

**DEKSKETOPROFEN TROMETAMOL YÜKLÜ
KONTROLLÜ SALIM GÖSTEREN
NANOBOYUTTA İLAÇ TAŞIYICI SİSTEM
GELİŞTİRİLMESİ VE İN VİTRO/İN VİVO
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Doktora Tezi

Ahmet Alper ÖZTÜRK

Eskişehir, 2017

**DEKSKETOPROFEN TROMETAMOL YÜKLÜ KONTROLLÜ SALIM GÖSTEREN
NANOBOYUTTA İLAÇ TAŞIYICI SİSTEM GELİŞTİRİLMESİ VE *İN VİTRO/İN VİVO*
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ahmet Alper ÖZTÜRK

DOKTORA TEZİ

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Emine Yasemin YAZAN

(İkinci Danışman: Yard.Doç.Dr. Evrim YENİLMEZ)

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Mayıs, 2017

Bu Tez Çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 1502S081 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Ahmet Alper ÖZTÜRK'ün “Deksketoprofen Trometamol Yüklü Kontrollü Salım Gösteren Nanoboyutta İlaç Taşıyıcı Sistem Geliştirilmesi ve *In Vitro/In Vivo* Değerlendirilmesi” başlıklı tezi 25/05/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Teknoloji Anabilim dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Ünvanı-Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Prof.Dr. Emine Yasemin Yazan

Anadolu Üniversitesi

Üye : Prof.Dr. Figen Tırnaksız

Gazi Üniversitesi

Üye : Prof.Dr. Ayşe Nurten Özdemir

Ankara Üniversitesi

Üye : Doç.Dr. Rana Arslan

Anadolu Üniversitesi

Üye : Yard.Doç.Dr. Gülay Büyükköroğlu

Anadolu Üniversitesi

Prof.Dr. Dilek Ak
Enstitü Müdürü

ÖZET

DEKSKETOPROFEN TROMETAMOL YÜKLÜ KONTROLLÜ SALIM GÖSTEREN NANOBOYUTTA İLAÇ TAŞIYICI SİSTEM GELİŞTİRİLMESİ ve *İN VİTRO/İN VİVO* DEĞERLENDİRİLMESİ

Ahmet Alper ÖZTÜRK

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mayıs, 2017

Danışman: Prof.Dr. Emine Yasemin Yazan

(İkinci Danışman: Yard.Doç.Dr. Evrim Yenilmez)

Tarihin en eski ve üzerinde en fazla çalışılan ilaç araştırma konularından biri ilaç ile ağrı tedavisidir. Postoperatif ağrı ile hafif ve orta şiddetteki ağrıların tedavisinde analjezik etkili ilaç kullanımı tüm dünyada son derece yaygındır. Günümüzde kullanılan ilaçlar günün belli saatlerinde tek ya da çok doz olarak tüketilmektedir. Bu çalışmada günde üç kez ilaç alımı ile ağrı kontrolü yerine günde tek doz ile tüm gün ağrı kontrolü hedeflenmiştir. Steroit olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) analjezik ve antiinflamatuvar etkinlik gösteren farmakolojik ilaç grubudur. Deksketoprofen trometamol bu ilaç grubuna ait yeni bir etkin maddedir. Kas-iskelet sistemi ağrısı, dismenore, diş ağrısı, postoperatif ağrı gibi hafif ve orta şiddetteki ağrıların tedavisinde kullanılır. Deksketoprofen trometamol'un dağılım ve eliminasyon yarı ömrü sırasıyla 0.35 ve 1.65 saattir. Bu çalışmada, etkin madde salımını uzatmak için umut vaat eden deksketoprofen trometamol yüklü polimerik ve katı lipit nanopartikül sistemi hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonların karakterizasyonu yapılmış, salım profili ve kinetiği incelenmiş ve optimum formülasyonların belirlenmesinin ardından kararlılık, sitotoksite ve *in vivo* hayvan deneyleri gerçekleştirilmiştir. Daha uzun süre analjezik etkinlik gösteren iki farklı ilaç taşıyıcı sistem başarıyla hazırlanmış ve dolayısıyla çalışmada hedeflenen amaca ulaşılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Deksketoprofen trometamol, Polimerik nanopartikül, Katı lipit nanopartikül, Kontrollü salım

ABSTRACT

DEVELOPMENT and *IN VIVO/IN VITRO* EVALUATION of DEXKETOPROFEN TROMETAMOL LOADED NANOSIZED DRUG DELIVERY SYSTEM PRESENTING CONTROLLED RELEASE

Ahmet Alper ÖZTÜRK

Department of Pharmaceutical Technology

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, May 2017

Supervisor: Prof.Dr. Emine Yasemin Yazan

(Co-Supervisor: Assist.Prof.Dr. Evrim Yenilmez)

One of the oldest and most studied drug research topics in history is pain treatment with medication. Use of analgesic drugs in the treatment of mild to moderate pain and postoperative pain is widespread throughout the world. Drugs currently used are consumed as single or multiple doses daily at certain time intervals. Controlling pain all day with a single dose instead of drug administration three times a day was aimed in this study. Non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) is a pharmacological drug group with analgesic and antiinflammatory activity. Dexketoprofen trometamol is a new active agent belonging to this group. It is used in treating mild to moderate pain such as musculoskeletal pain, dysmenorrhea, toothache and post-operative pain. Distribution and elimination half-lives of dexketoprofen trometamol are 0.35 and 1.65 hours, respectively. Promising prolonged release dexketoprofen trometamol loaded polymeric and solid lipid nanoparticles were prepared in this study. Characterization was performed on formulations prepared, release profile and kinetics were investigated and stability, cytotoxicity and *in vivo* animal experiments were achieved following determination of optimum formulations.

Two different drug delivery systems presenting longer analgesic activity were successfully prepared and therefore the aim targeted in this study was reached.

Keywords: Dexketoprofen trometamol, Polymeric nanoparticle, Solid lipid nanoparticle, Controlled release

TEŞEKKÜR

Çalışma hayatım boyunca bana her türlü olanağı sağlayan, bilgi, yardım ve desteklerini esirgemeyen danışman hocam saygıdeğer Prof.Dr. Emine Yasemin YAZAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Öncelikle bilimsel verilerin değerlendirilip çalışmamızın son halini almasında yoğun emekleri olan, girişimlerimde beni cesaretlendiren, yol gösteren, yardımlarını hem tez çalışmamda hem de diğer faaliyetlerde hiçbir zaman esirgemeyen, en önemlisi yakınlığını her daim hissettiğim değerli yardımcı danışmanım Yard.Doç.Dr. Evrim Yenilmez'e teşekkür ederim.

Bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, çalışmalarım sırasında yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm kıymetli hocalarım Prof.Dr. Müzeyyen DEMİREL, Yard.Doç.Dr. Gülay BÜYÜKKÖROĞLU, Yard.Doç.Dr. Ebru BAŞARAN, Yard.Doç.Dr. Murat Sami BERKMAN ve Yard.Doç.Dr. Gülsel Yurtdaş KIRIMLIOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

In vivo çalışmaları beraber gerçekleştirdiğimiz, her türlü konuda bilgi ve yardımlarını benden esirgemeyen değerli hocam Doç.Dr. Rana ARSLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Sitotoksiste çalışmasında bilgi, deneyim ve yardımlarını esirgemeyen sevgili hocam Araş.Gör.Dr. Behiye Şenel'e teşekkür ederim.

Bölüm arkadaşlarım, Araş.Gör. Kemal Can DEMİRKİLİNÇ, Ecz. Akın ELMASKAYA, Ecz. Sinan ÖZER ve Ecz. Serdar ALAGÖZ'e yardım ve ilgilerinden dolayı teşekkür ederim.

In vivo deneyler sırasında yardımını benden esirgemeyen Farmakoloji ABD yüksek lisans öğrencileri Ecz. Kağan KAYIŞ ve Ecz. Merve KAŞIK'a teşekkür ederim.

Çalışma ve sosyal hayatımda hem arkadaşlığını hem de kardeşliğini esirgemeyen, doktora eğitimini tamamlayıp Çukurova Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde öğretim elemanı olmak üzere bizlerden ayrılan Araş.Gör.Dr. Umay Merve Güven'e teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen değerli arkadaşım ve kardeşim Uzm.Ecz. Çağla Gül GICI'ya teşekkür ederim.

Uzakta da olsalar beni hiçbir zaman yalnız hissettirmeyen, her zaman destekleyen, yüreklendiren, her koşulda yanımda olan ve maddi/manevi her türlü olanağı sağlayan çok kıymetli babam, annem ve ablama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalardan bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı” ile tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Ahmet Alper ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xxii
GÖRSELLER DİZİNİ.....	xxxiii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xxxiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. KAYNAK BİLGİSİ.....	2
2.1. Ağrı.....	2
2.1.1. Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİl).....	3
2.1.1.1. NSAİl'nin etki mekanizması.....	4
2.1.1.2. NSAİl grupları.....	5
2.1.1.3. NSAİl'nin yan etkileri.....	7
2.2. Deksketoprofen Trometamol.....	7
2.2.1. Deksketoprofen trometamol içeren ticari preparatlar.....	9

2.3. Polimerik Nanopartikül.....	11
2.3.1. Nanopartikül formülasyonunun üstünlüğü.....	11
2.3.2. Polimerik nanopartikül (PNP) üretimi.....	12
2.3.2.1. Çözücü buharlaştırma yöntemi.....	14
2.3.2.2. Nanoçöktürme yöntemi.....	15
2.3.2.3. Tuzla çöktürme yöntemi.....	15
2.3.2.4. Diyaliz yöntemi.....	16
2.3.2.5. Süperkritik sıvı teknolojisi yöntemi.....	17
2.3.2.6. Püskürterek kurutma yöntemi.....	19
2.3.3. Polimerik nanopartiküllerin karakterizasyonu.....	22
2.3.3.1. Parçacık boyutu ve dağılımı.....	22
2.3.3.2. Zeta potansiyel.....	22
2.3.3.3. Yüzey morfolojisi.....	23
2.3.3.4. Yapısal analiz.....	24
2.3.3.5. Etkin madde yükleme ve yükleme kapasitesi.....	25
2.3.3.6. Etkin madde salımı.....	25
2.4. Katı Lipit Nanopartikül.....	26
2.4.1. Katı lipit nanopartikülün kullanım üstünlüğü.....	26
2.4.2. Katı lipit nanopartikülün sakıncası.....	27
2.4.3. Katı lipit nanopartikülün genel içeriği.....	27
2.4.4. Katı lipit nanopartikül üretim tekniği.....	29
2.4.4.1. Yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi.....	29

2.4.4.1.1. Sıcak homojenizasyon yöntemi.....	30
2.4.4.1.2. Soğuk homojenizasyon yöntemi.....	30
2.4.4.2. Mikroemülsiyon yöntemi.....	30
2.4.4.3. Çözücü emülsifikasyon ve buharlaştırma yöntemi....	31
2.4.4.4. Çözücü emülsifikasyon ve difüzyon yöntemi.....	31
2.4.4.5. Çözücü injeksiyon yöntemi.....	32
2.4.4.6. Su/yağ/su çoklu emülsiyon yöntemi.....	32
2.4.4.7. Süperkritik sıvı teknolojisi yöntemi.....	32
2.4.4.8. Püskürterek kurutma yöntemi.....	33
2.4.4.9. Yüksek hızla karıştırma ve ultrasonikasyon yöntemi....	33
2.4.5. Katı lipit nanopartikülün liyofilizasyonu.....	34
2.4.6. Katı lipit nanopartikül karakterizasyonu.....	35
2.4.6.1. Parçacık boyutu ve dağılımı.....	35
2.4.6.2. Zeta Potansiyel.....	35
2.4.6.3. Kristal yapı, lipit modifikasyonu ve kolloidal yapının değerlendirilmesi.....	35
2.4.6.4. Etkin madde yükleme ve yükleme kapasitesi.....	36
2.4.6.5. Etkin madde salımı.....	37
2.6. Nanotaşıyıcıların Oral Olarak Kullanılması.....	38
3. GEREÇLER.....	40
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	40
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	41

4. YÖNTEMLER.....	43
4.1. Deksketoprofen Trometamol ve Yardımcı Maddeler ile Yapılan	
Çalışmalar.....	43
4.1.1. Termal analiz.....	43
4.1.2. X-ışını kırınımı.....	43
4.1.3. İnfrared (FT-IR).....	43
4.1.4. Nükleer manyetik rezonans (NMR).....	43
4.1.5. Parçacık şekli ve yüzey özelliği.....	44
4.2. Deksketoprofen Trometamol Miktar Tayini için Yüksek Basıncılı Sıvı	
Kromatografisi.....	44
4.2.1. Analitik miktar tayini için validasyon çalışması.....	44
4.2.1.1. Doğrusallık.....	45
4.2.1.2. Kesinlik.....	45
4.2.1.3. Doğruluk.....	46
4.2.1.4. Duyarlılık.....	46
4.2.1.5. Seçicilik.....	47
4.3. Çalışma Koşulunda Kararlılık.....	47
4.3.1. Formülasyon hazırlama koşulunda kararlılık.....	47
4.3.2. Etkin madde miktar tayini analizi için örnek hazırlama	
koşulunda kararlılık.....	48
4.3.3. <i>İn vitro</i> salım ortamı koşulunda kararlılık.....	48
4.4. PNP Hazırlanması.....	48

4.4.1. PNP ön formülasyon çalışması.....	48
4.4.2. Kollidon® SR nanopartikülünün hazırlanması.....	50
4.4.3. Eudragit® RS 100 nanopartikülünün hazırlanması.....	51
4.4.4. Eudragit® RL 100 nanopartikülünün hazırlanması.....	52
4.4.5. PNP özelliklerine ait çalışma.....	53
4.4.5.1. Parçacık boyutu ve dağılımı.....	53
4.4.5.2. Zeta potansiyel.....	53
4.4.5.3. Parçacık şekli ve yüzey özelliği.....	53
4.4.5.4. Termal analiz.....	53
4.4.5.5. X-Işını kırınımı.....	54
4.4.5.6. İnfrared (FT-IR)	54
4.4.5.7. Nükleer manyetik rezonans (NMR).....	54
4.4.5.8. Formülasyonda etkin madde miktar tayini.....	54
4.4.5.9. <i>In vitro</i> salım çalışması.....	55
4.5. Toz DT ve Ticari Preparat Olan Rastel® Tablet'e ait Salım Çalışması.	57
4.6. KLN Hazırlanması.....	58
4.6.1. DT'nin katı lipitte çözünürlük çalışması.....	58
4.6.2. KLN ön formülasyon çalışması.	58
4.6.3. Etkin madde yüklü KLN formülasyon çalışması.....	64
4.6.4. KLN özelliklerine ait çalışma.....	66
4.6.4.1. Parçacık boyutu ve dağılımı.....	66
4.6.4.2. Zeta potansiyel.....	67

4.6.4.3. Parçacık şekli ve yüzey özellik.....	67
4.6.4.4. Termal analiz.....	67
4.6.4.5. X-Işını kırınımı.....	67
4.6.4.6. İnfrared (FT-IR)	67
4.6.4.7. Nükleer manyetik rezonans (NMR).....	68
4.6.4.8. Formülasyonda etkin madde miktar tayini.....	68
4.6.4.10. <i>In vitro</i> salım çalışması.....	70
4.7. Kararlılık Çalışması.....	69
4.8. <i>In Vitro</i> Salım Kinetiği Çalışması.....	70
4.9. Sitotoksosite Çalışması.....	70
4.10. <i>In vivo</i> Çalışma.....	71
4.10.1. Deney hayvanı özelliği ve grupların oluşturulması.....	71
4.10.2. DT ve formülasyonun uygulama yolu ve oranı.....	72
4.10.3. Sıcak zemin (hot plate) testi.....	73
4.10.4. Kuyruk batırma (tail immersion) testi.....	74
4.10.5. Kıvrınma (writting) testi.....	74
4.10.6. Verilerin istatistiksel analizi.....	76
5. BULGULAR.....	77
5.1. Deksketoprofen Trometamol ve Yardımcı Maddeler ile Yapılan Çalışmalar.....	77
5.1.1. Termal analiz.....	77
5.1.2. X-Işını kırınımı.....	78

5.1.3. İnfrared (FT-IR).....	79
5.1.4. Nükleer manyetik rezonans (NMR).....	80
5.1.5. Parçacık şekli ve yüzey özellik.....	82
5.2. Deksketoprofen Trometamol Miktar Tayini için Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK).....	86
5.2.1. Validasyon çalışması.....	86
5.2.1.1. Doğrusallık.....	86
5.2.1.2. Kesinlik.....	87
5.2.1.3. Doğruluk.....	90
5.2.1.4. Duyarlılık.....	92
5.2.1.5. Seçicilik.....	92
5.3. Çalışma Koşulunda Kararlılık.....	96
5.3.1. Formülasyon hazırlama koşulunda kararlılık.....	96
5.3.2. Etkin madde miktar tayini için örnek hazırlama koşulunda kararlılık.....	96
5.3.3 <i>İn vitro</i> salım ortamı koşulunda kararlılık.....	97
5.4. PNP Özelliklerine Ait Çalışma.....	97
5.4.1. Parçacık boyutu ve dağılımı.....	97
5.4.2. Zeta potansiyel.....	102
5.4.3. Parçacık şekli ve yüzey özellik.....	108
5.4.4. Termal analiz.....	111

5.5.5. X-Işını kırınımı.....	113
5.4.6. İnfrared (FT-IR)	116
5.4.7. Nükleer manyetik rezonans (NMR).....	120
5.4.8. Formülasyonda etkin madde miktar tayini.....	123
5.4.9. <i>In vitro</i> salım çalışması.....	123
5.5. Ticari Preparat Rastel® Tablet'e ait Salım Çalışması.....	123
5.6. KLN Özelliklerine Ait Çalışma.....	129
5.6.1. DT'nin katı lipitte çözünürlük çalışması.....	129
5.6.2. Parçacık boyutu ve dağılım analizi.....	130
5.6.3. Zeta potansiyel.....	132
5.6.4. Parçacık şekli ve yüzey özellik.....	134
5.6.5. Termal analiz.....	135
5.6.6. X-Işını kırınımı.....	136
5.6.7. İnfrared (FT-IR)	138
5.6.8. Nükleer manyetik rezonans (NMR)	141
5.6.9. Formülasyonda etkin madde miktar tayini.....	143
5.6.10. <i>In vitro</i> salım çalışması.....	143
5.7. Kararlılık çalışması.....	146
5.7.1. Parçacık boyutu ve dağılımı.....	146
5.7.2. Zeta potansiyel.....	151
5.7.3. Parçacık şekli ve yüzey özellik.....	153

5.7.4. Termal analiz.....	158
5.7.5. İnfrared (FT-IR)	163
5.7.6. Nükleer manyetik rezonans (NMR).....	167
5.7.7. Formülasyoanda etkin madde miktar tayini.....	170
5.8. <i>İn Vitro</i> Salım Kinetiği Çalışması.....	171
5.9. Sitotoksisite çalışması.....	180
5.10. <i>İn vivo</i> çalışma.....	182
5.10.1. Sıcak zemin (hot plate) testi.....	182
5.10.2. Kuyruk batırma (tail immersion) testi.....	185
5.10.2. Kıvrınma testi.....	187
6. TARTIŞMA.....	189
6.1. Deksketoprofen Trometamol ve Yardımcı Maddeler ile Yapılan Çalışmalar.....	189
6.2. Deksketoprofen Trometamol Miktar Tayini için Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi.....	195
6.3. Çalışma Koşulunda Kararlılık.....	195
6.4. PNP Formülasyonunun Hazırlanması ve Karakterizasyonu.....	196
6.5. KLN Formülasyonunun Hazırlanması ve Karakterizasyonu.....	207
6.6. PNP ve KLN formülasyonunda etkin madde miktar tayini.....	215
6.7. PNP ve KLN formülasyonu, DT ve Rastel Tablet ile yapılan <i>İn vitro</i> Salım Çalışması.....	216
6.8. <i>İn Vitro</i> Salım Kinetiği Çalışması.....	218
6.9. Kararlılık Çalışması.....	220

6.10. Sitotoksisite Çalışması.....	224
6.11. <i>İn vivo</i> çalışma.....	227
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	233
KAYNAKÇA.....	235
EKLER	
EK-1 Etik Kurul Kararı	
EK-2 Bildiriler	
ÖZGEÇMİŞ	

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1.	Kimyasal Yapısına Göre NSAİİ.....	5
Çizelge 2.2.	Yarı Ömrüne Göre NSAİİ.....	6
Çizelge 2.3.	Deksketoprofen Trometamol'e ait Bazı Bilgiler.....	9
Çizelge 2.4.	Deksketoprofen Trometamol İçeren Ticari Preparatlar.....	10
Çizelge 2.5.	PNP Üretiminde Kullanılan Polimerler.....	12
Çizelge 2.6.	KLN Formülasyonunda Sıklıkla Kullanılan Lipitler.....	27
Çizelge 2.7.	KLN Formülasyonunda Sıklıkla Kullanılan Yüzey Etkin ve Yardımcı Yüzey Etkin Maddeler.....	28
Çizelge 4.1.	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Çalışma Koşulları.....	44
Çizelge 4.2.	Kollidon® SR ile Hazırlanan PNP Formülasyonunun Püskürterek Kurutma Koşulu.....	50
Çizelge 4.3.	Kollidon® SR ile Hazırlanan PNP Formülasyonunun İçerik Oranı...	50
Çizelge 4.4.	Eudragit® RS 100 ile Hazırlanan PNP Formülasyonunun Püskürterek Kurutma Koşulu	51
Çizelge 4.5.	Eudragit® RS 100 ile Hazırlanan PNP Formülasyonunun İçerik Oranı.....	51

Çizelge 4.6.	Eudragit® RL 100 ile Hazırlanan PNP Formülasyonunun Püskürterek Kurutma Koşulu.....	52
Çizelge 4.7.	Eudragit® RL 100 ile Hazırlanan PNP Formülasyonunun İçerik Oranı.....	52
Çizelge 4.8.	Dynasan® 114 İçeren KLN Önformülasyon Çalışmasındaki Formülasyon.....	60
Çizelge 4.9.	Dynasan® 114 İçeren Optimum KLN Formülasyonu.....	61
Çizelge 4.10.	Compritol® ATO 888 İçeren KLN Önformülasyon Çalışmasındaki Formülasyon.....	61
Çizelge 4.11.	Compritol® ATO 888 İçeren Optimum Plasebo KLN Formülasyonu.....	63
Çizelge 4.12.	Stearik Asit İçeren KLN Önformülasyon Çalışmasındaki Formülasyon.....	63
Çizelge 4.13.	Stearik Asit İçeren KLN Önformülasyon Çalışmasındaki Formülasyon.....	64
Çizelge 4.14.	DT yüklü Dynasan® 114 İçeren KLN Formülasyonu.....	65
Çizelge 4.15.	DT yüklü Compritol® ATO 888 İçeren KLN Formülasyonu.....	65
Çizelge 4.16.	Dynasan® 114 İçeren Etkin Maddeli ve Plasebo KLN Formülasyonu.....	66

Çizelge 4.17.	Compritol® ATO 888 İçeren Etkin Maddeli ve Plasebo KLN Formülasyonu.....	66
Çizelge 5.1.	Doğrusallık Çalışması için Hazırlanan Seriler ve Alan Değerleri.....	86
Çizelge 5.2.	25 µg.mL ⁻¹ Derişim için Kesinlik Sonuçları.....	88
Çizelge 5.3.	50 µg.mL ⁻¹ Derişim için Kesinlik Sonuçları.....	89
Çizelge 5.4.	75 µg.mL ⁻¹ Derişim için Kesinlik Sonuçları.....	90
Çizelge 5.5.	DT'nin YBSK ile Elde Edilen Doğruluk Değerleri.....	91
Çizelge 5.6.	Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan PNP Formülasyonunun Ortalama Parçacık Boyutu ve Dağılım (PDI) Değeri.....	97
Çizelge 5.7.	Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan PNP Formülasyonunun Ortalama Zeta Potansiyel Değeri.....	102
Çizelge 5.8.	KSR, ERS ve ERL Formülasyonunda % Yükleme Etkinliği.....	123
Çizelge 5.9.	DT, Rastel® Tablet, KSR-1, KSR-2 ve KSR-3 Formülasyonundan Zamana Karşı Kümülatif Çözünen Etkin Madde Miktarı.....	124
Çizelge 5.10.	DT, Rastel® Tablet, ERS-1, ERS-2 ve ERS-3 Formülasyonundan Zamana Karşı Kümülatif Çözünen Etkin Madde Miktarı.....	125
Çizelge 5.11.	DT, Rastel® Tablet, ERL-1, ERL-2 ve ERL-3 Formülasyonundan Zamana Karşı Kümülatif Çözünen Etkin Madde Miktarı.....	126

Çizelge 5.12.	Etkin Maddeli/Maddesiz KLN Formülasyonunun Ortalama Parçacık Boyutu ve Dağılımı (PDI)	130
Çizelge 5.13.	Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan KLN Formülasyonunun Ortalama Zeta Potansiyel Değeri.....	132
Çizelge 5.14.	KLN Formülasyonuna ait % Yükleme Etkinliği.....	143
Çizelge 5.15.	DT, Rastel® Tablet, COMP-DT ve DYN-DT Formülasyonundan Zamana Karşı Kümülatif Çözünen Etkin Madde Miktarı.....	144
Çizelge 5.16.	4°C'de Saklanan KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT Formülasyonuna ait Ortalama Parçacık Boyutu ve Dağılımı.....	147
Çizelge 5.17.	25°C'de Saklanan KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT Formülasyonuna ait Ortalama Parçacık Boyutu ve Dağılımı.....	147
Çizelge 5.18.	40°C'de Saklanan KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT Formülasyonuna ait Ortalama Parçacık Boyutu ve Dağılımı.....	148
Çizelge 5.19.	KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT Formülasyonunun Kararlılık Çalışmasına ait Zeta Potansiyel Değeri.....	151
Çizelge 5.20.	KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT Formülasyonlarının Kararlılık Çalışmasına ait % Yükleme Etkinliği.....	170
Çizelge 5.21.	<i>In Vitro</i> Salım Kinetiği Bulguları.....	172
Çizelge 5.22.	Sıcak Zemin Testi Sonucu % Maksimum Olası Etki Değeri.....	183

Çizelge 5.23. *Kuyruk Batırma Testi Sonucu % Maksimum Olası Etki Değeri.....* 185

Çizelge 5.24. *Kıvrınma Testi Sonucu Kıvrınma Sayısı.....* 187

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1.	Ağrı İletim Yolakları ve Tedavi Hedefleri.....	3
Şekil 2.2.	COX Üretimi ve NSAİİ'nin Etki Mekanizması.....	5
Şekil 2.3.	Deksketoprofen Trometamol'ün Moleküler Yapısı.....	8
Şekil 2.4.	Deksketoprofen Trometamol'ün 3D Moleküler Yapısı.....	8
Şekil 2.5.	PNP Üretim Yöntemlerinin Şematik Gösterimi.....	12
Şekil 2.6.	Çözücü Buharlaştırma Yöntemi ile PNP Üretimi.....	14
Şekil 2.7.	Nanoçöktürme Yöntemi ile PNP Üretimi.....	15
Şekil 2.8.	Tuzla Çöktürme Yöntemi ile PNP Üretimi.....	16
Şekil 2.9.	Diyaliz Yöntemi ile PNP Üretimi.....	17
Şekil 2.10.	Süperkritik Çözücünün Hızlı Genleşmesi Yöntemi ile PNP Üretimi.....	18
Şekil 2.11.	Süperkritik Çözücünün Akışkan Çözücü İçinde Hızlı Genleşmesi Yöntemi ile PNP Üretimi.....	19
Şekil 2.12.	Klasik Püskürterek Kurutucu ile PNP Üretimi.....	20
Şekil 2.13.	Nano Spray-Dryer Cihazı ile PNP Üretimi.....	21
Şekil 2.14.	Yüksek Basıncılı Homojenizasyon Yöntemi ile KLN Üretimi.....	29
Şekil 2.15.	Mikroemülsiyon Yöntemi ile KLN Üretimi.....	31

Şekil 2.16.	Prob Sonikasyon Cihazı.....	34
Şekil 2.17.	Etkin Madde Yüklü KLN Modelleri.....	36
Şekil 2.18.	Lipit Modifikasyonu ve Termodinamik Kararlılık-Etkin Madde Yükleme Oranı Değişimi.....	37
Şekil 2.19.	Partiküler Sistemlerin Gastrointestinal Sistemde Taşınması.....	39
Şekil 5.1.	DT ve Yardımcı Maddelerin Termogramı.....	77
Şekil 5.2.	DT ve Yardımcı Maddelerin X-Işını Kırınım Profili.....	78
Şekil 5.3.	DT ve Yardımcı Maddelerin FT-IR spektrumu.....	79
Şekil 5.4.	DT ve Yardımcı Maddelerin NMR Spektrumu.....	80
Şekil 5.5.	DT'nin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	82
Şekil 5.6.	Kollidon® SR'nin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	83
Şekil 5.7.	Eudragit® RS 100 ve Eudragit® RL 100'ün Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	84
Şekil 5.8.	Compritol® 888 ATO'nun Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	84
Şekil 5.9.	Dynasan® 114'ün Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	85
Şekil 5.10.	DT'nin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi'ne ait Standart Eğri ve Doğrusallık Eşitliği.....	87
Şekil 5.11.	DT'ye ait YBSK Kromatogramı.....	93
Şekil 5.12.	Hareketli Faza ait YBSK Kromatogramı.....	93

Şekil 5.13.	PBS'ye (pH 7.4) ait YBSK Kromatogramı.....	93
Şekil 5.14.	Distile Suya ait YBSK Kromatogramı.....	94
Şekil 5.15.	2-Propanol'e ait YBSK Kromatogramı.....	94
Şekil 5.16.	KSR-Plasebo Formülasyona ait YBSK Kromatogramı.....	94
Şekil 5.17.	ERS-Plasebo Formülasyona ait YBSK Kromatogramı.....	95
Şekil 5.18.	ERL-Plasebo Formülasyona ait YBSK Kromatogramı.....	95
Şekil 5.19.	COMP-Plasebo Formülasyona ait YBSK Kromatogramı.....	95
Şekil 5.20.	DYN-Plasebo Formülasyona ait YBSK Kromatogramı.....	96
Şekil 5.21.	KSR-Plasebo Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	98
Şekil 5.22.	KSR-1 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	98
Şekil 5.23.	KSR-2 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	99
Şekil 5.24.	KSR-3 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	99
Şekil 5.25.	ERS-Plasebo Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	99
Şekil 5.26.	ERS-1 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	100
Şekil 5.27.	ERS-2 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	100
Şekil 5.28.	ERS-3 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	100
Şekil 5.29.	ERL-Plasebo Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	101

Şekil 5.30.	ERL-1 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	101
Şekil 5.31.	ERL-2 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	101
Şekil 5.32.	ERL-3 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	102
Şekil 5.33.	KSR-Plasebo Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	103
Şekil 5.34.	KSR-1 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	104
Şekil 5.35.	KSR-2 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	104
Şekil 5.36.	KSR-3 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	104
Şekil 5.37.	ERS-Plasebo Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	105
Şekil 5.38.	ERS-1 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	105
Şekil 5.39.	ERS-2 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	105
Şekil 5.40.	ERS-3 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	106
Şekil 5.41.	ERL-Plasebo Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	106
Şekil 5.42.	ERL-1 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	106
Şekil 5.43.	ERL-2 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	107
Şekil 5.44.	ERL-3 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	107
Şekil 5.45.	Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Kollidon® SR Formülasyonunun Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	108
Şekil 5.46.	Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Eudragit® RS 100 Formülasyonunun Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	109

Şekil 5.47.	Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Eudragit® RL 100 Formülasyonunun Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	110
Şekil 5.48.	Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Kollidon® SR Formülasyonunun Termogramı.....	111
Şekil 5.49.	Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Eudragit® RS 100 Formülasyonunun Termogramı.....	112
Şekil 5.50.	Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Eudragit® RL 100 Formülasyonunun Termogramı.....	113
Şekil 5.51.	Etkin Maddeli/Maddesiz Kollidon® SR Formülasyonunun X-Işını Kırınım Profili.....	114
Şekil 5.52.	Etkin Maddeli/Maddesiz Eudragit® RS 100 Formülasyonunun X-Işını Kırınım Profili.....	115
Şekil 5.53.	Etkin Maddeli/Maddesiz Eudragit® RL 100 Formülasyonunun X-Işını Kırınım Profili.....	116
Şekil 5.54.	Etkin Maddeli/Maddesiz Kollidon® SR Formülasyonunun FT-IR Spektrumu.....	117
Şekil 5.55.	Etkin Maddeli/Maddesiz Eudragit® RS 100 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu.....	118
Şekil 5.56.	Etkin Maddeli/Maddesiz Eudragit® RL 100 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu.....	119
Şekil 5.57.	Etkin Maddeli/Maddesiz Kollidon® SR Formülasyonunun NMR Spektrumu.....	120
Şekil 5.58.	Etkin Maddeli/Maddesiz Eudragit® RS 100 Formülasyonunun NMR Spektrumu.....	121

Şekil 5.59.	Etkin Maddeli/Maddesiz Eudragit® RL 100 Formülasyonunun NMR Spektrumu.....	122
Şekil 5.60.	PNP Formülasyonuna ait <i>İn Vitro</i> Salım Profili.....	127
Şekil 5.61.	PNP Formülasyonu, DT ve Rastel® Tablet'e ait <i>İn Vitro</i> Salım Profili.....	127
Şekil 5.62.	PNP Formülasyonu, DT ve Rastel Tablet'e ait 2 Saatlik <i>İn Vitro</i> Salım Profili.....	128
Şekil 5.63.	DT'nin Farklı Katı Lipitler İçinde Çözünme ve Süspande Olma Durumu.....	129
Şekil 5.64.	COMP-Plasebo Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı...	130
Şekil 5.65.	COMP-DT Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	131
Şekil 5.66.	DYN-Plasebo Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	131
Şekil 5.67.	DYN-DT Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı.....	131
Şekil 5.68.	COMP-Plasebo Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı....	132
Şekil 5.69.	COMP-DT Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	133
Şekil 5.70.	DYN-Plasebo Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	133
Şekil 5.71.	DYN-DT Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı.....	133
Şekil 5.72.	Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Compritol® 888 ATO Formülasyonunun Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü	134
Şekil 5.73.	Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Dynasan® 114 Formülasyonunun Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	134

Şekil 5.74.	Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Compritol® 888 ATO ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun Termogramı.....	135
Şekil 5.75.	Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Dynasan® 114 ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun Termogramı.....	136
Şekil 5.76.	Etkin Maddeli/Maddesiz Compritol® 888 ATO ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun X-Işını Kırınım Profili.....	137
Şekil 5.77.	Etkin Maddeli/Maddesiz Dynasan® 114 ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun X-Işını Kırınım Profili.....	138
Şekil 5.78.	Etkin Maddeli/Maddesiz Compritol® 888 ATO ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun FT-IR Spektrumu.....	139
Şekil 5.79.	Etkin Maddeli/Maddesiz Dynasan® 114 ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun FT-IR Spektrumu.....	140
Şekil 5.80.	Etkin Maddeli/Maddesiz Compritol® 888 ATO ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun NMR Spektrumu.....	142
Şekil 5.81.	Etkin Maddeli/Maddesiz Dynasan® 114 ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun NMR Spektrumu.....	142
Şekil 5.82.	KLN Formülasyonu, DT ve Rastel® Tablete ait <i>İn Vitro</i> Salım Profili.....	145
Şekil 5.83.	KLN Formülasyonu, DT ve Rastel® Tablete ait 2 Saatlik <i>İn Vitro</i> Salım Profili.....	145
Şekil 5.84.	Hazırlanan PNP ve KLN Formülasyonu, DT ve Rastel® Tablet'e ait <i>İn Vitro</i> Salım Profili.....	146
Şekil 5.85.	KSR-2 Formülasyonunun Kararlılık Çalışmasına ait Parçacık Boyutu (n=3).....	150

Şekil 5.86.	ERS-3 Formülasyonunun Kararlılık Çalışmasına ait Parçacık Boyutu (n=3).....	150
Şekil 5.87.	COMP-DT Formülasyonunun Kararlılık Çalışmasına ait Parçacık Boyutu (n=3).....	150
Şekil 5.88.	KSR-2 Formülasyonunun Kararlılık Çalışmasına ait Zeta Potansiyel Değeri (n=3).....	152
Şekil 5.89.	ERS-3 Formülasyonunun Kararlılık Çalışmasına ait Zeta Potansiyel Değeri (n=3).....	152
Şekil 5.90.	COMP-DT Formülasyonunun Kararlılık Çalışmasına ait Zeta Potansiyel Değeri (n=3).....	152
Şekil 5.91.	4°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	153
Şekil 5.92.	25°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	153
Şekil 5.93.	40°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	154
Şekil 5.94.	4°C'de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	155
Şekil 5.95.	25°C'de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	156
Şekil 5.96.	40°C'de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	156
Şekil 5.97.	4°C'de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	157

Şekil 5.98.	25°C'de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	158
Şekil 5.99.	40°C'de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	158
Şekil 5.100.	4°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait Termogram.....	159
Şekil 5.101.	25°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait Termogram.....	159
Şekil 5.102.	40°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait Termogram.....	160
Şekil 5.103.	4°C'de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait Termogram.....	160
Şekil 5.104.	25°C'de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait Termogram.....	161
Şekil 5.105.	40°C'de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait Termogram.....	161
Şekil 5.106.	4°C'de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait Termogram.....	162
Şekil 5.107.	25°C'de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait Termogram...	162
Şekil 5.108.	40°C'de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait Termogram...	163
Şekil 5.109.	4°C, 25°C ve 40°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait FT-IR Spektrumu.....	164
Şekil 5.110.	4°C, 25°C ve 40°C'de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait FT-IR Spektrumu.....	165
Şekil 5.111.	4°C, 25°C ve 40°C'de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait FTIR Spektrumu.....	166
Şekil 5.112.	4°C, 25°C ve 40°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait NMR Spektrumu.....	167

Şekil 5.113.	4°C, 25°C ve 40°C’de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait NMR Spektrumu.....	163
Şekil 5.114.	4°C, 25°C ve 40°C’de Saklanan COMP- DT Formülasyonuna ait NMR Spektrumu.....	169
Şekil 5.115.	KSR Kodlu PNP Formülasyonu Karşılaştırmalı <i>İn Vitro</i> Kinetik Salım Modeli (Higuchi Modeli).....	173
Şekil 5.116.	KSR Kodlu PNP Formülasyonu Karşılaştırmalı <i>İn Vitro</i> Kinetik Salım Modeli (Korsmeyer-Peppas Modeli).....	174
Şekil 5.117.	ERS Kodlu PNP Formülasyonu Karşılaştırmalı <i>İn Vitro</i> Kinetik Salım Modeli (Higuchi Modeli).....	175
Şekil 5.118.	ERS Kodlu PNP Formülasyonu Karşılaştırmalı <i>İn Vitro</i> Kinetik Salım Modeli (Korsmeyer-Peppas Modeli).....	176
Şekil 5.119.	ERL Kodlu PNP Formülasyonu Karşılaştırmalı <i>İn Vitro</i> Kinetik Salım Modeli (Higuchi Modeli).....	177
Şekil 5.120.	ERL Kodlu PNP Formülasyonu Karşılaştırmalı <i>İn Vitro</i> Kinetik Salım Modeli (Korsmeyer-Peppas Modeli).....	178
Şekil 5.121.	COMP-DT Kodlu KLN Formülasyonu Karşılaştırmalı <i>İn Vitro</i> Kinetik Salım Modeli (Higuchi Modeli ve Korsmeyer-Peppas Modeli).....	179
Şekil 5.122.	DYN-DT Kodlu KLN Formülasyonu Karşılaştırmalı <i>İn Vitro</i> Kinetik Salım Modeli (Higuchi Modeli ve Korsmeyer-Peppas Modeli).....	180
Şekil 5.123.	Tüm Formülasyonların 24 Saatlik İnkübasyonu Sonucu Sitotoksosite.....	181
Şekil 5.124.	Tüm Formülasyonların 48 Saatlik İnkübasyonu Sonucu Sitotoksosite.....	181

Şekil 5.125.	Sıcak Zemin Testi Sonucu.....	183
Şekil 5.126.	Sıcak Zemin Testinin İstatistiksel Değerlendirmesi.....	184
Şekil 5.127.	Kuyruk Batırma Testi Sonucu.....	185
Şekil 5.128.	Kuyruk Batırma Testinin İstatistiksel Değerlendirmesi.....	186
Şekil 5.129.	Kıvrınma Testi Sonucu.....	187
Şekil 5.130.	Kıvrınma Testinin İstatistiksel Değerlendirmesi.....	188

GÖRSELLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Görsel 4.1. Nano Spray-Dryer B-90 Cihazı.....	49
Görsel 4.2. <i>In Vitro</i> Salım Çalışması.....	57
Görsel 4.3. Prob Sonikasyon Cihazı ile Formülasyon Hazırlanması.....	59
Görsel 4.4. Gavaj İğnesi Yardımı ile İlaç Uygulama ve Sıcak Zemin Testinden Görüntüler.....	73
Görsel 4.5. Kuyruk Batırma Testinden Görüntüler.....	74
Görsel 4.6. İntraperitoneal (i.p.) injeksiyon ve Kıvrınma Testinden Görüntüler.....	75

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

% EE	: Enkapsülasyon Etkinliği/Yükleme Etkinliği
°C	: Santigrat Derece
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
µS	: Mikro-Siemens
¹³C-NMR	: Karbon Nükleer Manyetik Rezonans
¹H-NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskobu
C_{maks}	: Maksimum Plazma Konsantrasyonu
Compritol® ATO 888	: Gliseril dibehenat
COX	: Siklooksijenaz
COX-1	: Siklooksijenaz Enzimi 1
COX-2	: Siklooksijenaz Enzimi 2
dk	: Dakika
DLVO	: Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek Teorisi
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
DT	: Deksketoprofen Trometamol
Dynasan® 114	: Trimiristin/Gliserol trimiristat
Eudragit® RL 100	: Poli(etil akrilat-ko-metil metakrilat-ko-trimetil-amonyumetil metakrilat klorid) 1:2:0.2
Eudragit® RS 100	: Poli(etil akrilat-ko-metil metakrilat-ko-trimetil-amonyumetil metakrilat klorid) 1:2:0.1
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GİS	: Gastrointestinal Sistem

HLB	: Hidrofilik-Lipofilik-Denge
IR	: İnfrared
IUPAC	:Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (International Union of Pure and Applied Chemistry)
KLN	: Katı Lipit Nanopartikül
Kollidon® SR	:N-vinil-2-pirolidon / Polivinil asetat-Polivinil pirolidon karışımı
kV	: Kilovolt
LD	: Lazer Kırınımı
LOD	: Saptama Sınırı
LOQ	: Miktar Tayini Sınırı
mA	: Mili-Amper
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
MTT	: Tetrazolyum Tuzu Testi, [3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-dimetiltetrazolyum bromür] testi
NaCl	: Sodyum Klorür
nm	: Nanometre
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
NSAİİ	: Steroit-Olmayan Antiinflamatuvar İlaç
Θ	: Teta
ORT	: Ortalama
OTC	: Tezgah-Üstü İlaç
PDI	: Polidispersite İndisi
PBS	: Fosfat Tamponu

PCS	: Foton Korelasyon Spektroskopisi
pH	: Hidrojen Gücü (<i>Power of Hydrogen</i>)
PNP	: Polimerik Nanopartikül
RESOLV	: Sıvı Çözücüdeki Süperkritik Çözeltinin Hızlı Genleşmesi
RESS	: Süperkritik Çözeltinin Hızlı Genleşmesi
rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SH	: Standart Hata
SNOM	: Yakın Alan Taramalı Mikroskobu
SS	: Standart Sapma
STM	: Taramalı Tünelleme Mikroskobu
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
TGA	: Termogravimetrik Analiz
Tween® 80	: Polioksietilensorbitan monooleat
XRD	: X-Işını Kırınımı
YBSK	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
YEM	: Yüzey Etkin Madde
α	: Alfa
β	: Beta
β'	: Beta Üssü

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Ağrı, organik nedene bağlı olarak veya olmaksızın insan metabolizmasında vücudun herhangi bir yerinden kaynaklanabilen, insanın geçmiş yaşamındaki tüm deneyimlerini kapsayan, hoş olmayan duyu olarak tanımlanmaktadır. Tıp literatüründe ağrı başlıca iki grup altında incelenmektedir. Bunlardan ilki farklı hastalıkların habercisi olarak ortaya çıkan akut ağrı, diğeri ise kronik ağrıdır. Vücudun alarm sisteminin en önemli parçalarından biri olan akut ağrı çoğu kez vücutta var olan doku hasarının habercisidir veya bir hastalık belirtisidir. Örneğin, kas-iskelet sistemindeki hasarın ya da mekanik problemin, romatizmal hastalığın, infeksiyon reaksiyonunun veya kanserin habercisi ve belirtisi olarak gözlenebilir. Kronik ağrı ise 3-6 aydan uzun süren ve alarm sistemi olmaktan öteye geçen ağrı tipidir. Kronik ağrı hastalık habercisi değil, tek başına sorunun kendisidir.

Hem akut hem de kronik ağrı tedavi kapsamındaki sosyal ve ekonomik kayıplar ileri düzeydedir. Modern tıpta ağrı kesici ilaç kullanımı tedavide önemli yer tutmaktadır. Günümüzde yapılan ilaç tedavisinde hasta günde birkaç defa ve yüksek dozda ilaca maruz kalmaktadır. Yüksek doz beraberinde ciddi yan etkileri doğurmaktadır.

S-(+)-2-(3-benzoilfenil)propiyonik asidin trometamin tuzu olan deksketoprofen trometamol steroit-olmayan antiinflamatuvar ilaç grubuna dahil analjezik, antiinflamatuvar ve antipiretik ilaç etkin maddesidir. Steroit-olmayan antiinflamatuvar ilaçların etki mekanizması siklooksijenaz yolağının inhibisyonu ile prostaglandin sentezinin azaltılmasıyla ilgilidir. Kısa yarı ömürlü etkin madde olan deksketoprofen trometamol hastaya günde üç doz olarak uygulanmaktadır. Üç doz uygulama toksik etkileri arttırabileceği gibi hasta uyuncu ve dozlamanın unutulması gibi problemler doğurmaktadır.

Polimerik nanopartikül ve katı lipit nanopartikül sistemleri son yıllarda üzerinde çalışmaların yoğunlaştığı, kontrollü ve uzun süreli salım sağlayan ilaç taşıyıcı sistemlerdir.

Bu çalışmada deksketoprofen trometamol yüklü polimerik nanopartikül ve katı lipit nanopartikül sistem hazırlanmıştır. Çalışma kapsamında, seçilen formülasyonların geliştirilmesi, *in vitro* karakterizasyonu, kararlılık çalışmasının yapılması ve *in vitro-in vivo* olarak karşılaştırılması amaçlanmıştır. Hazırlanan formülasyonların ağrı tedavisinde yeni bir yaklaşım yaratacağı düşünülmektedir. Bu çalışmanın özgünlüğü şimdiye kadar DT yüklü herhangi bir nano taşıyıcı sistem geliştirilmemesini ve yarılanma ömrü düşük olan DT'nin düşük dozda uzun süreli salımının gerçekleştirilebileceğini içermektedir.

2. KAYNAK BİLGİSİ

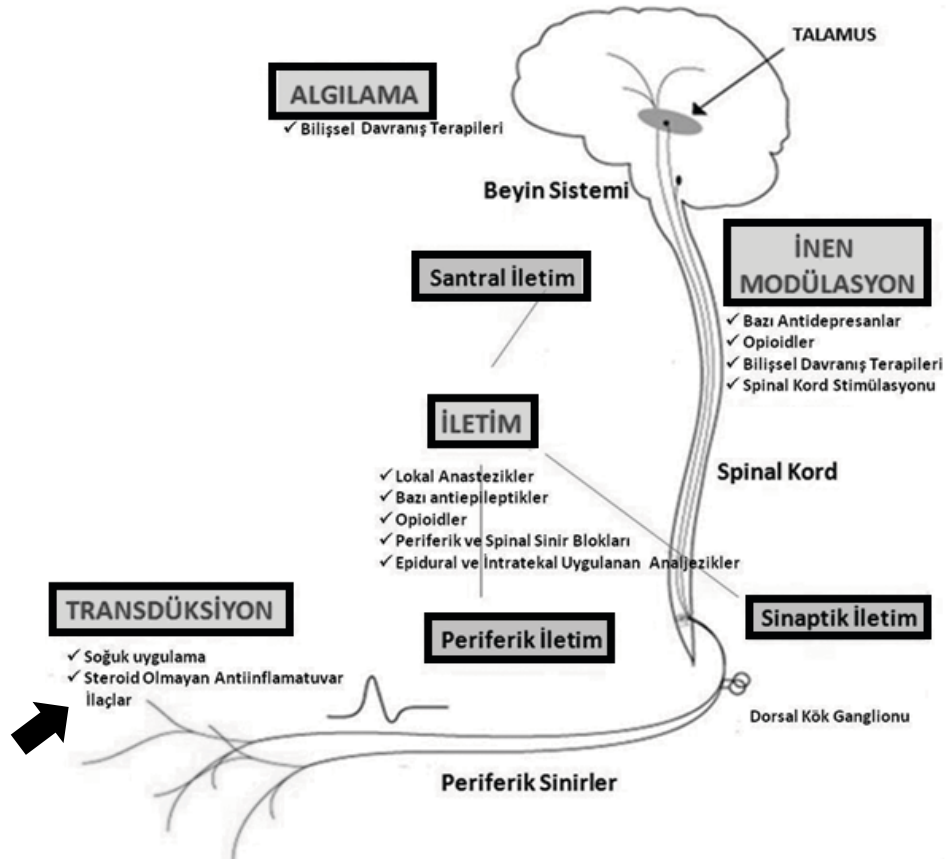
Bu bölümde ağrı, ağrı tedavisinde kullanılan steroit-olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), tez çalışmasında kullanılan bu gruba ait deksketoprofen trometamol (DT) isimli etkin madde ve DT kullanarak hazırlanan polimerik nanopartikül (PNP) ve katı lipid nanopartikül (KLN) sistemlerine yer verilecektir. Kaynak bilgisi bölümünün son kısmında ise nano taşıyıcıların oral olarak kullanımına ait bilgi yer alacaktır.

2.1. Ağrı

Ağrı, gerçekte mevcut ya da potansiyel doku hasarı ile ilişkili, hoş olmayan tatsız his veya duygusal deneyim olarak tanımlanmaktadır. Ağrı deneyimini fiziksel ve psikolojik faktörler birleşerek birlikte oluşturmaktadır. Bu nedenle ağrı kişiden kişiye değişken ve çok boyutludur. Ağrının doku hasarından korunmada yararlı işlevi olmasına karşın postoperatif süreçte veya kronik hale dönüştüğünde benzer yararı bulunmamaktadır. Doku hasarının göstergesi olan akut ağrı işlevsel sinir sistemi varlığının kanıtıdır. Akut ağrı ile birlikte hipertansiyon, taşikardi, aşırı terleme ve vazokonstriksiyon gibi otonom hiperaktivite reaksiyonları gözlenmektedir. Kronik ağrı hisseden hasta nüfusu dünya genelinde çok yüksektir. Ağrı tedavisine aktarılan yıllık harcama diğer birçok hastalığa göre daha yüksektir (Aydın, 2002, s. 37; Sternke, Abrahamson ve Bai, 2016, s. 1).

Ağrı olgusu birçok farklı şekilde sınıflandırılmaktadır. Sınıflandırma ağrının başlama süresine göre (akut ve kronik), şiddetine göre (hafif, orta, şiddetli ve çok şiddetli) ve anatomik kaynağına göre (nosiseptif, non-nosiseptif, nöropatik ve psikiyatrik) yapılmaktadır (Merskey ve Bogduk, 2002, s. 3-4; Aydın, 2002, s. 37).

Ağrı tedavisinde kullanılan yöntem ve etkin maddeler etkili oldukları mekanizma ve yerlere göre Şekil 2.1.'de sunulmuştur.



Şekil 2.1. Ağrı İletim Yolakları ve Tedavi Hedefleri

Kaynak: <http-1>

2.1.1. Steroit-olmayan antiinflatuvar ilaçlar (NSAİ)

Ağrı tedavisinde en fazla kullanılan ilaç grupları NSAİ ve narkotik analjezikler ilaçlardır. NSAİ'ye kısaca 'antiinflatuvar analjezik' denilmektedir. NSAİ'nin analjezik etkisi narkotik analjeziklere göre daha düşüktür ancak bağımlılık yapmaması ve narkoz hali oluşturmaması nedeniyle en çok reçete edilen analjezik etkin madde grubudur. Narkotik analjeziklerin antiinflatuvar etkinliği olmadığından inflamasyona bağlı uzun süreli tedavide NSAİ kullanımı bu grubun en önemli yararlarından biridir. Ağrı tedavisinde popüler etkin madde grubu olmasına karşın gastrointestinal sistemde (GİS) dispepsiden ölüme sonuçlanabilen mide rahatsızlığına kadar farklı yan etkiler gözlenebilir. NSAİ birçok ülkede tezgâh-üstü-ilaç (OTC) olarak satılmaktadır (Melli ve Kayaalp, 2009, s. 837; Dugowson ve Gnanashanmugam, 2006, s. 347).

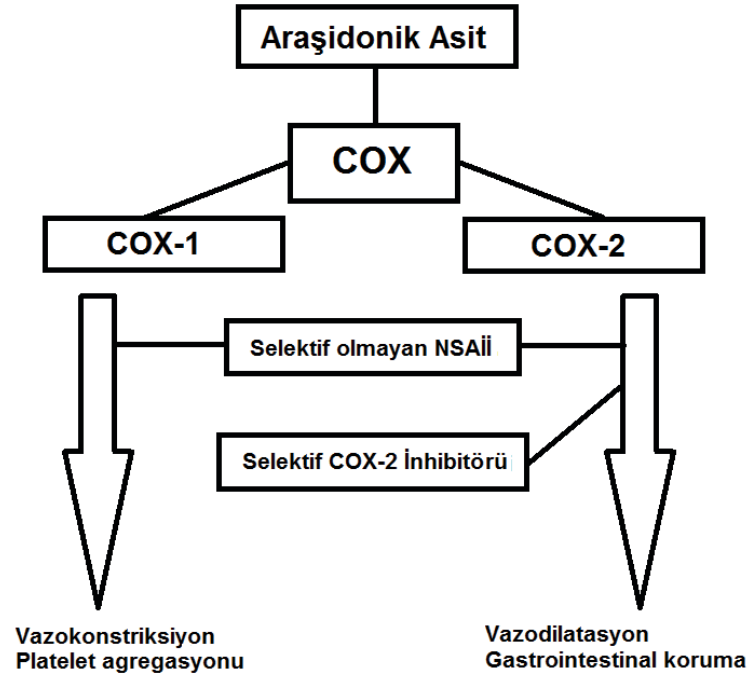
NSAİ'nin sağladığı analjezi yüzeysel ağrı hafif/orta derecede ve daha çok dolgunluk hissi veya sızı niteliğinde ise yeterlidir. Düz kas yapısından kaynaklanan, doku ölümü/kemik kırığı ve yanık/yaralanma gibi şiddetli ağrılarda narkotik analjezik etkin

madde kullanılırken, kas ağrısı, eklem ağrısı, baş ağrısı ve diş ağrısı gibi bölgesel inflamasyon reaksiyonuyla ilişkili olan ağrı çeşitlerinde NSAİİ kullanılır. NSAİİ gurubu etkin maddeler aynı zamanda antipiretik (ateş düşürücü) etkiye sahiptir. NSAİİ'nin antiinflamatuvar etkisi inflamasyonun dört ana belirtisi olan ağrı, ödem, kızarıklık ve sıcaklık yükselmesi gibi belirtileri giderir. NSAİİ analjezik, antiinflamatuvar ve antipiretik etkisi ile çok popüler olan etkin madde grubudur (Melli ve Kayaalp, 2009, s. 837).

2.1.1.1. NSAİİ'nin etki mekanizması

NSAİİ'nin etki mekanizması antiinflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkisine göre sınıflandırılır (Dugowson ve Gnanashanmugam, 2006, s. 348).

Seçici olmayan NSAİİ'nin antiinflamatuvar etkinliği doğrudan siklooksijenaz (COX) enzim inhibisyonu yaparak prostaglandin sentezini engellemesi ve sonuç olarak inflamasyonu engellemesindendir (Matsui vd., 2011, s. 107). COX iki farklı tipte izoenzimdir: COX-1 ve COX-2. Vücut sistemi için çok önemli olan araşidonik asit mekanizması esas olarak gastrik mukoza, böbrek ve vasküler endotel hücrelerinde normal hücre etkinliğini ve yaşam fonksiyonlarını düzenleyen prostanoitleri salgılar. COX-1 öncelikle bu alanlarda olmak üzere ve diğer birçok dokudan salgılanır. COX-2 ise yalnızca santral sinir sistemi, böbrek, trakea epitel ve testiste sentezlenir. Bilinen NSAİİ, COX-1 ve COX-2 izoenziminin ikisini de inhibe eder ancak asıl ağrı kesici ve antiinflamatuvar etkinliği COX-2 izoenzimi sentezinin inhibisyonu ile gerçekleşir (Hawkey, 2001, s. 802-803). Bilinen NSAİİ'nin reçete edilmesinin ardından gözlenen GİS komplikasyonu (ülser), trombosit fonksiyonunda bozulma ve kanama süresinin uzaması COX-1 izoenzimi sentezinin inhibisyonu ile bağlantılıdır. Geliştirilen selektif COX-2 izoenzim inhibitörü olan etkin maddeler trombosit fonksiyonunu ve GİS ve böbrekte prostaglandin sentezini etkilemeden inflamasyon alanındaki prostaglandin sentezini inhibe eder (Dugowson ve Gnanashanmugam, 2006, s. 348; Hawkey, 2001, s. 803). Bu nedenle renal ve gastrointestinal yan etki oluşturmada antiinflamatuvar etki ortaya çıkar. NSAİİ antipiretik etkisini Prostaglandin E₂ sentezini inhibe ederek gösterir (Dugowson ve Gnanashanmugam, 2006, s. 348; Perry vd., 2014, s. 35). Şekil 2.2.'de COX üretim mekanizması ve NSAİİ'nin etkilediği siklooksijenaz enzimleri özet olarak sunulmuştur.



Şekil 2.2. COX Üretimi ve NSAİİ'nin Etki Mekanizması

Kaynak: Perry vd., 2014, s. 36

2.1.1.2. NSAİİ grupları

NSAİİ kimyasal yapısına ve yarı ömrüne göre iki grup altında sınıflandırılabilir. Bu iki grup sırasıyla Çizelge 2.1. ve Çizelge 2.2.'de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Kimyasal Yapısına Göre NSAİİ

Kimyasal Yapı	Etkin Madde
I. Karboksilik Asitler	Salisilik asit ve türevleri
	Antranilik asit türevleri; Flufenamik asit, Mefanamik asit
II. Asetik Asitler	Fenil asetik asit türevleri; Diklofenak, Fenklofenak
	Karbo- ve heterosiklik asitler; İnfometazin, Etodolak, Sulindak, Tolmeltin
III. Propionik Asitler	İbuprofen, Ketoprofen, Flurbiprofen, Suprofen, Naproksen, Fenoprofen, Tiaprofenik asit

Çizelge 2.1. (Devam) Kimyasal Yapısına Göre NSAİİ

IV. Fenamik Asitler	Flufenamik asit, Meklofenamik asit, Mefenamik asit
V. Enolik Asitler	Pirazolonlar; Fenilbutazen, Oksifenbutazon, Azopropazon
	Oksikamlar; Piroksikam, Pesoksikam, Sudoksikam
VI. Non-asidik Maddeler	Prokuazom, Traramit, Pflunizol, Naubmetan

Çizelge 2.2. Yarı Ömrüne Göre NSAİİ

Kaynak: *http-2*

Yarı ömür	Etkin Madde
Uzun yarı ömürlü (10-12 saat)	Azopropazon Diflunotel Perbufen Nabumeton Naproksen Oksaprazosin Fenilbutazon Piroksikam
Kısa yarı ömürlü (6 saatten az)	Diklofenak Etodolak Fenoprofen Flufenamik Asit Flurbiprofen İbuprofen Indometazin Ketoprofen Pirprofen Traprofenik asit Tolmetin

Kaynak: *http-2*

2.1.1.3. NSAİİ'nin yan etkileri

NSAİİ'nin en önemli yan etkisi toksisitedir. NSAİİ reçete edilen hastaların yaklaşık % 20'sinde toksik belirtilerin gözlenmesi olasıdır. Yan etkilerin sıklıkla görülmesinin nedeni bu etkin maddelerin yüksek dozda, uzun süre ve genellikle yaşlı hastalarda kullanılmasıdır.

Yapılan araştırmalarda en önemli yan etkinin gastrointestinal yan etki olduğu gösterilmiştir (Ong vd., 2007, s. 19; Sostres vd., 2010, s. 122). İlaç kullanımı ile birlikte gelişen mide mukozası hasarı NSAİİ'nin doğrudan etkisinden çok koruyucu prostaglandin sentezini engellemesindenir. Prostaglandinler GİS'de gastrik asit salımı inhibe eder, mide mukozasının kan akımını artırır ve hücre korunmasını sağlar. Prostaglandin inhibisyonu ile birlikte mukozal iskemi tablosu ortaya çıkar ve mide mukozasını koruyan tabaka ortadan kaybolur. NSAİİ bu etkilerinin yanı sıra trombosit agregasyonu ve vazokonstriksiyondan sorumlu olan tromboksan A₂'nin işlevini bozar. Bu tarz komplikasyona neden olabileceği için mide kanaması riski taşıyan gastrointestinal hastalığı olan kişilerde dikkatli kullanılmalıdır. NSAİİ kullanımına bağlı gelişen mide ile ilgili sorunların % 30'unun hastanede yatarak tedavisi gerekmektedir.

Yan etkilerden önemli bir diğeri ise nefrotoksisitedir. Prostaglandin glomerül ve böbrek medullasında sentezlenir; inen ve çıkan arteriollerde güçlü vazodilatör etki oluşturarak böbrek kan akımını ve glomerüler süzme işlemini önemli derecede kontrol eder. NSAİİ, kalp, karaciğer ve böbrek hastalığı olan kişilerde akut böbrek yetmezliğine yol açabilir.

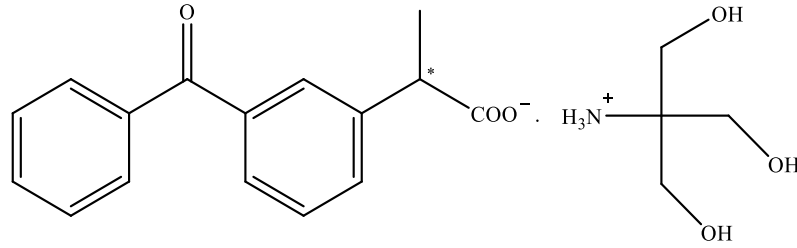
Bronkospazm, döküntü, trombosit işlevinde azalma, kulak çınlaması, baş ağrısı ve hepatit gibi yan etkiler de görülebilecek etkiler arasındadır (Kapıcıoğlu, 2007, s. 69; Perry vd., 2014, s. 36).

2.2. Deksketoprofen Trometamol

Arilpropiyonik asit iki enantiyomerin karışımı olan rasemik şekilden üretilen NSAİİ'ye ait gruptur. S (+) enantiyomerin farmakolojik olarak siklooksijenaz (COX) inhibisyonu yaptığı çalışmada gösterilmiştir (Carabaza vd., 1996, s. 505). Rasemik ketoprofenin analjezik ve antiinflamatuvar etkili S (+) enantiyomeri *in vitro* prostoglandin sentezini güçlü bir şekilde inhibe ederken, R (-) enantiyomer bu özelliklerin tümünden yoksundur. Kiral teknoloji sayesinde kullanım açısından uygun olan enantiyomer var olan rasemat şekilden kolaylıkla saflaştırılabilmektedir. DT (Ketoprofen S (+) trometamin tuzu) buna bir örnektir. Steroit-olmayan ketoprofen'in D-çevirici enantiyomeri olan bu etkin

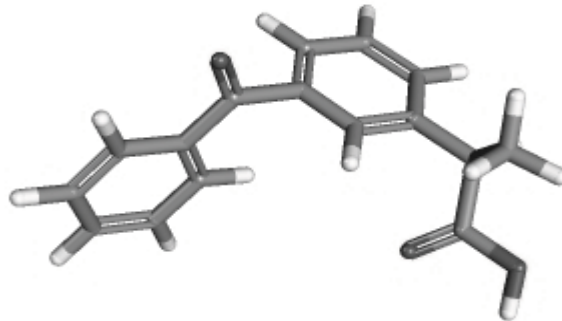
madde 20 yıldan uzun süredir tüm dünyada analjezik olarak yaygınlıkla kullanılmaktadır (Burke ve Bannister, 2003, s. 57). Sağlanan analjezik etki 4-6 saat sürmektedir (Mauleón vd. 1996, s. 24-41).

Deksketoprofen'in suda çözünen tuzu olarak üretilen DT birçok Avrupa Birliği ülkesinde 12.5 mg ve 25 mg dozda hemen salım yapan standart tablet olarak kas-iskelet sistemi ağrıları, dismenore ve diş ağrısı gibi hafiften orta dereceye kadar olan tüm ağrıların semptomatik tedavisinde kullanılmaktadır (Mainardi vd., 2014, s. 389). DT'nin ketoprofen ile karşılaştırıldığı sağlıklı gönüllülerde yapılan çalışmada, DT hızlı emilim ile kısa zamanda yüksek plazma derişimi göstererek akut kullanımda iyi bir seçenek olduğunu kanıtlamıştır (Mainardi vd., 2014, s. 389). Birçok çalışmada oral olarak uygulanan DT akut ve kronik ağrı olgusu bulunan hastalarda optimum etkinlik ve iyi tolere edilebilirlik göstermiştir (Allais vd., 2000, s. 153; Rodríguez vd., 2003, s. 103; Moore ve Barden, 2008, s. 1). DT'nin moleküler yapısı ve 3D moleküler yapısı sırasıyla Şekil 2.3. ve Şekil 2.4.'te sunulmuştur. DT'e ait bazı bilgiler ise Çizelge 2.3.'te sunulmuştur.



Şekil 2.3. Deksketoprofen Trometamol'ün Moleküler Yapısı

Kaynak: Blanco vd., 2006, s. 263



Şekil 2.4. Deksketoprofen Trometamol'ün 3D Moleküler Yapısı

Kaynak: <http-3>

Çizelge 2.3. Deksketoprofen Trometamol'e ait Bazı Bilgiler

IUPAC ismi	2-Amino-2-(hidroksimetil)propan-1,3-diol;2-(3-benzoilfenil)propanoik asit
Molekül formülü	C ₂₀ H ₂₅ NO ₆
Kimyasal isimleri	· Deksketoprofen trometamol · (S)-Ketoprofen trometamol · 156604-79-4 · 2-amino-2-(hidroksimetil)propan-1,3-diol;2-(3-benzoilfenil)propanoik asit · S-(+)-Ketoprofen trometamol · L-Ketoprofen trometamol
Moleküler ağırlığı	375.421 g/mol

Kaynak: <http-3>

DT insanlara oral olarak uygulandıktan yaklaşık 30 dakika sonra C_{maks} değerine ulaşır (Aronson, 2010, s. 298-299). DT'nin C_{maks} değeri yiyeceklerle birlikte alındığında azalmakta ve emilim hızı düşmektedir. DT'nin dağılım yarı ömrü, 0.35 saattir. DT plazma proteinlerine özellikle de albümine % 99 oranında bağlanır. Diğer etkin maddeler gibi dağılım hacminin ortalama değeri 0.25 L/kg'dan düşüktür. DT'nin vücuttan başlıca atılım yolu glukuronit konjugasyonunu izleyen renal atılmıdır. DT uygulanmasından sonra idrarda yalnızca S-(+) enantiyomerin elde edilmesi, insanlarda R-(-) enantiyomerin oluşmadığını göstermektedir. DT'nin eliminasyon yarı ömrü 1.65 saattir. DT'nin tekrarlanan doz uygulamasından sonra elde edilen farmakokinetik parametreler tek doz uygulamasından sonra etkin madde birikiminin olmadığını gösteren parametreler ile benzerdir (Sevimli, 2011, s. 27-28).

2.2.1. Deksketoprofen trometamol içeren ticari preparatlar

DT piyasada injeksiyonluk, jel ve tablet preparatı olarak bulunmaktadır. Oral olarak kullanılan ticari preparatlar Çizelge 2.4.'de sunulmuştur.

Çizelge 2.4. Deksketprofen Trometamol İçeren Ticari Preparatlar

Preparat İsmi ve Farmasötik Şekil	Firma	Jenerik / Orijinal
ARVELES® Çentikli Film Tablet, 25 mg, 20 tablet/kutu	UFSA	Orijinal
DEKSALGIN® Film Kaplı Tablet, 25 mg, 20 tablet/kutu	NOBEL	Jenerik
DEX-FORTE® Film Kaplı Tablet, 50 mg, 30 tablet/kutu	NEUTEC	Jenerik
DEXDAY® Efervesan Tablet, 50 mg, 30 tablet/kutu	NUVOMED	Jenerik
DEXFULL® SR Film Tablet, 75 mg, 10 tablet/kutu	NEUTEC	Jenerik
DEXİREN® Film Kaplı Tablet, 25 mg, 20 tablet/kutu	İLKO	Jenerik
DEXMOL® Efervesan Tablet, 25 mg, 20 tablet/kutu	NUVOMED	Jenerik
DEXMOL® Efervesan Tablet, 25 mg, 30 tablet/kutu	NUVOMED	Jenerik
DEXOFEN® Film Tablet, 25 mg, 20 tablet/kutu	ATABAY	Jenerik
DEXPRO® Film Tablet, 25 mg 20, tablet/kutu	AKAR FARMA	Jenerik
ELEKTRA® Film Kaplı Tablet, 25 mg, 20 tablet/kutu	SANTA FARMA	Jenerik
KETAVEL® Film Tablet, 25 mg, 20 tablet/kutu	DEVA	Jenerik
KETESSE® Film Tablet, 25 mg, 20 tablet/kutu	ULUGAYLAR	Orijinal
LEODEX® Film Kaplı Tablet, 25 mg, 20 tablet/kutu	BİLİM	Jenerik
RASTEL® Çentikli Film Tablet, 25 mg, 20 tablet/kutu	ABDİ İBRAHİM	Jenerik
REDAGON® Çentikli Film Tablet, 25 mg, 20 tablet/kutu	TRIPHARMA	Jenerik
VANCERYL® Çentikli Film Tablet, 25 mg, 20 tablet/kutu	ABDİ İBRAHİM	Jenerik
VARLES® Film Kaplı Tablet, 25 mg, 20 tablet/kutu	MENTIS	Jenerik
VELORES® Film Tablet, 25 mg, 20 tablet/kutu	PHARMAACTIVE	Jenerik

Kaynak: RxMediaPharma® 2016

2.3. Polimerik Nanopartiküller

Çözelti, süspansiyon ve emülsiyon gibi bilinen ilaç taşıyıcı sistemlerin yüksek doz ilaç etkin maddesi içermesi, düşük farmakolojik etkisi, ilk geçiş etki varlığı, yüksek yan etki gibi özellikleri kullanımlarını sınırlamaktadır. Kullanılan bu sistemlerde etkin maddenin plazma düzeyinde öngörülemez dalgalanma ortaya çıkmasından ve plazma derişiminin sürekli değişip sabitlenememesinden dolayı yeni taşıyıcı sistemlere gereksinim duyulmuştur. Son zamanlarda bu tarz problemlerin üstesinden gelebilmek için nanopartiküler taşıyıcı sistemler üzerinde yoğunlaşmıştır. Nanopartiküller 10-1000 nm boyutlarında, doğal veya sentetik polimer ve seramik veya inorganik element ile hazırlanan katı kolloidal ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Nanopartiküler sistemde yüklenilmesi istenen etkin madde nanopartikül içinde çözünmüş veya dağılmış olabileceği gibi yüzeyine tutunmuş ya da kovalan olarak bağlanmış olabilir. Nanokapsül etkin maddenin polimer membran ile çevrelendiği sistem olarak adlandırılırken, nanoküre etkin maddenin polimer içinde fiziksel olarak eşit şekilde dağıtıldığı matris sistemdir (Nagarwal vd., 2009, s. 3; Mudshinge vd., 2011, s. 130; Bilensoy, 2014, s. 23).

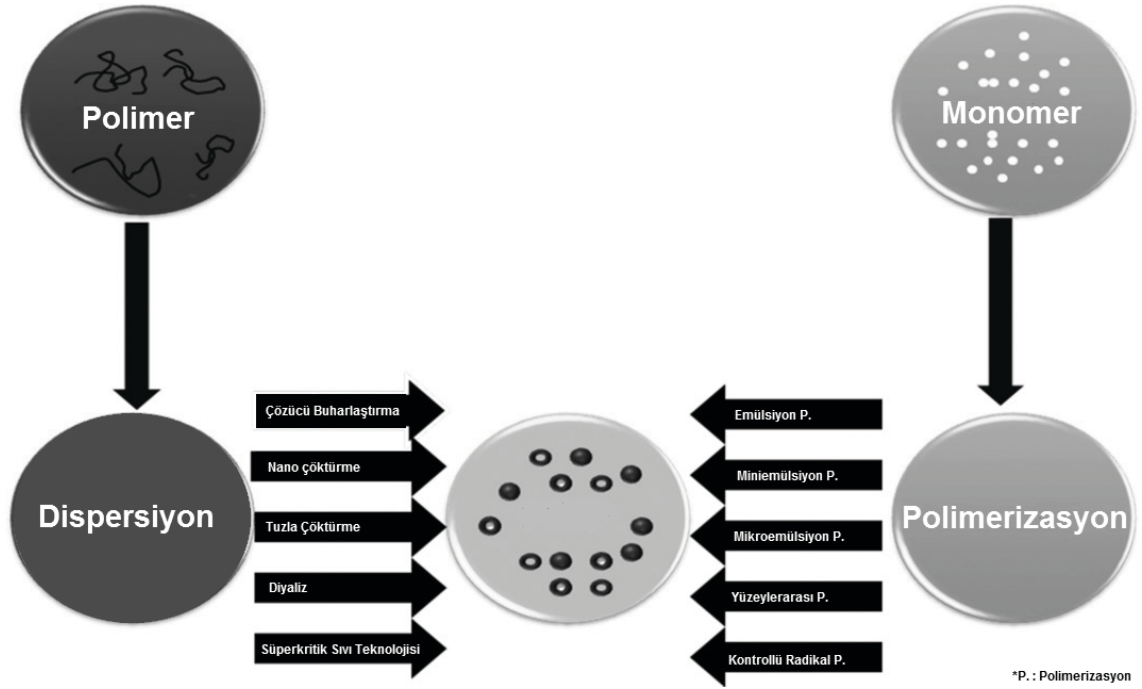
2.3.1. Nanopartikül formülasyonunun üstünlüğü

Nanopartikül formülasyonunun en temel üstünlükleri aşağıda belirtilmiştir (Kaş, 2002, s. 82; Gelperina vd., 2005, s. 1487; Nagarwal vd., 2009, s. 11).

- Yüksek kararlılık ve yüksek raf ömrüne sahiptir,
- Üretimi ve karakterizasyonu kolaydır ve üretim maliyeti düşüktür,
- Yüksek etkin madde yükleme kapasitesine sahiptir,
- Etkin maddenin yapı ve etkinliğini değiştirmez,
- Düşük dozda etkin madde kullanımına olanak vererek düşük doza bağlı olarak yan etki ve toksik etki azalmasına yol açar,
- Üretimde kullanılan polimerler biyouyumlu ve biyoparçalanabilir özellik taşıdığından toksik etki ve immünolojik reaksiyona neden olmaz,
- Genetik materyal, protein ve ufak moleküller yüklenebilir,
- Hidrofilik ve hidrofobik etkin madde ile uygunluk gösterir,
- Kontrollü ve sürekli salıma olanak sağlar,
- Etki istenen bölgede toplanabilir, aktif ve pasif hedeflemeye uygundur.

2.3.2. Polimerik nanopartikül (PNP) üretimi

PNP'ler en basit sınıflandırma ile iki temel yöntem ile üretilebilir. Bunlardan ilki monomerlerin polimerizasyonu, diğeri ise polimerlerin dispersiyonudur. Bu temel iki yöntem için PNP üretimi Şekil 2.5.'de şema olarak sunulmuştur (Rao ve Geckeler, 2011, s. 890).



Şekil 2.5. PNP Üretim Yöntemlerinin Şematik Gösterimi

Kaynak: Rao ve Geckeler, 2011, s. 890

PNP üretiminde doğal veya sentetik hazır polimer kullanılabilir; üretimde kullanılan polimerler Çizelge 2.5.'de sunulmuştur.

Çizelge 2.5. PNP Üretiminde Kullanılan Polimerler

Sınıflandırma	Polimer
Doğal polimerler	
Protein bazlı	Kolajen, Albümin, Jelatin

Çizelge 2.5. (Devam) PNP Üretiminde Kullanılan Polimerler

Polisakkarit	Agaroz, Kitozan, Hiyalüronik asit, Aljinat, Karagen, Dekstran, Siklodekstrin
Sentetik Polimerler	
Biyoparçalanır	
Poliester	Poli (laktik asit), Poli (glikolik asit), Poli (hidroksi bütürat), Poli (ε-kaprolakton), Poli (β-malik asit), Poli (dioksanon)
Polianhidrit	Poli (sebazik asit), Poli (adipik asit), Poli (terftalik asit) ve çeşitli kopolimerler
Poliamit	Poli (imino karbonat), poliamino asit
Fosfor bazlı	Polifosfat, Polifosfonat, Polifosfozen
Diğerleri	Poli (siyano akrilat), poliüretan, poliorto ester, Polidihidropiran, Poliasetal
Biyoparçalanır olmayan	
Selüloz türevleri	Karboksimetil selüloz, Etil selüloz, Selüloz asetat, Selüloz asetat propiyonat, Hidroksipropil metil selüloz
Silikon	Polidimetilsiloksan, Kolloidal silika
Akrilik	Polimetakrilat, Poli (metil metakrilat), Poli hidro (etil-metakrilat)
Diğerleri	Polivinil pirolidon, Etil-vinil asetat, Poloksamer, Poloksamin

Kaynak: Şenel, 2014, s. 13

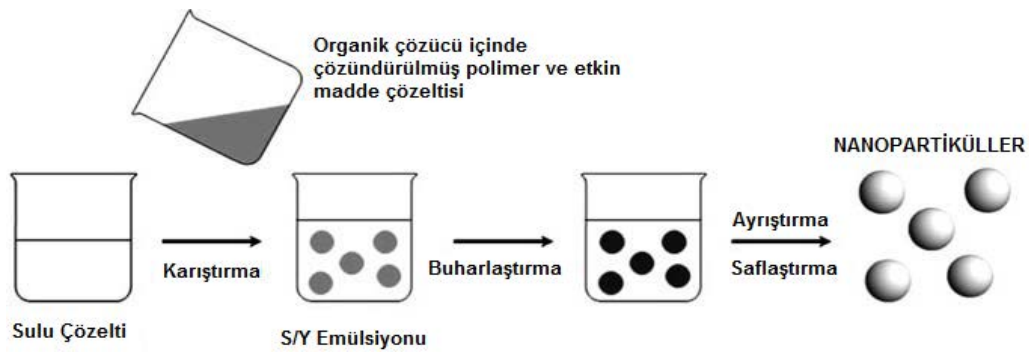
Kollidon® SR, % 80 polivinil asetat ve % 19-20 oranında polivinil pirolidon'un (povidon) fiziksel karışımından oluşan ve oral ilaç uygulamalarında sıklıkla kullanılan biyoyumlu polimerdir. En sık kullanımı sürekli salım yapan matris tablet formülasyonlarındadır. Polivinil asetat suda çözünür ancak povidon suda çözünmez. GİS'e ulaşan Kollidon® SR'nin polivinil asetat kısmı suda çözünürken povidon etrafında

kanallar oluşturur. Etkin madde bu kanallardan yavaş ve sürekli şekilde salınır. Bu polimer iyonik grup içermediği için etkin maddenin özelliklerini değiştirmez (Ariasa vd., 2009, s. 107).

Eudragit® RS 100 ve Eudragit® RL 100 zaman kontrollü salım sistemi ve oral olarak kullanılan ilaç şekillerinin kaplanması sıklıkla kullanılmaktadır. Bu polimerler etil akrilat, metil metakrilat ve az miktarda metakrilik asit esterinin kopolimeridir. Trimetilamonyum etil metakrilat klorür'den oluşan katerner amonyum grupları içerir. RS şeklinde % 4.5-6.8, RL şeklinde ise % 8.8-12 oranında katerner amonyum grubu bulunur. Bu iki polimer fizyolojik ortamda çözünmez ancak şişme özelliği gösterir. İki polimer enantiyomer olup aralarındaki tek fark atomların salım oranını değiştiren kimyasal dizilişin farklı olmasıdır (Pignatello, Bucolo ve Puglisi, 2002, s. 2636; Sonje ve Chandra, 2013, s. 71-72).

2.3.2.1. Çözücü buharlaştırma yöntemi

Hazır polimer kullanarak PNP üretimi için ilk geliştirilen yöntemlerden biri çözücü buharlaştırma yöntemidir. Bu yöntemde polimer kloroform, diklorometan veya etilasetat gibi bir çözücü içinde çözündürülür ve emülsiyon yapıcı yardımıyla klasik emülsiyon (yağ/su) veya çoklu emülsiyon (yağ/su/yağ) oluşturulur. Hazırlanan emülsiyona yüksek hızda homojenizasyon ya da ultrasonikasyon uygulandıktan sonra çözücü evaporasyon, oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile sürekli karıştırma veya düşük basınç altında uçurulur. Ultrasontrifüj kullanılarak katı nanopartiküller toplanır ve emülsiyon yapıcı gibi yardımcı maddeleri uzaklaştırmak için distile su ile yıkanır (Derman, Kızılbey ve Akdeste, 2013, s. 114). Çözücü buharlaştırma yöntemi ile PNP üretimi Şekil 2.6.'da sunulmuştur.



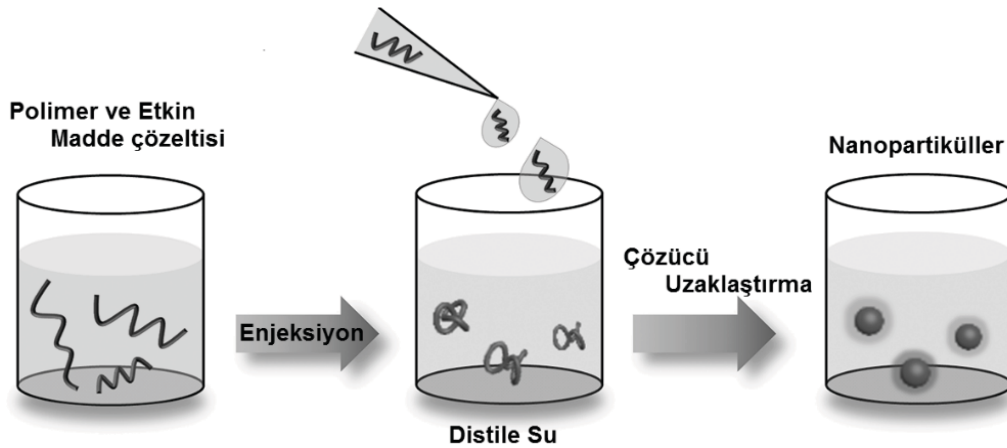
Şekil 2.6. Çözücü Buharlaştırma Yöntemi ile PNP Üretimi

Kaynak: Derman, Kızılbey ve Akdeste, 2013, s. 114

2.3.2.2. Nanoçöktürme yöntemi

Nanoçöktürme yöntemi çözücü yer değiştirme yöntemi olarak da bilinmektedir. Bu yöntemde lipofilik çözücünün su ile karışabilen yarı polar bir çözücü ile yer değiştirmesinin ardından polimerin yüzeylerarasında birikimi söz konusudur. Çözücünün non-solvan faza hızlı difüzyonu ile iki faz arasındaki yüzeylerarası gerilimi düşer. Bu durum yüzey alanını artırır ve ufak organik çözücü damlacıklarının oluşumuna yol açar. Oldukça basit ve ekonomik bir yöntemdir (Mishra vd., 2010, s. 12).

Bu yöntemde seçilen polimer aseton gibi bir çözücü içinde çözündürülür ve aynı ortama etkin madde de eklenerek çözündürülür. Bu çözelti manyetik karıştırıcı ile karıştırılan ve stabilizatör içeren distile su içerisine enjekte edilir. Çözücü ve bir miktar suyun vakum altında uzaklaştırılması ile süspansiyonun son hacmi gerekli miktara ayarlanır. Bu yöntemde etkin maddenin nanopartikül hazırlanmadan önce polimere ya da sonrasında nanopartikülün yüzeyine kovalan bağlanması, polimerik taşıyıcı sisteme tutunması veya nanopartikül hazırlanırken etkin maddenin polimerik matris içine hapsedilmesi gibi farklı çalışma stratejileri geliştirilmiştir (Muthu, 2009, s. 267). Nanoçöktürme yöntemi ile PNP üretimi Şekil 2.7.'de sunulmuştur.



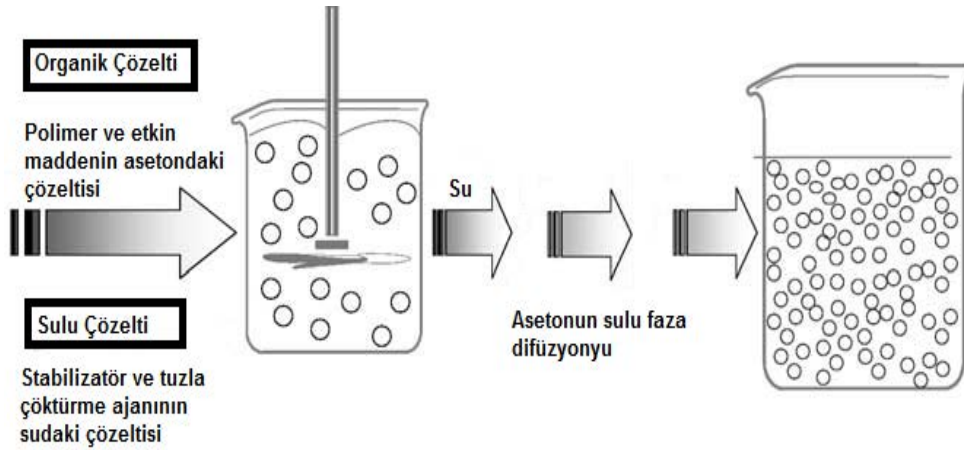
Şekil 2.7. Nanoçöktürme Yöntemi ile PNP Üretimi

Kaynak: Chan ve Wu, 2014, s. 3

2.3.2.3. Tuzla çöktürme yöntemi

Bu yöntemde ilk olarak polimer ve etkin madde su ile tamamen karışabilen aseton gibi bir çözücüde çözündürülür. Oluşan çözelti polivinil pirolidon gibi koloidal stabilizatör aracılığıyla çöktürme ajanı olan sulu faz ile emülsifiye edilir. Tuzla çöktürme ajanı olarak

magnezyum klorür ve kalsiyum klorür gibi elektrolit madde kullanılmaktadır. Oluşan y/s emülsiyonuna yeterli miktarda su veya sulu çözelti eklenmesi sonucu emülsiyonun seyrelmesi ile tuzla çöktürmenin ters etkisi ortaya çıkar ve asetonun sulu faza difüzyonu ile çözünen polimer emülsiyondaki damlacıklarda çöker. Bu proses sonucunda nanopartiküller elde edilir (Muthu, 2009, s. 268). Tuzla çöktürme yöntemi ile PNP üretimi Şekil 2.8.'de sunulmuştur.

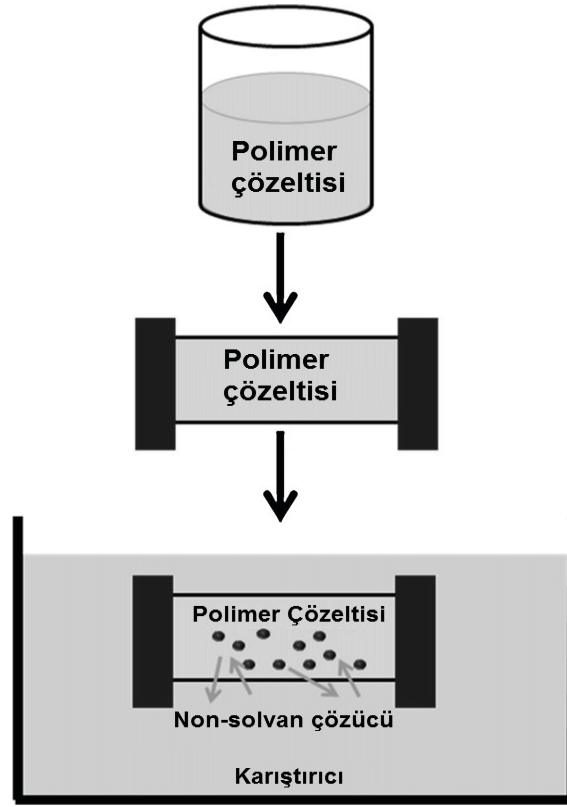


Şekil 2.8. Tuzla Çöktürme Yöntemi ile PNP Üretimi

Kaynak: Reis vd., 2006, s. 13

2.3.2.4. Diyaliz yöntemi

Diyaliz yöntemi blok kopolimer ve diğer amfifilik maddeleri kullanarak ufak ve dar parçacık boyutu dağılımına sahip nanopartikül elde edilmesinde kolay ve etkili bir yöntemdir. Bu yöntemde polimer uygun çözücünde çözündürülmesinin ardından uygun molekül ağırlığına sahip diyaliz tüplerine alınarak diyaliz ortamına bırakılır. Diyaliz, çözücü ile non-solvan çözücü arasında olur. Diyaliz tüpü içindeki çözücünün yer değiştirmesi ile polimer çözünürlüğünü kaybeder ve ortamda süspande haldeki nanopartiküller toplanır (Jeong vd., 2001, s. 2229-2230). Diyaliz yöntemi ile PNP üretimi Şekil 2.9.'da sunulmuştur.



Şekil 2.9. *Diyaliz Yöntemi ile PNP Üretimi*

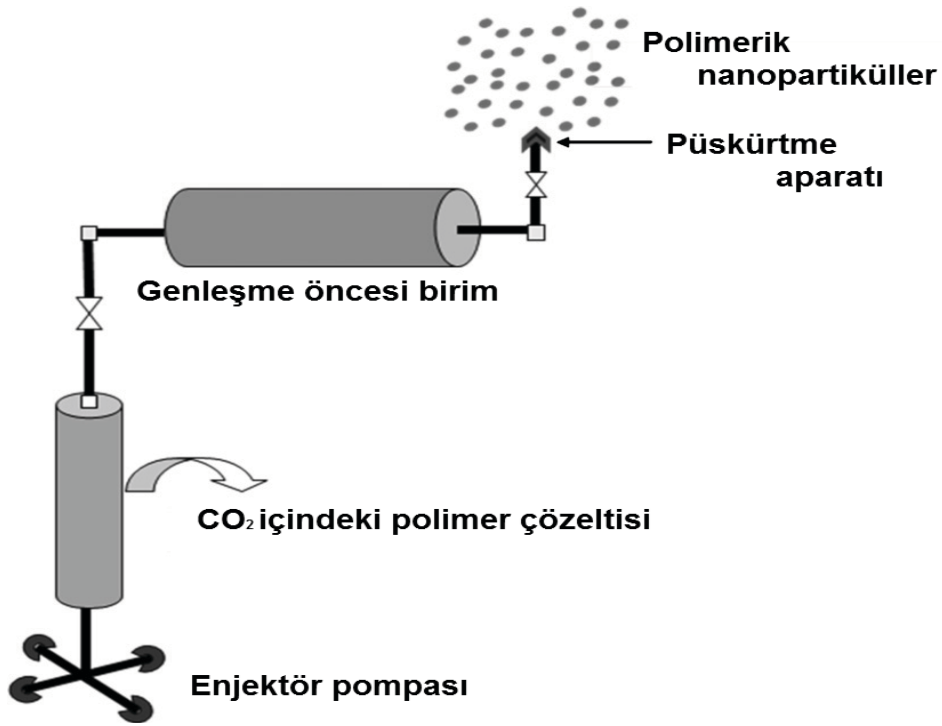
Kaynak: Rao ve Geckeler, 2011, s. 894

2.3.2.5. Süperkritik sıvı teknolojisi yöntemi

Çözücü uçurma, koaservasyon ve *in situ* polimerizasyon gibi bilinen nanopartikül üretim yöntemlerinde sıklıkla toksik çözücü ve/veya yüzey etkin madde kullanılır. Bu nedenle araştırmalar çevreye güvenli enkapsülasyon yöntemleri ile etkin madde yüklü mikron- veya mikron-altı üretime yoğunlaşmıştır. Eğer etkin madde yüklü nanopartikül formülasyondan çözücü artığı tam olarak uzaklaştırılmazsa, bu durum toksik etki yaratabilir ve sonuçta etkin maddenin polimer matris içindeki kararlılığı değişebilir. Günümüzde süperkritik akışkanlar çevre dostu çözücü olarak yüksek saflıkta nanopartikül üretimine olanak sağladığından bilinen yöntemlere göre etkileyici bir çözümdür. Yöntemin sakıncaları ise oldukça pahalı olması ve birçok polimerin süperkritik sıvılarda çözünmemesidir. Bundan dolayı yöntem pratik olarak tercih edilemez durumdadır (Soppimatha vd., 2001, s. 3; Murakami ve Shimoyama, 2006, s. 178; Derman, Kızılbey ve Akdeste, 2013, s. 116).

Süperkritik sıvı teknolojisi ile nanopartikül iki farklı şekilde elde edilebilir. Bu yöntemlerden ilki süperkritik çözücünün hızla genişlemesidir (RESS). Bu yönteme göre

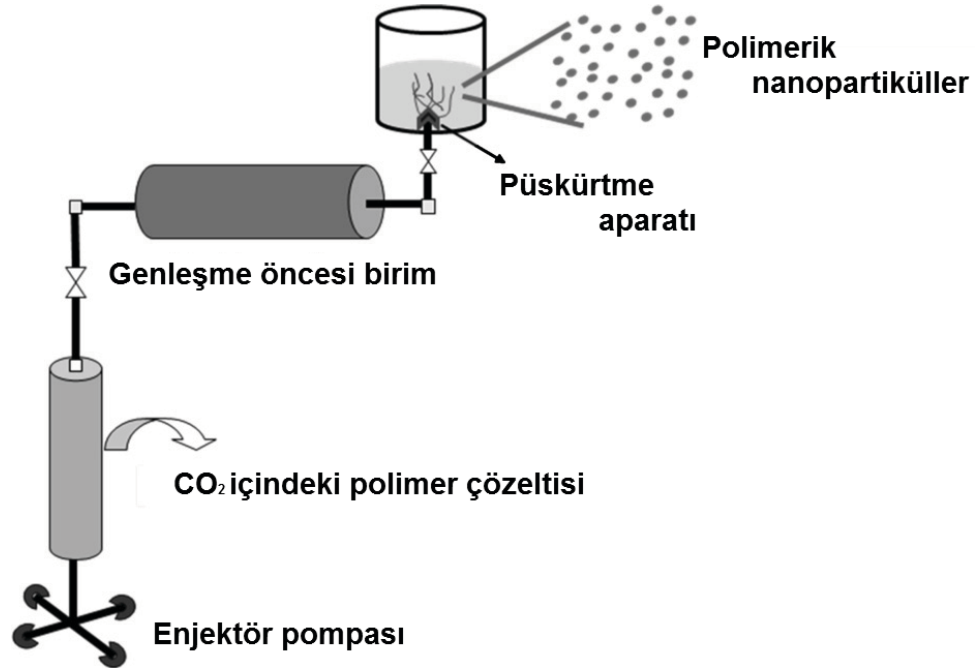
madde süperkritik sıvıda çözündürülür ve elde edilen çözeltinin hızla genleşmesi sonrasında delik/iğne püskürtücüden havaya geçirilir. Bu yöntem herhangi bir çözücü artığı içermediğinden çevre ile uyumludur. Aşırı doygunluk ve buna eşlik eden genleşme ile hızlı basınç düşmesi homojen çekirdeklenme ve iyi dağılım gösteren parçacıkların oluşumu ile sonuçlanır (Rao ve Geckeler, 2011, s. 895). Süperkritik çözücünün hızlı genleşmesi yöntemi ile PNP üretimi Şekil 2.10.'da sunulmuştur.



Şekil 2.10. Süperkritik Çözücünün Hızlı Genleşmesi Yöntemi ile PNP Üretimi

Kaynak: Rao ve Geckeler, 2011, s. 897

Süperkritik sıvı teknolojisi ile nanopartikül elde etmenin ikinci yöntemi süperkritik çözücünün akışkan çözücü içinde hızla genleşmesidir. Yöntem akışkan çözücü genleşme birimindeki parçacık büyümesini engelleyerek nanoboyutta parçacık elde edilmesine olanak sağlar (Rao ve Geckeler, 2011, s. 896). Süperkritik çözücünün akışkan çözücü içinde hızla genleşmesi yöntemi ile PNP üretimi Şekil 2.11.'de sunulmuştur.

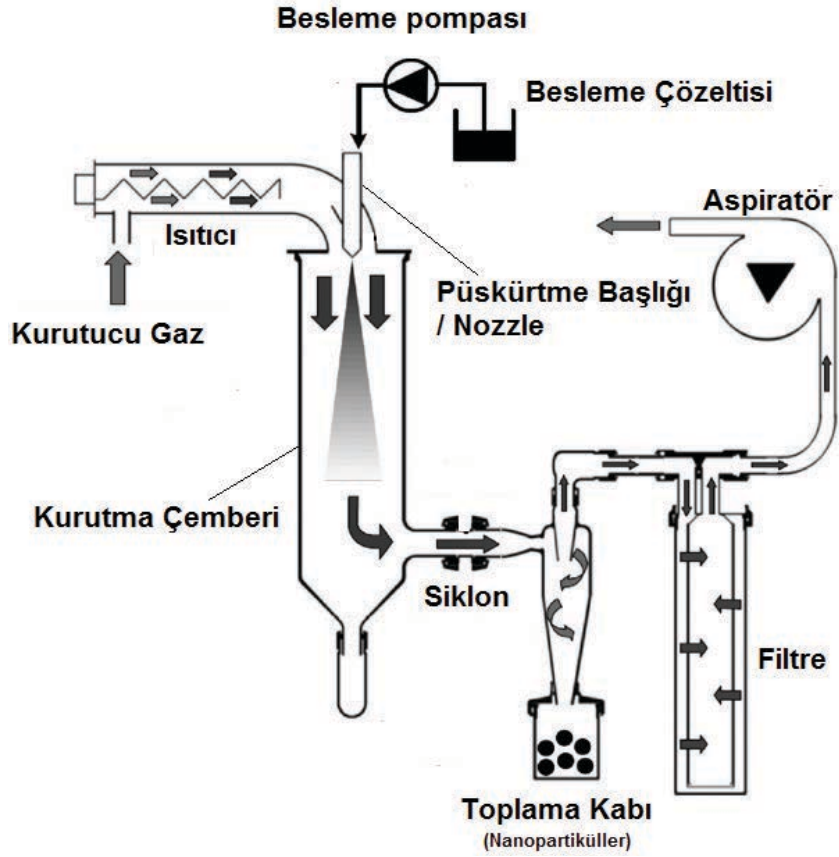


Şekil 2.11. Süperkritik Çözücünün Akışkan Çözücü İçinde Hızlı Genleşmesi Yöntemi ile PNP Üretimi

Kaynak: Rao ve Geckeler, 2011, s. 897

2.3.2.6. Püskürterek kurutma yöntemi

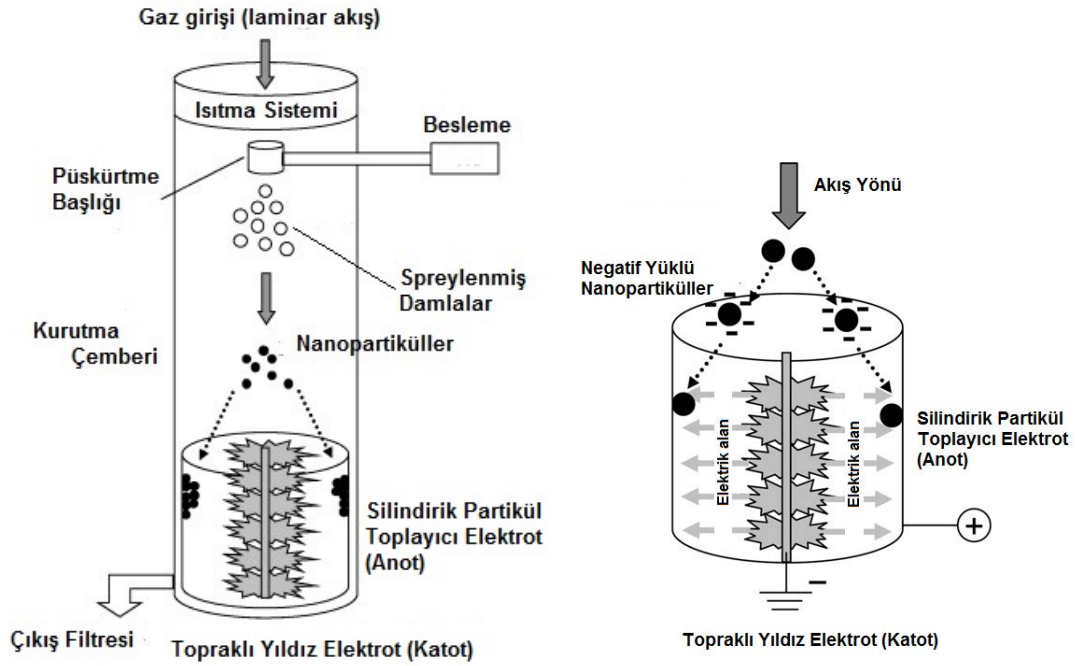
Püskürterek kurutma yöntemi kaliteli bitmiş ürün, düşük maliyet, uygun parçacık boyutu ve dar parçacık boyut dağılımı, ideal parçacık şekli ve kolay modifiye edilebilir üretim prosesi gibi özelliklerinden dolayı farmasötik endüstri için oldukça heyecan verici ve sıklıkla kullanılan yöntemdir. Bu yöntem ile çözelti ya da süspansiyon halindeki formülasyon kuru toz halinde elde edilir. Püskürterek kurutma yöntemiyle kurutulacak ürün çok ufak damlacıklara dönüştürülerek sıcak hava akımı içine gönderilir ve çözeltinin buharlaşması sağlanır. Püskürterek kurutma cihazının en önemli birimi atomizerdir. Atomizer, kurutulmak istenilen sıvıyı çeşitli parametrelere bağlı olarak ufak damlalara dönüştüren kısımdır. Bu kısım ne kadar ufak boyutta damlacık elde ederse, kuruma da o kadar hızlı gerçekleşir. Atomizerde damlacıklara ayrılan çözelti sıcak gaz akımı olan kurutma çemberi içine püskürtülür. Damlacık sikloidal hava hareketiyle önce katı hale dönüşür, ardından siklon kısmında gaz akımından ayrılarak toplama kabına ulaşır (Patel, Patel ve Suthar vd., 2009, s. 44). Klasik püskürterek kurutma cihazı ile PNP üretimi Şekil 2.12.'de sunulmuştur.



Şekil 2.12. Klasik Püskürterek Kurutucu ile PNP Üretimi

Kaynak: Bürkia, Arpagausp ve Betza, 2011, s. 249

Klasik püskürterek kurutma cihazındaki en önemli sakıncalardan biri düşük kütleye sahip nanopartiküllerin hava akımı ve siklon ayırıştırıcı tarafından verimli şekilde ayrılamaması ve toplama kabı yerine filtreye gitmesidir. BÜCHI Labortechnik AG, *Nano Spray-Dryer B-90*'ı geliştirerek bu soruna çözüm bulmuştur. Bu cihaz ince damlacıklar oluşturarak ufak parçacık boyutuna sahip nanopartiküllerin elde edilmesi için tasarlanmıştır. Sprey başlığında bulunan vibrasyonlu membran üretim aşamasında her saniye milyonlarca ufak damla oluşturur. Kuru parçacıklar yüksek geri kazanım oranı ile elektrostatik parçacık toplayıcı ile ayrılır (Bürkia, Arpagausp ve Betza 2011, s. 249). *Nano Spray-Dryer* cihazı ile PNP üretimi Şekil 2.13.'de sunulmuştur.



Şekil 2.13. Nano Spray-Dryer Cihazı ile PNP Üretimi

Kaynak: Lee vd, 2011, s. 194

Püskürterek kurutma yöntemi ile nanopartikül üretiminde giriş sıcaklığı, çıkış sıcaklığı, çözeltinin viskozitesi, katı içeriği, yüzey gerilim ve püskürtme başlığı/nozzle özelliği gibi kritik parametreler bulunmaktadır. Kullanılan etkin maddenin kimyasal ve fiziksel özelliğine göre uygun giriş sıcaklığı seçilmelidir. Yüksek giriş sıcaklığında buharlaşma çabuk olur. Çıkış sıcaklığı toplanan bitmiş ürünlerdeki nem içeriğini kontrol altında tutar. Besleme çözeltisi olarak yüksek viskoziteye sahip çözelti kullanıldığında damlacık ve püskürtme tekdüze olmaz ve bazı durumlarda hiç püskürtme olmayıp püskürtme başlığında damlacık oluşabilir. Besleme karışımında % 30'dan yüksek oranda katı bulunursa düzgün atomizasyon sağlanamaz ve ufak damlacıklar oluşmaz. Hazırlanan besleme karışımına düşük oranda yüzey etkin madde yüklenmesi yüzey gerilimi düşürür. Yüzey etkin madde sayesinde daha düzgün damlacıklar ve daha geniş püskürtme açısı elde edilir. Birçok farmasötik uygulamada girişim ve bozunma olmaması için paslanmaz çelik püskürtme başlığı kullanılır (Patel, Patel ve Suthar, 2009, s. 46).

2.3.3. Polimerik nanopartiküllerin karakterizasyonu

2.3.3.1. Parçacık boyutu ve dağılımı

Parçacık boyutu ve dağılımı nanopartikül sistemlerin en önemli karakterizasyon parametrelerinden biridir; nanopartiküllerin *in vivo* davranışı ve dağılımı, toksisitesi ve hedeflendirilebilme yeteneği hakkında geniş bilgi sağlar. Bu bilgilere ek olarak etkin madde yüklenmesi, salımı ve kararlılığı hakkında öngörü sağlanmasına olanak verir. Mikron-altı boyutundaki ilaç taşıyıcı sistemlerin mikron boyuttaki ilaç taşıyıcı sistemlere göre sahip olduğu üstünlük birçok çalışmada gösterilmiştir. Mikron-altı ve mikron boyut karşılaştırıldığında, mikron-altı boyuttaki nanopartiküllerin hücre içine girme oranının daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Mohanraj ve Chen, 2006, s. 564; Panyam ve Labhasetwar, 2003, s. 330).

Parçacık boyutu etkin madde salımı ve polimer degradasyonunu etkiler. Ufak parçacıklar daha yüksek yüzey alanına sahiptir ve etkin madde parçacık yüzeyinde ya da enkapsüle halde bulunur. Bu durum etkin maddenin daha kolay salınmasını sağlar. Daha iri parçacıklarda ise salım daha geç olur çünkü etkin madde iri parçacıklardaki geniş boşluklara hapsolür ve dolayısıyla yavaş salınır. Ufak boyuta sahip parçacıklardaki en büyük tehlike agregasyon sorunudur (Mohanraj ve Chen, 2006, s. 564-565).

Parçacık boyutu ve dağılımı foton korelasyon spektroskopisi veya dinamik ışık saçılımı yöntemi ile hızlı ve rutin olarak analiz edilebilir. Çalışmalarda foton korelasyon spektroskopisinden alınan sonuçlar taramalı elektron mikroskobu (SEM) veya geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analizleri ile desteklenir (Buhr vd., 2009, s. 1-2; Mohanraj ve Chen, 2006, s. 565).

2.3.3.2. Zeta potansiyel

Nanopartiküllerin fiziksel özelliklerinden biri olan zeta potansiyel yüzey yükü hakkında bilgi verir. 'Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek' (DLVO) teorisine göre, kolloidal sistemdeki parçacıklar üzerindeki itme ve çekme kuvvetleri elektrostatik itme ve *Van der Waals* çekme kuvvetlerinden kaynaklanmaktadır. Elektrostatik itme yüzey yükü ve potansiyeline bağlıdır ve zeta potansiyeli ile ilişkilidir. Tüm parçacıkların yüksek negatif veya pozitif zeta potansiyele sahip olup birbirini itmeleri dispersiyonun kararlılık parametrelerinden biridir. Genel ifade ile yüksek zeta potansiyele sahip yüklü parçacıklarda agregat oluşumuna daha nadir rastlanır (Tantra, Schulze ve Quincey,

2010, s. 279; Gökçe ve Özer, 2014, s. 81). Zeta potansiyel değeri 'zeta sizer' adı verilen cihaz ile ölçülür. Nanopartiküllerin kararlılık kriteri olan zeta potansiyel değerinin +30 mV'den daha yüksek ve -30 mV'den daha düşük değerde olması istenmez (Heurtault vd., 2003, s. 4296; Haider ve Mehdi, 2014, s. 382).

2.3.3.3. Yüzey morfolojisi

Hazırlanan nanopartikül sistemin parçacık boyut ve dağılımına ek olarak parçacıkların yüzey morfolojisi ve şekli de etkin madde salımı, dağılımı ve hedeflemede büyük rol oynar. İlaç taşıyıcı sistemlerin *in vivo* ortamdaki davranışı hücresel düzeyde makrofajların fagositoz mekanizmaları da dâhil olmak üzere şekli tarafından kontrol edilir. Ayrıca dolaşım sistemi içindeki akış, adhezyon ve *in vivo* dolaşım süresi ilaç taşıyıcı nanopartiküler sistemin şeklinden doğrudan etkilenir (Lin vd., 2014, s. 713)

Hazırlanan nanopartikül sistemlerin yüzey özelliği ve şeklinin araştırılmasında en yaygın kullanılan cihazlar SEM ve TEM'dir. Yüzey morfolojisi aynı zamanda yakın alan taramalı mikroskobu (SNOM), taramalı tünelleme mikroskobu (STM), atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ile de incelenmektedir (Lin vd., 2014, s. 714).

SEM, odaklanmış elektron demeti ile nanopartikül yüzeyini tarayarak görüntü oluşturan elektron mikroskobu türüdür. Elektronlar nanopartikül örneğindeki atomlarla etkileşerek, örnek şekli, morfolojisi ve bileşimi hakkında bilgi içeren farklı sinyaller üretir. Elektron demeti nanopartikül örneğinin yüzeyini tarar ve demetin konumu algılanan sinyalle eşleştirilerek görüntü oluşturulur. SEM ile 1 nm'den daha yüksek çözünürlüğe ulaşılabilir. Standart SEM cihazları yüksek vakum kullanarak kuru ve iletken yüzeyleri incelemek için uygundur. Ancak düşük vakumda, nemli koşulda (çevresel taramalı elektron mikroskobu), düşük sıcaklıktan yüksek sıcaklığa değişen koşulda çalışabilen özel cihazlar da geliştirilmiştir. SEM ile görüntü oluşturmak için en çok elektron demeti tarafından uyarılan nanopartikül örneğindeki atomların yaydığı ikincil elektronlardan yararlanır. Nanopartikül örneğinin farklı bölgelerinden kopan ikincil elektronların sayısındaki değişim öncelikle demetin yüzeye buluşma açısı yani yüzeyin morfolojisi ile ilişkilidir. İkincil elektronların yanısıra geri saçılan elektron (BSE), karakteristik X-ışını, ışık (katot ışını), örnek akımı ve aktarılan elektronlarla da çeşitli sinyaller elde edilerek örneklerde amaca uygun topografi ve kompozisyon analizi yapılmaktadır (Lin vd., 2014, s. 716).

2.3.3.4. Yapısal analiz

Polimerik nanopartiküllerin yapısal analizinde en çok tercih edilen teknikler termal analiz (TGA, DSC, vb.), X-ışını kırınımı (XRD), Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (FT-IR) ve nükleer manyetik rezonans'dır (NMR).

Birçok termal teknik kullanılarak termal kararlılık ve nanosistemin konjüгат miktarı değerlendirilebilir. Nanomadde örneğindeki sıcaklığa bağlı ağırlık değişimi aynen biyokonjüгatta olduğu gibi termal gravimetrik analiz (TGA) ile izlenebilir. Erime, kristalizasyon, camsı geçiş sıcaklığı, entalpi tayini, faz değişimi ve bozunma/ayrışma gibi özellikler ise diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi ile belirlenebilir. DSC analizi ayrıca nanosistemin yapı ve kararlılığı hakkında da bilgi verir (Kong ve Hay, 2002, s. 3873; Lin vd., 2014, s. 721). DSC analizinde örnek ısıtılırken, soğutulurken veya sabit sıcaklıkta tutulurken soğurulan veya salıverilen enerji miktarı ölçülür. Bu teknikte, referans ile örnekten gelen veya uzaklaşan ısı farkı sıcaklığa veya zamana bağlı olarak gösterilir. Cihazda örnek ve referans kısımları bulunmaktadır. Güç telafisi prensibiyle çalışan DSC'de örnek sıcaklığı ile referans sıcaklığı eşit düzeyde tutulur. Eğer örnek ile referans arasında sıcaklık farkı saptanırsa, sıcaklığı aynı tutmak için örneğe verilen enerji (güç) miktarı değiştirilir ve bu mekanizma ile örnekteki faz değişimi sırasında ortaya çıkan ısı transferi miktarı saptanır (http-4).

XRD analizi nanosistemin kristal ve amorf yapısının belirlendiğı ve ayrıca kararlılık hakkında bilgi verdiği için araştırmalarda sıklıkla kullanılan iyi tanımlanmış analiz yöntemidir (Sapsford vd., 2011, s. 4470). XRD, her bir kristalin fazın kendine özgü atom dizilişine bağlı olarak X-ışınına karakteristik düzen içinde kırması esasına dayanır. Her bir kristalin faz için belirlenen kırınım profili o yapı hakkında bilgi sunar. XRD yöntemi analiz sırasında örneğe zarar vermez ve çok az miktarda örneğin dahi analizinin yapılmasını sağlar (http-5).

Nanopartikül formülasyonunda etkin madde ile polimerin etkileşip etkileşmediğı ve yeni bağların oluşumu gibi özellikler FT-IR analizi ile saptanabilir (Shang vd., 2007, s. 2714-2715; Lin vd., 2014, s. 719). FT-IR, moleküllerdeki çeşitli bağların titreşim frekansını ölçerek moleküldeki fonksiyonel gruplar hakkında bilgi veren analiz türüdür. FT-IR ile bağların karakterizasyonu moleküler düzeyde yapılarak katı, sıvı veya gaz haldeki örneğin fonksiyonel grupları, saf olup olmadığı ve bağlanma durumu belirlenebilir.

NMR, nanopartikül formülasyon yapısının belirlenmesinde en çok kullanılan yöntemlerden biridir. NMR spektroskopisinde nanosistemlerin yapı, saflık, fonksiyonellik,

konformasyonel değişim, etkin madde-polimer etkileşimi gibi birçok fizikokimyasal özelliği belirlenebilir (Wang, Exarhos ve Liu, 1999, s. 1332-1333). NMR, atom çekirdeklerinin manyetik özelliğine bağlı bir fiziksel olgudur. NMR'nin çalışma ilkesi atom numarası ve/veya kütle numarası tek sayı olan atom çekirdeklerinin (^1H ve ^{13}C) dış manyetik alanın etkisi altındayken uygun radyo frekansında foton ile rezonansa gelmesine dayanır. NMR tekniği ile bileşikteki atomların bağlanma şekli ve kimyasal bağların niteliği gibi yapısal özelliklerin belirlenmesi olasıdır. Örnekler, manyetik alandan etkilenmeyen, dötero dimetilsülfoksit veya dötero kloroform gibi çözücüler kullanılarak hazırlanır.

2.3.3.5. Etkin madde yükleme ve yükleme kapasitesi

Nanopartikül sistemine etkin madde yüklemesinin başarılı olması için yükleme kapasitesinin yüksek olması istenir. Nanopartiküle etkin madde yüklemesi iki şekilde gerçekleşir. Bunlardan ilki etkin maddenin polimer ile kaplanması ya da birleşmesi yöntemi (*incorporation*), diğeri ise etkin maddenin polimer yüzeyine tutunmasıdır. İlaç yüklemesi ve yükleme etkinliği, katı haldeki etkin maddenin matris maddesi ya da polimer içindeki çözünürlüğü (çözünme ya da dispersiyon), polimer bileşimi, polimerin molekül ağırlığı, etkin maddenin polimer ile etkileşimi, polimerin sahip olduğu ester ya da karboksil grupları gibi fonksiyonel kısımların varlığı ile doğrudan ilişkilidir (Mohanraj ve Chen, 2006, s. 566; Singh ve Lillard, 2009, s. 217).

Yüklü nanopartiküllerin etkin madde yükleme kapasitesi genellikle yüzde enkapsülasyon etkinliği (% EE) şeklinde ifade edilir. % EE doğrudan ya da dolaylı olarak hesaplanır. Doğrudan hesaplama yönteminde nanopartiküle yüklenmeyen serbest etkin madde ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra nanopartikül yapısı bozulur ve enkapsüle edilen etkin madde miktarının tayininin ardından başlangıçta eklenen etkin madde miktarına göre yüzde hesaplama yapılır. Dolaylı hesaplama yönteminde ise nanopartikül formülasyonu hazırlandıktan sonra nanopartiküller ortamdan uzaklaştırılır ve ortamdaki serbest etkin maddenin tayini yapılır. Serbest etkin madde miktarı formülasyona eklenen ilaç miktarından çıkartılır ve dolaylı olarak yüklenmiş etkin madde miktarı hesaplanır (http-6; Bilensoy, 2014, s. 31)

2.3.3.6. Etkin madde salımı

Nanopartiküllerden etkin madde salımı sızma, aşınma, kopma-parçalanma ve difüzyon mekanizmaları ile gerçekleşir (Kaş, 2002, s. 85; Mudshinge vd., 2011, s. 130).

In vitro salım çalışması için geliştirilen birçok yöntem arasında yapay/biyolojik membrandan oluşan difüzyon hücresi kullanılan yöntem, difüzyon mekanizmasının olduğu diyaliz kesesi/tüpü kullanılarak yapılan diyaliz yöntemi ve çalkalamanın ardından santrifüj/ultrasantrifüj yöntemi vardır. Zamana bağlı olarak yapılan *in vitro* salım çalışmasında nanopartiküllerin planlanan örnek alma zamanında ortamdan alınması ve ayrıştırılması gibi teknik güçlükten dolayı nanopartiküllerin ortamdan uzaklaşmasını gerektirmeyen diyaliz yöntemi sıklıkla tercih edilir (Mohanraj ve Chen, 2006, s. 566; Singh ve Lillard, 2009, s. 218).

2.4. Katı Lipit Nanopartikül

KLN, 50-1000 nm parçacık boyutunda, biyoparçalanabilen/biyouyumlu ve oda/vücut sıcaklığında katı halde bulunan lipidin yüzey etkin madde yardımıyla kararlı hale getirildiği kolloidal ilaç taşıyıcı sistemdir. Kararlılık sorunu olan lipozom ve polimerik nanopartiküle alternatif ilaç taşıyıcı sistem olarak geliştirilmiştir (Müller, Mäder ve Gohla, 2000, s. 162-163).

2.4.1. Katı lipit nanopartikülün kullanım üstünlüğü

KLN'nin diğer kolloidal taşıyıcı sistemlere göre birçok üstünlüğü bulunmaktadır ve bunlar aşağıda sıralanmıştır (Mehnert ve Mäder, 2001 s. 167; Mehnert ve Mäder 2012, s. 84):

- Kontrollü etkin madde salımı ve etkin madde hedeflemeye olanak verir,
- Etkin madde kararlılığını yükseltir,
- Hem lipofilik hem de hidrofilik etkin madde yüklenebilir,
- Biyotoksositeye sahip değildir, akut ve kronik toksisite göstermez,
- Hazırlanmasında toksik özellik gösterebilen organik çözücü kullanılmasına gerek yoktur,
- Büyük ölçekli üretimi yapılabilir ve sterilizasyon koşulunda kararsızlık gibi soruna sahip değildir,
- Toplam üretim maliyeti diğer ilaç taşıyıcı sistemlere göre düşüktür.

2.4.2. Katı lipit nanopartikülün sakıncası

KLN'nin birçok üstünlüğünün yanısıra kullanımını sınırlayan bazı sakıncaları vardır. KLN'nin sakıncaları şu şekilde sıralanabilir (Garud, Singh ve Garud, 2012, s. 385):

- Düşük etkin madde yükleme kapasitesi,
- Saklama koşulunda etkin maddenin taşıyıcı dışına çıkması,
- Dispersiyonunun göreceli yüksek oranda (% 70-99.9) su içermesi.

2.4.3. Katı lipit nanopartikülün genel içeriği

KLN formülasyonları genel olarak katı lipit/lipitler, yüzey etkin madde, gerekiyorsa yardımcı yüzey etkin madde ve sudan oluşur. KLN'deki katı lipitler arasında trigliserit, gliserol hidroksil gruplarının sadece bir kısmının yağ asitleri tepkimesinden oluşan esterler (kısmi gliseritler), yağ asidi, steroid ve mum vardır. Lipit dispersiyonları kararlı hale getirmek için yükü ve moleküler ağırlığına bakılmaksızın tüm yüzey etkin madde grupları kullanılmıştır. Yüzey etkin madde gruplarının kombine olarak kullanıldığı durumda parçacık topaklaşmasının yüksek oranda engellenebileceği bulunmuştur (Mehnert ve Mäder, 2012, s. 85). Yaygın olarak kullanılan lipit çeşitleri Çizelge 2.6.'da, yüzey etkin madde ve yardımcı yüzey etkin madde çeşitleri ise Çizelge 2.7.'de verilmiştir.

Çizelge 2.6. KLN Formülasyonunda Sıklıkla Kullanılan Lipitler

Lipit
Trigliserit
<i>Trikaprin, Trilaurin, Trimiristin, Tripalmitin, Tristearin</i> <i>Hidrojenize koko-gliseridi (Softisan® 142)</i>
Katı yağ
<i>Witepsol® W 35, Witepsol® H 35, Witepsol® H 42, Witepsol® E 85</i> <i>Gliseril monostearat (Imwitor® 900), Gliseril dibehenat (Compritol® 888 ATO), Gliseril palmitostearat (Precirol® ATO 5)</i> <i>Setil palmitat, Stearik asit, Palmitik asit, Dekanoik asit, Behenik asit</i>

Kaynak: Mehnert ve Mäder, 2012, s. 86

Çizelge 2.7. KLN Formülasyonunda Sıklıkla Kullanılan Yüzey Etkin ve Yardımcı Yüzey Etkin Maddeler

Yüzey etkin ve yardımcı yüzey etkin madde
Soya lesitini (Lipoid® S 75, Lipoid® S 100)
Yumurta lesitini (Lipoid® E 100)
Fosfatidilkolin (Epikuron® 170, Epikuron® 200)
Poloksamer® 188, 182, 407
Poloksamin® 908
Tiloksapol
Polisorbat® 20, 60, 80
Sodyum kolat, Sodyum glikolat
Taurokolik asit sodyum tuzu
Taurodeoksikolik asit sodyum tuzu
Butanol
Butirik asit
Dioktil sodyum sülfosüksinat
Monooktilfosforik asit sodyum

Kaynak: Mehnert ve Mäder, 2012, s. 86

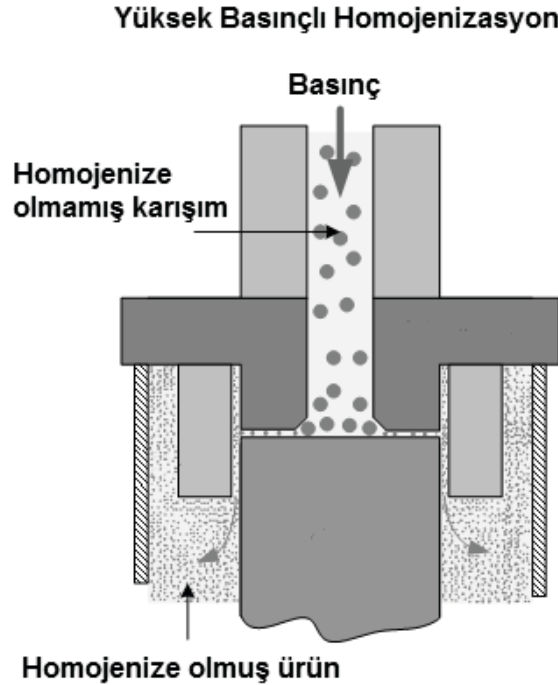
Compritol® 888 ATO, gliserol monobehenat (% 12-18 a/a), gliserol dibehenat (% 45-54 a/a) ve gliserol tribehenat (% 28-32 a/a) karışımından oluşan katı lipittir. Erime derecesi 69-74°C aralığındadır ve HLB değeri yaklaşık 2'dir. Fiziksel olarak ince beyaz toz ya da yarı-katı pellet halinde bulunur. Compritol® 888 ATO, etkin madde enkapsülasyonunda, tablet ya da kapsül formülasyonunda kaydırıcı olarak ve matris tablette sürekli salım sağlayan madde olarak kullanılır (Aburahma ve Badr-Eldin, 2014, s. 1866).

Dynasan® katı lipidi piyasada hazır olarak bulunan di- ve trigliseridin kimyasal karışımıdır. Dynasan® 114 (trimiristin, gliseril trimiristat) % 4-5 digliserit ve % 95 trigliserit karışımından oluşur. Fiziksel olarak ince beyaz toz halinde olan maddenin erime derecesi 55-58°C aralığındadır. Dynasan® 114 modifiye veya sürekli salım yapan ilaç taşıyıcı sistemde ve tablet ya da kapsül formülasyonunda kaydırıcı olarak kullanılır (Pandya vd., 2013, s. 4).

2.4.4. Katı lipid nanopartikül üretim tekniği

2.4.4.1. Yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi

KLN üretimi için kullanılan yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi etkin ve güvenilir teknik olarak ortaya çıkmıştır. Farklı boyutta ve uygun fiyatta bulunabilen homojenizatör ticari olarak kolaylıkla ulaşılabilir cihazdır. Yüksek basınçlı homojenizatör uygulanan sıvıyı 100-2000 bar gibi yüksek basınç ile birkaç mikron genişliğe sahip dar boşluklara iter. Sıvı homojenizatörde 1000 km/saat'ten yüksek hıza çok kısa sürede ulaşır. Çok yüksek kayma gerilimi ve kavitasyon kuvveti nedeniyle parçacıklar mikron-altı boyuta dönüştürülür. Homojenizasyon yöntemi ile KLN üretimi için kullanılan lipid miktarı % 5 ile % 10 arasında değişir (Mehnert ve Mäder, 2012, s. 85; Chaturvedi ve Kumar, 2012, s. 527). % 40 ve daha yüksek lipid içeriğine sahip olan karışımda homojenizasyon yöntemi nano-lipit dispersiyonuna dönüştürülür (Lippacher, Müller ve Mäder, 2000, s. 227). Homojenizasyon yöntemi Şekil 2.14.'de şematik olarak sunulmuştur.



Şekil 2.14. Yüksek Basınçlı Homojenizasyon Yöntemi ile KLN Üretimi

Kaynak: <http-7>

Homojenizasyon ile KLN üretimi için genel ve basit iki üretim tekniği 'Sıcak Homojenizasyon Yöntemi' ve 'Soğuk Homojenizasyon Yöntemi'dir (Müller vd., 1995, s. 62; Zur Mühlen, Schwarz ve Mehnert, 1998, s. 149).

2.4.4.1.1. Sıcak homojenizasyon yöntemi

Sıcak homojenizasyon yönteminde öncelikle lipit ve etkin madde lipidin erime derecesinden yaklaşık 5°C daha yüksek sıcaklıkta bir araya getirilir; etkin maddenin lipit içinde çözünmüş veya dağılmış karışımı elde edilir. Lipit-etkin madde karışımı aynı sıcaklığa getirilmiş sulu yüzey etkin madde çözeltisi ile birleştirilir. Oluşan sıcak ön-emülsiyon sıcaklık kontrolü altında yüksek basınçlı homojenizatörden geçirilir. KLN üretimi için genel olarak 500 bar basınç ve 3 döngü homojenizasyon yeterlidir. Elde edilen nanoemülsiyon oda sıcaklığına soğutularak KLN, nanoyapılı lipit taşıyıcı ve lipit-etkin madde konjüгатı elde edilir (Wissing, Kayser ve Müller, 2004, s. 1260; Ramteke, Joshi ve Dhole, 2012, s. 35).

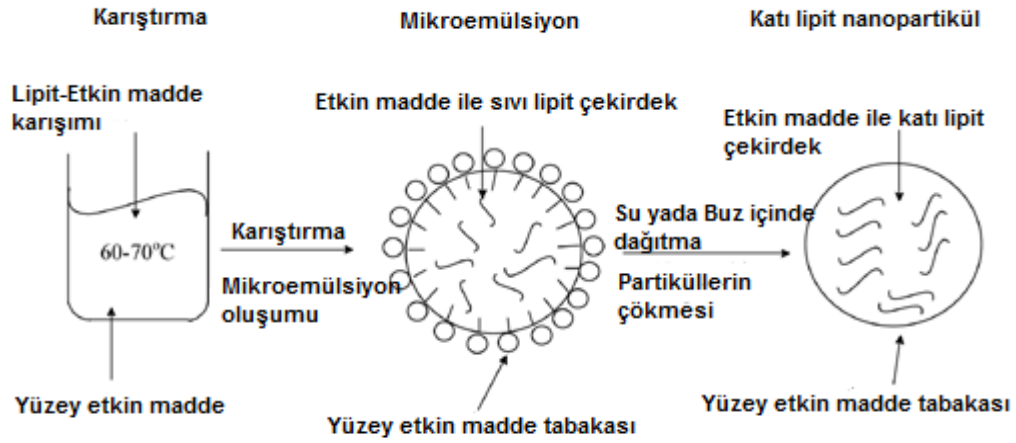
2.4.4.1.2. Soğuk homojenizasyon yöntemi

Soğuk homojenizasyon yöntemi sıcaklıktan etkilenen veya hidrofilik etkin maddenin KLN'sini hazırlamak için uygun bir yöntemdir. Bu teknikte öncelikle lipit ve etkin madde birlikte eritilir ve bu karışım sıvı azot altında hızlıca öğütülerek katı lipit mikropartikül elde edilir. Karışımın sulu yüzey etkin madde çözeltisi ile yüksek hızda karıştırılması sonucunda ön-süspansiyon elde edilir. Oluşan ön-süspansiyon oda sıcaklığında yüksek devirli homojenizatörden geçirilerek KLN, nanoyapılı lipit taşıyıcı ve lipit-etkin madde konjüгатı elde edilir. KLN üretimi için genel olarak 500 bar basınç ve 5 döngü homojenizasyon yeterlidir (Wissing, Kayser ve Müller, 2004, s. 1260; Ekambaram, Sathali ve Priyanka, 2011, s. 84).

2.4.4.2. Mikroemülsiyon yöntemi

'Sıcak mikroemülsiyon tekniği' olarak literatüre geçen mikroemülsiyon yöntemi araştırmacılar tarafından yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemine alternatif olarak düşünülmüştür (Fadda vd., 2013, s. 166). Mikroemülsiyon yöntemi ile içeriğinde yaklaşık % 10 erimiş lipit, % 15 yüzey etkin madde ve % 10'dan düşük miktarda yardımcı yüzey etkin madde bulunan mikroemülsiyon formülasyonu hazırlanır. Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonu soğuk su içerisine karıştırılarak aktarılınca sıcak-soğuk

etkileşiminden dolayı çökme olayı gerçekleşir. Çöktürmenin ardından fazla suyun ortamdan uzaklaştırılması için ultrafiltrasyon veya liyofilizasyon yöntemi kullanılır (Blasi vd., 2007, s. 460). Mikroemülsiyon yöntemi ile KLN üretimi Şekil 2.15.'de şematik olarak sunulmuştur.



Şekil 2.15. Mikroemülsiyon Yöntemi ile KLN Üretimi

Kaynak: Lason ve Ogonowski, 2011, s. 965

2.4.4.3. Çözücü emülsifikasyon ve buharlaştırma yöntemi

Bu yöntemde lipofilik madde öncelikle siklohekzan gibi su ile karışmayan organik çözücünde çözündürülür. Hazırlanan karışım sulu faz içinde emülsiyon haline getirilir. Organik çözücünün buharlaştırılmasının ardından lipidin sulu ortamda çökmesi sonucunda nanopartikül dispersiyonu oluşur. Bu yöntemin en önemli üstünlüğünden biri hazırlama sırasında sıcaklık uygulanmamasıdır. Yüksek sıcaklıkta kararsız olan etkin maddenin yüklenmesi için uygun yöntemdir. Yöntemin sakıncası ise organik çözücüye gereksinim duyulmasıdır (Gökçe ve Özer, 2014, s. 79).

2.4.4.4. Çözücü emülsifikasyon ve difüzyon yöntemi

Bu yöntemde, çözücü emülsifikasyon ve buharlaştırma tekniğinde olduğu gibi, lipid matris öncelikle su ile karışmayan organik çözücünde çözündürülüp sulu faz içinde emülsifiye edilir. Fazla miktarda suyun eklenmesinin ardından organik çözücünün emülsiyon damlacıklarından sürekli faza difüzyonu nedeniyle nanopartiküller çöker. Organik çözücünün düşük basınç altında buharlaştırılmasından sonra nanopartikül elde

edilir. Bu teknik ile elde edilen KLN'lerin ortalama parçacık boyutu organik faz içindeki lipit derişimine ve emülsiyon yapıcı varlığına göre değişir. Bu yöntem ile ortalama 30-100 nm parçacık boyutuna sahip KLN hazırlanır. Hazırlama prosesi içinde sıcaklık uygulaması bulunmaması bu yöntemin en önemli üstünlüğünden biridir (Trotta, Debernardi ve Caputo, 2003, s. 154).

2.4.4.5. Çözücü injeksiyon yöntemi

Çözücü injeksiyon yöntemi ile KLN üretiminde katı lipit su ile karışmayan organik çözücü içinde çözündürülür. Lipit-çözücü karışımı emülsiyon yapıcı içeren/içermeyen sulu faza karıştırılarak injekte edilir. Son olarak fazla lipiti dispersiyondan uzaklaştırmak için süzülür. Bu yöntemde sulu faza yapılan injeksiyon ile oluşan injeksiyon bölgesinde lipit damlacıklar oluşur. Çözücünün buharlaştırılmasının ardından KLN üretimi tamamlanır (Schubert ve Müller-Goymann, 2003, s. 125-126).

2.4.4.6. Su/yağ/su çoklu emülsiyon yöntemi

Çoklu emülsiyon tek aşamalı emülsifikasyon ve iki aşamalı emülsifikasyon olmak üzere iki temel yöntemle hazırlanır. Tek aşamalı yöntem ile su/yağ/su çoklu emülsiyon hazırlanması birçok çalışmada rapor edilmiştir. Tek aşamalı yöntemde hidrofilik yüzey etkin madde içeren sulu faz ve yüksek miktarda hidrofobik yüzey etkin madde içeren yağlı faz yüksek karıştırma hızı kullanarak karıştırılır. Öncelikle oluşan su/yağ tipi emülsiyon hızla su/yağ/su çoklu emülsiyonuna dönüşür (Sherman ve Parkinson, 1978, s. 10; Dokic ve Sherman, 1980, s. 1159). İki aşamalı yöntemde ise düşük HLB değerine sahip yüzey etkin madde ile sulu ve yağlı faz kullanılarak primer emülsiyon formülasyonu hazırlanır. Primer emülsiyon formülasyonu yüksek HLB değerine sahip sulu yüzey etkin madde çözeltisi içerisinde tekrar emülsifiye edilerek su/yağ/su çoklu emülsiyonu hazırlanır (Garti ve Bisperink, 1998, s. 658; Pal, 2008, s. 429). Emülsiyon oluştuktan sonraki aşamada çözücü uçurulmasının ardından KLN elde edilir. Bu yöntem ile KLN üretiminde etkin maddenin dış sulu faza göçünü engellemek için kararlılığı sağlayacak yüzey etkin madde kullanımı önemlidir (Garud, Singh ve Garud, 2012, s. 387).

2.4.4.7. Süperkritik sıvı teknoloji yöntemi

Süperkritik sıvı teknoloji yöntemi ile KLN üretimi diğer tekniklere göre daha yeni yöntemdir. Bir maddeye kritik sıcaklık ve kritik basıncın üzerinde uygulama yapıldığında

yeni bir bölge oluşur ve bu bölgeye süperkritik bölge, akışkana ise süperkritik akışkan denir. Akışkanın yeteneği içeriğindeki maddenin çözünürlüğünü artırır. Süperkritik sıvı teknolojisi ile KLN üretiminde, 'Süper Kritik Çözeltinin Hızlı Genleşmesi Yöntemi' (RESS- *Rapid Expansion of Supercritical Solution*), 'Gaza Doymuş Çözeltiden Parçacık Üretim Yöntemi' (PGSS- *Particles From Gas Saturated Solution*), 'Emülsiyonların Süperkritik Akışkan ile Ekstraksiyon Yöntemi' (SFEE- *Supercritical Fluid Extraction of Emulsions*) gibi farklı teknikler kullanılmaktadır. Bu tekniğin üstünlükleri arasında çözücü kullanımından kaçınılması, parçacıkların kuru toz halinde elde edilebilmesi ve düşük basınç ve sıcaklık kullanımı sayılabilir. Karbondioksit çözeltisinin bu teknik için iyi bir çözücü seçimi olduğu düşünülmektedir (Garud, Singh ve Garud, 2012, s. 386-387). Süperkritik sıvı teknolojisi yönteminde taşıyıcı madde ve etkin madde süperkritik akışkan içinde çözündürülür ve özel cihaz yardımıyla püskürtülür. Daha sonra çözücünün çözündürme kapasitesi düşürülerek parçacıkların çökmesi sağlanır (Bilensoy, 2014, s. 30).

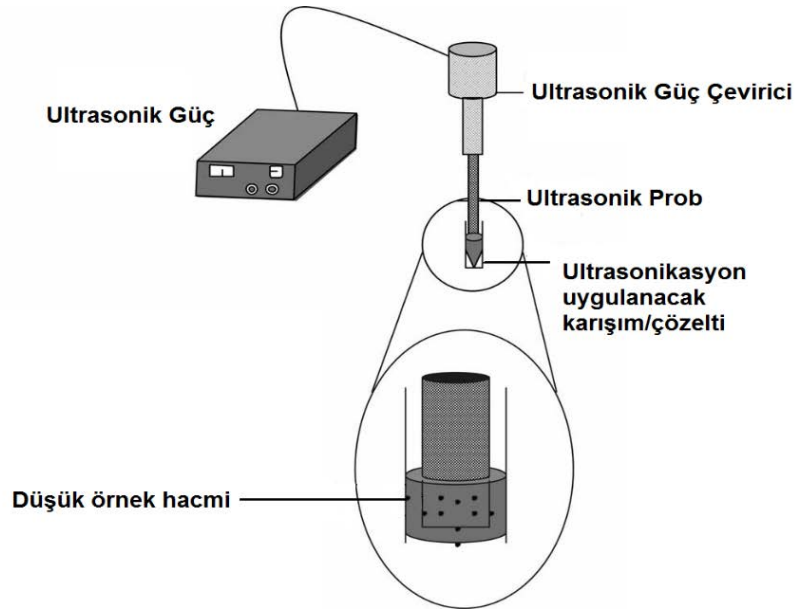
2.4.4.8. Püskürterek kurutma yöntemi

Püskürterek kurutma yöntemi kimya, gıda ve ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Liyofilizasyona alternatif bir yöntem olan püskürterek kurutma yöntemi üzerinde birçok araştırma yapılmıştır. Bu yöntem ile sıvı malzeme (çözelti, emülsiyon, vb.) sisteme verilerek tek basamaklı proses ile ince, havadaki toz ile kontamine olmamış, topaklanmamış ve hassas özelliğe sahip tozlar üretilebilir. Proses genel olarak dört işlemden oluşur: sprej şeklinde püskürtme, püskürtmenin hava ile teması, püskürtülen maddenin kuruması ve kuru ürünün gazdan ayrılması (Freitas ve Müller, 1998, s. 145).

2.4.4.9. Yüksek hızla karıştırma ve ultrasonikasyon yöntemi

Yüksek hızla karıştırma ve ultrasonikasyon yöntemleri KLN dispersiyonu hazırlanması için kullanılan birlikte veya ayrı ayrı uygulanabilen yöntemlerdir. Bu iki tekniğin de uygulanması yaygın ve kolaydır. Yüksek hızla karıştırmadaki sakınca parçacık boyutunun genel olarak mikro düzeyde elde edilmesidir; bu durum ultrasonikasyon ile çözülebilir (Mehnert ve Mäder, 2012, s. 85). Yüksek hızla karıştırma ve ultrasonikasyon yöntemi, lipit ve etkin maddenin lipitin erime derecesinden 5-10°C daha yüksek sıcaklıkta eritilmesi ve aynı sıcaklığa getirilmiş sulu yüzey etkin madde çözeltisi ile karıştırılması esasına dayanır. Yüksek hızlı karıştırıcılar 20.000-24.000 devir/dakika aralığında çalışmaktadır (Gökçe ve Özer, 2014, s. 78).

Ultrasonikasyon cihazları temel olarak üç sınıfa ayrılır: ultrasonik banyo cihazı, prob ultrasonikasyon cihazı ve sonoreaktör cihazı. Prob ultrasonikasyon cihazı temel olarak Şekil 2.16.'da sunulan kısımlardan oluşmaktadır. Prob ultrasonikasyon cihazının ultrasonik banyodan en temel farkı çözelti veya karışım ile doğrudan temas etmesidir. Prob sonikasyonda farklı prob uçları kullanılabilir; bunlar, silika cam prob, spiral prob, çoklu probdur (Santos ve Capelo, 2007, s. 796).



Şekil 2.16. Prob Sonikasyon Cihazı

Kaynak: Bermejo vd., 2004, s. 659

2.4.5. Katı lipid nanopartikülün liyofilizasyonu

Liyofilizasyon (dondurarak kurutma) KLN'lerin fiziksel ve kimyasal kararlılığını arttırmak için kullanılan önemli bir yöntemdir. Katı şekle dönüşüm ile parçacık büyümesi ve hidroliz reaksiyonu engellenebilir (Mehnert ve Mäder, 2001, s. 178). Liyofilizasyon KLN'lerin pellet, tablet ya da kapsül halinde verilmesine de olanak sağlar. Liyofilizasyon işlemi sırasında parçacık boyutunun artmasını engellemek için formülasyon hazırlarken lipid içeriğin % 5 oranını geçmemesine dikkat edilmelidir. KLN'lerde agregat oluşumuna engel olmak ve iyi dağılım elde etmek için kriyoprotektan madde eklenmesi gerekir (Gökçe ve Özer, 2014, s. 81).

2.4.6. Katı lipit nanopartikül karakterizasyonu

2.4.6.1. Parçacık boyutu ve dağılımı

KLN'lerin fiziksel kararlılığı parçacık boyutuna bağlı olarak değişebilir. Foton korelasyon spektroskopisi (PCS) ve lazer kırınım (LD) tekniği parçacık boyutunun aydınlatılmasında kullanılan en güvenilir yöntemlerdir. Dinamik ışık saçılımı olarak da bilinen foton korelasyon spektroskopisi tekniğinde parçacıkların hareket etmesinden kaynaklanan ve saçılan ışığın yoğunluğunun dalgalanması ölçülür. PCS ve LD tekniğinin ikisi de ışığın dağılımına bağlı olarak parçacık boyutunu hesaplar. PCS ile 3 nm-3 µm aralığında ölçüm yapılabilirken, LD ile 100 nm-180 µm aralığında analiz yapılabilir (Garud, Singh ve Garud, 2012, s. 387).

2.4.6.2. Zeta Potansiyel

KLN'lerin zeta potansiyel ölçümü zeta potansiyel analiz cihazı ya da zetametre ile yapılabilir. KLN dispersiyonu örneğinin zeta potansiyel ölçümünü yapmak için orijinal dispersiyon ortamı ile 50 kat seyreltme gereklidir. Yüksek zeta potansiyel değerine sahip sistemde parçacıkların dispersiyon ortamında birbirini itmesinden dolayı agregat oluşumu daha az görülür. Zeta potansiyel ölçümü saklama koşulundaki kararlılık araştırmasında önemli bilgi sunar (Garud, Singh ve Garud, 2012, s. 388).

2.4.6.3. Kristal yapı, lipit modifikasyonu ve kolloidal yapının değerlendirilmesi

Parçacık boyutu ve zeta potansiyel ölçümü KLN'lerin karakterizasyonu için çok önemlidir ancak KLN kalitesi hakkında tek başına bilgi sunamaz. Lipit kristalizasyon derecesi ve lipit modifikasyonun karakterizasyonu özellikle dikkat edilmesi gereken parametrelerdir. Bu iki parametre etkin madde yükleme ve salım oranı ile doğrudan ilişkilidir. Lipidin durumunun incelenmesinde DSC ve XRD analizi yaygın olarak kullanılır. DSC ölçümü ile lipit modifikasyonu, farklı erime noktaları ve entalpi belirlenebilir. XRD analizi ile de lipit yapısındaki uzun ve kısa boşluklar aydınlatılabilir (Mehnert ve Mäder 2012, s. 92; Surender ve Deepika, 2016, s. 111). Ayrıca, DSC ve XRD ile etkin maddenin fiziksel durumu ve aynı zamanda yerleşimi saptanabilir. Etkin maddenin formülasyonda kullanılan lipidin kristal özelliğine etkisi XRD ile incelenebilir (Numanoğlu ve Tarımcı, 2006, s. 219). Lipitlerin yapısal özelliklerini incelemek için FT-IR ve Raman spektroskopisi kullanılır (Müller, Mäder ve Gohla, 2000, s. 168). NMR analizi de kolloidal

yapının fizikokimyasal yapısının hem nitel hem de nicel olarak değerlendirilmesini sağlar (Garud, Singh ve Garud, 2012, s. 388).

2.4.6.4. Etkin madde yükleme ve yükleme kapasitesi

Yenilikçi ve başarılı ilaç taşıyıcı sistem yüksek etkin yükleme kapasitesine sahip olmalı ve aynı zamanda hapsedilen etkin maddeyi uzun süre yapısında tutabilmelidir (Wissing, Kayser ve Müller, 2004, s. 1263). KLN'lere etkin madde yüklenmesi üç model şeklindedir: katı çözelti modeli, etkin madde bakımından zengin çekirdek modeli ve etkin madde bakımından zengin kabuk modeli (Üner ve Yener, 2007, s. 290). Bu modeller Şekil 2.17.'de şematik olarak sunulmuştur.



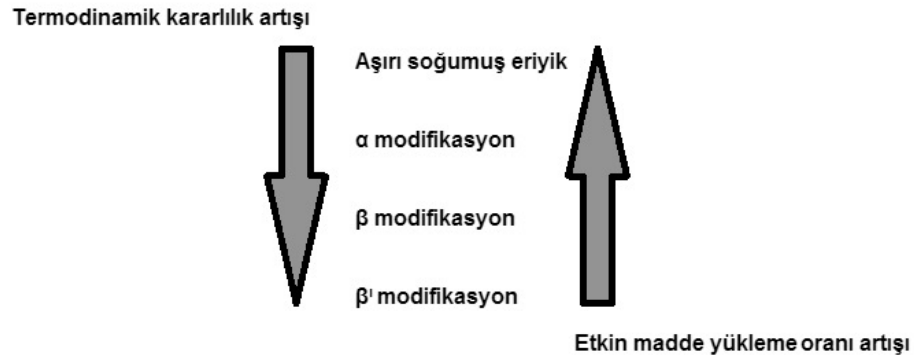
Şekil 2.17. Etkin Madde Yüklü KLN Modelleri

Kaynak: Wissing, Kayser ve Müller, 2004, s. 1264

Etkin maddenin lipit içine yüklenmesine çeşitli etmenler etki eder. Etmenler arasında etkin maddenin erimiş lipitteki çözünürlüğü, etkin madde eriyiğinin erimiş lipit ile karışımı, lipit matrisin fiziksel ve kimyasal yapısı ve lipitin polimorfik yapısı bulunmaktadır. Yüksek yükleme kapasitesi elde edebilmek için ön koşul etkin maddenin erimiş lipit içinde yüksek çözünürlüğe sahip olmasıdır. Erimiş lipidin soğutulması sırasında etkin maddenin çözünürlüğü azaldığından formülasyona çözünürlük artırıcı madde eklenir (Müller, Mäder ve Gohla, 2000, s. 164). Etkin madde, etkin madde-lipit oranına ve çözünürlüğe bağlı olarak parçacıkların çekirdeğinde veya kabuğunda lokalize veya matris yapı içinde moleküler olarak disperse olabilir. Bu durum etkin madde salımını doğrudan etkiler. Hapsedilen etkin madde lipit tabakaları arasında, yağ asidi zincirleri arasında ve/veya kristal kafesteki kristalce eksik bölgede bulunabilir. Eğer lipit yüksek derecede düzenli kristal kafes yapısına sahipse, yüksek miktarda etkin maddenin yerleşmesi mümkün olmaz. Lipit matris benzer moleküllerden oluşuyorsa (tristearin,

tripalmitin, vb.), kristal kafeste az sayıda kristalce eksik bölge oluşur. Bu nedenle, mono-, di- ve trigliseritlerin karışımı olan ve farklı zincir uzunluğuna sahip yağ asidi içeren daha karmaşık yapıli lipitlerin kullanılması ile pek çok kristalce eksik bölgesi olan ve daha az mükemmel kristaller oluşur. Böylece, etkin maddenin yerleşmesi için daha çok alanın ortaya çıkmasıyla daha yüksek etkin madde yüklemesi sağlanır (Numanoğlu ve Tarımcı, 2006, s. 220).

Lipitler termodinamik olarak α , β ve β' modifikasyon şeklinde bulunabilir (Müller, Mäder ve Gohla, 2000, s. 164). Modifikasyona göre termodinamik kararlılık ve etkin madde yükleme kapasitesi Şekil 2.18.'de sunulmuştur.



Şekil 2.18. Lipit Modifikasyonu ve Termodinamik Kararlılık-Etkin Madde Yükleme Oranı Değişimi

Kaynak: Müller, Mäder ve Gohla, 2000, s. 168

KLN üretiminden sonra, kristal kafeste daha çok eksiklik bölgesine sahip olan ve daha yüksek enerjili rekristalizasyon α polimorfunda olur. Saklama sırasında β şekline polimorfik geçiş olursa, daha kararlı polimorfların artmasıyla kristalce eksik bölgenin sayısı azalır ve kristal kafes daha mükemmel hale gelir. Yani, daha kararlı polimorfların oluşumu etkin maddenin lipit matristen sızmasına yol açar (Müller, Mäder ve Gohla, 2000, s. 165; Numanoğlu ve Tarımcı, 2006, s. 220)

2.4.6.5. Etkin madde salımı

Etkin maddenin katı lipide yüklenmesi için katı çözelti modeli, etkin madde bakımından zengin çekirdek modeli ve etkin madde bakımından zengin kabuk modeli kullanılır.

Hiçbir yüzey etkin veya etkin madde çözünürlüğünü arttırıcı madde kullanmadan soğuk homojenizasyon yöntemi ile hazırlanan KLN'de etkin maddenin lipit içinde moleküler olarak dağıldığı katı çözelti modelinde matris yapı elde edilir. Bu sistemde etkin madde lipit ile güçlü etkileşim içindedir (Üner ve Yener, 2007, s. 290-291).

Etkin madde erimiş lipit içinde doyumluk sağlayacak kadar çözünürlük gösterdiğinde etkin madde bakımından zengin çekirdek modeli elde edilir. Sıcak homojenizasyon yöntemi kullanarak hazırlanan nanoemülsiyon soğutulurken sıvı lipit içinde yüksek oranda etkin madde doyumluğu ve sonrasında etkin madde kristalizasyonu/çökmesinin ardından lipit kristalizasyonu gerçekleşir. Formülasyonun daha fazla soğutulması sonucunda etkin maddece zengin çekirdeği kabuk gibi çevreleyen lipit rekristalize olur. Artan difüzyon aralığı ve çekirdek maddeyi çevreleyen katı lipit kabuk nedeniyle sürekli salım sağlanabilir (Ekambaram, Sathali ve Priyanka, 2011, s. 90-91).

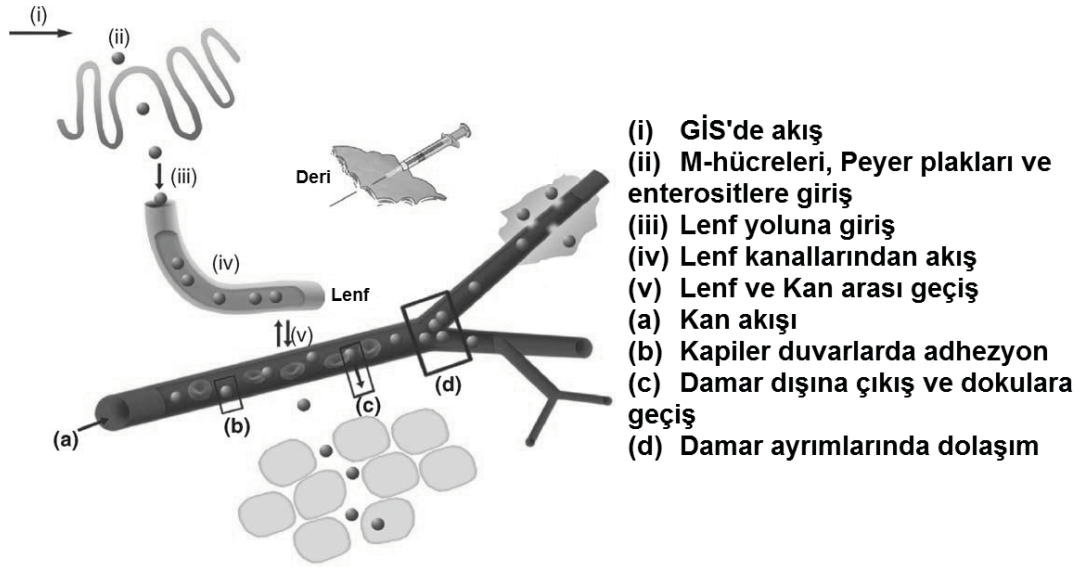
Etkin maddenin lipitteki derişimi doyumluk çözünürlüğünün çok daha altında iken formülasyonun sıcak homojenizasyon yöntemi ile üretilmesi durumunda öncelikle etkin madde sulu fazda dağıtılır. Soğutma sırasında ilk önce lipit kristalize olur. Etkin madde sıvı lipit faza geri döner ve KLN'nin sıvı olan lipit dış kabuğunda konsantre hale gelir. Sonuç olarak etkin maddece zengin kabuk kristalize olur. Dış kabuktaki etkin madde salımı patlama etkisi (*burst effect*) gösterir. KLN çekirdeğinde hapsedilen etkin madde patlama etkisinin ardından uzatılmış salım sağlar. Patlama etkisinin derecesi formülasyon üretimi sırasında etkin maddenin sulu fazdaki çözünürlüğü ile kontrol edilebilir. Daha yüksek sıcaklık ve daha yüksek yüzey etkin madde oranı patlama etkisini artırır (Müller, Mäder ve Gohla, 2000, s. 165).

Salım çalışması yapılırken karşılaşılan en büyük sorun ani salım etkisidir. Salımı etkileyen en temel parametreler yüzey etkin madde derişimi, lipidin yapısı ve sıcaklık gibi üretim parametreleridir. Kolloidal yapıya sahip olan KLN'lerden etkin madde salımının belirlenmesinde süzme, santrifüj ya da diyaliz gibi yöntemler kullanılır (Gökçe ve Özer, 2014, s. 83).

2.6. Nanotaşıyıcıların Oral Olarak Kullanılması

İlaçların oral yoldan verilışı özellikle yaşlı hasta grubu tarafından en kolay kabul edilen ve bu nedenle en çok uygulanan yoldur. Oral ilaç şeklin tasarım maliyeti sterilizasyon gibi işlemlere gerek kalmadığı için diğer yollarla kullanılan sistemlere göre göreceli daha düşüktür. Oral yoldan uygulanan etkin maddenin çözünürlük, kararlılık ve

biyoyararlanımının artırılması açısından mikro- ve nanoboyuttaki ilaç taşıyıcı sistemlerin kullanılması önem kazanmıştır. Oral yoldan kullanılabilecek nanotaşıyıcı sistemler arasında nanopartikül, polimerik misel, kendiliğinden emülsifiye olan sistem, nanokristal, nanosüspansiyon, dendrimer ve lipozom bulunmaktadır (Yun, Cho ve Park, 2013, s. 823; Acartürk, 2014, s. 227). Oral yoldan uygulanan nanotaşıyıcı sistemin gastrointestinal (GI) kanaldaki yolculuğu Şekil 2.19.'da özetlenmiştir.



Şekil 2.19. Partiküler Sistemlerin Gastrointestinal Sistemde Taşınması

Kaynak: Florence, 2005, s. 77

Nanopartiküllerin oral uygulamasının ardından hücre içine alımı ve translokasyonunda nanopartiküle ait özellikler rol oynar. Ufak parçacık boyutuna sahip özellikle 1 μm 'den düşük olanların hücre içine alımı iri parçacıklara göre daha fazladır. 3 μm 'den daha iri parçacıklar hücre içine peyer plaklarından alınır; ayrıca iri parçacıkların hücre içine alımında lenfatik nodlar süzgeç rolü oynar. Yüklü parçacıklar hücre içine alınabilir ancak alım oranı iyonik olmayan hidrofobik parçacıklara göre daha düşüktür. Yüzey modifikasyonu yapılarak vücutta gideceği yere özgü ligand bağlanan parçacıkların hücre içine alım oranı çok yüksek olur (Florence, 2005, s. 76). Ayrıca nanotaşıyıcının şekli ve esnekliği, barsaktaki fiziksel kararlılığı, nanotaşıyıcı ve etkin maddenin kimyasal kararlılığı, GI kanaldan geçiş süresi, barsak içeriği ile etkileşim, mukus tabakasından taşınma ve epitel yüzeyine adhezyon gibi etmenler nanotaşıyıcıların *in vivo* ortamdaki davranışını etkiler (Acartürk, 2014, s. 230).

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

<u>Madde adı</u>	<u>Firma adı</u>
2-Propanol	: Sigma-Aldrich, Almanya
Asetonitril	: Sigma-Aldrich, Almanya
Compritol® ATO 888	: Gattefosse, Fransa
Deksketoprofen trometamol	: Abdi İbrahim, Türkiye
Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)	: Sigma-Aldrich, Almanya
Dimetilsülfoksit (DMSO)	: Merck, Almanya
Dötero kloroform	: Merck, Almanya
Dynasan® 114	: Sasol, Almanya
Eudragit® RL 100	: Degussa Röhm Pharma Polymers, Almanya
Eudragit® RS 100	: Degussa Röhm Pharma Polymers, Almanya
Fötal sıgır serumu (FBS)	: Sigma-Aldrich, Almanya
Kollidon® SR	: BASF, Almanya
Metanol	: Merck, Almanya
MTT boyası	: Applichem, Almanya
Penisilin/Streptomisin	: Gibco, İngiltere
Potasyum fosfat monobazik	: Sigma-Aldrich, Almanya
Sodyum hidroksit	: Sigma-Aldrich, Almanya
Sodyum klorür	: Merck, Almanya
Tripsin EDTA	: Sigma-Aldrich, Almanya
Tween® 80	: Sigma-Aldrich, Almanya

3.2. Kullanılan Cihazlar

<u>Cihaz adı</u>	<u>Firma adı</u>
Buzdolabı	: Arçelik, Türkiye
Derin dondurucu	: Liebherr Medline, LGEX 3410, Almanya
Diferansiyel taramalı kalorimetri	: Shimadzu DSC-60, Japonya
Dissolüsyon cihazı	: PharmaTest PTWS 820D, Almanya
Distile su cihazı	: MilliQ Millipore, Fransa
Etüv	: Nüve, FN 500, Türkiye
Hassas terazi	: Mettler AM 100, Amerika
İnfrared spektrofotometresi	: Shimadzu IR-Prestige-21, Japonya
Kararlılık kabini	: Meter D96R, Türkiye
Karbondioksitli etüv	: BINDER, Almanya
Kondüktometre	: Hanna Instruments HI8820, Portekiz
Liyofilizatör	: Scanvac CoolsafePro Labogene, Danimarka
Manyetik karıştırıcı	: Jeiotech MS-53M, Güney Kore
Mikrosantrifüj	: Eppendorf Centrifuge 5417R, Almanya
Mikropipet seti	: Eppendorf, Almanya
NMR spektrofotometresi	: Ultra Shield CP MAS NMR, Almanya
Otoklav	: Hirayama HVE 50, Japonya
Parçacık boyutu analiz cihazı	: Zetasizer Nano Series, İngiltere
pH metre	: WTW Profi Lab. pH 597, Almanya
Plaka okuyucu	: Cytation 5 Biotek, Amerika
Prob sonikatör	: Sonics, Amerika

Püskürterek kurutma cihazı	: Nano Spray-Dryer B-90, Büchi, İsviçre
Santrifüj	: Nüve NF400, Türkiye/ Eppendorf 5810, Almanya
Steril kabin	: Biowizard Xtraline 130, Blue Series, Finlandiya
Su banyosu	: GFL, Tissue float bath 1052, Almanya
Taramalı elektron mikroskobu	: FESEM SUPRATM 50 VP, Almanya
Ultrasonik banyo	: Elma T470/H, Singen, Almanya
Ultrasonik banyo	: Wisd Laboratory Instruments, WUC-A03H, Kore
Vorteks karıştırıcı	: Jeiotech VM96B, Kore
X-Işını kırınım cihazı	: XRD-Rikagu Rint 2000, Japonya
YBSK kolonu	: NUCLEODUR, Almaya
Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi	: Shimadzu 20-A, Japonya
Zeta potansiyel analiz cihazı	: Zetasizer Nano Series, İngiltere

4. YÖNTEMLER

4.1. Deksketoprofen Trometamol ve Yardımcı Maddeler ile Yapılan Çalışmalar

DT'nin, PNP formülasyonunda polimer olarak kullanılacak olan Kollidon® SR, Eudragit® RS 100, Eudragit® RL 100'ün ve KLN formülasyonunda kullanılacak olan Dynasan® 114 ve Compritol® ATO 888'in saflığını ve kalitesini belirlemek üzere karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

4.1.1. Termal analiz

Maddelerin termal analizi DSC (Schimadzu DSC-60, Japonya) cihazı ile basınç yardımıyla kapatılmış alüminyum örnek kabı, 50 mL·dk⁻¹ azot gazı akış hızı ve 30-300°C aralığında 10°C·dk⁻¹ sıcaklık artışı kullanılarak alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiştir.

4.1.2. X-ışını kırınımı

Maddelerin XRD analizinde 2-40° aralığında, 40 kV voltaj, 30 mA akım şiddeti, 2 θ açısı ve 2°dk⁻¹ ilerleme hızında Rikagu jeneratör (XRD Rikagu Rint 2000, Japonya) kullanılmıştır.

4.1.3. İnfrared (FT-IR)

Maddelerin IR analizi FT-IR (Schimadzu IR Prestige-21, Japonya) cihazı kullanılarak 4000-500 cm⁻¹ dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir.

4.1.4. Nükleer manyetik rezonans (NMR)

Maddelerin dötero kloroform (CDCl₃) içinde çözündürülerek hazırlanan çözeltisinin NMR analizi (¹H-NMR) NMR (Bruker 500 MHz UltraShield NMR, Almanya) cihazı kullanılarak yapılmıştır.

4.1.5. Parçacık Şekli ve yüzey özelliği

Maddelerin parçacık Şekli ve yüzey özelliği karbon bandı üzerine yayılıp altın ile kaplandıktan sonra SEM (Zeiss Ultra Plus Fesem, Almanya) cihazı ile belirlenmiştir.

4.2. Deksketoprofen Trometamol Miktar Tayini için Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

İn vitro çalışmalarda DT'nin miktar tayini yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Literatür araŐtırması ve yapılan denemeler sonrasında, Archana ve Vikas'ın (2013, s. 395) alıŐması modifiye edilmiş, karar verilen ve analiz çalışmalarında kullanılan YBSK'nin çalışma koşulları izelge 4.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi alıŐma Koşulları

Cihaz	Shimadzu-20 A
Kolon	EC 4.6 x 250 mm NUCLEODUR C ₁₈ Gravity, 5 µm
Fırın Sıcaklığı	30°C
Hareketli Faz	Asetonitril-Metanol (25:75)
Dedektör	Floresan Dedektör
Çalışılan Dalga Boyu	258 nm
Akış Hızı	1 mL·dk ⁻¹
İnjesiyon Hacmi	25 µL

4.2.1. Analitik miktar tayini için validasyon alıŐması

Analitik yöntem validasyonunun temel hedefi kullanılacak yöntemin amacına uygunluğunu kanıtlamaktır. Bu amaçla kullanılan test yönteminin doğruluk ve güvenilirlik parametreleri verilerle kanıtlanarak gösterilmektedir. Miktar tayini validasyonunda doğrusallık, kesinlik, doğruluk, duyarlılık ve seçicilik parametreleri esas alınmış ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bu alıŐmada, Uluslararası Harmonizasyon Kongresi'nin 'Analitik İŞlem Validasyon Yöntemi' kullanılmıştır (ICH, 2014, s. 1-13).

4.2.1.1. Doğrusallık

Analitik yöntemin doğrusallığı, analizi yapılan maddenin farklı derişimdeki örneklerinin elde edilen pik alanı ile belirli derişim aralığında doğru orantılı olmasıdır. Doğrusallık çalışmasında, analit derişiminin fonksiyonu olarak sinyal elde edilir. Bu teste ait değerlendirme regresyon analizi ve istatistiksel yöntemle yapılır. Doğrusallığın belirlenmesi için en az 5 derişimde çalışılması önerilmektedir.

YBSK yönteminde kullanılacak olan DT'e ait standart eğrinin bulunabilmesi amacıyla stok çözelti hazırlanmıştır. Stok çözelti, tam olarak tartılmış 100 mg DT'nin hareketli faz ile yıkanarak balon jojeye alınıp hareketli faz ile 100 mL hacme tamamlandıktan sonra 10 dk ultrasonik banyoda tutulması ile elde edilmiştir. Stok çözeltinin derişiminin $1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ olmasından hareketle çeşitli seyreltmeler yapılarak $10\text{-}80 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ aralığında yedi farklı derişimde çözelti hazırlanmıştır. Analiz sonucunda yedi nokta için DT derişimine karşılık gelen alan değeri saptanmıştır. Her test 6 kez tekrarlanmıştır.

4.2.1.2. Kesinlik

Kesinlik, tekrarlanabilirlik, ara kesinlik ve tekraredeedilebilirlik parametreleri ile belirlenmektedir.

Tekrarlanabilirlik, aynı işlem koşullarında ve kısa zaman aralığındaki kesinliği ifade eder. Yöntemin tekrarlanabilirliği aynı stok çözeltisi kullanılarak hazırlanan örneklerin alan ölçümünün tekrarlanması ile elde edilir. Bu işlem 6 kez tekrarlanarak veya 3 farklı derişimde 3er kez tekrarlanarak yapılır.

Ara ürün kesinliği birbiri ile ilişkisi bulunmayan durumların analitik yöntemin kesinliği üzerine etkisini ifade eder. Değişkenler arasında gün, analist, kullanılan malzeme ve farklı laboratuvarlarda bulunan ve analizde kullanılan cihazın (YBSK cihazı, UV spektrofotometre cihazı, vb.) marka ve modeli bulunur.

Tekrareldeedilebilirlik ise analiz ve deneylerin farklı laboratuvarlarda tekrarlandığında sonuçlar arasındaki kesinliğin gösterilmesidir. Yöntemin standardizasyonu için genellikle farklı kuruluşlar ile ortak çalışma yapılır. Tekrareldeedilebilirlik zorunlu olmayan validasyon parametresidir.

Yöntemin kesinlik çalışmasında, tekrarlanabilirliğini göstermek için kalibrasyon aralığına denk gelen 3 farklı derişimde ($25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $75 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) DT çözeltisi hazırlanmış ve her bir derişim için ölçüm 6 kez tekrarlanmıştır.

4.2.1.3. Doğruluk

Doğruluk, kullanılan analitik yöntem ile elde edilen deney sonuçlarının gerçek değerlere olan yakınlığıdır. Doğruluk çalışması, 3 farklı derişimde hazırlanan çözeltinin analizinin en az 3 kez tekrar edilmesi şeklinde gerçekleştirilir. Sonuçlar % verim ve her seri için bağıl standart sapma olarak verilir.

Bu çalışmada doğruluğun belirlenebilmesi için 3 farklı derişimde ($20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $40 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) DT içeren çözelti hazırlanmıştır. Her bir çözelti için analiz 6 kez tekrarlanmıştır.

4.2.1.4. Duyarlılık

Kullanılan analitik yöntemin düşük derişimleri saptayabilme yeteneğidir. Saptama sınırı (LOD) ve miktar tayini sınırı (LOQ) hesaplanarak değerlendirilir.

LOD, standart madde sinyalinin arka plan gürültüsünden ayrılabilmesi için gerekli olan en düşük madde miktarı olarak tanımlanır. Yöntemin aletli olup olmamasına bağılı olarak LOD değerinin belirlenmesinde birçok yöntem kullanılabilir. Yöntemler arasında görsel değerlendirme, sinyal-gürültü oranı ve elde edilen cevabın ve eğimin standart sapması bulunmaktadır.

Sistemin kantitatif sınır içerisine girmeyen en düşük derişimi olan saptama sınırı LOD değeri Eşitlik 1 yardımıyla hesaplanır (ICH, 2014, s. 11).

$$\text{LOD} = \frac{3.3 \times \text{SS}}{m}$$

Eşitlik 1

Eşitlik 1'deki SS y eksen kesim noktasının standart sapması, m ise korelasyon eşitliğinin eğimidir.

LOQ, standart maddenin güvenilir şekilde doğru ölçümünün yapılabilmesi için gerekli olan en düşük madde miktarıdır. LOD değerinin belirlenmesi için kullanılan yöntemler LOQ içinde uygulanabilir.

Analizi yapılan örneğin kabul edilebilir düzeyde kesin ve doğru olarak miktarının belirlenebildiği LOQ değeri Eşitlik 2 kullanılarak hesaplanır (ICH, 2014, s. 12).

$$LOQ = \frac{10 \times SS}{m}$$

Eşitlik 2

Eşitlik 2'deki SS y eksenini kesim noktasının standart sapması, m ise korelasyon eşitliğinin eğimidir.

4.2.1.5. Seçicilik

Analitik yöntemin yalnızca amaçlanan bileşeni tayin edebilme yeteneğidir. Tek bir bileşen için yapılan ölçüm ortamda bulunabilecek diğer bileşenlerden (yardımcı madde, biyolojik örnekteki endojen bileşik, etkin maddenin metaboliti, degradasyon ürünü gibi) kaynaklanabilecek girişimden etkilenmemelidir. Seçicilik karmaşık örnek karışımının analizinde girişim derecesinin de ölçüsüdür.

Bu çalışmadaki yöntemin seçiciliği için etkin maddesiz analiz ve etkin madde miktar tayininde kullanılan çözücüler kullanılmıştır. Seçicilik çalışmasında DT dışında diğer bütün bileşenleri içeren PNP ve KLN formülasyonları hazırlanmıştır. Bu formülasyonlardan alınan örnekler miktar tayini çalışmasında kullanılan basamaklardan geçirilmiş, elde edilen kromatogramlardan formülasyondaki diğer bileşenlerin girişiminin DT'nin seçiciliğine etkisi değerlendirilmiştir.

4.3. Çalışma Koşulunda Kararlılık

4.3.1. Formülasyon hazırlama koşulunda kararlılık

PNP ve KLN hazırlama koşullarında kararlılık incelenmesi, '4.2. Deksketoprofen Trometamol Miktar Tayini için Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi' bölümünde anlatıldığı şekilde DT miktarının belirlenmesine dayanarak yapılmıştır.

PNP hazırlanması sırasında püskürterek kurutma cihazının giriş sıcaklığı 120°C olarak ayarlanmıştır. Çözeltinin iğne bölümünden geçişinde sıcaklık 100°C olmuştur.

PNP hazırlama koşulunda DT'nin kararlılığını test etmek için öncelikle DT metanol içinde çözülmüş ve sıkıca kapatılmış reaksiyon şişesine alınmıştır. Ultrasonik banyoda 100°C'de 1 saat süresince bekletilmiş ve YBSK ile miktar tayini yapılmıştır (n=3).

KLN hazırlanmasında önceden belirlenen % 60 güçte prob sonikasyonu 5 dk olarak uygulanmıştır. DT'nin Compritol® 888 ATO, Dynasan® 114 ve distile su içindeki çözeltisi ayrı ayrı hazırlanmış ve % 60 güçte prob sonikasyonunun 5 dk uygulanmasının ardından YBSK ile miktar tayini gerçekleştirilmiştir (n=3).

4.3.2. Etkin madde miktar tayini analizi için örnek hazırlama koşulunda kararlılık

Etkin maddenin kararlılığı DT'nin formülasyolardan ekstraksiyonunda kullanılan distile su, 2-propanol ve hareketli faz içinde 15 dk ultrasonikasyon altında incelenmiş ve miktar tayini YBSK ile yapılmıştır (n=3).

4.3.3. *In vitro* salım ortamı koşulunda kararlılık

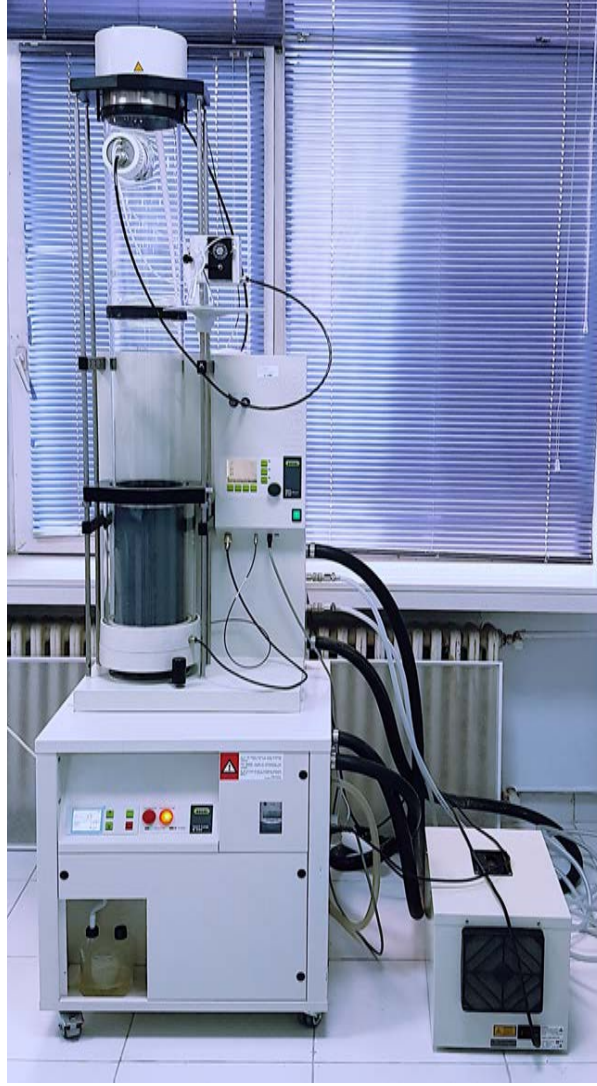
Etkin maddenin kararlılığı *in vitro* salım ortamı PBS'de (pH 7.4) ve 37°C'de *in vitro* salım çalışması süresi olan 48 saat boyunca incelenmiş ve miktar tayini YBSK ile gerçekleştirilmiştir (n=3).

4.4. PNP Hazırlanması

4.4.1. PNP ön formülasyon çalışması

Bu çalışmada nano boyutta parçacık elde edilmesi amaçlandığından, farklı polimer, polimer oranı ve çözücü kullanılarak püskürterek kurutma yöntemi ile formülasyon denemeleri yapılmıştır.

Püskürterek kurutma çözücünün sistemden uçurulması ve böylece nanopartikül elde edilmesini sağlayan yaygın bir yöntemdir. Püskürterek kurutma yöntemi kaliteli, düşük maliyetli ve kuru toz halinde PNP elde edilebildiği için bu çalışmada tercih edilmiştir (Kumar, 2014, s. 4). Görsel 4.1.'de çalışmada kullanılan *Nano Spray-Dryer B-90* cihazı sunulmuştur



Görsel 4.1. Nano Spray-Dryer B-90 Cihazı

DT yüklü Kollidon® SR, Eudragit® RS 100 ve Eudragit® RL 100 PNP formülasyonları püskürterek kurutma yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Yöntem koşulları ve polimer-etkin madde oranları değiştirilmiş ve elde edilen formülasyonlarda parçacık boyutu ve zeta potansiyel ölçümü yapılarak optimum formülasyonlar belirlenmiştir.

Çözücü miktarını belirleme çalışmasında, öncelikle Kollidon® SR'nin 50 mL metanol içindeki çözeltisi cihaza uygulandığında çözeltinin yüksek viskozitesi nedeniyle düzgün atomizasyon sağlanamamış ve püskürtme gerçekleşmemiştir. Bu sorun çözücü miktarı iki katına çıkarılarak çözülmüştür. Diğer polimerler ile yapılan önformülasyon çalışmasında farklı çözücüler ile deneme yapılmış ve en iyi ürünler 100 mL metanol içinde çözündürülen DT ve polimer ile elde edilmiştir.

4.4.2. Kollidon® SR nanopartikülünün hazırlanması

Etkin maddesiz formülasyonun hazırlanması için tam olarak tartılmış (1 g) Kollidon® SR, metanol içinde 250 rpm hızda 30 dk süresince manyetik karıştırıcıda çözündürülmüş ve polimer çözeltisi elde edilmiştir. Etkin maddeli formülasyonun hazırlanması için tam olarak tartılmış (1 g) Kollidon® SR, metanol içinde 250 rpm hızda 30 dk süresince manyetik karıştırıcıda çözündürülmüştür. Çözelti elde edildikten sonra DT eklenmiş ve 250 rpm karıştırma hızında 5 dk daha karıştırılmıştır. Çözelti cihaza verilmeden önce cihazın, püskürtme, pompa düzeyi, giriş sıcaklığı, çıkış sıcaklığı, gaz akışı ve ortam sıcaklığı gibi parametreler açısından istenen düzeyde koşullandırılması için 30 dk metanol kullanılarak çalıştırılmıştır. İstenen koşullar sağlandıktan sonra çözelti 120°C giriş sıcaklığı ve 54°C çıkış sıcaklığına koşullandırılmış nano-püskürterek kurutma cihazına (*Nano Spray-Dryer B-90, BÜCHI, İsviçre*) peristaltik pompa ile verilmiş ve 4 µm gözenek çaplı iğne ile kurutma bölgesine gönderilmiştir. Kuruyan nanopartiküller cihazın özel elektrostatik etkisi ile toplama çemberinde toplandıktan sonra sistem açılmış ve ürün özel plastik apareyle toplanmıştır. Püskürterek kurutma yönteminin koşulları Çizelge 4.2.'de, formülasyon içeriğinin oranları ise Çizelge 4.3.'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.2. Kollidon® SR ile Hazırlanan PNP Formülasyonunun Püskürterek Kurutma Koşulu

Giriş Sıcaklığı	Çıkış Sıcaklığı	Pompa Düzeyi	Püskürtme Düzeyi
120°C	54°C	3	% 100

Çizelge 4.3. Kollidon® SR ile Hazırlanan PNP Formülasyonunun İçerik Oranı

Kod	Kollidon® SR (g)	DT (g)	Metanol (mL)
KSR-Plasebo	1	-	100
KSR-1	1	0.05	100
KSR-2	1	0.10	100
KSR-3	1	0.15	100

Plasebo: Etkin maddesiz formülasyon

4.4.3. Eudragit® RS 100 nanopartikülünün hazırlanması

Etkin maddesiz formülasyonun hazırlanması için tam olarak tartılmış (1 g) Eudragit® RS 100, metanol içinde 250 rpm hızda 30 dk süresince manyetik karıştırıcıda çözündürülmüş ve polimer çözeltisi elde edilmiştir. Etkin maddeli formülasyonun hazırlanması için tam olarak tartılmış (1 g) Eudragit® RS 100, metanol içinde 250 rpm hızda 2 saat süresince manyetik karıştırıcıda çözündürülmüştür. Çözelti elde edildikten sonra DT eklenmiş ve 250 rpm karıştırma hızında 5 dk daha karıştırılmıştır. Çözelti cihaza uygulanmadan önce cihazın, püskürtme, pompa düzeyi, giriş sıcaklığı, çıkış sıcaklığı, gaz akışı ve ortam sıcaklığı gibi parametreler açısından istenen düzeyde koşullandırılması için 30 dk metanol kullanılarak çalıştırılmıştır. İstenen koşullar sağlandıktan sonra çözelti 120°C giriş sıcaklığı ve 54°C çıkış sıcaklığına koşullandırılmış nano-püskürterek kurutma cihazına (*Nano Spray-Dryer B-90, BÜCHI, İsviçre*) peristaltik pompa ile verilmiş ve 4 µm gözenek çaplı iğne ile kurutma bölgesine gönderilmiştir. Kuruyan nanopartiküller cihazın özel elektrostatik etkisi ile toplama çemberinde toplandıktan sonra sistem açılmış ve ürün özel plastik apareyle toplanmıştır. Püskürterek kurutma koşulları Çizelge 4.4'.de, formülasyon içeriğinin oranları da Çizelge 4.5.'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Eudragit® RS 100 ile Hazırlanan PNP Formülasyonunun Püskürterek Kurutma Koşulu

Giriş Sıcaklığı	Çıkış Sıcaklığı	Pompa Düzeyi	Püskürtme Düzeyi
120°C	54°C	3	% 100

Çizelge 4.5. Eudragit® RS 100 ile Hazırlanan PNP Formülasyonunun İçerik Oranı

Kod	Eudragit® RS 100 (g)	DT (g)	Metanol (mL)
ERS-Plasebo	1	-	100
ERS-1	1	0.05	100
ERS-2	1	0.1	100
ERS-3	1	0.15	100

Plasebo: Etkin maddesiz formülasyon

4.4.4. Eudragit® RL 100 nanopartikülünün hazırlanması

Etkin maddesiz formülasyonun hazırlanması için tam olarak tartılmış (1 g) Eudragit® RL 100, metanol içinde 250 rpm hızda 30 dk süresince manyetik karıştırıcıda çözündürülmüş ve polimer çözeltisi elde edilmiştir. Etkin maddeli formülasyonun hazırlanması için tam olarak tartılmış (1 g) Eudragit® RL 100, metanol içinde 250 rpm hızda 2 saat süresince manyetik karıştırıcıda çözündürülmüştür. Çözelti elde edildikten sonra DT eklenmiş ve 250 rpm karıştırma hızında 5 dk daha karıştırılmıştır. Çözelti cihaza verilmeden önce cihazın, püskürtme, pompa düzeyi, giriş sıcaklığı, çıkış sıcaklığı, gaz akışı ve ortam sıcaklığı gibi parametreler açısından istenen düzeyde koşullandırılması için 30 dk metanol kullanılarak çalıştırılmıştır. İstenen koşullar sağlandıktan sonra çözelti 120°C giriş sıcaklığı ve 54°C çıkış sıcaklığına koşullandırılmış nano-püskürterek kurutma cihazına (*Nano Spray-Dryer B-90, BÜCHI, İsviçre*) peristaltik pompa ile verilmiş ve 4 µm gözenek çaplı iğne ile kurutma bölgesine gönderilmiştir. Kuruyan nanopartiküller cihazın özel elektrostatik etkisi ile toplama çemberinde toplandıktan sonra sistem açılmış ve ürün özel plastik apareyle toplanmıştır. Püskürterek kurutma koşulları Çizelge 4.6.'da, formülasyon içeriğinin oranları da Çizelge 4.7.'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.6. Eudragit® RL 100 ile Hazırlanan PNP Formülasyonunun Püskürterek Kurutma Koşulu

Giriş Sıcaklığı	Çıkış Sıcaklığı	Pompa Düzeyi	Püskürtme Düzeyi
120°C	54°C	3	% 100

Çizelge 4.7. Eudragit® RL 100 ile Hazırlanan PNP Formülasyonunun İçerik Oranı

Kod	Eudragit® RL 100 (g)	DT (g)	Metanol (mL)
ERL-Plasebo	1	-	100
ERL-1	1	0.05	100
ERL-2	1	0.1	100
ERL-3	1	0.15	100

Plasebo: Etkin maddesiz formülasyon

4.4.5. PNP özelliklerine ait çalışma

Etkin madde içermeyen plasebo PNP formülasyonu ve etkin madde içeren PNP formülasyonunun karakterizasyon çalışması yapılmıştır.

4.5.5.1. Parçacık boyutu ve dağılımı

Hazırlanan PNP formülasyonunun parçacık boyutu ve dağılımı formülasyon NaCl ile 50 μ S iletkenlik değerine ayarlanan distile suda dağıtılarak ölçülmüştür. Parçacık boyutu ve dağılımı ölçümünde Zetasizer Nano ZS (Malvern, İngiltere) cihazı kullanılmıştır.

4.4.5.2. Zeta potansiyel

Hazırlanan PNP formülasyonunun zeta potansiyel değeri Zetasizer Nano ZS (Malvern, İngiltere) cihazı kullanılarak, tek kullanımlık katlanmış kılcal zeta hücresinde, 25°C oda sıcaklığında ve formülasyon distile su ile seyreltilerek belirlenmiştir. Distile sudaki iletkenliğin neden olabileceği küçük değişimlerin ölçüm sonucunu etkilememesi amacıyla ölçümden önce kullanılan distile suyun iletkenliği NaCl ile 50 μ S'e ayarlanmıştır. 50 μ S'e ayarlanma nedeni cihazın bu özellikteki suya kalibre olmasıdır.

4.4.5.3. Parçacık şekli ve yüzey özelliği

Taze hazırlanan PNP formülasyonunun parçacık şekli ve yüzey özelliği formülasyonun karbon bandı üzerine yayılıp altın ile kaplanmasının ardından SEM (Zeiss Ultra Plus Fesem, Almanya) cihazı ile incelenmiştir.

4.4.5.4. Termal analiz

PNP formülasyonunun termal analizi DSC (Schimadzu DSC-60, Japonya) cihazı kullanılarak, basınç yardımıyla kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL.dk⁻¹ azot gazı akış hızında ve 30-300°C aralığında 10°C·dk⁻¹ sıcaklık artışı ile alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiştir.

4.4.5.5. X-Işını kırınımı

PNP formülasyonunun XRD analizi 2-40° aralığında, 40 kV voltaj, 30 mA akım şiddeti, 2 θ açısı ve 2°dk⁻¹ ilerleme hızında Rikagu jeneratör (XRD Rikagu Rint 2000, Japonya) yardımıyla yapılmıştır.

4.4.5.6. İnfrared (FT-IR)

PNP formülasyonunun FT-IR spektrumu FT-IR (Schimadzu IR Prestige-21, Japonya) cihazı kullanılarak 4000-500 cm⁻¹ dalga boyu aralığında saptanmıştır.

4.4.5.7. Nükleer manyetik rezonans (NMR)

Dötero kloroform (CDCl₃) içinde çözündürülerek hazırlanan PNP formülasyonunun NMR analizi (¹H-NMR), NMR (Bruker 500 MHz UltraShield NMR, Almanya) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4.4.5.8. Formülasyonda etkin madde miktar tayini

Hazırlanan PNP formülasyonunda etkin madde miktar tayini '4.2. Deksketoprofen Trometamol Miktar Tayini için Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi' bölümünde anlatıldığı şekilde DT miktarının belirlenmesine dayanmaktadır.

Kollidon® SR ile hazırlanan PNP formülasyonunda yüzeyde kalan etkin madde miktar tayini için DT'nin çözündüğü ancak Kollidon® SR'nin çözünmediği çözücü olarak 2-propanol kullanılmıştır (Bühler, 2008, s. 255). Çalışmada tam olarak tartılmış 5 mg KSR-1 formülasyonu 2.5 mL'lik Eppendorf tüpüne alınmış ve üzerine 2-propanol'dan 2 mL eklenmiştir. Ultrasonik banyoda 5 dk tutulduktan sonra 11.000 rpm hız ile 5 dk süresince santrifüj edilerek üstte kalan saydam kısım alınmış ve örnek çalışmalarda sıklıkla kullanılan poliamit süzgeçten süzülerek gerekli seyreltmelerin ardından analiz edilmiştir. Dipte kalan parçacık üzerine DT ve Kollidon® SR'nin çözünmediği çözücü olan hareketli fazdan 2 mL eklenmiş, 5 dk ultrasonik banyoda tutularak çözelti elde edilmiş ve poliamit süzgeçten süzülerek gerekli seyreltmelerin ardından hapsedilen etkin madde miktarı belirlenmiştir. Deney her formülasyon için 3 kez tekrarlanmıştır. Aynı prosedür kullanılarak KSR-2 ve KSR-3 formülasyonu için de etkin madde miktar tayini gerçekleştirilmiştir.

Eudragit® RS 100 ile hazırlanan PNP formülasyonunda yüzeyde kalan etkin madde miktar tayini için DT'nin çözündüğü ancak Eudragit® RS 100'ün çözünmediği çözücü olarak distile su kullanılmıştır (http-8). Çalışmada tam olarak tartılmış 5 mg ERS-1 formülasyonu 2.5 mL'lik Eppendorf tüpüne alınmış ve üzerine 2 mL distile su eklenmiştir. Ultrasonik banyoda 5 dk tutulduktan sonra 11.000 rpm hız ile 5 dk süresince santrifüj edilerek üstte kalan saydam kısım alınmış ve örnek poliamit süzgeçten süzülerek gerekli seyreltmelerin ardından analiz edilmiştir. Dipte kalan parçacık üzerine DT ve Eudragit® RS 100'ün çözünmediği çözücü olan hareketli fazdan 2 mL eklenmiş, 5 dk ultrasonik banyoda tutularak saydam çözelti elde edilmiş ve poliamit süzgeçten süzülerek gerekli seyreltmelerin ardından hapsedilen etkin madde miktarı belirlenmiştir. Deney her formülasyon için 3 kez tekrarlanmıştır. Aynı prosedür kullanılarak ERS-2 ve ERS-3 formülasyonu için de etkin madde miktar tayini belirlenmiştir.

Eudragit® RL 100 ile hazırlanan PNP formülasyonu ERL-1'de etkin madde miktarı tayini için Eudragit® RS 100'e uygulanan prosedürün aynısı uygulanmıştır. Uygulama ERL-2 ve ERL-3 formülasyonunda tekrar edilmiştir.

Yükleme etkinliği çalışması ve hesabı Khoshneviszadeh vd.'nin (2016, s. 24) yaptığı çalışmada kullandığı yöntem ve eşitlik ile gerçekleştirilmiştir. Yükleme etkinliğini hesaplamak amacıyla Eşitlik 3 kullanılmıştır.

$$\% \text{ Yükleme etkinliği} = \frac{(\text{Formülasyondaki etkin madde derişimi}) - (\text{Süpernatandaki etkin madde derişimi})}{(\text{Formülasyondaki etkin madde derişimi})} \times 100$$

Eşitlik 3

Etkin madde miktar tayini çalışmasında kullanılan poliamit süzgeç için 0.05 µg.mL⁻¹, 0.10 µg.mL⁻¹ ve 0.15 µg.mL⁻¹ derişiminde DT içeren çözeltiler hazırlanarak % geri kazanım miktarı belirlenerek süzgeç adsorpsiyon testi yapılmıştır.

4.4.5.9. *In vitro* salım çalışması

In vitro çözünme/salım testi nanopartiküler sistemin ürün kalitesini ve performansını öngörmek açısından önemlidir. Aynı zamanda ürün geliştirme prosesine yardımcı olur. Farmakope ve düzenleyici yasal belgede bu karmaşık sistem için *in vitro* çözünme/salım testi henüz var olmamakla birlikte geliştirilme aşamasındadır.

Nanopartiküler sistemin salım testinde öncelikli yaklaşım, var olan farmakope sistemlerinin çalışmaya uygun olarak düzenlenmesidir (Shen ve Burgess, 2013, s. 412).

Membran difüzyon yöntemi (dializ yöntemi) nanopartiküler sistem için yaygın olarak kullanılan *in vitro* salım testidir. Dializ yöntemi aynı zamanda lipozom, emülsiyon sistem, PNP ve KLN için de yaygın olarak kullanılır. Bu yöntemde nanopartiküler sistem, salım ortamından dializ membranı ile ayrılır ve membran etkin maddeye geçirgen iken nanopartikül yapısına geçirgen değildir. Dializ yöntemlerinden biri olan dializ kesesi yönteminde nanopartikül sistemi dializ kesesine yerleştirilir ve iki ucu bağlanarak salım ortamına atılır. Salım çalışmasında genellikle vücut sistemini simüle eden manyetik karıştırıcı ve çalkalamalı su banyosu gibi cihazlar kullanılır. Dializ kesesi yöntemi aynı zamanda farmakopelerde verilen yöntemle kombine edilerek yöntem geliştirilebilir ve kullanılabilir (Shen ve Burgess, 2013, s. 410).

Dializ kesesi yönteminde birçok üstünlük bulunurken, dikkat edilmesi gereken en önemli konulardan biri *sink* koşulunun sağlanmasıdır. *Sink* koşulunun sağlanması en basit tanımıyla etkin maddenin çözünme ortamında hangi zaman aralığında olursa olsun maksimum derişime ulaşmasını engellemek veya etkin maddenin çözünme ortamı içinde doygun çözelti oluşturarak daha fazla çözünmesini engellemek anlamına gelir (Rohrs, 2001, s. 3).

Çözünebilen etkin madde miktarını arttırabilmek için salım ortamının hacminin artırılması iyi bir çözüm sunar; sorun çözülemez ise salım ortamı değiştirilir (Rohrs, 2001, s. 1).

DT'nin PNP formülasyonundan salımında sink koşul 100 mL PBS (pH 7.4), $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ sıcaklık ve 100 rpm karıştırma hızı kullanılarak sağlanmıştır. 1 g etkin maddenin 10 mL çözünme ortamında çözünen DT gibi serbest çözünebilir (tuz formu) etkin maddelerin sink koşulu kolayca sağlanabilmektedir. pH 7.4 ortamının seçilme nedeni etkin maddenin spesifikasyon bilgilerinde belirtildiği ve nanotaşıyıcıların oral emiliminde öngörü sunduğu içindir. Öncelikle 1 mg DT içeren polimerik nanopartikül selüloz asetat dializ torbasına dikkatli şekilde yerleştirilmiş ve ardından üzerine 1 mL salım ortamı eklenerek sıkıca sızdırmayacak şekilde kapatılmıştır. Hazırlanan membran sistemi $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 'de ve 100 rpm'de sürekli karışan salım ortamı içeren reseptör kompartıman içine alınmıştır. Reseptör kompartımandan salım ortamının buharlaşmasını engellemek için, salım ortamı kapatılmıştır. 5. dk, 10. dk, 15. dk, 30. dk ve 1. saat, 2. saat, 3. saat, 4. saat, 5. saat, 6. saat, 7. saat, 8. saat, 12. saat, 24. saat ve 48. saatte reseptör kompartımandan 1 mL hacminde örnek alınmış ve eksilen miktar salım ortamı ile tamamlanmıştır (Yong vd., 2014, s. 2-5; Demir, 2014, s. 154; Kumar, 2014, s. 131-132;

Aydoğan, 2015, s. 7). Örneklerdeki DT miktarı ‘4.2. Deksketoprofen Trometamol Miktar Tayini için Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi’ bölümünde anlatıldığı şekilde saptanmıştır. Farklı zamanlarda salınan DT derişimini kullanarak hesaplanan % kümülatif DT salımı zamana karşı grafiğe geçirilerek salım profili oluşturulmuştur. Her bir PNP formülasyonu için deney 6 kez tekrarlanmıştır. Görsel 4.2.’de yüzen diyaliz torbalarının bulunduğu *in vitro* salım çalışmasına ait görüntü sunulmuştur.



Görsel 4.2. *In Vitro* Salım alışması

4.5. Toz DT ve Ticari Preparat Olan Rastel[®] Tablet’e ait Salım alışması

Toz DT’nin salımında sink koşul 100 mL PBS (pH 7.4), $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ sıcaklık ve 100 rpm karıştırma hızı kullanılarak sağlanmıştır. Öncelikle 1 mg DT selüloz asetat diyaliz torbasına dikkatli şekilde yerleştirilmiş ve ardından üzerine 1 mL salım ortamı eklenerek sıkıca sızdırmayacak şekilde kapatılmıştır. Hazırlanan membran sistemi $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ’de ve 100 rpm’de sürekli karışan salım ortamı içeren reseptör kompartman içine alınmıştır. Reseptör kompartımından salım ortamının buharlaşmasını engellemek için, salım ortamı kapatılmıştır. 5. dk, 10. dk, 15. dk, 30. dk ve 1. saat, 2. saat, 3. saat, 4. saat, 5. saat, 6. saat, 7. saat, 8. saat, 12. saat, 24. saat ve 48. saatte reseptör kompartmandan

1 mL hacminde örnek alınmış ve eksilen miktar salım ortamı ile tamamlanmıştır (Yong vd., 2014, s. 2-5; Demir, 2014, s. 154; Kumar, 2014, s. 131-132; Aydoğan, 2015, s. 7).

Rastel® tabletin salım çalışmasında Amerikan Farmakope'sinde verilen palet yöntemi (Apparatus 2) uygulanmıştır (USP 31 NF 26, 2008, s. 267-269). Çalışmada etkin maddenin spesifikasyonunda belirtilen 1000 mL PBS (pH 7.4), $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve 50 rpm karıştırma hızı kullanılmıştır. 5. dk, 10. dk, 15. dk, 30. dk ve 1. saat, 2. saat, 3. saat, 4. saat, 5. saat, 6. saat, 7. saat, 8. saat, 12. saat, 24. saat ve 48. saatte alınan 5 mL örnekteki DT miktarı, '4.2. Deksketoprofen Trometamol Miktar Tayini için Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi' bölümünde anlatıldığı şekilde saptanmıştır (Demir, 2014, s. 154; Yong vd., 2014, s. 2-5). Rastel® Tablet için yapılan dissolüsyon çalışması 6 tablet için tekrarlanmıştır.

4.6. KLN Hazırlanması

4.6.1. DT'nin katı lipitte çözünürlük çalışması

Önformülasyon çalışmasından önce hidrofilik etkin maddenin katı lipite yüklenmesinin ön koşulu olan lipit içinde çözünmesi veya dağılması araştırılmıştır. Her biri 1.5 gram Dynasan® 114, Compritol® ATO 888 ve stearik asit beyaz kapaklı saydam cam şişelere alınmıştır. Cam şişenin içerisine tam olarak tartılmış 0.5 gram DT eklenmiş ve manyetik karıştırıcıda lipitin erime derecesinin $5-10^{\circ}\text{C}$ üzerine ısıtılmıştır. Manyetik karıştırıcı; Dynasan® 114 için 70°C , Compritol® ATO 888 için 82°C ve stearik asit için 80°C olarak ayarlanmıştır. Çözünme/süspansiyon olma durumu organoleptik açıdan değerlendirilerek görüntüleri alınmıştır (Shah vd., 2007, s. 164).

4.6.2. KLN ön formülasyon çalışması

Bu çalışmada nanoboyutta parçacık elde edilmesi amaçlandığından, farklı katı lipit ve yüzey etkin madde, farklı katı lipit-yüzey etkin madde oranı ve farklı güçte prob sonikasyon kullanılarak formülasyon denemeleri yapılmıştır. KLN önformülasyon ve optimum formülasyon çalışması Siddiqui vd.'nin (2014, s. 343) modellediği sonikasyon çalışmasının geliştirilmesi ve modifiye edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Görsel 4.3.'te prob sonikasyon kullanılarak KLN formülasyonu üretimine ait görüntü sunulmuştur.



Görsel 4.3. *Prob Sonikasyon Cihazı ile Formülasyon Hazırlanması*

Önformülasyon çalışmasına % 10 Dynasan® 114, % 10 Tween® 80 ve % 80 oranında distile su içeren formülasyon ile başlanmıştır. Öncelikle katı lipid beherde erime derecesinin 10°C üzerinde sıcaklığa ısıtılmış ve aynı sıcaklıktaki yüzey etkin madde içeren sulu faz ile karıştırılmıştır. 10'ar gram hazırlanan iki formülasyondan birine 5 dk % 60 güçte prob sonikasyon diğerine ise 10 dk % 60 güçte prob sonikasyon uygulanmıştır. Hazırlanan iki formülasyon ikiye eşit iki kısma bölünmüş ve ardından biri oda sıcaklığında diğeri ise buz içinde soğutulmuştur. Sonuç olarak 2 farklı prob sonikasyon koşulu ve 2 farklı soğutma tekniği ile 4 farklı formülasyon elde edilmiştir. Dört formülasyonun parçacık boyutu ve zeta potansiyel ölçümü yapıldığında optimum KLN formülasyonunun 5 dk % 60 güçte sonikasyon uygulaması ile ve oda sıcaklığında soğutarak hazırlanmasına karar verilmiştir.

Yöntem koşullarına karar verildikten sonra farklı oranda katı lipid, yüzey etkin madde ve distile su içeren formülasyonlar hazırlanmıştır. Dynasan® 114 içeren KLN'nin önformülasyon çalışmasında denenen formülasyon oranları Çizelge 4.8.'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Dynasan® 114 İçeren KLN Önformülasyon Çalışmasındaki Formülasyon

Dynasan® 114 (% a/a)	Tween® 80 (% a/a)	Distile su (% a/a)
10	10	80
10	9	81
10	8	82
10	7	83
10	6	84
10	5	85
9	10	81
9	9	82
9	8	83
9	7	84
9	6	85
9	5	86
8	10	82
8	9	83
8	8	84
8	7	85
8	6	86
8	5	87
7	10	83
7	9	84
7	8	85
7	7	86
7	6	87
7	5	88
5	5	90
5	4	91

Çizelge 4.8. (Devam) Dynasan® 114 İçeren KLN Önformülasyon Çalışmasındaki Formülasyon

5	3	92
5	2	93
5	1	94

Tüm formülasyonlar hazırlandıktan sonra parçacık boyutu ve zeta potansiyel ölçümü yapılmış ve optimum etkin maddesiz (plasebo) formülasyon oranlarına karar verilmiştir. Optimum plasebo formülasyon oranları Çizelge 4.9.'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Dynasan® 114 İçeren Optimum Plasebo KLN Formülasyonu

Dynasan® 114 (% a/a)	Tween® 80 (% a/a)	Distile Su (% a/a)
5	5	90
5	4	91

Compritol® ATO 888 ile yapılan önformülasyon çalışması yukarıda Dynasan® 114 için bahsedilen yöntemin aynısı kullanılarak yapılmıştır. Optimum formülasyonun 5 dk % 60 güçte sonikasyonun ardından oda sıcaklığında soğutma yapılarak hazırlanmasına karar verilmiştir.

Compritol® ATO 888 içeren KLN önformülasyon çalışmasında denenen formülasyon oranları Çizelge 4.10.'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Compritol® ATO 888 İçeren KLN Önformülasyon Çalışmasındaki Formülasyon

Compritol® ATO 888 (% a/a)	Tween® 80 (% a/a)	Distile su (% a/a)
10	10	80
10	9	81
10	8	82

Çizelge 4.10. (Devam) Compritol® ATO 888 İçeren KLN Önformülasyon Çalışmasındaki Formülasyon

10	7	83
10	6	84
10	5	85
9	10	81
9	9	82
9	8	83
9	7	84
9	6	85
9	5	86
8	10	82
8	9	83
8	8	84
8	7	85
8	6	86
8	5	87
7	10	83
7	9	84
7	8	85
7	7	86
7	6	87
7	5	88
5	5	90
5	4	91
5	3	92
5	2	93
5	1	94

Hazırlanan önformülasyonların parçacık boyutu ve zeta potansiyel ölçümünün ardından karar verilen optimum etkin maddesiz formülasyon (plasebo) oranları Çizelge 4.11.'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Compritol® ATO 888 İçeren Optimum Plasebo KLN Formülasyonu

Compritol® ATO 888 (% a/a)	Tween® 80 (% a/a)	Distile Su (% a/a)
5	5	90
5	4	91

Önformülasyon çalışması farklı bir lipit olan stearik asit ile sürdürülmüştür. % 10 stearik asit, % 10 Tween® 80 ve % 80 distile su içeren formülasyon ile başlanan önformülasyon çalışmasında farklı oranda stearik asit, yüzey etkin madde ve distile su kullanılarak 5 dk % 60 güçte sonikasyon uygulanmıştır. Stearik asit içeren KLN önformülasyon çalışmasında denenen formülasyon oranları Çizelge 4.12.'de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Stearik Asit İçeren KLN Önformülasyon Çalışmasındaki Formülasyon

Stearik asit (% a/a)	Tween® 80 (% a/a)	Distile su (% a/a)
10	10	80
10	9	81
10	8	82
10	7	83
10	6	84
10	5	85
9	10	81
9	9	82

Çizelge 4.12.'de oranları verilen formülasyonların tümünün parçacık boyutu ve zeta potansiyel ölçümü yapılmış ve iri parçacık boyutu elde edildiği gözlenmiştir. Ayrıca tüm formülasyonlarda kremalaşma ortaya çıkmıştır. Stearik asit içeren KLN

önformülasyon çalışmasının ikinci basamağında denenen formülasyon oranları Çizelge 4.13.'de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Stearik Asit İçeren KLN Önformülasyon Çalışmasındaki Formülasyon

Stearik Asit (% a/a)	Tween® 80 (% a/a)	Distile su (% a/a)
8	5	87
8	4	88
5	5	90
5	4	91

İçeriğinde % 8 stearik asit ve % 5 Tween® 80 bulunan formülasyonda oda sıcaklığında soğuma sırasında kremalaşma gözlenmiştir. Diğer üç formülasyonda ise oda sıcaklığındaki soğuma sırasında hafif kıvam artışı gözlenmiştir. Soğutma işlemi ardından parçacık boyutu ve zeta potansiyel ölçümleri yapılmış, yüksek parçacık boyutu elde edilmiştir. Stearik asit ile yapılan tüm önformülasyon çalışmasında kremalaşma ve yüksek parçacık boyutu belirlendiğinden, bu katı lipid ile çalışılmama kararı alınmıştır.

4.6.3. Etkin madde yüklü KLN formülasyon çalışması

Dynasan® 114 ve Compritol® ATO 888 ile hazırlanarak seçilen optimum plasebo formülasyonu Çizelge 4.9. ve 4.11.'de verilmiştir. Aynı formülasyon oranları kullanılarak hazırlanan etkin madde içeren formülasyonlar Çizelge 4.14. ve Çizelge 4.15.'te sunulmuştur.

Önformülasyon çalışmalarında katı lipid olarak seçilen Compritol® 888 ATO, Dynasan® 114 ve stearik asitin farklı oranları ve yüzey etkin madde ile oluşturulan formülasyonlar oda sıcaklığı ve buzdolabı gibi farklı koşullarda saklandıktan sonra parçacık boyutu, faz ayrımı, kremalaşma, jelleşme ve çökelti oluşması gibi makroskobik özelliklerin değerlendirilmesi sonucunda en kararlı ve optimum KLN dispersiyonunun oda sıcaklığında saklanan KLN formülasyonu olduğu görülmüş ve COMP-Plasebo, COMP-DT, DYN-Plasebo ve DYN-DT kodları verilmiştir.

Etkin madde içeren DYN-DT kodlu KLN formülasyonunun hazırlanması için öncelikle Dynasan® 114 beherde erime derecesinin 10°C üzerinde sıcaklığa ısıtılmış ve tam olarak tartılmış DT erimiş lipid içinde çözündürülmüştür. Bu karışım aynı sıcaklıktaki yüzey etkin madde içeren sulu faz ile karıştırılmıştır. 10 gram olarak hazırlanan formülasyona 5 dk % 60 güçte prob sonikasyon uygulanmış ve oda ısısında soğumaya bırakılmıştır.

Etkin madde içeren COMP-DT kodlu KLN formülasyonunun hazırlanması için öncelikle Compritol® 888 ATO beherde erime derecesinin 10°C üzerinde sıcaklığa ısıtılmış ve tam olarak tartılmış DT erimiş lipid içinde çözündürülmüştür. Bu karışım aynı sıcaklıktaki yüzey etkin madde içeren sulu faz ile karıştırılmıştır. 10 gram olarak hazırlanan formülasyona 5 dk % 60 güçte prob sonikasyon uygulanmış ve oda ısısında soğumaya bırakılmıştır.

Etkin madde içeren formülasyon hazırlanmasında etkin maddenin erimiş lipid içinde çözündürülmesi dışında plasebo formülasyonun hazırlanma prosedürü kullanılmıştır.

Çizelge 4.14. DT Yüklü Dynasan® 114 İçeren KLN Formülasyonu

Dynasan® 114 (% a/a)	DT (% a/a)	Tween® 80 (% a/a)	Distile Su (% a/a)
5	0.5	5	89.5
4.5	0.5	5	90
5	0.5	4	90.5
4.5	0.5	4	91

Çizelge 4.15. DT yüklü Compritol® ATO 888 İçeren KLN Formülasyonu

Compritol® ATO 888 (% a/a)	DT (% a/a)	Tween® 80 (% a/a)	Distile Su (% a/a)
5	0.5	5	89.5
4.5	0.5	5	90
5	0.5	4	90.5
4.5	0.5	4	91

Çizelge 4.14. ve Çizelge 4.15.'de gösterilen tüm formülasyonlar hazırlandıktan sonra parçacık boyutu, polidisperslik indisi ve zeta potansiyel ölçümü yapılmış ve optimum etkin madde içeren formülasyona karar verilmiştir. Formülasyona eklenen DT miktarının su fazından eksiltildiği formülasyonlar optimum sonuç sergilemiştir. Çalışmanın sürdürüldüğü optimum plasebo ve etkin maddeli formülasyon Çizelge 4.16. ve Çizelge 4.17.'de verilmiştir.

Çizelge 4.16. Dynasan® 114 İçeren Etkin Maddeli ve Plasebo KLN Formülasyonu

Kod	Dynasan® 114 (% a/a)	DT (% a/a)	Tween® 80 (% a/a)	Distile Su (% a/a)
DYN-Plasebo	5	-	5	90
DYN-DT	5	0.5	5	89.5

Plasebo: Etkin maddesiz formülasyon

Çizelge 4.17. Compritol® ATO 888 İçeren Etkin Maddeli ve Plasebo KLN Formülasyonu

Kod	Compritol® ATO 888 (% a/a)	DT (% a/a)	Tween® 80 (% a/a)	Distile Su (% a/a)
COMP-Plasebo	5	-	5	90
COMP-DT	5	0.5	5	89.5

Plasebo: Etkin maddesiz formülasyon

4.6.4. KLN özelliklerine ait çalışma

Etkin madde içermeyen plasebo KLN formülasyonu ve etkin madde içeren KLN formülasyonunun karakterizasyon çalışması yapılmıştır.

4.6.4.1. Parçacık boyutu ve dağılımı

Hazırlanan KLN formülasyonunun parçacık boyutu ve dağılımı NaCl ile 50 µS iletkenliğe ayarlanan distile suda disperse edilerek ölçülmüştür. Parçacık boyutu ve dağılımı Zetasizer Nano ZS (Malvern, İngiltere) cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

4.6.4.2. Zeta potansiyel

Hazırlanan KLN formülasyonunun zeta potansiyel değerini saptamak için Zetasizer Nano ZS (Malvern, İngiltere) cihazı kullanılmıştır. Ölçüm, tek kullanımlık katlanmış kılcal zeta hücresinde, 25°C oda sıcaklığında ve distile su ile seyreltilerek gerçekleştirilmiştir. Distile suyun iletkenliğinin neden olabileceği ufak değişimin ölçüm sonucunu etkilememesi amacıyla distile suyun iletkenliği ölçümden önce NaCl ile 50 μS 'e ayarlanmıştır. 50 μS 'e ayarlanma nedeni cihazın bu özellikteki suya kalibre olmasıdır.

4.6.4.3. Parçacık şekli ve yüzey özellik

Taze hazırlanan KLN formülasyonunun parçacık şekli ve yüzey özelliği karbon bandı üzerine yayılıp altın ile kaplandıktan sonra SEM (Zeiss Ultra Plus Fesem, Almanya) cihazı ile belirlenmiştir.

4.6.4.4. Termal analiz

KLN formülasyonunun termal analizi DSC (Schimadzu DSC-60, Japonya) cihazı kullanılarak, basınç yardımıyla kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL.dk⁻¹ azot gazı akış hızında ve 30-300°C aralığında 10°C.dk⁻¹ sıcaklık artış hızı ile alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiştir.

4.6.4.5. X-Işını kırınımı

KLN formülasyonunun XRD analizi 2-40° aralığında, 40 kV voltaj, 30 mA akım şiddeti, 2 Θ açısı ve 2°dk⁻¹ ilerleme hızında Rikagu jeneratör (XRD Rikagu Rint 2000, Japonya) yardımıyla yapılmıştır.

4.6.4.6. İnfrared (FT-IR)

KLN formülasyonunun FT-IR spektrumu FT-IR (Schimadzu IR Prestige-21, Japonya) cihazı kullanılarak 4000-500 cm⁻¹ dalga boyu aralığında saptanmıştır.

4.6.4.7. Nükleer manyetik rezonans (NMR)

Dötero kloroform (CDCl_3) içinde çözündürülerek hazırlanan KLN formülasyonunun NMR analizi ($^1\text{H-NMR}$) NMR (Bruker 500 MHz UltraShield NMR, Almanya) cihazı kullanılarak yapılmıştır.

4.6.4.8. Formülasyonda etkin madde miktar tayini

Hazırlanan KLN formülasyonunda etkin madde miktar tayini '4.2. Deksketoprofen Trometamol Miktar Tayini için Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi' bölümünde anlatıldığı şekilde saptanmıştır.

Literatür bilgisine göre Dynasan[®] 114 yalnızca n-hekzan ve dietil eterde hafifçe çözünürken, etanolde çok az çözünür (<http-9>; Ash ve Ash, 2004, s. 181). Dynasan[®] 114 ile hazırlanan KLN formülasyonunda yüzeyde kalan etkin madde miktar tayini için DT'nin çözündüğü ancak Dynasan[®] 114'ün çözünmediği çözücü olan hareketli faz kullanılmıştır. Çalışmada tam olarak tartılmış 5 mg DYN-DT formülasyonu 2.5 mL'lik Eppendorf tüpüne alınmış ve üzerine 2 mL hareketli faz eklenmiştir. Ultrasonik banyoda 5 dk tutulduktan sonra 10 dk 11.000 rpm'de santrifüj edilerek üstte kalan saydam kısım alınmış ve poliamit süzgeçten süzülerek gerekli seyreltmelerin ardından analiz edilmiştir.

Hapsedilen etkin maddenin analizi Başaran vd. (2010, s. 39) tarafından yapılan çalışmadaki yöntem kullanılarak hazırlanan KLN formülasyonunun yapısının parçalanması ile gerçekleştirilmiştir. Dipte kalan parçacık üzerine DT'nin çözündüğü hareketli fazdan 2 mL eklenmiş ve tüp sıkıca kapatılmıştır. 15 dk ultrasonik banyoda lipitin erime derecesinin 10°C üzerindeki sıcaklığa (70-80°C) ısıtılarak KLN formülasyonunun yapısı parçalanmış ve DT'nin ortama geçmesi sağlanmıştır. Isıtmanın hemen ardından tüp hızla -18±1°C sıcaklığındaki derin dondurucuya alınarak katı lipitin çökmesi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem sonrasında 10 dk 11.000 rpm'de santrifüj edilerek üstte kalan saydam çözelti alınmış ve poliamit süzgeçten süzülerek gerekli seyreltmelerin ardından hapsedilen etkin madde miktarı belirlenmiştir. Deney her formülasyon için 3 kez tekrarlanmıştır.

Literatür bilgisine göre Compritol[®] ATO 888, metilen klorür, kloroform ve diklorometanda çözünür ancak alkol türevleri ve su içinde çözünmez (<http-10>). Compritol[®] ATO 888 ile hazırlanan KLN formülasyonunda yüzeyde kalan etkin madde miktar tayini için DT'nin çözündüğü, Compritol[®] ATO 888'in çözünmediği çözücü olarak hareketli faz kullanılmıştır. Çalışmada tam olarak tartılmış 5 mg COMP-DT formülasyonu 2.5 mL'lik Eppendorf tüpüne alınmış ve üzerine 2 mL hareketli faz eklenmiştir. Ultrasonik

banyoda 5 dk tutulduktan sonra 10 dk 11.000 rpm'de santrifüj edilerek üstte kalan saydam kısım alınmış poliamit süzgeçten süzülerek gerekli seyreltmelerin ardından analiz edilmiştir. Hapsedilen etkin maddenin analizi Başaran vd.'nin (2010, s. 39) formülasyonun yapısı parçalanarak gerçekleştirilen çalışmadaki yöntem kullanılarak yapılmıştır. Dipte kalan parçacık üzerine DT'nin çözündüğü hareketli fazdan 2 mL eklenmiş ve tüp sıkıca kapatılmıştır. 15 dk ultrasonik banyoda lipitin erime derecesinin 10°C üzerinde sıcaklığa (56-66°C) ısıtılarak KLN formülasyonunun yapısı parçalanmış ve DT'nin ortama geçmesi sağlanmıştır. Isıtmanın hemen ardından tüp hızla -18±1°C sıcaklığındaki derin dondurucuya alınarak katı lipid çöktürülmüştür. Bu işlem sonrasında 10 dk 11.000 rpm'de santrifüj edilerek üstte kalan saydam çözelti alınmış ve poliamit süzgeçten süzülerek gerekli seyreltmelerin ardından hapsedilen etkin madde miktarı belirlenmiştir. Deney her formülasyon için 3 kez tekrarlanmıştır.

Yükleme etkinliği hesabı Khoshneviszadeh vd.'nin (2016, s. 24) yaptığı çalışmada kullandığı eşitlik ile gerçekleştirilmiştir. Yükleme etkinliği için kullanılan Eşitlik 4 aşağıda verilmiştir.

$$\% \text{ Yükleme etkinliği} = \frac{(\text{Formülasyondaki etkin madde derişimi}) - (\text{Süpernatandaki etkin madde derişimi})}{(\text{Formülasyondaki etkin madde derişimi})} \times 100$$

Eşitlik 4

Etkin madde miktar tayininde kullanılan poliamit süzgeç için 0.05 µg.mL⁻¹, 0.10 µg.mL⁻¹ ve 0.15 µg.mL⁻¹ derişiminde DT içeren çözelti ile % geri kazanım miktarı belirlenerek süzgeç adsorpsiyon testi yapılmıştır.

4.6.4.10. *In vitro* salım çalışması

DT'nin KLN'den salımında *sink* koşul 100 mL PBS (pH 7.4), 37 ± 0.5°C sıcaklık ve 100 rpm karıştırma hızı kullanılarak sağlanmıştır. Öncelikle 1 mg DT içeren KLN selüloz asetat diyaliz torbasına dikkatle yerleştirilmiş ve üzerine 1 mL salım ortamı eklenerek sıkıca sızdırmayacak şekilde kapatılmıştır. Hazırlanan membran sistemi 37 ± 0.5°C'deki ve 100 rpm'de karışan salım ortamını içeren reseptör kompartımana alınmıştır. Reseptör kompartımandan salım ortamının buharlaşmasını engellemek için, salım ortamı kapatılmıştır. 5. dk, 10. dk, 15. dk, 30. dk, 1. saat, 2. saat, 3. saat, 4. saat, 5. saat, 6. saat, 7. saat, 8. saat, 12. saat, 24. saat ve 48. saat'lerde reseptör kompartımandan 1 mL

örnek alınmış ve eksilen miktar salım ortamı ile tamamlanmıştır (Yong vd., 2014, s. 2-5. Demir, 2014, s. 154 Kumar, 2014, s. 131-132; Aydoğan, 2015, s. 7). Örnekteki DT miktarı '4.2. Deksketoprofen Trometamol Miktar Tayini için Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi' bölümünde anlatıldığı şekilde belirlenmiştir. Farklı zamanlarda salınan DT derişimi ile hesaplanan % kümülatif salınan DT değeri zamana karşı grafiğe geçirilerek salım profili çizilmiştir. Her bir KLN formülasyonu için deney 6 kez tekrarlanmıştır.

4.7. Kararlılık Çalışması

Hazırlanan PNP ve KLN formülasyonunun kararlılık çalışması kapsamında formülasyonlar $4 \pm 1^\circ\text{C}$, $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $40 \pm 1^\circ\text{C}$ 'lik kararlılık kabinlerine yerleştirilmiştir. PNP formülasyonu toz olarak, KLN formülasyonu ise hem liyofilize toz hemde sulu dispersiyon olarak saklanmıştır. Formülasyonların kararlılık testi belirli periyodlarda (0. zaman, 1. ay, 2. ay, 3. ay ve 6. ay) tekrarlanmıştır. Formülasyonlarda fiziksel görünüş, parçacık boyutu ve dağılımı, zeta potansiyel, SEM, DSC, FT-IR, NMR incelemesi ve etkin madde miktar tayini yapılmıştır.

4.8. İn Vitro Salım Kinetiği Çalışması

Hazırlanan 9 PNP formülasyonu ve 2 KLN formülasyonu için salım çalışması verileri farklı kinetik modellere (sıfırıncı derece kinetik, birinci derece kinetik, Higuchi, Hixson-Crowell, Hopfenberg ve Korsmeyer-Peppas) uygulanmıştır. En uygun kinetik modelin seçimi amacıyla formülasyonların hız sabiti (k), determinasyon katsayısı (r^2) ve Akaike bilgi kriteri (AIC) ile değerlendirilmiştir.

4.9. Sitotoksosite Çalışması

Bu çalışmada, DT içeren PNP ve KLN formülasyonunun *in vitro* sitotoksitesi 3T3 fare embriyo fibroblast hücre dizileri kullanılarak MTT yöntemi ile incelenmiştir. Üretilen formazanın miktarı doğrudan canlı hücre miktarı ile orantılıdır ve spektrofotometrik olarak ölçülebilmektedir (Arranja vd., 2014, s. 88).

Deney aşamasında 100 μL besi yeri içine 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 3, 5, 7, 10, 25, 50, 75 ve 100 μg miktarda formülasyon hücrelere 24 ve 48 saat süresince uygulanmıştır. İnkübasyon süresi sonunda absorbans ölçümü BioTek Cytation 5 (BioTek Instruments, Germany) çoklu plaka okuyucu ile 572 nm'de yapılmıştır. Her bir formülasyon için 3 plaka ve her bir derişim için 8 kuyuda çalışılmıştır. Absorbans değeri

bu plakalarda ölçülen absorbanların ortalaması alınarak belirlenmiştir. Derişim, aynı koşulda herhangi bir formülasyon uygulanmamış yalnızca kültür ortamı ile inkübe edilmiş kontrol hücrelerindeki canlılık % 100 kabul edilerek hesaplanmıştır. Formülasyonlara ait yaklaşık IC₅₀ (hücre çoğalmasında % 50 azalmaya neden olan inhibitör derişimi) değeri 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda saptanmıştır.

4.10. *In vivo* Çalışma

Deneyisel ağrı araştırmasında amaç ağrının özelliğini, doğasını açıklamak ya da ilaç etkin maddesinin ağrının algılanması üzerine olası etkisinin araştırılmasıdır. Hayvanlarda ağrı eşiğinin ve analjezinin değerlendirilmesi kolay değildir. Ağrı kavramının tek başına subjektif olmasının dışında hayvan davranışı ile ilişkilendirilmesi yeterli düzeyde tanımlanamamıştır. Kendini sözlü olarak ifade edemeyen deney hayvanının ifadesi ancak motor davranışlardır; alınan yanıt basit bir refleks, bazen sıçrama veya kaçma olabilir. Deneyisel ağrı çalışmasında önemli olan bu davranışları doğru değerlendirerek hayvanın ağrıyı ne zaman algıladığını belirlemektir (Arıcıoğlu, 2007, s. 28).

Deneyisel çalışmadan elde edilecek verinin standart olabilmesi için belirli koşulların sağlanması gereklidir. Deney hayvanının eş soylu olması (*in-breed*), cinsiyeti ve yaşı (genellikle 6-8 haftalık olmalı), yaşam alanının standardizasyonu ve stresten uzak tutulması gibi parametreler deneyisel çalışmanın standardizasyonunu sağlar. Deney hayvanlarının barındırıldığı koşulların standardizasyonu hem etik zorunluluktur hem de yapılacak deneyisel çalışmanın bilimsel kalitesini doğrudan etkiler. Çalışmanın uluslararası standartlara uygun yapılabilmesi için denekler dış etmenlerden izole edilmiş, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsü olan, sıcaklığı yaklaşık 20±2°C, nemi yaklaşık % 60 civarında sabit tutulabilen ve iyi havalandırılmış ortamda barındırılmalıdır. Araştırmacının bilgisi ve gerekli koşullara özeni deneyisel ağrı modelinin güvenilirliğini ve elde edilen sonuçların yararını artırır (http-15; http-16; Arıcıoğlu, 2007, s. 28).

4.10.1. Deney hayvanının özelliği ve grupların oluşturulması

In vivo çalışmada 30-35 gram ağırlığında, erkek ve dişi *Swiss Albino* fareler kullanılmıştır. Çalışma sırasında tüm işlemler 'Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği'nin (IASP) belirlediği etik kurallara uygun olarak yapılmıştır (Zimmerman, 1983, s. 109-110). Hayvan deneyleri için gerekli olan etik kurul onayı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (Karar No: 519-1, 12.05.2016) alınmıştır. 20±2°C oda sıcaklığında ve 12 saat aydınlık/12saat karanlık döngüsünün uygulandığı iyi havalandırılan odada barındırılan deney hayvanları deneyden 1 gün önce deney yapılacak ortama getirilerek ortama adaptasyonları sağlanmıştır. Test maddesi oral olarak uygulandığından oluşabilecek olası etkileşimlerin engellenmesi için deney hayvanları uygulamadan 12 saat önce aç bırakılmıştır.

Kullanılan iki farklı deney yöntemi olan sıcak zemin (plaka) ve kuyruk batırma testi için 5 grup oluşturulmuştur. Gruplar sırasıyla, SF (serum fizyolojik) uygulanan kontrol grubu, DT uygulanan grup, KSR-2 kodlu PNP formülasyonu uygulanan grup, ERS-3 kodlu PNP formülasyonu uygulanan grup ve COMP-DT kodlu KLN formülasyonu uygulanan gruptur. Deney hayvanları her bir grupta 8 adet (4 erkek ve 4 dişi) fare olacak şekilde 5 gruba rasgele dağıtılmıştır.

Kıvrınma testi için yine aynı gruplar oluşturulmuş ancak asetik asidin farelere bir kez uygulanabilmesi nedeniyle her saat için ayrı grup oluşturulmuştur. Deney hayvanları her bir grupta 6 adet (3 erkek ve 3 dişi) fare olacak şekilde gruplara rasgele dağıtılmıştır.

Kıvrınma testi için gruplar,

- Kontrol grubu 1., 3., 6., ve 9. saatler için
- DT grubu 1., 3., 6., ve 9. saatler için
- KSR-2 grubu 1., 3., 6., ve 9. saatler için
- ERS-3 grubu 1., 3., 6., ve 9. saatler için
- COMP-DT grubu 1., 3., 6., ve 9. saatler için,

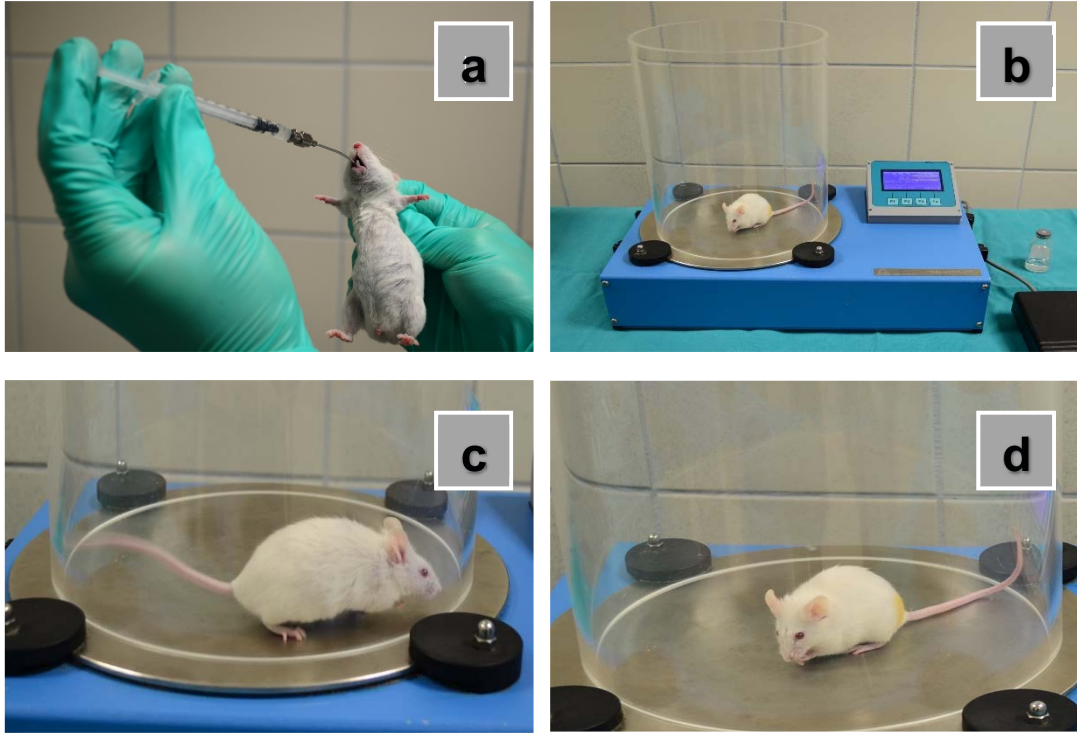
olacak şekilde ayarlanmıştır.

4.10.2. DT ve formülasyonun uygulama yolu ve oranı

Oluşturulan deney gruplarına ayrı ayrı 10 mg/kg DT ve 10 mg/kg dozda DT içeren KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT formülasyonları gavaj iğnesi yardımıyla oral yolla uygulanmıştır. DT, serum fizyolojik içinde çözündürüp; KSR-2 ve ERS-2 kodlu PNP formülasyonu serum fizyolojik içinde süspande edilerek; COMP-DT kodlu KLN formülasyonu ise sulu dispersiyon şeklinde hayvanlara uygulanmıştır. COMP-DT formülasyonu Sıcak zemin (plaka) ve kuyruk batırma deneylerinde ilaç uygulaması yapılmadan önce deney hayvanlarının kontrol değerleri alınmıştır. İlaç uygulamasından sonraki 1., 3., 6., ve 9. saat verileri toplanmıştır. Kıvrınma testinde ise ayrı bir kontrol grubu ve her maddenin ölçüm yapılacak saati için de ayrı gruplar oluşturulmuştur.

4.10.3. Sıcak zemin (*hot plate*) testi

Sıcak zemin testi, ısı kaynağı, zamanlayıcı ve güç kaynağı kısımlarından oluşan çevresi pleksiglas silindir ile sınırlanmış bir düzendir (Ugo Basile- No: 7280) ve ağrı eşiğinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu testte hayvanın arka pençelerinden birini hızla geri çekmesi veya yalaması ya da hayvanın sıçraması ağrı hissinin oluştuğunun belirtisi olarak kabul edilir ve hayvanın sıcak zemin cihazına konulmasından o ana kadar geçen süre (latens süresi) saniye cinsinden ölçülür. 55°C'ye ayarlanan cihazda ölçüm hayvanlara formülasyon verilmeden önce (0. dakika) ve formülasyon verildikten sonra belirli zamanlarda (1. saat, 3. saat, 6. saat ve 9. saat) yapılmıştır. Hayvanların ayaklarının sıcaktan zarar görmesini ve doku hasarını engellemek için deneyin bitirilme süresi 20 saniye olarak belirlenmiştir. Verilerin istatistiksel hesaplaması ile ilgili bölümde verilen eşitliğe göre % maksimum olası etki (MPE) hesaplanmıştır (Bastos vd., 2006, s. 242; Kılıç vd., 2006, s. 58). Gavaj iğnesi yardımı ile ilaç uygulaması ve sıcak zemin testinden görüntüler Görsel 4.4.'te sunulmuştur.



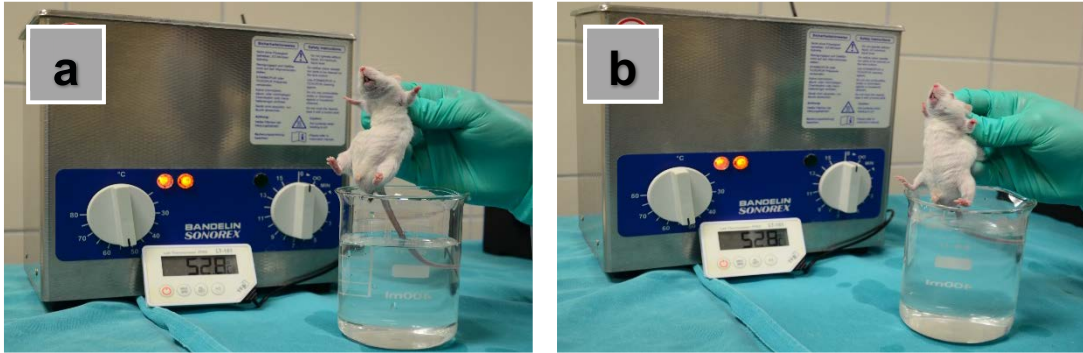
Görsel 4.4. Gavaj iğnesi Yardımı ile İlaç Uygulama ve Sıcak Zemin Testinden Görüntüler

a: Gavaj iğnesi yardımı ile ilacın oral olarak uygulanması, **b, c, d:** Sıcak zemin üzerinde ön pençelerini yalayan deney hayvanı

4.10.4. Kuyruk batırma (*tail immersion*) testi

Analjezi çalışmasında kullanılan önemli termal yöntemlerden bir diğeri kuyruk batırma testi olduğu için bu çalışmada tercih edilmiştir. Kuyruk batırma testinin esası sıçan veya farenin kuyruk ucunun üçte ikilik kısmının sıcak su banyosuna daldırılarak bu sürede deney hayvanının kuyruğunu su içinde tutabilme süresinin ölçülmesidir (Uzbay, 2004, s. 143).

Yapılan çalışmada deney hayvanın kuyruğunun ucundan başlayarak 3 cm'lik kısmı bir beherde bulunan $52.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$ sıcaklığındaki suya daldırılmıştır. Hayvanın kuyruğunun suyun içine daldırıldığı an, suyun dışına hızla çekmesi ve bükülmesi pozitif reaksiyon olarak kabul edilmiş, kuyruğun batırılması ile pozitif reaksiyon alınmasına kadar geçen süre kronometre ile manuel olarak kaydedilmiştir. Ölçümler hayvanlara formülasyon verilmeden önce (0. dakika) ve formülasyon verildikten sonra belirli zamanlarda (1. saat, 3. saat, 6. saat ve 9. saat) yapılmıştır. Deney hayvanlarının kuyruklarının sıcaktan zarar görmesini ve doku hasarını engellemek için kuyruğun suda kalma süresi (*cut off time*) 15 saniye olarak belirlenmiştir. Verilerin istatistiksel hesaplaması ile ilgili bölümde verilen eşitliğe göre % MPE hesaplanmıştır (Aydın vd., 1998, s. 815; Aydın, Beis ve Can, 2003, s. 407). Kuyruk batırma testinden görüntüler Görsel 4.5.'te sunulmuştur.



Görsel 4.5. Kuyruk Batırma Testinden Görüntüler

a, b: Deney hayvanının 52.8°C sıcaklığa sahip suya kuyruğunun daldırılması

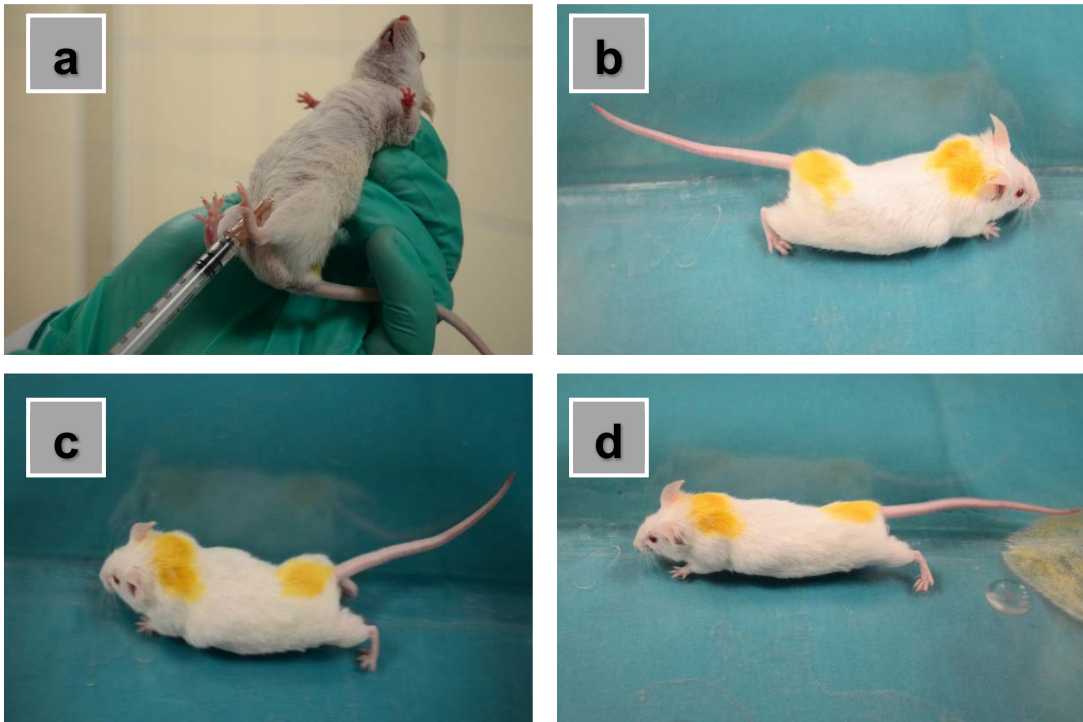
4.10.5. Kıvrınma (*writting*) testi

Kıvrınma testi genellikle periferik analjezinin değerlendirildiği ve güçlü viseral ağrı oluşturabilmek için asetik asit çözeltisi kullanılarak uygulanan kimyasal analjezi ölçüm

yöntemidir. Bu test genellikle farelere uygulanır ve deney hayvanlarına % 0.6'lık asetik asit çözeltisi intraperitoneal (*i.p.*) olarak uygulandıktan 5 dakika sonra başlanarak 10-20 dakika süresince kıvranma davranışının sayılması veya skorlanması şeklinde gerçekleştirilir. Kıvranma davranışı önce karın kaslarında kasılma ile başlayan daha sonra arka ayakların geriye doğru gerilmesi ile karakterize durum olarak tanımlanır. Çoğu analjezi testi yalnızca güçlü analjezik etkiye sahip ilaçlara duyarlı olmasına karşın, asetik asit ile gerçekleştirilen kıvranma testi hem güçlü hem de zayıf etkili analjezik etkiye duyarlıdır (Uzbay, 2004, s. 143; Önkol vd., 2004, s.1090; Bastos vd., 2006 s. 242).

Test maddelerinin uygulanacağı ve ölçümlerin yapılacağı her saat için altışar hayvandan oluşan 20 grup oluşturulmuş ve ilaç uygulamadan 1, 3, 6 ve 9 saat sonra % 0.6'lık asetik asit çözeltisi hayvanlara *i.p.* yolla verilmiştir. 5 dakikalık bekleme süresinin sonunda, her hayvanda yukarıda bahsedilen kıvranma hareketleri 10 dakika boyunca gözlenerek kıvranma sayısı kaydedilmiştir.

I.p. enjeksiyon ve kıvranma testine özgü görüntüler Görsel 4.6.'da sunulmuştur.



Görsel 4.6. *Intraperitoneal (i.p.) İnjektasyon ve Kıvranma Testinden Görüntüler*

a: *Intraperitoneal olarak asetik asit enjeksiyonu; b, c, d:* *Kıvranma testine özgü arka ayakların geriye doğru gerilmesi ve karnın yere sürülmesi hareketi*

Bu çalışmada deney hayvanının termal ve kimyasal ağrı verici (nosiseptif) uyarana karşı tepkisi ölçülmüştür. Termal test olarak daha çok santral ağrı kesilmesinin test edilmesinden dolayı sıcak zemin testi ve kuyruk batırma testi tercih edilmiştir. Periferik analjezinin değerlendirilmesi amacıyla kimyasal ağrı modeli oluşturmak için periton içine injekte edilen asetik asit ile kıvrınma testi gerçekleştirilmiştir (Erkeç ve Arihan, 2014, s. 56).

4.10.6. Verilerin istatistiksel analizi

Hayvanlardan elde edilen tüm değerler tek tek deneysel verilerin aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. Zamana bağlı ölçüm yapıldığından, kontrol ile DT ve formülasyon uygulanan hayvanlar arasında görülen farklılık *two-way* ANOVA testi '*Bonferroni posttest*' uygulanarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Deney sonucu olan tüm verilerin istatistiksel analizi için GraphPad Prism version 5.0 istatistik programı kullanılmıştır.

Sıcak zemin ve kuyruk çekme testinin sonuçları % MPE olarak hesaplanmış ve ardından istatistik analizi yapılmıştır. % MPE aşağıda verilen Eşitlik 5 yardımı ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ MPE (\% Maksimum Olası Etki)} = \frac{(\text{İlaç Sonrası Ölçülen Süre}) - (\text{İlaç Öncesi Ölçülen Süre})}{(\text{Deney Kesme Süresi}) - (\text{İlaç Öncesi Ölçülen Süre})} \times 100$$

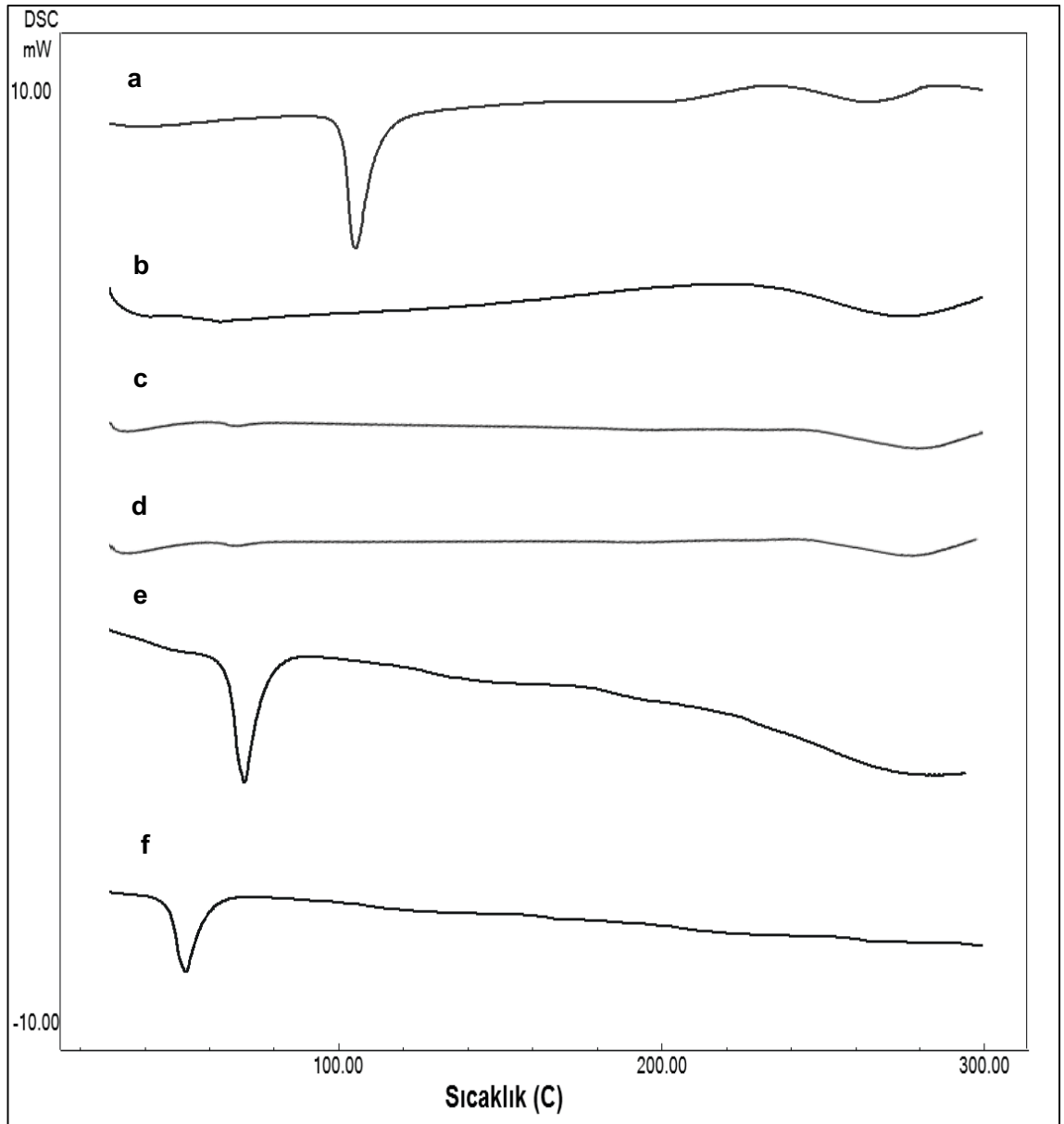
Eşitlik 5

5. BULGULAR

5.1. Deksketoprofen Trometamol ve Yardımcı Maddeler ile Yapılan Çalışmalar

5.1.1. Termal analiz

DT ve yardımcı maddelere ait termogramlar Şekil 5.1.'de sunulmuştur. DT'e ait spesifik pik 105.1°C'de gözlenmiştir.



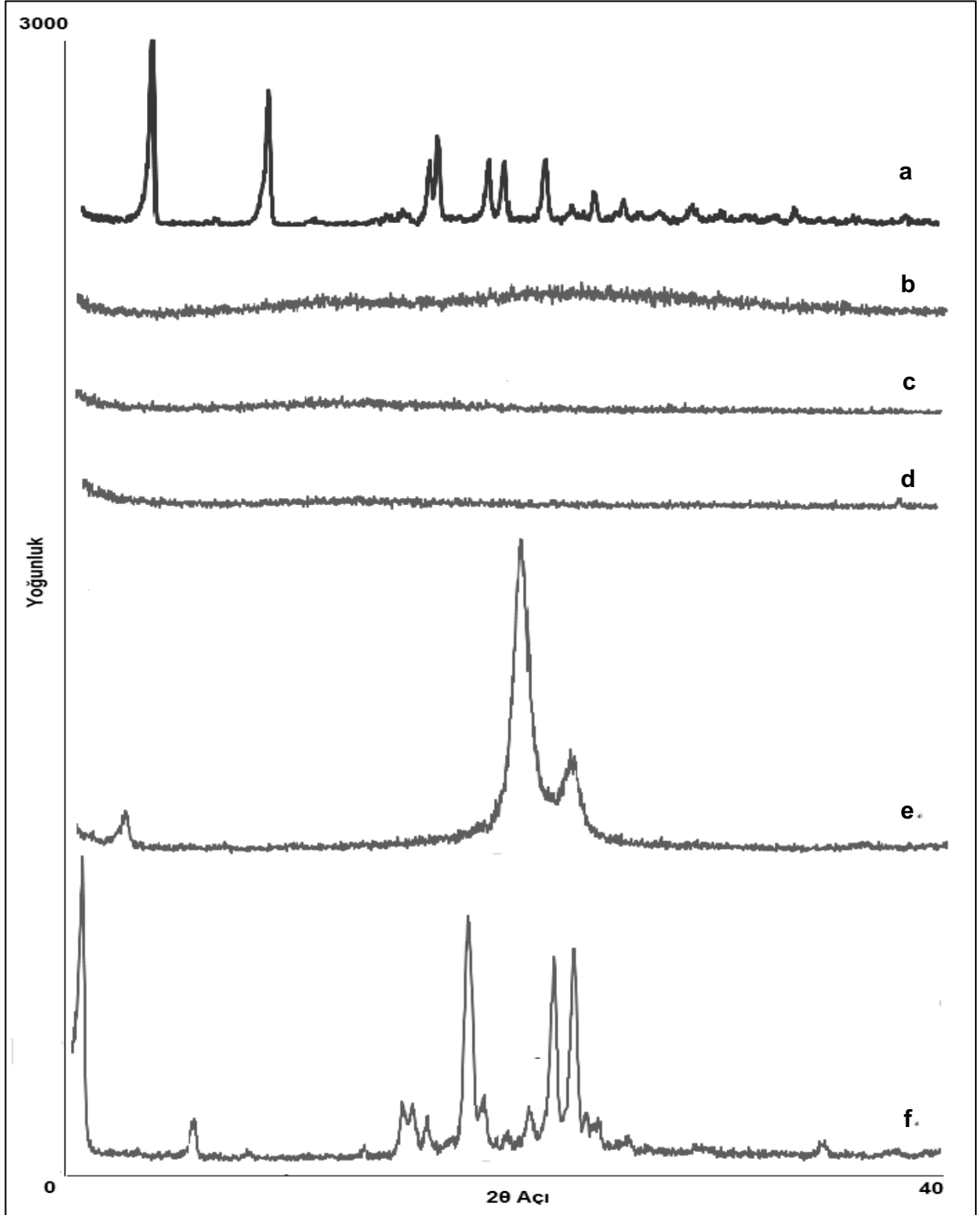
Şekil 5.1. DT ve Yardımcı Maddelerin Termogramı

a: DT, **b:** Kollidon® SR, **c:** Eudragit® RS 100, **d:** Eudragit® RL 100,

e: Compritol® 888 ATO, **f:** Dynasan® 114

5.1.2. X-ışını kırınımı

DT ve yardımcı maddelere ait X-ışını kırınım profilleri Şekil 5.2.'de sunulmuştur.



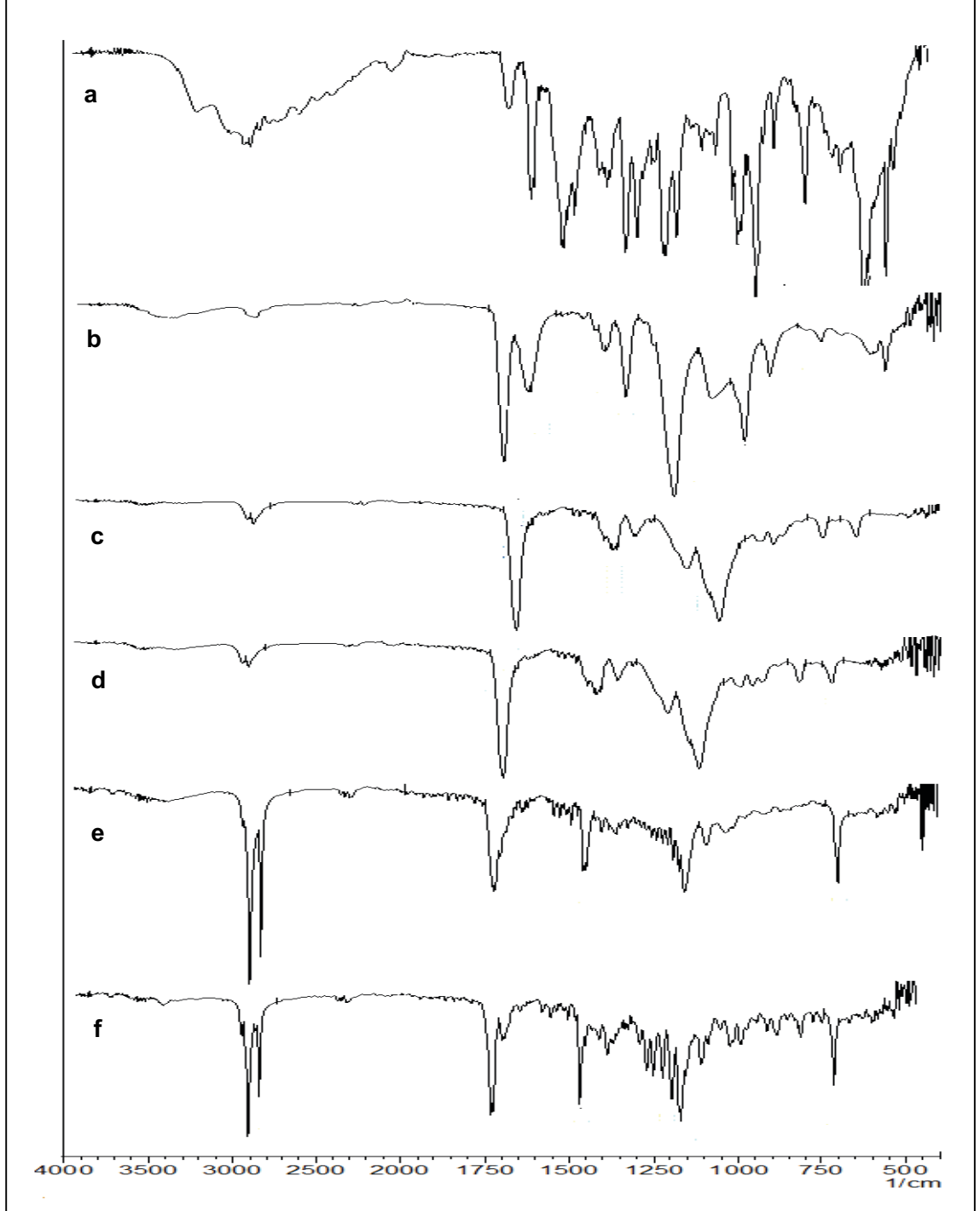
Şekil 5.2. DT ve Yardımcı Maddelerin X-Işını Kırınım Profili

a: DT, **b:** Kollidon® SR, **c:** Eudragit® RS 100, **d:** Eudragit® RL 100,

e: Compritol® 888 ATO, **f:** Dynasan® 114

5.1.3. İnfrared (FT-IR)

DT ve yardımcı maddelere ait FT-IR spektrumları Şekil 5.3.'de sunulmuştur.



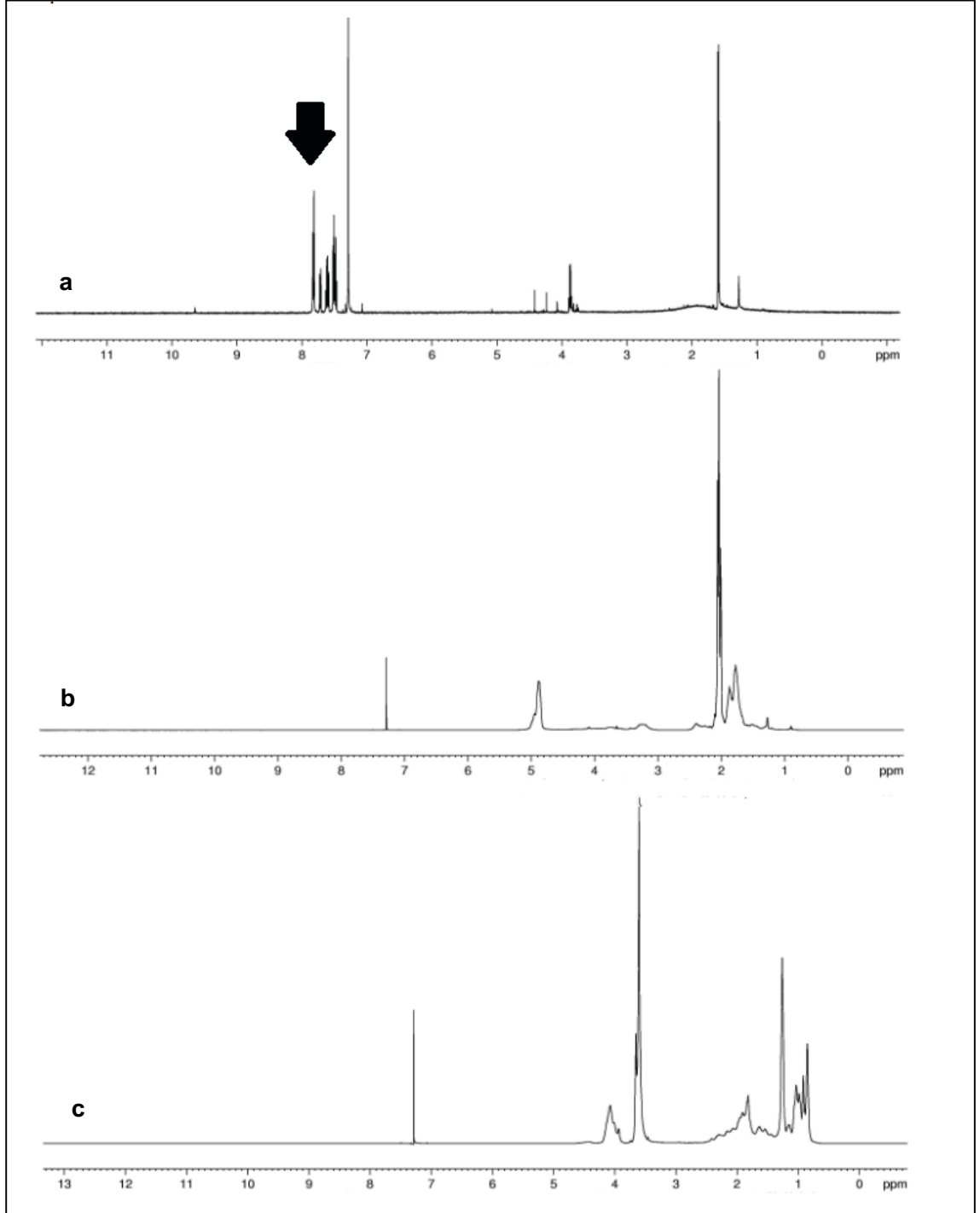
Şekil 5.3. DT ve Yardımcı Maddelerin FT-IR spektrumu

a: DT, **b:** Kollidon® SR, **c:** Eudragit® RS 100, **d:** Eudragit® RL 100,

e: Compritol® 888 ATO, **f:** Dynasan® 114

5.1.4. Nükleer manyetik rezonans (NMR)

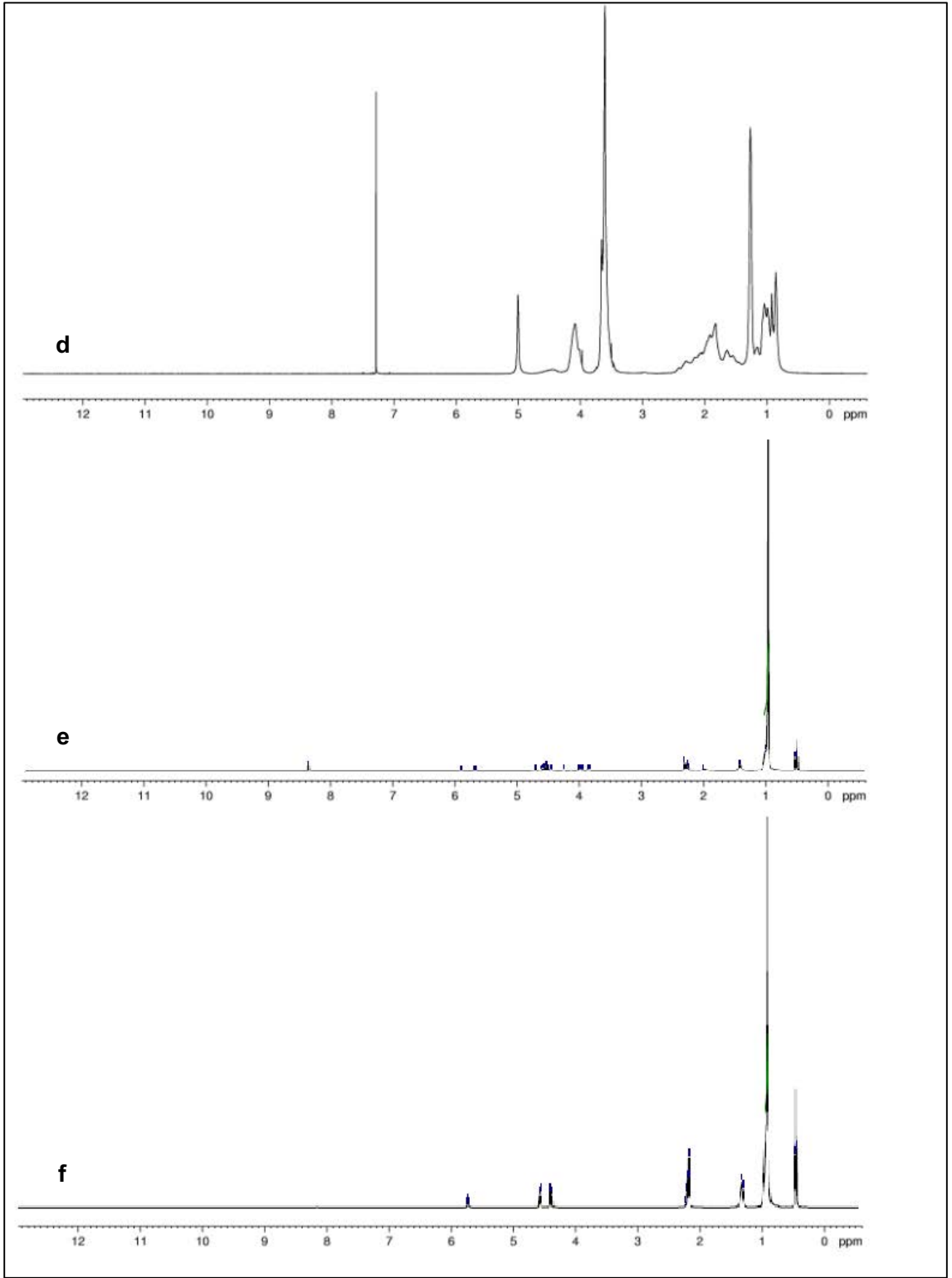
DT ve yardımcı maddelere ait ^1H -NMR spektrumları Şekil 5.4.'de sunulmuştur.



Şekil 5.4. DT ve Yardımcı Maddelerin NMR Spektrumu

a: DT, **b:** Kollidon® SR, **c:** Eudragit® RS 100, **d:** Eudragit® RL 100,

e: Compritol® 888 ATO, **f:** Dynasan® 114



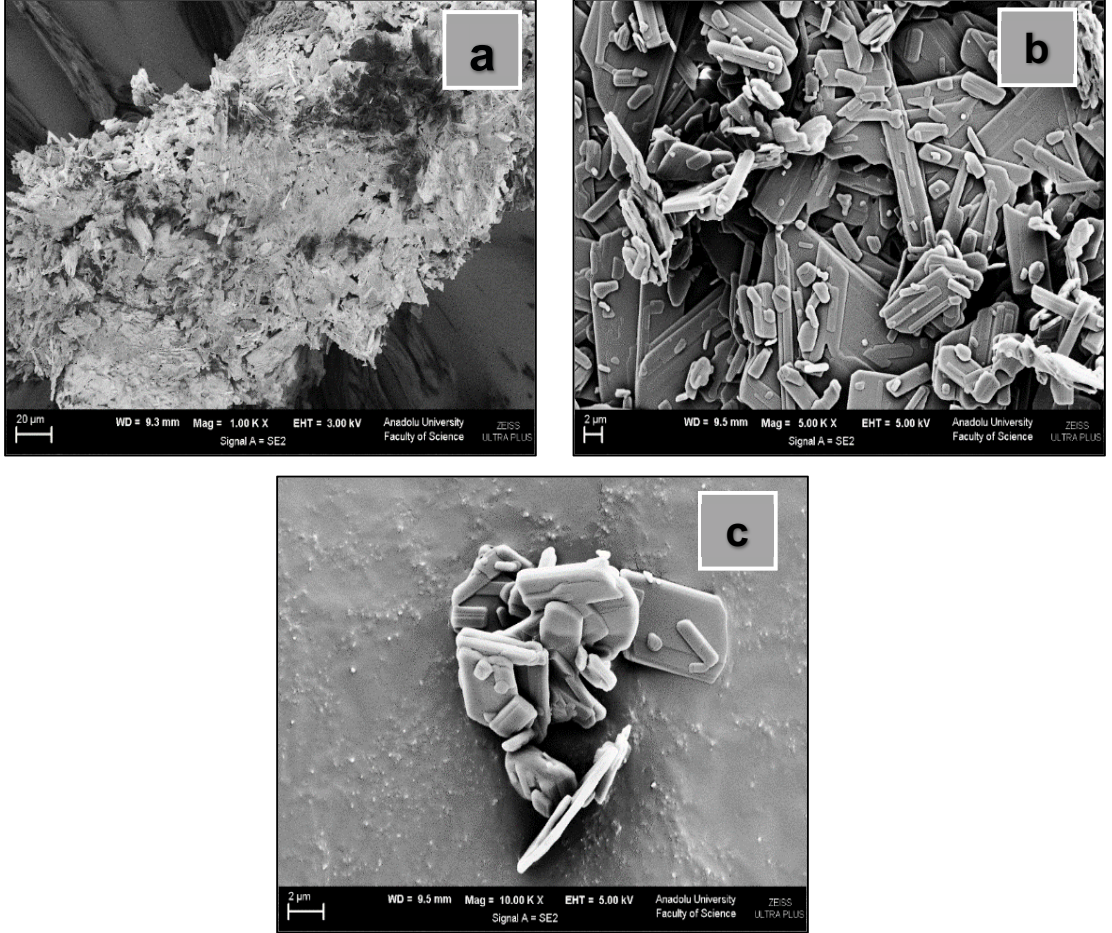
Şekil 5.4. (Devam) DT ve Yardımcı Maddelerin NMR Spektrumu

a: DT, **b:** Kollidon® SR, **c:** Eudragit® RS 100,

d: Eudragit® RL 100, **e:** Compritol® 888 ATO, **f:** Dynasan® 114

5.1.5. Paracak şekli ve yüzey özelliği

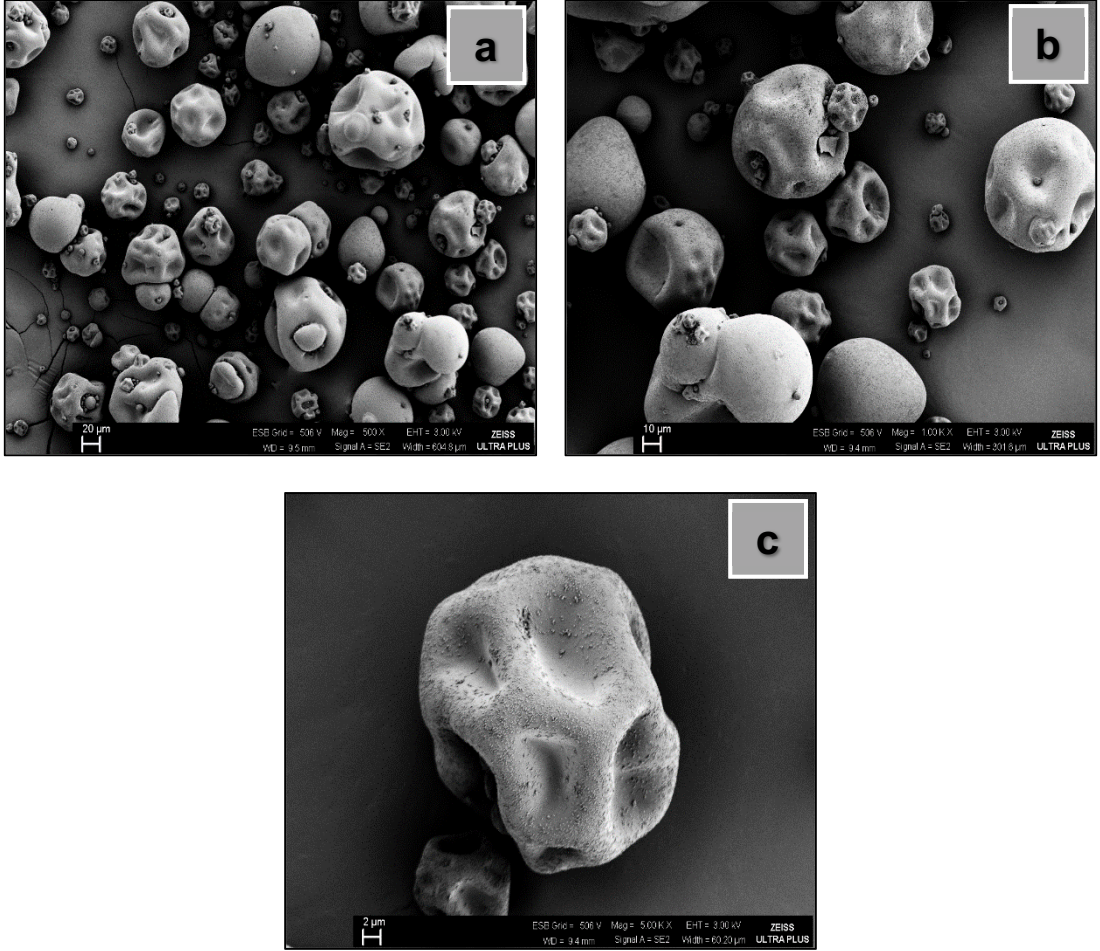
DT'ye ait x3000, x5000 ve x10000 büyütme oranında alınan taramalı elektron mikroskobu görüntüleri şekil 5.5.'de sunulmuştur.



şekil 5.5. DT'nin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

a: x3000, **b:** x5000, **c:** x10000

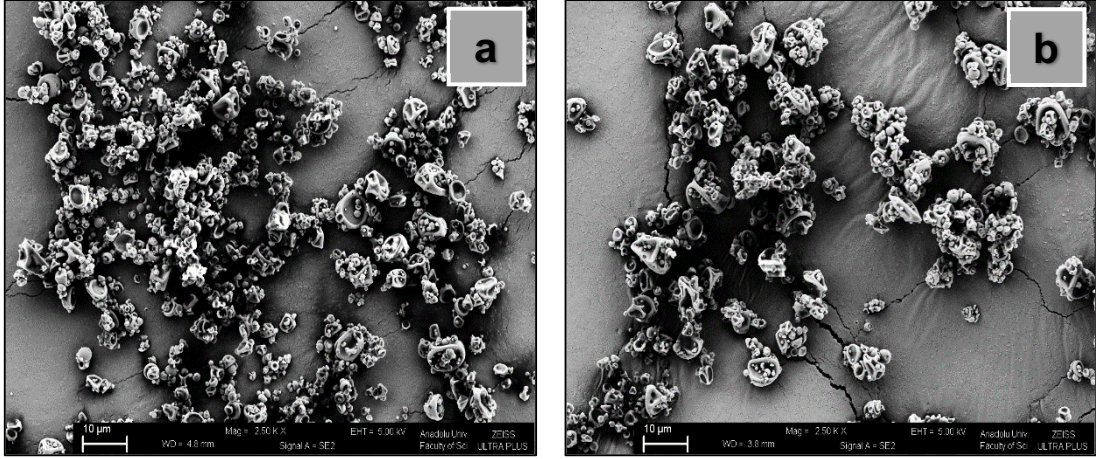
Kollidon® SR'ye ait x500, x1000 ve x5000 büyütme oranında alınan taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 5.6.'da sunulmuştur.



Şekil 5.6. *Kollidon® SR'nin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü*

a: x500, b: x1000, c: x5000

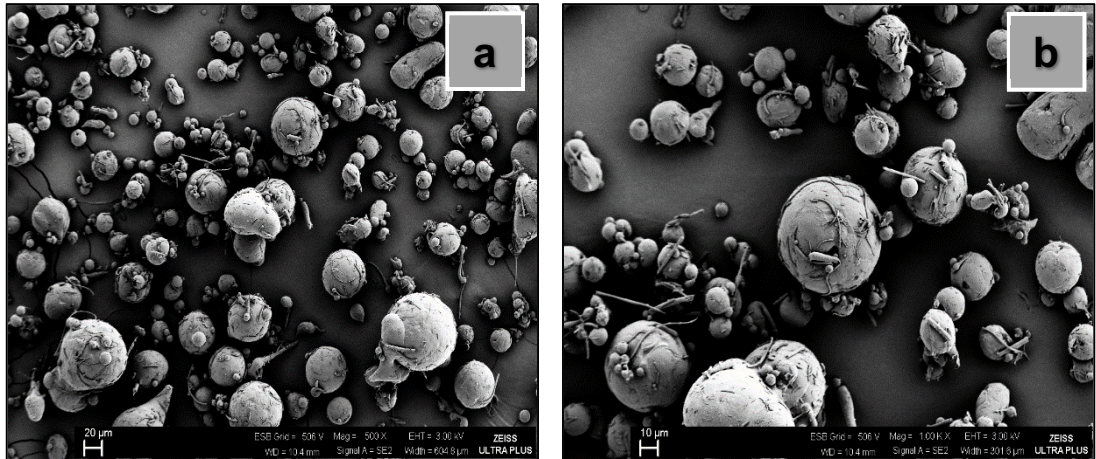
Eudragit® RS 100 ve Eudragit® RL 100'ün x2500 büyütme oranında alınan taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 5.7.'de sunulmuştur.



Şekil 5.7. Eudragit® RS 100 ve Eudragit® RL 100'ün Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

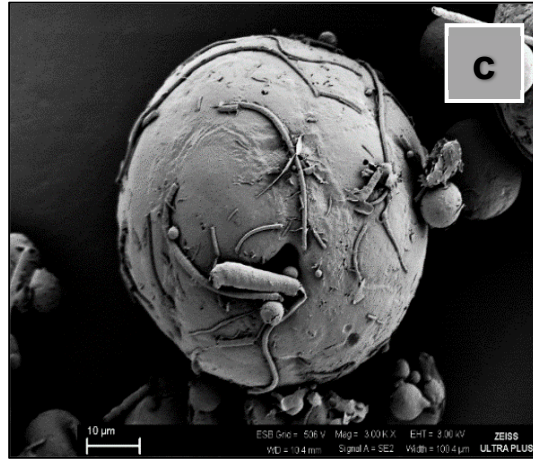
a: Eudragit® RS 100, x2500, **b:** Eudragit® RL 100, x2500

Compritol® 888 ATO'nun x500, x1000 ve x3000 büyütme oranlarında alınan taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 5.8.'de sunulmuştur.



Şekil 5.8. Compritol® 888 ATO'nun Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

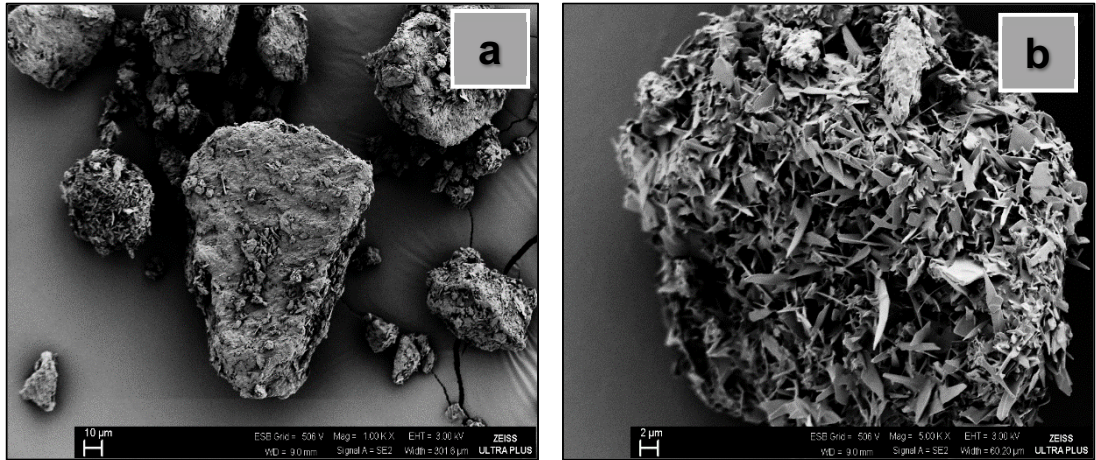
a: x500, **b:** x1000, **c:** x3000



Şekil 5.8. (Devam) Compritol® 888 ATO'nun Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

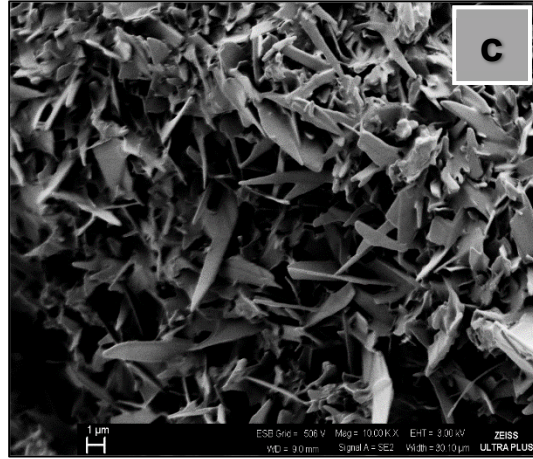
a: x500, b: x1000, c: x3000

Dynasan® 114'e ait x1000, x5000 ve x10000 büyütme oranında alınan taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 5.9.'da sunulmuştur.



Şekil 5.9. Dynasan® 114'ün Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

a: x1000, b: x5000, c: x10000



Şekil 5.9. (Devam) Dynasan® 114'ün Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

a: x1000, b: x5000, c: x10000

5.2. Deksketoprofen Trometamol Miktar Tayini için Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK)

5.2.1. Validasyon çalışması

Validasyon çalışmasından elde edilen sonuçlar doğrusallık, kesinlik, doğruluk, duyarlılık ve seçicilik başlıkları altında değerlendirilmiştir.

5.2.1.1. Doğrusallık

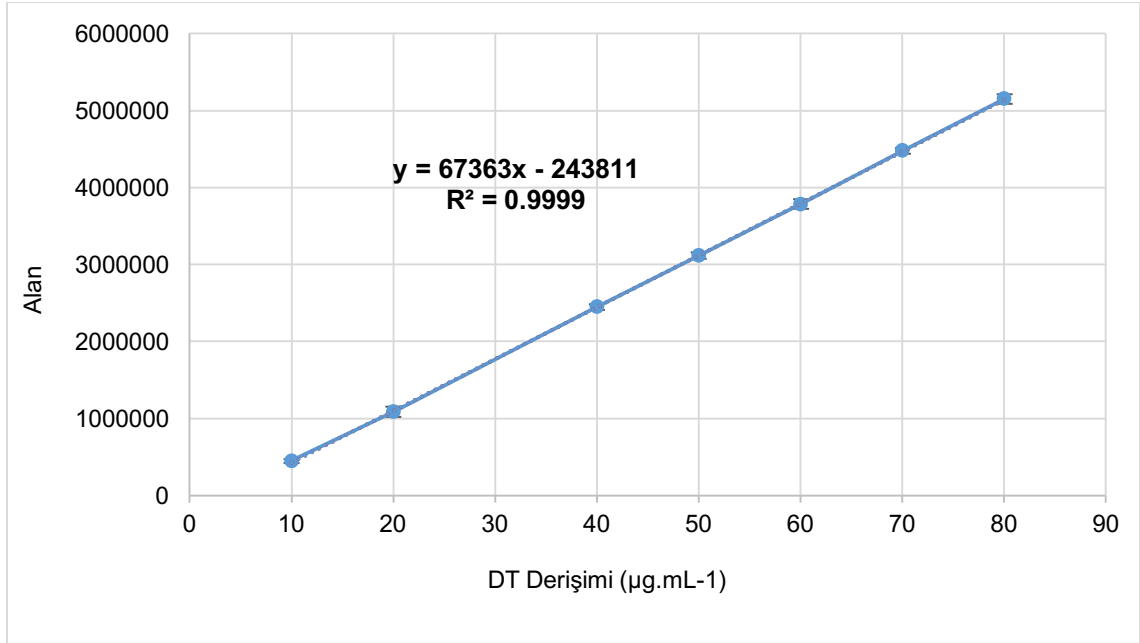
10-80 µg.mL⁻¹ derişim aralığında 7 farklı derişimde 6 kalibrasyon seti hareketli faz içinde hazırlanmış ve ardından YBSK ile analiz edilmiştir. Derişime karşılık gelen alan değerleri Çizelge 5.1.'de sunulmuştur. Alan değerleri kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve eğri ile eğriye ait doğrusallık eşitliği Şekil 5.10.'da sunulmuştur.

Çizelge 5.1. Doğrusallık Çalışması için Hazırlanan Seriler ve Alan Değerleri (n=6)

DT (µg/mL)	Alan Değerleri						Ortalama
	1. Seri	2. Seri	3. Seri	4. Seri	5. Seri	6. Seri	
10	473564	458835	400954	449403	458226	456137	449536.500
20	1157463	1158086	1026067	1118133	1048344	1016929	1087503.667

Çizelge 5.1. (Devam) Doğrusallık Çalışması için Hazırlanan Seriler ve Alan Değerleri (n=6)

40	2445455	2514408	2455184	2408264	2413220	2457160	2448948.500
50	3097585	3187891	3089947	3121867	3122932	3084470	3117448.667
60	3746606	3781373	3757593	3814872	3723403	3899937	3787297.333
70	4419778	4500729	4456986	4529531	4503362	4458910	4478266.000
80	5139575	5068814	5186356	5207974	5221657	5100180	5154092.667



Şekil 5.10. DT'nin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi'ne ait Standart Eğri ve Doğrusallık Eşitliği (n=6)

5.2.1.2. Kesinlik

DT'nin 25, 50, 75 µg.mL⁻¹ derişimde 3 farklı çözeltisi hazırlanmıştır. Her bir derişim için 6 tekrar analizi artarda 3 gün yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrusallık çalışmasında elde edilen eşitlik yardımıyla hesaplanmış ve bilinen derişimler ile karşılaştırılarak yöntemin kesinliği incelenmiştir. Kesinlik için kabuledilebilirlik sınırı varyasyon katsayısının % 2'den düşük olmasıdır. Kesinlik çalışması sonuçları Çizelge

5.2., Çizelge 5.3. ve Çizelge 5.4.'te sunulmuştur. Bulguların kabuledilebilirlik sınırı içinde olması yöntemin kesinliğini kanıtlamaktadır.

Çizelge 5.2. $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ Derişim için Kesinlik Sonuçları

$25 \mu\text{g.mL}^{-1}$			
	1. Gün (Alan)	2. Gün (Alan)	3. gün (Alan)
1533030		1530736	1546271
1517832		1543920	1578250
1553144		1588217	1563561
1547768		1585254	1574465
1513513		1538741	1505341
1519463		1560049	1529350
	1. Gün (Derişim)	2. Gün (Derişim)	3. gün (Derişim)
26.3771		26.3431	26.5737
26.1515		26.5388	27.0484
26.6757		27.1964	26.8303
26.5959		27.1524	26.9922
26.0874		26.4619	25.9661
26.1757		26.7782	26.3225
Ortalama	26.3439	26.7451	26.6222
Standart Hata	0.1009	0.1477	0.1717
Varyasyon Katsayısı	0.9388	1.3533	1.5799
% 95 Güven Aralığı	0.2595	0.3798	0.4414

Çizelge 5.3. $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ Derişim için Kesinlik Sonuçları

$50 \mu\text{g/mL}^{-1}$			
	1. Gün (Alan)	2. Gün (Alan)	3. gün (Alan)
	3266219	3318870	3306404
	3148650	3315985	3268826
	3316408	3234179	3332771
	3166293	3381829	3290351
	3238394	3252933	3342994
	3212493	3317101	3288808
	1. Gün (Derişim)	2. Gün (Derişim)	3. gün (Derişim)
	52.1062	52.8878	52.7027
	50.3609	52.8450	52.1449
	52.8513	51.6306	53.0942
	50.6228	53.8224	52.4644
	51.6931	51.9090	53.2459
	51.3086	52.8615	52.4415
Ortalama	51.4905	52.6594	52.6823
Standart Hata	0.3801	0.3215	0.1715
Varyasyon Katsayısı	1.8081	1.4957	0.7972
% 95 Güven Aralığı	0.9770	0.8266	0.4407

Çizelge 5.4. 75 µg.mL⁻¹ Derişim için Kesinlik Sonuçları

75 µg/mL ⁻¹			
	1. Gün (Alan)	2. Gün (Alan)	3. gün (Alan)
	4749992	4730109	4727311
	4857276	4806928	4787966
	4840482	4729851	4610718
	4800131	4712138	4774587
	4721966	4709191	4762852
	4746458	4799769	4770032
	1. Gün (Derişim)	2. Gün (Derişim)	3. gün (Derişim)
	74.1327	73.8376	73.7960
	75.7254	74.9779	74.6965
	75.4760	73.8337	72.0652
	74.8770	73.5708	74.4978
	73.7167	73.5270	74.3236
	74.0803	74.8717	74.4302
Ortalama	74.6680	74.1031	73.9682
Standart Hata	0.3342	0.2655	0.4001
Varyasyon Katsayısı	1.0965	0.8775	1.3248
% 95 Güven Aralığı	0.8592	0.6824	1.0284

5.2.1.3. Doğruluk

Doğruluğun belirlenebilmesi için 3 farklı derişimde (20 µg.mL⁻¹, 40 µg.mL⁻¹, 60 µg.mL⁻¹) DT içeren stok çözelti hazırlanmış ve her bir derişim için 6 tekrar analizi yapılmıştır. Elde edilen derişim değerleri doğrusallık çalışmasında elde edilen eşitlik kullanılarak hesaplanmış ve bilinen derişimler ile karşılaştırılarak yöntemin doğruluğu %

geri kazanım' olarak hesaplanmıştır. Doğruluk çalışması için kabuledilebilirlik sınırı % 98-102 ($\pm$ % 2) aralığıdır. Yöntemin geri kazanım ve doğruluğu elde edilen sonuçlara göre kanıtlanmıştır. Sonuçlar Çizelge 5.5.'de sunulmuştur.

Çizelge 5.5. DT'nin YBSK ile Elde Edilen Doğruluk Değerleri (n=6)

	Eklenen Derişim		
	20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	40 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	60 $\mu\text{g.mL}^{-1}$
Elde edilen alan	1097256	2451155	3757601
	1128104	2429998	3759998
	1125049	2436078	3790698
	1117033	2417396	3825631
	1098454	2494770	3743029
	1116879	2469071	3797652
Bulunan Derişim	19.9081	40.0066	59.4007
	20.3660	39.6925	59.4363
	20.3207	39.7828	59.8921
	20.2017	39.5055	60.4106
	19.9258	40.6541	59.1844
	20.1994	40.2726	59.9953
% Geri Kazanım	99.5403	100.0166	99.0012
	101.8300	99.2314	99.0605
	101.6033	99.4570	99.8201
	101.0083	98.7637	100.6844
	99.6292	101.6352	98.6407

Çizelge 5.5. (Devam) DT'nin YBSK ile Elde Edilen Doğruluk Değerleri (n=6)

	100.9968	100.6815	99.9922
Ortalama % Geri Kazanım	100.7680	99.9642	99.5332
Standart Hata	0.3975	0.4299	0.3120
Varyasyon Katsayısı	0.9662	1.0535	0.7679
% 95 Güven Aralığı	1.0217	1.1052	0.8021

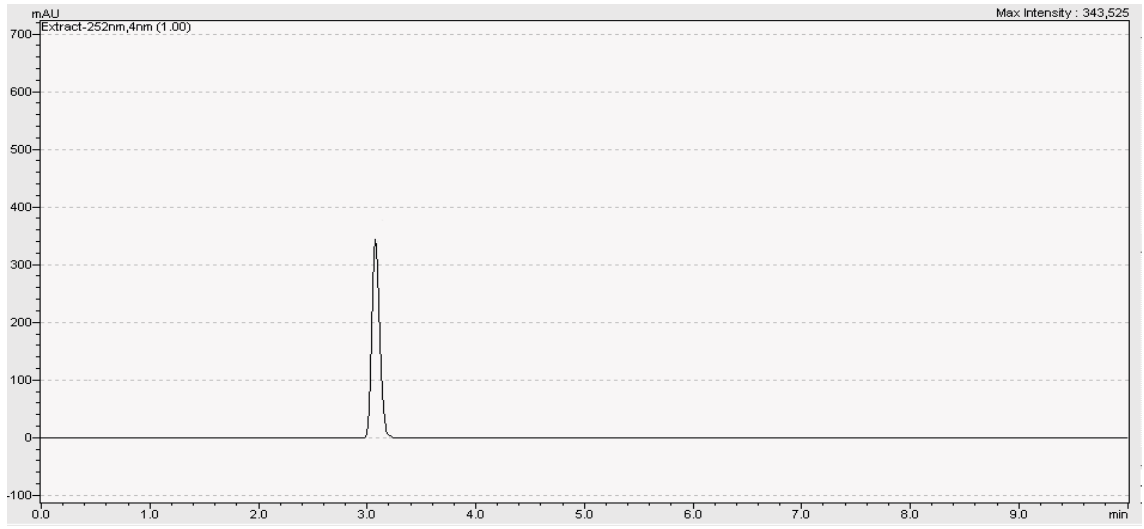
5.2.1.4. Duyarlılık

LOD ve LOQ değerleri '4.2.1.4. *Duyarlılık*' bölümünde söz edilen Eşitlik 1 ve Eşitlik 2 kullanılarak hesaplanmış ve sırasıyla $0.5613 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ve $1.7010 \mu\text{g.mL}^{-1}$ olduğu bulunmuştur.

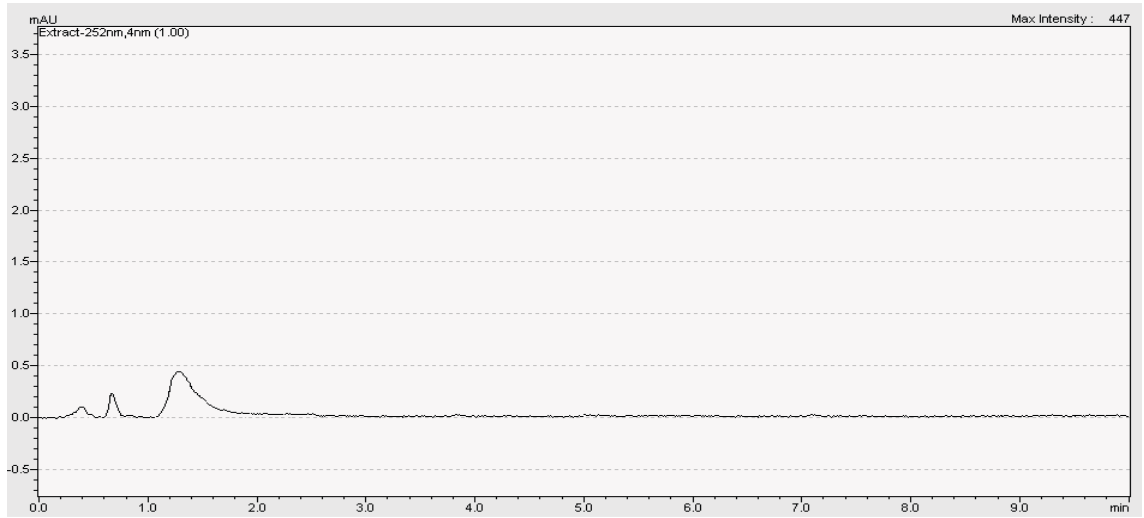
Yöntemin duyarlılığı için kabuledilebilir doğruluk ve kesinlikte ölçülebilen en küçük derişim $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ olup hesaplanan LOD ve LOQ değerleri bu değerin çok altında bulunmuştur. Bu sonuçlar yöntemin duyarlılığını kanıtlamaktadır.

5.2.1.5. Seçicilik

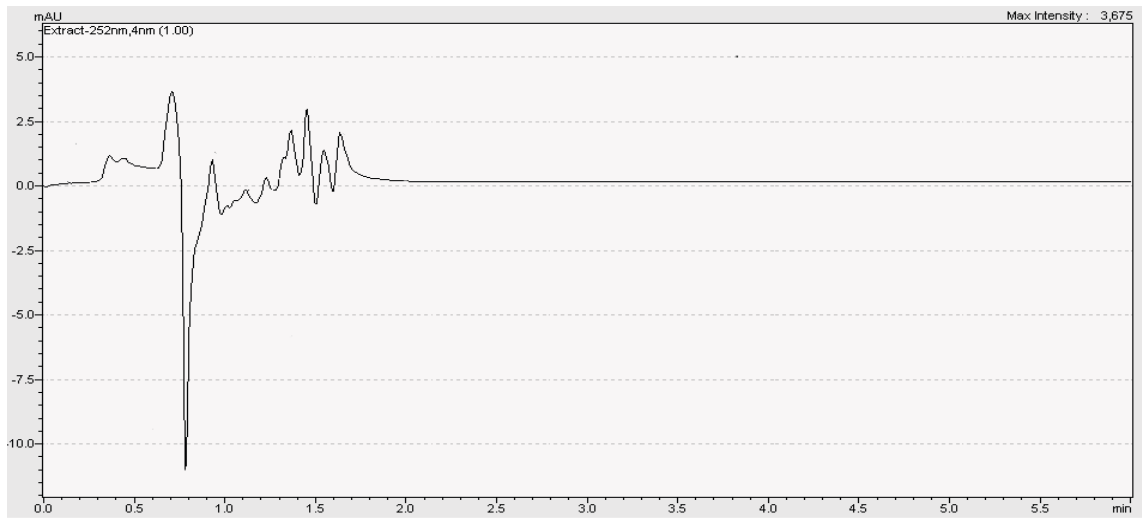
Seçicilik çalışması için DT, hareketli faz ve PBS için (pH 7.4) elde edilen kromatogramlar sırasıyla Şekil 5.11., Şekil 5.12. ve Şekil 5.13.'de sunulmuştur. Miktar tayini çalışmalarında kullanılan distile su ve 2-propanol'e ait kromatogramlar ise sırasıyla Şekil 5.14. ve Şekil 5.15'de sunulmuştur. Çalışmada etkin madde içermeyen plasebo formülasyon da aynı koşullarda analiz edilmiş ve farklı polimerler ve katı lipitlerle hazırlanan plasebo formülasyonlara ait kromatogramlar Şekil 5.16., Şekil 5.17., Şekil 5.18., Şekil 5.19., Şekil 5.20.'de sunulmuştur. Elde edilen kromatogramlar DT'nin iyi biçimde ayrıldığını göstermektedir.



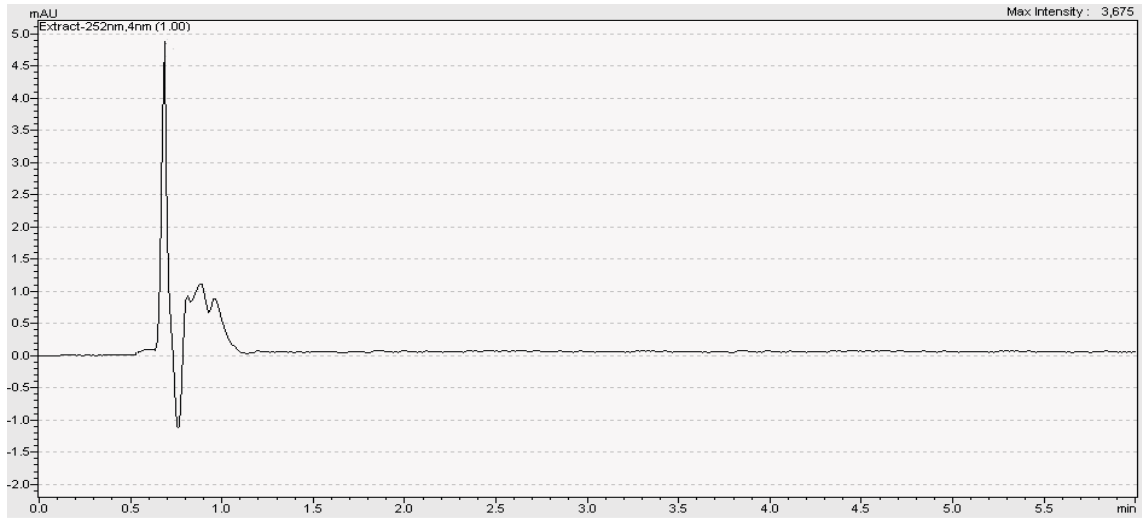
Şekil 5.11. DT'ye ait YBSK Kromatogramı



Şekil 5.12. Hareketli Faza ait YBSK Kromatogramı



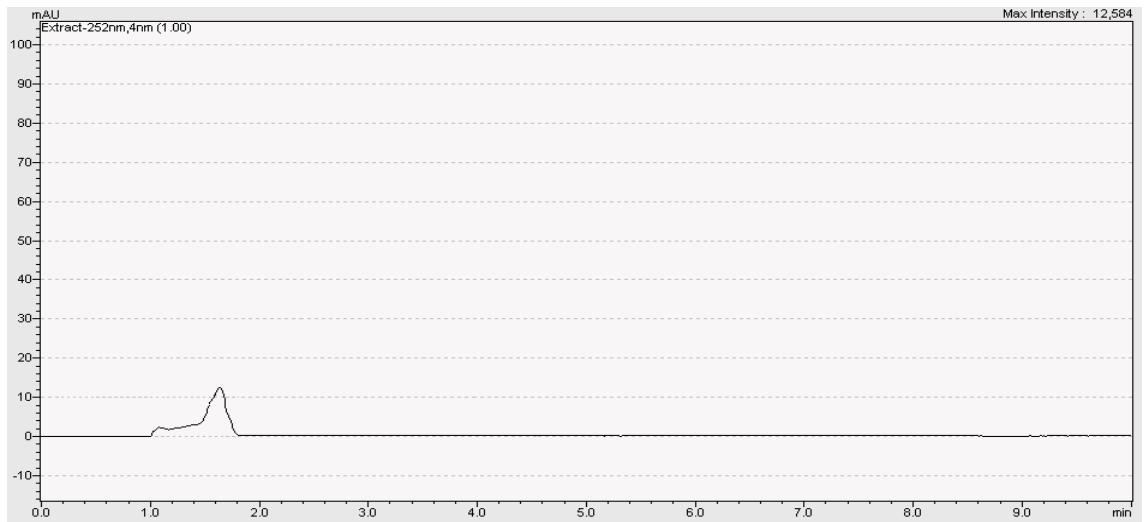
Şekil 5.13. PBS'ye (pH 7.4) ait YBSK Kromatogramı



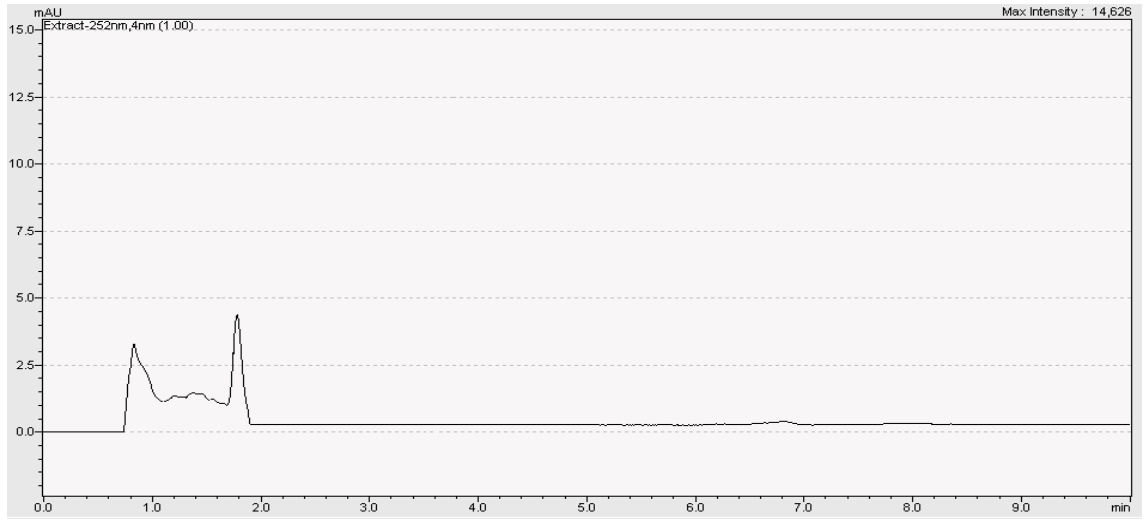
Şekil 5.14. *Distile Suya ait YBSK Kromatogramı*



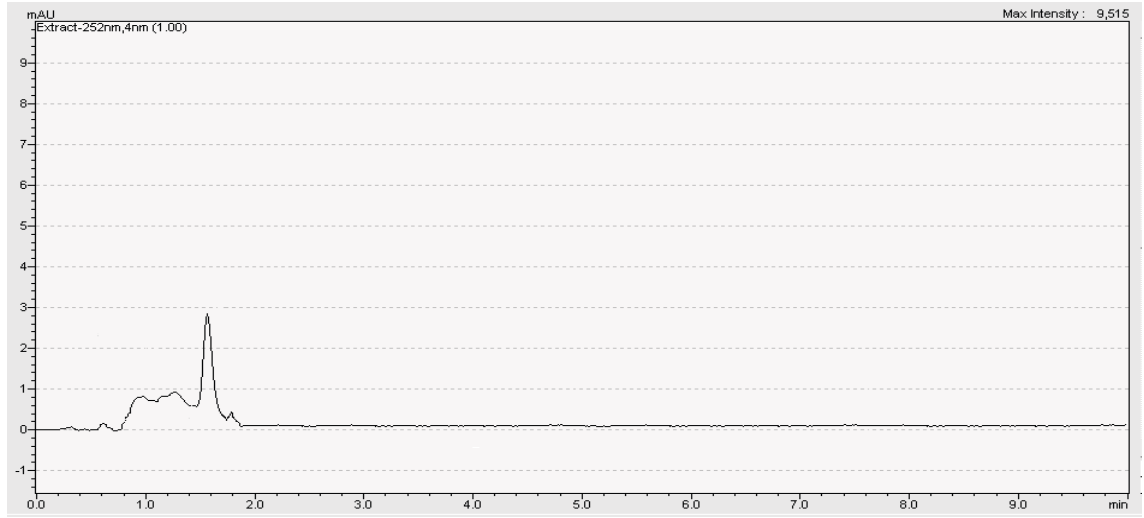
Şekil 5.15. *2-Propanol'e ait YBSK Kromatogramı*



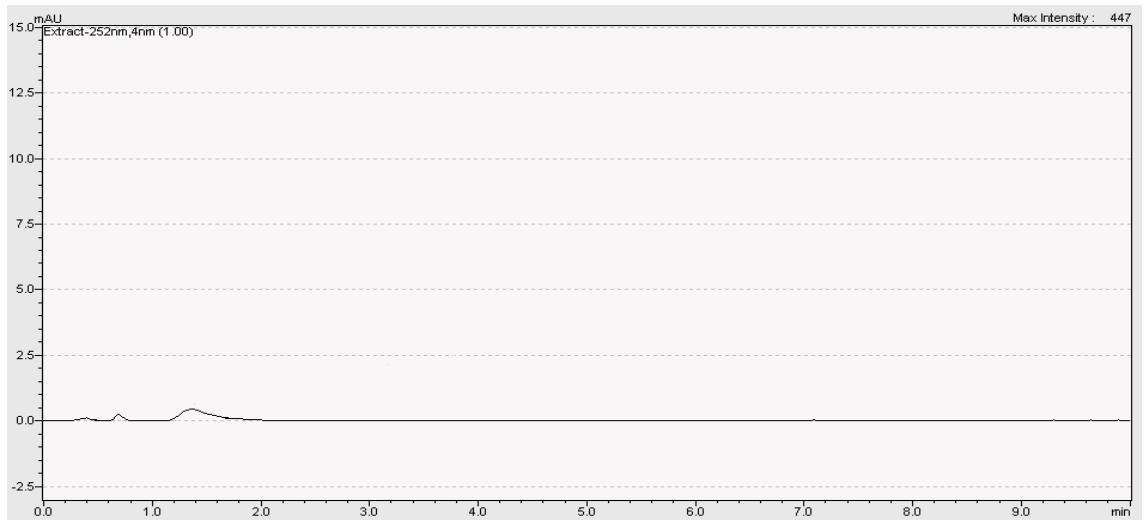
Şekil 5.16. *KSR-Plasebo Formülasyona ait YBSK Kromatogramı*



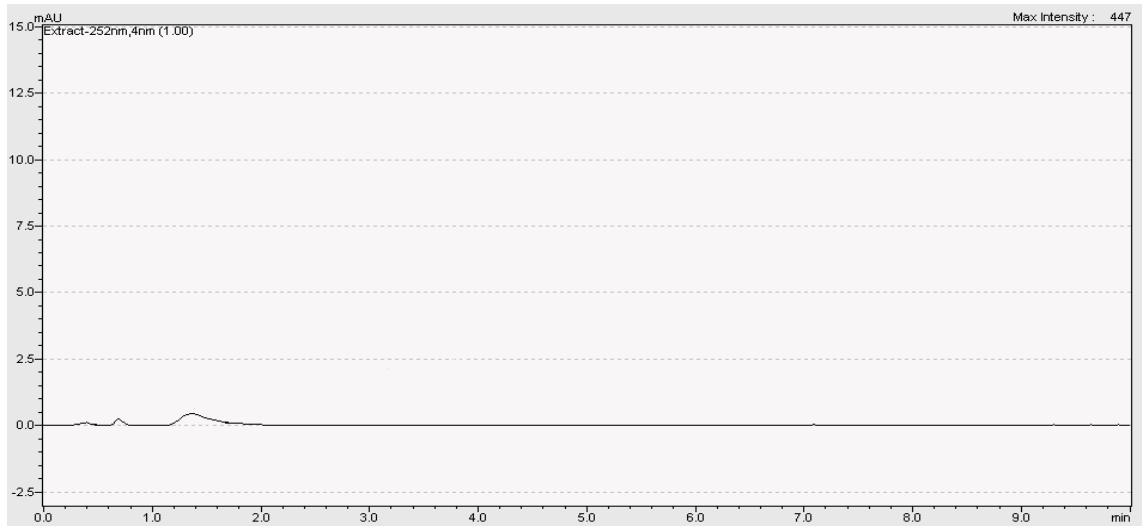
Şekil 5.17. ERS-Plasebo Formülasyona ait YBSK Kromatogramı



Şekil 5.18. ERL-Plasebo Formülasyona ait YBSK Kromatogramı



Şekil 5.19. COMP-Plasebo Formülasyona ait YBSK Kromatogramı



Şekil 5.20. DYN-Plasebo Formülasyona ait YBSK Kromatogramı

5.3. Çalışma Koşulunda Kararlılık

5.3.1. Formülasyon hazırlama koşulunda kararlılık

PNP hazırlama koşulunda DT'nin kararlılığının test edilmesi amacıyla DT'nin 100°C'de 1 saat ultrasonik banyoda bekletilmesinin ardından YBSK ile miktar tayini yapılmıştır. Analiz sonucunda DT'nin % 99.1±0.4 (ort±SH) oranında bozunmadan kaldığı bulunmuştur.

KLN hazırlama koşulunda DT'nin kararlılığını test etmek için DT'nin Compritol® 888 ATO, Dynasan® 114 ve distile su içinde ayrı ayrı hazırlanan çözeltilerinin YBSK analizinde, sırasıyla % 99.2±0.1, % 99.6±0.3, % 99.3±0.5 (ort ± SH) oranlarında bozunmadan kaldığı belirlenmiştir.

5.3.2. Etkin madde miktar tayini için örnek hazırlama koşulunda kararlılık

DT'nin kararlılığı distile su, 2-propanol ve hareketli faz içinde ultrasonikasyon altında incelenip YBSK analizi sonunda DT sırasıyla % 99.4±0.7, % 99.7±0.6, % 99.7±0.5 (ort±SH) oranında bozunmadan kaldığı bulunmuştur.

5.3.3 *In vitro* salım ortamı koşulunda kararlılık

DT'nin salım ortamında (PBS, pH 7.4) kararlılığına ilişkin gerçekleştirilen deney sonucunda 48 saatlik süre sonunda DT'nin salım ortamında % 99.8±0.1 oranında bozunmadan kaldığı saptanmıştır.

5.4. PNP Özelliklerine Ait Çalışma

5.4.1. Parçacık boyutu ve dağılımı

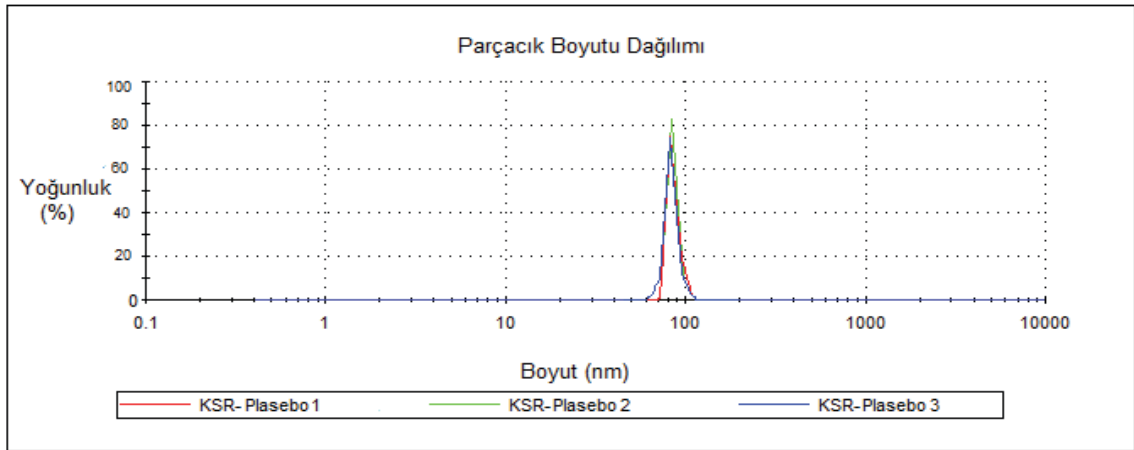
Kollidon® SR, Eudragit® RS 100 ve Eudragit® RL 100 ile hazırlanmış etkin maddeli/maddesiz formülasyonların ortalama parçacık boyutu ve dağılım (PDI) değerleri Çizelge 5.6.'da sunulmuştur.

Çizelge 5.6. *Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan PNP Formülasyonunun Ortalama Parçacık Boyutu ve Dağılım (PDI) Değeri (n=3, Ort±SH)*

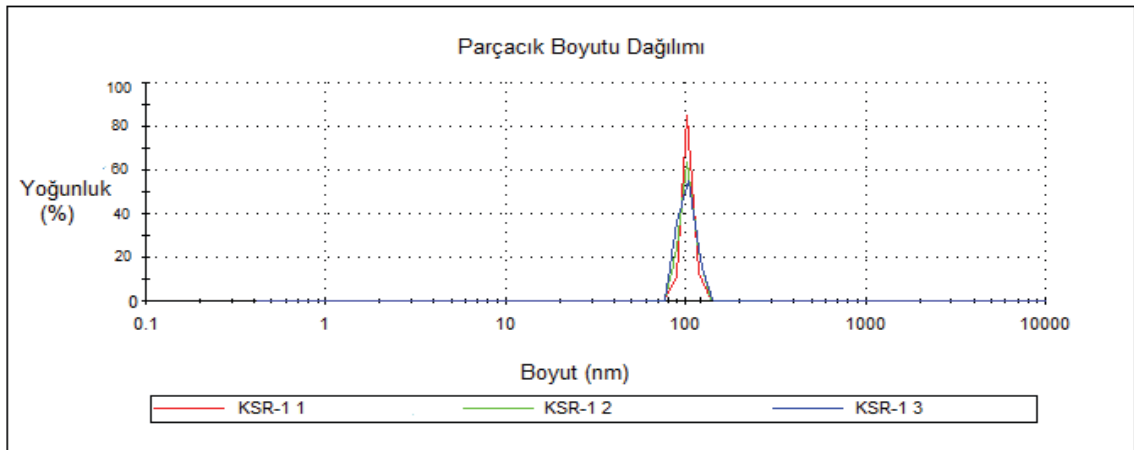
Kod	Ortalama Parçacık Boyutu (nm)±SH	PDI±SH
KSR-Plasebo	92.740±0.976	0.379±0.019
KSR-1	110.601±1.866	0.376±0.016
KSR-2	226.109±0.751	0.377±0.019
KSR-3	357.909±1.723	0.386±0.029
ERS-Plasebo	390.767±1.320	0.445±0.101
ERS 1	538.633±1.675	0.441±0.021
ERS 2	520.733±1.718	0.527±0.015
ERS 3	690.667±0.613	0.478±0.016
ERL-Plasebo	475.501±3.852	0.381±0.012
ERL-1	540.400±1.715	0.395±0.015
ERL-2	571.500±0.615	0.349±0.026
ERL-3	798.700±2.312	0.351±0.060

Plasebo: *Etkin Maddesiz Formülasyon*

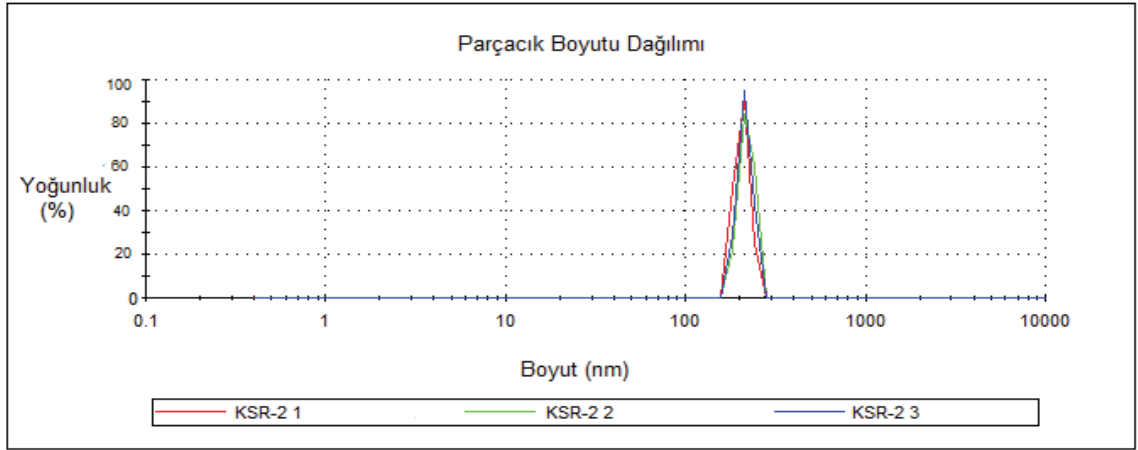
KSR-Plasebo, KSR-1, KSR-2 ve KSR-3 formülasyonuna ait parçacık boyutu dağılım eğrisi sırasıyla Şekil 5.21., Şekil 5.22., Şekil 5.23. ve Şekil 5.24.'te sunulmuştur. ERS-Plasebo, ERS-1, ERS-2 ve ERS-3 formülasyonuna ait parçacık boyutu dağılım eğrisi ise sırasıyla Şekil 5.25., Şekil 5.26., Şekil 5.27. ve Şekil 5.28.'de sunulmuştur. ERL-Plasebo, ERL-1, ERL-2 ve ERL-3 formülasyonuna ait parçacık boyutu dağılım eğrisi de sırasıyla Şekil 5.29., Şekil 5.30., Şekil 5.31. ve Şekil 5.32.'de sunulmuştur.



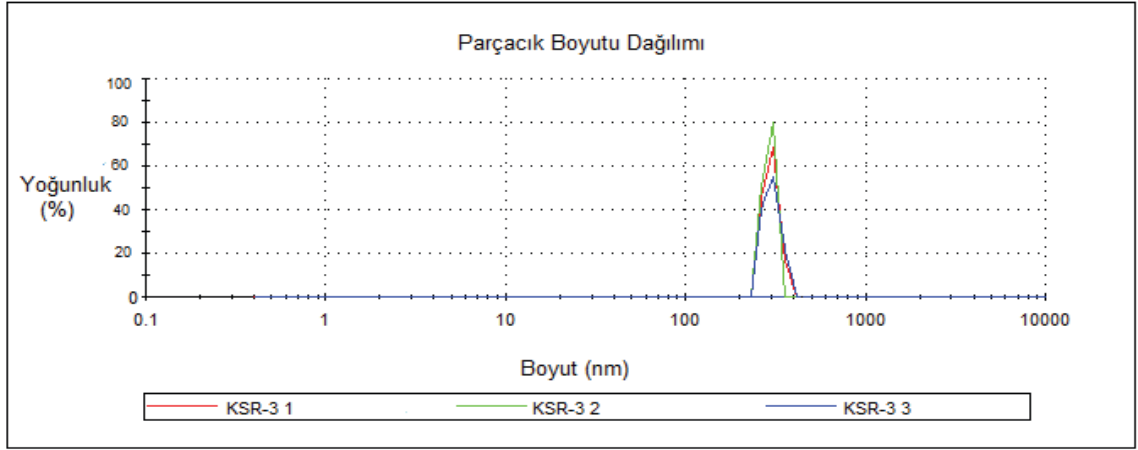
Şekil 5.21. KSR-Plasebo Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı



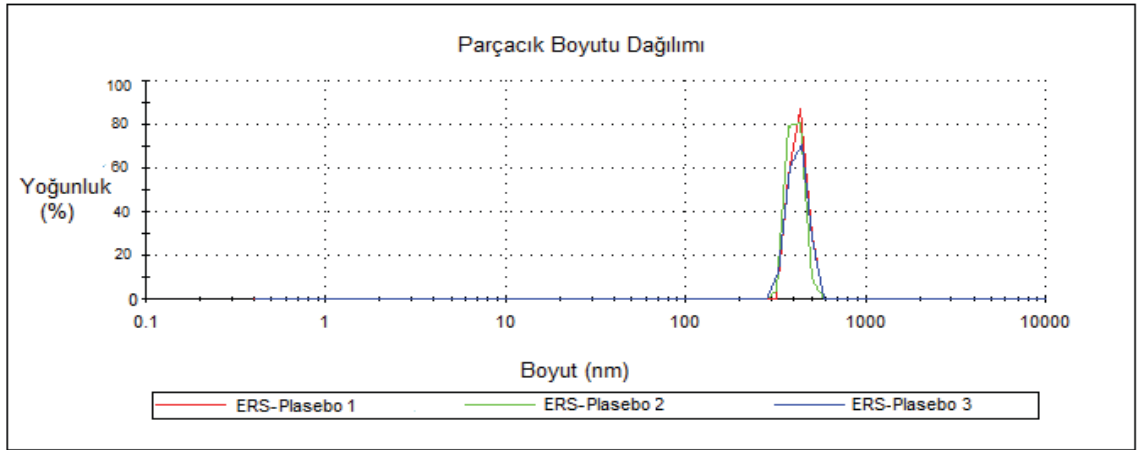
Şekil. 5.22. KSR-1 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı



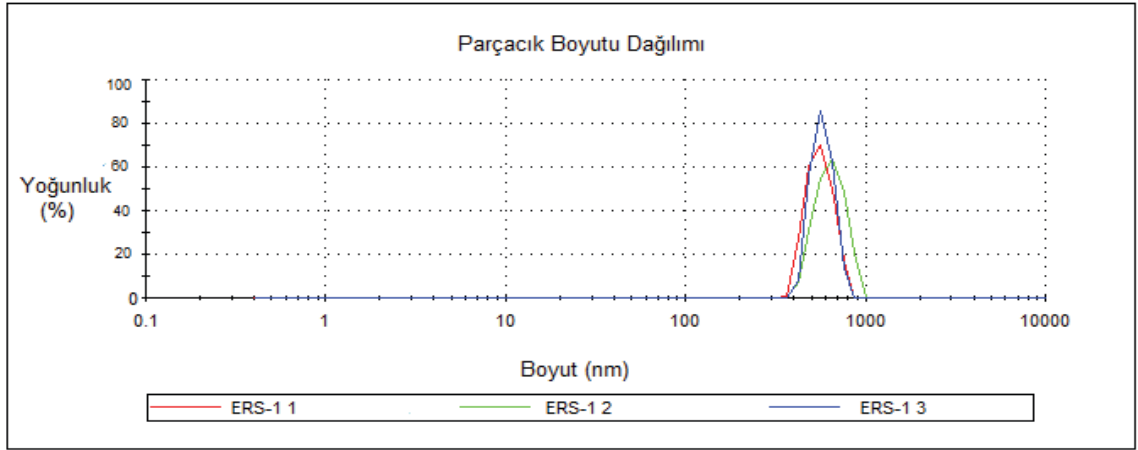
Şekil 5.23. KSR-2 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı



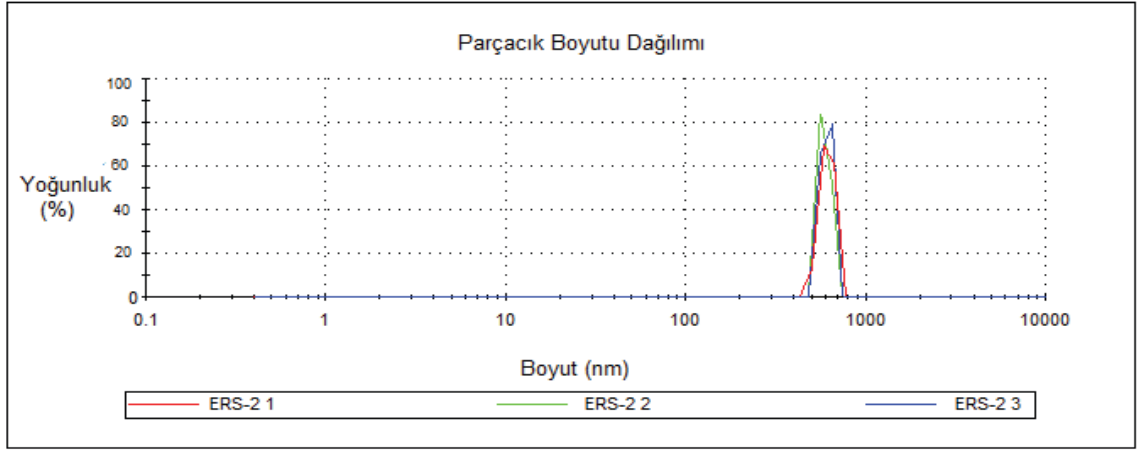
Şekil 5.24. KSR-3 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı



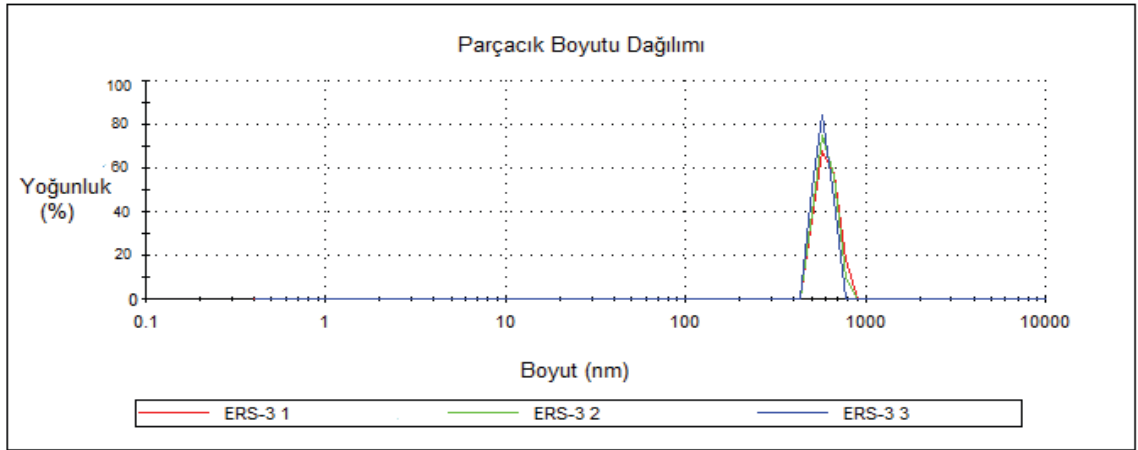
Şekil 5.25. ERS-Plasebo Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı



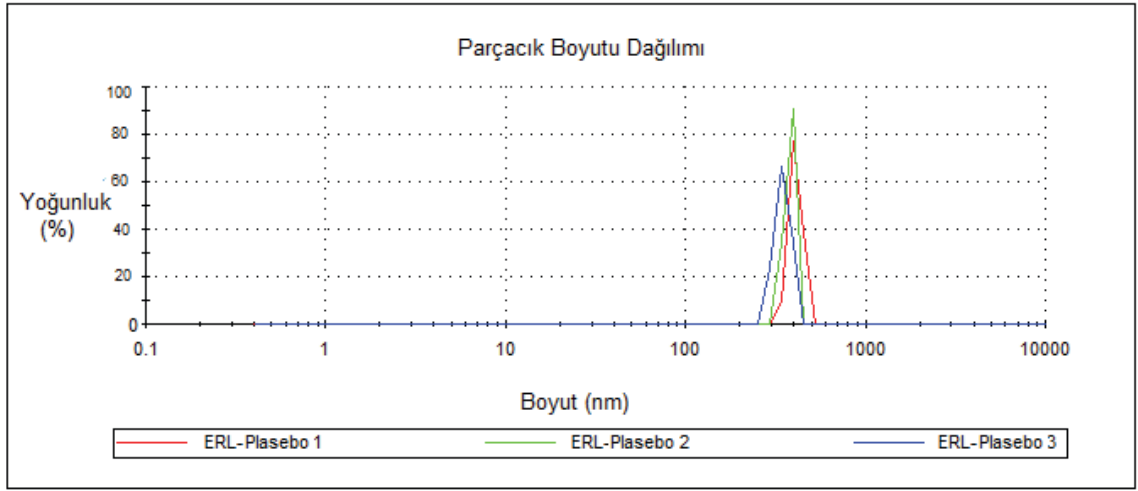
Şekil 5.26. ERS-1 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı



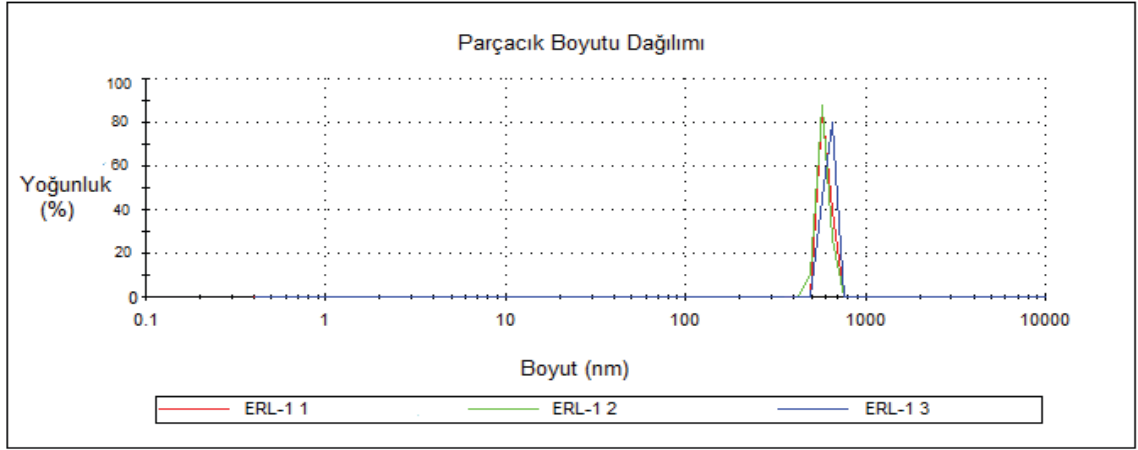
Şekil 5.27. ERS-2 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı



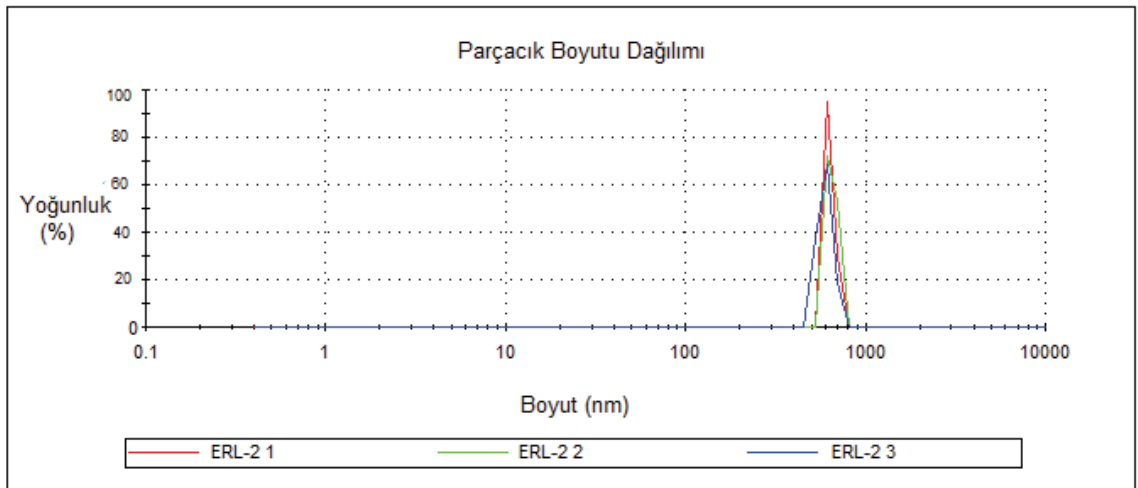
Şekil 5.28. ERS-3 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı



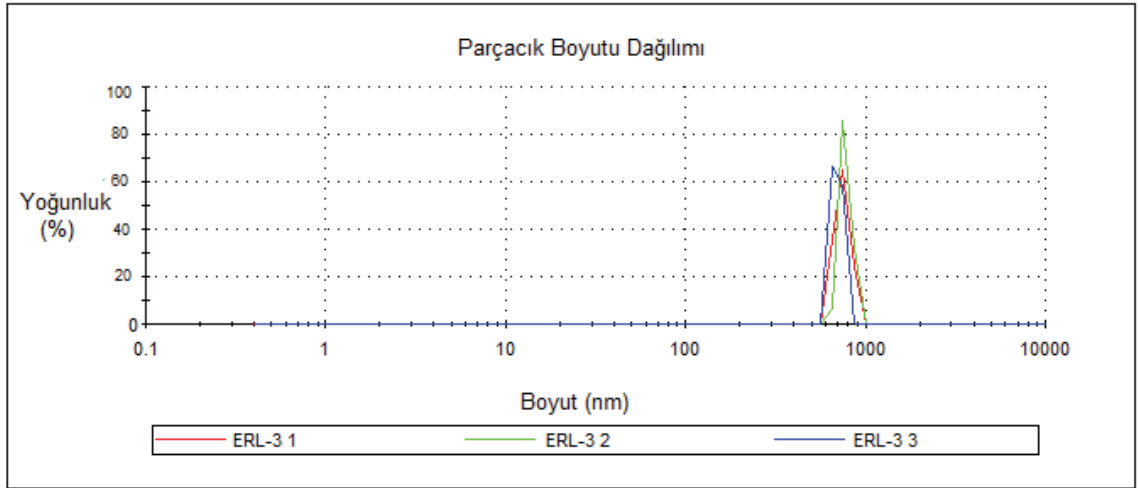
Şekil 5.29. ERL-Plasebo Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı



Şekil 5.30. ERL-1 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı



Şekil 5.31. ERL-2 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı



Şekil 5.32. ERL-3 Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı

5.4.2. Zeta potansiyel

Kollidon® SR, Eudragit® RS 100 ve Eudragit® RL 100 ile hazırlanmış etkin maddeli/maddesiz PNP formülasyonunun ortalama zeta potansiyel değerleri Çizelge 5.7.'de sunulmuştur.

Çizelge 5.7. Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan PNP Formülasyonunun Ortalama Zeta Potansiyel Değeri (n=3, Ort±SH)

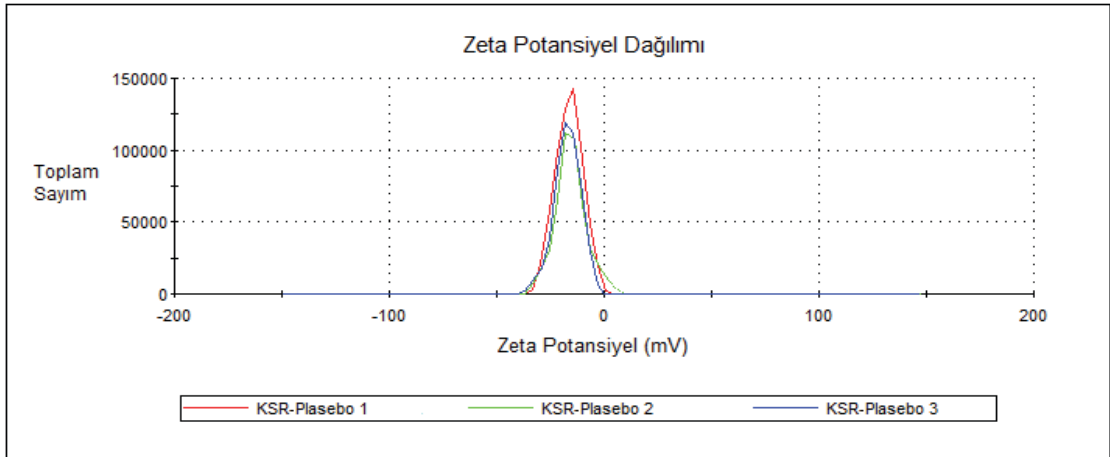
Kod	Zeta Potansiyel (mV)±SH
KSR-Plasebo	- 16.33±0.12
KSR-1	- 16.43±0.45
KSR-2	- 16.76±0.45
KSR-3	- 17.13±0.17
ERS-Plasebo	+ 39.25±0.57
ERS-1	+ 46.35±1.86
ERS-2	+ 39.63±0.21
ERS-3	+ 26.15±1.42
ERL-Plasebo	+ 39.11±0.40

Çizelge 5.7. (Devam) Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan PNP Formülasyonunun Ortalama Zeta Potansiyel Değeri (n=3, Ort±SH)

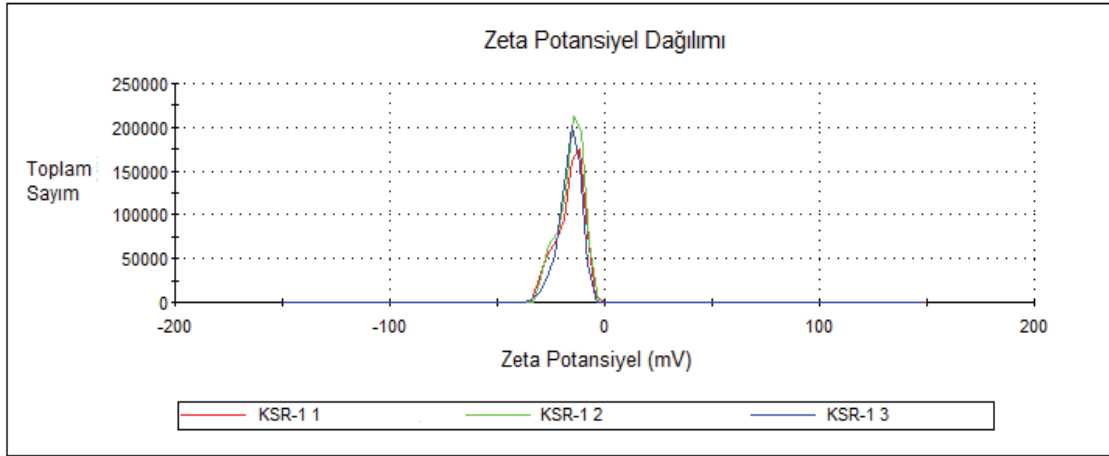
ERL-1	+ 45.05±0.46
ERL-2	+ 43.81±2.10
ERL-3	+ 20.15±0.51

Plasebo: Etkin Maddesiz Formülasyon

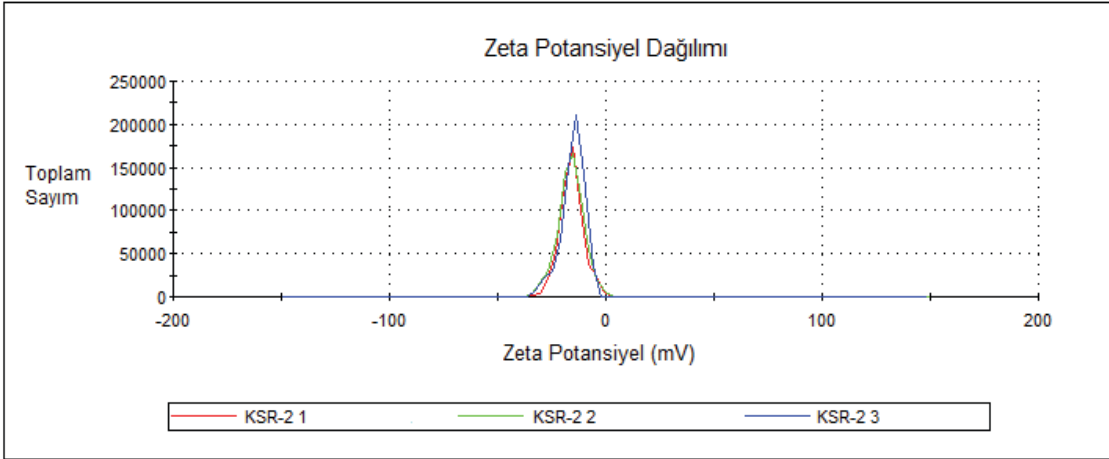
KSR-Plasebo, KSR-1, KSR-2 ve KSR-3 formülasyonuna ait zeta potansiyel dağılımı sırasıyla Şekil 5.33., Şekil 5.34., Şekil 5.35. ve Şekil 5.36.'da sunulmuştur. ERS-Plasebo, ERS-1, ERS-2 ve ERS-3 formülasyonuna ait zeta potansiyel dağılımı ise sırasıyla Şekil 5.37., Şekil 5.38., Şekil 5.39. ve Şekil 5.40.'ta sunulmuştur. ERL-Plasebo, ERL-1, ERL-2 ve ERL-3 formülasyonuna ait zeta potansiyel dağılımı ise sırasıyla Şekil 5.41., Şekil 5.42., Şekil 5.43. ve Şekil 5.44.'te sunulmuştur.



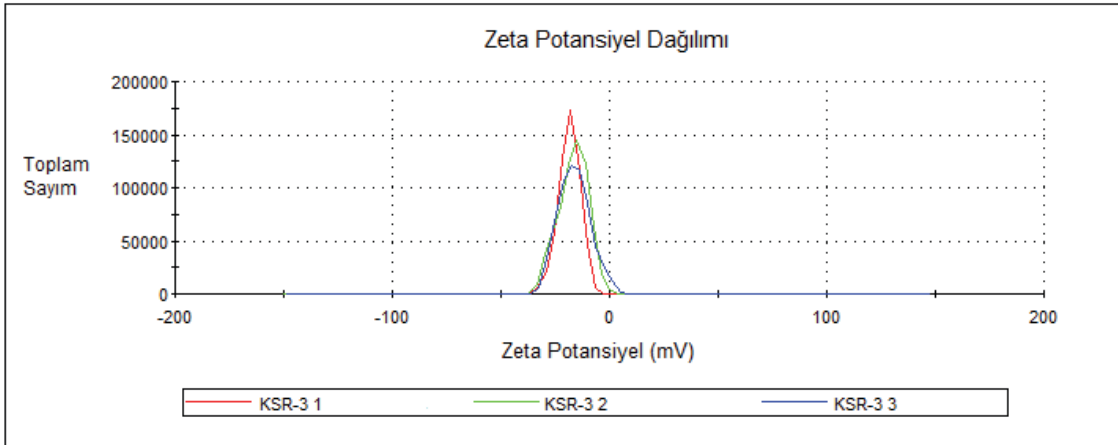
Şekil 5.33. KSR-Plasebo Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı



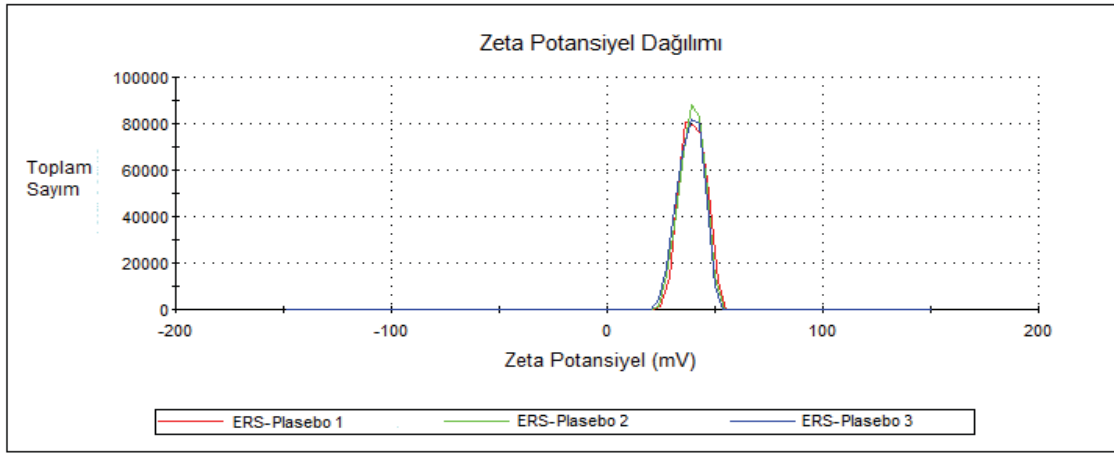
Şekil 5.34. KSR-1 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı



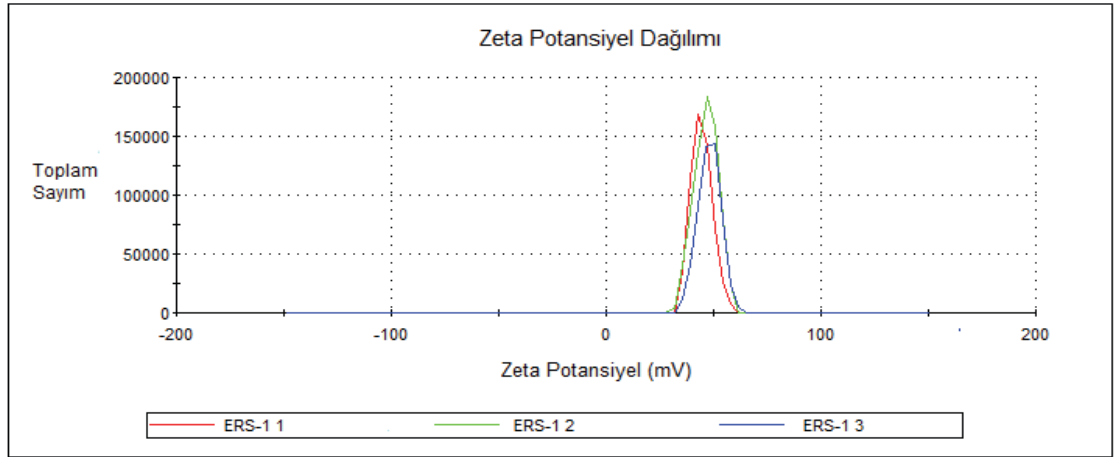
Şekil 5.35. KSR-2 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı



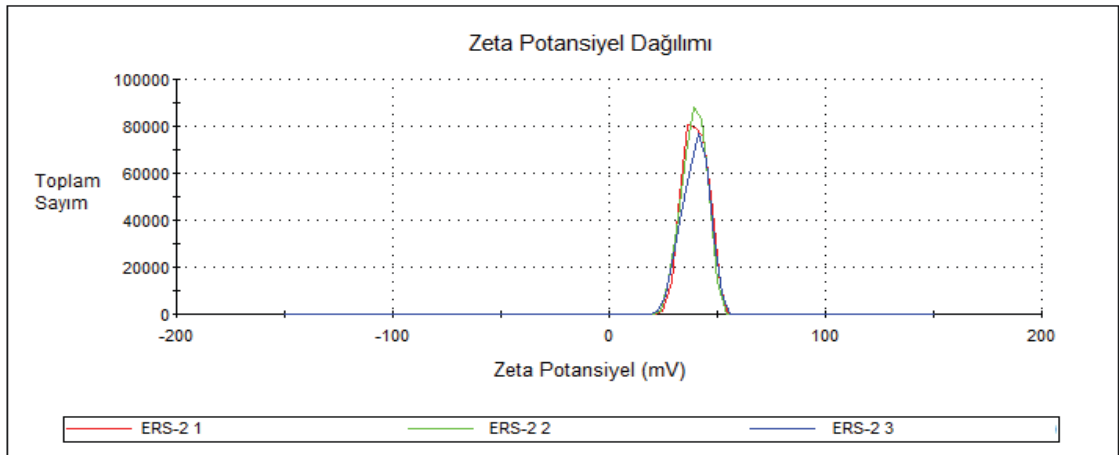
Şekil 5.36. KSR-3 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı



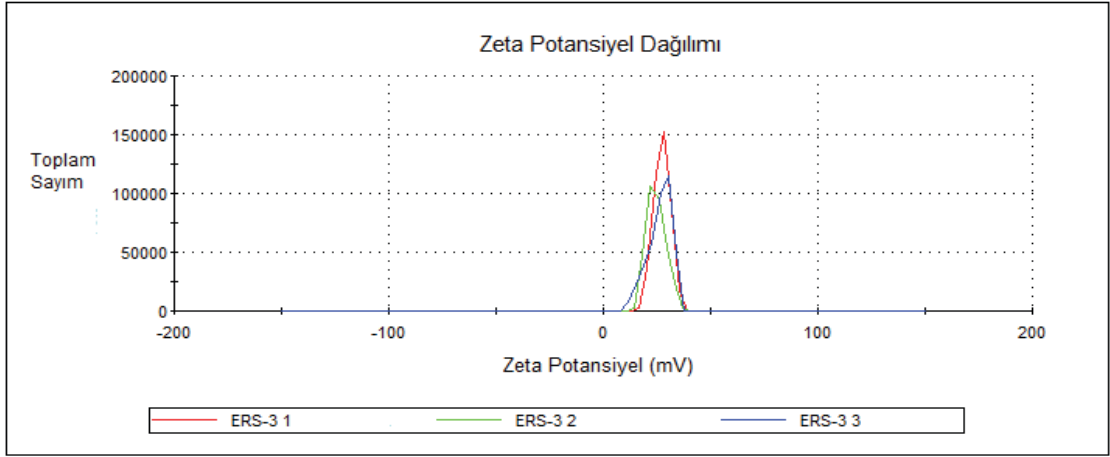
Şekil 5.37. ERS-Plasebo Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı



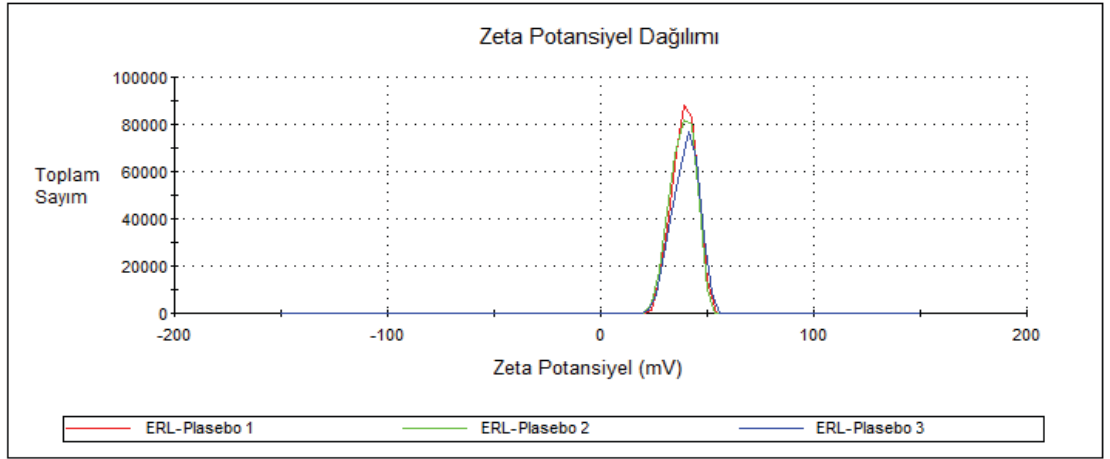
Şekil 5.38. ERS-1 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı



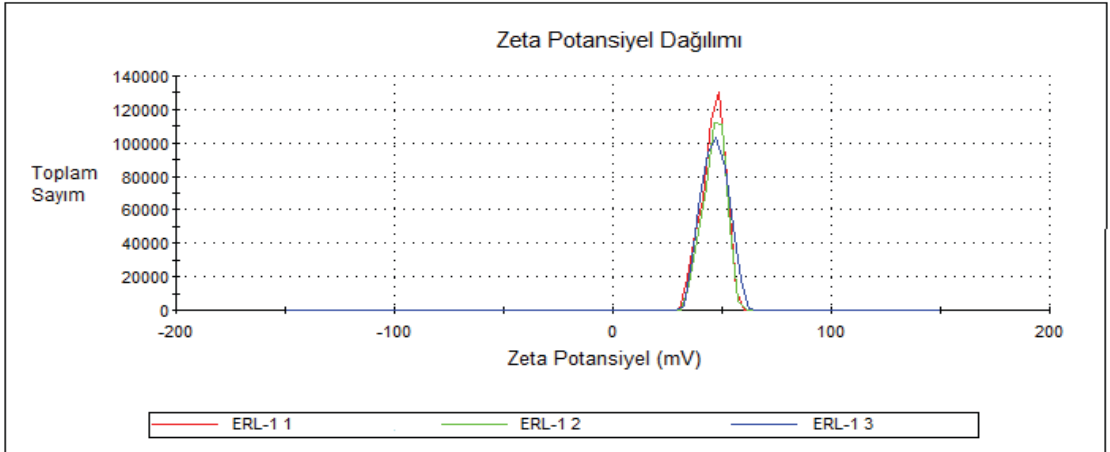
Şekil 5.39. ERS-2 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı



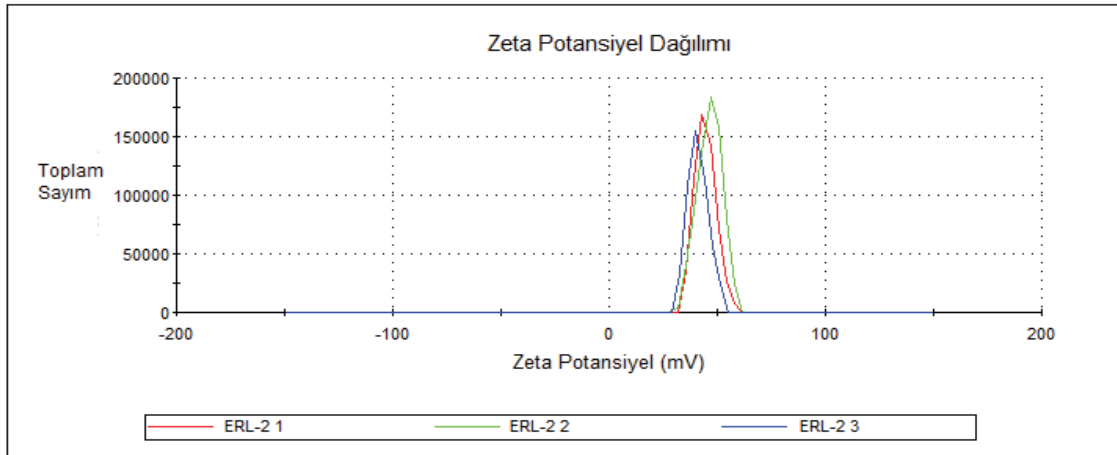
Şekil 5.40. *ERS-3 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı*



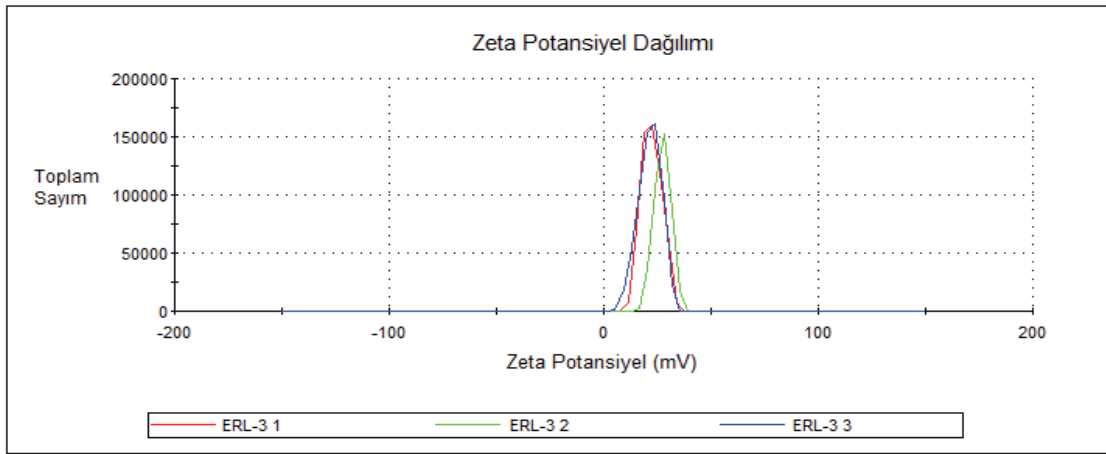
Şekil 5.41. *ERL-Plasebo Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı*



Şekil 5.42. *ERL-1 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı*



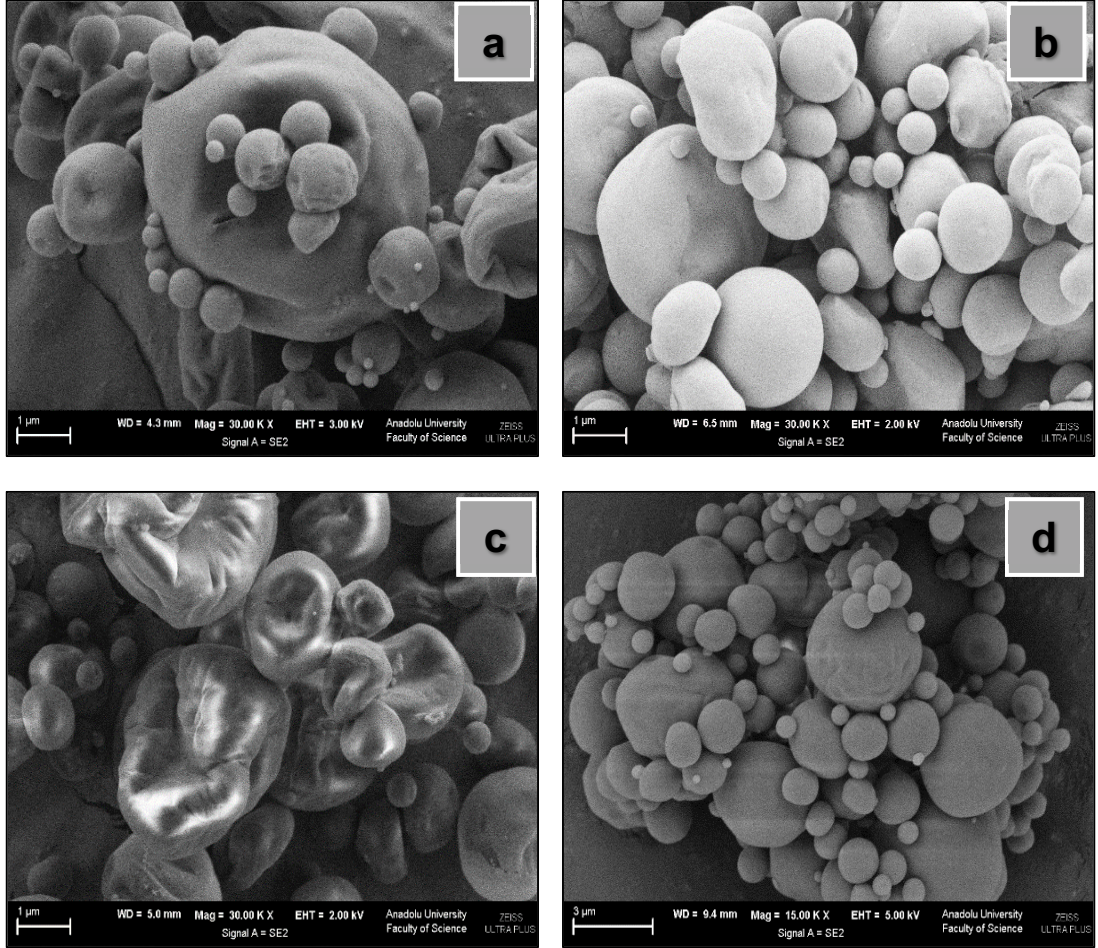
Şekil 5.43. *ERL-2 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı*



Şekil 5.44. *ERL-3 Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı*

5.4.3. Paracak Şekli ve yüzey özellik

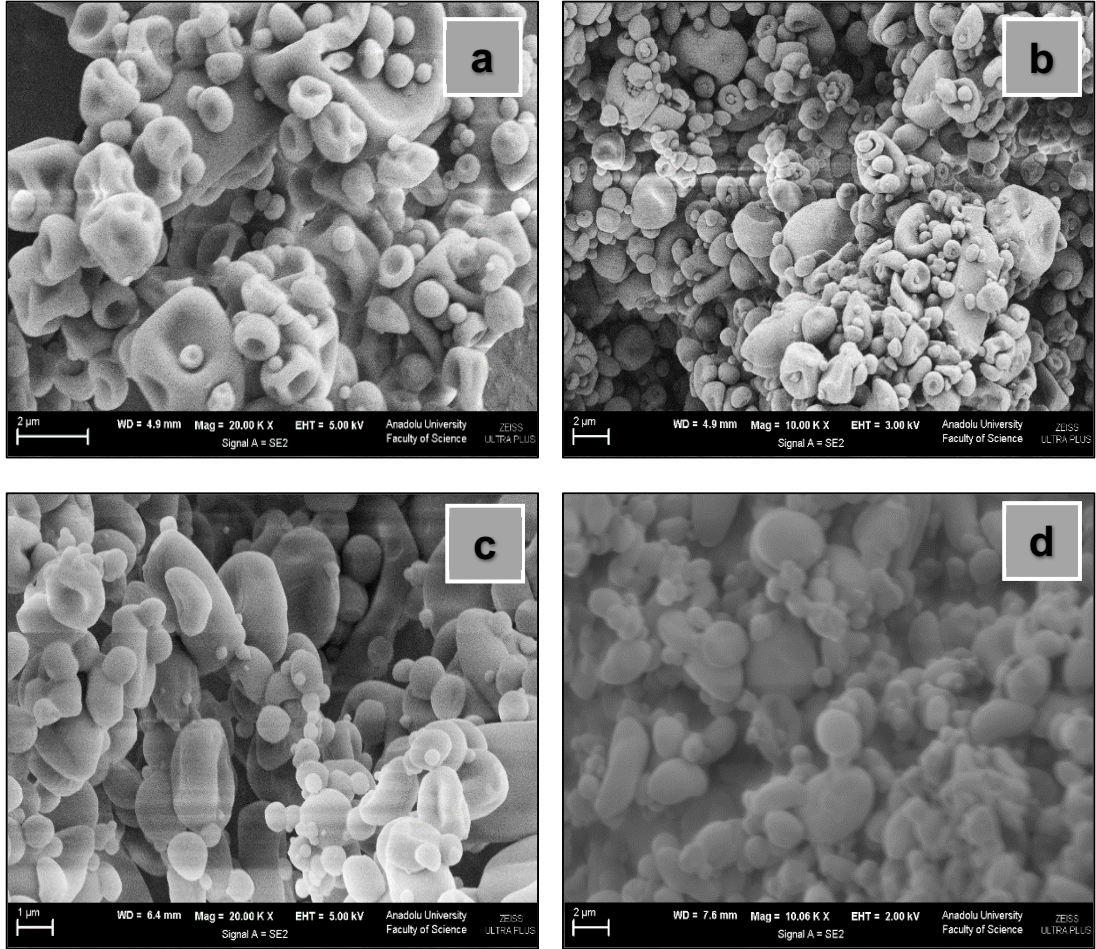
Kollidon® SR ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların taramalı elektron mikroskobu görüntüsü Şekil 5.45.'de sunulmuştur.



Şekil 5.45. *Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Kollidon® SR Formülasyonunun Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü*

a: KSR-Plasebo, x30000, **b:** KSR-1, x30000, **c:** KSR-2, x30000, **d:** KSR-3, x15000

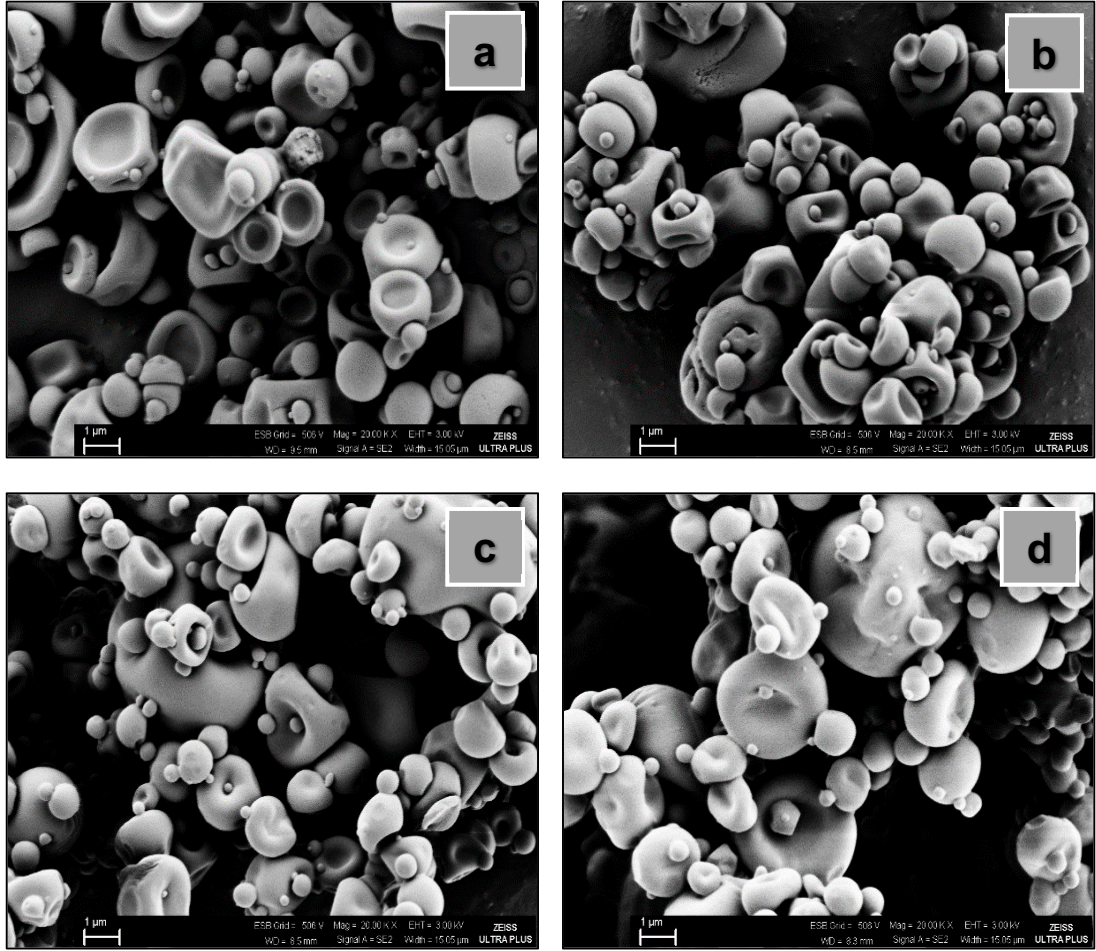
Eudragit® RS 100 ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların taramalı elektron mikroskobu görüntüsü Şekil 5.46.'da sunulmuştur.



Şekil 5.46. Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Eudragit® RS 100 Formülasyonunun Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

a: ERS-Plasebo, x20000, **b:** ERS-1, x10000, **c:** ERS-2, x20000, **d:** ERS-3, x10000

Eudragit® RL 100 ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların taramalı elektron mikroskobu görüntüsü Şekil 5.47.'de sunulmuştur.

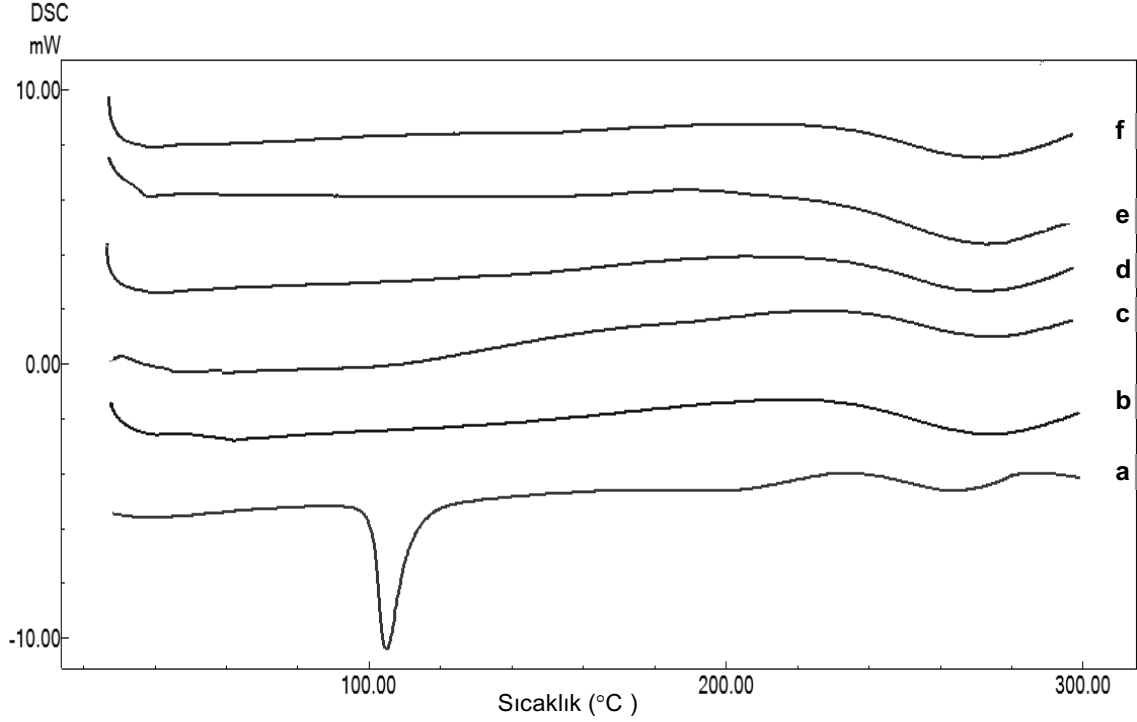


Şekil 5.47. *Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Eudragit® RL 100 Formülasyonunun Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü*

a: ERL-Plasebo, x20000, **b:** ERL-1, x20000, **c:** ERL-2, x20000, **d:** ERL-3, x20000

5.4.4. Termal analiz

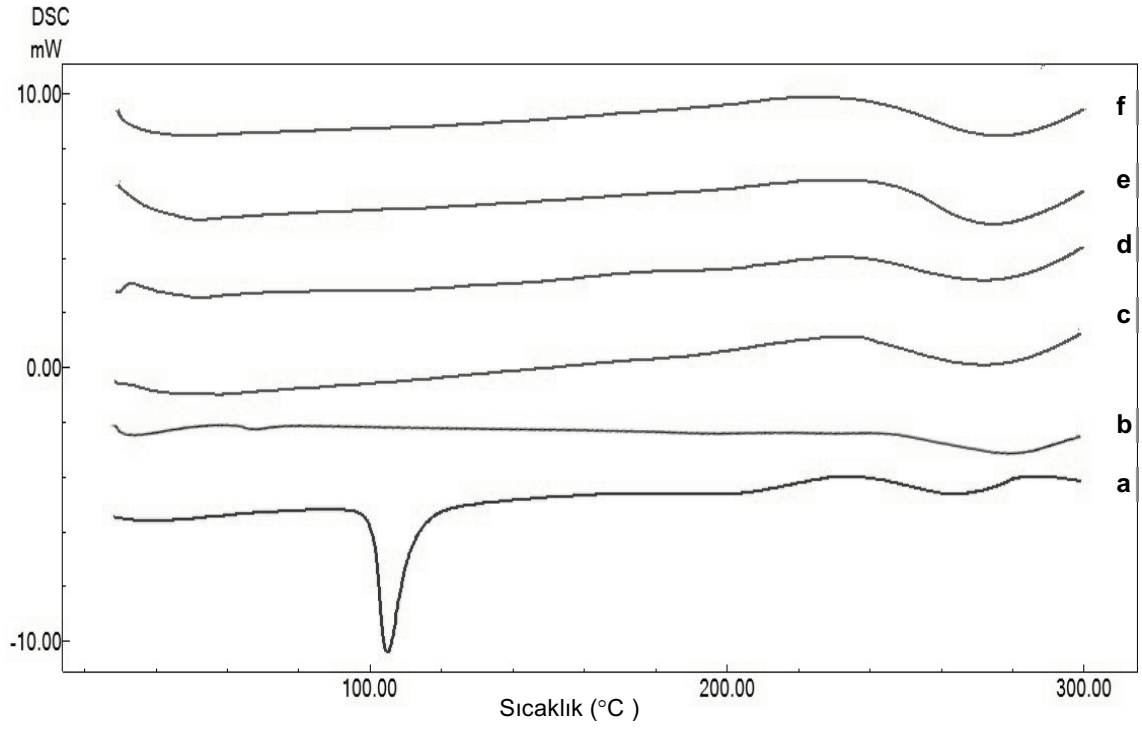
Kollidon® SR ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların termogramları DT ve polimer ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.48.'de sunulmuştur.



Şekil 5.48. Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Kollidon® SR Formülasyonunun Termogramı

a: DT, **b:** Kollidon® SR, **c:** KSR-Plasebo, **d:** KSR-1, **e:** KSR-2, **f:** KSR-3

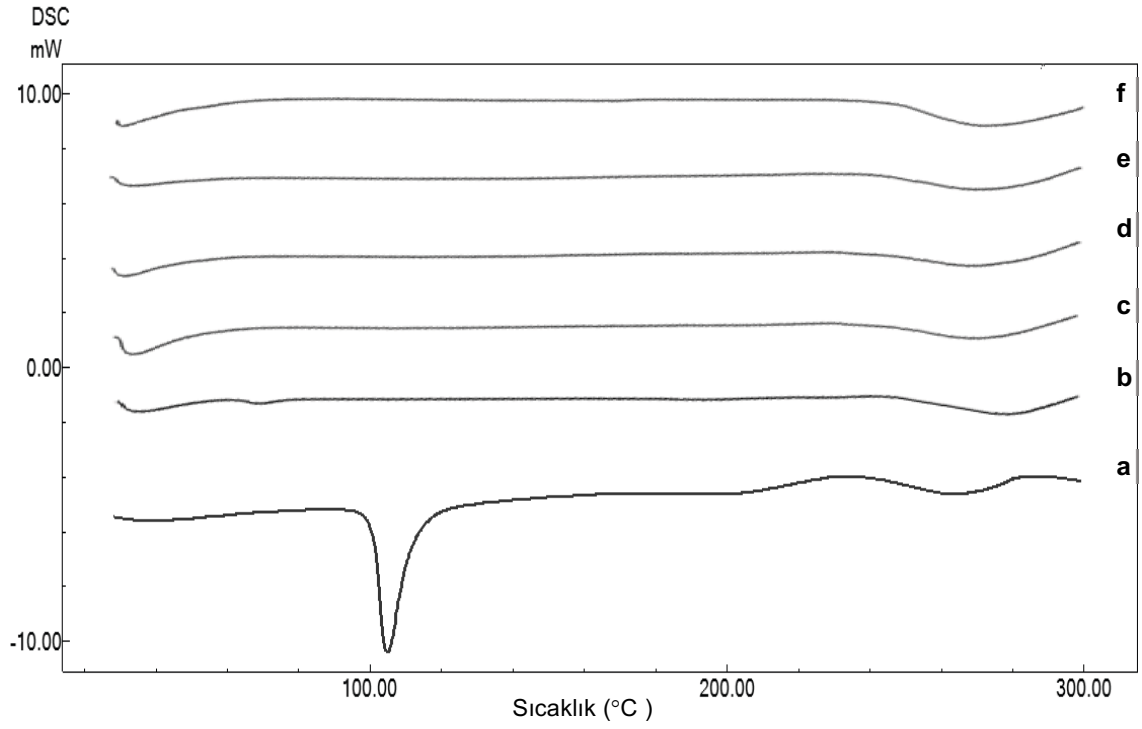
Eudragit® RS 100 ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların termogramları DT ve polimer ile karşılaştırmalı şekilde Şekil 5.49.'da sunulmuştur.



Şekil 5.49. *Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Eudragit® RS 100 Formülasyonunun Termogramı*

a: DT, **b:** Eudragit® RS 100, **c:** ERS-Plasebo, **d:** ERS-1, **e:** ERS-2, **f:** ERS-3

Eudragit® RL 100 ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların termogramları DT ve polimer ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.50.'de sunulmuştur.

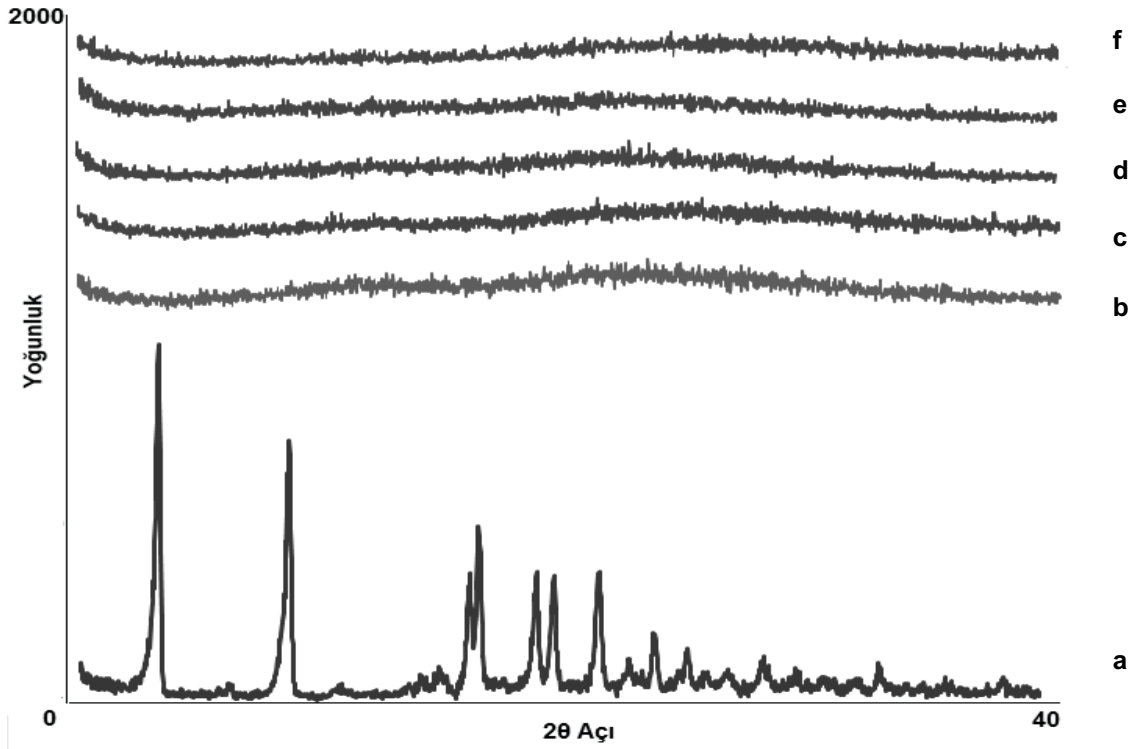


Şekil 5.50. *Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Eudragit® RL 100 Formülasyonunun Termogramı*

a: DT, b: Eudragit® RL 100, c: ERL-Plasebo, d: ERL-1, e: ERL-2, f: ERL-3

5.5.5. X-Işını kırınımı

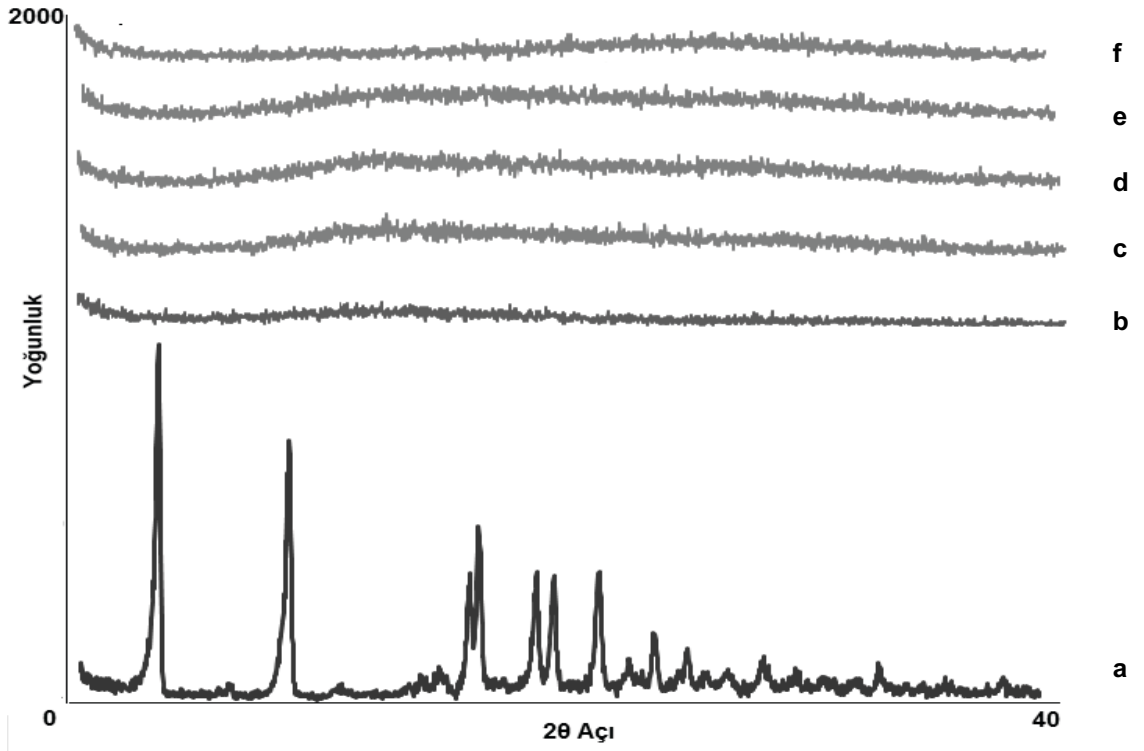
Kollidon® SR ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların X-ışının kırınım profilleri DT ve polimer ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.51.'de sunulmuştur.



Şekil 5.51. *Etkin Maddeli/Maddesiz Kollidon® SR Formülasyonunun X-Işını Kırınımı Profili*

a: DT, **b:** Kollidon® SR, **c:** KSR-Plasebo, **d:** KSR-1, **e:** KSR-2, **f:** KSR-3

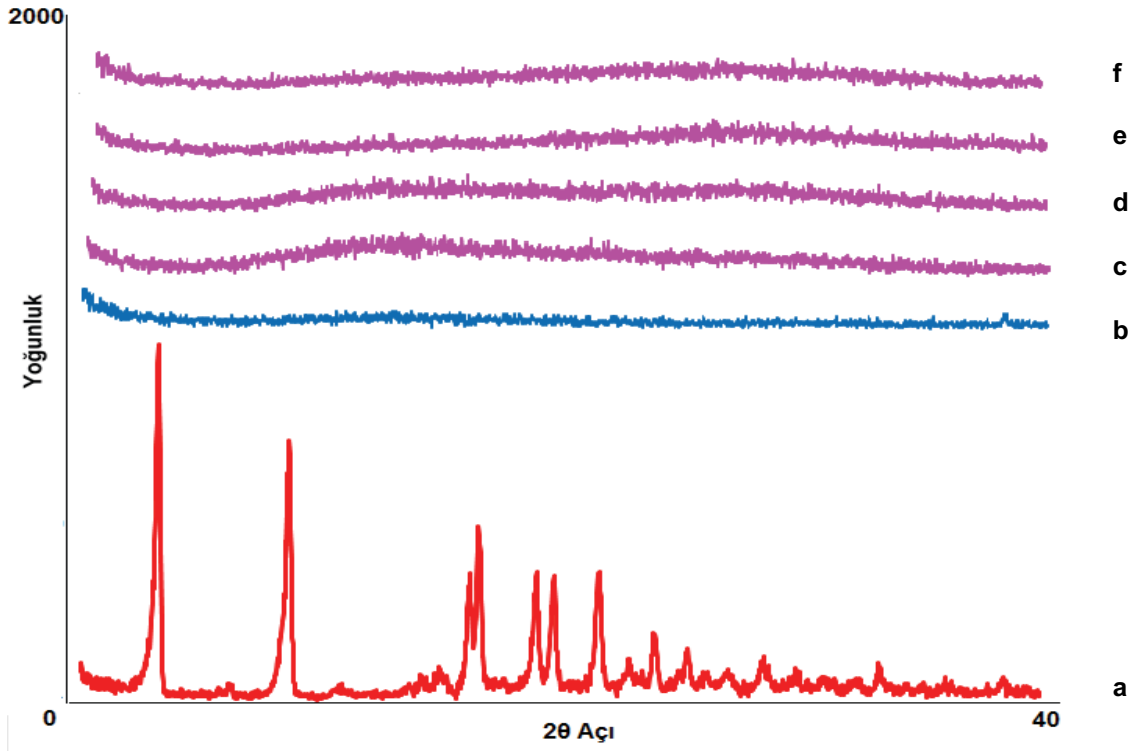
Eudragit® RS 100 ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların X-ışının kırınım profilleri DT ve polimer ile karşılaştırmalı şekilde Şekil 5.52.'de sunulmuştur.



Şekil 5.52. Etkin Maddeli/Maddesiz Eudragit® RS 100 Formülasyonunun X-Işını Kırınımı Profili

a: DT, **b:** Eudragit® RS 100, **c:** ERS-Plasebo, **d:** ERS-1, **e:** ERS-2, **f:** ERS-3

Eudragit® RL 100 ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların X-ışının kırınım profilleri DT ve polimer ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.53.'de sunulmuştur.

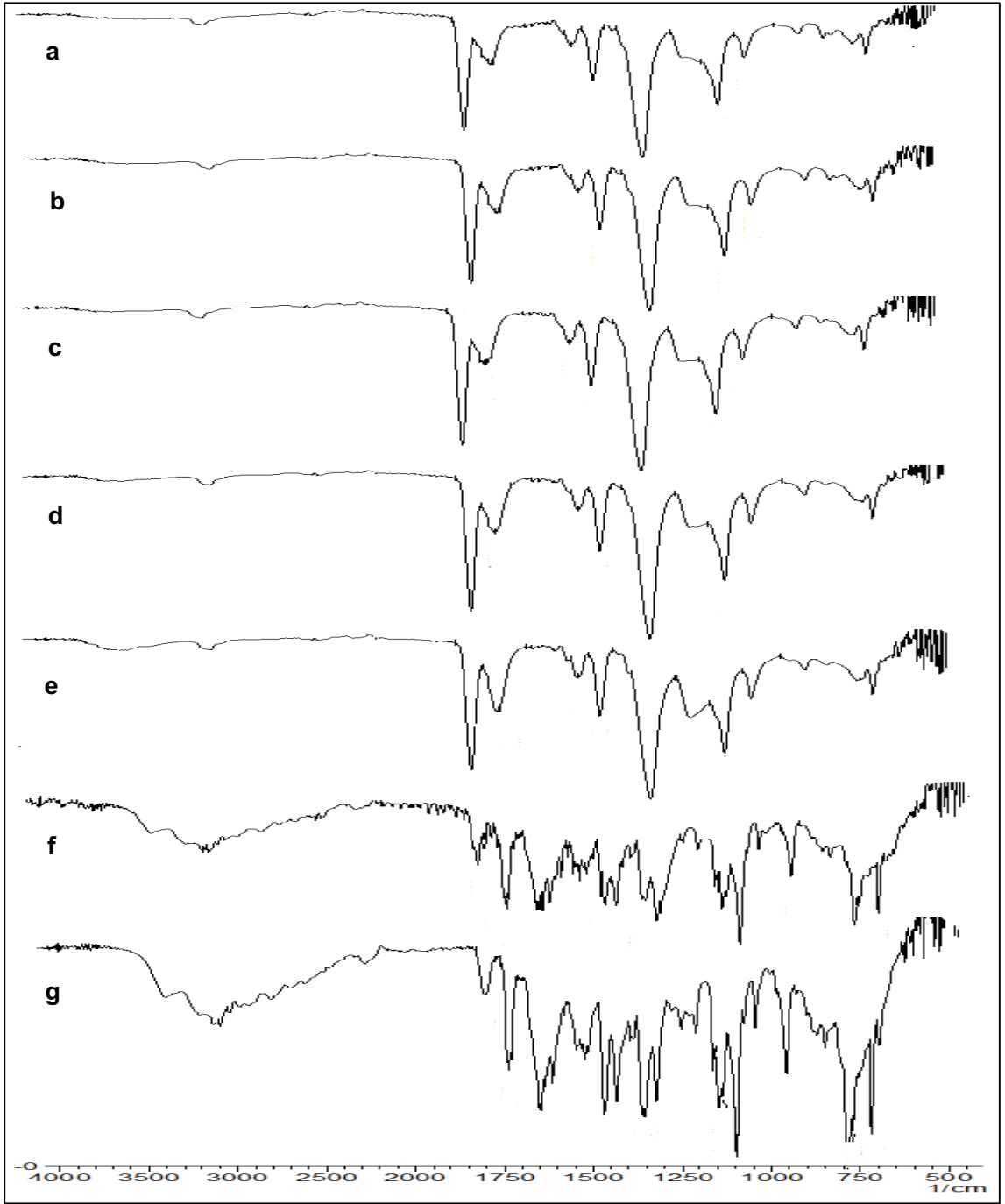


Şekil 5.53. Etkin Maddeli/Maddesiz Eudragit® RL 100 Formülasyonunun X-Işını Kırınımı Profili

a: DT, b: Eudragit® RL 100, c: ERL-Plasebo, d: ERL-1, e: ERL-2, f: ERL-3

5.4.6. İnfrared (FT-IR)

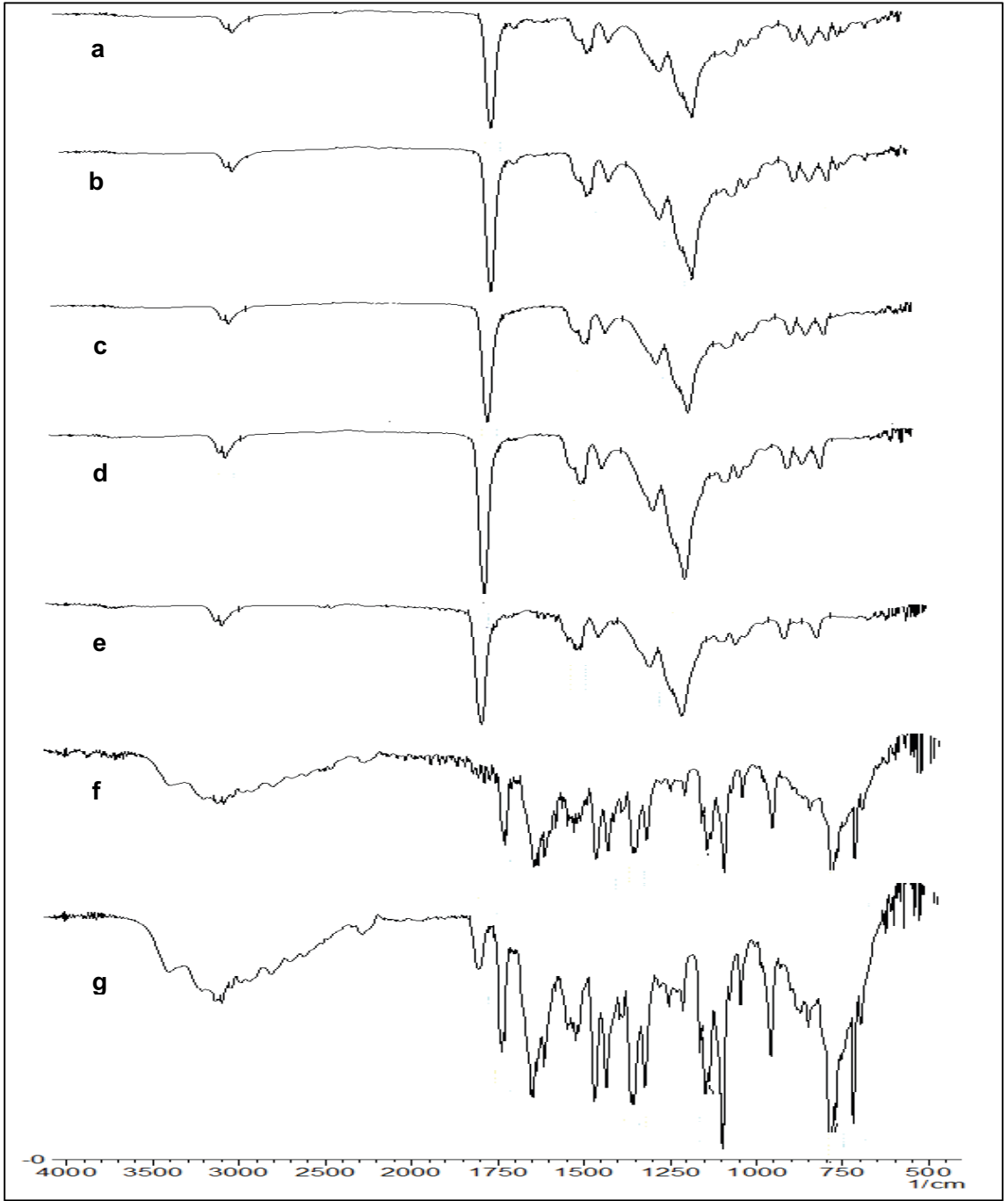
Kollidon® SR ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların FT-IR spektrumları DT, polimer ve fiziksel karışım ile karşılaştırmalı şekilde Şekil 5.54.'te sunulmuştur.



Şekil 5.54. Etkin Maddeli/Maddesiz Kollidon® SR Formülasyonunun FT-IR Spektrumu

a: KSR-3, b: KSR-2, c: KSR-1, d: KSR-Plasebo, e: Kollidon® SR, f: Fiziksel Karışım, g: DT

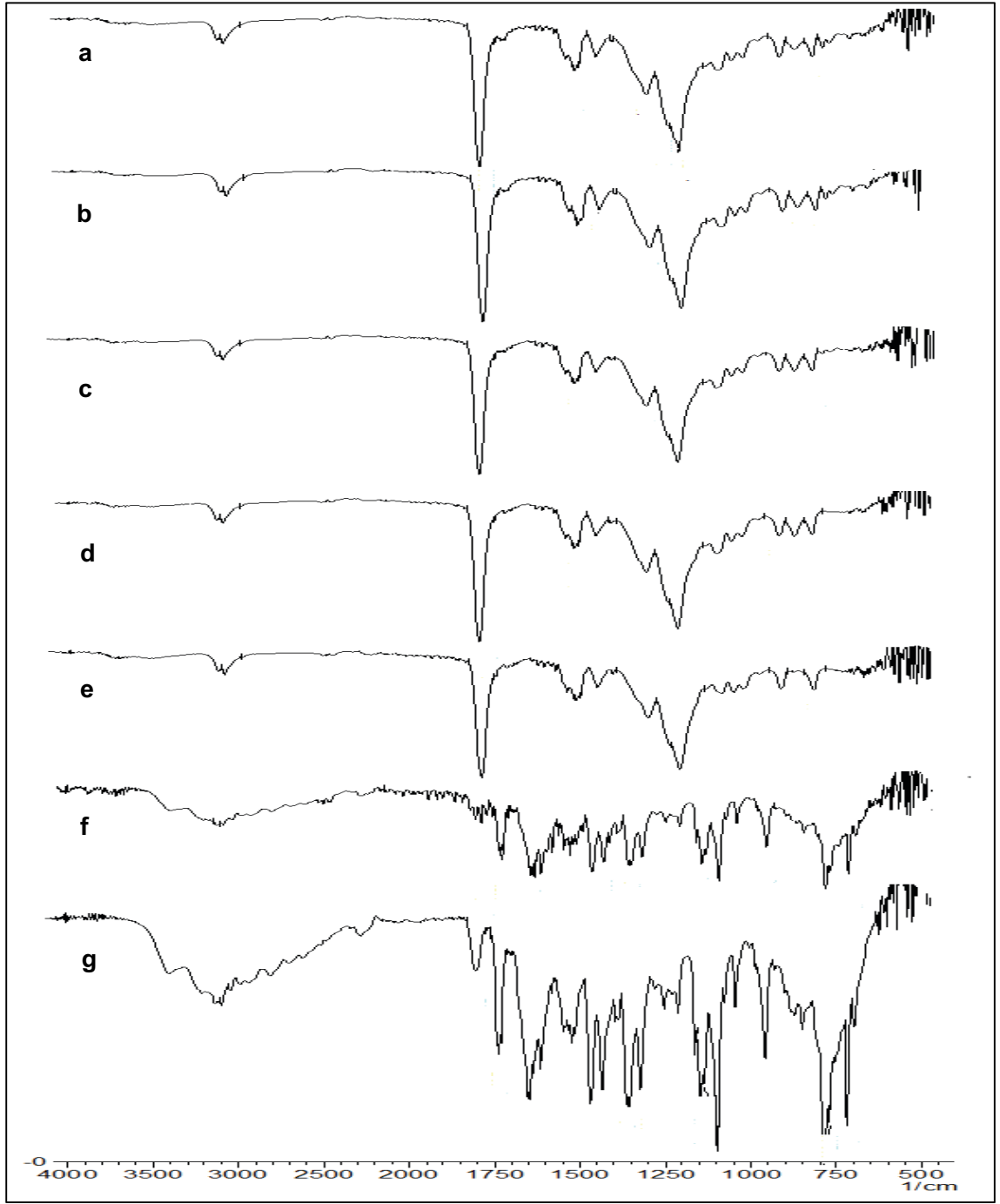
Eudragit® RS 100 ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların FT-IR spektrumları DT, polimer ve fiziksel karışım ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.55.'de sunulmuştur.



Şekil 5.55. Etkin Maddeli/Maddesiz Eudragit® RS 100 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu

a: ERS-3, **b:** ERS-2, **c:** ERS-1, **d:** ERS-Plasebo, **e:** Eudragit® RS 100, **f:** Fiziksel Karışım, **g:** DT

Eudragit® RL ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların FT-IR spektrumları DT, polimer ve fiziksel karışım ile karşılaştırmalı şekilde Şekil 5.56.'da sunulmuştur.

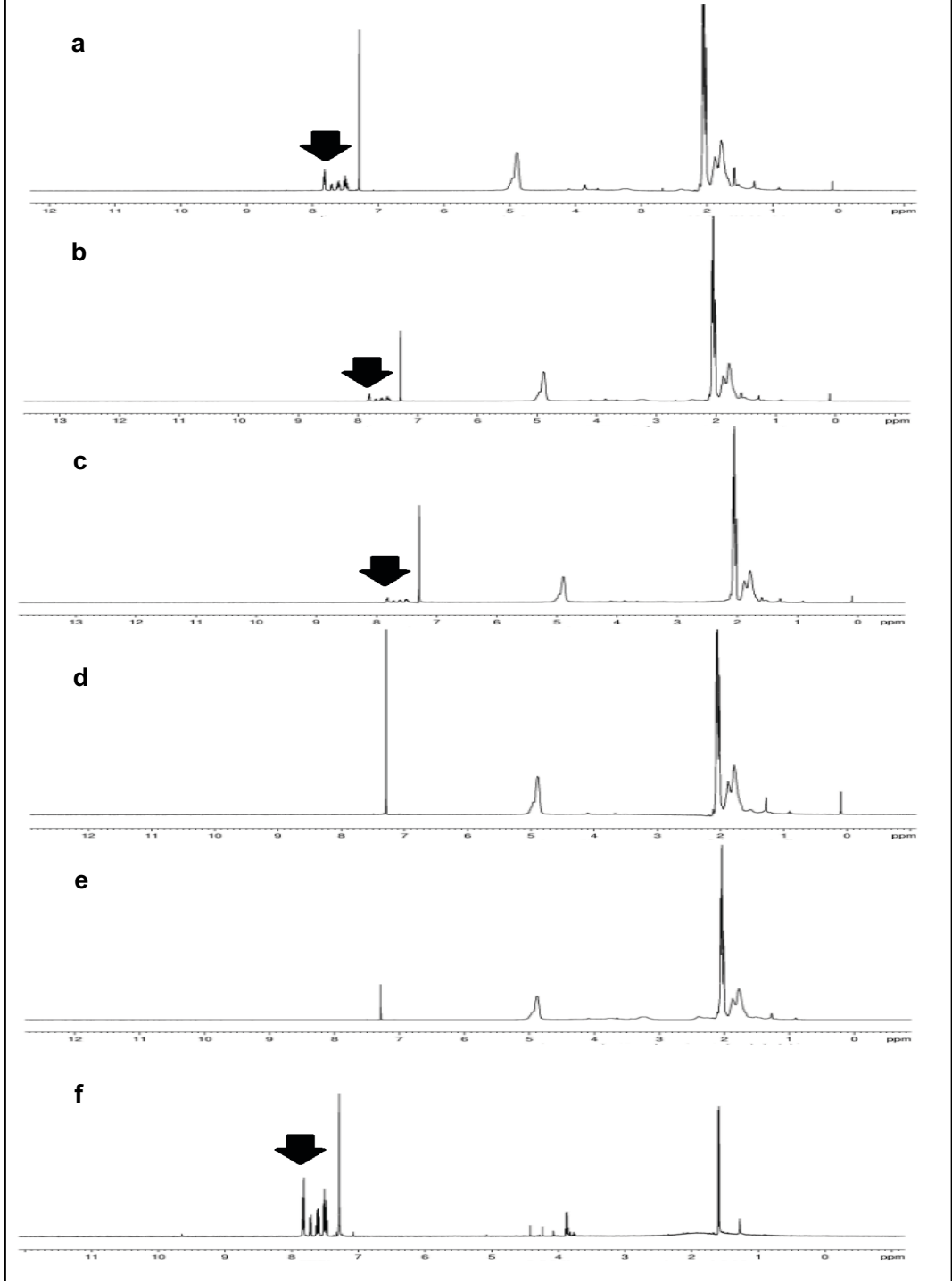


Şekil 5.56. Etkin Maddeli/Maddesiz Eudragit® RL 100 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu

a: ERL-3, **b:** ERL-2, **c:** ERL-1, **d:** ERL-Plasebo, **e:** Eudragit® RL 100, **f:** Fiziksel Karışım, **g:** DT

5.4.7. Nükleer manyetik rezonans (NMR)

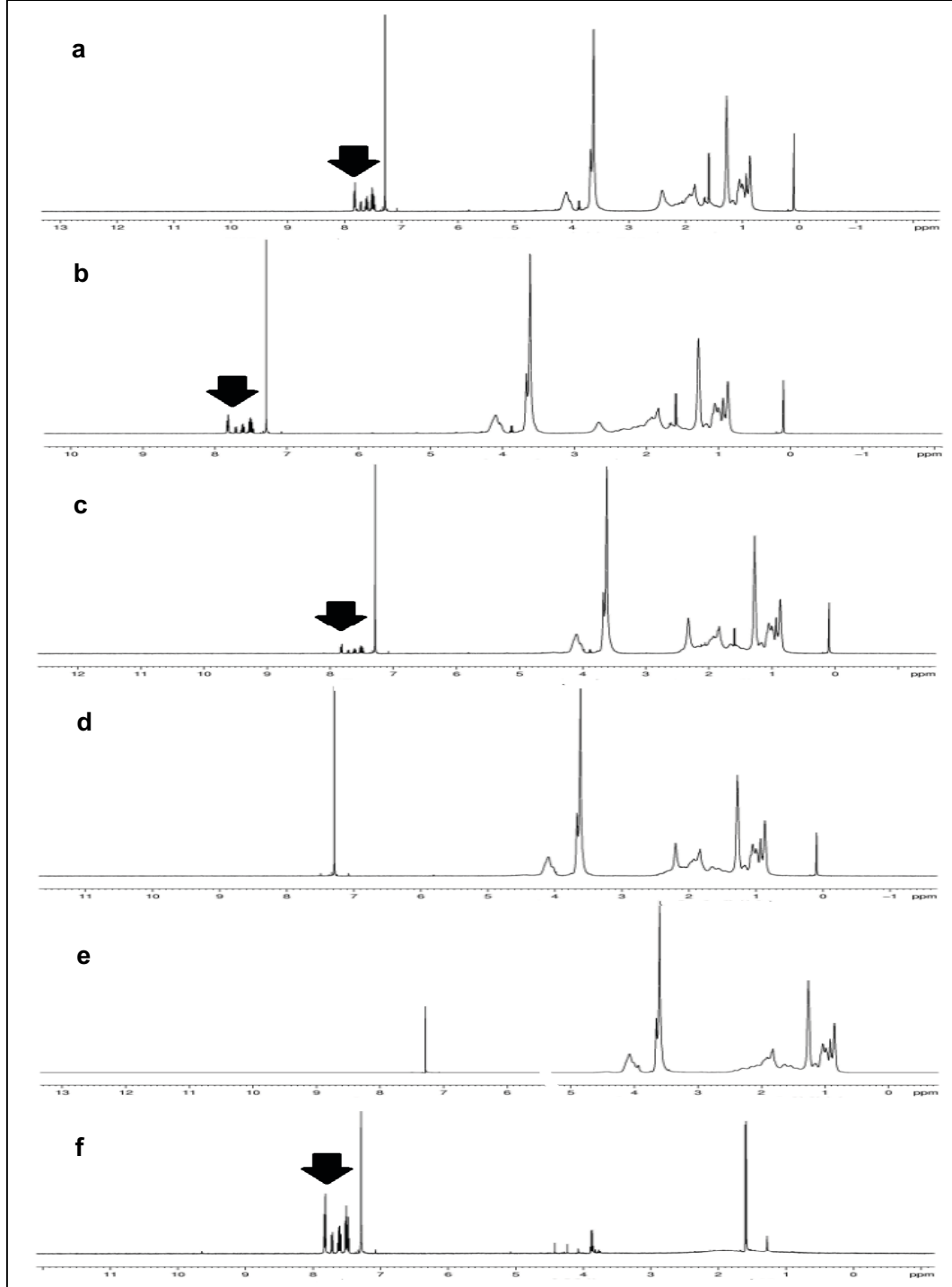
Kollidon® SR ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların ^1H -NMR spektrumları DT ve polimer ile karşılaştırmalı şekilde Şekil 5.57.'de sunulmuştur.



Şekil 5.57. Etkin Maddeli/Maddesiz Kollidon® SR Formülasyonunun NMR Spektrumu

a: KSR-3, **b:** KSR-2, **c:** KSR-1, **d:** KSR-Plasebo, **e:** Kollidon® SR, **f:** DT

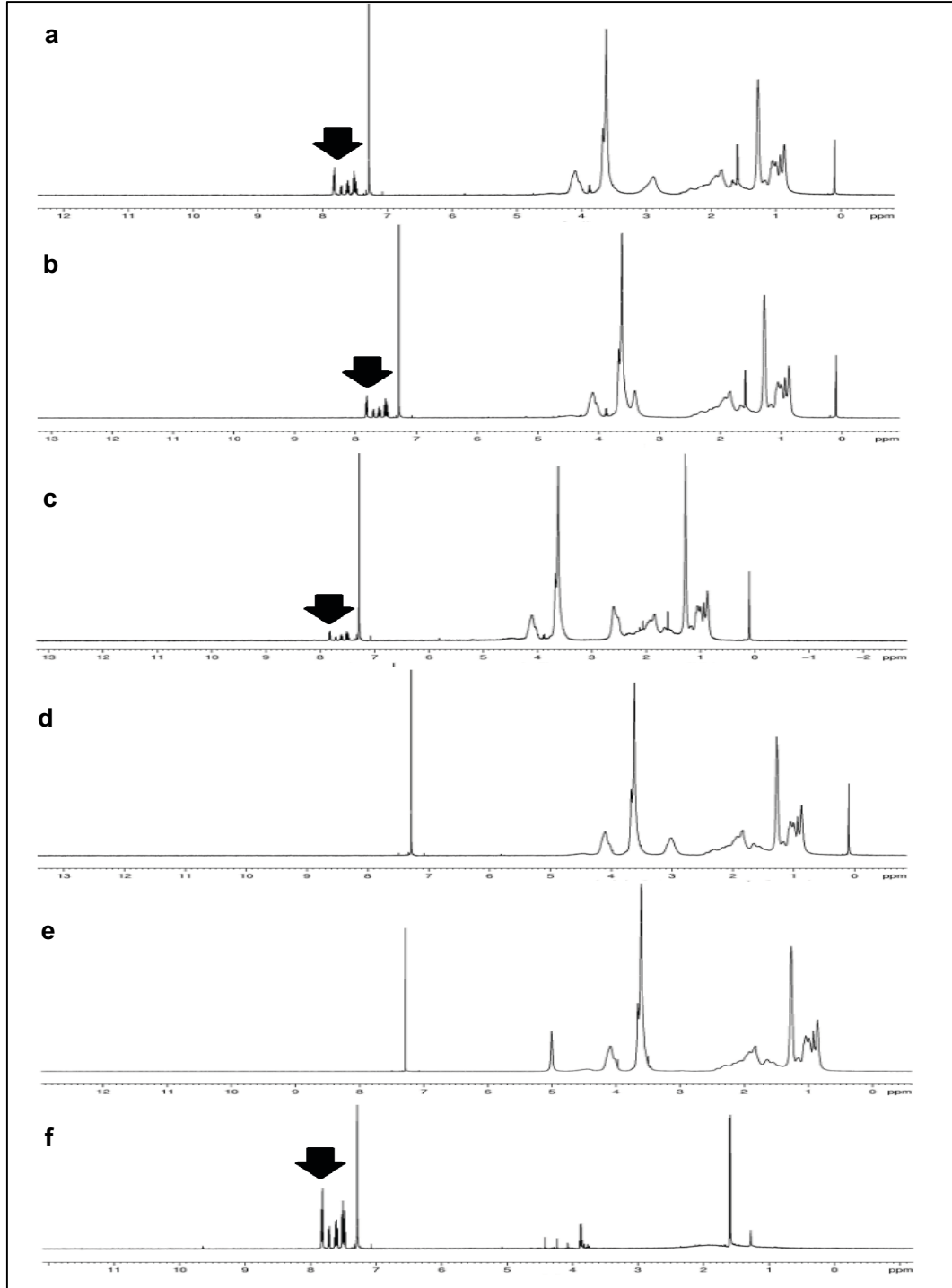
Eudragit® RS 100 ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların ^1H -NMR spektrumları DT ve polimer ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.58.'de sunulmuştur.



Şekil 5.58. Etkin Maddeli/Maddesiz Eudragit® RS 100 Formülasyonunun NMR Spektrumu

a: ERS-3, b: ERS-2, c: ERS-1, d: ERS-Plasebo, e: Eudragit® RS 100, f: DT

Eudragit® RL 100 ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların ^1H -NMR spektrumları DT ve polimer ile karşılaştırmalı şekilde Şekil 5.59.'da sunulmuştur.



Şekil 5.59. Etkin Maddeli/Maddesiz Eudragit® RL 100 Formülasyonunun NMR Spektrumu

a: ERL-3, b: ERL-2, c: ERL-1, d: ERL-Plasebo, e: Eudragit® RL 100, f: DT

5.4.8. Formülasyonda etkin madde miktar tayini

Yükleme etkinliği hesapları '4.4.5.8. *Formülasyonda etkin madde miktar tayini*' bölümünde verilen Eşitlik 3 ile gerçekleştirilmiş ve yükleme etkinliği sonuçları Çizelge 5.8.'de sunulmuştur.

Çizelge 5.8. KSR, ERS ve ERL Formülasyonunda % Yüklem Etkinliği (Ort±SH)

Formülasyon Kodu	Yüklem Etkinliği (%)
KSR-1	46.995±2.483
KSR-2	40.674±3.038
KSR-3	48.477±2.278
ERS-1	43.742±3.642
ERS-2	43.887±2.605
ERS-3	39.093±3.746
ERL-1	37.079±1.340
ERL-2	38.873±1.027
ERL-3	35.177±0.458

5.4.9. *In vitro* salım çalışması

DT, KSR-1, KSR-2 ve KSR-3 formülasyonuna ait zamana karşı kümülatif çözünen etkin madde miktarı verileri Çizelge 5.9.'da; ERS-1, ERS-2, ERS-3 formülasyonuna ait zamana karşı kümülatif çözünen etkin madde miktarı verileri Çizelge 5.10.'da; ERL-1, ERL-2, ERL-3 formülasyonuna ait zamana karşı kümülatif çözünen etkin madde miktarı verileri ise Çizelge 5.11.'de sunulmuştur. Elde edilen tüm veriler kullanılarak PNP formülasyonuna ait *in vitro* salım profili Şekil 5.60.'da sunulmuştur.

5.5. Ticari Preparat Rastel® Tablet'e ait Salım Çalışması

Rastel® tablet'e ait zamana karşı kümülatif çözünen etkin madde miktarı değerlerine Çizelge 5.9.'da yer verilmiştir. PNP formülasyonuna ait *in vitro* salım profili

DT ve Rastel® tablet ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.61.'de sunulmuştur. Tüm veriler *in vitro* salım ortamında % 100 etkin madde miktarına 2 saatte ulaşan Rastel® tabletin salım profili ile karşılaştırmalı şekilde Şekil 5.62.'de sunulmuştur.

Çizelge 5.9. *DT, Rastel® Tablet, KSR-1, KSR-2 ve KSR-3 Formülasyonundan Zamana Karşı Kümülatif Çözünen Etkin Madde Miktarı*

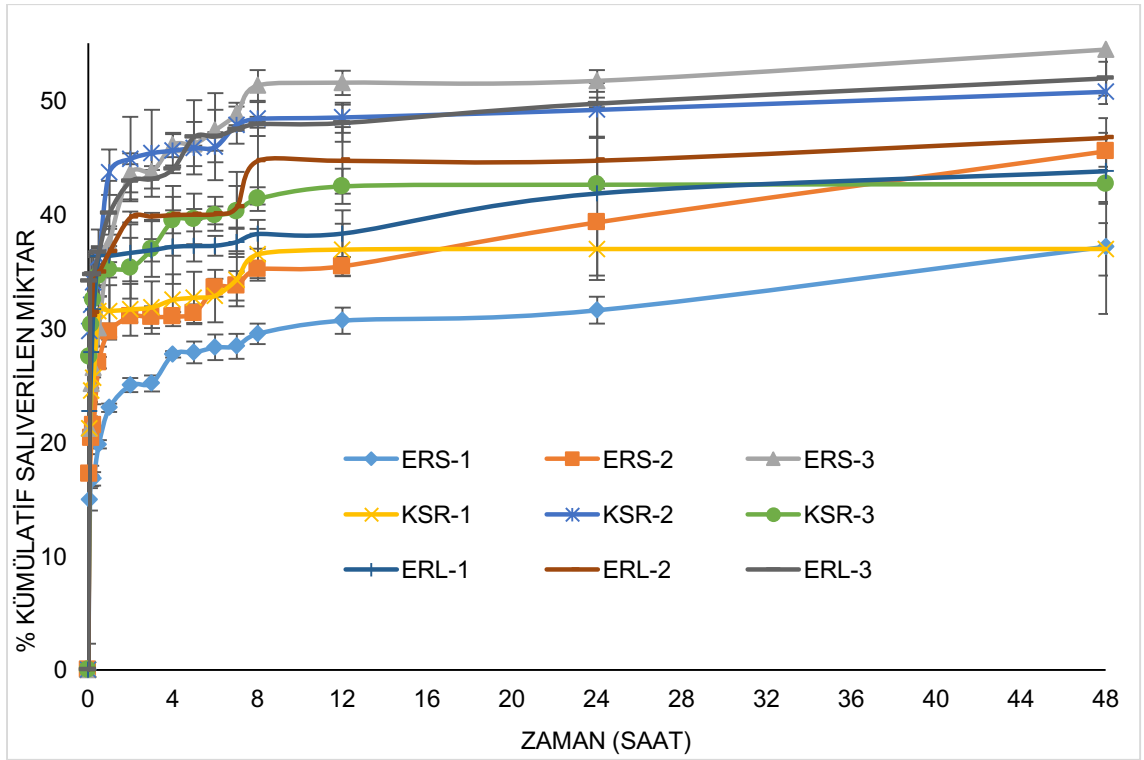
Zaman	DT	Rastel® Tablet	KSR-1	KSR-2	KSR-3
	% ± SH	% ± SH	% ± SH	% ± SH	% ± SH
5. dakika	35.071±0.375	6.517±1.103	20.194±1.079	29.734±0.566	28.155±0.820
10. dakika	43.178±0.872	12.183±1.763	22.536±2.072	32.024±0.372	28.522±1.843
15. dakika	53.565±1.014	20.811±1.473	26.720±0.963	33.994±0.412	31.069±1.689
30. dakika	72.509±0.817	45.515±1.761	29.758±0.917	36.142±1.023	31.241±1.736
1. saat	87.641±0.058	73.412±1.965	32.366±0.180	43.662±1.996	30.642±3.569
2. saat	92.217±0.682	103.342±1.116	31.071±1.656	44.829±3.702	31.415±2.672
3. saat	92.415±0.685	104.322±1.082	33.664±1.950	45.333±3.833	34.865±2.455
4. saat	92.806±0.831	105.327±0.758	31.754±1.816	45.549±1.472	38.631±3.051
5. saat	93.918±0.603	106.022±0.397	26.656±0.940	45.786±0.231	40.121±2.228
6. saat	93.290±0.668	106.373±0.306	35.137±1.735	45.868±1.311	37.812±0.784
7. saat	93.781±0.732	106.333±0.132	34.888±0.529	47.798±1.614	33.645±3.497
8. saat	93.759±0.651	106.351±0.278	37.998±0.617	48.343±1.481	43.303±1.048
12. saat	99.191±2.904	106.318±0.318	36.659±0.305	48.466±1.316	41.589±1.544
24. saat	101.112±2.941	106.509±0.034	36.284±0.340	49.131±2.351	38.895±0.317
48. saat	102.824±2.981	107.160±0.310	36.963±0.252	50.714±1.053	42.572±1.533

Çizelge 5.10. DT, Rastel® Tablet, ERS-1, ERS-2 ve ERS-3 Formülasyonundan Zamana Karşı Kümülatif Çözünen Etkin Madde Miktarı

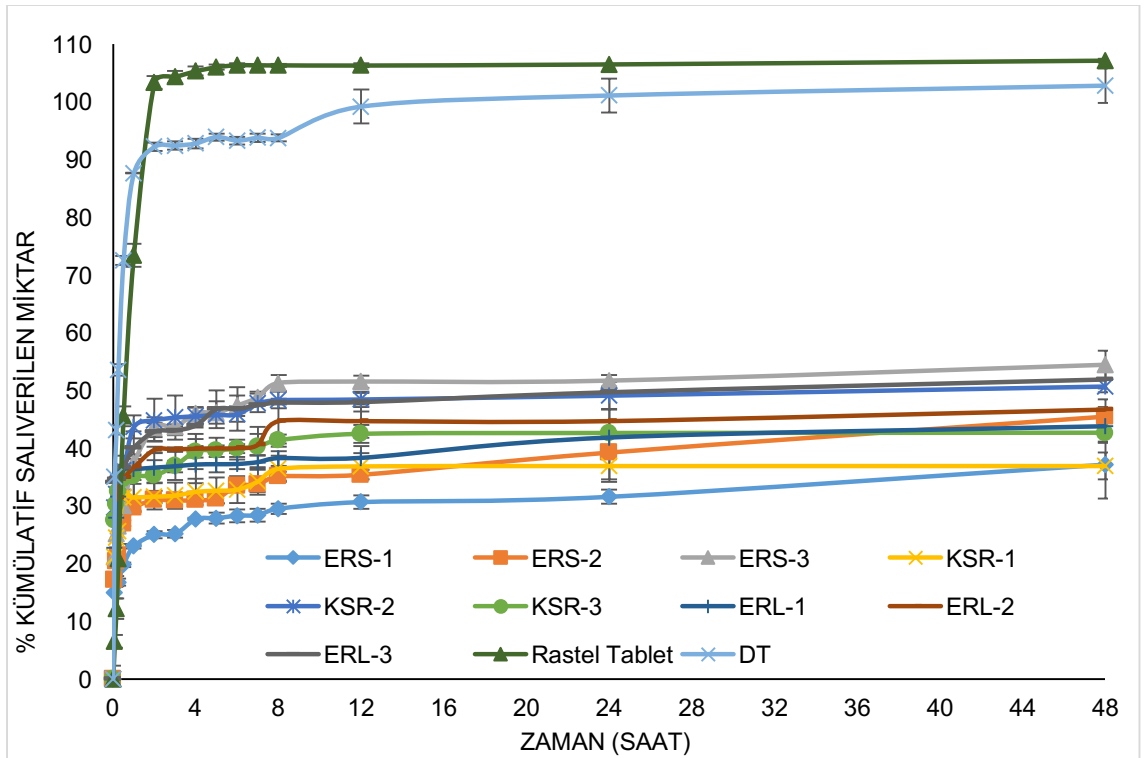
Zaman	DT	Rastel® Tablet	ERS-1	ERS-2	ERS-3
	% ± SH	% ± SH	% ± SH	% ± SH	% ± SH
5. dakika	35.071±0.375	6.517±1.103	14.957±1.001	17.164±0.212	21.186±1.041
10. dakika	43.178±0.872	12.183±1.763	16.989±0.895	20.331±0.693	25.121±0.412
15. dakika	53.565±1.014	20.811±1.473	16.773±0.599	21.434±0.283	26.530±0.894
30. dakika	72.509±0.817	45.515±1.761	19.789±0.368	26.967±0.500	29.990±1.646
1. saat	87.641±0.058	73.412±1.965	22.998±0.380	29.678±0.709	37.376±0.791
2. saat	92.217±0.682	103.342±1.116	24.989±0.594	30.983±0.488	43.594±1.706
3. saat	92.415±0.685	104.322±1.082	25.149±0.696	30.948±0.979	43.677±0.500
4. saat	92.806±0.831	105.327±0.758	27.687±0.261	30.987±0.423	46.049±1.050
5. saat	93.918±0.603	106.022±0.397	27.869±0.967	31.280±0.815	46.135±1.934
6. saat	93.290±0.668	106.373±0.306	28.295±1.111	33.509±0.788	47.353±1.804
7. saat	93.781±0.732	106.333±0.132	28.395±1.111	33.682±1.279	48.781±0.980
8. saat	93.759±0.651	106.351±0.278	29.500±0.894	35.135±0.765	51.261±1.348
12. saat	99.191±2.904	106.318±0.318	30.647±1.156	35.410±0.788	51.508±1.060
24. saat	101.112±2.941	106.509±0.034	31.557±1.195	39.254±0.381	51.663±0.967
48. saat	102.824±2.981	107.160±0.310	37.135±5.888	45.490±1.625	54.407±2.466

Çizelge 5.11. DT, Rastel® Tablet, ERL-1, ERL-2 ve ERL-3 Formülasyonundan Zamana Karşı Kümülatif Çözünen Etkin Madde Miktarı

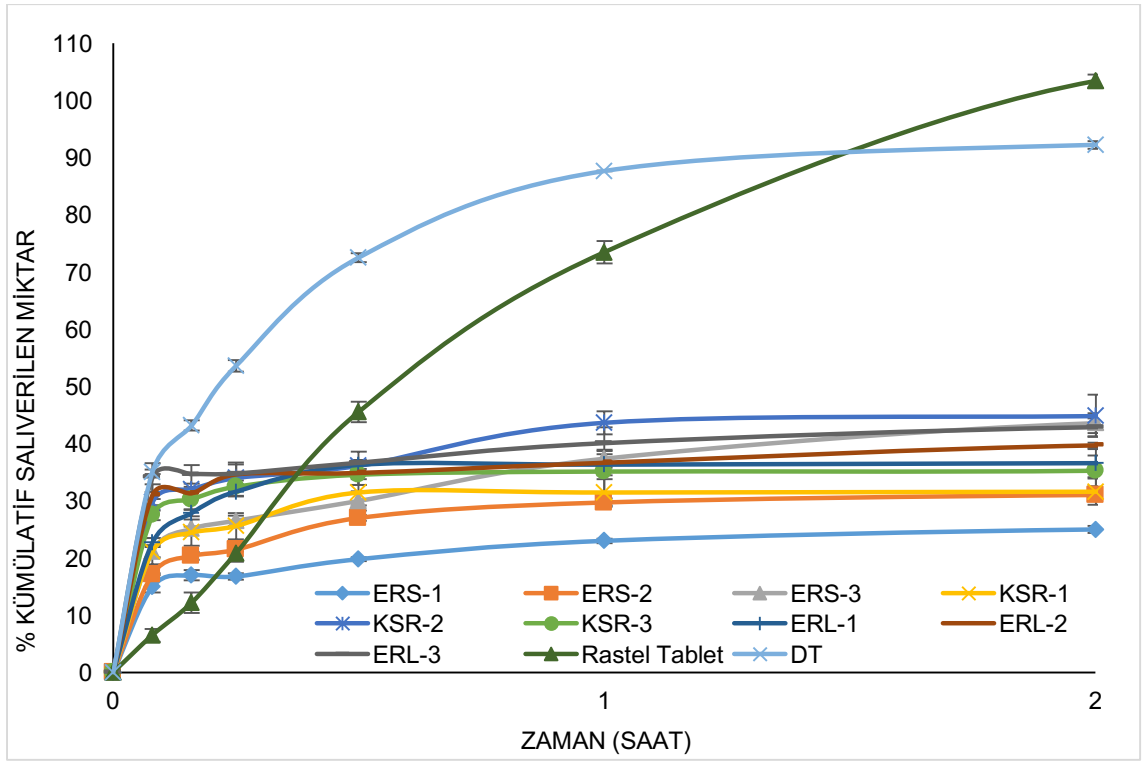
Zaman	DT	Rastel® Tablet	ERL-1	ERL-2	ERL-3
	% ± SH	% ± SH	% ± SH	% ± SH	% ± SH
5. dakika	35.071±0.375	6.517±1.103	22.714±0.836	31.043±1.863	34.073±2.481
10. dakika	43.178±0.872	12.183±1.763	27.871±0.608	31.341±0.668	34.626±1.589
15. dakika	53.565±1.014	20.811±1.473	31.598±0.773	34.635±1.770	34.732±2.004
30. dakika	72.509±0.817	45.515±1.761	36.267±0.684	34.894±2.146	36.620±2.033
1. saat	87.641±0.058	73.412±1.965	36.314±0.536	36.676±2.252	40.044±2.853
2. saat	92.217±0.682	103.342±1.116	36.573±2.506	39.720±0.475	42.837±1.554
3. saat	92.415±0.685	104.322±1.082	36.809±0.973	39.787±0.318	43.036±0.806
4. saat	92.806±0.831	105.327±0.758	37.109±3.241	39.916±1.610	43.926±0.354
5. saat	93.918±0.603	106.022±0.397	37.166±1.317	39.953±0.476	46.742±3.251
6. saat	93.290±0.668	106.373±0.306	37.203±0.860	39.999±1.496	46.771±3.807
7. saat	93.781±0.732	106.333±0.132	37.519±1.316	40.580±1.877	47.413±0.121
8. saat	93.759±0.651	106.351±0.278	38.225±1.282	44.676±3.835	47.859±0.280
12. saat	99.191±2.904	106.318±0.318	38.266±2.067	44.686±2.928	47.953±1.631
24. saat	101.112±2.941	106.509±0.034	41.778±7.589	44.692±1.960	49.657±0.534
48. saat	102.824±2.981	107.160±0.310	43.734±2.832	46.692±1.745	51.870±1.505



Şekil 5.60. PNP Formülasyonuna ait İn Vitro Salım Profili



Şekil 5.61. PNP Formülasyonu, DT ve Rastel® Tablet'e ait İn Vitro Salım Profili

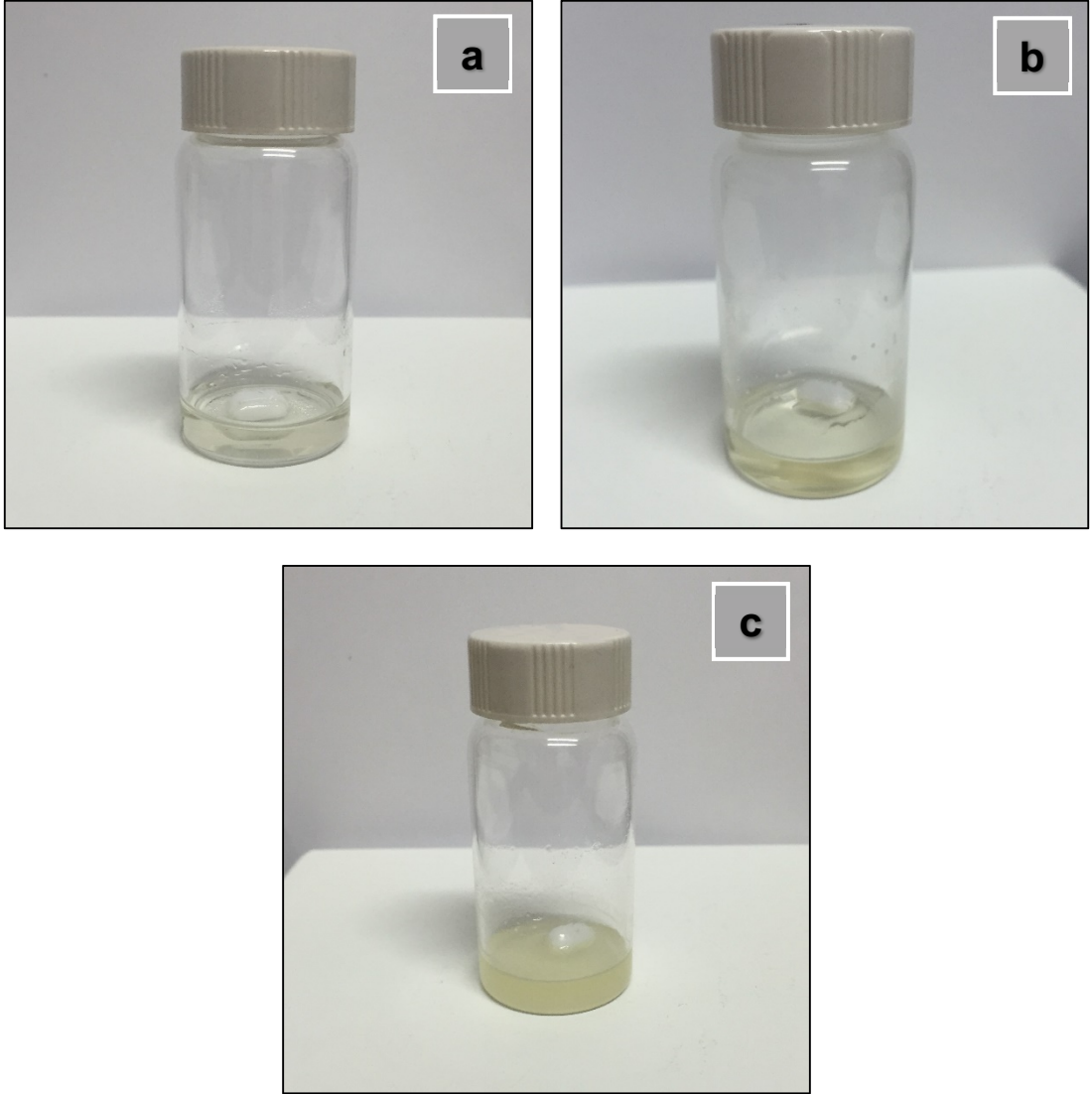


Şekil. 5.62. PNP Formülasyonu, DT ve Rastel® Tablet'e ait 2 Saatlik İn Vitro Salım Profili

5.6. KLN Özelliklerine Ait Çalışma

5.6.1. DT'nin katı lipitte çözünürlük çalışması

DT'nin Compritol® 888 ATO, Dynasan® 144 ve stearik asit içinde çözünme ve süspande olma durumu Şekil 5.63.'de sunulmuştur.



Şekil 5.63. DT'nin Farklı Katı Lipitler İçinde Çözünme ve Süspande Olma Durumu

a: Compritol® 888 ATO içinde DT, **b:** Dynasan® 144 içinde DT, **c:** Stearik asit içinde DT

5.6.2. Paracak boyutu ve dağılım analizi

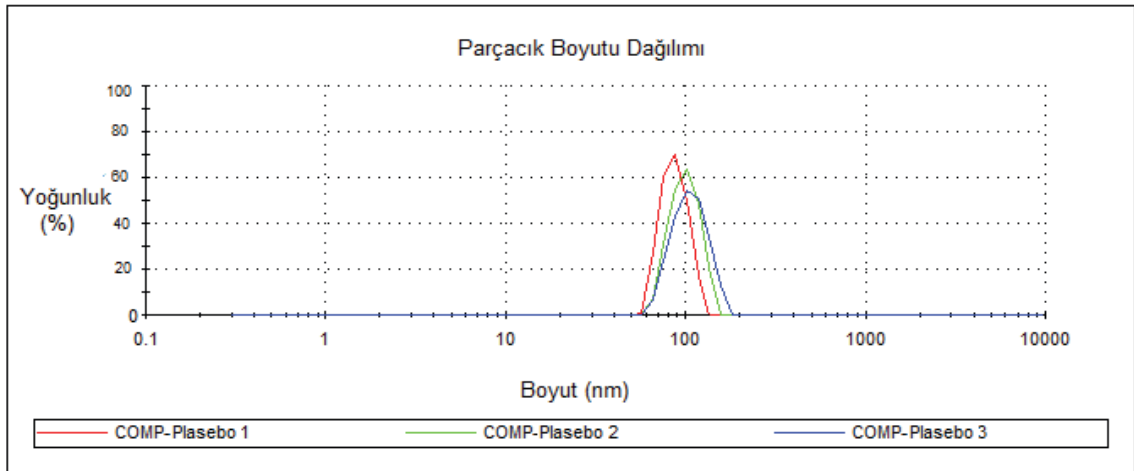
Compritol® 888 ATO ve Dynasan® 114 ile hazırlanmış etkin maddeli/maddesiz formülasyonların ortalama paracak boyutu ve dağılımı (PDI) izelge 5.12.'de sunulmuştur.

Çizelge 5.12. Etkin Maddeli/Maddesiz KLN Formülasyonunun Ortalama Paracak Boyutu ve Dağılımı (PDI) (n=3, Ort±SH)

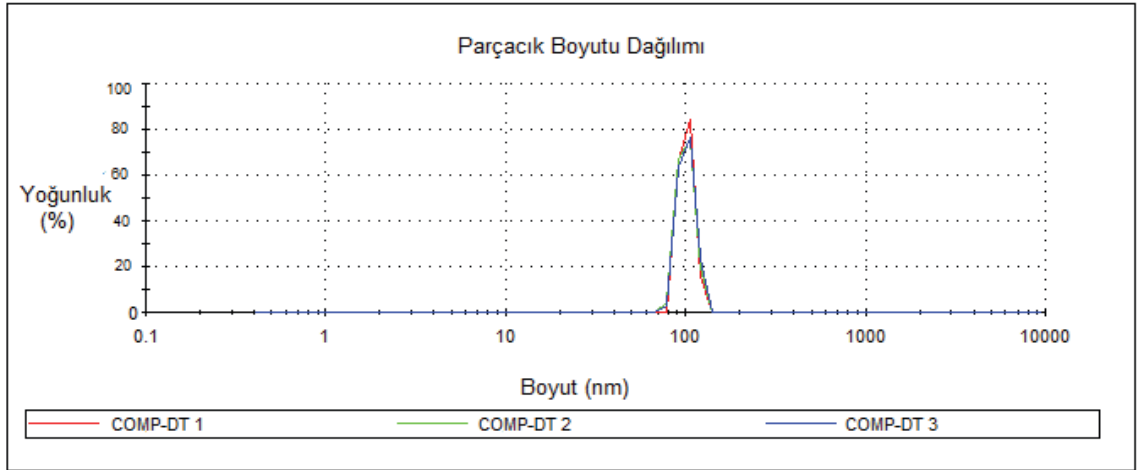
Kod	Ortalama Paracak Boyutu (nm) ± SH	PDI ± SH
COMP-Plasebo	92.361±0.672	0.226±0.032
COMP-DT	100.410±1.820	0.345±0.050
DYN Plasebo	136.030±1.525	0.255±0.003
DYN-DT	137.605±1.250	0.213±0.012

Plasebo: Etkin Maddesiz Formülasyon, **COMP:** Compritol® 888 ATO, **DYN:** Dynasan® 114

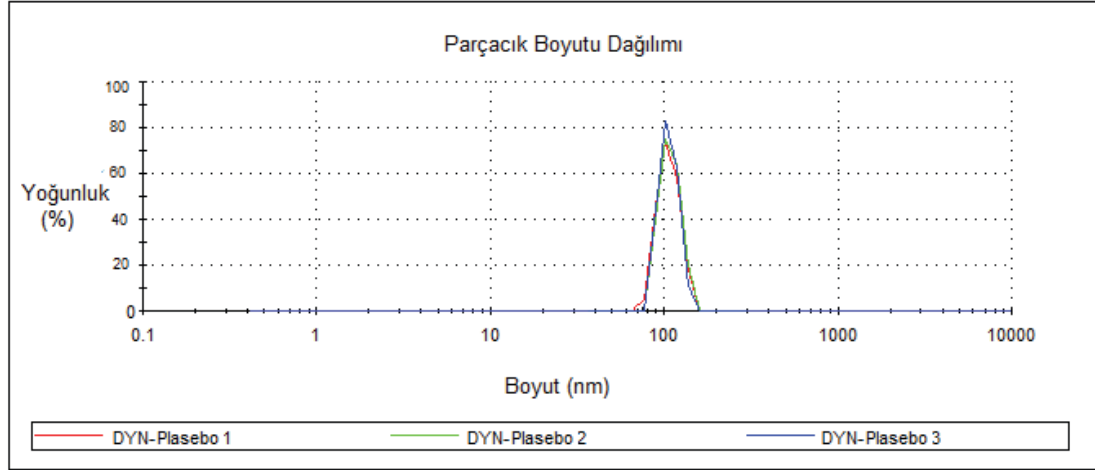
COMP-Plasebo ve COMP-DT formülasyonuna ait paracak boyutu dağılım eğrisi sırasıyla Şekil 5.64. ve Şekil 5.65.'de sunulmuştur. DYN-Plasebo ve DYN-DT formülasyonuna ait paracak boyutu dağılım eğrisi ise sırasıyla Şekil 5.66. ve Şekil 5.67.'de sunulmuştur.



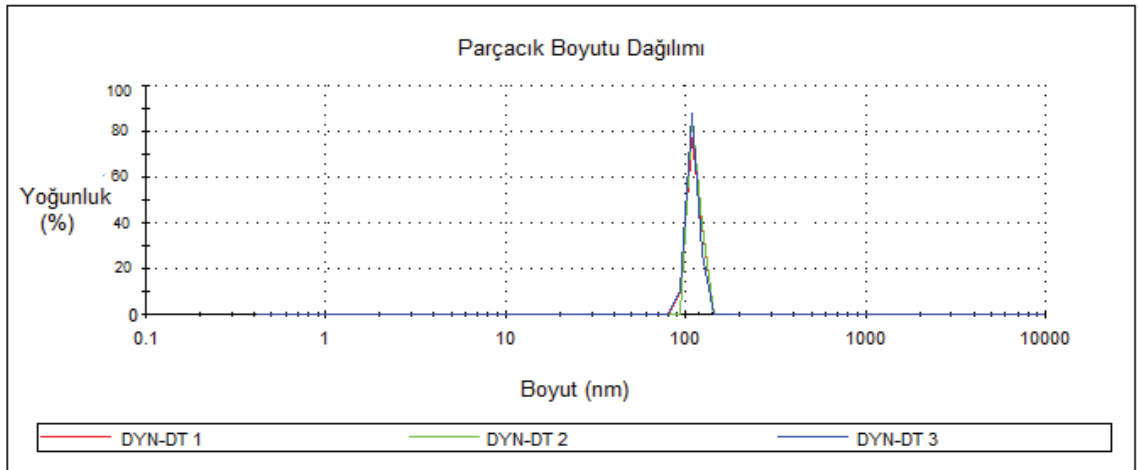
Şekil 5.64. COMP-Plasebo Formülasyonuna ait Paracak Boyutu Dağılımı



Şekil 5.65. *COMP-DT Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı*



Şekil 5.66. *DYN-Plasebo Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı*



Şekil 5.67. *DYN-DT Formülasyonuna ait Parçacık Boyutu Dağılımı*

5.6.3. Zeta potansiyel

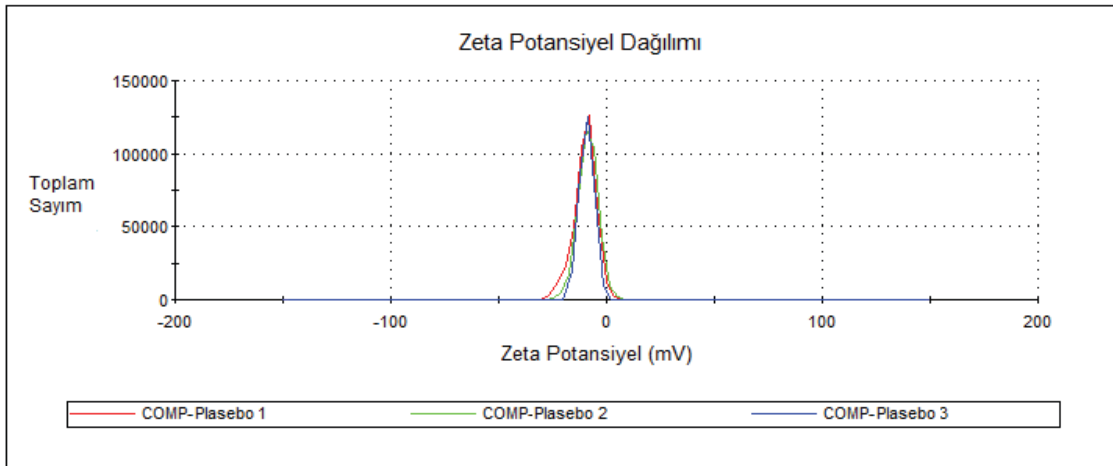
Compritol® 888 ATO ve Dynasan® 114 ile hazırlanmış etkin maddeli/maddesiz formülasyonların ortalama zeta potansiyel değerleri Çizelge 5.13.'de sunulmuştur.

Çizelge 5.13. Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan KLN Formülasyonunun Ortalama Zeta Potansiyel Değeri (n=3, Ort±SH)

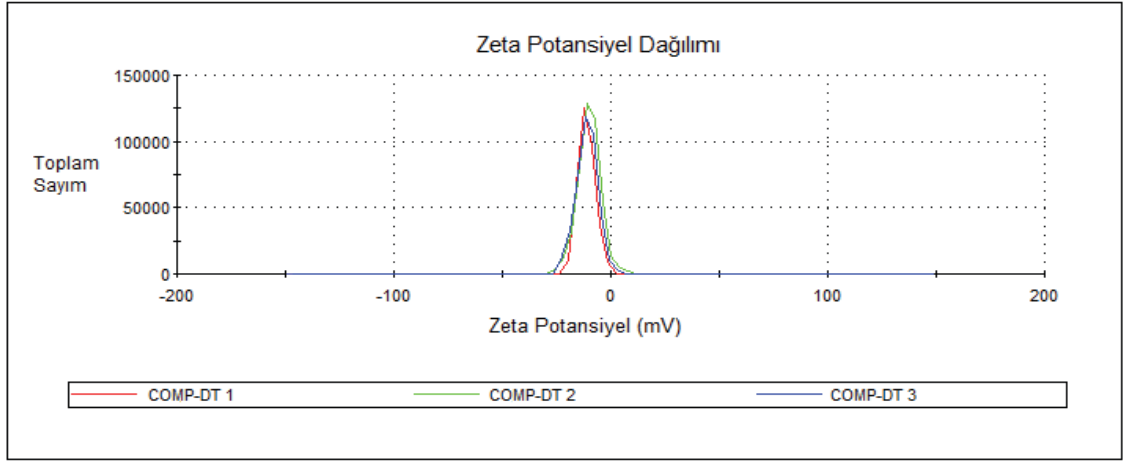
Kod	Zeta Potansiyel (mV) ± SH
COMP-Plasebo	-8.72±1.51
COMP-DT	-10.80±0.05
DYN Plasebo	-11.60±0.15
DYN-DT	-13.55±0.70

Plasebo: Etkin Maddesiz Formülasyon, **COMP:** Compritol® 888 ATO, **DYN:** Dynasan® 114

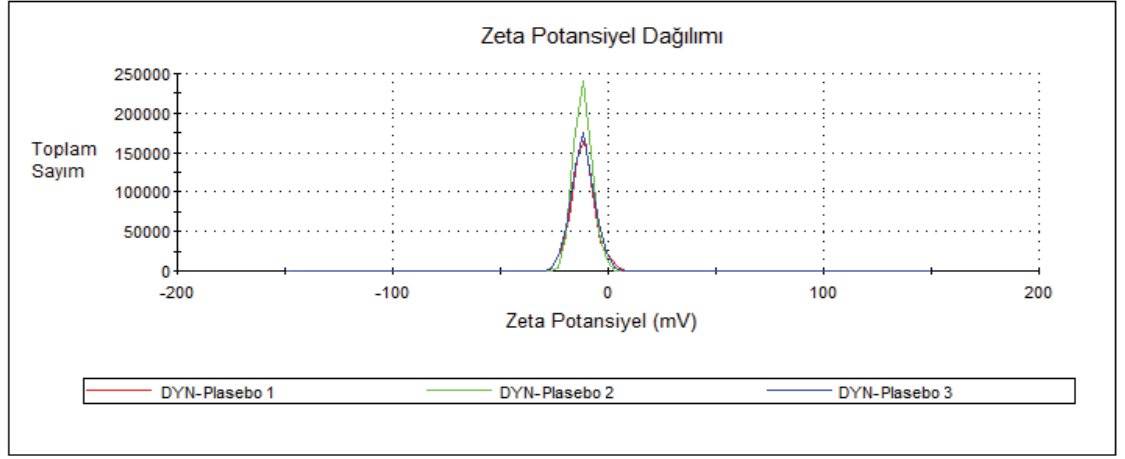
COMP-Plasebo ve COMP-DT formülasyonuna ait zeta potansiyel dağılımı sırasıyla Şekil 5.68. ve Şekil 5.69.'da sunulmuştur. DYN-Plasebo ve DYN-DT formülasyonuna ait zeta potansiyel dağılımı ise sırasıyla Şekil 5.70. ve Şekil 5.71.'de sunulmuştur.



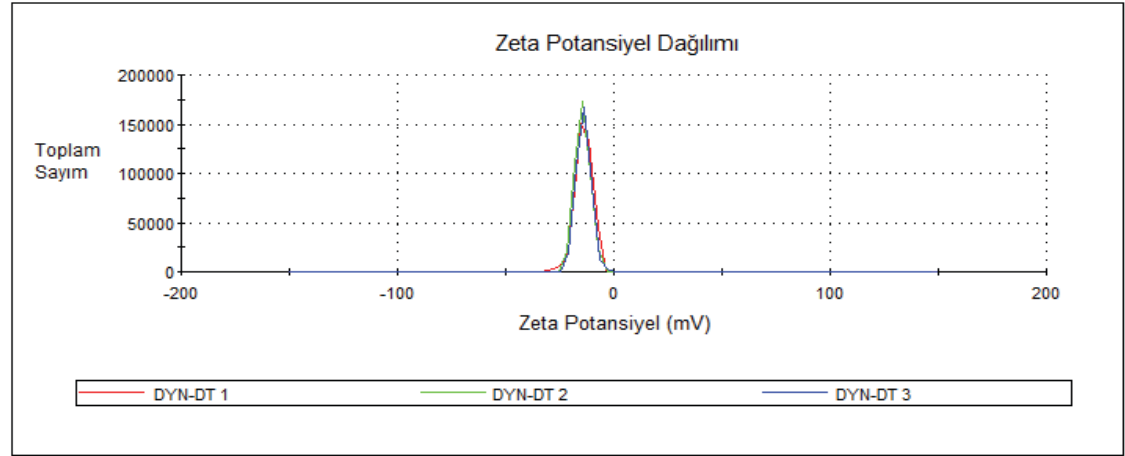
Şekil 5.68. COMP-Plasebo Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı



Şekil 5.69. COMP-DT Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı



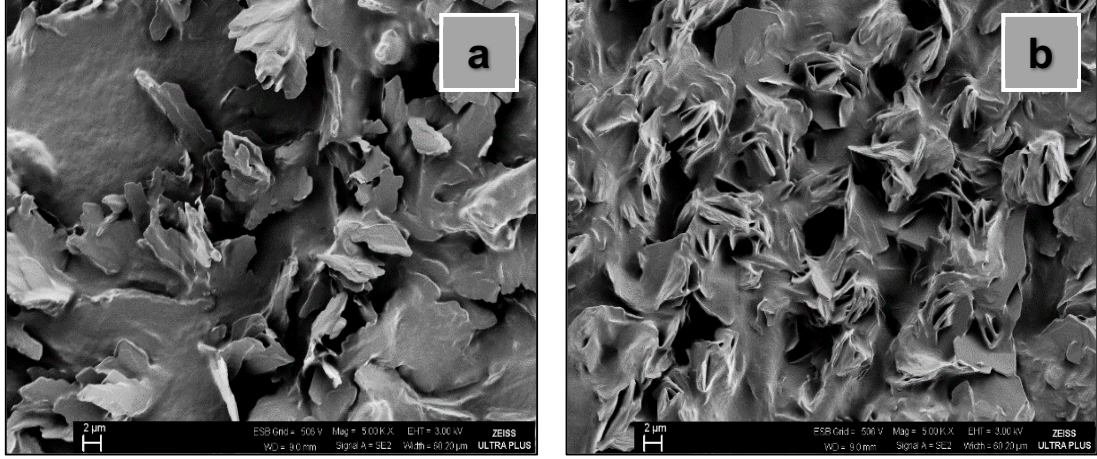
Şekil 5.70. DYN-Plasebo Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı



Şekil 5.71. DYN-DT Formülasyonuna ait Zeta Potansiyel Dağılımı

5.6.4. Parçacık şekli ve yüzey özellik

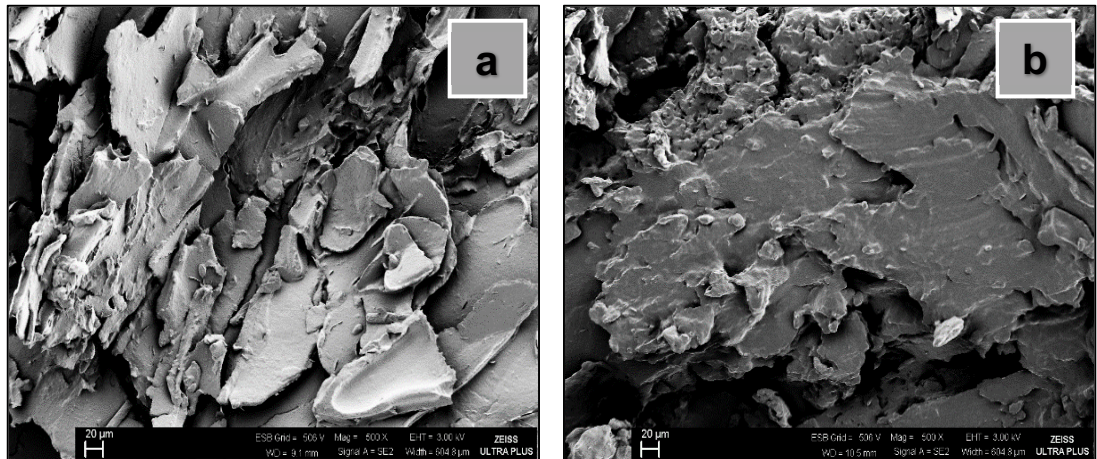
Compritol® 888 ATO ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonun taramalı elektron mikroskobu görüntüsü Şekil 5.72.'de sunulmuştur.



Şekil 5.72. Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Compritol® 888 ATO Formülasyonunun Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

a: COMP-Plasebo, x5000, b: COMP-DT, x5000

Dynasan® 114 ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonun taramalı elektron mikroskobu görüntüsü Şekil 5.73.'te sunulmuştur.

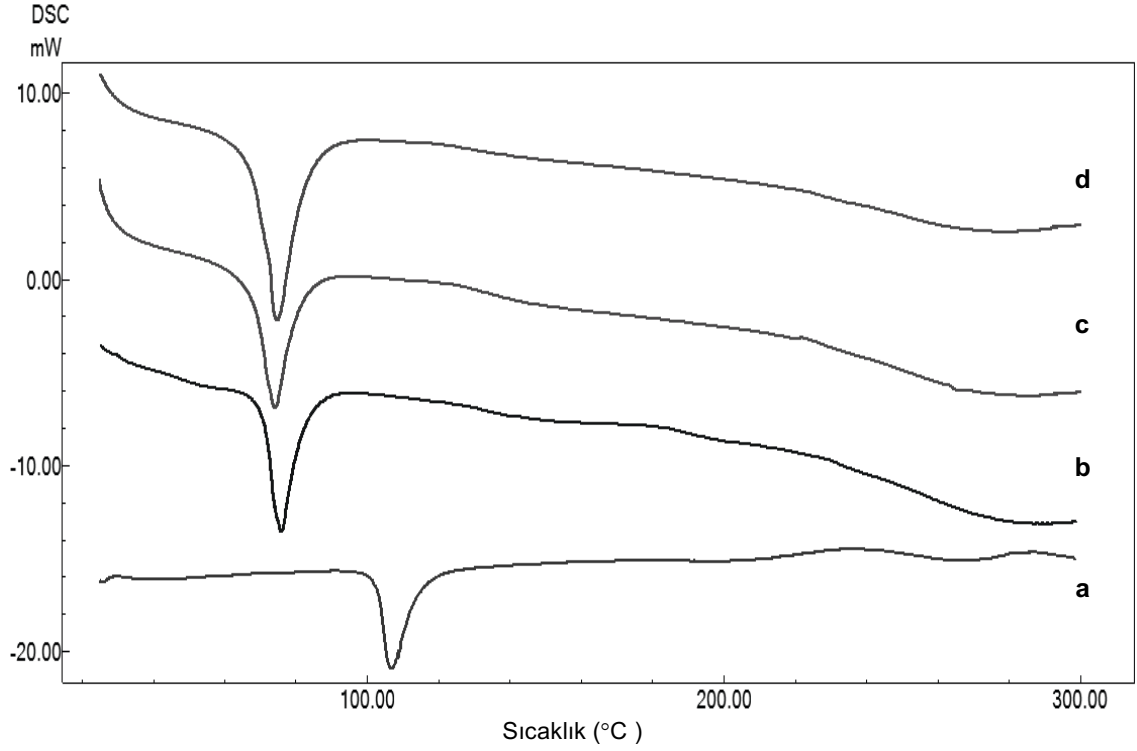


Şekil 5.73. Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Dynasan® 114 Formülasyonunun Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

a: DYN-Plasebo, x500, b: DYN-DT, x500

5.6.5. Termal analiz

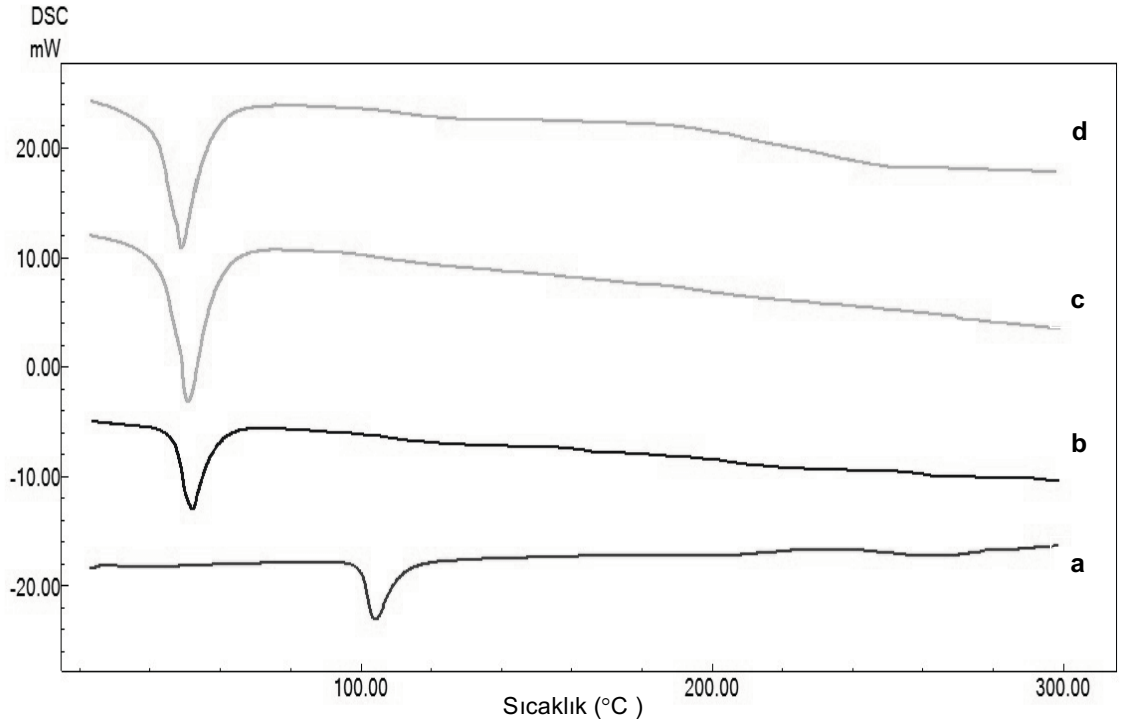
Compritol® 888 ATO ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonun termogramı DT ve katı lipid ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.74.'te sunulmuştur.



Şekil 5.74. Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Compritol® 888 ATO ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun Termogramı

a: DT, **b:** Compritol® 888 ATO, **c:** COMP-Plasebo, **d:** COMP-DT

Dynasan® 114 ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonun termogramı DT ve katı lipid ile karşılaştırmalı şekilde Şekil 5.75.'te sunulmuştur.

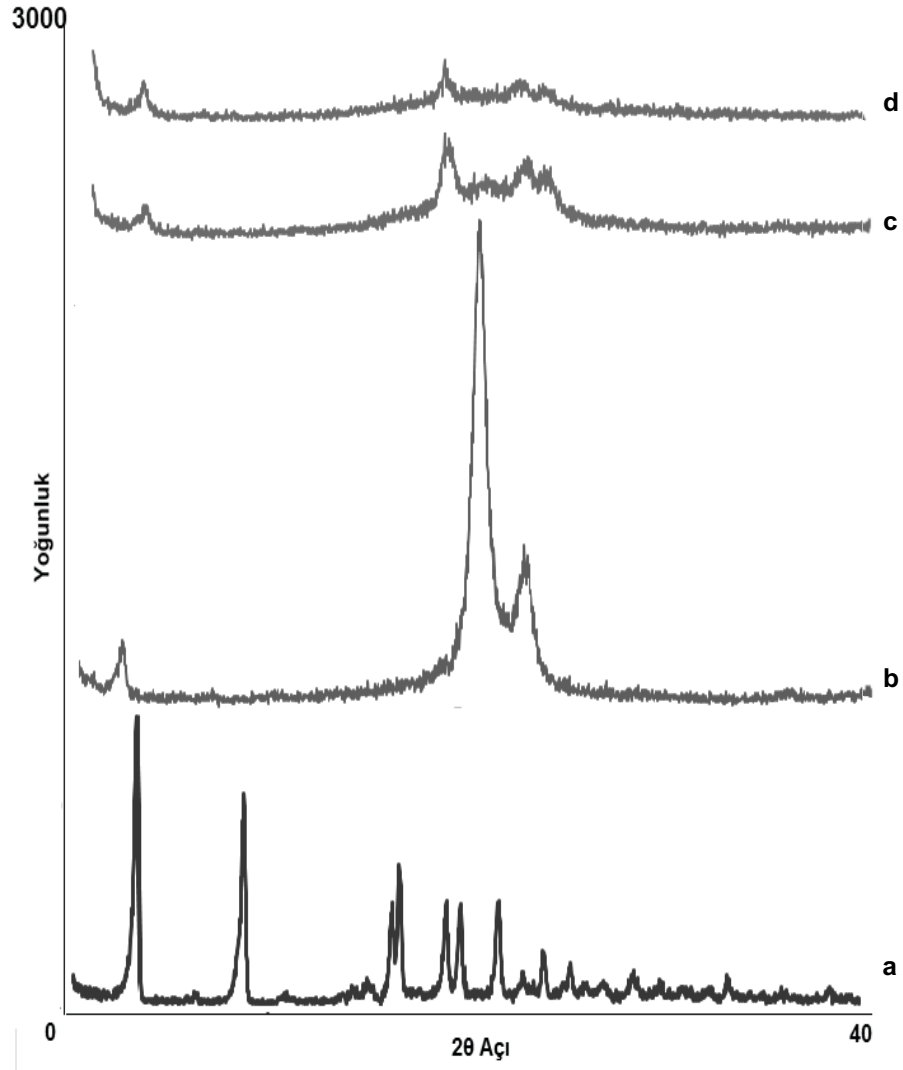


Şekil 5.75. Etkin Maddeli/Maddesiz Hazırlanan Dynasan® 114 ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun Termogramı

a: DT, **b:** Dynasan® 114, **c:** DYN-Plasebo, **d:** DYN-DT

5.6.6. X-Işını kırınımı

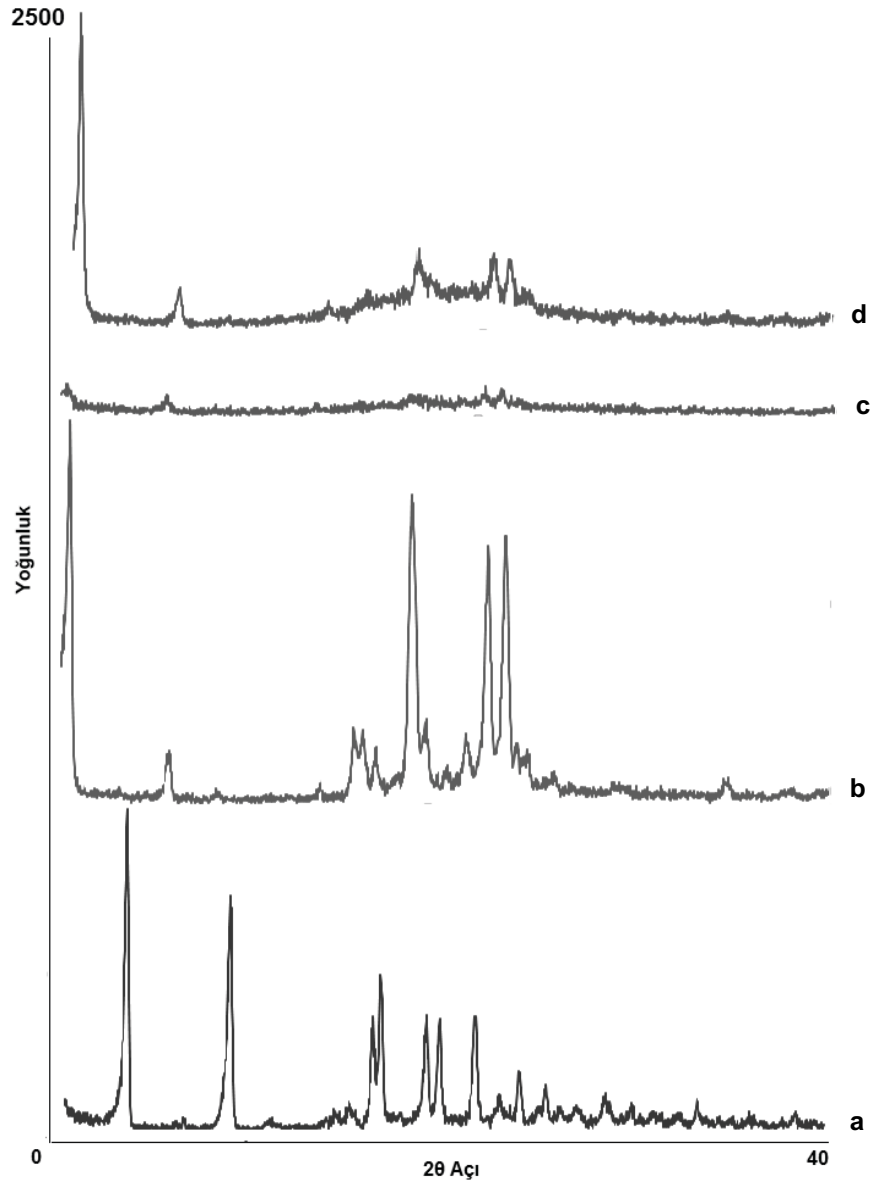
Compritol® 888 ATO ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonun X-ışının kırınım profili DT ve katı lipid ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.76.'da sunulmuştur.



Şekil 5.76. Etkin Maddeli/Maddesiz Compritol® 888 ATO ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun X-Işını Kırınım Profili

a: DT, **b:** Compritol® 888 ATO, **c:** COMP-Plasebo, **d:** COMP-DT

Dynasan® 114 ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonun X-ışının kırınım profili DT ve katı lipid ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.77.'de sunulmuştur.

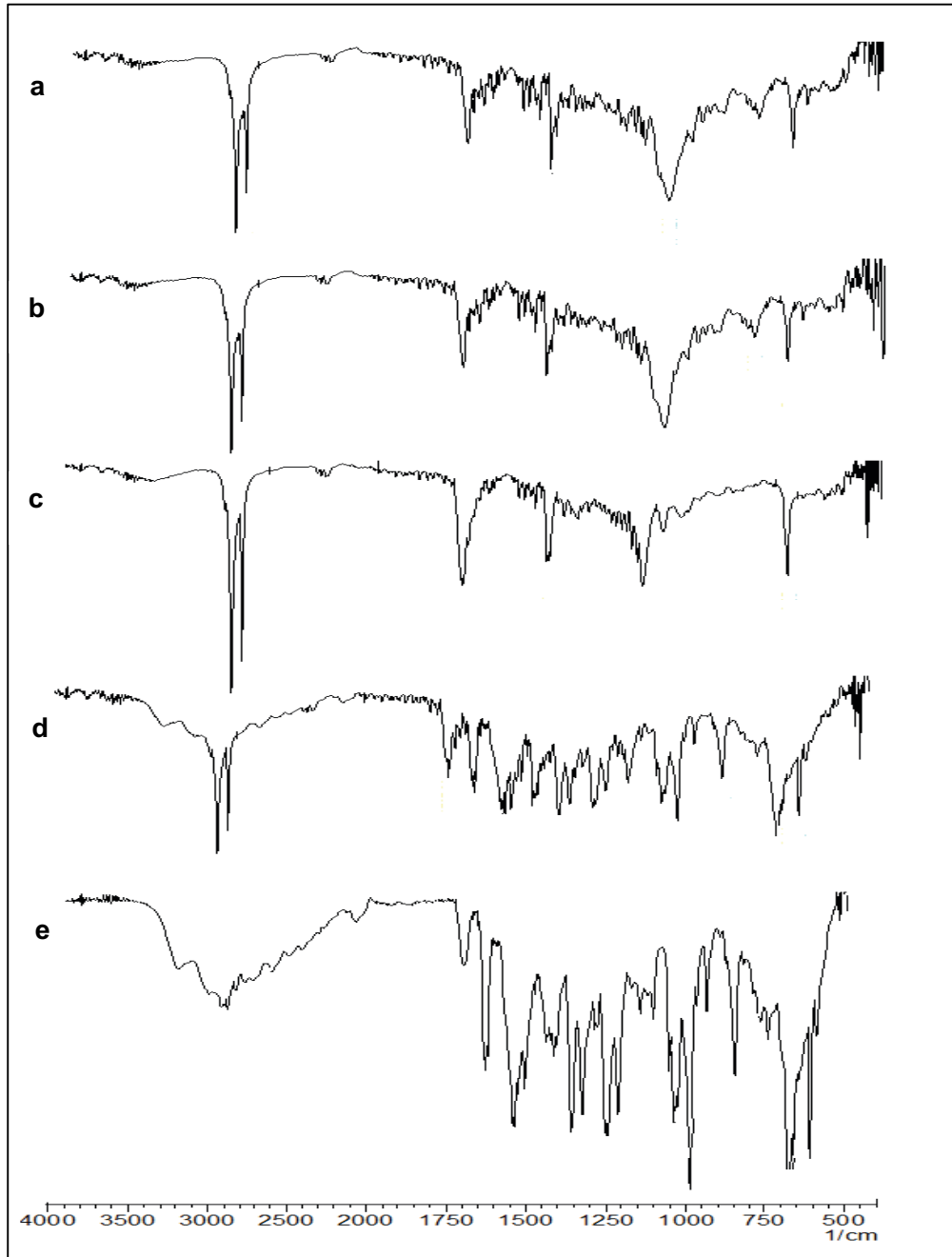


Şekil 5.77. Etkin Maddeli/Maddesiz Dynasan® 114 ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun X-Işını Kırınım Profili

a: DT, **b:** Dynasan® 114, **c:** DYN-Plasebo, **d:** DYN-DT

5.6.7. İnfrared (FT-IR)

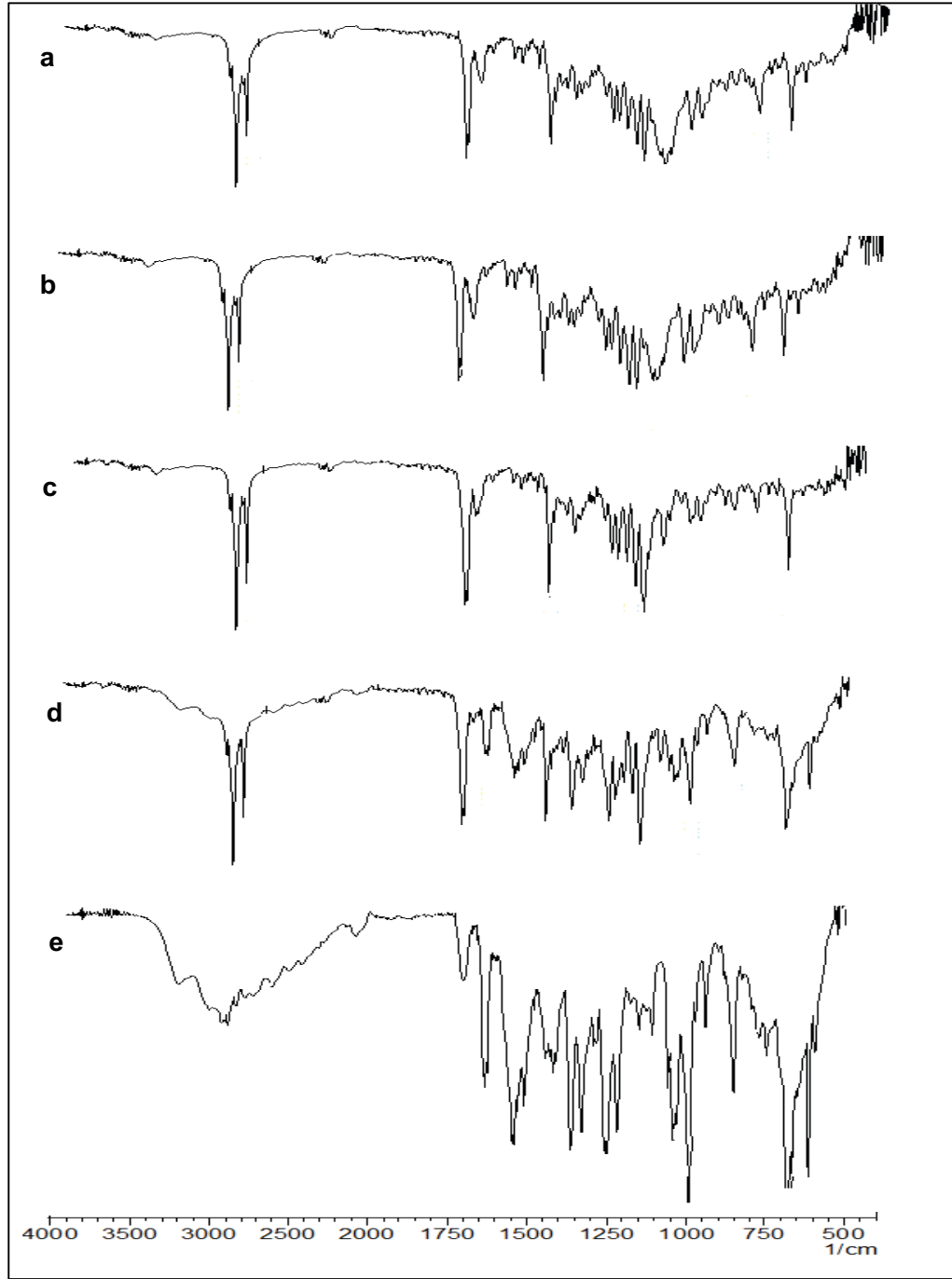
Compritol® 888 ATO ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonun FT-IR spektrumları DT, katı lipit ve fiziksel karışım ile karşılaştırmalı şekilde Şekil 5.78.'de sunulmuştur.



Şekil 5.78. Etkin Maddeli/Maddesiz Compritol® 888 ATO ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun FT-IR Spektrumu

a: COMP-DT, **b:** COMP-Plasebo, **c:** Compritol® 888 ATO **d:** Fiziksel karışım, **e:** DT

Dynasan® 114 ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonun FT-IR spektrumları DT, katı lipit ve fiziksel karışım ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.79.'da sunulmuştur.

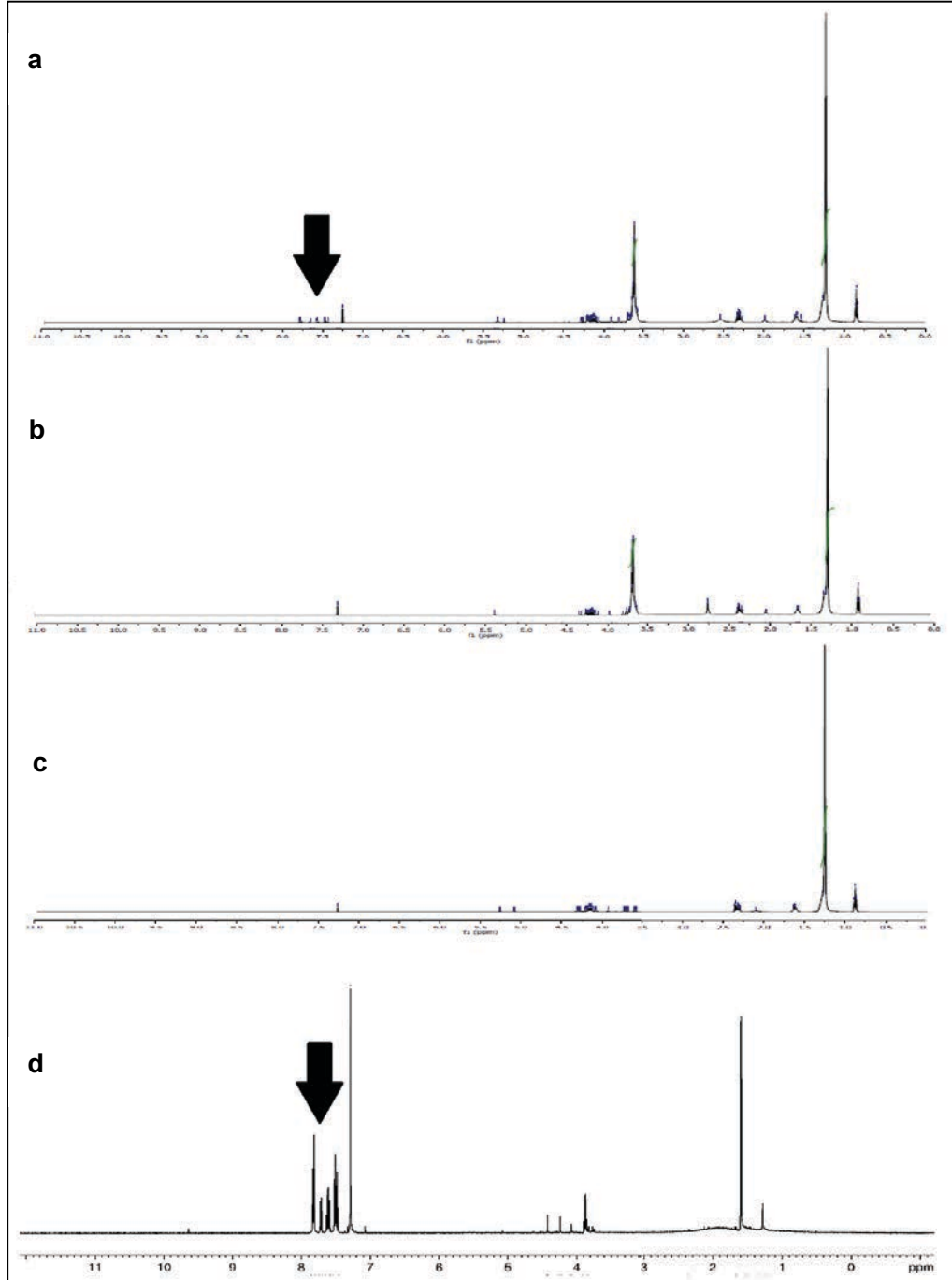


Şekil 5.79. Etkin Maddeli/Maddesiz Dynasan® 114 ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun FT-IR Spektrumu

a: DYN-DT, **b:** DYN-Plasebo, **c:** Dynasan® 114, **d:** Fiziksel karışım, **e:** DT

5.6.8. Nükleer manyetik rezonans (NMR)

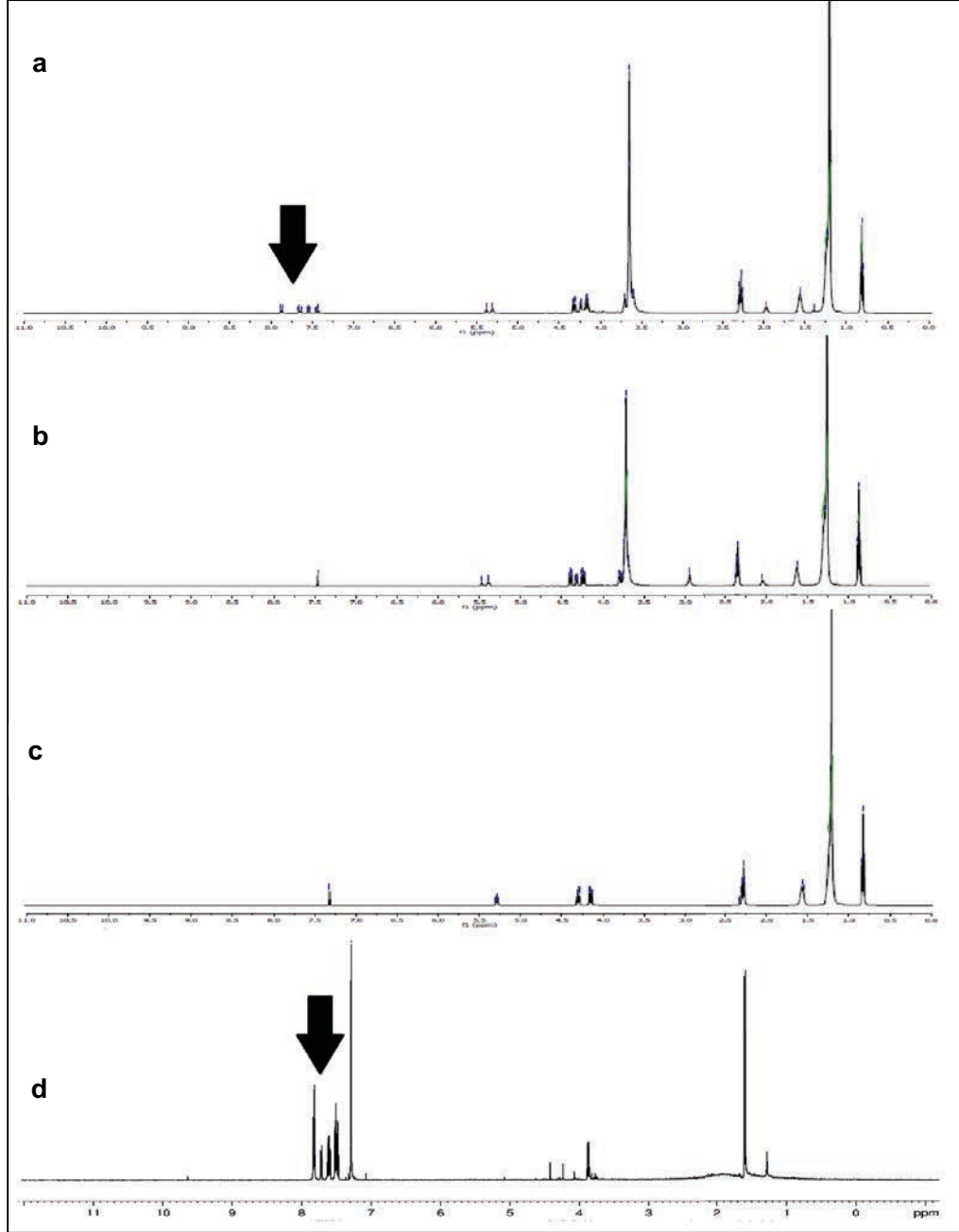
Compritol® 888 ATO ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonun ^1H -NMR spektrumları DT ve katı lipid ile karşılaştırmalı şekilde Şekil 5.80.'de sunulmuştur.



Şekil 5.80. Etkin Maddeli/Maddesiz Compritol® 888 ATO ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun NMR Spektrumu

a: COMP-DT, **b:** COMP-Plasebo, **c:** Compritol® 888 ATO, **d:** DT

Dynasan® 114 ile hazırlanan etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonun ¹H-NMR spektrumları DT ve katı lipid ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.81.'de sunulmuştur.



Şekil 5.81. Etkin Maddeli/Maddesiz Dynasan® 114 ile Hazırlanan KLN Formülasyonunun NMR Spektrumu

a: DYN-DT, **b:** DYN-Plasebo, **c:** Dynasan® 114, **d:** DT

5.6.9. Formülasyonda etkin madde miktar tayini

Yükleme etkinliği hesapları '4.6.4.8. *Formülasyonda etkin madde miktar tayini*' bölümünde verilen Eşitlik 4 ile gerçekleştirilmiş ve yükleme etkinliği değerleri Çizelge 5.14.'te sunulmuştur.

Çizelge 5.14. KLN Formülasyonuna ait % Yüklem Etkinliği (Ort±SH)

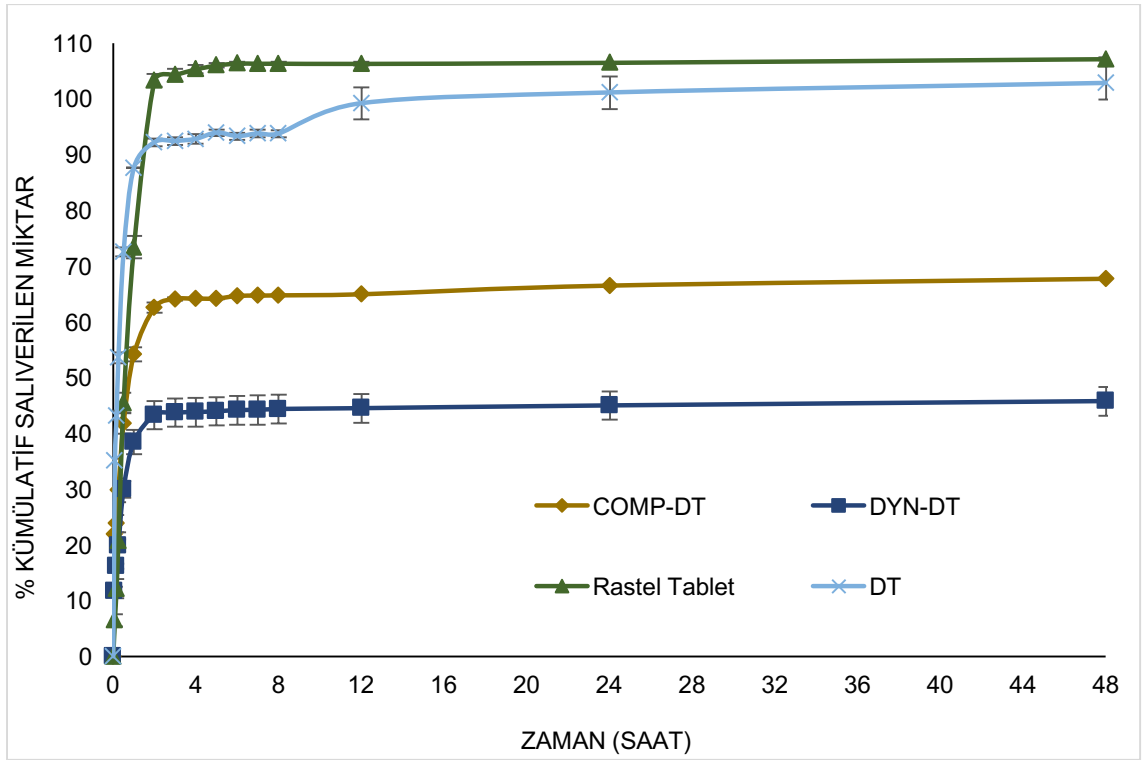
Formülasyon Kodu	Yüklem Etkinliği (%) ± SH
COMP-DT	8.802±1.747
DYN-DT	11.612±0.204

5.6.10. *In vitro* salım çalışması

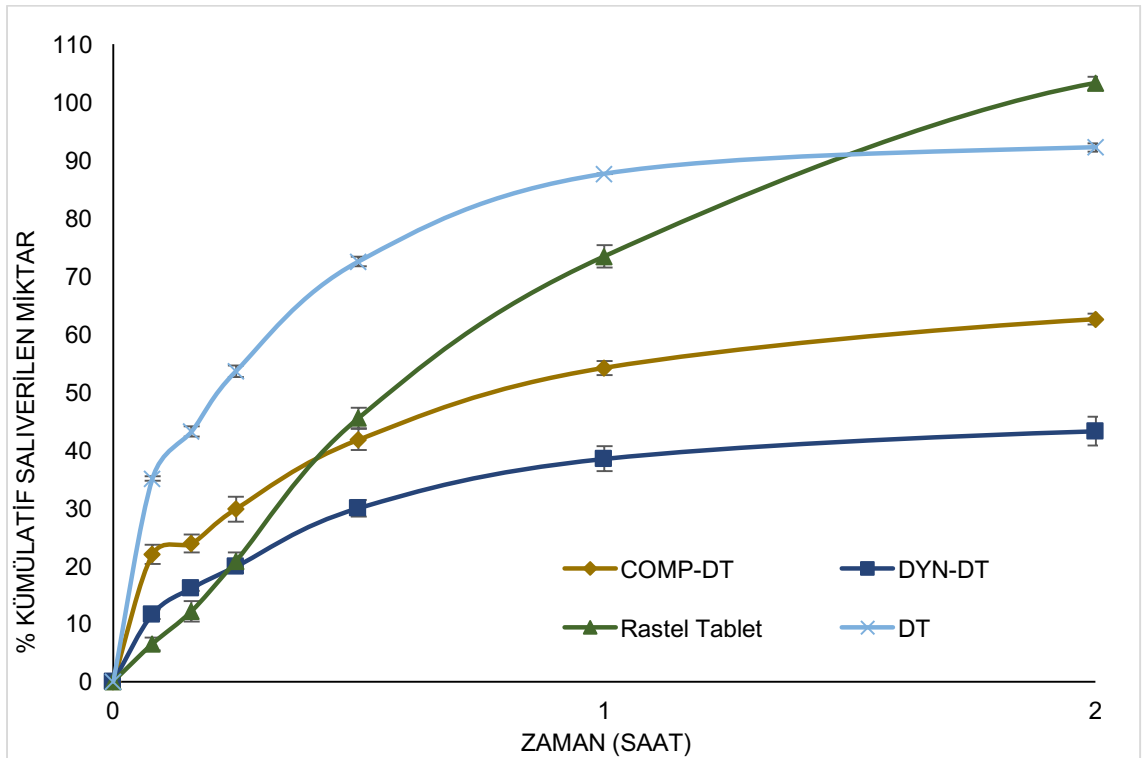
DT, COMP-DT ve DYN-DT formülasyonuna ait zamana karşı kümülatif çözünen etkin madde miktarı verileri Çizelge 5.15.'de sunulmuştur. Elde edilen veriler kullanılarak DT ve Rastel® tablet ile karşılaştırmalı *in vitro* salım profili Şekil 5.83.'de ve piyasa preparatı olan Rastel® tabletin iki saatte % 100'e ulaşan salım oranı ile karşılaştırmalı *in vitro* salım profili ise Şekil 5.84.'te sunulmuştur. Hazırlanan PNP ve KLN formülasyonu ile DT ve Rastel® tabletin karşılaştırmalı olarak *in vitro* salım profili de Şekil 5.85.'te sunulmuştur.

Çizelge 5.15. *DT, Rastel® Tablet, COMP-DT ve DYN-DT Formülasyonundan Zamana Karşı Kümülatif Çözünen Etkin Madde Miktarı*

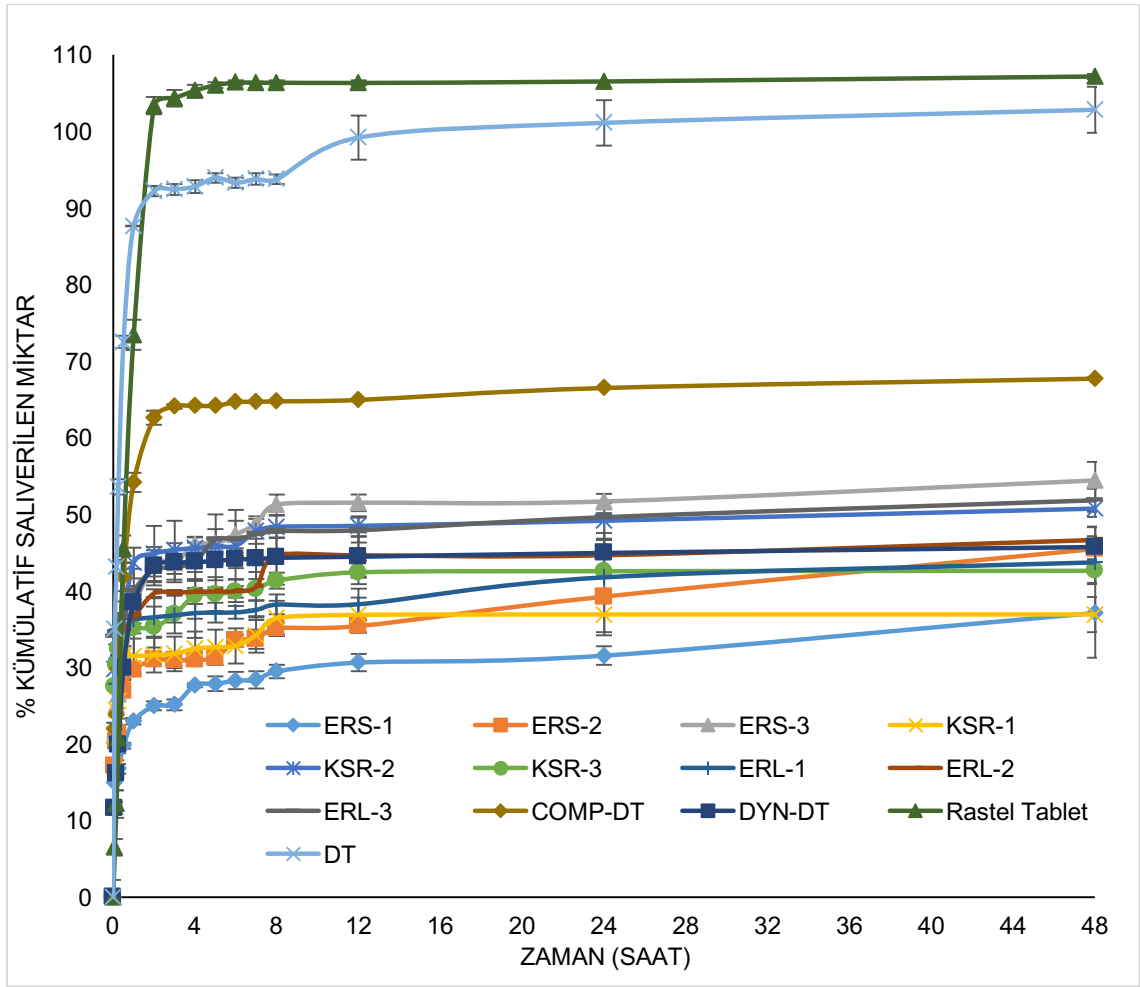
Zaman	DT	Rastel® Tablet	COMP-DT	DYN-DT
	% ± SH	% ± SH	% ± SH	% ± SH
5. dakika	35.071±0.375	6.517±1.103	21.960±1.642	11.665±0.807
10. dakika	43.178±0.872	12.183±1.763	23.845±1.540	16.151±0.473
15. dakika	53.565±1.014	20.811±1.473	29.811±2.142	19.886±1.067
30. dakika	72.509±0.817	45.515±1.761	41.779±1.826	29.970±1.451
1. saat	87.641±0.058	73.412±1.965	54.180±1.220	38.468±2.151
2. saat	92.217±0.682	103.342±1.116	62.585±0.926	43.243±2.518
3. saat	92.415±0.685	104.322±1.082	64.104±0.290	43.696±2.540
4. saat	92.806±0.831	105.327±0.758	64.184±0.077	43.800±2.537
5. saat	93.918±0.603	106.022±0.397	64.192±0.083	43.936±2.514
6. saat	93.290±0.668	106.373±0.306	64.670±0.087	44.162±2.607
7. saat	93.781±0.732	106.333±0.132	64.718±0.078	44.186±2.604
8. saat	93.759±0.651	106.351±0.278	64.771±0.082	44.358±2.606
12. saat	99.191±2.904	106.318±0.318	64.960±0.077	44.497±2.585
24. saat	101.112±2.941	106.509±0.034	66.518±0.103	44.991±2.560
48. saat	102.824±2.981	107.160±0.310	67.742±0.128	45.767±2.571



Şekil 5.82. KLN Formülasyonu, DT ve Rastel® Tablete ait İn Vitro Salım Profili



Şekil 5.83. KLN Formülasyonu, DT ve Rastel® Tablete ait 2 Saatlik İn Vitro Salım Profili



Şekil 5.84. Hazırlanan PNP ve KLN Formülasyonu, DT ve Rastel® Tablet'e ait İn Vitro Salım Profili

5.7. Kararlılık çalışması

5.7.1. Parçacık boyutu ve dağılımı

Seçilen KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT kodlu optimum formülasyonların parçacık boyutu ve dağılımı ölçümü 0. zaman, 1. ay, 2. ay, 3. ay ve 6. ayda tekrarlanmıştır. Parçacık boyutu ve dağılım verileri Çizelge 5.16., Çizelge 5.17. ve Çizelge 5.18.'de, ayrıca karşılaştırmalı olarak ise Şekil 5.85., Şekil 5.86. ve Şekil 5.87.'de sunulmuştur.

Çizelge 5.16. 4°C’de Saklanan KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT Formülasyonuna ait Ortalama Parçacık Boyutu ve Dağılımı (PDI), (n=3, Ort±SH)

Kod	Ortalama Parçacık Boyutu (nm) ± SH	PDI ± SH
KSR-2, 0. Zaman	226.109±0.751	0.377±0.019
KSR-2, 1. Ay	321.602±1.256	0.401±0.074
KSR-2, 2. Ay	401.615±3.298	0.465±0.054
KSR-2, 3. Ay	452.716±2.891	0.389±0,021
KSR-2, 6. Ay	650.512±1.029	0.501±0.036
ERS-3, 0. Zaman	690.667±0.613	0.478±0.016
ERS-3, 1. Ay	700.650±1.518	0.596±0.078
ERS-3, 2. Ay	705.601±2.479	0.541±0.056
ERS-3, 3. Ay	728.532±1.986	0.564±0.062
ERS-3, 6. Ay	756.058±1.364	0.497±0.036
COMP-DT, 0. Zaman	100.410±1.820	0.345±0.050
COMP-DT, 1. Ay	120.650±2.560	0.363±0.061
COMP-DT, 2. Ay	136.925±1.652	0.345±0.054
COMP-DT, 3. Ay	141.930±3.980	0.398±0.059
COMP-DT, 6. Ay	190.862±1.265	0.374±0.065

Çizelge 5.17. 25°C’de Saklanan KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT Formülasyonuna ait Ortalama Parçacık Boyutu ve Dağılımı (PDI), (n=3, Ort±SH)

Kod	Ortalama Parçacık Boyutu (nm) ± SH	PDI ± SH
KSR-2, 0. Zaman	226.109±0.751	0.377±0.019
KSR-2, 1. Ay	350.612±0.891	0.618±0.060
KSR-2, 2. Ay	336.512±3.959	0.518±0,051

Çizelge 5.17. (Devam) 25°C’de Saklanan KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT Formülasyonuna ait Ortalama Parçacık Boyutu ve Dağılımı (PDI), (n=3, Ort±SH)

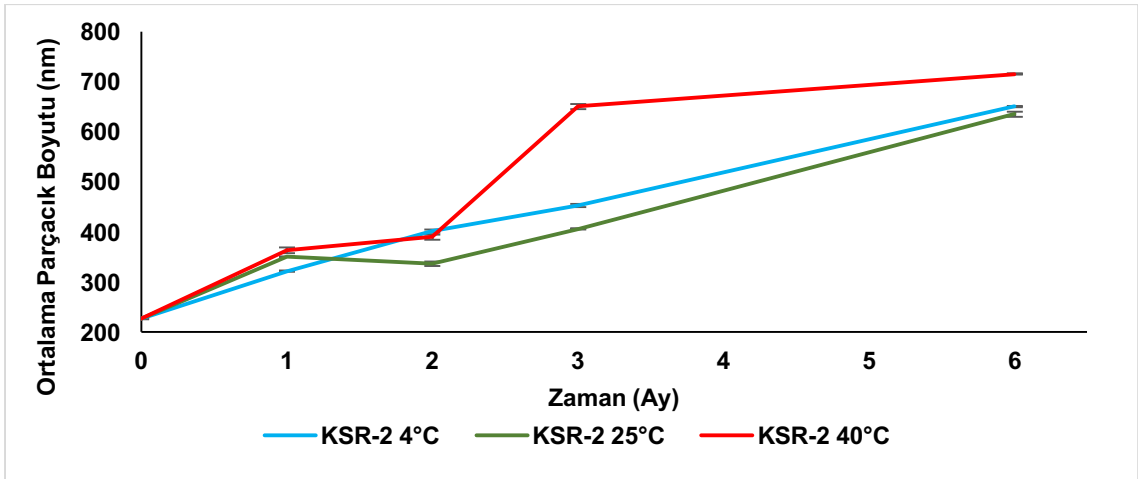
KSR-2, 3. Ay	405.978±1.653	0.512±0.070
KSR-2, 6. Ay	635.313±4.981	0.486±0.032
ERS-3, 0. Zaman	690.667±0.613	0.478±0.016
ERS-3, 1. Ay	695.501±1.285	0.489±0.065
ERS-3, 2. Ay	700.612±2.816	0.487±0.051
ERS-3, 3. Ay	705.516±2.567	0.519±0.049
ERS-3, 6. Ay	732.672±0.985	0.525±0.038
COMP-DT, 0. Zaman	100.410±1.820	0.345±0.050
COMP-DT, 1. Ay	129.617±1.560	0.362±0.045
COMP-DT, 2. Ay	138.315±4.356	0.391±0.064
COMP-DT, 3. Ay	150.625±3.650	0.415±0.068
COMP-DT, 6. Ay	170.674±2.689	0.365±0.075

Çizelge 5.18. 40°C’de Saklanan KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT Formülasyonuna ait Ortalama Parçacık Boyutu ve Dağılımı (PDI) (n=3, Ort±SH)

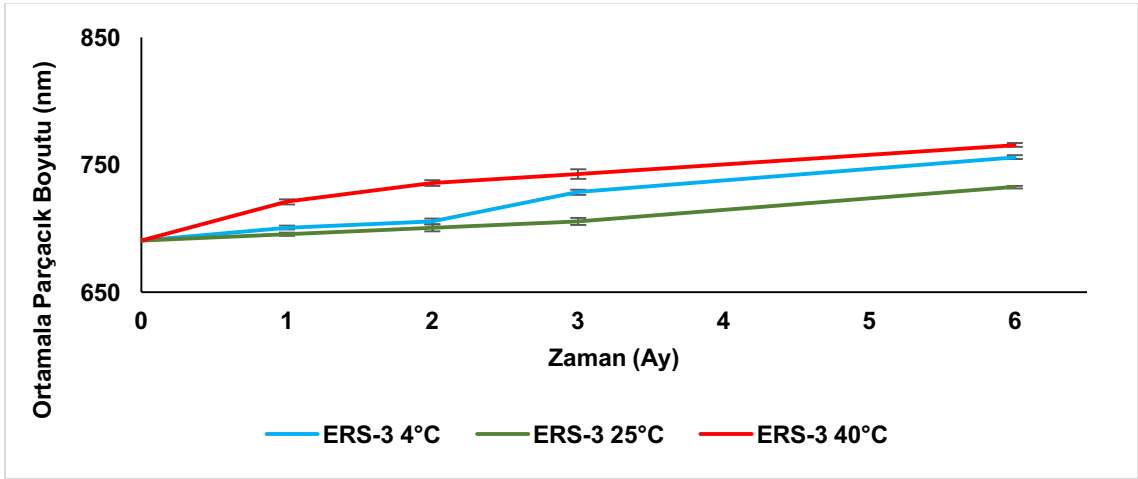
Kod	Ortalama Parçacık Boyutu (nm) ± SH	PDI ± SH
KSR-2, 0. Zaman	226.109±0.751	0.377±0.019
KSR-2, 1. Ay	363.651±5.698	0.567±0.036
KSR-2, 2. Ay	389.505±4.615	0.468±0.035
KSR-2, 3. Ay	650.562±5.365	0.552±0.074
KSR-2, 6. Ay	715.312±1.569	0.557±0.054
ERS-3, 0. Zaman	690.667±0.613	0.478±0.016
ERS-3, 1. Ay	720.912±2.156	0.489±0.015

Çizelge 5.18. (Devam) 40°C’de Saklanan KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT Formülasyonuna ait Ortalama Parçacık Boyutu ve Dağılımı (PDI) (n=3, Ort±SH)

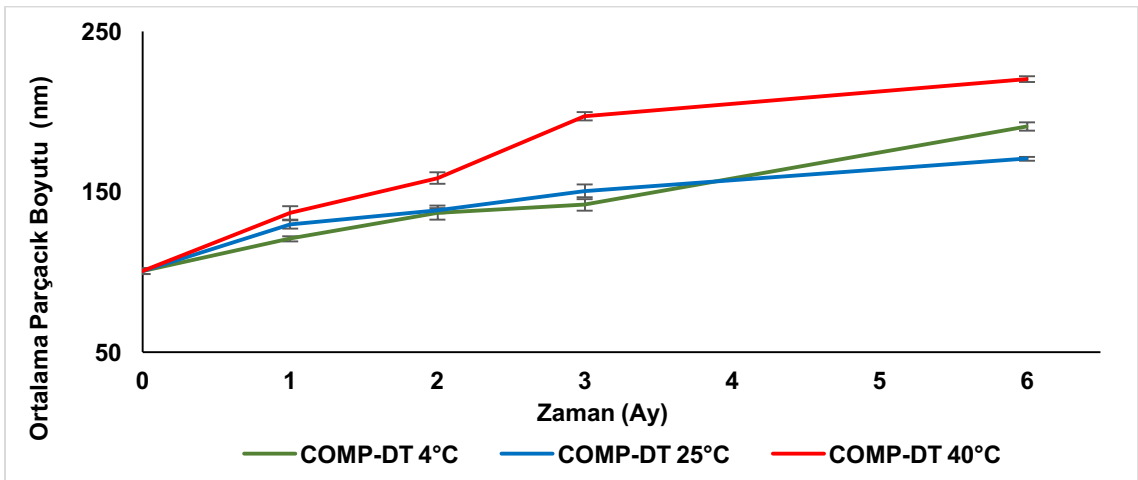
ERS-3, 2. Ay	735.666±2.364	0.518±0.056
ERS-3, 3. Ay	742.721±3.689	0.516±0.025
ERS-3, 6. Ay	765.500±1.312	0.502±0.057
COMP-DT, 0. Zaman	100.410±1.820	0.345±0.050
COMP-DT, 1. Ay	136.700±4.235	0.485±0.055
COMP-DT, 2. Ay	158.501±3.650	0.396±0.078
COMP-DT, 3. Ay	197.202±2.655	0.370±0.064
COMP-DT, 6. Ay	220.311±1.844	0.416±0,085



Şekil 5.85. KSR-2 Formülasyonunun Kararlılık Çalışmasına ait Parçacık Boyutu (n=3)



Şekil 5.86. ERS-3 Formülasyonunun Kararlılık Çalışmasına ait Parçacık Boyutu (n=3)



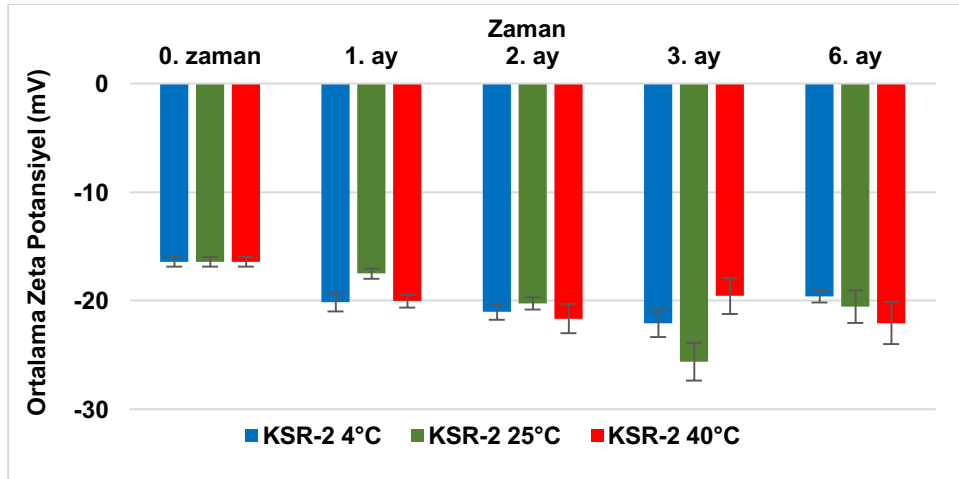
Şekil 5.87. COMP-DT Formülasyonunun Kararlılık Çalışmasına ait Parçacık Boyutu (n=3)

5.7.2. Zeta potansiyel

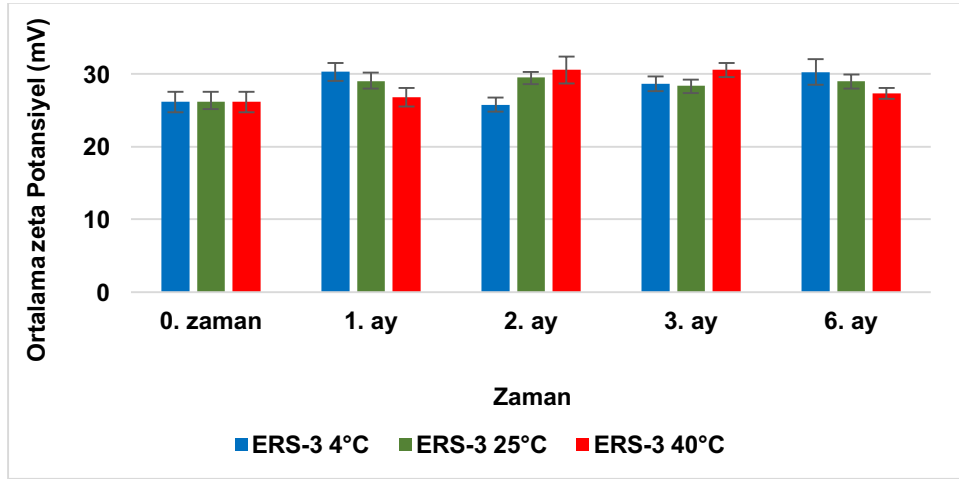
Hazırlanan formülasyonların 0. zaman, 1. ay, 2. ay, 3.ay ve 6.ayda ölçülen zeta potansiyel değerleri Çizelge 5.19.'da, karşılaştırmalı olarak ise Şekil 5.88., Şekil 5.89. ve Şekil 5.90.'da sunulmuştur.

Çizelge 5.19. KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT Formülasyonunun Kararlılık Çalışmasına ait Zeta Potansiyel Değeri (n=3, Ort±SH)

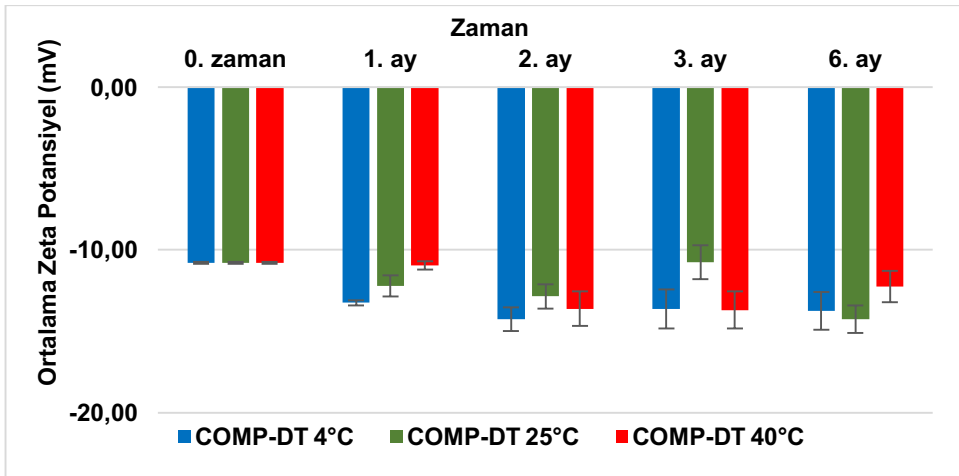
Kod	Zeta Potansiyel (mV)	Zeta Potansiyel (mV)	Zeta Potansiyel (mV)
	± SH	± SH	± SH
	4°C	25°C	40°C
KSR-2, 0. Zaman	-16.43±0.45	-16.43±0.45	-16.43±0.45
KSR-2, 1. Ay	-20.16±0.81	-17.5±0.48	-20.05±0.60
KSR-2, 2. Ay	-21.05±0.74	-20.25±0.55	-21.65±1.35
KSR-2, 3. Ay	-22.08±1.25	-25.63±1.75	-19.56±1.65
KSR-2, 6. Ay	-19.62±0.56	-20.54±1.52	-22.07±1.96
ERS-3, 0. Zaman	+26.15±1.42	+26.15±1.42	+26.15±1.42
ERS-3, 1. Ay	+30.28±1.25	+28.95±1.26	+26.78±1.25
ERS-3, 2. Ay	+25.78±0.95	+29.56±0.70	+30.54±1.84
ERS-3, 3. Ay	+28.65±0.98	+28.36±0.89	+30.56±0.96
ERS-3, 6. Ay	+30.25±1.78	+28.98±0.90	+27.32±0.77
COMP-DT, 0. Zaman	-10.80±0.05	-10.80±0.05	-10.80±0.05
COMP-DT, 1. Ay	-13.25±0.15	-12.21±0.66	-10.95±0.25
COMP-DT, 2. Ay	-14.25±0.74	-12.85±0.74	-13.6 ±1.06
COMP-DT, 3. Ay	-13.62±1.20	-10.75±1.05	-13.69±1.15
COMP-DT, 6. Ay	-13.75±1.15	-14.25±0.85	-12.25±0.95



Şekil 5.88. KSR-2 Formülasyonunun Kararlılık Çalışmasına ait Zeta Potansiyel Değeri



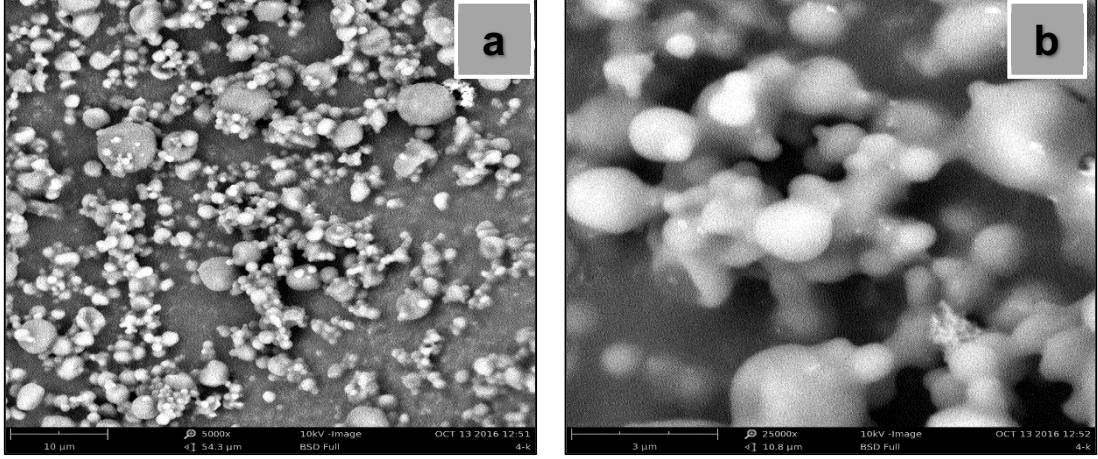
Şekil 5.89. ERS-3 Formülasyonunun Kararlılık Çalışmasına ait Zeta Potansiyel Değeri



Şekil 5.90. COMP-DT Formülasyonunun Kararlılık Çalışmasına ait Zeta Potansiyel Değeri (n=3)

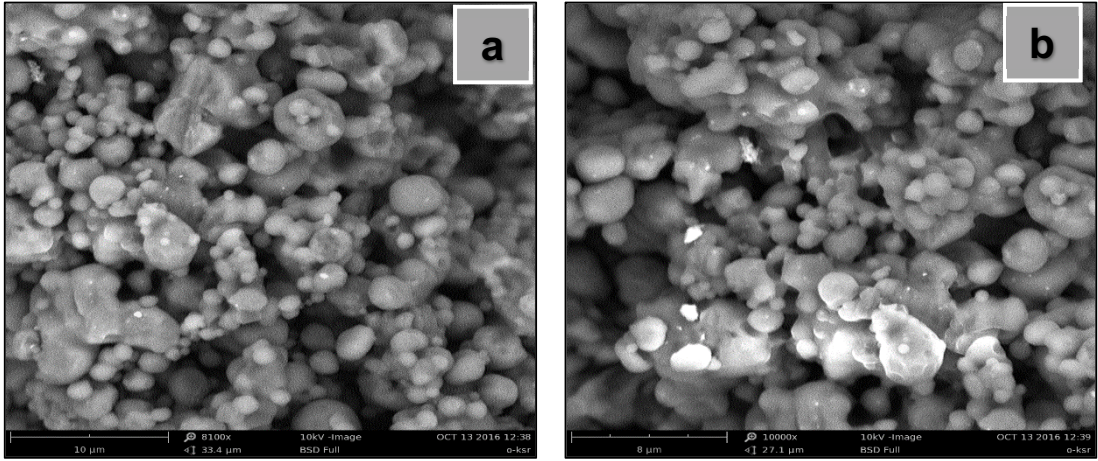
5.7.3. Parçacık Şekli ve yüzey zellik

4°C'de, 25°C'de ve 40°C'de saklanan KSR-2 formülasyonunun 6. ay sonundaki taramalı elektron mikroskobu görüntüsü sırasıyla Şekil 5.91.'de, 5.92.'de ve Şekil 5.93.'de sunulmuştur.



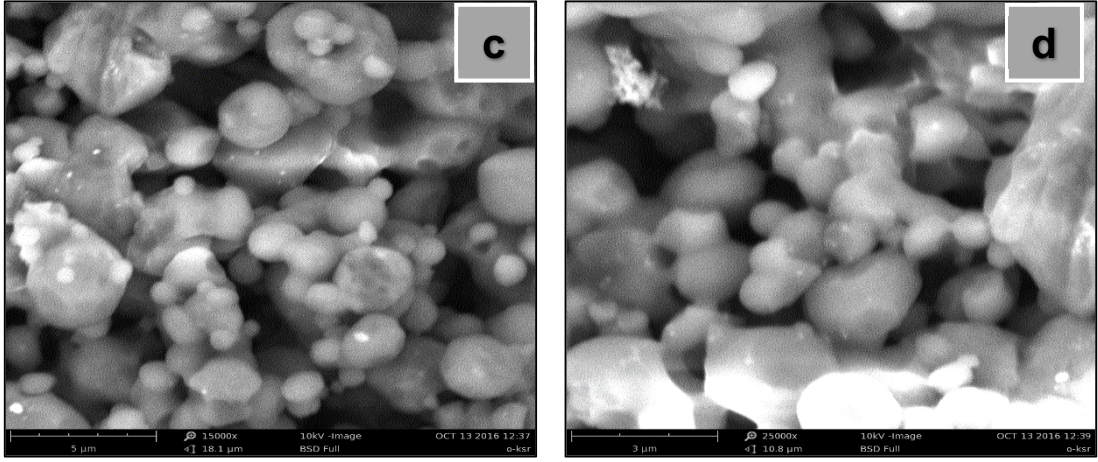
Şekil 5.91. 4°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

a: x5000, **b:** x25000



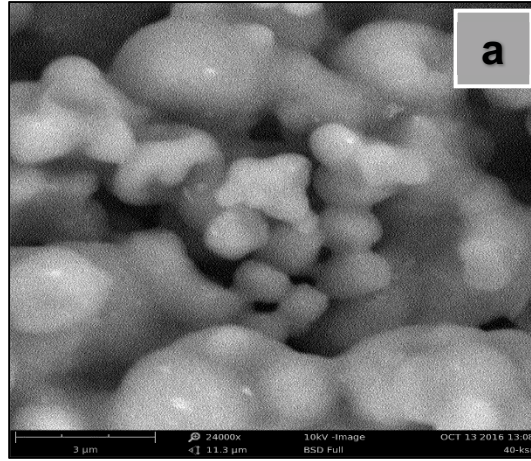
Şekil 5.92. 25°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

a: x8100, **b:** x10000, **c:** x15000, **d:** x25000



Şekil 5.92. (Devam) 25°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

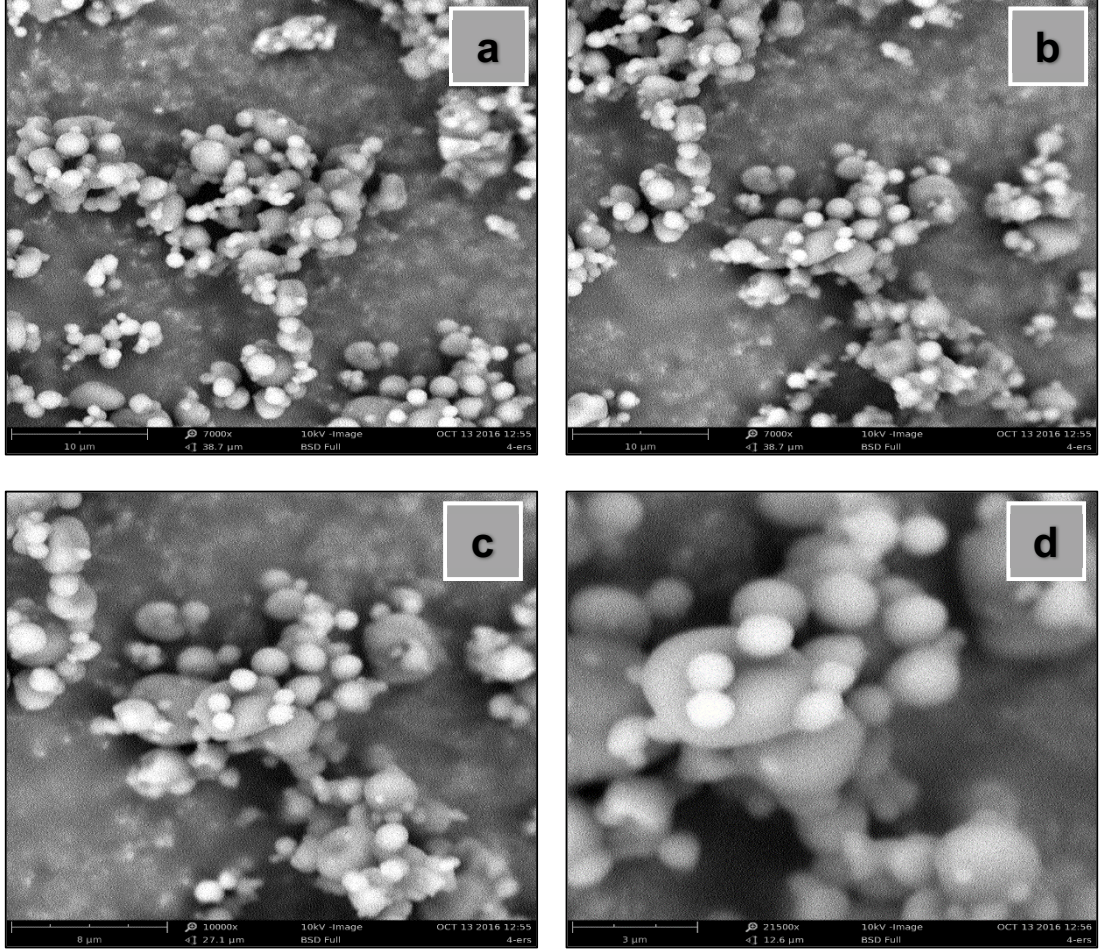
a: x8100, b: x10000, c: x15000, d: x25000



Şekil 5.93. 40°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

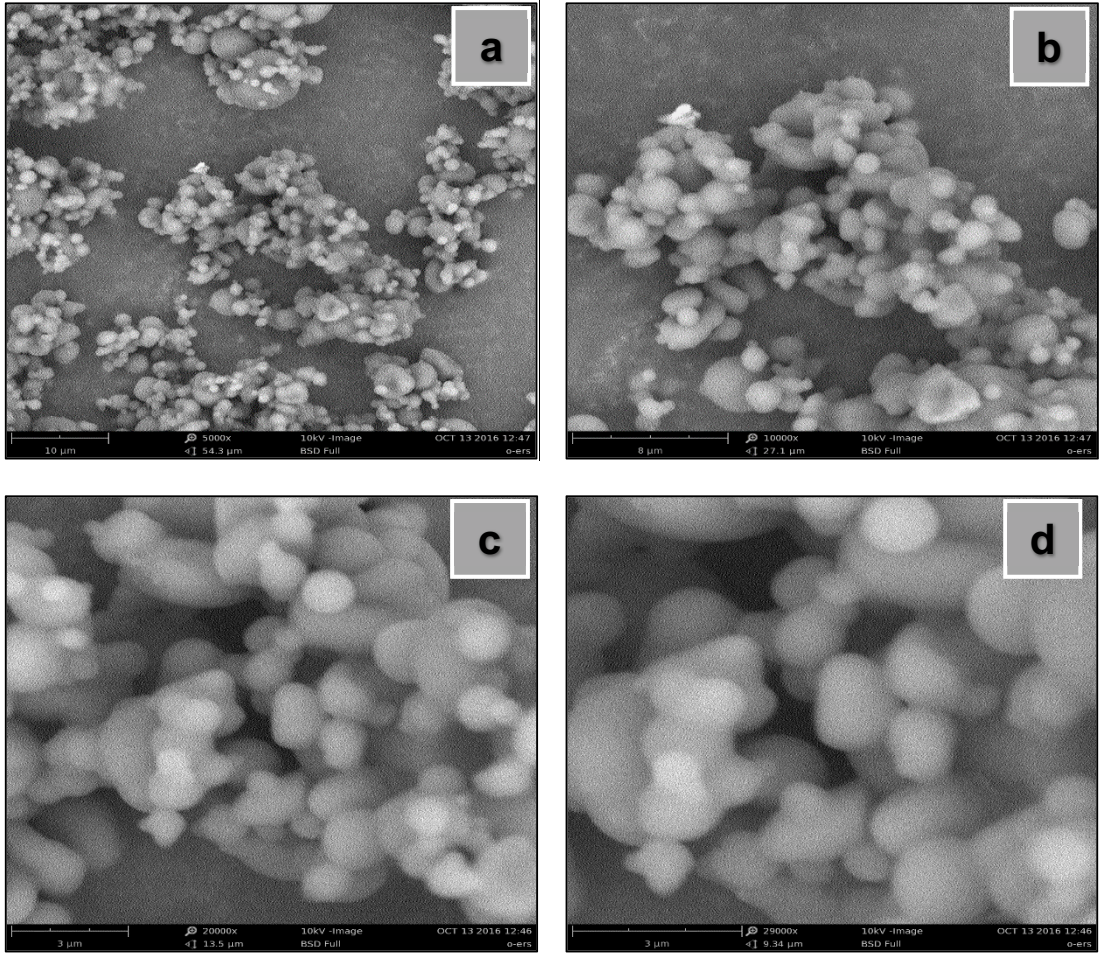
a: x24000

4°C'de, 25°C'de ve 40°C'de saklanan ERS-3 formülasyonunun 6. ay sonundaki taramalı elektron mikroskobu görüntüsü sırasıyla Şekil 5.94.'te, 5.95.'de ve Şekil 5.96.'da sunulmuştur.



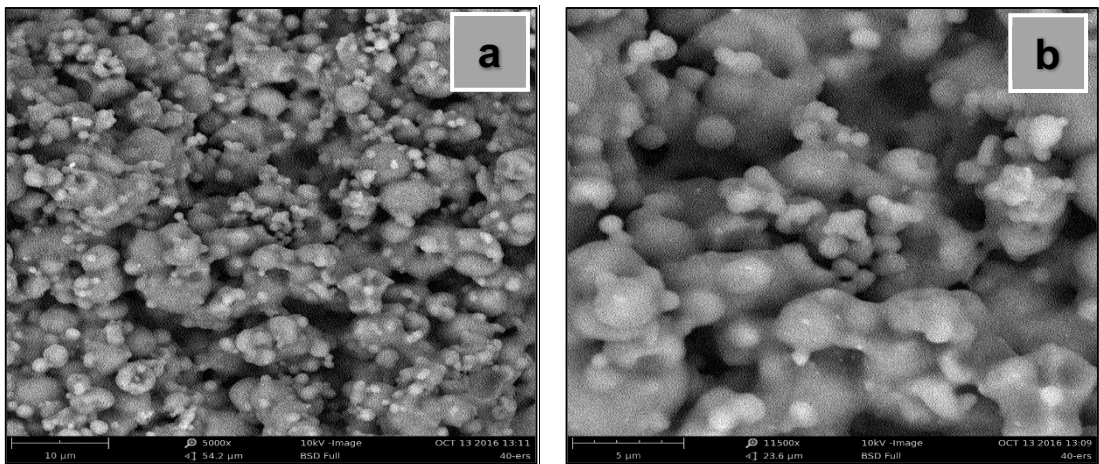
Şekil 5.94. 4°C'de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

a: x7000, **b:** x7000, **c:** x10000, **d:** x21500

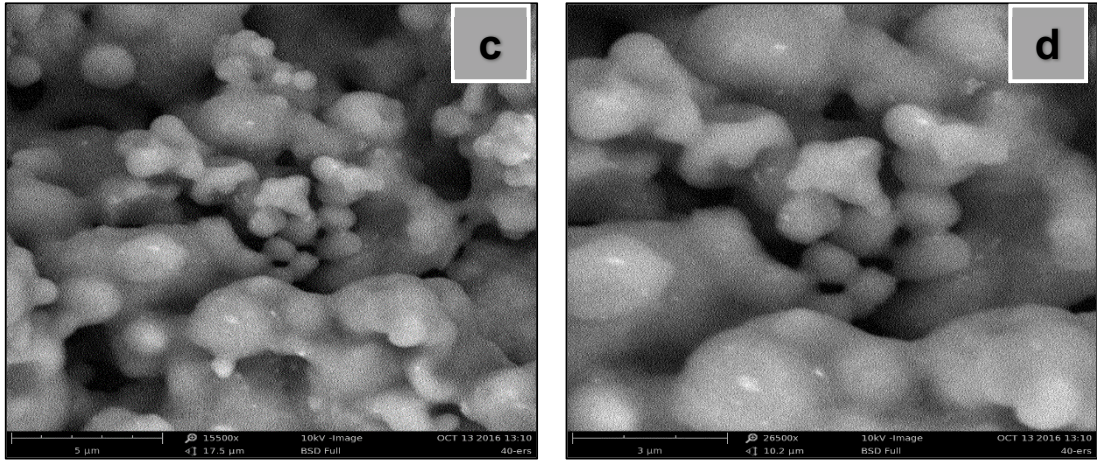


Şekil 5.95. 25°C'de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

a: x5000, **b:** x10000, **c:** x20000, **d:** x29000



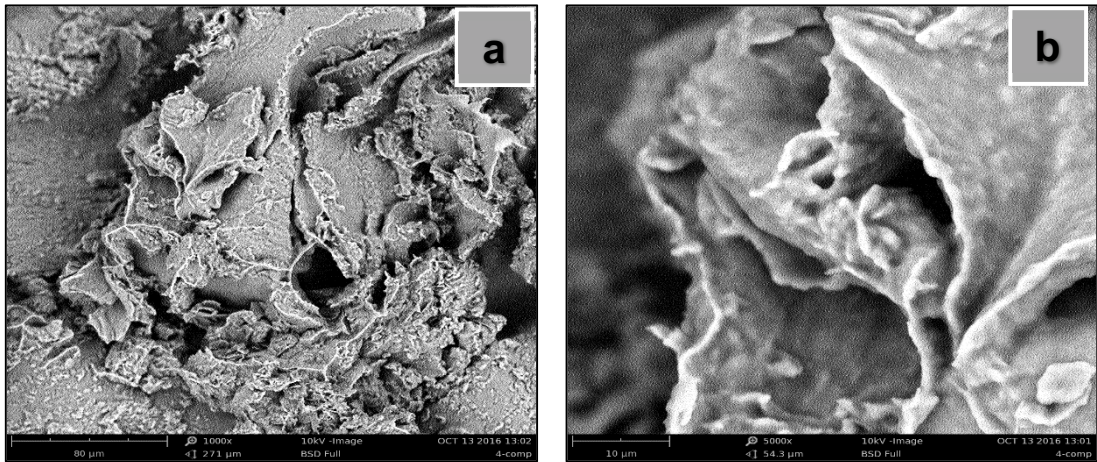
Şekil 5.96. 40°C'de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü



Şekil 5.96. (Devam) 40°C’de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

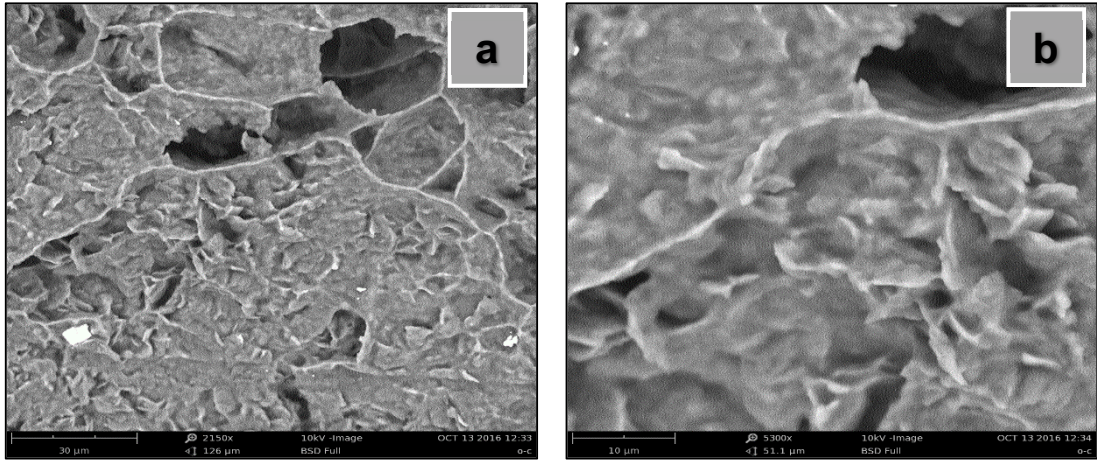
a: x5000, b: x11500, c: x15500, d: x26500

4°C’de, 25°C’de ve 40°C’de saklanan COMPT-DT formülasyonunun 6. ay sonundaki taramalı elektron mikroskobu görüntüsü sırasıyla Şekil 5.97.’de, 5.98.’de ve Şekil 5.99.’da sunulmuştur.



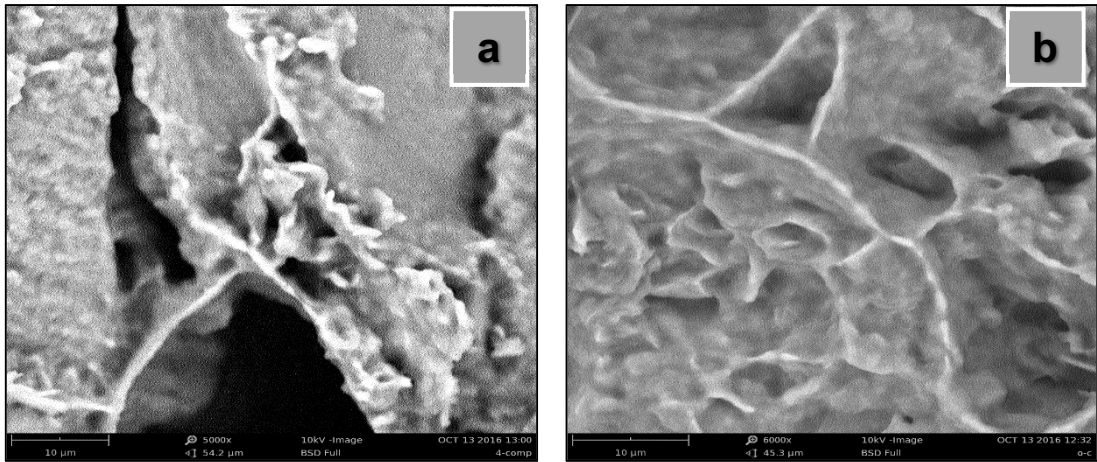
Şekil 5.97. 4°C’de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

a: x1000, b: x5000



Şekil 5.98. 25°C'de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

a: x2150, **b:** x5300

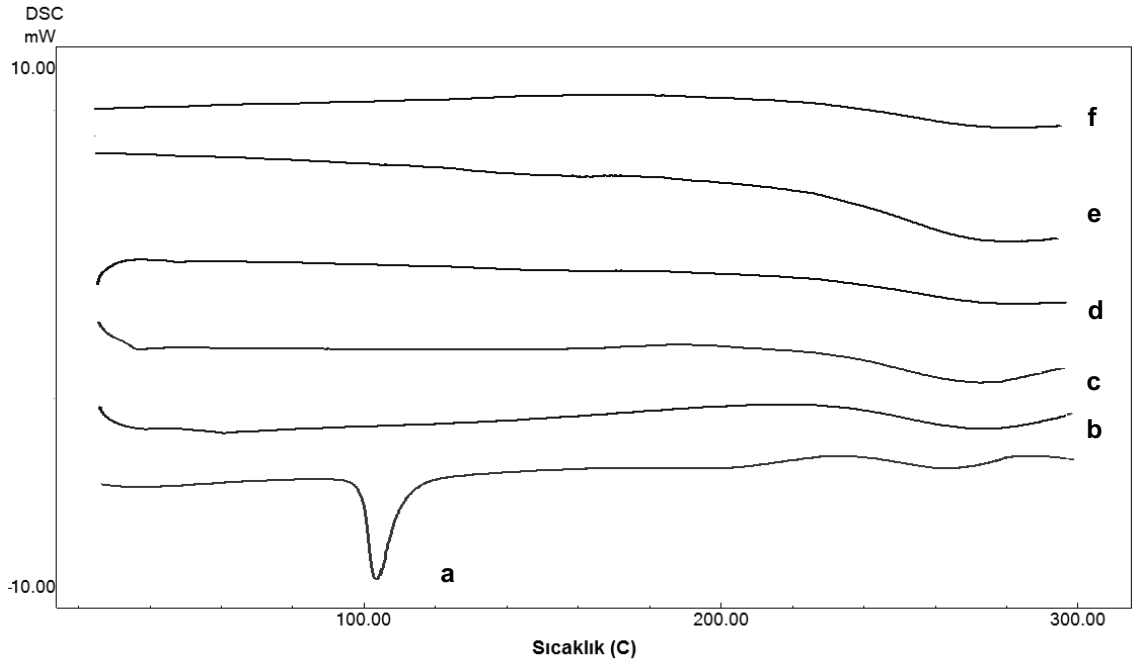


Şekil 5.99. 40°C'de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

a: x5000, **b:** x6000

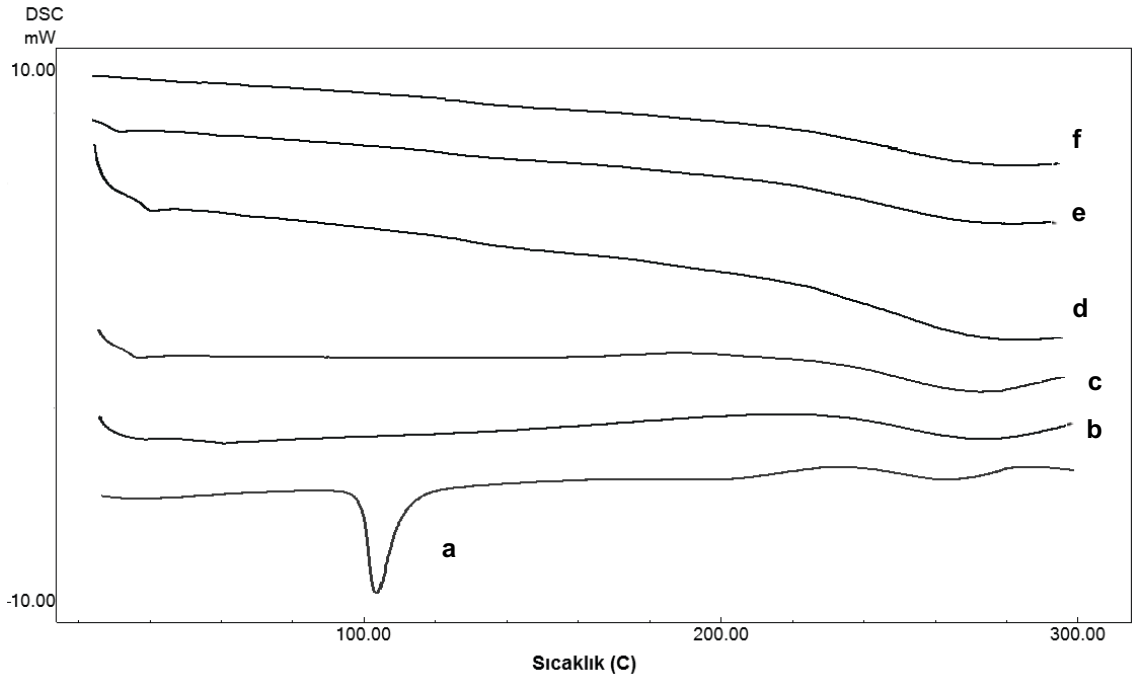
5.7.4. Termal analiz

4°C'de, 25°C'de ve 40°C'de saklanan KSR-2 formülasyonuna ait 1. ay, 3. ay ve 6. ay sonundaki termogramlar, DT ve polimerin 0. zaman termogramı ile karşılaştırmalı olarak sırasıyla Şekil 5.100.'de, Şekil 5.101.'de ve Şekil 5.102.'de sunulmuştur.



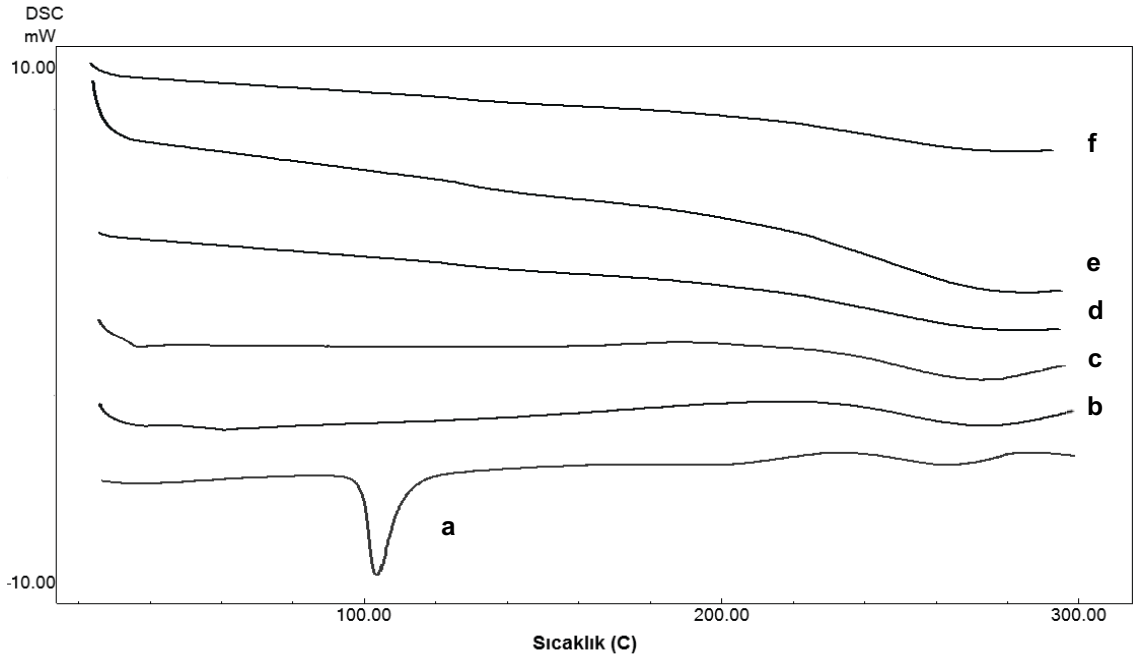
Şekil 5.100. 4°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait Termogram

a: DT, b: Kollidon® SR, c: KSR-2 0. zaman, d: KSR-2 1.ay, e: KSR-2 3.ay, f: KSR-2 6. Ay



Şekil 5.101. 25°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait Termogram

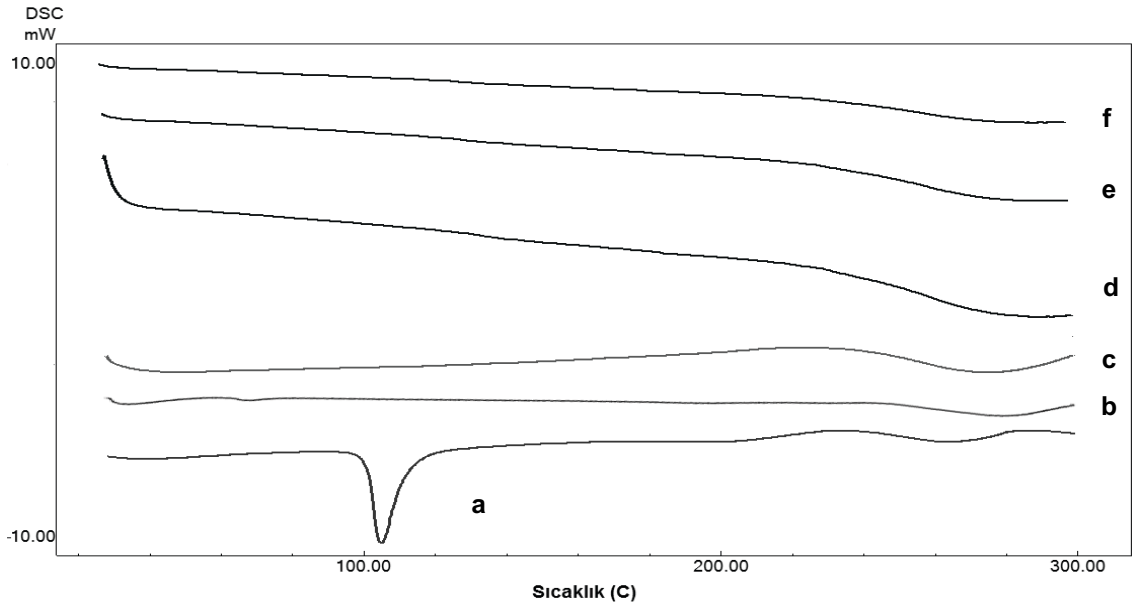
a: DT, b: Kollidon® SR, c: KSR-2 0. zaman, d: KSR-2 1.ay, e: KSR-2 3.ay, f: KSR-2 6. Ay



Şekil 5.102. 40°C'de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait Termogram

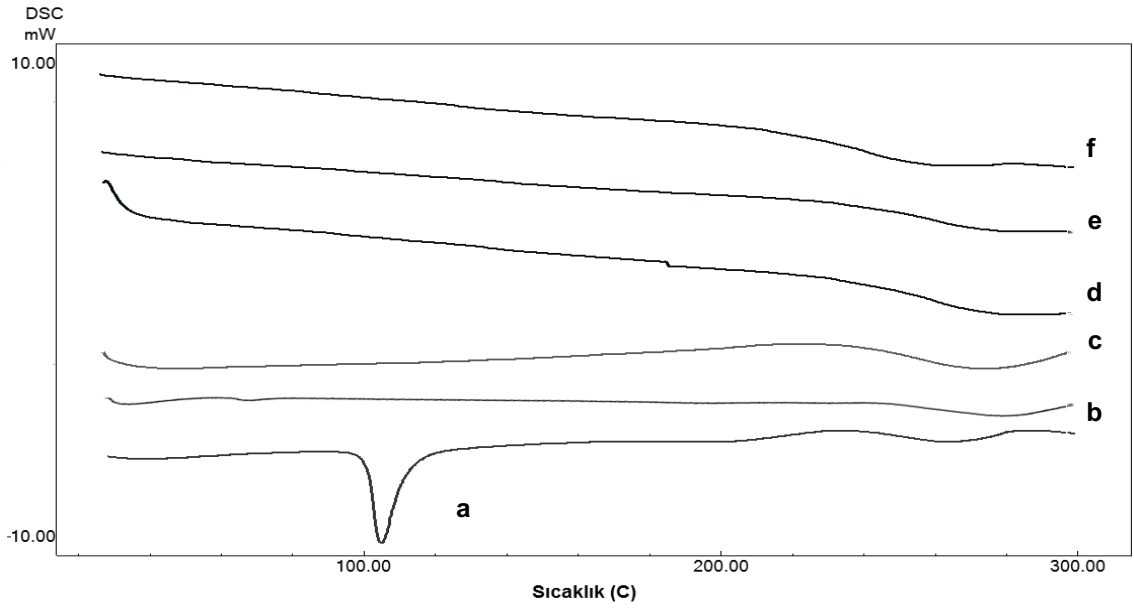
a: DT, **b:** Kollidon® SR, **c:** KSR-2 0. zaman, **d:** KSR-2 1.ay, **e:** KSR-2 3.ay, **f:** KSR-2 6. Ay

4°C'de, 25°C'de ve 40°C'de saklanan ERS-3 formülasyonuna ait 1. ay, 3. ay ve 6. ay sonundaki termogramlar, DT ve polimerin 0. zaman termogramı ile karşılaştırmalı olarak sırasıyla Şekil 5.103.'de, Şekil 5.104.'te ve Şekil 5.105.'de sunulmuştur.



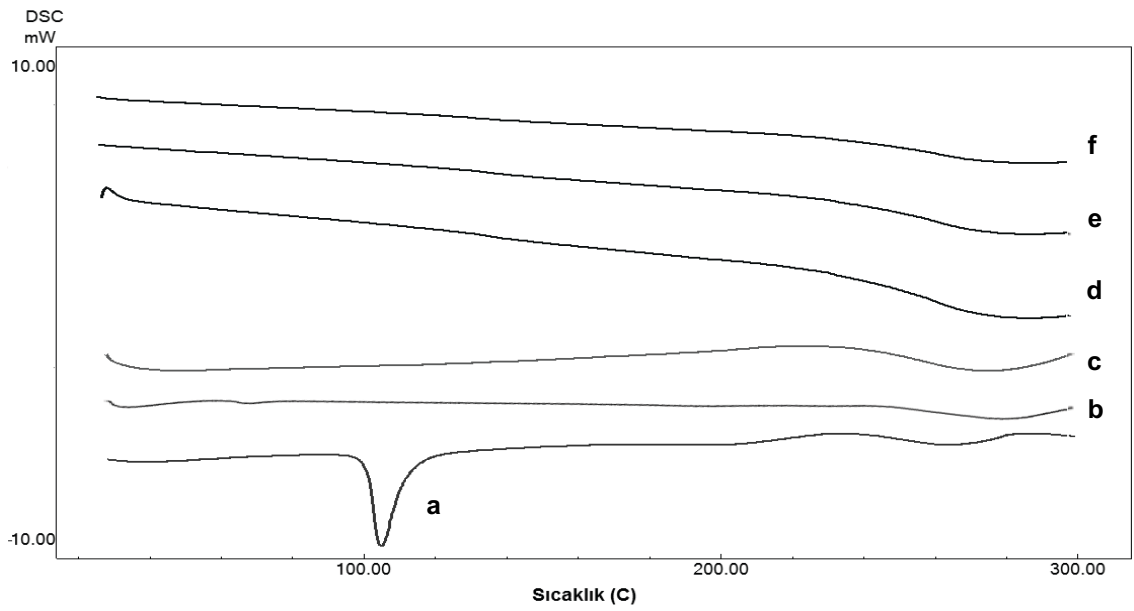
Şekil 5.103. 4°C'de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait Termogram

a: DT, **b:** Eudragit® RS 100, **c:** ERS-3 0. zaman, **d:** ERS-3 1.ay, **e:** ERS-3 3.ay, **f:** ERS-3 6. Ay



Şekil 5.104. 25°C'de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait Termogram

a: DT, **b:** Eudragit® RS 100, **c:** ERS-3 0. zaman, **d:** ERS-3 1.ay, **e:** ERS-3 3.ay, **f:** ERS-3 6. Ay

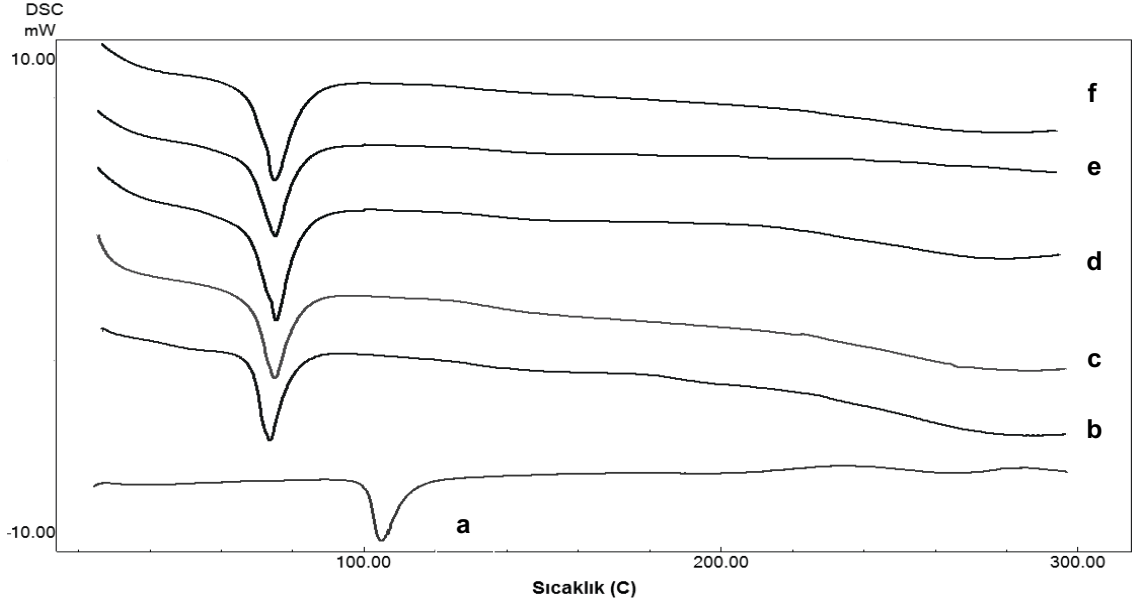


Şekil 5.105. 40°C'de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait Termogram

a: DT, **b:** Eudragit® RS 100, **c:** ERS-3 0. zaman, **d:** ERS-3 1.ay, **e:** ERS-3 3.ay, **f:** ERS-3 6. Ay

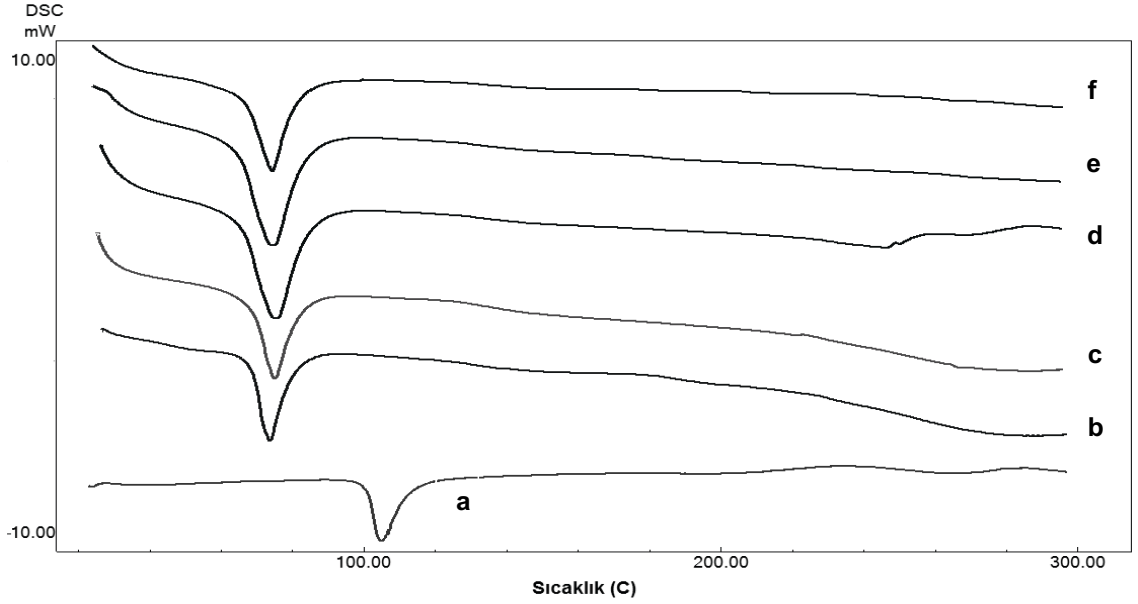
4°C'de, 25°C'de ve 40°C'de saklanan COMPT-DT formülasyonuna ait 1. ay, 3. ay ve 6. ay sonundaki termogramlar, DT ve polimerin 0. zaman termogramı ile

karşılaştırmalı olarak sırasıyla Şekil 5.106.'da, Şekil 5.107.'de ve Şekil 5.108.'de sunulmuştur.



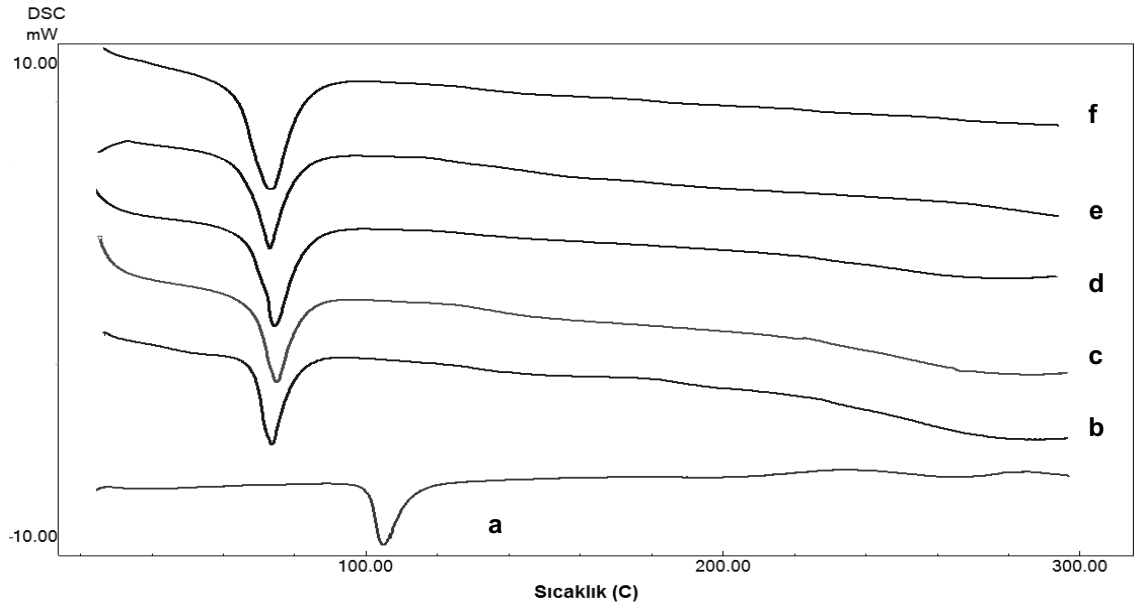
Şekil 5.106. 4°C'de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait Termogram

a: DT, **b:** Compritol® 888 ATO, **c:** COMP-DT 0. zaman, **d:** COMP-DT 1.ay, **e:** COMP-DT 3.ay, **f:** COMP-DT 6. Ay



Şekil 5.107. 25°C'de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait Termogram

a: DT, **b:** Compritol® 888 ATO, **c:** COMP-DT 0. zaman, **d:** COMP-DT 1.ay, **e:** COMP-DT 3.ay, **f:** COMP-DT 6. Ay

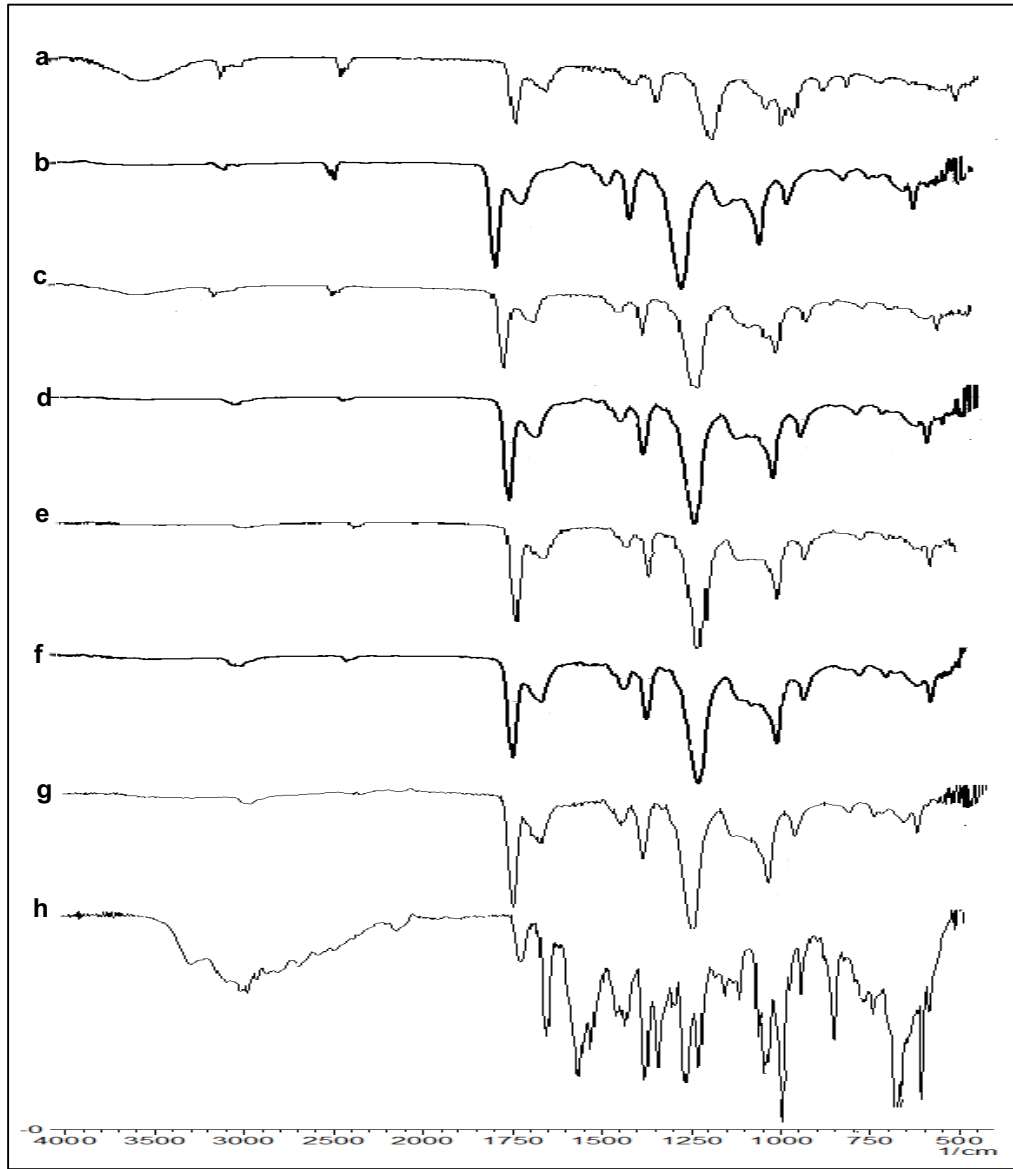


Şekil 5.108. 40°C'de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait Termogram

a: DT, **b:** Compritol® 888 ATO, **c:** COMP-DT 0. zaman, **d:** COMP-DT 1.ay, **e:** COMP-DT 3.ay, **f:** COMP-DT 6. Ay

5.7.5. İnfrared (FT-IR)

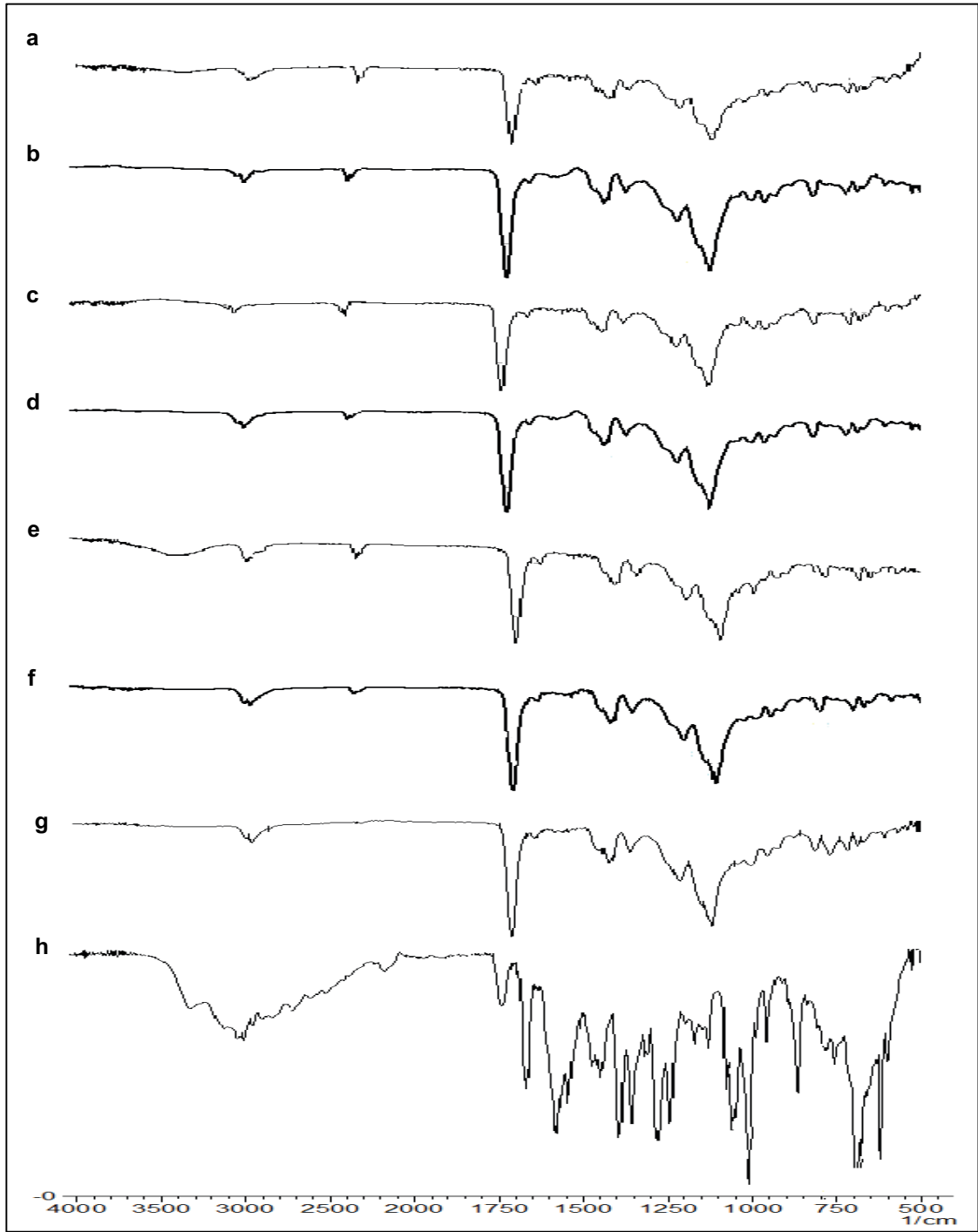
4°C, 25°C ve 40°C'de saklanan KSR-2 formülasyonuna ait 3. ay ve 6. ay sonundaki FT-IR spektrumları DT ve KSR-2 kodlu formülasyonun 0. zaman spektrumu ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.109.'da sunulmuştur.



Şekil 5.109. 4°C, 25°C ve 40°C’de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait FT-IR Spektrumu

a: KSR-2 40°C 6.ay, **b:** KSR-2 40°C 3.ay, **c:** KSR-2 25°C 6.ay, **d:** KSR-2 25°C 3.ay, **e:** KSR-2 4°C 6.ay, **f:** KSR-2 4°C 3.ay, **g:** KSR-2 0. zaman, **h:** DT

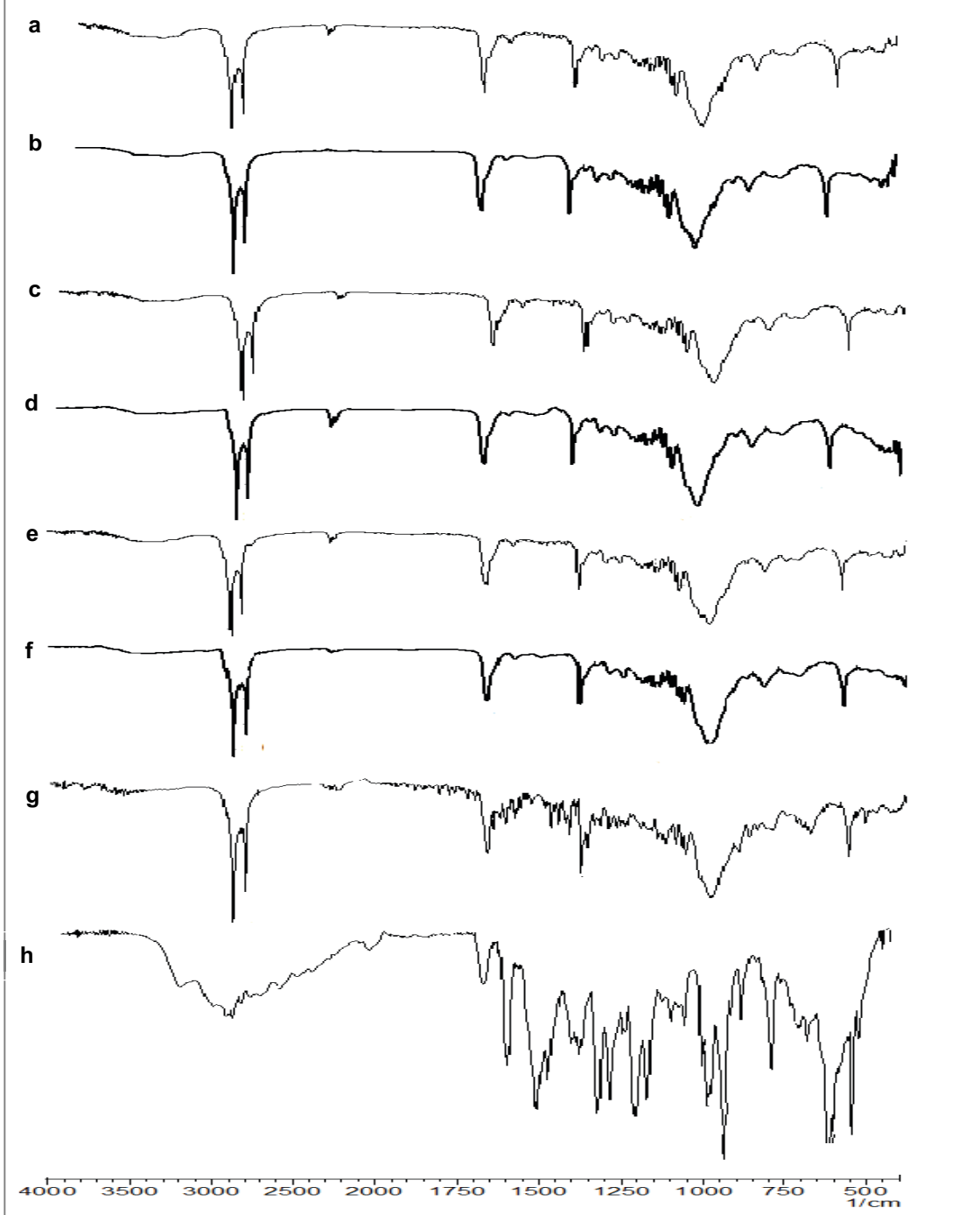
4°C, 25°C ve 40°C’de saklanan ERS-3 formülasyonuna ait 3. ay ve 6. ay sonundaki FT-IR spektrumları DT ve ERS-3 kodlu formülasyonun 0. zaman spektrumu ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.110.’da sunulmuştur.



Şekil 5.110. 4°C, 25°C ve 40°C'de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait FT-IR Spektrumu

a: ERS-3 40°C 6.ay, **b:** ERS-3 40°C 3.ay, **c:** ERS-3 25°C 6.ay, **d:** ERS-3 25°C 3.ay, **e:** ERS-3 4°C 6.ay, **f:** ERS-3 4°C 3.ay, **g:** ERS-3 0. zaman, **h:** DT

4°C, 25°C ve 40°C'de saklanan COMP-DT formülasyonuna ait 3. ay ve 6. ay sonundaki FT-IR spektrumları DT ve COMP-DT formülasyonun 0. zaman spektrumu ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.111.'de sunulmuştur.



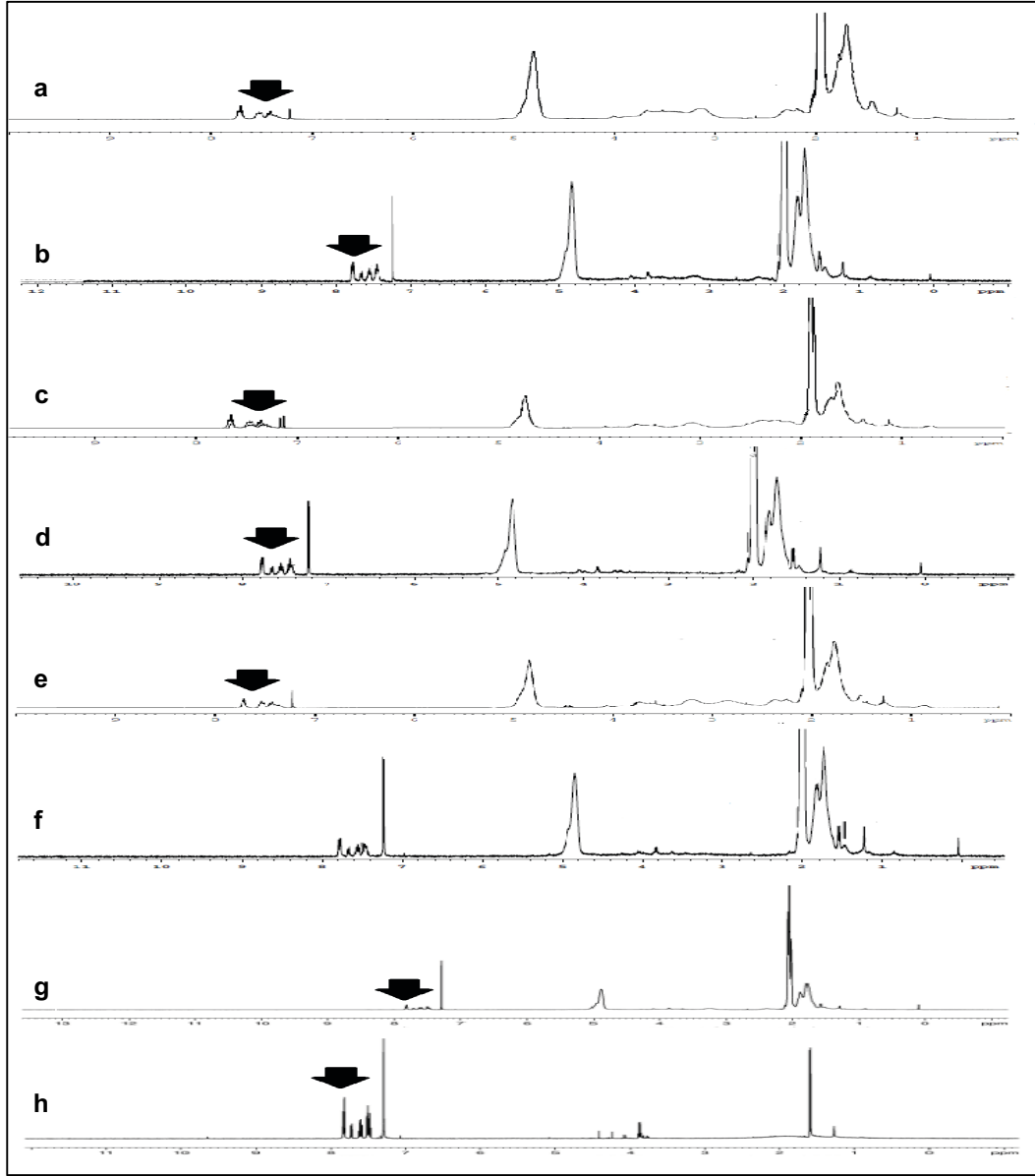
Şekil 5.111. 4°C, 25°C ve 40°C'de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait FTIR Spektrumu

a: COMP-DT 40°C 6.ay, **b:** COMP-DT 40°C 3.ay, **c:** COMP-DT 25°C 6.ay, **d:** COMP-DT 25°C 3.ay, **e:** COMP-DT 4°C 6.ay, **f:** COMP-DT 4°C 3.ay, **g:** COMP-DT 0. zaman, **h:** DT

5.7.6. Nükleer manyetik rezonans (NMR)

KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT optimum formülasyonları için 3. ay ve 6. ay ^1H -NMR analizi yapılmıştır.

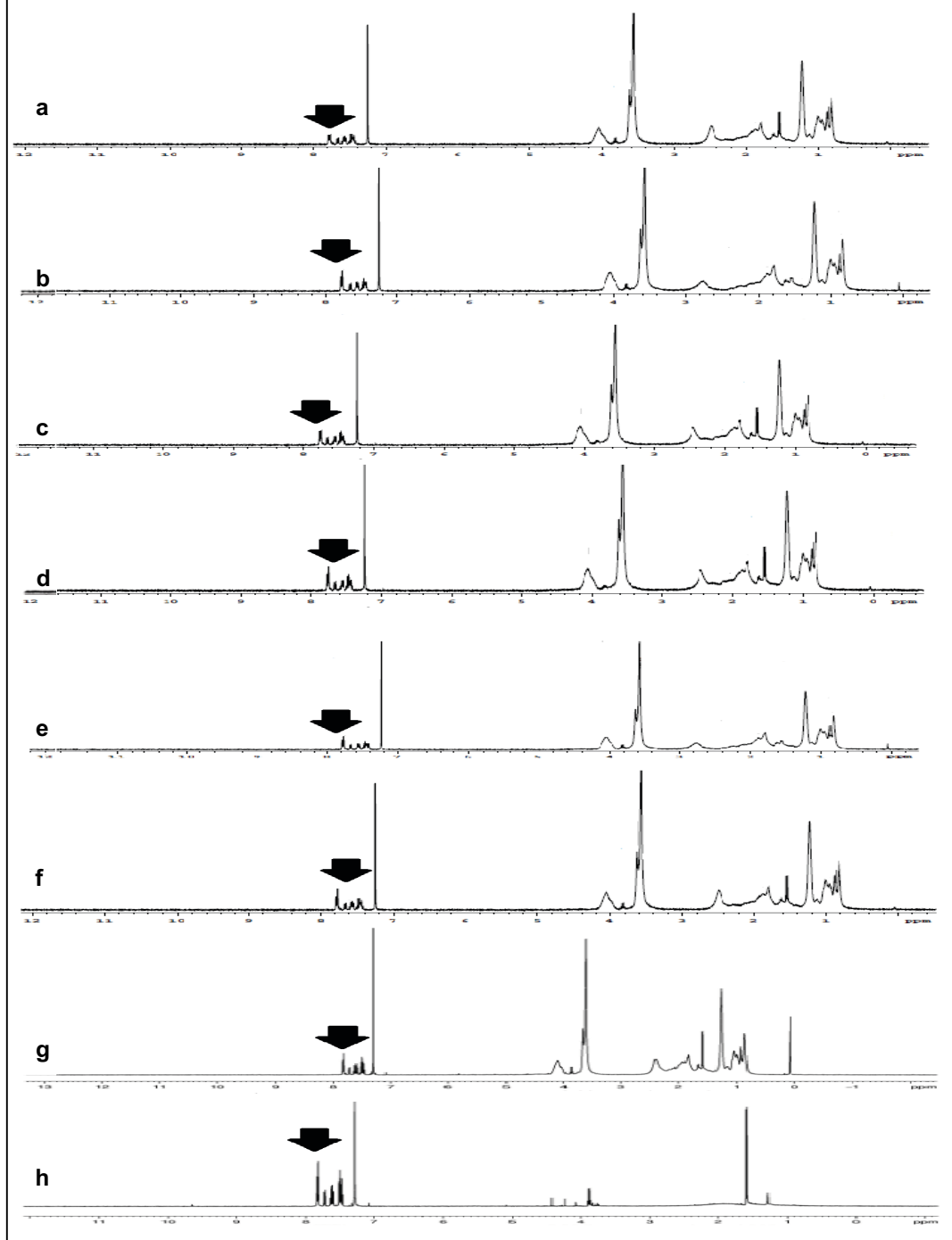
4°C, 25°C ve 40°C’de saklanan KSR-2 formülasyonuna ait 3. ay ve 6. ay sonundaki ^1H -NMR spektrumları DT ve KSR-2 formülasyonun 0. zaman spektrumu ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.112.’de sunulmuştur.



Şekil 5.112. 4°C, 25°C ve 40°C’de Saklanan KSR-2 Formülasyonuna ait NMR Spektrumu

a: KSR-2 40°C 6.ay, **b:** KSR-2 40°C 3.ay, **c:** KSR-2 25°C 6.ay, **d:** KSR-2 25°C 3.ay, **e:** KSR-2 4°C 6.ay, **f:** KSR-2 4°C 3.ay, **g:** KSR-2 0. zaman, **h:** DT

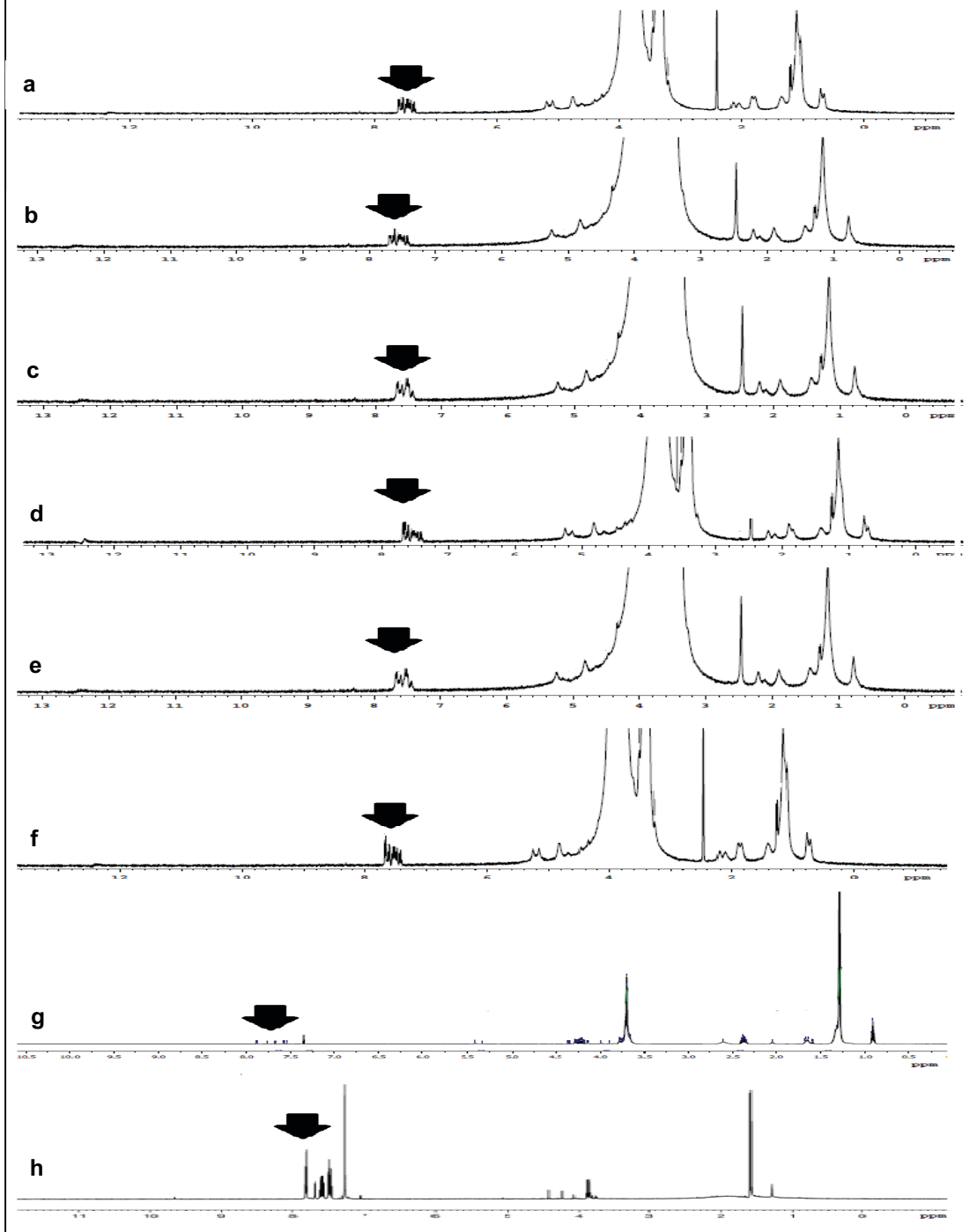
4°C, 25°C ve 40°C’de saklanan ERS-3 formülasyonuna ait 3. ay ve 6. ay sonundaki ¹H-NMR spektrumları DT ve ERS-3 formülasyonun 0. zaman spektrumu ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.113.’te sunulmuştur.



Şekil 5.113. 4°C, 25°C ve 40°C’de Saklanan ERS-3 Formülasyonuna ait NMR Spektrumu

a: ERS-3 40°C 6.ay, **b:** ERS-3 40°C 3.ay, **c:** ERS-3 25°C 6.ay, **d:** ERS-3 25°C 3.ay, **e:** ERS-3 4°C 6.ay, **f:** ERS-3 4°C 3.ay, **g:** ERS-3 0. zaman, **h:** DT

4°C, 25°C ve 40°C'de saklanan COMP-DT formülasyonuna ait 3. ay ve 6. ay sonundaki ¹H-NMR spektrumları DT ve COMP-DT formülasyonun 0. zaman spektrumu ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.114.'te sunulmuştur.



Şekil 5.114. 4°C, 25°C ve 40°C'de Saklanan COMP-DT Formülasyonuna ait NMR Spektrumu

a: COMP-DT 40°C 6.ay, **b:** COMP-DT 40°C 3.ay, **c:** COMP-DT 25°C 6.ay, **d:** COMP-DT 25°C 3.ay, **e:** COMP-DT 4°C 6.ay, **f:** COMP-DT 4°C 3.ay, **g:** COMP-DT 0. zaman, **h:** DT

5.7.7. Formülasyonda etkin madde miktar tayini

4°C, 25°C ve 40°C’de saklanan KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT formülasyonlarının 1. ay, 2. ay, 3. ay ve 6. ay sonundaki % yükleme etkinliği 0. zamana ait % yükleme etkinliği ile karşılaştırmalı olarak Çizelge 5.20.’de sunulmuştur.

Çizelge 5.20. KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT Formülasyonlarının Kararlılık Çalışmasına ait % Yükleme Etkinliği

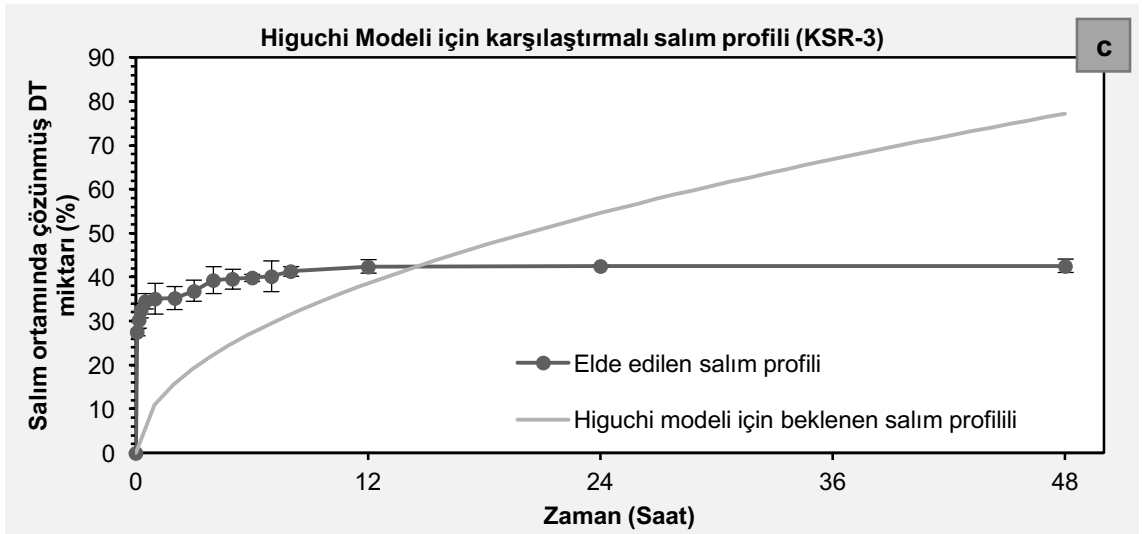
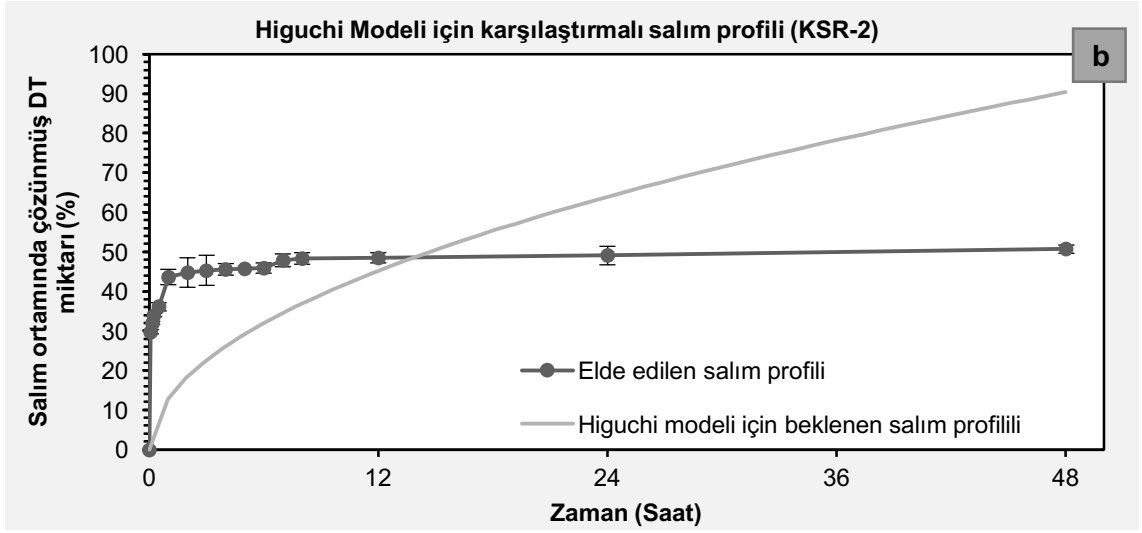
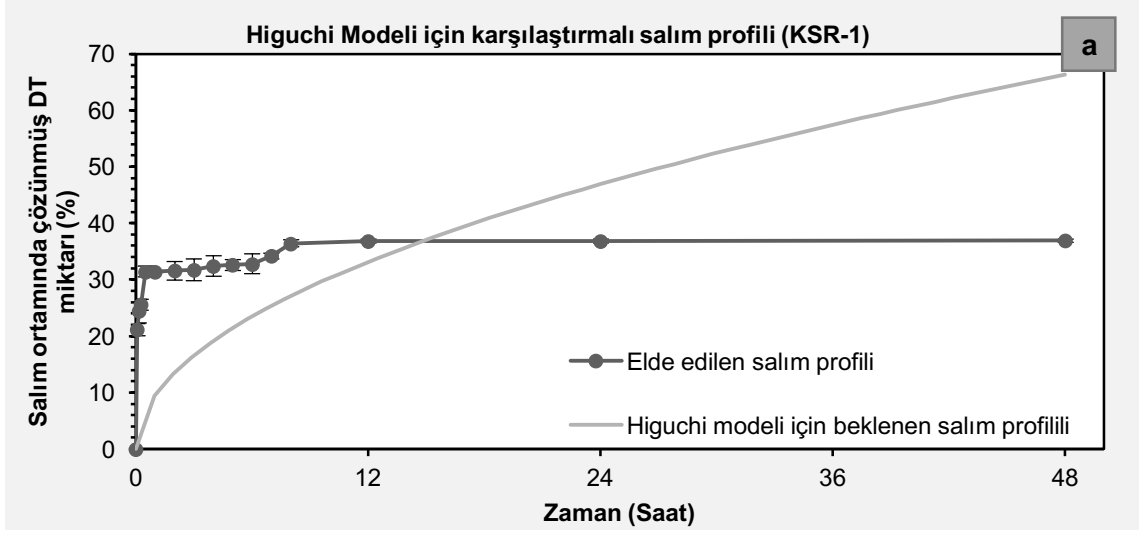
Formülasyon Kodu	Yükleme Etkinliği (%)	Yükleme Etkinliği (%)	Yükleme Etkinliği (%)
	± SH	± SH	± SH
	4°C	25°C	40°C
KSR-2, 0. Zaman	40.674±3.038	40.674±3.038	40.674±3.038
KSR-2, 1. Ay	40.012±0.541	40.012±1.836	39.620±3.125
KSR-2, 2. Ay	40.174±1.230	40.734±1.745	39.850±1.197
KSR-2, 3. Ay	39.564±1.103	40.065±2.436	39.023±1.562
KSR-2, 6. Ay	39.778±1.876	39.886±1.919	39.008±1.689
ERS-3, 0. Zaman	39.093±3.746	39.093±3.746	39.093±3.746
ERS-3, 1. Ay	39.180±0.019	39.726±2.275	39.152±2.789
ERS-3, 2. Ay	39.004±0.061	39.327±1.865	38.003±1.521
ERS-3, 3. Ay	38.726±1.176	38.701±1.690	38.154±0.965
ERS-3, 6. Ay	38.303±1.904	38.660±2.509	38.003±1.154
COMP-DT, 0. Zaman	8.802±1.747	8,802±1.747	8.802±1.747
COMP-DT, 1. Ay	8.754±1.865	8.658±1.560	8.652±1.158
COMP-DT, 2. Ay	8.156±1.098	8.703±1.445	7.778±1.658
COMP-DT, 3. Ay	7.895±1.156	8.025±1.756	7.798±1.008
COMP-DT, 6. Ay	8.050±1.440	7.789±1.978	7.654±1.068

5.8. *In Vitro* Salım Kinetiği Çalışması

Hazırlanan 9 PNP formülasyonu ve 2 KLN formülasyonu için *in vitro* salım çalışması verileri farklı kinetik modellere uygulanmış ve formülasyonların hız sabiti (k), determinasyon katsayısı (r^2) ve *Akaike* bilgi kriterine (AIC) ait veri Çizelge 5.21.'de gösterilmiştir. Tüm formülasyonların salım kinetik grafikleri DDSolver programından alınan Higuchi ve Korsmeyer-Peppas modeli ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.115., Şekil 5.116., Şekil 5.117., Şekil 5.118., Şekil 5.119., Şekil 5.120., Şekil 5.121. ve Şekil 5.122.'de sunulmuştur.

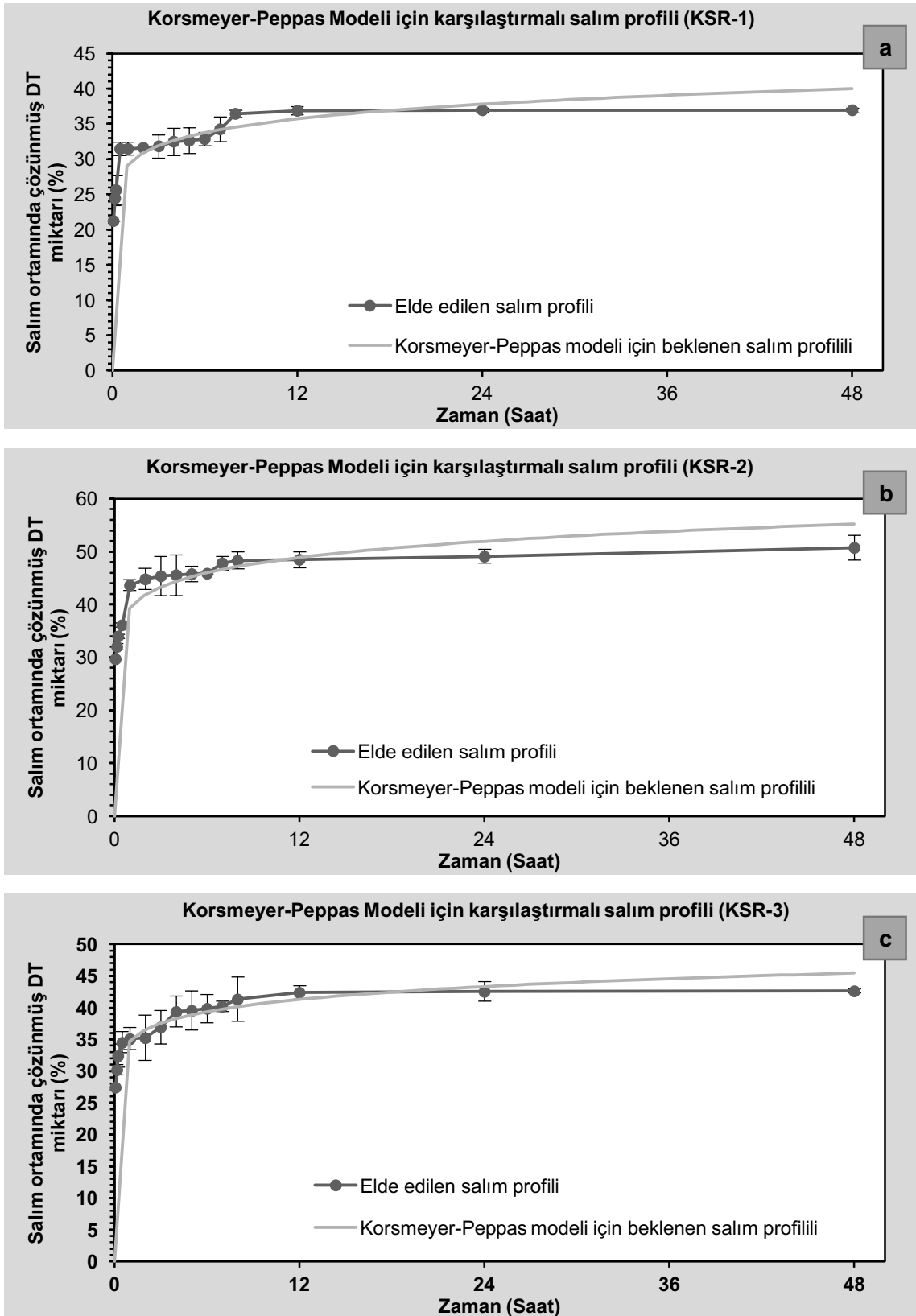
Çizelge 5.21. *In vitro* Salım Kinetiği Bulguları

Kinetik Tipi	Değerlendirme Kriteri	KSR-1	KSR-2	KSR-3	ERS-1	ERS-2	ERS-3	ERL-1	ERL-2	ERL-3	COMP-DT	DYN-DT
0. derece	k	1,344	1.829	1.559	1.217	1.473	1.921	1.530	1.660	1.844	2.469	1.677
	r^2	-6.654	-6.464	-7.275	-3.802	-3.887	-3.796	-6.699	-7.228	-6.832	-3.356	-3.208
	AIC	148.773	158.564	154.016	139.872	145.753	156.634	152.540	155.394	158.339	166.406	154.388
1. derece	k	0.025	0.038	0.030	0.022	0.028	0.041	0.030	0.033	0.038	0.061	0.033
	r^2	-5.332	-4.561	-5.569	-2.966	-2.771	-2.258	-5.174	-5.399	-4.813	-1.632	-2.120
	AIC	145.740	153.856	150.321	136.810	141.608	150.443	149.008	151.371	153.569	158.343	149.601
Higuchi	k	9.571	13.045	11.144	8.256	9.939	13.381	10.801	11.763	13.046	17.513	11.937
	r^2	-2.481	-2.354	-2.829	-0.789	-0.860	-0.829	-2.558	-2.802	-2.532	-0.739	-0.699
	AIC	136.168	145.765	141.687	124.076	130.295	141.208	140.189	143.041	145.599	151.710	139.882
Hixson-Crowell	k	0.008	0.011	0.009	0.007	0.009	0.012	0.009	0.010	0.011	0.017	0.010
	r^2	-5.796	-5.005	-6.058	-3.333	-3.142	-2.594	-5.632	-5.886	-5.280	-1.922	-2.403
	AIC	146.871	155.085	151.471	138.229	143.107	152.014	150.152	152.544	154.806	160.017	150.995
Hopfenberg	k	0.005	0.008	0.006	0.005	0.006	0.008	0.006	0.007	0.008	0.017	0.007
	r^2	-5.632	-4.903	-5.909	-3.188	-3.011	-2.526	-5.485	-5.748	-5.174	-1.922	-2.326
	AIC	148.479	156.811	153.128	139.681	144.595	153.709	151.794	154.220	156.533	162.017	152.626
Korsmeyer-Peppas	k	29.167	39.337	34.765	21.780	26.493	34.691	33.112	36.719	39.984	43.133	28.645
	r^2	0.857	0.887	0.931	0.977	0.954	0.885	0.815	0.945	0.968	0.654	0.568
	AIC	60.933	68.030	49.897	41.483	57.014	82.705	67.525	47.284	45.040	111.957	105.066



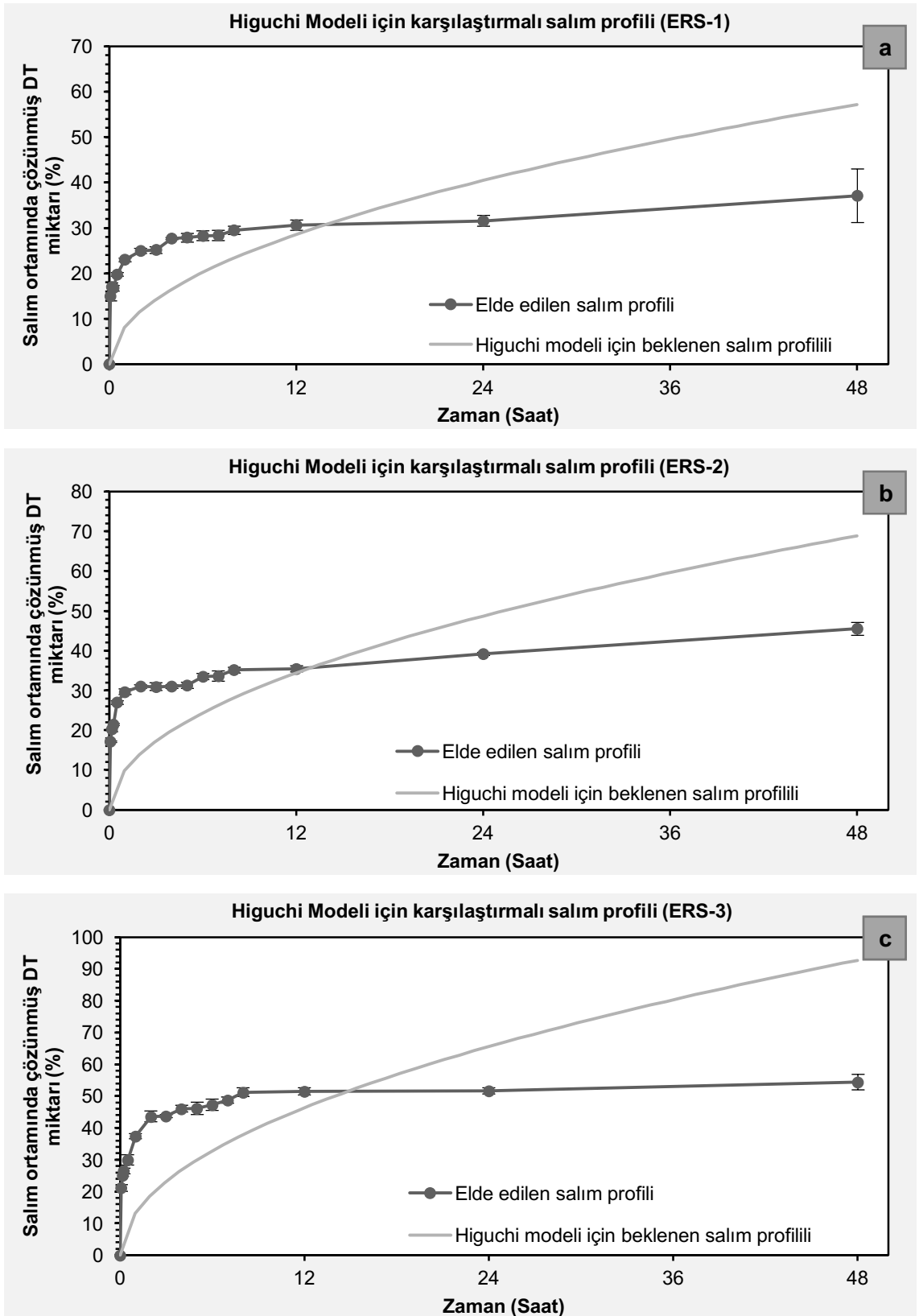
Şekil 5.115. KSR Kodlu PNP Formülasyonu için Karşılaştırmalı *In Vitro* Kinetik Salım Modeli (Higuchi Modeli)

a: KSR-1, b: KSR-2, c: KSR-3



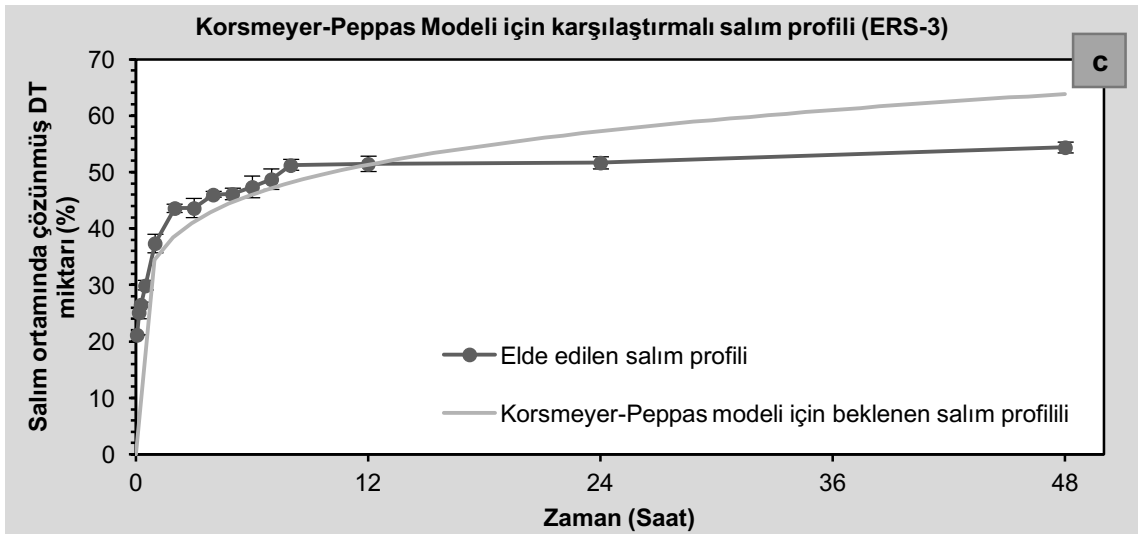
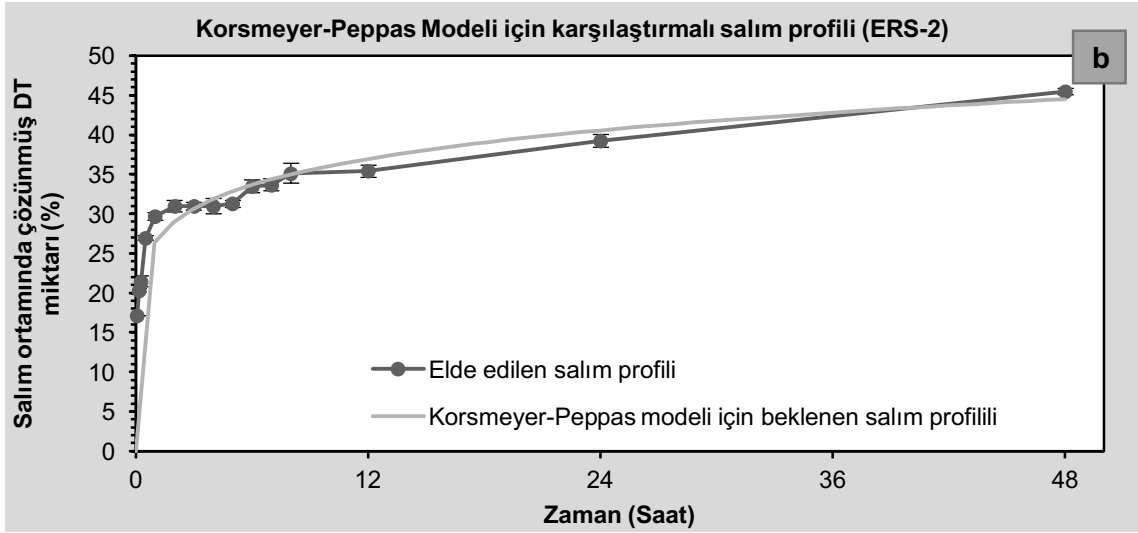
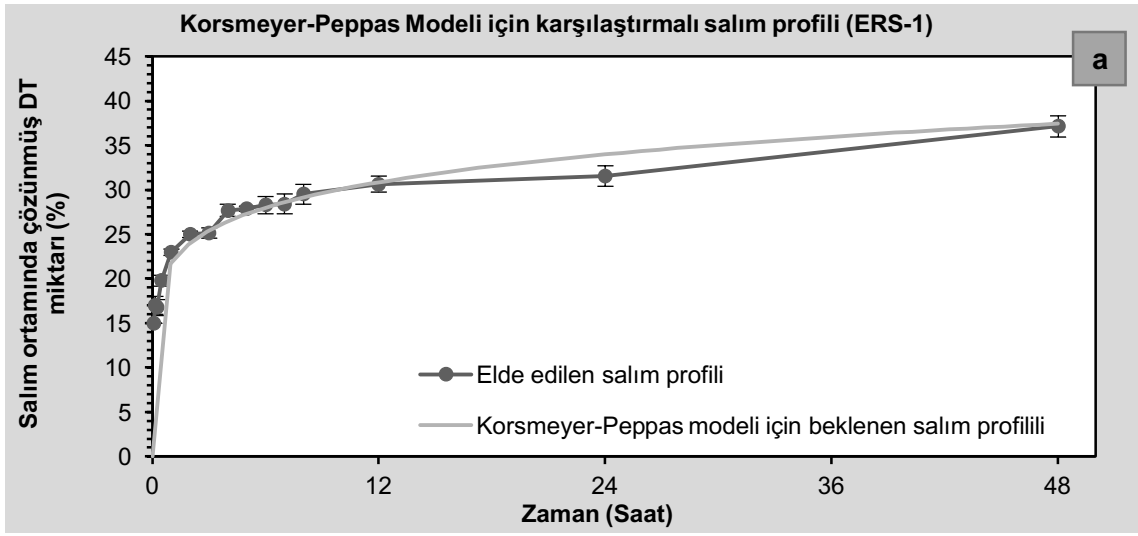
Şekil 5.116. KSR Kodlu PNP Formülasyonu için Karşılaştırmalı İn Vitro Kinetik Salım Modeli (Korsmeyer-Peppas Modeli)

a: KSR-1, b: KSR-2, c: KSR-3



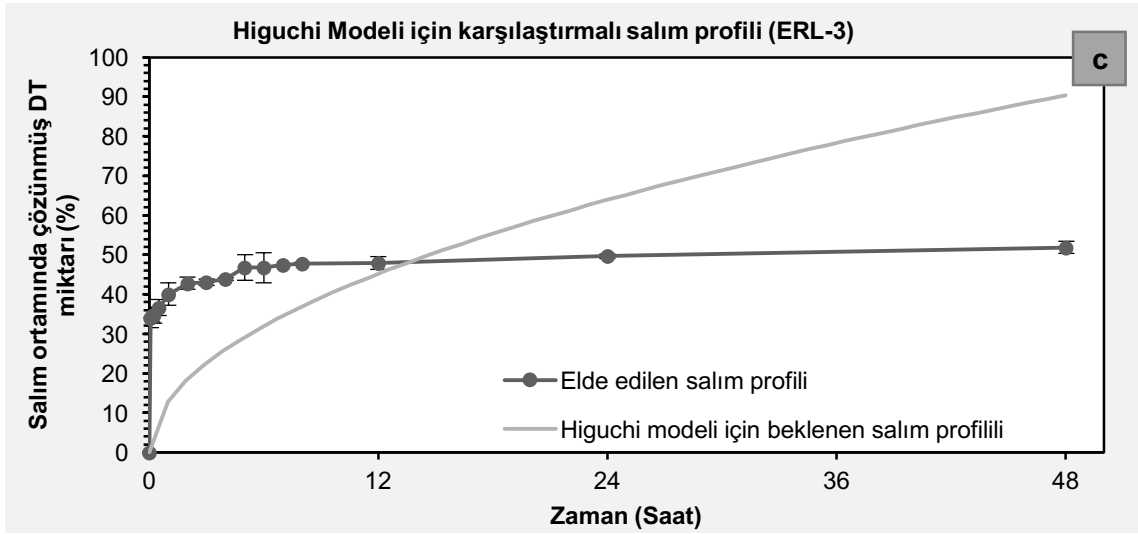
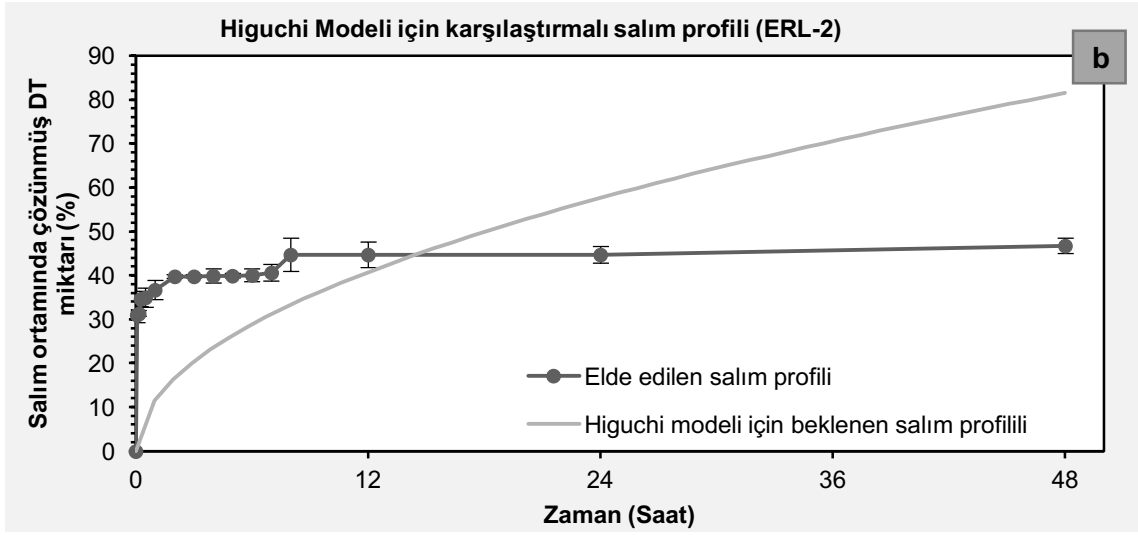
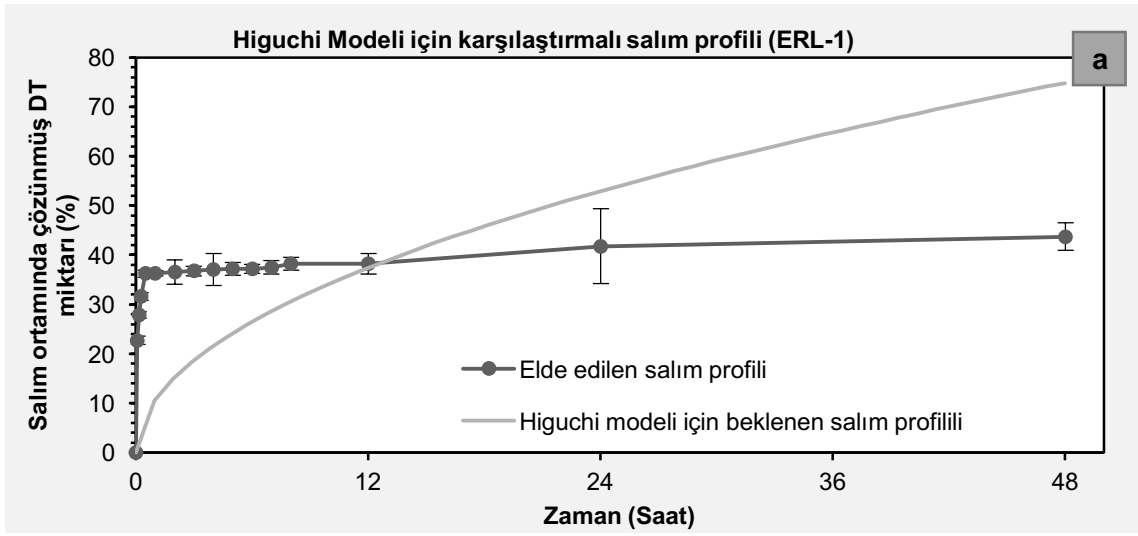
Şekil 5.117. ERS Kodlu PNP Formülasyonu için Karşılaştırmalı İn Vitro Kinetik Salım Modeli (Higuchi Modeli)

a: ERS-1, b: ERS-2, c: ERS-3



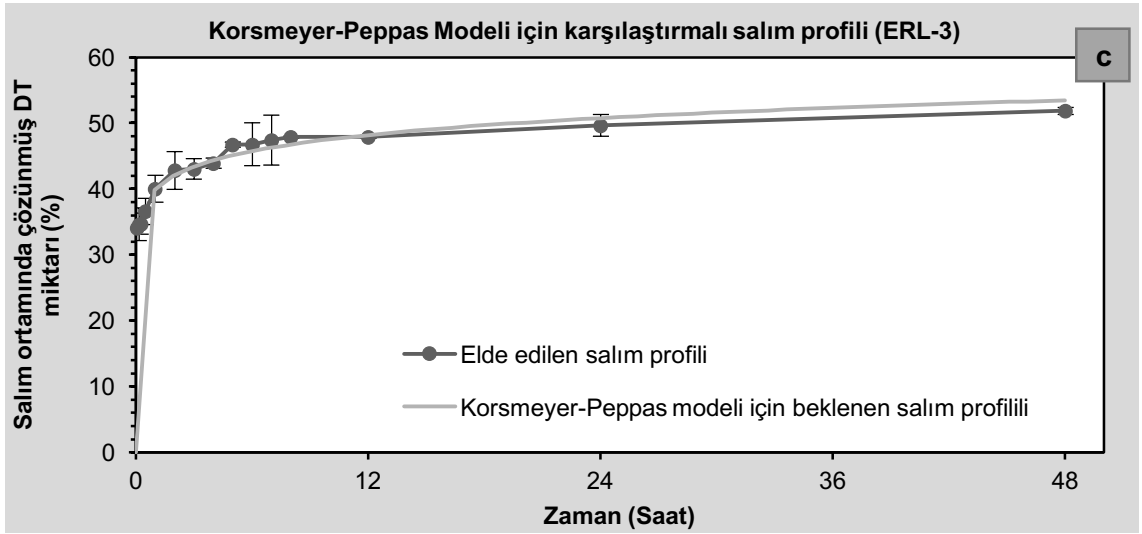
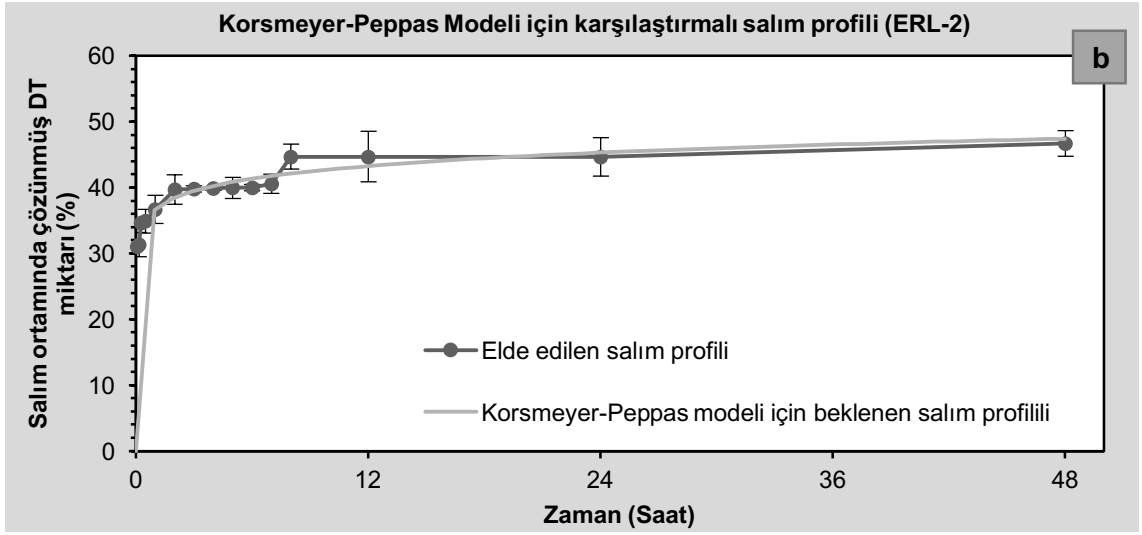
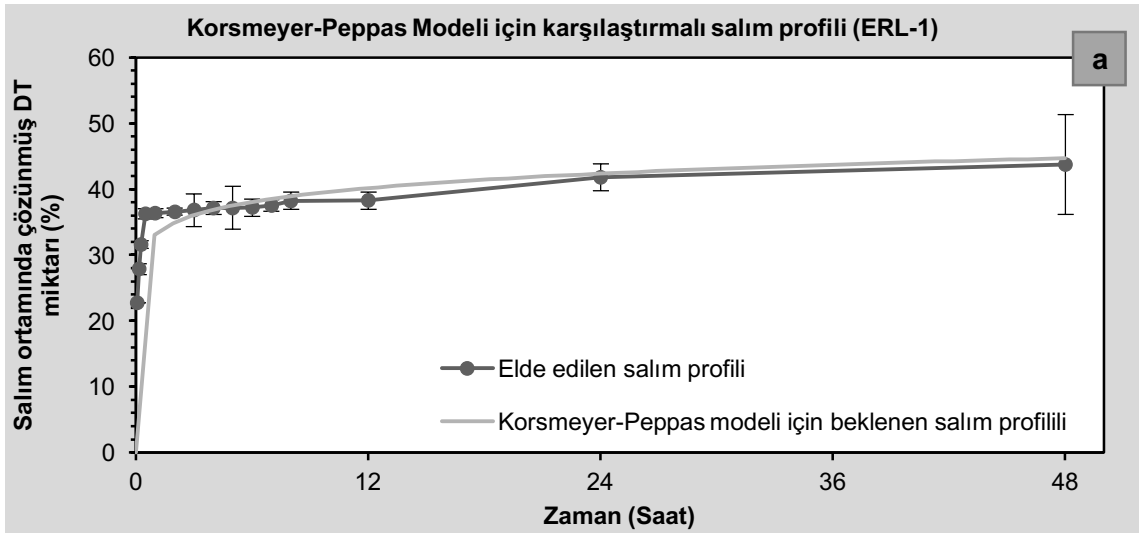
Şekil 5.118. ERS Kodlu PNP Formülasyonu için Karşılaştırmalı İn Vitro Kinetik Salım Modeli (Korsmeyer-Peppas Modeli)

a: ERS-1, b: ERS-2, c: ERS-3



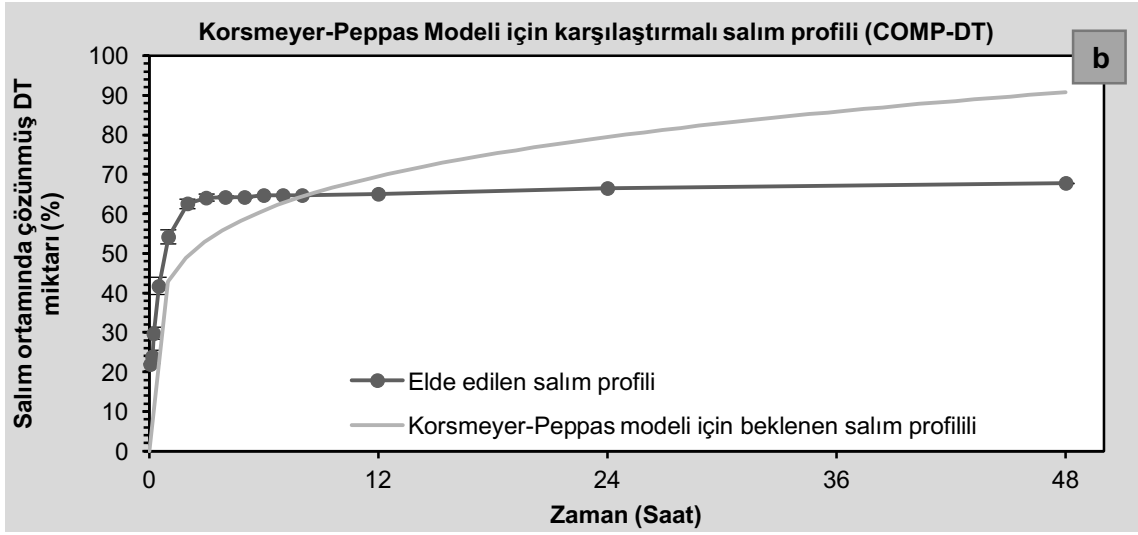
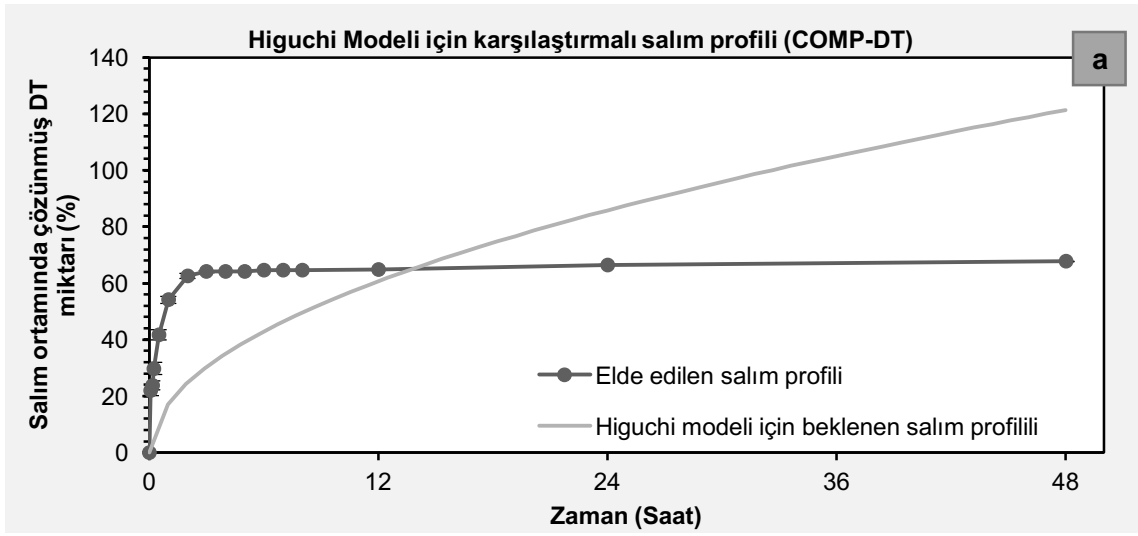
Şekil 5.119. ERL Kodlu PNP Formülasyonu için Karşılaştırmalı İn Vitro Kinetik Salım Modeli (Higuchi Modeli)

a: ERL-1, b: ERL-2, c: ERL-3



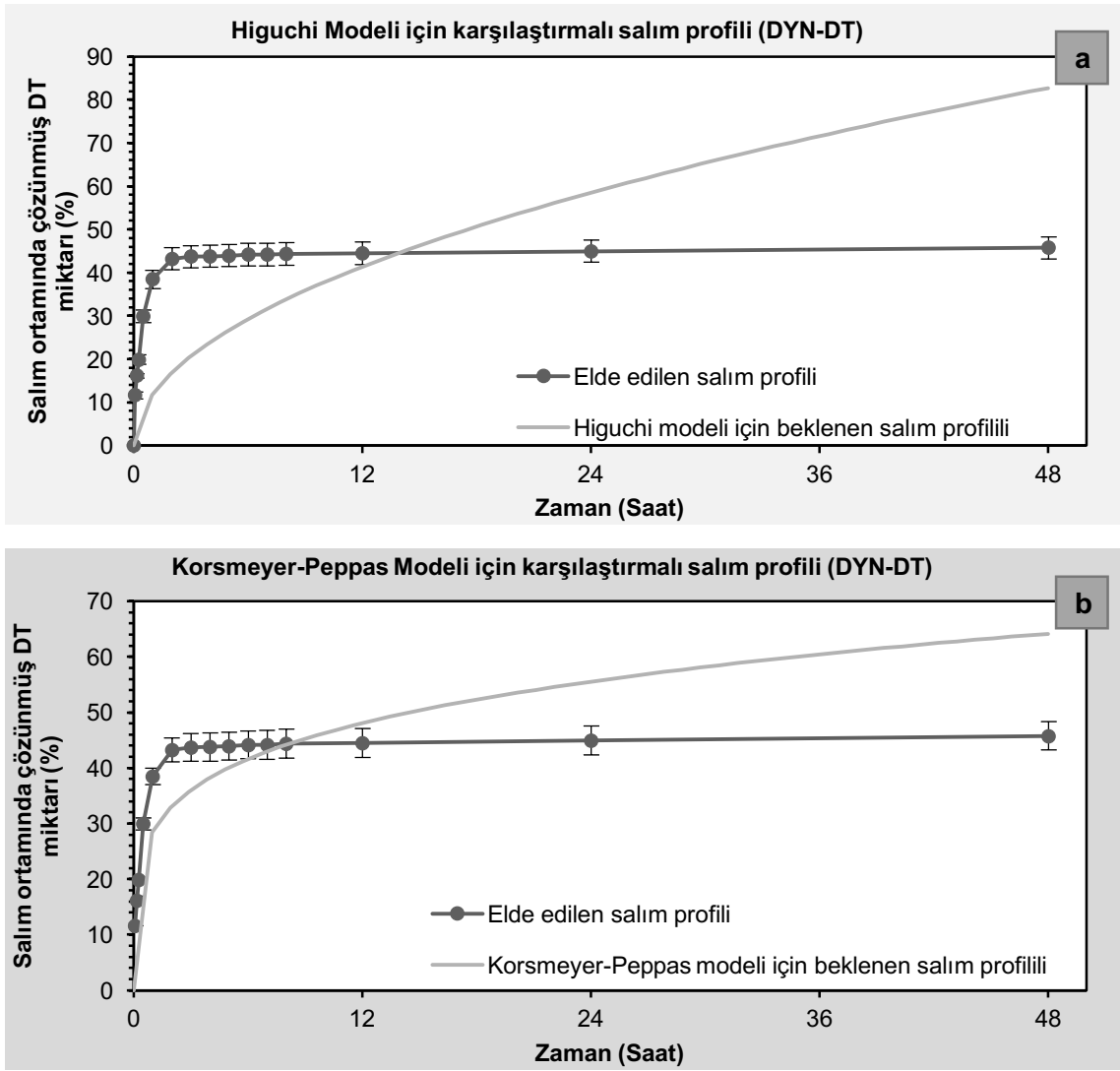
Şekil 5.120. ERL Kodlu PNP Formülasyonu için Karşılaştırmalı İn Vitro Kinetik Salım Modeli (Korsmeyer-Peppas Modeli)

a: ERL-1, b: ERL-2, c: ERL-3



Şekil 5.121. COMP-DT Kodlu KLN Formülasyonu için Karşılaştırmalı İn Vitro Kinetik Salım Modeli (Higuchi Modeli ve Korsmeyer-Peppas Modeli)

a: Comp-DT (Higuchi Modeli), **b:** COMP-DT (Korsmeyer-Peppas Modeli)

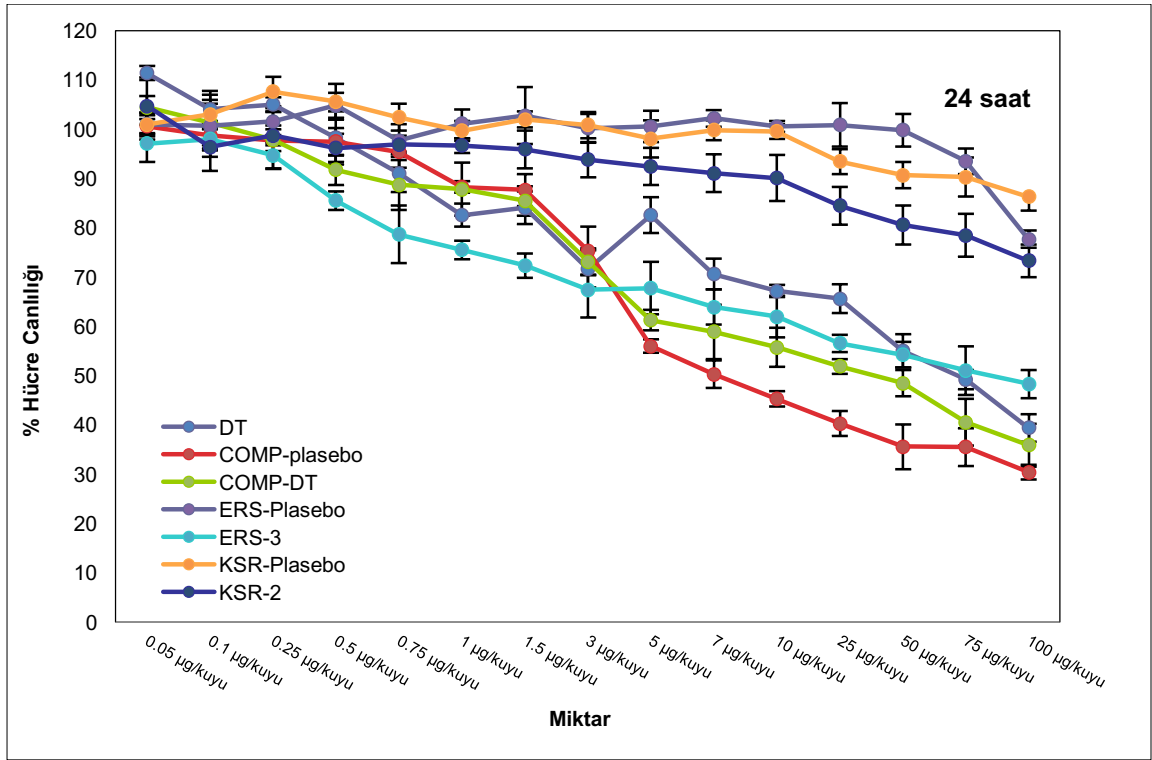


Şekil 5.122. DYN-DT Kodlu KLN Formülasyonu için Karşılaştırmalı İn Vitro Kinetik Salım Modeli (Higuchi Modeli ve Korsmeyer-Peppas Modeli)

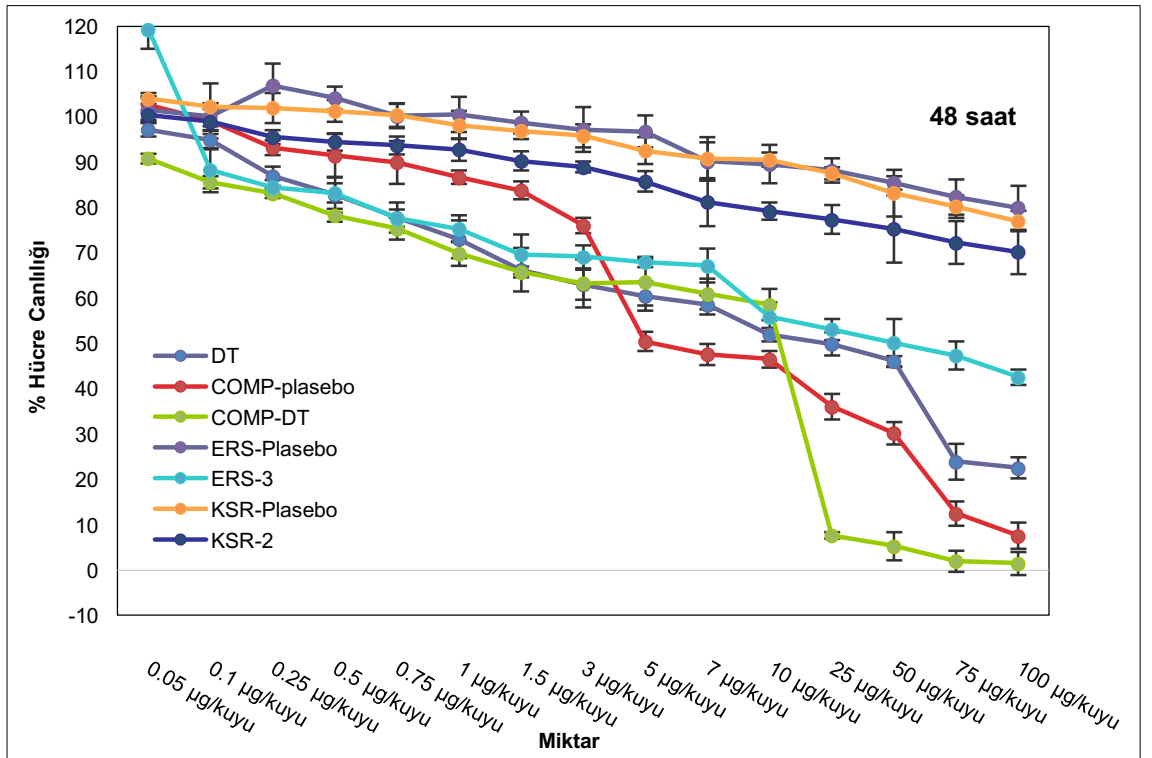
a: DYN-DT (Higuchi Modeli), b: DYN-DT (Korsmeyer-Peppas Modeli)

5.9. Sitotoksosite çalışması

Sitotoksosite çalışmasında kullanılan tüm formülasyonların zamana ve derişime bağlı olarak gösterdiği sitotoksosite Şekil 5.123. ve 5.124.'de standart sapma ($\pm$) değerleri ile birlikte verilmiştir.



Şekil 5.123. Tüm Formülasyonların 24 Saatlik İnkübasyonu Sonucu Sitotoksiste



Şekil 5.124. Tüm Formülasyonların 48 Saatlik İnkübasyonu Sonucu Sitotoksiste

Yapılan analizlerde yalnızca DT uygulanmış kuyuda IC₅₀ değerinin 24. saatte 0.75 µg/µL ve 48. saatte 0.25 µg/µL olduğu saptanmıştır.

En yüksek derişimde dahi KSR-Plasebo ve ERS-Plasebo için IC₅₀ değeri belirlenememiştir. Buna göre 100 µg/100 µL kuyu uygulanmış en yüksek miktarda hücre canlılığı 24 saatlik sürede ERS-Plasebo için % 77, KSR-Plasebo için % 86.28 iken, 48 saatlik sürede ERS-Plasebo için % 79.9 ve KSR-Plasebo için % 77 olarak bulunmuştur.

75 µg/100 µL kuyuda ERS-3 kodlu PNP formülasyonu için 24. saatteki hücre canlılığı % 50 olarak saptanırken, KSR-2 kodlu PNP formülasyonu için en yüksek derişimde dahi hücre canlılığı % 50'nin altına düşmemiştir. 48 saatlik inkübasyon sonrasında ise 50 µg/100 µL kuyudaki ERS-3 formülasyonunun hücre canlılığı % 50 iken KSR-2 formülasyonunda en yüksek derişimde % 60 olarak saptanmıştır.

KSR-2 formülasyonu için IC₅₀ değerini bulabilmek amacıyla daha yüksek derişimler kullanılmıştır; IC₅₀ değerinin 24. saatte 545 µg/100 µL kuyu, 48. saatte ise 478 µg/100 µL kuyu olduğu belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda Compritol® 888 ATO ile hazırlanan formülasyonların kullanılan derişimlerde daha yüksek oranda sitotoksositeye sahip olduğu saptanmıştır. DT içermeyen COMP-Plasebo kodlu KLN formülasyonunun IC₅₀ değeri 24. saatte 7 µg/100 µL kuyu iken 48. saatte bu değer 5 µg/100 µL'ye kadar düşmüştür. DT içeren COMP-DT kodlu formülasyonda 24 saatlik inkübasyon sonucunda 25.93 µg/100 µL kuyu olan IC₅₀ değeri 48 saatlik inkübasyon sonucunda 11.71 µg/100 µL kuyuya düşmüştür.

5.10. *In vivo* çalışma

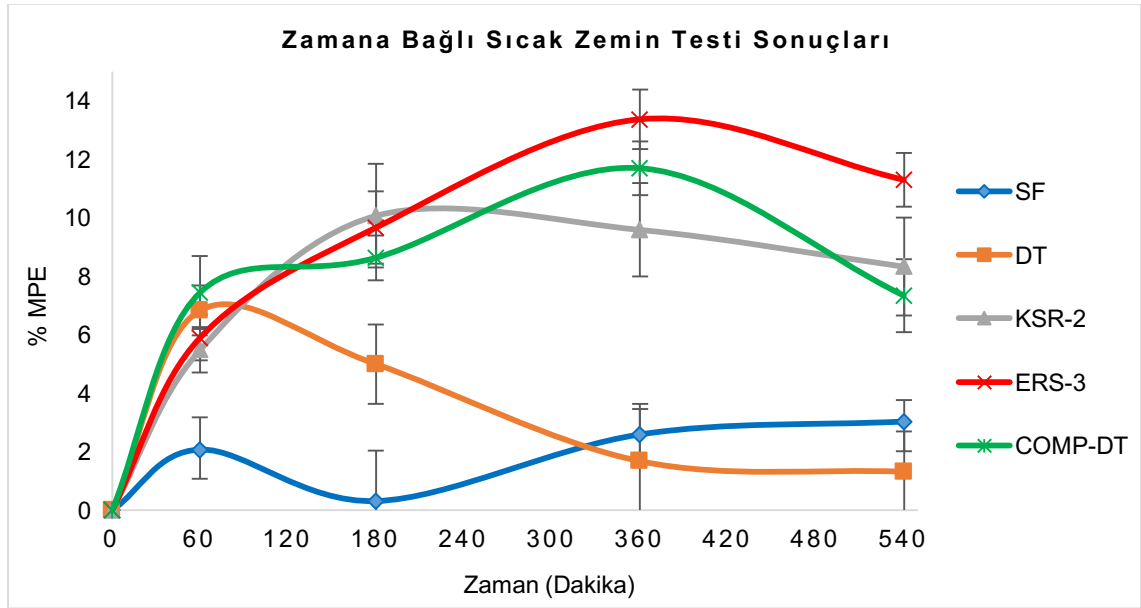
5.10.1. Sıcak zemin (*hot plate*) testi

Zamana bağlı olarak yapılan sıcak zemin testi sonuçlarından elde edilen % MPE değerleri Çizelge 5.22.'de sunulmuştur. Bu değerler ile çizilen grafik Şekil 5.125.'te ve istatistiksel karşılaştırması Şekil 5.126.'da verilmiştir.

Çizelge 5.22. Sıcak Zemin Testi Sonucu % Maksimum Olası Etki Değeri

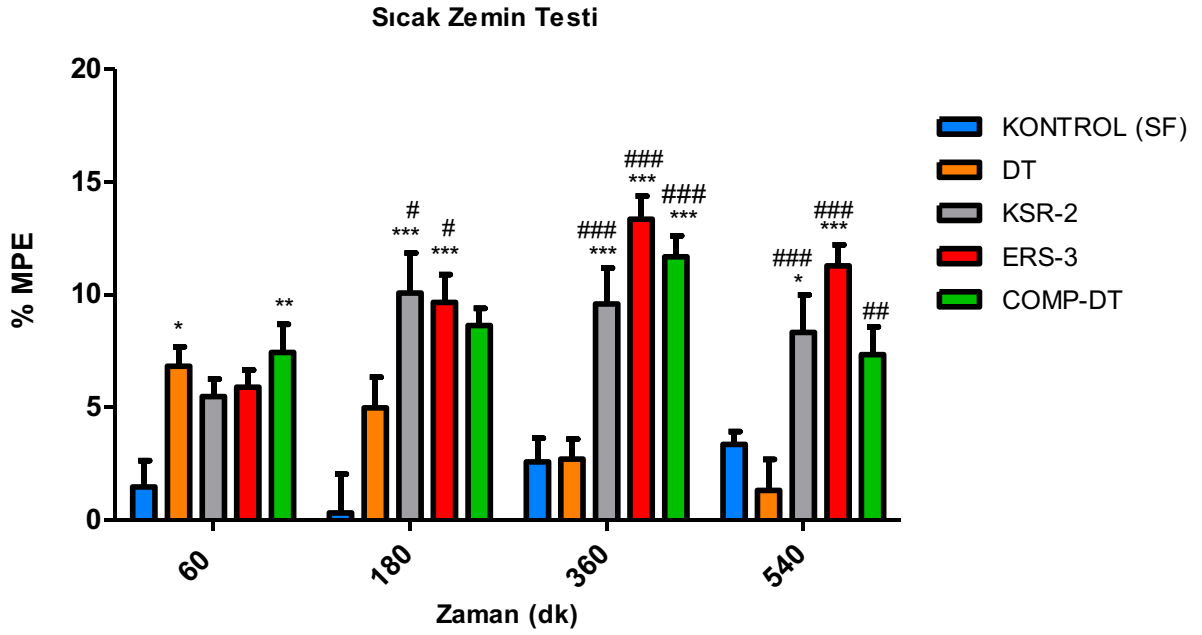
	% MPE (Ort±SH)			
	60. dakika	180. dakika	360. dakika	540. dakika
SF*	2.063±1.107	0.309±1.730	2.579±1.058	3.020±0.736
DT*	6.826±0.859	4.986±1.358	1.671±1.790	1.309±1.373
KSR-2	5.484±0.775	10.070±1.782	9.587±1.602	8.329±1.667
ERS-3	5.897±0.768	9.659±1.238	13.360±1.022	11.290±0.921
COMP-DT	7.443±1.244	8.629±0.762	11.690±0.920	7.334±1.247

*SF: Serum fizyolojik, *DT: Deksketoprofen trometamol



SF: Serum fizyolojik, **DT:** Deksketoprofen trometamol **% MPE:** Maksimum olası etki yüzdesi

Şekil 5.125. Sıcak Zemin Testi Sonucu



***Kontrol grubuna göre karşılaştırma.** 1. saat: DT $p < 0.05$, COMP-DT $p < 0.01$. 3. saat: KSR-2 $p < 0.001$, ERS-3 $p < 0.001$, COMP-DT $p < 0.001$. 6. saat: KSR-2 $p < 0.001$, ERS-3 $p < 0.001$, COMP-DT $p < 0.001$. 9. saat: KSR-2 $p < 0.05$, ERS-3 $p < 0.001$.

#**DT grubuna göre karşılaştırma.** 3. saat: KSR-2 $p < 0.05$, ERS-3 $p < 0.05$. 6. saat: KSR-2 $p < 0.001$, ERS-3 $p < 0.001$, COMP-DT $p < 0.001$. 9. saat: KSR-2 $p < 0.001$, ERS-3 $p < 0.001$, COMP-DT $p < 0.01$.

İstatistiksel açıklama: $p < 0.05$: önemli fark, $p < 0.01$: çok önemli fark, $p < 0.001$: ileri düzeyde önemli fark

Şekil 5.126. Sıcak Zemin Testinin İstatistiksel Değerlendirmesi

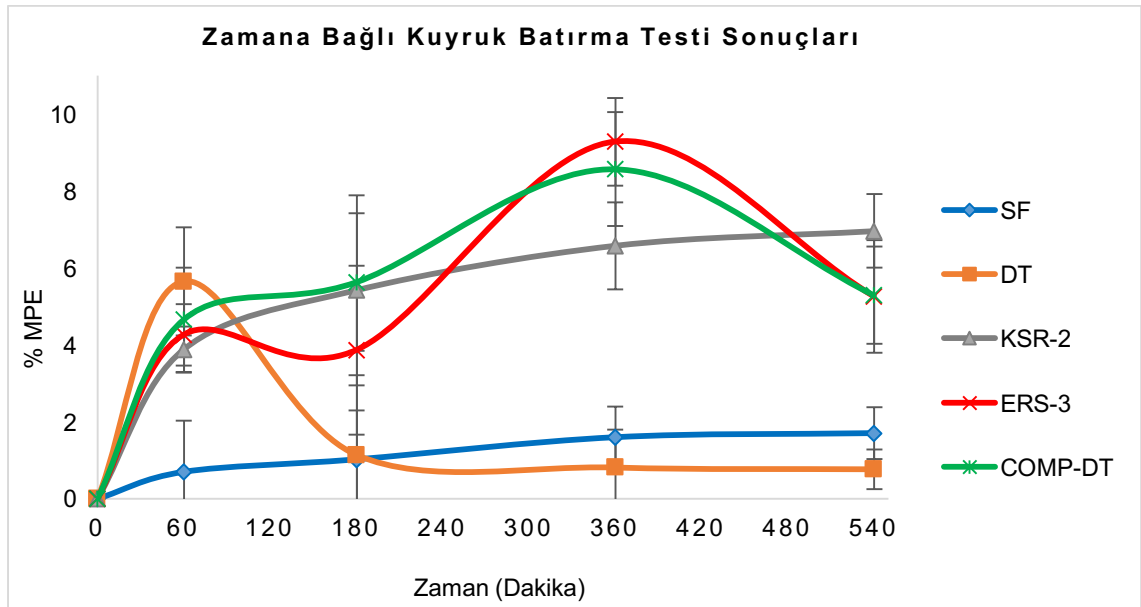
5.10.2. Kuyruk batırma (tail immersion) testi

Zamana bağlı olarak yapılan kuyruk batırma testi sonuçlarından elde edilen % MPE değerleri Çizelge 5.23.'te sunulmuştur. Bu değerler ile çizilen grafik Şekil 5.127.'de ve istatistiksel karşılaştırması Şekil 5.128.'de verilmiştir.

Çizelge 5.23. Kuyruk Batırma Testi Sonucu % Maksimum Olası Etki Değeri

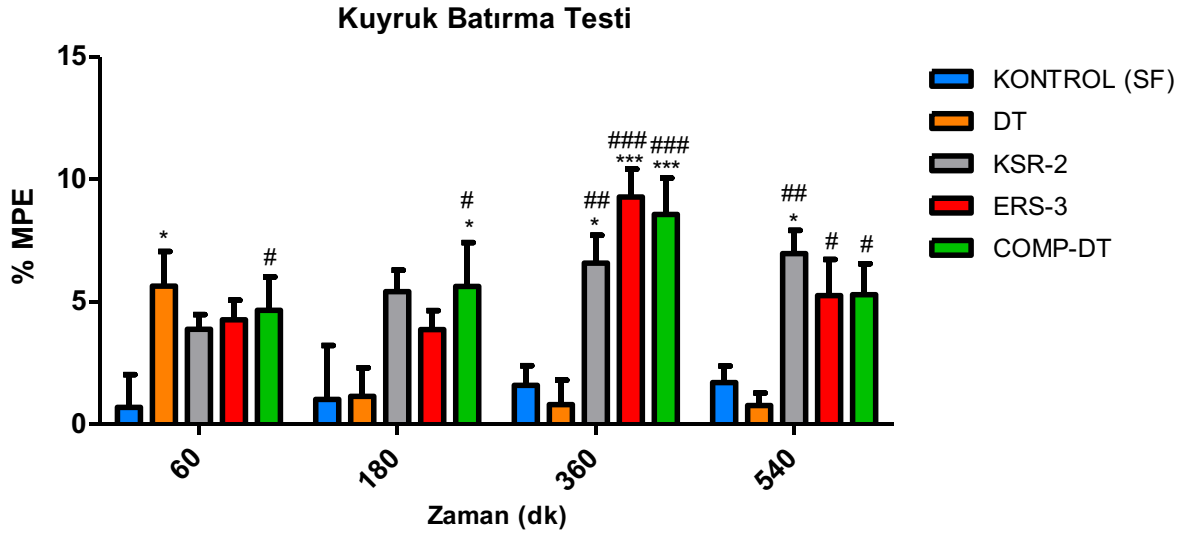
	% MPE (Ort±SH)			
	60. dakika	180. dakika	360. dakika	540. dakika
SF*	0.699±1.332	1.023±2.195	1.598±0.802	1.704±0.672
DT*	5.649±1.405	1.139±1.165	0.809±0.992	0.763±0.515
KSR-2	3.885±0.599	5.425±2.470	6.582±1.132	6.963±0.954
ERS-3	4.265±0.798	3.864±2.203	9.283±1.135	5.260±1.470
COMP-DT	4.660±1.356	5.631±1.786	8.570±1.484	5.293±1.259

*SF:Serum Fizyolojik, *DT: Deksketoprofen trometamol



*SF:Serum Fizyolojik, DT: Deksketoprofen trometamol %MPE:Maksimum olası etki yüzdesi

Şekil 5.127. Kuyruk Batırma Testi Sonucu



***Kontrol grubuna göre karşılaştırma.** 1. saat: DT $p<0.05$, 3. saat: COMP-DT $p<0.05$, 6. saat: KSR-2 $p<0.05$, ERS-3 $p<0.001$, COMP-DT $p<0.001$, 9. saat: KSR-2 $p<0.05$.

#DT grubuna göre karşılaştırma. 1. saat: COMP-DT $p<0.05$, 3. saat: COMP-DT $p<0.05$, 6. saat: KSR-2 $p<0.01$, ERS-3 $p<0.001$, COMP-DT $p<0.001$, 9. saat: KSR-2 $p<0.01$, ERS-3 $p<0.05$, COMP-DT $p<0.05$.

İstatistiksel açıklama: $p<0.05$: önemli fark , $p<0.01$: çok önemli fark , $p<0.001$: ileri düzeyde önemli fark

Şekil 5.128. Kuyruk Batırma Testinin İstatistiksel Değerlendirmesi

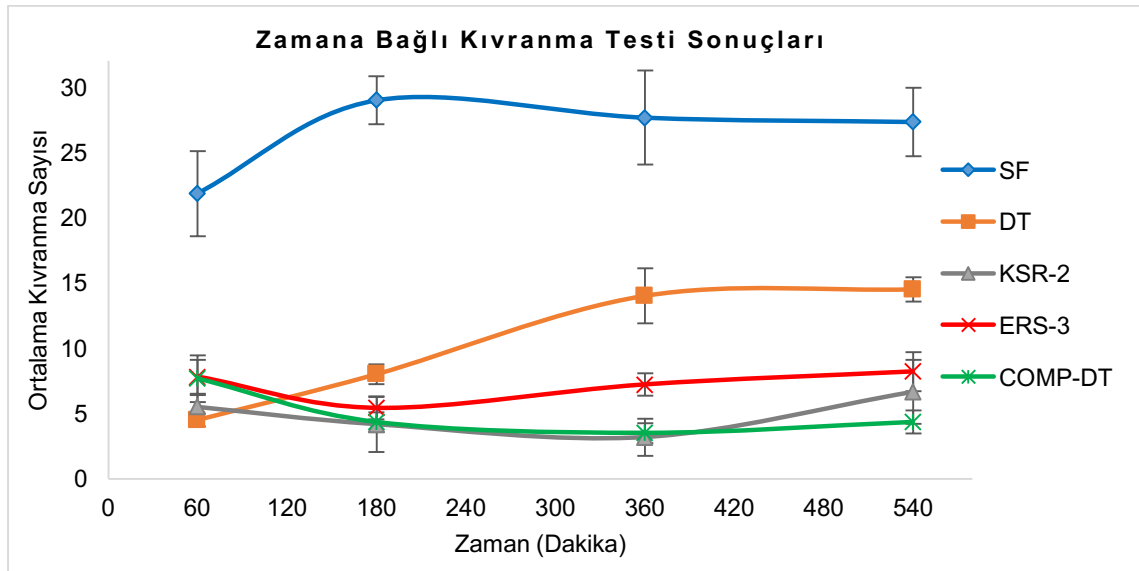
5.10.2. Kıvrınma (writting)testi

Zamana bağılı olarak yapılan kıvrınma testi sonucu elde edilen kıvrınma değerleri Çizelge 5.23.'te sunulmuştur. Bu değerler ile çizilen grafik Şekil 5.127.'de ve istatistiksel karşılaştırması Şekil 5.128.'de verilmiştir.

Çizelge 5.24. Kıvrınma Testi Sonucu Kıvrınma Sayısı

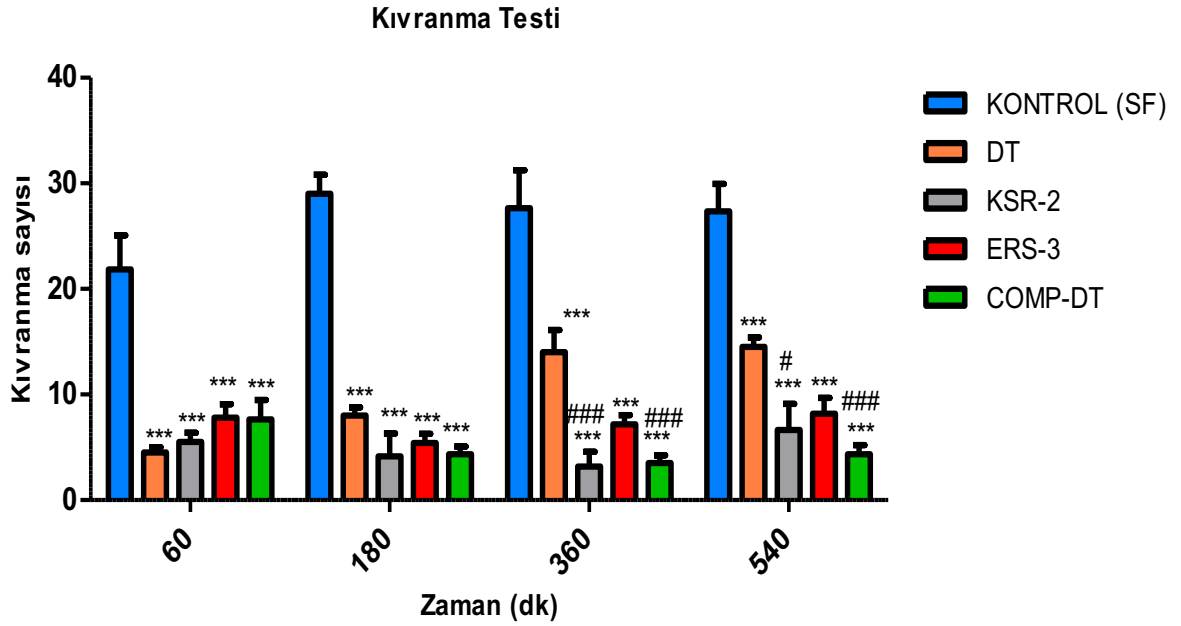
Kıvrınma Sayısı (Ort±SH)				
	60. dakika	180. dakika	360.dakika	540. dakika
SF*	21.833±3.240	29.000±1.826	27.667±3.593	27.333±2.616
DT*	4.500±0.500	8.000±0.775	14.000±2.113	14.500±0.922
KSR-2	5.500±0.885	4.167±2.136	3.167±1.424	6.667±2.459
ERS-3	7.800±1.281	5.400±0.872	7.200±0.860	8.200±1.497
COMP-DT	7.667±1.801	4.333±0.760	3.500±0.763	4.333±0.882

*SF:Serum Fizyolojik, *DT: Deksketoprofen trometamol



SF:Serum fizyolojik, DT: Deksketoprofen trometamol

Şekil 5.129. Kıvrınma Testi Sonucu



***Kontrol grubuna göre karşılaştırma.** 1. saat: DT $p<0.001$, KSR-2 $p<0.001$, ERS-3 $p<0.001$, COMP-DT $p<0.001$. 3. saat: DT $p<0.001$, KSR-2 $p<0.001$, ERS-3 $p<0.001$, COMP-DT $p<0.001$. 6. saat: DT $p<0.001$, KSR-2 $p<0.001$, ERS-3 $p<0.001$, COMP-DT $p<0.001$. 9. saat: DT $p<0.001$, KSR-2 $p<0.001$, ERS-3 $p<0.001$, COMP-DT $p<0.001$.

#DT grubuna göre karşılaştırma. 6. saat: KSR-2 $p<0.001$, ERS-3 $p<0.05$, COMP-DT $p<0.001$, 9. saat: KSR-2 $p<0.05$, COMP-DT $p<0.001$.

İstatistiksel açıklama: $p<0.05$: önemli fark , $p<0.01$: çok önemli fark , $p<0.001$: ileri düzeyde önemli fark

Şekil 5.130. Kıvrınma Testinin İstatistiksel Değerlendirmesi

6. TARTIŞMA

Bu bölümde tez çalışması kapsamında kullanılan etkin madde ve diğer maddelerin fizikokimyasal özelliklerine ait bulgular ile hazırlanan PNP ve KLN formülasyonuna ait *in vitro* ve *in vivo* çalışmaların bulguları tartışılacaktır.

6.1. Deksketoprofen Trometamol ve Yardımcı Maddeler ile Yapılan Çalışma

Ön formülasyon ve formülasyon geliştirilmesi çalışmasına başlamadan önce etkin maddenin ve yardımcı maddelerin fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir.

Etkin maddenin DSC, XRD, FT-IR ve NMR analizi yapılmış ve ardından farklı büyütme oranında taramalı elektron mikroskobu görüntüsü alınmıştır. Yapısal özelliklerin belirlenmesi için öncelikle XRD, FT-IR ve NMR analizlerinin yapılmasındaki amaç firmadan gelen etkin maddenin saf olduğunun kanıtlanması, formülasyondaki diğer bileşenler ve formülasyon hazırlama koşullarında özelliklerindeki olası farklılaşmanın kontrol edilmesidir. Çalışmanın değerlendirilmesi saf DT analiz sonuçları referans alınarak yapılmıştır.

PNP ve KLN formülasyonunun hazırlanması sırasında yüksek sıcaklıklara maruz kalacak etkin maddenin davranışının belirlenmesi çalışması termal analiz (DSC) ile gerçekleştirilmiştir. Termogramda DT'nin erime derecesi (Bkz. Şekil 5.1.) firmadan gelen spesifikasyon bilgisi ve referans ile uyumlu olarak 105.1°C olarak saptanmıştır (Bosch vd., 2007, s. 4).

DT'nin X-ışını kırınım analizinden elde edilen spektrumda karakteristik DT pikleri gözlenmiştir (Bkz. Şekil 5.2.). Literatüre göre 2θ (0.029°) açısı derecesinde gerçekleştirilen analizde, DT'ye özgü en önemli pikler 5.10° , 5.14° , 7.96° , 8.02° , 9.83° , 10.06° , 10.24° , 10.37° , 16.058° , 16.24° , 16.294° , 17.42° , 17.496° , 19.584° , 20.04° , 21.468° , 22.50° ve 26.861° civarında gözlenmelidir. Bu çalışmada gerçekleştirilen X-ışını kırınım analizi ile elde edilen spektrum incelendiğinde firmadan gelen spesifikasyon bilgisi ve referans ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. XRD spektrumunda kristal yapıya sahip olduğu açıkça görülen DT'nin alınan taramalı elektron mikroskobu görüntüsü de bu sonucu desteklemiştir (Bosch vd., 2007, s. 4; Farshi vd., 2012, s. 1).

Literatür ve firmadan gelen FT-IR spesifikasyon bilgisine göre DT 1020 cm^{-1} 'de verdiği yoğun bantlar ile karakterizedir. 1571 cm^{-1} , 1536 cm^{-1} , 1020 cm^{-1} , 881 cm^{-1} , 771 cm^{-1} ve 641 cm^{-1} bölgelerinde alınan titreşimler DT'nin saflığını göstermektedir. Bu

çalışmada elde edilen DT'ye ait FT-IR spektrumunun (Bkz. Şekil 5.3.) firmadan gelen spesifikasyon bilgisi ve referans ile karşılaştırıldığında çok az kayma ile uyumlu olduğu saptanmıştır (Bosch vd., 2007, s. 4; Farshi vd., 2012, s. 1).

Literatüre göre DT'ye ait $^1\text{H-NMR}$ özgün pikleri 1.45 ppm, 3.64 ppm, 3.66 ppm ve 7.41-7.80 ppm aralığında gözlenmelidir. Bu çalışmada elde edilen DT'nin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (Bkz. Şekil 5.4.) literatür ile uygun bulunmuştur (Gonzalez, 2013, s. 16).

DT'nin çeşitli karakterizasyon yöntemleri ile termal ve yapısal özelliklerinin belirlenmesinin ardından taramalı elektron mikroskobu görüntüsü alınmıştır. Diğer karakterizasyon yöntemleri ile kristal özelliği kanıtlanan DT'nin taramalı elektron mikroskobu görüntüsünde de kristal yapıda parçacıklar elde edilmiştir (Bkz. Şekil 5.5.).

Kollidon[®] SR'nin DSC, XRD, FT-IR ve NMR analizi yapılmış ve ardından farklı büyütme oranında taramalı elektron mikroskobu görüntüsü alınmıştır.

Ariasa vd.'nin (2009, s. 108-110) yaptığı çalışmada Kollidon[®] SR'nin termogramı DSC (Mettler FP85) cihazı kullanılarak $5^\circ\text{C}\cdot\text{dk}^{-1}$ sıcaklık artışı ile $30-300^\circ\text{C}$ aralığında belirlenmiştir. Termogramda 45°C ve 95°C civarında ufak endotermik dalgalanmalar elde edilmiş ve bu sıcaklıkların dışında herhangi bir endotermik pik ile karşılaşılmasıdır. Bu çalışmada elde edilen Kollidon[®] SR'nin termogramı incelendiğinde literatür ile uygunluk göstermiştir (Bkz. Şekil 5.1.).

Özgüney, Shuwisitkul ve Bodmeier'in (2009, s. 141) yaptığı çalışmada Kollidon[®] SR'nin X-ışını kırınım profili $4-40^\circ$ aralığında, 40 kV voltaj, 20 mA akım şiddeti, 2θ açısı ve 0.02°dk^{-1} ilerleme hızında Philips PW 1830 X-ışını jeneratörü kullanılarak belirlenmiştir. XRD profilinde keskin bir pikle karşılaşılması ve polimerin amorf yapıda olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada Kollidon[®] SR'ye ait X-ışını kırınım profili de literatür ile uyumlu bulunmuştur (Bkz. Şekil 5.2.).

Literatür bilgisine göre Kollidon[®] SR'nin FT-IR spektrumunda, 2978 cm^{-1} , 2943 cm^{-1} ve 2877 cm^{-1} 'de C-H gerilimi, 1742 cm^{-1} 'de C=O moleküler titreşimi, 1672 cm^{-1} 'de siklik akrilamide ait C-O gerilimi, 1440 cm^{-1} ve 1377 cm^{-1} 'de sırasıyla N-H bükme bantı, simetrik/asimetrik CH_3 bükme bantı, 1238 cm^{-1} 'de C-CO-C bantı, 1121 cm^{-1} ve 1021 cm^{-1} 'de C-CO-C grubunun C-C-C gerilimi ve bükülümü, 946 cm^{-1} 'de birincil alkol esterinin gerilimi ve son olarak 845 cm^{-1} , 796 cm^{-1} ve 736 cm^{-1} 'de alkan grubuna ait karakteristik bantlar gözlenir. Bu çalışmada Kollidon[®] SR'ye ait FT-IR profili (Bkz. Şekil 5.3.) literatür ile ciddi anlamda benzerlik göstermiştir (Ariasa vd., 2009, s. 109).

Kollidon® SR % 80 polivinil asetat ve % 19-20 oranında polivinil pirolidon'un (Povidon) fiziksel karışımından oluşan bir polimerdir (Ariasa vd., 2009, s. 107). Kollidon® SR'nin ¹H-NMR analiz profilinde polivinil asetat ve polivinil pirolidon'a ait spesifik pikler çakışmış halde gözlenmektedir. Literatüre göre polivinil asetata ait karakteristik pikler 1.75 ppm, 2.02 ppm, 4.86 ppm ve 6.62 ppm'de (Gois vd., 2015 s. 91231), polivinil pirolidon'a ait pikler ise 1.30 ppm, 1.60-1.90 ppm aralığı, 2.70 ppm, 3.19 ppm ve 3.70 ppm'de gelmelidir (Agarwal vd., 2012, s. 19). Çok düşük oranda kayma olmakla birlikte bu çalışmada elde edilen Kollidon® SR'nin NMR spektrumu referans ile uyumludur (Bkz. Şekil 5.4.).

Kollidon® SR partikülünün kolloidal boyut aralığında ve orta derecede polidispers olduğu ve küresel ancak yüzeyinin düzgün olmadığı Ariasa vd.'nin (2009, s. 109) yaptığı çalışmada taramalı elektron mikroskobu görüntüsü ile gösterilmiştir. Bu çalışmada da Kollidon® SR'nin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü ile düzgün yüzeyli olmayan küresel parçacıklar elde edildiği için literatür ile uygun bulunmuştur (Bkz. Şekil 5.6.).

Eudragit® RS 100'ün DSC, XRD, FT-IR ve NMR analizi yapılmış ve ardından farklı büyütme oranında taramalı elektron mikroskobu görüntüsü alınmıştır.

Başaran vd.'nin (2011, s. 718) yaptığı çalışmada saf polimer olarak kullandıkları Eudragit® RS'nin termogramı DSC (Schimadzu DSC-60) cihazı kullanılarak 10°C.dk⁻¹ sıcaklık artışı ile 50-250°C aralığında belirlenmiştir. Herhangi bir endotermik pikin gözlenmediği termogramda polimerin amorf yapısı vurgulanmıştır. Bu çalışmada elde edilen Eudragit® RS 100'e ait termogram daha önce yapılan çalışma ile uygunluk göstermiştir (Bkz. Şekil 5.1.).

Yapılan bir çalışmada Eudragit® RS'nin X-ışını kırınım profili 3-30° aralığında, 40 kV voltaj, 30 mA akım şiddeti, 2θ açısı ve 1°dk⁻¹ ilerleme hızı kullanılarak Philips PW 1050 X-ışını jeneratörü ile belirlenmiştir. Profilde spesifik pik bulunmadığından polimerin amorf yapıda olduğu görülmüştür. Bu çalışmada elde edilen Eudragit® RS 100'ün XRD profili (Bkz. Şekil 5.2.) literatür ile uygunluk göstermiştir (Pignatello, Ferro ve Puglisi, 2002, s. 6).

Polimerin spesifikasyon bilgisinde Eudragit® RS 100'ün FT-IR spektrumunda 1150-1190 cm⁻¹ ve 1240-1270 cm⁻¹ aralığında ester grubuna ait karakteristik bantlar ve 1730 cm⁻¹'de ester grubunda bulunan C=O titreşimlerinin yanısıra 1385 cm⁻¹, 1450 cm⁻¹, 1475 cm⁻¹ ve 2950-3000 cm⁻¹ aralığında ayırt edici CH_x grubuna ait titreşimler gözlenmiştir (http-8). Bu çalışmada elde edilen FT-IR profili spesifikasyona yüksek oranda benzerlik göstermiştir (Bkz. Şekil 5.3.).

Literatürdeki Eudragit® RS 100'e ait $^1\text{H-NMR}$ bulguları incelendiğinde 1-3 ppm ve 3.5-5 ppm aralığında polimere özgü karakteristik pikler görülmüştür. Bu çalışmada Eudragit® RS 100'ün $^1\text{H-NMR}$ analizinden elde edilen spektrumda gözlenen karakteristik Eudragit® RS 100 pikleri (Bkz. Şekil 5.4.) literatür ile uygun bulunmuştur (Başaran vd. 2011, s. 720).

Yapılan bir çalışmada saf Eudragit® RS 100'e ait taramalı elektron mikroskobu görüntüsü alındığında homojen dağılımlı, düzgün yüzeyli ve küresel parçacıklardan oluşan görüntü elde edilmiştir (Güven, 2016, s. 74). Bu çalışmada Eudragit® RS 100'ün taramalı elektron mikroskobu görüntüsü (Bkz. Şekil 5.7.) literatür ile karşılaştırılmış ve düzgün yüzeyli ve küresel parçacıklar elde edildiği için literatür ile uygun bulunmuştur.

Eudragit® RL 100'ün DSC, XRD, FT-IR ve NMR analizi yapılmış ve ardından farklı büyütme oranında taramalı elektron mikroskobu görüntüsü alınmıştır.

Amin vd.'nin (2012, s. 58) yaptığı çalışmada Eudragit® RL'nin termogramı DSC (Pyris 6, Perkin Elmer) cihazı kullanılarak $10^\circ\text{C}.\text{dk}^{-1}$ sıcaklık artışı ile $10-300^\circ\text{C}$ aralığında belirlenmiştir. Elde edilen termogramda polimerin amorf yapısı kanıtlanarak herhangi bir endotermik pik gözlenmemiştir. Bu çalışmada elde edilen termogram da literatür ile uyumludur (Bkz. Şekil 5.1.).

Yapılan bir çalışmada Eudragit® RL'nin X-ışını kırınım profili $4-60^\circ$ aralığında, 40 kV voltaj, 30 mA akım şiddeti, 2θ açısı kullanılarak Philips 1700 X-ışını jeneratörü ile belirlenmiştir (Auda vd., 2016, s. 309). Eudragit® RL 100 uzun kimyasal gruplara ve düzenli kimyasal dizilişe sahip olan amorf polimerdir. Bu çalışmada da X-ışını kırınım profilinde spesifik bir pikle karşılaşılmamış ve polimerin amorf yapıda olduğu gösterilmiştir (Bkz. Şekil 5.2.).

Polimerin spesifikasyon bilgisinde Eudragit® RL 100'ün FT-IR spektrumunda $1150-1190\text{ cm}^{-1}$ ve $1240-1270\text{ cm}^{-1}$ aralığında ester grubuna ait karakteristik bantlar ve 1730 cm^{-1} 'de ester grubunda bulunan C=O titreşimlerinin yanısıra 1385 cm^{-1} , 1450 cm^{-1} , 1475 cm^{-1} ve $2950-3000\text{ cm}^{-1}$ aralığında ayırt edici CH_x grubuna ait titreşimler gözlenmiştir (http-8). Bu çalışmada elde edilen FT-IR profili de spesifikasyon ile yüksek oranda benzerlik göstermiştir (Bkz. Şekil 5.3.).

Literatüre göre Eudragit® RL 100'e ait $^1\text{H-NMR}$ bulgusunda 1-3 ppm ve 3.5-5 ppm aralığında polimere özgü pikler görülmüştür (Tiwari vd., 2009, s. 838). Bu çalışmada da $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (Bkz. Şekil 5.4.) karakteristik Eudragit® RL 100 pikleri göstermiştir.

Chonga vd.'nin (2011, s. 72) yaptığı çalışmada Eudragit® RL 100' e ait taramalı elektron mikroskobu görüntüsü homojen dağılımlı, düzgün yüzeyli ve kısmen küresel yapı göstermiştir. Bu çalışmada elde edilen taramalı elektron mikroskobu görüntüsünde düzgün yüzeyli ve kısmen küresel parçacıklar elde edildiği için literatür ile uyumlu bulunmuştur (Bkz. Şekil 5.7.)

Compritol® 888 ATO'nun DSC, XRD, FT-IR ve NMR analizi yapılmış ve ardından farklı büyütme oranında taramalı elektron mikroskobu görüntüsü alınmıştır.

Compritol® 888 ATO'nun termogramı, Bhalekar vd.'nin (2009, s. 292) yaptığı çalışmada DSC (Mettler Toledo 821e) cihazı kullanılarak $10^{\circ}\text{C}.\text{dk}^{-1}$ sıcaklık artışı ile $30-250^{\circ}\text{C}$ aralığında, Fini vd.'nin (2011, s. 747) yaptığı çalışmada ise DSC (Mettler Toledo 821e) cihazı kullanarak $10^{\circ}\text{C}.\text{dk}^{-1}$ sıcaklık artışı ile $30-300^{\circ}\text{C}$ aralığında belirlenmiştir. Bu iki çalışmada Compritol® 888 ATO'a ait spesifik endotermik pik sırasıyla 71.9°C ve 76.4°C 'de gözlenmiştir. Bu çalışmadaki termogramda spesifik endotermik pik 72°C 'de gözlenmiş ve literatürde verilen aralık ile uyumlu bulunmuştur (Bkz. Şekil 5.1.).

Fini vd.'nin (2011, s. 745 ve 749) yaptığı çalışmada Compritol® 888 ATO'nun X-ışını kırınım profili $5-40^{\circ}$ aralığında, 40 kV voltaj, 30 mA akım şiddeti, 2θ açısı ve 10°dk^{-1} ilerleme hızı kullanılarak Mettler 821e X-ışını jeneratörü ile belirlenmiştir. Sonuçta saptanan kristal yapıyı destekleyici 21° 'deki yüksek yoğunluklu büyük pik ve 23° 'deki küçük pik bu çalışmada elde edilen X-ışını kırınım profili ile yüksek oranda benzerlik göstermiştir (Bkz. Şekil 5.2.).

Compritol® 888 ATO'ya ait FT-IR spektrumunda 2820 cm^{-1} 'de C-H geriliminin tipik, 1705 cm^{-1} 'de C=O gerilimi, 1740 cm^{-1} 'de C-O gerilimi ve $3100-3650\text{ cm}^{-1}$ aralığında -OH gerilimi bantları bulunmaktadır. $700-1500\text{ cm}^{-1}$ aralığında metilen grupları ile ilişkili olan bantlar ise titreşim olarak spektrumda yer almalıdır. Bu çalışmadaki FT-IR profili (Bkz. Şekil 5.3.) literatür ile karşılaştırıldığında benzerlik göstermiştir (Jagdale vd., 2011, s. 201; Aburahma ve Badr-Eldin, 2014, s. 1869).

Daha önce yapılan çalışmada Compritol® 888 ATO'ya ait ^1H -NMR spektrumunda 0.81 ppm, 0.97-1.38 ppm, 1.42-1.65 ppm, 2.28 ppm ve 3.98-4.33 ppm aralığında gliseril dibehanat'a özgü karakteristik pikler gözlenmiştir (Perez vd., 2016, s. 2). Bu çalışmada elde edilen spektrumda karakteristik gliseril dibehanat pikleri hafif kayma ile literatür ile uyumludur (Bkz. Şekil 5.4.).

Spesifikasyon bilgisinde yer alan Compritol® 888 ATO'nun taramalı elektron mikroskobu görüntüsünde $50\text{ }\mu\text{m}$ çapında küresel parçacıklar görülmüştür (Gattefosse,

2014, s. 2). Bu çalışmada da küresel parçacıklar elde edildiği için spesifikasyona uygun olduğu düşünülmüştür (Bkz. Şekil 5.8.)

Dynasan[®] 114'ün DSC, XRD, FT-IR ve NMR analizi yapılmış ve ardından farklı büyütmelerde taramalı elektron mikroskobu görüntüsü alınmıştır.

Yassin vd.'nin (2010, s. 402) yaptığı çalışmada Dynasan[®] 114'ün termogramı DSC (Schimadzu DSC-60) cihazı kullanılarak 10°C.dk⁻¹ sıcaklık artışı ile 25-350°C aralığında belirlenmiş ve Dynasan[®] 114'e ait spesifik keskin endotermik pik 58°C'de gözlenmiştir. Bu çalışmada keskin endotermik pik 57°C'de gözlenmiş ve çok düşük oranda kayma ile literatür ile uygunluk göstermiştir (Bkz. Şekil 5.1.).

Yapılan bir çalışmada Dynasan[®] 114'nin X-ışını kırınım profili 3-120° aralığında, 40 kV voltaj, 40 mA akım şiddeti, 2 θ açısı ve 0.02°dk⁻¹ ilerleme hızı kullanılarak Rikagu Altima IV X-ışını jeneratörü ile belirlenmiştir (Ansari vd. 2015, s. 6). Profilde kristal yapıyı destekleyici 15-25° aralığındaki pikler bu çalışmada elde edilen profil ile (Bkz. Şekil 5.2.) benzerlik göstermiştir.

Dynasan[®] 114 ile yapılan FT-IR analizinde C-H geriliminin tipik göstergesi olan bantlar 2700-2900 cm⁻¹'de, ester grubunun C=O gerilme bantları 1729 cm⁻¹'de, C-O gerilimine ait bantlar 1740 cm⁻¹'de, -CH₃ grubunun simetrik deformasyonları 1388 cm⁻¹'de, tüm uzun zincirli trigiliseritlerin yağ asidi zincirinde bulunan estere ait -C-O-C- asimetrik gerilme bantları 1226 cm⁻¹-1172 cm⁻¹-1111 cm⁻¹'de, ester grubuna ait -C-O-C- simetrik gerilimi 1035 cm⁻¹'de ve metilen (CH₂) grupları ile ilişkili olan bantlar ise titreşim olarak 700-1500 cm⁻¹ aralığında görülmüştür (Bindu vd., 2013, s. 574). Bu çalışmada elde edilen FT-IR spektrumu literatür ile benzerdir (Bkz. Şekil 5.3.).

Dynasan[®] 114'e ait ¹H-NMR bulgusunda 0.9 ppm, 1.2-1.4 ppm aralığı, 1.5-1.7 ppm aralığı, 2.33 ppm, 4.16 ppm, 4.31 ve 5.28 ppm'de trimiristine özgü pikler gözlenmiştir (http-11). Bu çalışmada elde edilen spektrumdaki (Bkz. Şekil 5.4.) karakteristik trimiristin pikleri hafif kayma ile literatüre uygun bulunmuştur.

DeMan, Mostafa ve Smith'in (1985, s. 238) yaptığı çalışmada Dynasan[®] 114'e ait taramalı elektron mikroskobu görüntüsünde yığılmış sivri uçlu kristallerin oluşturduğu hafif küresel yapı elde edilmiştir. Bu çalışmada sivri uçlu kristallerin oluşturduğu kısmen küresel parçacıklar elde edildiği için literatüre uygun bulunmuştur (Bkz. Şekil 5.9.).

6.2. Deksketoprofen Trometamol Miktar Tayini için Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

Çalışmanın tümünde DT miktar tayini için YBSK yöntemi kullanılmıştır. YBSK ilaç endüstrisinde ve ilaç analiz laboratuvarlarında en çok kullanılan ve güncel olan sıvı kromatografisi çeşididir (Kupiec, 2004, s. 227). YBSK yöntemi diğer birçok analitik yöntem ile karşılaştırıldığında kolaylık, hız, doğruluk ve kapasite açısından önemli üstünlük sunmaktadır. Bu yöntem ile karmaşık örneklerde ayırım ve miktar tayini analizi floresan/diyot *array* gibi dedektörler kullanılarak çok basitçe yapılmaktadır (Bueno vd., 2017, s. 22). YBSK'yı diğer yöntemlerden ayıran özellikleri arasında yüksek ayırma duyarlılığı, basınca dayanıklı paslanmaz çelik veya cam kolon, kolon içinde bulunan ufak çaplı parçacıklar sayesinde net sinyal, nispeten yüksek hareketli faz basıncı ve hareketli fazın kontrol edilebilir akış hızı sayılabilir (Bhardwaj, Dwivedia ve Agarwal, 2015, s. 76).

DT'nin miktar tayininde kullanılan YBSK yöntemi için yapılan doğrusallık çalışması sonucunda determinasyon katsayısı (r^2) 0.9999 olarak bulunmuş ve miktar tayininin doğrusallığı kanıtlanmıştır (Bkz. Çizelge 5.1. ve Bkz. Şekil 5.10.). 3 gün süren kesinlik çalışmaları sonucu yöntemin tekraredilebilirliği ve tekraredeedilebilirliği için varyasyon katsayısının % 2'nin altında bulunması yöntemin kesinliğini göstermiştir (Bkz. Çizelge 5.2., Çizelge 5.3. ve Çizelge 5.4.). Üç farklı derişim ile yapılan doğruluk ve geri eldeedilebilirlik çalışmasında elde edilen veriler ile de yöntemin doğruluğu kanıtlanmıştır (Bkz. Çizelge 5.5.).

Yöntemin seçiciliğini belirlemek için çalışmanın her aşamasında kullanılan madde ve çözücü ile birlikte analizin yapılması gerekmektedir. Etkin maddenin absorbans verdiği dalga boyunda formülasyonlardaki herhangi bir madde ve kullanılan çözücünün girişim yapmadığı Şekil 5.11., Şekil 5.12., Şekil 5.13., Şekil 5.14., Şekil 5.15., Şekil 5.16., Şekil 5.17., Şekil 5.18., Şekil 5.19. ve Şekil 5.20'de gösterilmiş ve kullanılan YBSK yönteminin DT için seçici olduğu belirlenmiştir.

6.3. Çalışma Koşulunda Kararlılık

Etkin maddenin kararlılığı PNP hazırlama koşulunda 100°C sıcaklıkta 30 dakika ultrasonikasyonun ardından YBSK ile incelenmiştir. DT'nin % 99.1±0.4 (Ort±SH) oranında bozunmadan kaldığı bulunmuştur. Benzer kararlılık çalışmasında KLN hazırlama koşulunda, Compritol® 888 ATO, Dynasan® 114 ve distile su içindeki DT çözeltisi 5 dakika % 60 güçteki prob sonikasyondan sonra incelendiğinde DT'nin

sırasıyla % 99.2±0.1 (Ort±SH), % 99.6±0.3 (Ort±SH) ve % 99.3±0.5 (Ort±SH) oranında bozunmadan kaldığı bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda kullanılan hazırlama koşullarının uygun olduğuna karar verilmiştir.

Etkin madde miktar tayini analizi için örnek hazırlama koşulundaki kararlılık incelendiğinde, DT'nin su, 2-propanol ve hareketli faz içinde 70°C sıcaklıkta 30 dakika ultrasonikasyonun sonunda sırasıyla % 99.4±0.7 (Ort±SH), % 99.7±0.6 (Ort±SH) ve %99.7±0.5 (Ort±SH) oranında bozunmadan kaldığı gözlemlendiğinden kullanılan koşulların uygun olduğu belirlenmiştir.

In vitro salım ortamı koşulundaki kararlılığı belirlemek üzere gerçekleştirilen deney sonucunda 48 saatlik süre sonunda etkin maddenin % 99.8±0.1 (Ort±SH) oranında bozunmadan kaldığı gözlemlendiğinden salım ortamı ve süresine sırası ile PBS (pH 7.4) ve 48 saat olarak karar verilmiştir.

6.4. PNP Formülasyonunun Hazırlanması ve Karakterizasyonu

NSAİİ ağrı tedavisinde uzun yıllardır başarı ile kullanılan ancak mide iritasyonu, kanama, karın ağrısı ve ülser gibi ciddi gastrointestinal yan etkilere sahip ilaç grubudur. Programlanan tedavi süresi boyunca uzun süreli etki edip daha az yan etki profili oluşturacak kontrollü salım ve sürekli salım gösteren sistemler NSAİİ için önemlidir (Moore, 2007, s. 1-6; Roullin vd. 2010, s. 247).

NSAİİ ile ilişkili yan etkilerden kaçınmak için birçok strateji geliştirilmiştir. Bu stratejiler arasında gastrik koruyucu maddelerin NSAİİ ile eş zamanlı uygulanması (tek başına veya NSAİİ ile beraber formülasyona giren etkin madde), rektal ilaç salım sistemi kullanımı ve modifiye edilmiş ilaç taşıyıcı sistemler bulunmaktadır (Raffin vd., 2003, s. 164; Özgüney, 2011, s. 327; Borhade vd., 2012, s. 465).

NSAİİ için kontrollü ve sürekli salım sistemlerinin geliştirilmesi potansiyel fayda sağlamaktadır. Bu sistemlerin geliştirilmesinin ardında yatan bilimsel mantık etkin maddenin istenilen oran ve istenilen zamanda salımını sağlamak, daha az doz ile plazmadaki ilaç derişimini sabit tutmak ve NSAİİ ile ilişkili yan etkilerden kaçınmaktır. Bu amaçla PNP ilaç taşıyıcı sistem sahip olduğu özellikler ile etkin maddeyi hedefleme ve kontrollü salım gibi farmasötik performansını arttırdığı için çalışmalarda dikkatleri üzerine çekmektedir (Reis vd., 2006, s. 53; Reis vd., 2013, s. 1).

Katı kolloidal ilaç taşıyıcı sistem olan PNP'nin üstünlükleri, ilaç etkin maddesinin GİS'de salımını kontrollü olarak yapması, erken ve ani salım gibi problemler ortaya çıkarmaması, ufak boyutundan dolayı oral mukozadan bile emilip sistemik dolaşıma geçebilmesi, biyolojik olarak uyumlu ve biyoparçalanabilir polimer kullanımı ile ilaç taşıyıcı sistemin doğal olarak atılımının sağlanması ve toksik etki gözlenmemesidir (des Rieux vd., 2006, s. 3; Kumari, Yadav ve Yadav, 2010, s. 2).

İlaç taşıyıcı sistem uygulamalarında nanoparçacığın mikroparçacığa göre tercih edilme nedeni olarak GİS'de emilim oranının artması ve dolayısıyla biyoyararlanımın yükselmesi ve farklı tipte hedeflendirme özelliğine sahip olması sayılabilir (Singh ve Lillard, 2009, s. 215).

PNP üretimindeki üç temel yöntem polimerizasyon, fizikokimyasal ve mekanik yöntemlerdir. Mekanik yöntemlere örnek olarak yüksek basınçlı homojenizasyon, ultrasonikasyon ve püskürterek kurutma yöntemleri verilebilir (Anton, Benoit ve Saulnier, 2008, s. 185; Singh ve Lillard, 2009, s. 215). Püskürterek kurutma teknolojisi çözelti, emülsiyon, süspansiyon ve hatta eriyik halde bulunan sıvı sistemlerin katı toz haline dönüştürülmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Gıda, kimya ve malzeme endüstrisinde sıkça kullanılma nedeni elde edilen ürünün parçacık özelliğinin optimize edilebilmesi, saklama koşulunda kararlılığın artması ve kaliteli olmasıdır. Bununla birlikte püskürterek kurutma teknolojisinin toz halde uygulanan ilaç taşıyıcı sistemler için kullanımı son yıllarda oldukça artmıştır (Li vd., 2010, s. 304).

Geleneksel püskürterek kurutma teknolojisinde tozlar düşük verimle ancak hızlı bir şekilde üretilmektedir. Teknoloji, sürecin hızlı ve kurutmanın kısa süreli olması nedeniyle sıcaklığa duyarlı etkin maddede bozunma olmaksızın kararlılık korunarak çalışma olanağı sunmaktadır (Li vd., 2010, s. 304).

Tek bir basamakta çözücünün çözeltiden hızla uzaklaşması sağlanan püskürterek kurutma yönteminde çözelti içinde bulunan polimer ve etkin madde eş zamanda katılaşmaktadır. Düşük verim ve yetersiz ürün hacmine sahip geleneksel püskürtme kurutma cihazlarının aksine *Büchi Nano Spray Dryer B-90* cihazı sisteme giren sıvı malzemeyi çok ufak ve çok sayıda damlacıklara ayıran vibrasyonlu membran ve püskürterek kurutulmuş nanopartikülleri yakalamak için elektrostatik parçacık toplayıcıya sahiptir (Bürkia, Arpagausp ve Betza 2011, s. 249; Gu, Linehan ve Tseng, 2015, s. 208).

Bu çalışmada DT yüklü PNP formülasyonunun üretimi için mekanik bir yöntem olan püskürterek kurutma teknolojisi kullanılmıştır. Çalışmanın özgünlüğü kapsamında, Büchi tarafından üretilen *Nano Spray Dryer B-90* cihazının çok yeni olması ve bugüne dek

püskürterek kurutma yöntemi dahil diğer başka yöntem ile DT yüklü herhangi bir nanoboyutta taşıyıcı sistem geliştirilip literatüre girmemesi ve yarılanma ömrü düşük olan DT'nin düşük dozda uzun süreli salımının gerçekleştirilebileceği sayılabilir. Bu teknoloji ayrıca temelde mikron-altı boyutta parçacık elde edilebileceği için tercih edilmiştir.

Parçacık boyutu ve dağılımı nanopartikül sistemlerin en önemli karakterizasyon parametrelerinden biridir; nanopartiküllerin *in vivo* davranışı ve dağılımı, toksisitesi ve hedeflendirilebilme yeteneği hakkında geniş bilgi sağlar. Bu bilgilere ek olarak etkin madde yüklenmesi, salımı ve kararlılığı hakkında öngörü sağlanmasına olanak verir. Mikron-altı boyuttaki ilaç taşıyıcı sistemlerin mikron boyuttaki ilaç taşıyıcı sistemlere göre sahip olduğu üstünlük birçok çalışmada gösterilmiştir. Mikron-altı ve mikron boyut karşılaştırıldığında, mikron-altı boyuttaki nanopartiküllerin hücre içine girme oranının daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Panyam ve Labhasetwar, 2003, s. 330; Mohanraj ve Chen, 2006, s. 564).

Ön formülasyon çalışmasında farklı polimer oranı ve farklı yüzdede DT ile çok sayıda formülasyon hazırlanmış, parçacık boyutu ve zeta potansiyel analizi sonucunda en iyi sonuçların Kollidon® SR ile hazırlanan KSR-1, KSR-2 ve KSR-3; Eudragit® RS 100 ile hazırlanan ERS-1, ERS-2 ve ERS-3; Eudragit® RL 100 ile hazırlanan ERL-1, ERL-2 ve ERL-3 kodlu PNP formülasyonunda alındığı gözlenmiştir. Bu sonuçların etkin madde ve polimer oranı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Çalışmada hazırlanan KSR-1, ERS-1, ERL-1/KSR-2, ERS-2, ERL-2/KSR-3, ERS-3, ERL-3 kodlu formülasyonlarda etkin madde polimer oranları sırasıyla 0.5:10, 1:10 ve 1.5:10 olarak belirlenmiştir. Daha önce yapılan nimesülit yüklü PLGA nanopartikül formülasyonunun hazırlandığı çalışmada farklı etkin madde:polimer oranı kullanılmış ve en düşük parçacık boyutu etkin madde:polimer oranının 0.5:10 olduğu formülasyonda elde edilmiştir (Turk vd., 2014, s. 165). Yenilmez, Başaran ve Yazan'ın (2011, s. 808) püskürterek kurutma yöntemiyle E vitamini yüklü kitozan mikroküre çalışmasında en uygun parçacık boyutu 1:10 oranında etkin madde-polimer kullanarak hazırlanan formülasyon ile elde edilmiştir. Losartan potasyum etkin maddesinin enkapsülasyonunun hedeflendiği bir diğer çalışmada etkin madde-polimer oranı 1.5:10 olarak seçilmiş ve bu formülasyon ile ideal parçacık boyutu ve zeta potansiyel değerinin yanısıra yüksek yükleme kapasitesi elde edilmiştir (Biswal vd., 2011, s. 1974).

Kollidon® SR ile hazırlanan PNP formülasyonunun parçacık boyutu Eudragit® RS 100 ve Eudragit® RL 100 ile hazırlanan PNP formülasyonuna göre daha düşük bulunmuştur. Kollidon® SR ve Eudragit® RL ile hazırlanan PNP formülasyonunda DT miktarı arttıkça parçacık boyutunda artış saptanmıştır. Eudragit® RS ile hazırlanan ERS-

1 ve ERS-2'nin parçacık boyutu değeri arasında anlamlı fark görülmemiştir. Elde edilen sonuçlar (Bkz. Çizelge 5.6.) literatür ile karşılaştırıldığında mikron-altı boyutta kolloidal PNP formülasyonunun hazırlanabildiğine karar verilmiştir (Masood, 2016, s. 570).

Polidisperslik indisi (PDI) parçacık boyut dağılımını tanımlamak için kullanılan parametredir. PDI değeri tek fazlı sistemler için 0.01 civarından 0.5-0.7 değerine kadar çıkabilir. 0.7 değerinden daha yüksek değer çok geniş parçacık boyut dağılımının göstergesidir (Lopedota vd., 2009, s. 503). Bu çalışmada hazırlanan PNP formülasyonunun hepsinde PDI değeri 0.7'den daha düşük olduğundan parçacık boyut dağılımının tekdüze olduğu belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 5.6.). Bu durum ayrıca parçacık boyutu analizi yapılan cihazdan alınan parçacık boyut dağılım grafikleri ile desteklenmiştir (Bkz. Şekil 5.21., Şekil 5.22., Şekil 5.23., Şekil 5.24., Şekil 5.25., Şekil 5.26., Şekil 5.27., Şekil 5.28., Şekil 5.29., Şekil 5.30., Şekil 5.31. ve Şekil 5.32.).

Zeta potansiyel kolloidal sistemlerin elektrostatik potansiyelini ifade eder. Zeta potansiyel değeri hem dağılan parçacıkların ara yüzeyde bulunan çift tabakalı elektriksel potansiyelini, hem de parçacıkların ara yüzey ve dağıtan faz arasında oluşturduğu potansiyeli gösterir. Farklı bir anlatımla, dağılma ortamı ile ortamda dağılan parçacık arasındaki potansiyel farkı olarak tanımlanır (Lu ve Gao, 2010, s. 66). Zeta potansiyele etki eden en önemli etmen ortamın pH değeridir. Ayrıca sıcaklık, iyonik güç ve ortamda bulunan maddelerin derişim değeri de zeta potansiyel değerini etkiler. PNP ve KLN formülasyonu açısından zeta potansiyelin önemi ise kısa ve uzun dönemde kararlılık ile ilişkilidir. Pozitif ya da negatif düşük zeta potansiyel değerine sahip sistemde itme ve çekme kuvvetlerinin gücüne bağlı olarak kararlılık daha yüksektir (Lu ve Gao, 2010, s. 66). Sulu ortamda dağıtılan nanopartiküllerin kararlılığı elektrostatik kararlılığa, stearik kararlılığa veya her ikisine bağlı olarak gerçekleşir ve yüksek zeta potansiyel değeri (+/- 30 mV) kolloidal dispersiyonun kararlı olduğunu gösterir (Nagarwal vd., 2009, s. 6). Parçacık yüzeyindeki elektriksel yük değişimi zeta potansiyel ölçümü ile belirlenir.

Kolloidal parçacıklar dağıldıkları ortamdan iyon adsorbe edebilir ve her partikül negatif veya pozitif yük durumuna göre tersi yükteki iyonlarla çevrilebilir. Tek tabakalı moleküler (monomoleküler) tabakanın etrafında parçacığa bağlanmayan ve hareketli ikinci bir iyon tabakası bulunur. Bu tabakaya 'difüze çift tabaka' ya da '*Helmutz* çift tabakası' denir. Çift tabakanın dışında da pozitif iyonların negatif iyonlara eşit olduğu nötral (nötr yük) bir alan bulunur. Parçacığın yüzeyi ile bu nötr bölge arasındaki potansiyel farkına zeta potansiyeli denir (Öner, 2004, s. 268; Çelebi, 2004, s. 251).

Zeta potansiyel ölçümü parçacıkların elektriksel alan içerisindeki elektroforetik hareketinden faydalanılarak zetametre (zetasizer) ile yapılır. Parçacıkların hücrelerarası göçü sonucunda oluşan ağırlık değişimine dayanan gravimetrik veya lazer-dopler ölçümü esasına göre elektroforetik hareket ölçüldükten sonra, ortamın viskozitesi ve dielektrik sabitesi de biliniyorsa, *Helmholtz-Smoluchowski* eşitliğinden yararlanılarak zeta potansiyeli hesaplanabilir (Öner, 2004, s. 268).

Kollidon® SR iyonik grup içermediği için etkin maddenin özelliklerini değiştirmez (Ariasa vd., 2009, s. 107). Bu çalışmada püskürterek kurutma yöntemi ile aynı oranda Kollidon® SR ve farklı oranlarda DT içeren PNP formülasyonunun zeta potansiyel analizi yapıldığında tüm formülasyonların değeri -16.33 ± 0.12 mV (Ort $\pm$ SH) ile -17.13 ± 0.17 mV (Ort $\pm$ SH) arasında değişkenlik göstermiştir. İçeriğinde en yüksek oranda DT içeren KSR-3 formülasyonunun zeta potansiyel değeri olan -17.13 ± 0.17 mV'nin (Ort $\pm$ SH), KSR-2, KSR-1 ve KSR-Plasebo formülasyonu ile karşılaştırılmasında az bir farkla daha düşük olduğu gözlenmiştir (Bkz. Çizelge 5.7.).

Eudragit® RS 100 ve Eudragit® RL 100, yapısında sırasıyla % 4.5-6.8 ve % 8.8-% 12 oranında katerner amonyum grubu içeren polietiletakrilat, metil metakrilat ve klorotrimetil amonyum etil metakrilat kopolimeridir. Her iki polimerler de fizyolojik pH değerinde suda çözünmez ancak şişme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle ilaç etkin maddelerinin dispersiyonlarının hazırlanması için uygun polimerlerdir (Pignatello vd., 2006, s. 2-4).

Bu çalışmada Eudragit® RS 100 ve Eudragit® RL 100 ile hazırlanan tüm formülasyonların pozitif zeta potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 5.7.). Zeta potansiyel değerinin pozitif olmasının nedeninin polimer yapısındaki katerner amonyum grupları olduğu daha önce belirtilmiştir (Ubrich vd., 2005, s. 172)

Püskürterek kurutma yöntemi ile aynı oranda Eudragit® RS 100 ve farklı oranlarda DT içeren PNP formülasyonunun zeta potansiyel ölçümü yapıldığında tüm formülasyonlar $+26.15 \pm 1.42$ mV (Ort $\pm$ SH) ile $+46.35 \pm 1.86$ mV (Ort $\pm$ SH) arasında değişkenlik göstermiştir. İçeriğinde en yüksek oranda DT içeren ERS-3 formülasyonunun $+26.15 \pm 1.42$ mV (Ort $\pm$ SH) olarak ölçülen zeta potansiyel değeri ERS-2, ERS-1 ve ERS-Plasebo formülasyonu ile karşılaştırıldığında daha düşük değere sahip olduğu gözlenmiştir. ERS kodlu formülasyon setinde en yüksek zeta potansiyel $+46.35 \pm 1.86$ mV (Ort $\pm$ SH) değeri ile ERS-1 kodlu PNP formülasyonunun olduğu saptanmıştır (Bkz. Çizelge 5.7.).

Püskürterek kurutma yöntemi ile aynı oranda Eudragit® RL 100 ve farklı oranlarda DT içeren tüm PNP formülasyonların zeta potansiyel değeri $+20.15 \pm 0.51$ mV (Ort $\pm$ SH) ile $+45.05 \pm 0.46$ mV (Ort $\pm$ SH) arasında değişkenlik göstermiştir. İçeriğinde en yüksek oranda DT içeren ERL-3 formülasyonunun zeta potansiyel değeri $+20.15 \pm 0.51$ mV (Ort $\pm$ SH) olarak ölçülmüş ve ERS-2, ERS-1 ve ERS-Plasebo formülasyonu ile karşılaştırıldığında daha düşük değere sahip olduğu gözlenmiştir. ERL kodlu formülasyonlarda en yüksek zeta potansiyelin $+45.05 \pm 0.46$ mV (Ort $\pm$ SH) değeri ile ERL-1 kodlu PNP formülasyona ait olduğu saptanmıştır. İkinci yüksek zeta potansiyel değeri ise $+43.81 \pm 2.10$ mV (Ort $\pm$ SH) olarak ERL-2 kodlu formülasyona aittir (Bkz. Çizelge 5.7.).

Hazırlanan tüm PNP formülasyonları tekdüze zeta potansiyel dağılımı göstermiştir ve bu durum zeta potansiyeli ölçümü yapılan cihazdan alınan otomatik raporlar ile desteklenmiştir (Bkz. Şekil 5.33., Şekil 5.34., Şekil 5.35., Şekil 5.36., Şekil 5.37., Şekil 5.38., Şekil 5.39., Şekil 5.40., Şekil 5.41., Şekil 5.42., Şekil 5.43. ve Şekil 5.44.).

Nanopartiküllerden *in vitro* ve *in vivo* etkin madde salım kinetiği, nanopartiküllerin biyodağılımı, kan dolaşımındaki durumu, organ ve hücrelere taşınması ve hücre içine alınması gibi önem taşıyan parametreleri etkileyen en önemli etmenlerden biri parçacık şeklidir (Caldorera vd., 2010, s. 480). Kollidon® SR, Eudragit® RS 100 ve Eudragit® RL 100 ile farklı etkin madde-polimer oranında hazırlanan PNP formülasyonunun parçacık şekli ve yüzeyi hakkında bilgi edinmek için taramalı elektron mikroskobu görüntüsü alınmıştır.

Elektron mikroskobu görüntüsünde karakteristik nanopartikül görüntüsünün oluştuğu ve küresel ve düzgün yüzeyli parçacıklar elde edildiği görülmüştür. Etkin madde içeren formülasyonlarda DT'e ait kristal yapıların gözlenmemesi DT'nin polimerlere başarılı şekilde yüklendiğini göstermiştir (Bkz Şekil 5.45., Şekil 5.46. ve Şekil 5.57.).

Yapılan bir çalışmada püskürterek kurutma ve yarı-emülsiyon çözücü difüzyon yöntemi kullanılarak NSAİ grubuna ait diflusalinal yüklü Eudragit® RS 100 mikropartikülü hazırlanmıştır (Pignatello vd., 2001, s. 41). Etkin madde-polimer oranının 1:1, 1:2, 1:5 ve 1:10 olarak belirlendiği bu çalışmada 210-350 µm boyutunda pozitif zeta potansiyel değerine sahip parçacıklar elde edilmiştir. Püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlanan mikropartikülün parçacık boyutu daha düşük bulunmuştur. Hazırlanan mikropartikülün taramalı elektron mikroskobu görüntüsünde etkin madde kristaline rastlanmaması diflusalinal'in polimere başarıyla yüklendiğinin göstergesi olarak yorumlanmıştır.

Başaran vd. (2011, s. 718) yaptıkları çalışmada Eudragit® RS 100 polimeri ile siklosporin A yüklü nanopartikül formülasyonu hazırlamıştır. Yapılan bu çalışmada 4

farklı oranda Eudragit® RS 100 ve 2 farklı oranda siklosporin A içeren 332-484 nm boyuttaki formülasyonun polimere ait katerner amonyum gruplarından dolayı 54-67 mV aralığında zeta potansiyel gösterdiği bildirilmiştir. Formülasyondaki Eudragit® RS 100'ün oranının artması ile artan parçacık boyutunun yanısıra daha yüksek zeta potansiyel değeri elde edilmiştir. Formülasyonlara ait geçirimli elektron mikroskobu görüntüsünde ufak küresel parçacıkların elde edildiği gözlenmiştir.

Nanoçöktürme yöntemi kullanılarak hazırlanan tamoksifen sitrat yüklü Kollidon® SR nanopartikülünün hazırlandığı çalışmada etkin madde-polimer oranı 1:1, 1:2, 1:3 ve 1:4 olarak belirlenmiştir (Kapse vd., 2012, s. 108-109). Yapılan çalışmada etkin madde-polimer oranının değişikliğinden parçacık boyutu etkilenmemiş ve 237-246 nm boyut aralığında nano parçacıklar elde edilmiştir. Parçacıkların ortalama zeta potansiyel değeri +9 mV olarak bulunmuştur. Hazırlanan formülasyona ait geçirimli elektron mikroskobu görüntüsü ile küresel yapıda ve nano-boyutta parçacık elde edildiği gösterilmiştir.

Gupta vd. (2013, s. 363-367) yaptığı çalışmada Eudragit® RS 100 ve Eudragit® RL 100 polimeri ile klotrimazol yüklü mikroküre formülasyonunu püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlamıştır. Etkin madde-polimer oranının 1:1, 1:2 ve 1:3 olarak belirlendiği çalışmada +24.8 ve +77.1 mV zeta potansiyel değerine sahip ve 25.2-53.2 µm boyut aralığında parçacıklar elde edilmiştir. Formülasyondaki Eudragit® RS 100 ve Eudragit® RL 100 oranının artışı ile daha yüksek zeta potansiyel değeri elde edilirken parçacık boyutunun da arttığı gösterilmiştir. Her iki polimer ile hazırlanan mikrokürenin taramalı elektron mikroskobu görüntüsünde düzgün yüzeyli ve topaklanmamış küresel parçacık elde edilmiştir. Klotrimazol'un kristal yapısının taramalı elektron mikroskobu görüntüsünde görülmemesi ve pürüzsüz yüzey elde edilmesi etkin maddenin mikrokürelere başarıyla hapsedildiği şeklinde yorumlanmıştır.

Bu çalışmada gerçekleştirilen üç farklı polimer ve üç farklı etkin madde-polimer oranında hazırlanan PNP formülasyonuna ait DSC analizinde DT'nin 105.1°C'de gözlenen keskin endotermik pikinin kaybolduğu gözlenmiştir (Bkz. Şekil 5.48, Şekil 5.49. ve Şekil 5.50.). Etkin madde pikinin tamamen kaybolması homojen polimer matris oluşumu ya da polimerin seyreltme etkisi nedeniyle olabilmektedir (Pagar ve Vavia, 2013, s. 878). Bu çalışmada hazırlanan tüm PNP formülasyonlarında DT'ye ait endotermik pikin tamamen kaybolması DT'nin nanopartiküllere yüklendiği, homojen matris oluşumu ve amorf yapı elde edildiğini işaret etmektedir (Mainardes ve Evangelista, 2005, s. 19). DT'nin yüklenmesi ile kristalin yapının önemli ölçüde azaldığı düşünülmüştür (Shadab vd., 2014, s. 283).

Yenilmez, Başaran ve Yazan'ın (2011, s. 809) E vitamini yüklü kitozan mikroküreleri üzerine yaptıkları çalışmada hazırlanan formülasyonun termal analizinde E vitaminine ait spesifik pike rastlanmamıştır. Bu durum, polimer ile etkin maddenin etkileşime girmediği ve amorf yapı oluşturulduğu şeklinde değerlendirilmiştir.

Kapse vd. (2012, s. 108) tamoksifen sitrat yüklü Kollidon® SR nanopartikülünü hazırladıktan sonra etkin madde, saf polimer ve hazırlanan nanopartikül formülasyonunun termal analizini gerçekleştirmiştir. Amorf yapının elde edilmesi 149.5°C'de görülen tamoksifen sitrata ait endotermik pikin hazırlanan formülasyonda görülmemesi sonucu olarak yorumlanmıştır.

Vankomisin'in intestinal geçirgenliğinin artırılması amaçlanan bir çalışmada emülsifikasyon ardından çözücü uçurma yöntemi kullanılarak nanopartikül hazırlanması için biyoparçalanır polimer olan Eudragit® RS 100 tercih edilmiştir. Hazırlanan formülasyonun, etkin maddenin ve saf polimerin termal analizinin ardından formülasyonda yeni bir pikin oluşmaması polimer ve ilaç etkin maddesi arasında kimyasal etkileşim olmadığı şeklinde düşünülmüştür (Loveymi vd., 2012, s. 48).

Elektro-lif çekimi yöntemi ile hazırlanan azitromisin yüklü Eudragit® RS 100 nanopartikülünün termal analizinde azitromisin'e ait endotermik pikin kaybolması etkin maddenin kristal şekilden amorf şekle dönüşümü olarak açıklanmıştır (Payab vd., 2014, s. 587).

Kırımlıoğlu ve Yazan (2016a, s. 153) püskürterek kurutma yöntemi ile hazırladıkları levofloksasin hemiditrat yüklü Eudragit® RL 100 nanopartikülünün termal analizinde levofloksasin hemihidrat endotermik pik vermemiş ve bu durum etkin maddenin polimerik yapıda moleküler düzeyde dağıldığı şeklinde değerlendirilmiştir.

X-ışının kırınım analizi PNP formülasyonunun moleküler yapısının aydınlatılması, kristal durumunun incelenmesi ve polimorfizm çalışmalarının gerçekleştirilmesi için ve ayrıca kararlılık hakkında bilgi vermesinden dolayı araştırmalarda sıklıkla kullanılan iyi tanımlanmış analiz yöntemidir (Sapsford vd., 2011, s. 4470; Lin vd., 2014, s. 720). Bu çalışmada farklı polimerler ile farklı etkin madde-polimer oranında hazırlanan PNP formülasyonunda (Bkz. Şekil 5.51, Şekil 5.52. ve Şekil 5.53) DT'e ait kristalin piklere rastlanmaması amorf yapıda PNP formülasyonunun hazırlandığını ve DT'nin polimer matriste moleküler düzeyde dağılmış olduğunu göstermiştir (Shin vd., 2010, s. 168). Formülasyonların X-ışını kırınım profilinde DT'e ait piklerin şiddeti azalmış olarak dahi görülmemesi parçacıkların dış yüzeyde yüksek oranda adsorplanmadığını, enkapsüle edildiğini düşündürmüştür (Başaran vd. 2014, s.52-53). Aynı zamanda DT'e ait hiçbir

pikin gözlenmemesi polimer ağının seyreltme etkisinden dolayı olabileceğini düşündürmüştür (Pagar ve Vavia, 2013., s. 879; Payab vd., 2014, s. 587).

İbuprofen yüklü Kollidon® SR minimatrisinin geliştirildiği çalışmada hazırlanan sistemin X-ışını kırınım profilinde ibuprofene ait keskin kristalin piklerin gözlenmemesi amorf yapıda matris sistemin oluşturulduğu şeklinde açıklanmıştır (Özgüney, Shuwisitkul ve Bodmeier, 2009, s. 144).

Glutatyon'un transmukozal uygulamasının amaçlandığı bir çalışmada Eudragit® RS 100 nanopartikülleri yarı emülsiyon çözücü uçurma yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır (Lopedota vd., 2009, s. 514). Formülasyonun karakterizasyon aşamasında belirlenen X-ışını kırınım profilinde glutatyon'a ait pik görülmemiş ve etkin madde içeren formülasyon profilinin saf polimerle neredeyse aynı olduğu saptanmıştır. Bu durum etkin maddenin kristal yapısının nanopartikül ile amorf şekle dönüştürüldüğü ve dolayısıyla nanoenkapsülasyonun başarılı şekilde gerçekleştirildiği şeklinde değerlendirilmiştir.

Emülsifikasyon ve çözücü uçurma tekniği ile hazırlanan ketoprofen yüklü Eudragit RS® 100 polimerik nanopartikül formülasyonunun hazırlandığı bir başka çalışmada nanopartiküllerin X-ışını kırınım profilinde ketoprofen'e ait keskin pikler gözlenmemiş ve bu durum amorf yapının oluşturulduğu sonucuna bağlanmıştır (Anh vd., 2012, s. 6).

Yapılan bir diğer çalışmada Kollidon® SR'nin X-ışını kırınım profilinde yarı kristal yapıda iken çalışmada kullanılan tamoksifen sitrat'ın kristal yapı gösterdiği rapor edilmiştir (Kapse vd., 2012, s. 108). Oluşturulan PNP formülasyonunda ise tamoksifen sitrat'a ait keskin piklerin gözlenmemesi amorf yapının elde edildiği şeklinde yorumlanmıştır.

Analjezik etkiye sahip yeni bir etkin madde olan ABT-102 yüklü Kollidon® 25 nanopartikülünün püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlandığı çalışmada ABT-102'ye ait keskin piklerin X-ışını kırınım profilinde gözlenmemesi amorf yapıda nanopartikülün oluşturulduğunu göstermiştir (Joga vd. 2016, s. 168).

Nanoemülsiyon yöntemi ile hazırlanan ketotifen fumarat yüklü Eudragit® RL 100 nanopartikülünde yapılan X-ışını kırınım analizi sonrası formülasyonun X-ışını kırınım profili saf polimer ile benzer olarak amorf yapı sergilemiştir (Soltani vd., 2016, s. 554). Bu durum ketotifen fumarat'ın yarı kristal durumdan mikro-kristal yapıya dönüştürüldüğü ve polimer tarafından enkapsüle edildiği şeklinde yorumlanmıştır.

IR bölgesinin 4000 cm^{-1} ile 1300 cm^{-1} arasındaki belirgin bantlar molekülün farklı fonksiyonel gruplarına aittir. Bant molekülün yapısında yalnızca belli grubun varlığı ile ortaya çıkar ve molekülün diğer kısmından düşük oranda etkilenir. O-H ve N-H gerilim titreşimleri $3700\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ bölgesindeki absorpsiyon pikleriyle tanımlanır; alifatik C-H titreşimleri $3000\text{-}2850\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki bölgede bulunur. $2500\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$ arasında kalan spektral bölgede sınırlı sayıda grubun absorpsiyonu vardır ve bu nedenle de tanınması oldukça kolaydır; bu bölgede $\text{C}\equiv\text{N}$ ve $\text{C}\equiv\text{C}$ üçlü bağ gerilimi görülür. Karbonil grubu ($\text{C}=\text{O}$) gerilim titreşimi $1800\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$ arasında kalan bölgede elde edilir; $\text{C}=\text{C}$ ve $\text{C}=\text{N}$ bağlarına ait titreşimler $1650\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$ arasında kalan bölgede gözlenir; C-O, N=O, C–X gerilme bölgesi ise $1550\text{-}650\text{ cm}^{-1}$ aralığı olarak tanımlanmıştır (http-12, http-13, http-14).

Bu çalışmada FT-IR analizi polimerik yapıdaki olası mikroyapısal değişiklikleri incelemek için yapılmıştır. Yapılan çalışmada kullanılan tüm polimerler ve etkin maddenin FT-IR spektrumu literatür ile uygun bulunmuş (Bkz. 6.1. Deksketoprofen Trometamol ve Yardımcı Maddeler ile Yapılan Çalışmalar) ve saf olduğuna karar verilmiştir.

KSR, ERS ve ERL'nin etkin maddesiz hazırlanan plasebo formülasyonunun FT-IR spektrumunun saf polimerin spektrumu ile aynı olması üretim parametrelerinin formülasyonu etkilemediğini göstermiştir (Yenilmez, Başaran ve Yazan, 2011, s. 890). KSR, ERS ve ERL'nin FT-IR spektrumunda (Bkz. Şekil 5.54., Şekil 5.55. ve Şekil 5.56.) etkin maddeye ait yeni pik oluşumu gözlenmemiştir. Bu durum polimer ile etkin maddenin kimyasal olarak etkileşmediği şeklinde değerlendirilmiştir (Pagar ve Vavia, 2013, s. 877-878). Etkin maddeli tüm PNP'lerde DT'e ait karakteristik piklerin yok olduğu ve kristalliğin azaldığı gözlenmiştir. Bu durumda DT'nin polimerik yapıda moleküler olarak dağıldığı ve polimerik parçacıklara yüklendiği düşünülmüştür. DT'nin termal analizi ve X-ışını analizi ile de bu durum desteklenmiştir (Vino vd., 2014, s. 236; Kırımlıoğlu ve Yazan, 2016a, 153).

Bir başka çalışmada oküler alerji tedavisinde kullanılmak üzere olopatadin hidroklorür yüklü Eudragit® RS 100 nanopartikülleri püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlanmıştır (Güven, 2016, s. 137). Hazırlanan formülasyonların kararlılık çalışmasında 0. ve 3. aydaki FT-IR spektrumlarında olopatadin hidroklorür bantları gözlenmediğinden etkin maddenin polimerde başarıyla enkapsüle edildiği düşünülmüştür.

Yapılan bir diğer çalışmada püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlanan levofloksasin hemiditrat yüklü Eudargit® RL 100 nanopartikülünün FT-IR analizinde levofloksasin hemihidrat'a ait karakteristik bant ve gerilimin etkin maddeli formülasyonlarda gözlenmemiş olması etkin maddenin polimerik yapıda moleküler düzeyde dağıldığını göstermiştir (Kırımlıoğlu ve Yazan, 2016a, s. 153).

Nanopartiküllerin fizikokimyasal özelliği, katı matrise enkapsüle edilen etkin maddenin formülasyon hazırlama aşamasında kullanılan polimer ve yardımcı maddelerle etkileşimi ve moleküler hareketliliği gibi durumlar NMR analizi ile belirlenebilir (Jenning, Mäder ve Gohla, 2000, s. 15-16).

Bu çalışmada yapılan ¹H-NMR analizi DT'nin polimerik yapıdaki değişimi, yüklenme durumu ve polimer ile etkileşiminin olup olmadığını göstermek açısından önemlidir. Çalışmada kullanılan tüm polimerlerin ve etkin maddenin NMR spektrumu literatür ile uygun bulunmuş (Bkz. 6.1. Deksketoprofen Trometamol ve Yardımcı Maddeler ile Yapılan Çalışmalar) ve maddelerin saf olduğuna karar verilmiştir.

KSR, ERS ve ERL'nin etkin maddesiz plasebo formülasyonunun ¹H-NMR spektrumu saf polimerin spektrumu ile benzerlik göstermiş ve DT' e ait spesifik piklere ait 7-8 ppm aralığında pike rastlanmamıştır (Gonzalez, 2013, s. 16). Etkin maddeli hazırlanan formülasyonlarda DT'e ait karakteristik piklerin varlığı gözlenmiştir (Bkz. Şekil 5.56., Şekil 5.57. ve Şekil 5.58.). Formülasyona eklenen DT miktarından etkilenen pik şiddeti yüksek oranda DT içeren KSR-3, ERS-3 ve ERL-3 formülasyonunda daha şiddetli iken, 0.05 g DT bulunan KSR-1, ERS-1 ve ERL-1 formülasyonunda daha düşük şiddettedir. DT'nin moleküler dağılımı ve derişimi ile orantılı olarak karakteristik ppm değerinde pik vermesi sonucu DT'nin polimerik yapıda moleküler olarak dağıldığı düşünülmüştür (Başaran vd. 2014, s. 53). Bu durum aynı zamanda DT'nin nanopartiküllere yüklendiği şeklinde yorumlanmıştır (Kırımlıoğlu ve Yazan, 2016a, s. 153; Kırımlıoğlu ve Yazan, 2016b, 105).

Martín-Banderas vd.'nin (2012, s. 5799-5801) hazırladığı kannabinoid yüklü PLGA nanopartikülünün ¹H-NMR spektrumunda kannabinoid'e ait pikler DCS analizi ile de desteklenerek etkin maddenin başarıyla enkapsüle edildiğine karar verilmiştir.

Başaran vd. (2015, s. 1185) ornidazol'ün oküler biyoyararlanımını arttırmak için püskürterek kurutma yöntemi ile kitosan nanopartikülleri hazırlamıştır. Çalışmada ornidazol ile kitosan arasındaki intramoleküler etkileşimlerin incelendiği ¹H-NMR spektrumunda 1-3 ppm ve 7-8 ppm'de ornidazol'e ait karakteristik pikler ornidazol'ün polimerik yapıda moleküler olarak dağıldığı şeklinde yorumlanmıştır.

Püskürterek kurutma yöntemi ile rosuvastatin kalsiyum yüklü kitosan nanopartiküllerinin hazırlandığı bir çalışmada kitosan ve rosuvastatin arasındaki iyonik etkileşimi incelemek ve nanopartiküllerin fizikokimyasal özelliğini belirlemek için ¹H-NMR analizi gerçekleştirilmiştir (Al-Heibshy, Başaran ve Demirel, 2016, s. 1074). Saf etkin madde ve saf polimerin referans olarak kullanıldığı analizde 3 ppm, 5 ppm ve 7 ppm’de rosuvastatin kalsiyum’a ait karakteristik piklerin gözlenmesi etkin maddenin polimere başarılı bir şekilde enkapsüle edilmesi ve polimer matriste moleküler olarak dağılması olarak rapor edilmiştir.

Ropebrazol sodyum içeren hallosit nanotübünün vakum altında hazırlandığı bir diğer çalışmada intramoleküler etkileşimin belirlenmesi için yapılan ¹H-NMR analizinde saf ropebrazol sodyum ve saf hallosit referans olarak kullanılmıştır (Kırımlıoğlu ve Yazan, 2016b, s.105). Nanotüp formülasyonunda 1-5 ppm ve 7-8 ppm’de ropebrazol sodyum’a ait karakteristik piklerin gözlenmesi ropebrazol sodyum’un nanotübe başarılı şekilde enkapsüle edildiği şeklinde değerlendirilmiştir.

6.5. KLN Formülasyonunun Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Nanoteknoloji esaslı ilaç salım sistemlerinden biri olan KLN sistemi ilaçların vücutta kontrollü salımını sağladığı için son zamanlarda dikkatleri üzerinde toplamıştır (Müller, Mäder ve Gohla, 2000, s. 161). Biyolojik olarak uyumlu olan KLN formülasyonu hapsedilen ilaç etkin maddesinin kimyasal olarak bozunmasını engeller. KLN sisteminin en önemli üstünlüklerinden biri oral olarak uygulanan ilaçların biyoyararlanımını arttırmasıdır (Üner ve Yener, 2007, s. 289).

Biyolojik olarak parçalanabilen veya biyouyumlu katı lipitle birlikte stabilize edici maddenin formülasyona girdiği KLN sisteminin parçacık boyutu üzerine yapılan deneysel bir çalışmada, tipik olarak 50-1000 nm parçacık boyutuna sahip olmasından dolayı farmasötik açıdan dikkatleri üzerine çeken nano sistemler olduğu bildirilmiştir (Vitorinoa vd., 2011, s. 117).

KLN sistemi büyük oranda lenfatik sistemde dolaşması ve kısmen kan dolaşımında kalması nedeniyle hapsettiği ilaç etkin maddesini ilk geçiş etkisinden korur. Bu durumda etkin tedavi daha düşük dozda sağlanır ve düşük doz ile ilişkili yan etki en aza indirilir. KLN formülasyonunun serbest ilaçlara oranla daha az toksik olması sistemi daha üstün kılar (Sutaria vd., 2012, s. 2261).

KLN üretiminde en sık kullanılan yöntemler yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi, mikroemülsiyon yöntemi, soğuk homojenizasyon yöntemi, sıcak homojenizasyon yöntemi, çözücü emülsifikasyon ve difüzyon yöntemi, yüksek hızla karıştırma ve ultrasonikasyon yöntemidir (Dandagi vd., 2014, s. 73).

Bu çalışmada DT yüklü KLN formülasyonunun hazırlanması için prob ultrasonikasyon yöntemi kullanılmıştır. Prob sonikasyon yöntemi diğer ultrasonikasyon yöntemleri ile karşılaştırıldığında, formülasyon hazırlama sürecinde aynı koşulların rahatlıkla sağlanabilmesi ve tekraredilebilirlik oranının daha yüksek olması ile öne çıkmaktadır. Düşük örnek hacminde çalışmaya olanak veren prob sonikasyon yönteminde uygulanan % güç miktarı değiştirilerek parçacık boyut ve dağılımının araştırmacı tarafından kolaylıkla kontrol edilmesi oldukça önemli üstünlüklerden biridir. Prob ultrasonikasyon yönteminde en önemli parametrelerden biri kullanılan probun dayanıklı olması ve dolayısıyla ortama metal parçacık vermemesidir. Bu çalışmada yüksek ultrasonik güç ve aşınmaya karşı dayanıklı ve oksidasyona karşı doğal yapısı sayesinde korunan 2 mm çapa sahip Titanium alloy Ti-6Al-4V probu kullanılmıştır (Sonics®, 2015, s. 11).

Bhalekar vd. (2015, s. 63) romatoit artrit tedavisinde kullanılmak üzere suda yüksek çözünürlüğe sahip klorokin fosfat tuzu kullanarak ultrasonikasyon tekniği ile KLN hazırlamıştır. Bu çalışmada Compritol® ATO 888 kullanarak hazırlanan KLN ile 113.74 nm gibi çok düşük parçacık boyutuna ulaşılmış ve yüksek yükleme elde edilmiştir. Hazırlanan KLN ile tedavi edilen artritlik sıçanların histopatolojik ve radyografik incelemeleri sonucu kemik ve kıkırdak bozulmasının en aza indirildiği gösterilmiştir.

Epidermal büyüme faktörü (*Epidermal Growth Factor- EGF*) gibi birçok büyüme faktörünün yara tedavisinde kullanımı birçok çalışmaya konu olmuştur. Bununla birlikte EGF'nin yüksek molekül ağırlığı, hidrofilik özelliği ve ayrıca kısa yarı ömre sahip olması kullanımını sınırlandırmaktadır. Gainzaa ve arkadaşları tarafından % 1 Tween® 80 içeren sulu faz ve EGF içeren Precirol® ATO 5 kullanılarak, emülsifikasyon ardından sonikasyon yöntemi ile EGF yüklü KLN formülasyonu hazırlanmış ve dondurularak kurutulmuştur. Yapılan *in vitro* salım ve penetrasyon çalışmalarının ardından EGF'nin KLN içine başarılı şekilde yüklendiği ve hasarlı deride yüksek tedavi verileri elde edildiği gösterilmiştir (Gainzaa vd., 2015, s. 409).

Parçacık boyutu ve dağılımı kolloidal taşıyıcı sistemlerin en önemli fizikokimyasal özelliğidir (Numanoğlu ve Tarımcı, 2006, s 218). Parçacık boyutu, vücuttaki dağılımı,

biyolojik membranlardan geçişi, yarılanma ömrü, ilaç yükleme kapasitesi ve ilaç salım profili gibi birçok parametreyi etkiler (Bilensoy, 2014, s.31).

KLN hazırlama yönteminin parametreleri parçacık boyutunu ve dağılımını etkileyen başlıca etmenlerdendir. Basıncın, devir sayısının ve ultrasonikasyon gücünün artırılması ile parçacık boyutunda azalma olduğu belirlenmiştir (Franco, Pérez-Maqueda ve Pérez-Rodríguez, 2004, s. 107; Dhankar, 2014, s. 5; Tırnaksız, 2014, s.104). Formülasyon hazırlamada kullanılan yüzey etkin madde tipi ve miktarı da parçacık boyutunu etkiler. Yüzey etkin madde miktarını belirli orana kadar arttırmak ortalama parçacık boyutunu azaltır. Kullanılan yüzey etkin madde ve yardımcı yüzey etkin madde damlacıkların yüzeyini kaplayarak damlacık kümeleşmesini ve uzun dönemde de parçacık kümeleşmesini önleyecek mekanik veya elektriksel engel oluşturur. Damlacıkların kararlılığı yeterince sağlanabilirse liyofilizasyon işleminden sonra elde edilen parçacıkların boyutu nanometrik aralıkta olur (Demirel ve Yazan, 2000, s. 169).

KLN sisteminde uygun yükleme kapasitesi elde etmek için ön koşul erimiş lipit içinde etkin maddenin yeterince yüksek çözünürlüğe sahip olmasıdır; bunun nedeni erimiş lipit soğutulurken çözünürlüğün düşmesidir. Etkin madde-lipit oranına ve çözünürlüğe bağlı olarak etkin madde parçacıkların çekirdeğinde veya kabuğunda lokalize olabilir ya da matris yapı içinde moleküler olarak disperse olabilir. Bu durum etkin madde salımını doğrudan etkiler (Müller, Mäder ve Gohla, 2000, s. 164; Wissing, Kayser ve Müller, 2004, s.1259-1260). Bu çalışmada ön formülasyon çalışmasına geçilmeden önce DT'nin Compritol® 888 ATO, Dynasan® 114 ve stearik asit içindeki karışımları hazırlanmış ve DT, Compritol® 888 ATO ve Dynasan® 114 içinde çözünmüş stearik asit içinde ise süspande halde kalmıştır (Bkz. Şekil 5.63.). Benzer alışma literatürde bulunmaktadır (Shah vd., 2007, s. 164).

Tüberküloz tedavisinde kullanılan izoniazit suda yüksek çözünürlüğü olan hidrofilik ilaç etkin maddesidir. Tristearin'in katı lipit olarak kullanıldığı bir çalışmada üç farklı sonikasyon süresi (6, 12 ve 15 dakika) ve üç farklı Tween® 80 oranı ile izoniazit yüklü KLN formülasyonu hazırlanmıştır (Nair vd., 2011, s. 1264). Tween® 80 oranı ve sonikasyon süresinin en yüksek olduğu KLN formülasyonunda düşük parçacık boyutu 164.8 nm ve yüksek yükleme kapasitesi % 30.1 elde edilmiştir. Hidrofilik özellikteki izoniazit bu çalışmada katı lipite başarıyla yüklenmiştir.

Bu alışmada Compritol® 888 ATO katı lipiti kullanılarak prob ultrasonikasyon yöntemi ile hazırlanan KLN'lerde etkin maddesiz formülasyonun parçacık boyutu

ortalama 92.361 ± 0.672 nm (Ort $\pm$ SH) iken DT içeren formülasyonda 100.410 ± 1.820 nm (Ort $\pm$ SH) değere yükseldiği saptanmıştır (Bkz. Çizelge 5.12.).

Dynasan® 114 ile hazırlanan KLN'lerde ise etkin maddesiz formülasyonda parçacık boyutunun ortalama 136.030 ± 1.525 nm (Ort $\pm$ SH) ve benzer şekilde DT içeren formülasyonda da 137.605 ± 1.250 nm (Ort $\pm$ SH) olduğu belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 5.12.).

Polidisperslik indisi (PDI) parçacık boyut dağılımını tanımlamak için kullanılan parametredir. PDI değeri tek fazlı sistemler için 0.01 civarından 0.5-0.7 değerine kadar çıkabilir. 0.7 değerinden daha yüksek değerler çok geniş parçacık boyut dağılımının göstergesidir (Lopedota vd., 2009, s. 503). Bu çalışmada hazırlanan KLN formülasyonunun tümünde PDI değeri 0.7'den daha küçük olarak 0.213-0.345 aralığında bulunmuş ve parçacık boyut dağılımının tekdüze olduğu gösterilmiştir (Bkz. Çizelge 5.12.). Ayrıca bu durum parçacık boyutu analizi yapılan cihazdan alınan parçacık boyut dağılım grafikleri ile de desteklenmiştir (Bkz. Şekil 5.64., Şekil 5.65., Şekil 5.66. ve Şekil 5.67.).

Zeta potansiyel kolloidal sistemlerin fiziksel kararlılığı ve biyolojik membranlar ile etkileşiminin değerlendirilmesinde oldukça önemlidir (Bilensoy, 2014, s. 31). Kolloidal parçacıklar dispersiyon ortamından iyon adsorbe ederek pozitif ya da negatif olarak yüklenir. Zeta potansiyel değeri parçacığın üzerindeki net etkili yükü gösterir (Çelebi, 2004, s. 250-253). Yüksek zeta potansiyel değeri (+/- 30 mV) kolloidal dispersiyonun kararlı olduğunu gösterir (Nagarwal vd., 2009, s. 6). Parçacık yüzeyindeki elektriksel yük değişimi zeta potansiyel ölçümü ile belirlenir. Genel olarak yüksek zeta potansiyeline sahip parçacıklarda elektriksel itme nedeniyle parçacık kümeleşmesinin oluşma olasılığı daha düşüktür (Numanoğlu ve Tarımcı, 2006, s.219).

Bu çalışmada Compritol® 888 ATO katı lipiti kullanılan etkin maddesiz KLN formülasyonunda zeta potansiyel değeri -8.72 ± 1.51 mV (Ort $\pm$ SH) iken DT içeren formülasyonda bu değer -11.60 ± 0.15 mV'ye (Ort $\pm$ SH) yükselmiştir (Bkz. Çizelge 5.13.).

Dynasan® 114 ile hazırlanan etkin maddesiz KLN formülasyonunda -11.60 ± 0.15 mV (Ort $\pm$ SH) olan zeta potansiyel değerinin DT içeren formülasyonda -13.55 ± 0.70 mV'ye (Ort $\pm$ SH) yükseldiği saptanmıştır (Bkz. Çizelge 5.13.). Hazırlanan tüm KLN formülasyonların tekdüze zeta potansiyel dağılımı gösterdiği cihazdan otomatik alınan raporlar ile kanıtlanmıştır (Bkz. Şekil 5.68., Şekil 5.69., Şekil 5.70. ve Şekil 5.71.).

KLN formülasyonunun parçacık şekli bazı lipitlerin kristalize olma eğilimi nedeniyle küresel şekilden uzak plaka ya da platelet şeklinde olabilir (Mehnert W ve Mäder, 2001, s. 184). Bu çalışmada Compritol® 888 ATO ve Dynasan® 114 ile hazırlanan KLN formülasyonunun taramalı elektron mikroskobu görüntüsünde karakteristik plaka şekilleri elde edilmiştir (Bkz. Şekil 5.72 ve Şekil 5.73.). Etkin madde içeren formülasyonlarda DT'e ait spesifik kristal yapının gözlenmemesi DT'nin katı lipite başarılı olarak yüklendiğini göstermiştir.

KLN formülasyonunda lipit yapıların değişmediği termal, X-ışını kırınım, FT-IR ve NMR analizi ile gösterilmiştir.

Lipit kristalizasyonu ve dolayısıyla formülasyonun erime derecesi KLN sisteminin etkinliği açısından önemlidir. Katı lipitin eritilmesi ve ardından oda sıcaklığında soğutulması ile içine etkin maddesi yüklenen lipitin tekrar katılaşılarak hazırlandığı KLN sisteminde yapılan bu işlemler sırasında ve ortamda bulunan etkin madde, yüzey etkin madde, yardımcı yüzey etkin madde veya diğer yardımcı maddelerden dolayı katı lipitin fiziksel özelliklerinde değişim ortaya çıkabilir. Lipit yapıda oluşabilecek değişim yüklenen etkin madde oranını ve salım hızını doğrudan etkiler (Mehnert ve Mäder, 2001 s. 181; Büyükköroğlu, 2005, s.13).

Hazırlanan KLN sisteminin erime derecesi kullanılan saf lipitin erime derecesinden daha düşük olabilir. Bu değişiklikler DSC ve XRD analizleri ile kolaylıkla saptanabilmektedir (Büyükköroğlu, 2005, s.13; Venkateswarlu ve Manjunath, 2004, s. 634).

Parçacıkların ufak boyutu ve yüzey etkin madde varlığından dolayı lipit kristalizasyonu ve modifikasyonu gözlenebilir (Gökçe, 2007, s. 152). Bu çalışmada KLN formülasyonunun kristalizasyonunu incelemek üzere gerçekleştirilen DSC analizi sonucunda elde edilen termogramda lipite ait yeni bir pikin çıkmamış olması Compritol® 888 ATO ve Dynasan® 114'ün DT ile etkileşme girmediğini veya geçimsizlik olmadığını göstermiştir (Bkz. Şekil 5.74. ve Şekil 5.75.).

Yapılan termal analizde yeni pik oluşumu veya var olan pikin yok olmasının etkileşme/geçimsizliği gösterdiği bildirilmiştir (Gökçe, 2007, s. 152). Prob sonikasyon yöntemi ile 5-florourasil yüklü Dynasan® 114 ve Dynasan® 116 KLN formülasyonunun hazırlandığı çalışmada DSC ile belirlenen formülasyonun termogramında etkin maddeye ait pik gözlenmemiş ve tek gözlenen pikin Dynasan® 114 ve Dynasan® 116'ya ait olduğu rapor edilmiştir. Tüm termogramlarda Dynasan® 114 ve Dynasan® 116'ya ait piklerin katı kristal yapıdan kaynaklandığı ve DSC analizini desteklemek için yapılan FT-IR analizi ile

etkin maddenin lipit sisteme amorf şeklinde enkapsüle edildiği düşünülmüştür (Yassin vd., 2010 s. 402-403).

Souto, Mehnert ve Müller (2006, s. 420) yüksek hızlı karıştırma yöntemi ile katı lipit olarak Compritