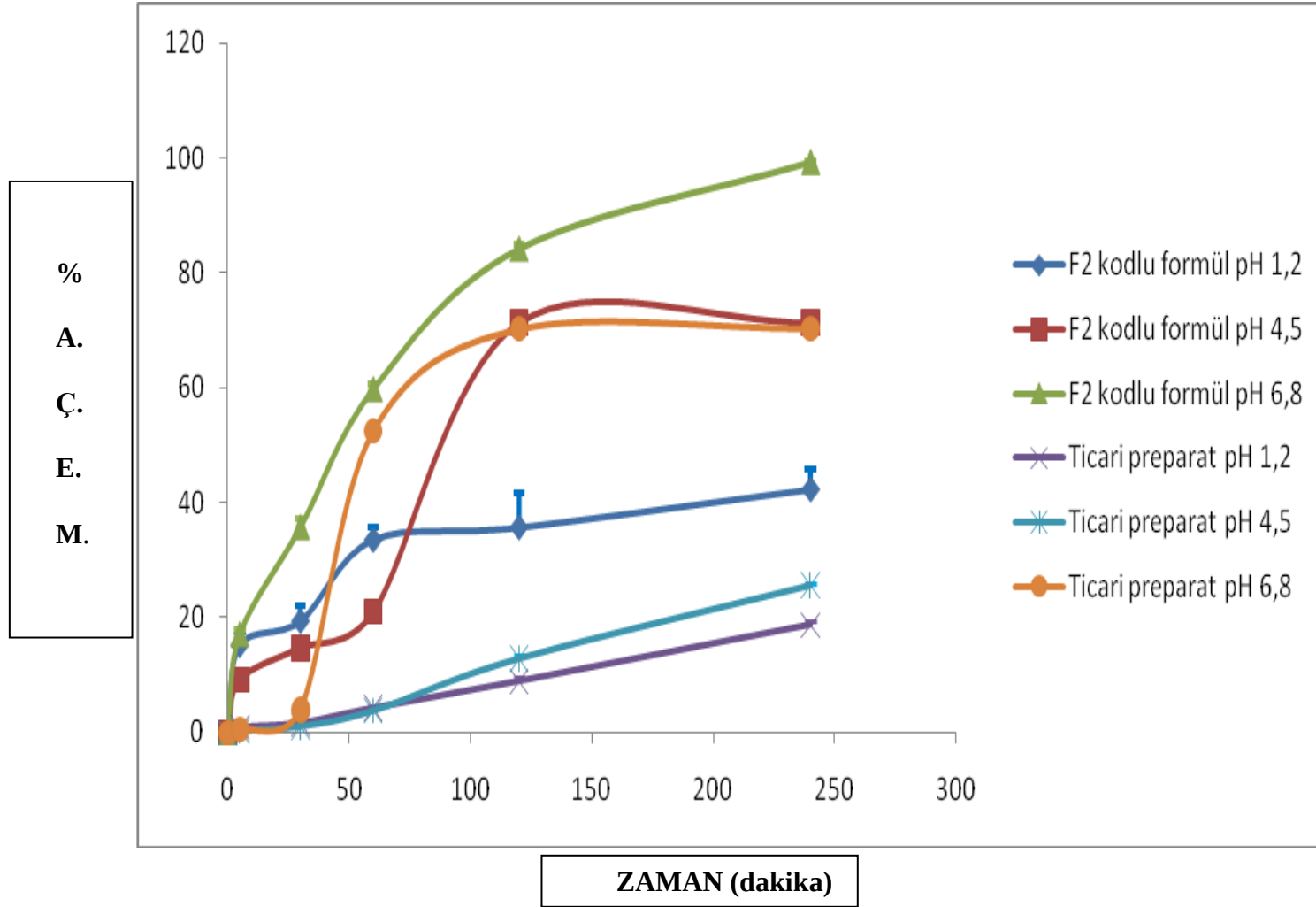
Seçilen F2 kodlu formülasyondan elde edilen proniozomların ve ticari preparatın farklı pH değerlerindeki ortamlarda çözünme hızı analizi Bölüm 2.2.5.3.'te belirtilen şekilde yapılmıştır. Elde edilen veriler Çizelge 3.41.'de ve Çizelge 3.42.'de ve Şekil 3.34.'te verilmiştir. Aynı deneyler 8mg etkin madde içeren ticari preparat için de gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.41. Geliştirilen formüller arasından seçilen F2 kodlu formülün % 0,2 a/h Tween 80 içeren farklı pH'lardaki ortamlarda çözünme hızı analizi verileri (F2 kodlu formül %EE: 98,38) (n:3).

Zaman (dakika)	% A.Ç.E.M.± S.E. (% 0,2 Tween 80 içeren pH 1,2)	% A.Ç.E.M.± S.E. (% 0,2 Tween 80 içeren pH 4,5)	% A.Ç.E.M.± S.E. (% 0,2 Tween 80 içeren pH 6,8)
5	15,18 ± 2,4	9,180 ± 0,77	17,10 ± 0,9
30	19,38 ± 2,75	14,72 ± 1,19	35,77 ± 1,47
60	33,52 ± 2,2	20,97 ± 0,72	59,81 ± 0,91
120	35,69 ± 5,9	71,39 ± 1,57	84,25 ± 0,87
240	42,30 ± 3,5	-----	99,38 ± 0,16

Çizelge 3.42. 8 mg kandesartan içeren ticari preparatın % 0,2 a/h Tween 80 içeren farklı pH'lardaki ortamlarda çözünme hızı analizi verileri (n:3).

Zaman (dakika)	% A.Ç.E.M.± S.E. (% 0,2 Tween 80 içeren pH 1,2)	% A.Ç.E.M.± S.E. (% 0,2 Tween 80 içeren pH 4,5)	% A.Ç.E.M.± S.E. (% 0,2 Tween 80 içeren pH 6,8)
5	0,83 ± 0,23	0,20 ± 5x10 ⁻³	0,56 ± 0,055
15	1,27 ± 0,12	0,74 ± 0,43	1,39 ± 0,17
30	1,60 ± 0,17	1,00 ± 0,17	4,04 ± 0,58
45	2,68 ± 0,19	1,74 ± 0,5	14,71 ± 0,3
60	4,20 ± 0,4	3,75 ± 0,53	52,54 ± 0,79
120	8,90 ± 0,78	12,83 ± 0,76	70,26 ± 1,94
180	14,50 ± 0,5	18,10 ± 0,46	70,36 ± 1,59
240	18,68 ± 0,68	25,60 ± 0,18	-----



Şekil 3.34. Seçilen F2 kodlu formülasyondan elde edilen proniozomların ve kandesartan sileksetil içeren ticari preparatın %0,2 a/h Tween 80 içeren çeşitli pH değerindeki ortamlarda etkin madde salım profilleri.

3.2.3.4. Etkin Madde Salım Kinetiklerinin İncelenmesine Ait Bulgular

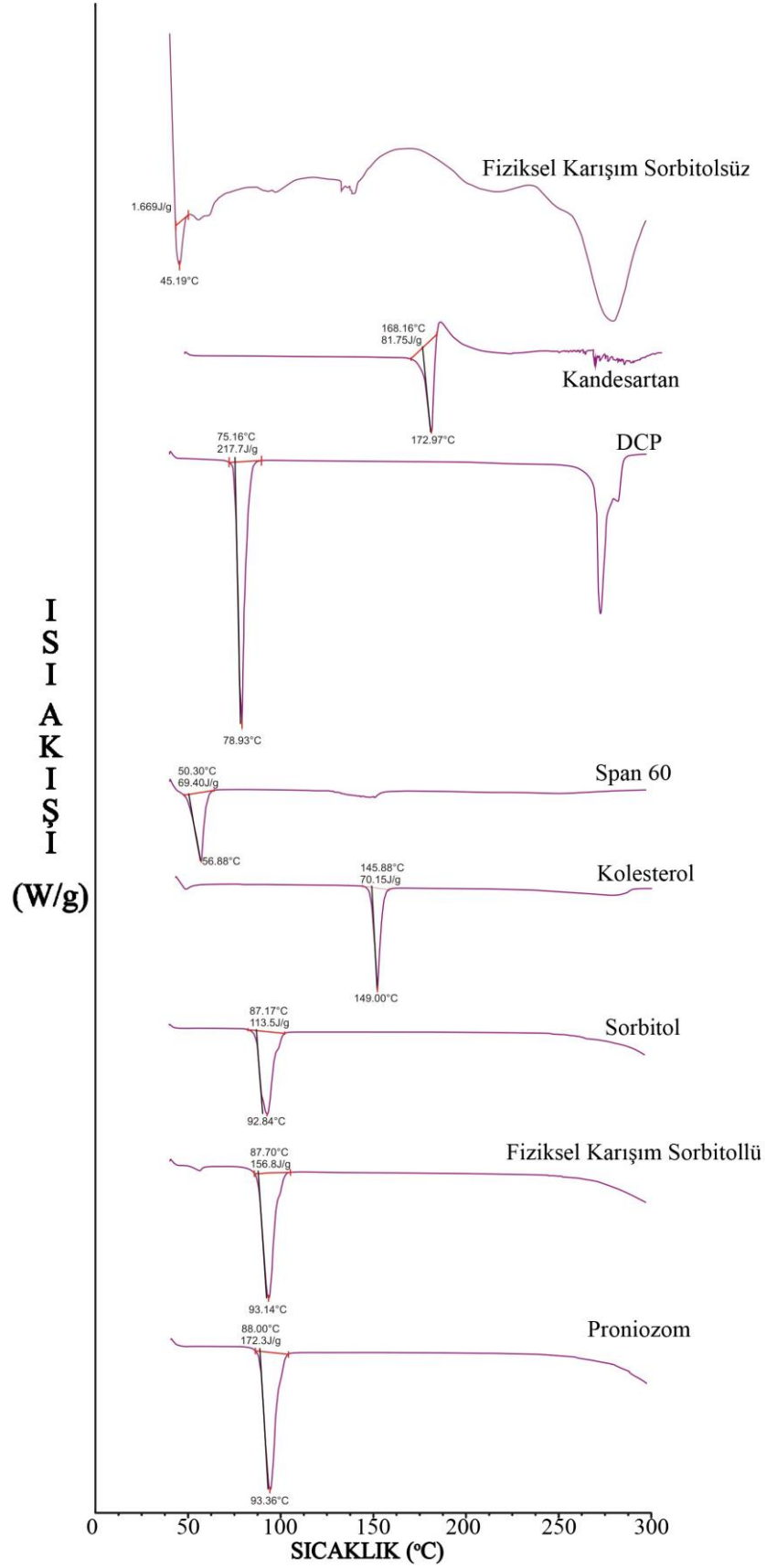
Seçilen F2 kodlu formülünden üretilen proniozomların farklı pH değerlerindeki ortamlarda etkin madde salım kinetiklerinin incelenmesi Bölüm 2.2.5.4.'te ifade edilen şekilde yapılmıştır. Elde edilen veriler Çizelge 3.43.'te verilmektedir.

Çizelge 3.43. Geliştirilen formüller arasından seçilen F2 kodlu formülün % 0,2 a/h Tween 80 içeren farklı pH'lardaki ortamlarda çözünme hızı kinetiklerine (modellerine) ait veriler.

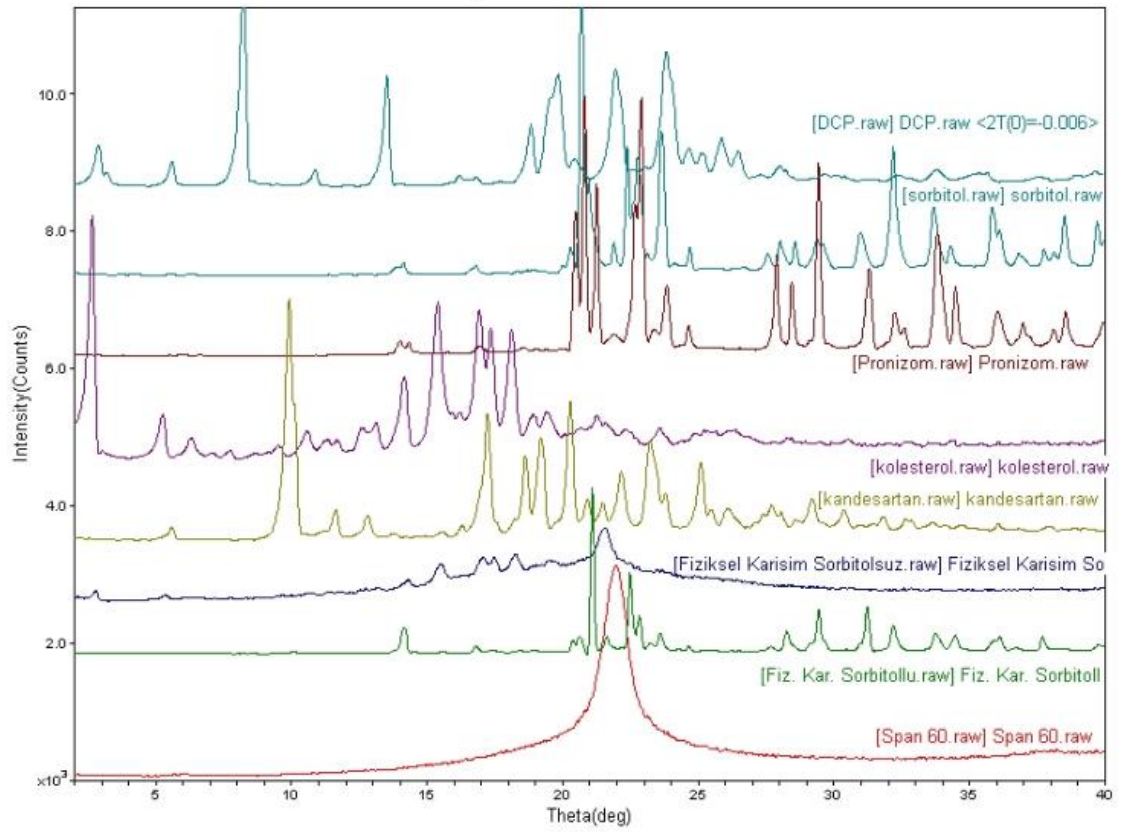
Model	Parametreler	pH 1,2	pH 4,5	pH 6,8
0.derece kinetik	k_0	0,1085	0,5515	0,3344
	r^2	0,7871	0,9116	0,8606
	RMS	37,29	108,6	212,1
1. derece kinetik	k_1	$1,57 \times 10^{-3}$	0,0102	$21,06 \times 10^{-3}$
	r^2	0,8360	0,8669	0,9764
	RMS	$5,660 \times 10^{-3}$	$59,50 \times 10^{-3}$	0,1254
Hixson-Crowell	k_s	$2,149 \times 10^{-3}$	$12,83 \times 10^{-3}$	$14,97 \times 10^{-3}$
	r^2	0,8120	0,8826	0,9972
	RMS	$12,51 \times 10^{-3}$	$80,62 \times 10^{-3}$	$7,243 \times 10^{-3}$
Weibull	T_d	1485	224	52,48
	β	0,3301	0,6977	0,8381
	r^2	0,9132	0,7323	0,9446
	RMS	$5,745 \times 10^{-3}$	$93,95 \times 10^{-3}$	$22,87 \times 10^{-3}$
Higuchi	k_H	2,138	6,858	6,521
	r^2	0,9017	0,7746	0,9661
	RMS	17,22	277,0	51,51

3.2.3.5. Etkin Madde Yardımcı Madde Etkileşiminin İncelenmesine Ait Bulgular

Etkin madde ile yardımcı maddeler arasında etkileşim olup olmadığının incelenmesi için Bölüm 2.2.5.5.'te belirtilen deneyler yapılmıştır. Elde edilen veriler Şekil 3.35.'te ve Şekil 3.36.'da verilmektedir.



Şekil 3.35. Etkin maddenin, seçilen formülasyonda yer alan maddelerin, üretilen proniozomun ve hazırlanan fiziksel karışımların diferansiyel tarama kalorimetrisi termogramları.



Şekil 3.36. Etkin maddenin, seçilen formülasyonda yer alan maddelerin, üretilen proniozomun ve hazırlanan fiziksel karışımların X-ışını difraksiyon spektrumları.

4.TARTIŞMA

4.1. Etkin Maddeye Ait Bulguların Değerlendirilmesi

4.1.1. Etkin Maddenin DSC Analizi ve X-Işını Toz Difraktometrisi Analizlerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Kandesartan sileksetilin DSC ile alınan termogramı incelendiğinde 168,2°C’de erime noktasına karşılık gelen keskin bir endotermik pik mevcuttur (Şekil 3.1.). Bu bulgu literatürlerde etkin maddenin erime noktası için verilen değer olan 168-169 °C ile uyushmaktadır. Termogramdaki keskin endotermik piki takiben maddenin dekompozisyonundan kaynaklanan bir ekzotermik pik gözlenmektedir; etkin maddenin form I halinde bulunduğu anlaşılmaktadır (Şekil 3.1., Matsunaga ve ark., 1999; Satturwer ve ark., 2007). Bu form etkin maddenin ticari olarak mevcut olan formdur.

Etkin maddenin X ışını difraktometresi ile yapılan incelemeleri sonucunda elde edilen difraksiyon spektrumunda tek başına etkin maddenin kristal yapısı keskin pikler şeklinde ortaya çıkmaktadır ve etkin maddenin form I şeklinde olduğu anlaşılmaktadır (Matsunaga ve ark., 1999) (Şekil 3.2.).

4.1.2. Etkin Maddenin Ultra Viole (UV) Spektrofotometrisi Analizine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Kandesartan sileksetilin pH 1,2 , metanol ve % 0,2 Tween 80 içeren SGF (pH 1,2), % 0,2 Tween 80 içeren pH 4,5 ve % 0,2 Tween 80 içeren SIF (pH 6,8) ortamlarında verdiği piklerin şekilleri birbirine benzemektedir (Şekil 3.3.). Hazırlanan tüm tamponlar ve metanol ortamı da polar olduğu için benzer şekiller elde edilmiştir. Bulunan pik şekilleri “*Clarke’s Analysis of Drugs and Poisons*” (Moffat, 2005, s:740) adlı kitapta kandesartan sileksetil bölümünde yer alan pik şekli ile aynıdır

(Şekil 3.4.). Aynı kitapta kandesartan sileksetilin maksimum pik verdiği dalga boyları sulu asit ortamda 246-281 nm, etanol ortamında 253 nm, sulu baz ortamında ise 251 nm olarak belirtilmiştir. Kandesartan sileksetilin maksimum pik verdiği dalga boyları ise metanol ortamında 254,5 nm, pH 1,2 tamponunda 286,5 nm, % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF otamında 257,5 nm, % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 otamında 257,5 nm ve % 0,2 a/h Tween 80 içeren SIF (pH 6,8) otamında 260,5 nm'dir (Çizelge 3.1.). Dalga boyları kitap verileri ile paralellik göstermektedir.

Etkin maddenin hazırlanan ortamlardaki kalibrasyon doğrularının determinasyon katsayılarının (r^2) 1'e yakın olması, artık kareler ortalamalarının (RMS) düşük değerlere sahip olması, kesişimin ve eğimin standart hatasının düşük bulunması (Şekil 3.5.-3.7., Çizelge 3.2.) okunan absorbanlardan bulunan konsantrasyon değerlerinin güvenilir sonuçlar olacağını göstermektedir.

4.1.2.1. Etkin Maddenin Analitik Yöntem Validasyonuna Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Bir analitik yöntemin doğruluğu, o yöntem ile elde edilen test sonuçlarının gerçek değerlere yakınlığıdır. Doğruluk, tanımlanan bileşime sahip olan bir ortama bilinen miktarda ilave edilen bir analitin miktar tayininin yüzde geri eldesi olarak ifade edilir. Bölüm 2.2.1.3.3.1.'de anlatıldığı şekilde incelenen analitik yöntem doğruluğuna ilişkin sonuçlar Çizelge 3.3. – Çizelge 3.7. 'de verilmiştir. Etkin maddenin pH 1,2 tamponunda, % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF (pH 1,2) otamında, % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 ortamında, % 0,2 a/h Tween 80 içeren SIF (pH 6,8) otamında ve metanol ortamında hesaplanan % geri elde değerlerinin bağıl standart sapma (%) değerleri % 2'den küçüktür. Bu sonuçlar yöntemin doğruluğunu göstermektedir.

Bir analiz yönteminin kesinliği ise normal test koşullarında testin tekrarlanabilirliğinin ve tekrar elde edilebilirliğinin bir ölçüsüdür. Bir başka

anlatımla homojen bir karışımdan kısa aralıklarla alınan birden fazla numunede elde edilen sonuçların birbiriyle uyumunu, yakınlık derecesini ifade etmektedir. Etkin maddenin pH 1,2 tamponunda, % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF ortamında, % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 4,5 ortamında, % 0,2 a/h Tween 80 içeren SIF (pH 6,8) ortamında ve metanol ortamında iki farklı gün içinde tekrarlanabilirlik ve iki farklı analist tarafından gerçekleştirilen tekrar elde edilebilirlik incelemesine ait deneylerden elde edilen verilerin bağıl standart sapma değerlerinin % 2'den küçük olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.8. – 3.17.). Bu sonuçlar yöntemin kesinliğini göstermektedir.

Bir analitik yöntemin teşhis sınırı (LOD) belirtilen deneysel yöntemi kullanarak bir örnek içinde izlenebilecek en düşük analit miktarıdır. Yöntemin tayin sınırı (LOQ) ise belirtilen deneysel yöntem kullanıldığında, kabul edilebilir doğruluk ve kesinlikte etkin maddenin ölçülebilecek en düşük miktarıdır. Hazırlanan ortamlardaki teşhis ve tayin sınırları Çizelge 3.18. – 3.22.'de görüldüğü gibi doğrusallık aralığını oluşturan alt sınırların aşağısında yer almaktadır.

4.2. Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi

4.2.1. Etkin Maddesiz Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi

4.2.1.1. Proniozom Üretimi Esnasında Kullanılacak Olan Yöntemin Seçimine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Proniozom üretimi esnasında sprey yöntemi ve bulamaç yöntemi karşılaştırılmıştır. Şekil 3.8.'de de görüldüğü gibi sprey yöntemiyle üretilen veziküllerde büyük agregatlar oluşmuştur ve veziküllerin büyüklükleri artmıştır. Ayrıca rotavapora takılı halde bulunan cam balonun içindeki taşıyıcı materyale etkin maddeyi de içeren çözücü karışımı püskürtülürken çeşitli sorunlar yaşanmaktadır, homojen bir püskürtme yapılamamaktadır. Püskürtme porsiyonlar halinde yapıldığı için

rotavaporun sürekli durdurulup kapatılması gerekmektedir. Ayrıca etkin bir püskürtme yapacak uygun bir püskürtme aparatının bulunması zordur. Ayrıca püskürtme esnasında organik çözücü olan kloroform uçmaktadır. Bu nedenlerden dolayı bulamaç yönteminin proniozom üretiminde çok daha uygun bir üretim yöntemi olduğu saptanmıştır.

4.2.1.2. Proniozomdan Niozom Eldesinde Ortam Sıcaklığının ve Vorteks İşleminin Etkisine Yönelik Yapılan Çalışmaların Değerlendirilmesi

İlgili kaynaklarda proniozomlardan niozom elde edilirken, yapıda bulunan yüzey etkin maddenin camsı geçiş sıcaklığının üzerindeki sıcaklıkta olan bir sıvıyla hidratasyon yapılmasının gerektiği belirtilmiştir (Hao ve ark., 2002). Yapılan çalışmada proniozomal tozun hem oda sıcaklığında (25 ± 2 °C'de) vücuda verilmeden önce dış ortamda hidrate edilip niozomal dispersiyon şekline dönüştürülmesi, hem de vücut sıcaklığı olan 37 °C'deki distile su ile hidrate edilip niozomal dispersiyon şekline dönüştürülmesi mümkün olmuştur (Şekil 3.9., Çizelge 3,24). Yani niozomal veziküller, oda sıcaklığında proniozomal tozun kullanımdan hemen önce su ile hidratasyonu veya proniozomal toz vücuda alındıktan sonra proniozomal tozun vücut sıvılarıyla hidratasyonu ile kolaylıkla oluşabilecektir.

İlgili kaynaklarda, proniozomal tozdan niozomal dispersiyon elde edilirken hidratasyon aşamasından sonra vorteks işleminin uygulandığı görülmektedir (Hu, C., Rhodes, D., 1999). Oysa yapılan çalışmada herhangi bir vorteks işlemi uygulanmadan da niozomal veziküllerin oluşabildiği saptanmıştır (Şekil 3.10.). Bu bulgu sayesinde proniozomal tozun vücut sıvılarıyla hidratasyonu sonucu proniozomal tozdan vorteks işlemi gereksiz niozomal veziküllerin oluşabileceği anlaşılmaktadır.

4.2.1.3. Etkin Maddesiz Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Kontrollere Ait Bulguların Değerlendirilmesi

K1 kodlu formülasyon sprej yöntemi ile hazırlandığında agregat oluşumundan dolayı partikül büyüklüğünün bir hayli arttığı ve partikül büyüklüğü dağılımının heterojenleştiği görülmektedir (Şekil 3.8.). Optik mikroskop verilerini partikül büyüklüğü analizi verileri de desteklemektedir (Çizelge 3.25.). Ayrıca spreyleme işlemi ile üretim esnasında zorluklar yaşandığı için uygun yöntem olarak **bulamaç** yöntemi seçilmiştir.

K1 kodlu formülasyonda 10 mL kloroform varken, K2 kodlu formülasyonda 5 mL kloroform bulunmaktadır (Çizelge 2.1.). Kloroform çok uçucu olan bir çözücü olduğu için üretim esnasında 5 mL kloroform yerine 10 mL kloroform kullanmak işlemi kolaylaştıracak ve uçan kloroformun işlemi daha az etkilemesini sağlayacaktır. Ayrıca optik mikroskop görüntüleri de dikkate alınarak üretim esnasında kullanılan kloroform miktarının 10 mL olmasına karar verilmiştir (Şekil 3.8., Şekil 3.14.).

K3 kodlu formülasyon K1 kodlu formülasyonun aynısıdır (Çizelge 2.1.), tek farkı K3 kodlu formülasyonda taşıyıcı madde olan sorbitolün çeşitli partikül büyüklükleri ile deney gerçekleştirilmiştir. Bu denemelerin sonucunda optik mikroskop görüntüleri (Şekil 3.16.) değerlendirildiğinde, orta partiküllü sorbitolün (0.25-0,50 mm) taşıyıcı olarak kullanılmasının daha uygun olduğu saptanmıştır.

K4 kodlu formülasyon geliştirilirken sürfaktan karışımının sorbitole oranı kısım cinsinden 1 : 10'dan 1 : 20'ye yükseltilmiştir (Çizelge 2.1.), ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Taşıyıcı madde miktarının artması proniozomal toz miktarını da arttıracığından daha iyi fiziksel stabiliteye sahip ürün elde etmemize ve üretim esnasında yaşanan kayıpların sonuç ürünü daha az derecede etkilemesine yardımcı olacaktır. Herhangi bir vorteks işlemi uygulanmadığında da sadece hidratasyonla

niozomların oluştuğu gözlenmiştir; bu da proniozomların peroral yolla kullanımı öncesi hidrasyonu sırasında veya toz şeklinde vücuda uygulanması sonrası vücut sıvıları ile hidrasyonu sırasında niozom eldesinde herhangi bir sorun olmayacağını göstermektedir. Vorteks işleminin süresi arttıkça vezikül büyüklüğü küçülmektedir (Şekil 3.18.).

K5 kodlu formülasyonda sürfaktan karışımı ve sorbitolün kısım cinsinden oranı 1:30'a yükseltilmiştir (Çizelge 2.1.). Bu deney sonucunda optik mikroskoptan elde edilen veriler ve partikül büyüklüğü analizinden elde edilen veriler değerlendirildiğinde K5 kodlu formülasyonun şekil olarak uygun olmadığı saptanmıştır (Şekil 3.20.).

Çalışmalarda K4 kodlu formülasyonun temel alınarak bu formülasyona etkin madde eklenmesine karar verilmiştir.

4.2.2. Kandesartan Sileksetil İçeren Formülasyonlar Çalışmalarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi

4.2.2.1. Ürün Verimi (%) Bulgularının Değerlendirilmesi

Tüm formülasyonlar ürün verimi % 97 üzerinde olmuştur (Çizelge 3.26.). Proniozomlar cam balon içinde genel olarak akıcı tozlar şeklinde elde edildiğinden çok fazla ürün kaybı olmamıştır.

4.2.2.2. Etkin Madde Yükleme Etkinliği (%EE) Bulgularının Değerlendirilmesi

Kandesartan sileksetil pratik olarak suda çözünmeyen, lipofilik bir etkin madde olduğu için HLB'si düşük olan (lipofilik olan) sürfaktanlarla hazırlanan proniozomların % EE (etkin madde yükleme etkinliği) değerlerinin yapı

benzerliğinden dolayı daha yüksek olması beklenir (Bayındır, Z.S., Yüksel, N., 2010). Deneyler sonucunda elde edilen bulgular da üstteki teorik bilgiyi desteklemektedir. HLB değerleri düşük olan Spanlar ve Brij 72 içeren F1-F5 formülleri ile hazırlanan niozomlarda % 98 ve üzerinde % EE değerleri elde edilmiştir. HLB değerleri yüksek olan (hidrofilik olan) sürfaktanlarla üretilen proniozomlarda (F6, F7, F8, F9) % EE değerleri % 70-91 arasında olmuştur (Çizelge 3.27.).

4.2.2.3. Proniozomların Hidratasyonu ile Elde Edilen Niozomların Optik Mikroskop Görüntülerinin Değerlendirilmesi

Optik mikroskop görüntülerine bakıldığında en küresel ve en iyi şekilli niozomların sürfaktan olarak sorbitan esterleri (Spanlar) kullanıldığında (F1, F2, F3, F4) elde edildiği gözlenmiştir (Şekil 3.21 – Şekil 3.24.). Brijler (polioksietilen stearil eterleri) ile üretilen niozomların (F5, F6, F7) optik mikroskop görüntülerine bakıldığında Spanlar ile üretilen niozomlar kadar küresel veziküller elde edilememiştir (Şekil 3.25. – Şekil 3.27.). Tweenler (polioksietilen sorbitan eterleri) ile üretilen niozomların (F8, F9) optik mikroskop görüntülerine bakıldığında ise sürfaktanların HLB değerleri yüksek olduğu için (hidrofilik oldukları için) küresel yapıdaki niozomların tam anlamıyla oluşmadığı ve bunların yerine tübüler şekilli yapıların ve agregatların oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 3.28., Şekil 3.29.). Tween gibi hidrofilik sürfaktanların hidrofilik grupları çok baskın olduğundan veziküler lipidik çifte tabakayı oluşturabilmeleri için lipofilik sürfaktanlardan daha fazla kolesterol molekülüne ihtiyaçları vardır (Uchegbu, F.I., Vyas, S., 1998). Formülasyonların hepsinde kolesterol miktarları sabit olduğu için bu miktar tweenlerin veziküler çifte tabakayı tam anlamıyla oluşturabilmeleri için yetersiz kalmıştır ve dolayısıyla küresel şekilden uzak yapılar gözlenmiştir (Şekil 3.28.-3.29.).

Kandesartan sileksetil lipofilik olduğu için etkin madde veziküler yapının alkil zincirleri arasında (yani sürfaktanların hidrofobik kuyruk kısımlarında) dağılıp veziküler yapıya yüklenir. Dolayısıyla % EE (etkin madde yükleme etkinliği)

değerlerinin yüksek olduğu proniozomlarda, etkin madde alkil zincirleri arasında tutulduğundan alkil zincirinin uzun olması ve niozom partikül büyüklüğünün (çapının) büyük olması gerekmektedir (Bayındır, Z.S., Yüksel, N., 2010). En yüksek % EE değerleri beklenildiği gibi Spanlar ile üretilen veziküllerde elde edilmiştir ve teorik olarak bu niozomların daha büyük olması beklenir. Fakat üretilen proniozomların optik mikroskop görüntüleri incelendiğinde HLB'si yüksek olan sürfaktanlarla üretilen niozomlarda agregatların oluşmasından dolayı ve veziküler çifte tabakayı kolesterol azlığından dolayı oluşturmamayan tübüler şeklindeki yapıların bulunmasından dolayı; teorik olarak, etkin madde yükleme etkinliği verilerine göre olması beklenenden daha büyük veziküller ve yapılar oluşmuştur (Şekil 3.21.-3.29.).

4.2.2.4. Proniozomlardan Etkin Madde Salımının İncelenmesi İçin Çözünme Hızı Test Yönteminin Belirlenmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

İlgili literatürlerde ve kaynak kitaplarda proniozomal veziküller için ve doğrudan niozomlar için çözünme hızı analizleri genellikle diyaliz membranlar kullanılarak yapılmıştır (Bayındır, Z.S., Yüksel, N., 2010; Hu. C., Rhodes, D., 1999; Alsarra ve ark., 2005).

Kandesartan sileksetil etkin maddesi içeren proniozomal tozlarla çalkalayıcı su banyosunda yapılan çözünme hızı analizlerinde ilk olarak diyaliz yöntemi denenmiştir. Diyaliz yönteminde öncelikle diyaliz membranların içine doğrudan proniozomal tozun ve niozomal dispersiyonun konulduğu denemeler yapılmıştır. Salınan etkin madde yüzdelerinin çok düşük değerlerde kaldığı sırasıyla 10 saat sonunda ancak % 4,586 ve % 5,445 etkin madde salımı) saptanmıştır (Çizelge 3.28-3.29.). Bu denemelerden sonra çözünme ortamına a/h cinsinden % 0,2 oranında Tween 80 eklenmiştir, fakat yine etkin madde salımının çok düşük değerde kaldığı (4 saat sonunda % 4,707 etkin madde salımı) saptanmıştır (Çizelge 3.30.). Başka bir denemede ise diyaliz membranların içine saf etkin madde ve etkin madde ile sorbitolün karışımı olan toz konulmuştur, bu analizlerde de etkin madde salımı çok düşük değerlerde (sırasıyla 10 saat sonunda ancak % 4,198 ve %2,099 etkin madde

salımı) gerçekleşmiştir (Çizelge 3.31.). Diğer bir denemede etkin maddenin metanol içinde çözeltisi hazırlanmıştır ve bu çözelti diyaliz membranın içine konulmuştur, fakat etkin madde salımının yine çok düşük değerlerde (10 saat sonunda ancak % 7,938 etkin madde salımı) kaldığı görülmüştür (Çizelge 3.32.).

Etkin maddenin dozunun yüksek olabileceği düşünülüp etkin madde dozu 8 mg'dan 4 mg, 2 mg ve 1 mg'a düşürülerek diyaliz membranlar ile çalkalayıcı su banyosunda tekrar çözünme hızı analizleri gerçekleştirilmiştir. Diyaliz membranların içine proniozomal toz ile beraber konulan çözünme ortamının miktarının deneye etki edebileceği düşünülüp bu miktar azaltılarak da çözünme hızı analizleri gerçekleştirilmiştir. Proniozomal tozdaki taşıyıcı materyal olan sorbitolün etkin madde salımını olumsuz etkileyebileceği düşünülmüş ve ultrasantrifüj işlemi sonrasında elde edilen ve sorbitol içermeyen presipitat kısımlarının diyaliz membranların içine konulması ile de deneyler gerçekleştirilmiştir. Ayrıca proniozomal tozdaki taşıyıcı materyal olan sorbitolün diyaliz membran içinde ozmotik basınç oluşturabileceği ve oluşan bu basıncın etkin madde salımını olumsuz yönde etkileyebileceği düşünülmüştür. Bu basınç farkını önleyebilmek için, çözünme ortamına diyaliz membranlarda bulunan proniozomal toz içindeki sorbitol kadar sorbitol eklenmiştir. Fakat diyaliz membranlarla yapılan bu çözünme hızı deneylerinde de tutarsız sonuçlar alınmıştır ve etkin madde salım yüzdeleri çok düşük değerlerde kalmıştır. (Çizelge 3.33., Çizelge 3.34., Çizelge 3.35.).

Diyaliz membranları ile yapılan üstte anlatılan denemelerin ardından çözünme hızı analizlerinin diyaliz membranlar kullanılmadan sadece çalkalayıcı su banyosu ile yapılıp yapılamayacağı araştırılmıştır. Bu amaçla 8 mg etkin madde içeren proniozomal toz doğrudan çözünme ortamını içeren beherin içine konulmuştur, ve beher çalkalayıcı su banyosuna yerleştirilmiştir. Bu deneyde çözünme ortamı olarak % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF kullanılmıştır. Deney sonucunda 4 saat sonunda etkin maddenin % 75'inin ortama salındığı saptanmıştır (Çizelge 3.36., Çizelge 3.37.). Diyaliz kesesi kullanılmayıp sadece çalkalayıcı su banyosu ve beher kullanıldığında etkin maddenin salındığı saptandıktan sonra ortama yüzey etkin madde konulmadan da etkin madde salımının olup olmayacağı araştırılmıştır. Bu

deneyde bir üstte anlatılan deneyden farklı olarak çözünme ortamı olarak pH 1,2 tamponu seçilmiştir. Fakat çözünme ortamında yüzey etkin madde olmadığında kandesartan sileksetilin salımının bir hayli düştüğü (45 dakikada % 4,709 etkin madde salımı) gözlenmiştir (Çizelge 3.38.). Bu deneylerin sonucunda çözünme hızı analizleri, sink koşulunu sağlayabilmek için yüzey etkin madde içeren ortamlarda ve diyaliz membran kullanılmaksızın beher yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

4.2.2.5. Farklı Formülasyonlarla Hazırlanan Proniozomlardan Etkin Madde Salımının İncelenmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Hazırlanan formülasyonlardan diyaliz keseleri kullanılmadan sadece çalkalayıcı su banyosu ile (beher yöntemi ile) % 0,2 a/h Tween 80 içeren SGF ortamında yapılan çözünme hızı analizlerinde 4 saat sonunda % 24,73-80,63 oranında etkin madde salımı saptanmıştır (Çizelge 3.39., Şekil 3.30.). Geliştirilen tüm formüllerde salınan etkin madde yüzdesi kandesartan sileksetil içeren ticari preparattan yüksek değerlerdedir (Şekil 3.30.). Kandesartan sileksetil lipofilik bir etkin madde olduğu için sürfaktan yapısının hidrofobik olan alkil zincir kısımlarına sekonder bağlarla bağlanmaktadır ve bu kısımlarda moleküler düzeyde dağılmaktadır. Oluşturulan formüllerin tümünden üretilen proniozomlar çözünme ortamı ile temas edince etkin madde difüzyon mekanizması ile veziküler yapıdan salınacaktır. Bizim çalıştığımız proniozomlarda düşük HLB'ye sahip sürfaktanlarla hazırlanan formülasyonlardan (F1, F2, F3) etkin madde salımı daha fazla olmuştur. Kandesartan sileksetil çok düşük çözünürlüğe sahiptir; düşük HLB'ye sahip sistemlerin (lipofilik sistemlerin) bu maddenin çözünür hale getirilmesinde daha etkin olduğu saptanmıştır (Tballo 3.39. ve Şekil 3.30.). F8 kodlu formülasyonda (Tween 80, HLB 15) ve F9 kodlu formülasyonda (Tween 20, HLB 16,7) başlangıçta hızlı bir çıkış (burst effect) ve takiben son derece düşük bir etkin madde salımı gözlenmiştir (F8= 5.dakikada % 43,60 ve F9= 5. dakikada % 18,86); yani bir salım devamlılığı yoktur. Bu fark etkin maddenin lipofilik ve hidrofilik sürfaktanlar içerisinde farklı yerleşimine bağlanabilir. F7 kodlu formülasyonda HLB'si 15,3 olan Brij 78 kullanılmıştır. Bunda ise maksimum etkin madde çıkışı (% 127,6) gözlenmiştir (Çizelge 3.39.), fakat bu çıkış

yüzdesi % 100'ün üzerindedir. En düşük etkin madde yükleme etkinliği (% 69,60) bu formül için gözlenmiştir; çözünme testine alınacak 8 mg etkin madde içerecek şekilde tartılan proniozomal toz miktarı artmaktadır. Bu kütle içinde etkin maddenin homojen olarak dağılamadığı düşünülmüştür. F7 haricinde en yüksek etkin madde salımının gözlendiği F2 ve F3 formülleri arasından seçilen formül F2 formülü olmuştur. (Çizelge 3.39., Şekil 3.30.). Çünkü F2 kodlu formülasyon ile üretilen proniozomlardan elde edilen etkin madde salım yüzdelerinin standart hata değerleri oldukça düşüktür ve düşük standart hata değerleri elde edilen sonuçların tutarlı olduğunu göstermektedir.

4.3. Hazırlanan Formülasyonlar Arasındaki Son Değerlendirme ve En Uygun Formülün Seçilmesi

Spanlar arasında değerlendirme yapıldığında en küresel ve homojen dağılımlı partiküller F2 kodlu formülasyon ile üretilen niozomlarda elde edilmiştir (Şekil 3.21.-Şekil 3.24.).

% EE (etkin madde yükleme etkinliği) değeri en yüksek oranda F4 kodlu formülasyonda (% 99,16 oranında) elde edilmiştir (Çizelge 3.27.); fakat etkin madde salım verilerine bakıldığında F4 kodlu formülasyonla üretilen proniozomlardan açığa çıkan etkin madde yüzdesi (%48,2), F2 kodlu formülasyonla üretilen proniozomlardan salınan etkin madde yüzdesine (%76,86) kıyasla oldukça düşük değerlerde kalmaktadır (Çizelge 3.39., Şekil 3.30.). F2 ve F4 kodlu formülasyonların % EE değerleri arasındaki fark çok az iken; % A.Ç.E.M. değerleri arasındaki fark oldukça yüksektir.

Yukarıda anlatılan parametreler ve bulgular göz önünde bulundurulduğunda, en uygun formülün Span 60 ile üretilen F2 kodlu formülasyon olduğuna karar verilmiştir.

4.4. Seçilen Formülasyon Üzerinde Yapılan İncelemelere Ait Bulguların Değerlendirilmesi

4.4.1. Proniozomlardan Hidratasyonla Oluşturulan Niozomların Partikül Büyüklüğünün, Zeta Potansiyelinin ve Polidispersite İndeksinin Ölçülmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Seçilen F2 kodlu formülden üretilen proniozomlardan elde edilen niozomların 0,8 µm'lik filtreden geçirilmesi sonucu ortalama partikül büyüklüğü 679,9 nm (Şekil 3.31.), ortalama polidispersite indeksi ise 0,493 bulunmuştur. Polidispersite indeksi orta bir değerde olmakla beraber 0,5'in altındadır ve 0'a daha yakındır, bu nedenle oluşturulan veziküllerin partikül büyüklüğü dağılımının dar dağılıma yakın özellikte olduğu söylenebilir. Ortalama zeta potansiyeli -43,6 mV bulunmuştur (Şekil 3.32.), yani niozomların agregasyona karşı birbirlerine uyguladıkları itme kuvvetleri yüksektir ve agregasyona karşı dayanıklı veziküller elde edilmiştir (Martin, 1993, s:410).

4.4.2. Sorbitol Partikül Büyüklüğünün Etkin Madde Salımına Etkisinin İncelenmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Proniozom formülasyonlarında taşıyıcı madde olan sorbitolün partikül büyüklüğü aralığının etkin madde salımına etkisi incelenmiştir. Partikül büyüklüğü azaldıkça etkin madde salımı hızlanmıştır; partikül büyüklüğü arttıkça da etkin madde salımı yavaşlamıştır (Çizelge 3.40., Şekil 3.33.). Deney yapılan üç partikül büyüklüğü aralığında da salım profillerinde, deneyin en sonunda salınan etkin madde yüzdeleri birbirine yakındır. Daha önceden çeşitli partikül büyüklüğündeki sorbitollerle üretilen proniozomlar üzerinde yapılan partikül büyüklüğü ve optik mikroskop analizleri de göz önünde bulundurulduğunda ideal sorbitol partikül büyüklüğü aralığının 0,25-0,50 mm olmasına karar verilmiştir.

4.4.3. Seçilen Formülasyondan ve Ticari Preparattan Etkin Madde Salımının Farklı pH Değerlerindeki Ortamlarda İncelenmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

8 mg kandesartan sileksetil içeren tablet formunda olan ticari preparatın etkin madde salım özellikleri % 0,2 a/h Tween 80 içeren çeşitli pH'lardaki ortamlarda incelenmiştir. Açığa çıkan etkin madde yüzdeleri pH 1,2 ortamında % 18,68; pH 4,5 ortamında % 25,60; pH 6,8 ortamında % 70,36'dır (Çizelge 3.42.). Seçilen F2 kodlu formülle üretilen 8 mg kandesartan sileksetil içeren proniozomal tozun da etkin madde salım özellikleri % 0,2 a/h Tween 80 içeren çeşitli pH'lardaki ortamlarda incelenmiştir. Belirli zaman dilimlerinde alınan numuneler ultrasantrifüj işlemine tabi tutulmuştur ve santrifüj sonrası santrifüj tüplerinin üst kısmındaki alt kısma göre daha berrak olan sıvılardan analiz yapılmıştır. Açığa çıkan etkin madde yüzdeleri pH 1,2 ortamında % 42,30; pH 4,5 ortamında % 71,39; pH 6,8 ortamında ise % 99,38'dir (Çizelge 3.41.). Yani geliştirilen proniozomal toz ile ticari preparattan daha yüksek etkin madde çıkış değerleri elde edilmiştir (Şekil 3.34.). En yüksek kandesartan sileksetil salımı diğer ortamlara göre kısmen daha alkali olan pH 6,8 ortamında elde edilmiştir (Şekil 3.34.). Kandesartan, kısmen asidik bir etkin madde olduğu için diğer ortamlara göre kısmen daha alkali olan pH 6,8 ortamında daha iyonize halde bulunmakta ve çözünürlüğü artmaktadır (Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Kurumu'nun (FDA) etkin maddeler için çözünme ortam tavsiyeleri listesinde kandesartan için % 0,35 Tween 20 içeren pH 6,8 fosfat tamponu ortamı tavsiye edilmiştir).

4.4.4. Etkin Madde Salım Kinetiklerinin İncelenmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Seçilen F2 kodlu formülle üretilen 8 mg kandesartan sileksetil içeren proniozomal toz ile % 0,2 a/h Tween 80 içeren çeşitli pH değerlerindeki ortamlarda gerçekleştirilen çözünme hızı testine ait verileri değişik çözünme hızı kinetiklerine uygulanmıştır. pH 1,2 ortamından elde edilen veriler incelendiğinde (Çizelge 3.43.),

en yüksek determinasyon katsayısı (r^2) Weibull modelinde elde edilmiştir, aynı ortamda en düşük artık kareler ortalamaları (RMS) Weibull ve 1. derece kinetik modellerinde birbirlerine çok yakın değerler olarak bulunmuştur. Determinasyon katsayıları ve artık kareler ortalamaları beraber değerlendirdiğinde pH 1,2 ortamında etkin madde salımı Weibull modeline uyum sağlamaktadır. Weibull modeline göre pH 1,2 ortamında şekil parametresi olan β değeri 0,33 olarak bulunmuştur, yani β değeri 1'den küçük olduğu için artan başlangıç eğimini takiben basit üssel bir eğri ile uyumlu olan etkin madde salım profili (Yüksel ve ark., 2000) elde edilmiştir. pH 4,5 ortamından elde edilen veriler incelendiğinde (Çizelge 3.43.) en yüksek determinasyon katsayısı 0. derece kinetik modelinde elde edilmiştir, ancak artık kareler ortalamaları incelendiğinde 0. derece kinetik ile elde edilen artık kareler ortalamasının oldukça yüksek olduğu ve buna karşın 1. derece kinetik ile elde edilen artık kareler ortalamasının çok düşük değerde olduğu bulunmuştur; yani üretilen proniozomal toz zamanla içinde kalan etkin madde miktarı ile orantılı olarak etkin maddeyi salmaktadır ve zamana bağlı olarak açığa çıkan etkin madde miktarı üssel şekilde azalmaktadır (Costa ve Lobo, 2001). pH 6,8 ortamından elde edilen veriler incelendiğinde (Çizelge 3.43.) en yüksek determinasyon katsayısı ve en düşük artık kareler ortalaması Hixson-Crowell modelinde elde edilmiştir. Determinasyon katsayıları ve artık kareler ortalamaları beraber değerlendirdiğinde pH 6,8 ortamında etkin madde salımı özellikle partiküler sistemlere uygun olan Hixson-Crowell modeline uyum sağlamaktadır, (Costa ve Lobo, 2001).

4.4.5. Etkin Madde Yardımcı Madde Etkileşiminin İncelenmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

DSC termogramları incelendiğinde etkin maddenin üretilen proniozomal toz içinde amorf halde olduğu görülmektedir; etkin maddenin kristal formda olduğunu gösteren keskin endotermik pik, proniozomdan elde edilen termogramda görülmemektedir. Bu durum etkin maddenin proniozomlar içinde amorf halde bulunduğunu göstermektedir; çözünme hızındaki artışlar bu sonuca bağlanabilir. Diğer tüm yardımcı maddeler de normalde kristal yapı gösterirken proniozomlar içerisinde

sorbitol hariç amorf hale dönüşmüştür (Şekil 3.35.). X- ışını difraksiyon spektrumları incelendiğinde de yine sorbitol hariç yardımcı maddelerin ve kandesartan sileksetilin kristal yapılarının amorf hale dönüştüğü görülmüştür (Şekil 3.36.).

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma oral yolla salım için kandesartan sileksetil içeren proniozomların hazırlanması, formülasyon parametrelerinin ve etkin madde salımının değerlendirilmesine yöneliktir. Yapılan kaynak taramalarında proniozomların oral yolla kullanımlarına dair kısıtlı sayıda çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca kandesartan sileksetilin genelde klasik tablet formu çalışılmıştır, kandesartan sileksetilin proniozomlara veya herhangi bir veziküler yapıya yüklendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Kandesartan sileksetilin çözünürlüğü çok düşük olduğu için, bu çalışmada etkin maddenin proniozomal veziküllerin içine yüklenmesi ile peroral yolla kullanım amacıyla vücut sıvılarındaki çözünürlüğünün artırılması ve dolayısıyla biyoyararlanımının artırılması amaçlanmıştır. Çalışmanın sonuçları aşağıda verilmiştir:

- ✓ Kandesartan sileksetil etkin maddesinden elde edilen DSC termogramı ve X-ışını difraksiyon spektrumu, etkin maddenin saf halde ve form I halinde olduğunu göstermektedir.
- ✓ DSC termogramlarından ve X-ışını difraksiyon spektrumlarından elde edilen bulgulara göre etkin madde proniozomal toz içinde amorf halde bulunmaktadır.
- ✓ Etkin maddenin miktar tayini için kullanılan analitik yöntemler, doğruluk, kesinlik, teşhis ve tayin alt sınırı gibi validasyon parametrelerini sağlamıştır.
- ✓ Proniozom üretim yöntemleri değerlendirildiğinde uygun yöntem olarak bulamaç yöntemi seçilmiştir.

- ✓ Yapılan etkin maddesiz formülasyon çalışmalarında üretim sırasında organik çözücü olarak kullanılan kloroform miktarının 10 mL olmasının 5 mL olmasından daha uygun olduğu saptanmıştır.
- ✓ Yapılan etkin maddesiz formülasyon çalışmalarında, proniozom yapısında taşıyıcı materyal olarak kullanılan sorbitolün orta partikül büyüklüğü aralığında (0,25-0,50 mm) olmasının daha uygun olduğu saptanmıştır.
- ✓ Yapılan etkin maddesiz formülasyon çalışmalarında sürfaktan karışımı : taşıyıcı madde oranının (1k : 20 k) olmasının daha uygun olduğu saptanmıştır.
- ✓ Yapılan deneylerde herhangi bir vorteks işlemi uygulanmadan, sadece proniozomal tozların hidratasyonu ile de niozomal dispersiyonların elde edilebildiği saptanmıştır. Yani vücut dışında veya vücut içinde sadece hidratasyonla, başka bir işleme gereksinim duyulmadan niozomal dispersiyonlar oluşabilecektir.
- ✓ Hazırlanan formülasyonlarda % ürün verimlerinin % 97,19 - % 98,83 aralığında olduğu saptanmıştır.
- ✓ Hazırlanan formülasyonlarda % EE (etkin madde yükleme etkinliği) değerlerinin % 69,60 - % 99,16 aralığında olduğu saptanmıştır.
- ✓ Elde edilen % EE değerleri, HLB değerlerine göre daha lipofilik olan sürfaktanlarla hazırlanan proniozomlarda daha yüksektir. Suda çözünürlüğü çok düşük olan (pratik olarak suda çözünmeyen) kandesartan sileksetilin lipofilik olan sürfaktanlarla oluşturulan veziküllerin içine yapı benzerliğinden dolayı daha yüksek oranda yüklendiği saptanmıştır.
- ✓ Diyaliz yöntemi ve beher yöntemi arasında yapılan incelemeler neticesinde hazırlanan proniozomlardan etkin madde salımının incelenmesi için en uygun yöntemin beher yöntemi olduğu saptanmıştır.

- ✓ Hazırlanan formülasyonlarda % 0,2 a/h Tween 80 içeren pH 1,2 ortamında % A.Ç.E.M. değerlerinin (açığa çıkan etkin madde miktarı) 4 saat sonunda % 24,73 - % 80,63 aralığında olduğu saptanmıştır. Aynı ortamda piyasa preparatından etkin madde salım yüzdesi ise % 20,54'tür, yani geliştirilen tüm formüller ticari preparata nazaran daha iyi etkin madde salım özelliği göstermiştir.
- ✓ HLB'si düşük olan sürfaktanlarla üretilen formüllerde agregasyona daha dayanıklı, daha stabil veziküller elde edilmiştir.
- ✓ Optik mikroskop görüntülerine bakıldığında en küresel ve en iyi şekilli niozomların sürfaktan olarak sorbitan esterleri (Spanlar) kullanıldığında (F1, F2, F3, F4) elde edildiği saptanmıştır.
- ✓ Üretilen proniozomların optik mikroskop görüntüleri incelendiğinde, HLB'si yüksek olan sürfaktanlarla üretilen niozomlarda agregatların oluşmasından dolayı ve veziküler çifte tabakayı kolesterol azlığından dolayı oluşturamayan tübüler şeklindeki yapıların var olmasından dolayı; daha büyük partiküllü niozomlar elde edilmiştir.
- ✓ Yapılan deneylerde proniozom yapısında taşıyıcı materyal olarak bulunan sorbitolün partikül büyüklüğü küçüldükçe etkin madde salımının hızlandığı, partikül büyüklüğü büyüdükçe ise etkin madde salımının yavaşladığı saptanmıştır.
- ✓ Yukarıda anlatılan parametreler ve bulgular göz önünde bulundurulduğunda, en uygun formülün Span 60 ile üretilen F2 kodlu formülasyon olduğuna karar verilmiştir.
- ✓ Kandesartan sileksetil pratik olarak suda çözünmeyen ve FDA (Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Kurumu) tarafından düzenlenen etkin maddelerin biyofarmasötik sınıflandırma sistemine göre ikinci sınıfta yer alan bir etkin maddedir; yani çözünürlüğü düşük olan, emilimi yüksek olan bir etkin maddedir. Dolayısıyla etkin maddenin vücuttaki biyoyararlanımı için çözünürlük kritik parametredir. Yapılan çalışmada kandesartan sileksetil etkin maddesi proniozomal vezikül içine yüklenerek vücut sıvılarındaki çözünürlüğü arttırılmıştır.

- ✓ Seçilen F2 kodlu formülde çeşitli pH değerindeki ortamlarda gerçekleştirilen çözünme hızı analizlerinde açığa çıkan etkin madde yüzdeleri pH 1,2 ortamında % 42,30; pH 4,5 ortamında % 71,39; pH 6,8 ortamında ise % 99,38'dir. Ticari preparat ile gerçekleştirilen çözünme hızı analizlerinde açığa çıkan etkin madde yüzdeleri ise pH 1,2 ortamında % 18,68; pH 4,5 ortamında % 25,60; pH 6,8 ortamında % 70,36'dır. Yani üretilen proniozomal formül ile piyasa preparatına nazaran daha yüksek değerlerde etkin madde salımı elde edilmiştir.

Zaman (dakika)	% A.Ç.E.M.. (% 0,2 Tween 80 içeren pH 1,2)		% A.Ç.E.M.. (% 0,2 Tween 80 içeren pH 4,5)		% A.Ç.E.M.. (% 0,2 Tween 80 içeren pH 6,8)	
	Ticari preparat	F2 kodlu formül	Ticari preparat	F2 kodlu formül	Ticari preparat	F2 kodlu formül
240	18,68	42,30	25,60	71,39	70,36	99,38

- ✓ Proveziküler sistemlerden olan proniozom yapısı kuru toz şeklinde bir yapı olduğu için, oluşturulan ürün sıvı sistemler olan niozomal dispersiyonların fiziksel stabiliteleri ile ilgili sorunların üstesinden gelecek bir üründür.
- ✓ İleriki çalışmalarda proniozomlardan katı dozaj formları hazırlanabilir. Proniozomlardan tablet basılabilir, basılabilirlikleri ve parametreleri incelenebilir. Proniozomlar sert jelatin kapsüller içine doldurulabilir.

ÖZET

Oral Yolla Veriliş İçin Kandesartan Sileksetil İçeren Proniozomların Hazırlanması: Formülasyon Parametreleri ve Etkin Madde Salımının Değerlendirilmesi

Çalışmamızda çeşitli surfaktanlarla [sorbitan esterleri (Span), sorbitan esterlerinin polioksietilen eterleri (Tween) ve polioksietilen stearil eterler (Brij)] ve çeşitli oranlarda, pratik olarak suda çözünmeyen ve biyoyararlılığı düşük olan kandesartan sileksetil yüklü proniozomlar hazırlanmıştır; formülasyon parametreleri ve etkin madde salım özellikleri değerlendirilmiştir.

Diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC), X-ışını toz difraktometrisi ile etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir ve etkin madde ile diğer maddeler arasında etkileşim araştırılmıştır. Etkin madde miktar tayini için kullanılan UV spektrofotometrik yöntem valide edilmiştir. Proniozomların üretim yöntemleri (sprey yöntemi ve bulamaç yöntemi) denenmiştir ve uygun yöntem seçilmiştir. Etkin madde kullanılmadan önformülasyon çalışmaları yapıp, çeşitli formülasyon parametreleri (kullanılacak organik çözücü miktarı, kullanılacak taşıyıcı materyalin partikül büyüklüğü aralığı, surfaktan karışımının taşıyıcı materyale kısım cinsinden oranı) optimize edilmiştir. Yapılan deneylerde proniozomlardan niozomal dispersiyonlar elde edilirken vorteks işleminin ve hidrasyon sıcaklığının etkisi değerlendirilmiştir. Hazırlanan formüllerde kandesartan sileksetilin dozu 8 mg olarak seçilmiştir. Hazırlanan formüllerden elde edilen proniozomlar optik mikroskop ile görüntülenmiştir, ayrıca % ürün verimleri ve niozomal veziküllerin etkin madde yükleme etkinlikleri hesaplanmıştır. Çözünme hızı analizi için öncelikle çözünme hızı yöntemi seçilmiştir. Seçilen F2 kodlu final formülde partikül büyüklüğü ve zeta potansiyeli analizleri yapılmıştır. Seçilen final formülde etkin madde salım çalışmaları çeşitli pH değerlerindeki ortamlarda yapılmıştır ve elde edilen bulgular kandesartan sileksetil içeren ticari preparattan elde edilen bulgular ile karşılaştırılmıştır. DSC ve X-ışını toz difraktometrisi analizleri sonucu etkin maddenin form I halinde olduğu ve etkin maddenin proniozomlar içerisinde amorf halde bulunduğu tespit edilmiştir. Proniozomların üretimi için bulamaç yöntemi seçilmiştir. Proniozomlardan niozomların eldesinde herhangi bir vorteks işlemi uygulanmadan da niozomların oluşabildiği saptanmıştır, ayrıca proniozomların oda sıcaklığındaki ve vücut sıcaklığındaki sıvılar ile hidrasyonu sonucu da niozomlar oluşabilmektedir. Hazırlanan formüllerde % ürün verimleri % 97,19 - % 98,83 aralığındadır, niozomların etkin madde yükleme etkinlikleri ise % 69,60 - % 99,16 aralığındadır. Seçilen F2 kodlu formülde gerçekleştirilen çözünme hızı analizlerinde açığa çıkan etkin madde yüzdeleri pH 1,2 ortamında % 42,3; pH 4,5 ortamında % 71,39; pH 6,8 ortamında ise % 99,38 bulunmuştur. Ticari preparat ile gerçekleştirilen çözünme hızı analizlerinde açığa çıkan etkin madde yüzdeleri ise pH 1,2 ortamında % 20,54; pH 4,5 ortamında % 25,6; pH 6,8 ortamında % 70,36 bulunmuştur. Yapılan deneylerde, proniozom yapısında taşıyıcı materyal olarak bulunan sorbitolün partikül büyüklüğü azaldıkça etkin madde salımının hızlandığı, partikül büyüklüğü arttıkça etkin madde salımının yavaşladığı saptanmıştır.

Sonuç olarak, proniozomal veziküllerin içine yüklenen kandesartan sileksetilin gastrointestinal sistemde gözlenen pH'larda çözünürlüğü artırılmıştır. Sıvı sistemler olan niozomal dispersiyonların fiziksel stabiliteleri ile ilgili problemlerin üstesinden gelen proniozomlar hazırlanarak, kandesartan sileksetilin oral yolla vücuda uygulanabilmesi için uygun bir ürün elde edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Bulamaç yöntemi, çözünürlük artırma, etkin madde salımı, kandesartan sileksetil, proniozomlar.

SUMMARY

Preparation of Proniosomes Containing Candesartan Cilexetil for Oral Administration: Evaluation of Formulation Parameters and Drug Release

In our study, candesartan cilexetil which is practically insoluble in water and has low bioavailability, loaded proniosomes were prepared with various surfactants [sorbitan esters (Span), polyoxyethylene ethers of sorbitan esters (Tween) and polyoxyethylene stearyl ethers (Brij)] and various ratios; formulation parameters and drug release properties were evaluated.

The physicochemical properties of active agent and its interaction with other ingredients were determined using differential scanning calorimetry (DSC) and X-ray powder diffractometry. The spectrophotometric method used for quantitative assay of the active agent was validated. The proniosome preparation methods (spray method and slurry method) were evaluated and the optimum method was chosen. Preformulation studies were carried out without using the active agent and various formulation parameters (quantity of the organic solvent to be used, particle size range of the carrier material to be used, moiety ratio of surfactant mixture to the carrier material) were optimized. In experiments, the effects of vortex process and hydration temperature while preparing niosomal dispersions from proniosomal powder were evaluated. The dose of candesartan cilexetil was chosen as 8 mg in the formulations. Prepared proniosomes from formulations were visualized by optical microscope and additionally, yields (%) and entrapment efficiencies (%) were calculated. For drug release analysis, first the method to be used was chosen. Particle size analysis and zeta potential analysis were carried out for F2 coded final formulation. Drug release properties of the final formulation were assessed at different dissolution mediums with different pH values; and these findings were compared with the results obtained from the commercial drug containing 8mg candesartan cilexetil. The results of DSC and X-ray powder diffractometry analysis showed that the active agent is in the state of form I and it is in amorph form in proniosomes. The slurry method was chosen for proniosomes preparation. When preparing niosomes from proniosomes it was shown that niosomes can be obtained without using any vortex process, and besides this niosomes could be formed from by hydration of proniosomes with liquids in room and body temperature. Yields (%) in formulations were between % 97.19 and % 98.83; entrapment efficiencies (%) of niosomes were between 69.60 % -99.16 %. The percentages of drug release from F2 coded formulation in the dissolution mediums containing 0.2 % w/v Tween 80 (pH 1.2, pH 4.5, and pH 6.8) were 42.3 %, 71.39 % and 99.38 % respectively. The percentages of drug release from commercial drug in the dissolution mediums containing %0.2 w/v Tween 80 (pH 1.2, pH 4.5, and pH 6.8) were % 20.54, %25.6 and %70.36 respectively. According to experimental findings, as the particle size of sorbitol used during production of proniosomes decreases, the drug release accelerates; and when the particle size of sorbitol increases the drug release decelerates.

In conclusion, the solubility of candesartan cilexetil loaded into proniosomal vesicles, was increased in the pH values of gastrointestinal system. By preparing proniosomal powders which can overcome the physical stability problems of liquid niosomal dispersions, a convenient formulation was obtained for oral administration of candesartan cilexetil.

Key Words: Candesartan cilexetil, drug release, proniosomes, slurry method, solubility enhancement.

KAYNAKLAR

- ALSARRA, A.I., (2008). "Evaluation of proniosomes as an alternative strategy to optimize piroxicam transdermal delivery", *Journal of Microencapsulation*, **1-7**.
- ALSARRA, A.I., BOSELA, A.A., AHMED, S.M., MAHROUS, G.M., (2005). "Proniosomes as a drug carrier for transdermal delivery of ketorolac", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **59**: 485-490.
- AMIDON, G.L., LENNERNAS, H., SHAH, V.P., CRISON, J.R. (1995). "A Theoretical Basis For a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of *in Vitro* Drug Product Dissolution and *in Vivo* Bioavailability ", *Pharmaceutical Research*, Vol:**12**, No:3.
- ARORA,R., JAIN, C.P., (2007). "Advances in niosome as a drug carrier: A review" *Asian Journal of Pharmaceutics*, Volume:**1**, Issue:**1**.
- ATACAND® 8MG,ASTRAZENECA- prospektüs.
- ATTIA, I.A., EL-GIZAWY, S.A., FOUDA, M.A., DONIA, A.M., (2007). "Influence of a niosomal formulation on the oral bioavailability of acyclovir in rabbits" *AAPS PharmSciTech*, **8(4)** Article:**106**.
- AZEEM, A., JAİN, N., ZEENAT, I., FARHAN, J., MOHAMMED, A., SUSHAMA, T., (2008). "Feasibility of Proniosomes-Based Transdermal Delivery of Frusemide: Formulation, Optimization and Pharmacotechnical Evaluation", *Pharmaceutical Development and Technology*, **13**: 155-163.
- BAYINDIR, Z.S., YÜKSEL, N. (2010). "Characterization of Niosomes Prepared with Various Nonionic Surfactants for Paclitaxel Oral Delivery" *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol:**99**, No:**4**.
- BLAZEK-WELSH, A.I., RHODES, G.D. (2001). "SEM Imaging Predicts Quality of Niosomes from Maltodextrin-Based Poniosomes", *Pharmaceutical Research*, Vol:**18**, No:5.
- BOZKIR, A., DUMAN, E. (1996). "Lipozomların Kan ve Plazmadaki Stabiliteleri", *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, Cilt:**25**, Sayı:**1**.
- BOZKIR, A., KOÇYİĞİT, S. (1995). "Lipozomların Fiziksel ve Kimyasal Stabilitelerinin İncelenmesi", *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, Cilt:**24**, Sayı:**1**.
- CHEW, N.,Y,K., CHAN, H. K., (2002)."Effect of Powder Polidispersity on Aerosol Generation" *J.Pharm.Pharmaceut.Sci.*, **5(2)**, 162-168.

- COSTA, P., LOBO, J., M., S., (2001). "Modeling and comparison of dissolution profiles" *European J. of Pharmaceut.Sci.*, **13**, 123-133.
- DHAMECHA, D. L., RATHI, A. A., SAIFEE, M., LAHOTI, S. R., DEGHAN, M. H. G., (2009). "Drug Vehicle Based Approaches of Penetration Enhancement", *Int. J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol:1, Issue:1.
- DISSOLUTION METHODS FOR DRUGS; FDA (Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Kurumu).
- ELBARY, A., EL-LAITHY, H.M., TADROS, M., (2008). "Sucrose stearate-based proniosome-derived niosomes for the nebulisable delivery of cromolyn sodium, *Int. J. Pharm.*, **357**: 189-198.
- FANG, J. Y., YU, S.Y., WU, P.C., HUANG, Y.B., TSAI, Y.H., (2001). In vitro skin permeation of estradiol from various proniosome formulations. *Int. J. Pharm.*, **215**: 91-99.
- GUPTA A., PRAJAPATI S., SINGH M., BALAMURUGAN M. (2007). "Proniosomal Powder of Captopril: Formulation and Evaluation", *Molecular Pharmaceutics*, Vol:4, No:4,596-599.
- HAO, R.M., Y, ZHAO, F., LI, N., YANG, Y., LI, K., (2002). "Studies on a high encapsulation of colchicine by a niosome system" *Int. J. Pharm.*, **244**: 73-80.
- HU, C., RHODES, G.D. (1999). Proniosomes: A novel drug carrier praeparation. *Int. J. Pharm.*, **185**: 23-35.
- HUA, W., LIU, T., (2007). "Preparation and properties of highly stable innocuous niosome in Span 80/PEG 400/H₂O system" *Colloids and Surfaces A:Physicochem. Eng. Aspects* , **302**: 377-382.
- JAIN, N., K., (2007) Chapter 12: Provesicles As Surrogate Drug Carriers, *Progress in Controlled and Novel Drug Delivery Systems*.
- JUNYAPRASERT, V.B., TEERANACHAIDEKUL, V., SUPAPERM, T., (2008). "Effect of charged and nonionic membrane additives on physicochemical properties and stability of niosomes" *AAPS PharmSciTech*, Vol:9, No:3.
- KAYAALP, O., Konu 38: Antihipertansif İlaçlar, *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, Hacettepe TasYayıncılık 11. Baskı. 2005; 377-378
- KAUR, I., P., KAPILA, M., AGGARWAL, R., (2007). "Role of nove delivery systems in developing topical antioxidants as therapeutics to combat photoageing" *Ageing Research Reviews* **6**., 271-288.
- KAUR, I., P., GARG, A., SINGLA, A., K., AGGARWAL, D., (2004). "Vesicular systems on ocular drug delivery: an overview" *Int. J. Pharm.*, **269**: 1-14.

- KOZUBEK, A., GUBERNATOR, J., PRZEWORSKA, E., STASIUK, M., (2000). "Liposomal drug delivery, a novel approach: PLARosomes" *Acta Biochimica Polonica*, Vol:47, No:3, 639-649.
- LESIEUR, S., OLLIVON, M., (2000). Bölüm 4: "Non-Ionic Surfactant Vesicle to Micelle Transitions" *Synthetic Surfactant Vesicles-Niosomes and Other Non-Phospholipid Vesicular Systems*, Ed.: I.F. Uchegbu, Harwood Academic Publishers, Singapore, 3-9.
- LIU, T., GUO, R., HUA, W., QIU, J., (2007). "Structure behaviours of hemoglobin in PEG 6000/Tween 80/Span 80/H₂O niosome system" *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 293., 255-261.
- MARTIN, A., (1993). Lippincott Williams & Wilkins, *Physical Pharmacy 4th edition*, MD, USA., p:410.
- MATSUNAGA, H., EGUCHI, T., NISHIJIMA, K., ENOMOTO T., SASOKI, K., NAKAURA, N., (1999). "Solid-State Characterization of Candesartan Cilexetil (TCV-116): Crystal Structure and Molecular Mobility", *Chem. Pharm. Bull.*, 47(2): 182-186.
- MEHTA, S., SHA, R.P., PRIYADARSHI R., SINGH, S., (2009). "LC and LC-MS/TOF studies on stress degradation behaviour of candesartan cilexetil", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, doi: 10.1016/j.jpba.2009.05.006.
- MOFFAT, A.C., OSSELTON, M.D., WIDDOP, B., GALICHET, L.Y., (2005). "Candesartan cilexetil", CLARKE'S ANALYSIS OF DRUGS and POISONS, London: Pharmaceutical Press, p:740.
- MOKHTAR, M., SAMMOUR, O., HAMMAD, M., MEGHAB, N., (2008). "Effect of some formulation parameters on flurbiprofen encapsulation and release rates of niosomes prepared from proniosomes", *Int. J. Pharm.*, 361: 104-111.
- MULLEN, A., BAILLIE, A., CARTER, K.C., (2000). Bölüm 6: "Non-Ionic Surfactant Vesicles for the Treatment of Visceral Leishmaniasis" *Synthetic Surfactant Vesicles-Niosomes and Other Non-Phospholipid Vesicular Systems*, Ed.: I.F. Uchegbu, Harwood Academic Publishers, Singapore, 3-9.
- NASR, M., (2010). "In vitro and In vivo evaluation of proniosomes containing celecoxib for oral administration" *AAPS PharmSciTech.*, Vol:11, No:1.
- NASR, M., MANSOUR, S., MORTADA, N., ELSHAMY, A., (2008). "Vesicular aceclofenac systems: A comparative study between liposomes and niosomes" *Journal of microencapsulation*, Vol:25, No:7, 499-512.
- NEKKANTI, V., PILLAI, R., VENKAESHWARLU, V., HARISUDHAN, T., (2009). "Development and characterization of solid oral dosage form incorporating candesartan nanoparticles" *Pharmaceutical Development and Technology*, 1-9.

ÖNYÜKSEL, H.A., SON, K., (1992). "Mixed Micelles as Proliposomes for the Solubilization of Teniposide " *Pharmaceutical Research*, Vol:9, No:12.

PHYSICIANS DESK REFERENCE (PDR) 2005.

RENTEL, C.O., NAISBETT, B., BOUWSTRA, J.A., JUNGINGER, H.E., (1999). "Niosomes as novel per oral vaccine delivery system" *Int. J. Pharm.***186**, 161-167.

RUCKMANİ, K., JOYAKAR, B., GHOSAL, S.K., (2000). "Nonionic Surfactant Vesicles (Niosomes) of Cytarabine Hydrochloride for Effective Treatment of Leukemias, Encapsulation, Storage and In vitro Release" *Drug Development and Industrial Pharmacy*, Vol:26, No:2, 217-222.

SANKAR, V., RUCKMANİ, K., DURGA, S., JAİLANİ, S., (2010). "Proniosomes as drug carriers" *Pak. J. Pharm. Sci.*, Vol:23, No:1, 103-107.

SATTURWAR, P., EDDİNE, M., RAVENELLE, F., LEROUX, J. (2007). "pH-responsive polymeric micelles of poly(ethylene glycol-6-poly(alkyl(meth)acrylate-co-methacrylic acid): Influence of the copolymer composition on self-assembling properties and release of candesartan cilexetil , *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **65**: 379-387.

SEZGİN, Z., YÜKSEL, N., BAYKARA T., (2007). "Investigation of pluronic and PEG-PE micelles as carriers of meso-tatraphenyl porphine for oral administration", *International Journal of Pharmaceutics*, **332**: 161-167.

SEZGİN, Z., YÜKSEL, N., BAYKARA T., (2006). "Preparation and characterization of polymeric micelles for solubilization of poorly soluble anticancer drugs, *European Journal of Pharmaceutic and Biopharmaceuticss*, **64**: 261-268.

SOLANKİ, A., PARİKH, J., PARİKH, R., (2008). "Preparation, Characterization, Optimization and Stability Studies of Aceclofenac Proniosomes", *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **7 (4)**, 237-246.

SOLANKİ, A., PARİKH, J., PARİKH, R., (2007). "Formulation and Optimization of Piroxicam Proniosomes by 3-Factor, 3-Level Box-Behnken Design", *AAPS PharmSciTech*, **8 (4)**, Article 86.

SÜSLÜ, İ., ÖZALTIN, N., ALTINÖZ, S., (2009). "Square-wave adsorptiv stripping voltammetric determination of candesartan cilexetil in pharmaceutical formulations", *J. Appl. Electrochem.*, doi **10.1007/s10800-009-9836-z**.

UCHEGBU, I.F., VYAS, S.,(1998). "Nonionic surfactant based vesicles (niosomes) in drug delivery" *Int. J. of Pharm.*,**172**: 33-70.

USP **30- NF 25**, BÖLÜM: SOLUTIONS (BUFFER SOLUTIONS, TEST SOLUTIONS).

- VARSHOSAZ, J., PARDAKHTY, A., MOHSEN, S., BAHARANCHI, H., (2005). "Sorbitan Monopalmitate-Based Proniosomes for Transdermal Delivery of Clorpheniramine Maleate", *Drug Delivery*, **12**:75-82.
- VARSHOSAZ, J., PARDAKHTY, A., HAJHASHEMI, V., (2003). "Development and Physical Characterization of Sorbitan Monoester Niosomes for Insulin Oral Delivery", *Drug Delivery*, **10**:251-262.
- YÜKSEL, N., KARATAŞ, A., ÖZKAN, Y., SAVAŞER, A., ÖZKAN, S., BAYKARA,, T., (2003). "Enhanced bioavailability of piroxicam using Gelucire 44/14 and Labrasol: In vitro and in vivo evaluation" *European J. of Pharm. and Biopharmaceutics*, **56**: 453-459.
- YÜKSEL, N., KANIK, A., BAYKARA,, T., (2000). "Comparison of in vitro dissolution profiles by ANOVA-based, model-dependent and –independent methods" *Int. J. of Pharmaceutics*, **209**: 57-67.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler:

Ad: Murat ORAL

Uyruğu: TC

Doğum Yeri: DÜZCE

Doğum Tarihi: 16.11.1986

Medeni Durumu: Bekar

Askerlik Durumu: Tecilli

e-mail: muoral@pharmacy.ankara.edu.tr

Adres: Ümit Mahallesi 2531.Sokak (Eski 455.Sokak) No: 5/2 Ümitköy/ANKARA

Eğitim:

Yüksek Lisans: Eylül 2008-, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji A.D. Tezli Yüksek Lisans Programı

Lisans: Haziran 2008, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Ortaokul ve Lise: Haziran 2004, Düzce Arsal Anadolu Lisesi ve Ankara Etimesgut Anadolu Lisesi

İlkokul: 1997, Düzce Uzunmustafa İlköğretim Okulu

Eğitim Hayatı Boyunca Elde Edilen Başarılar:

-Düzce Arsal Anadolu Lisesi mezuniyetinde 2.'lik derecesi

-Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi mezuniyetinde 10.'luk derecesi

Yabancı Dil:

*İNGİLİZCE:

Okuma: İyi düzeyde

Yazma: İyi düzeyde

Anlama: İyi düzeyde

*ALMANCA:

Temel düzeyde

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar:

TÜFTAD (Türk Farmasötik Teknoloji Araştırmacıları Derneği)

Bilimsel İlgi Alanları:

Aldığı Burs: TÜBİTAK Yurt İçi Yüksek Lisans Bursu

Bilimsel Etkinlikleri:

Seminer: “İlaç Salım Sistemleri Olarak Proniozomlar”

Katıldığı Konferans ve Eğitimler:

- 3rd BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences 2009 (Antalya / Türkiye)
Poster Konu Başlığı: Preliminary Studies on Proniosome Formulations
- Winter School and Workshop on Frontiers in Nanomedicine and Nanobiotechnology 2010 (Bilkent Üniversitesi-Anara / Türkiye)

Eğitim Programı Haricinde Katıldığı Eğitim Seminerleri:

Türkiye Eczacılar Birliği Akademisi Mesleki Eğitimleri

Organizasyonunda Katkıda Bulunduğu Bilimsel Toplantılar:

International Symposium on Pharmaceutical Sciences 2009 (Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi)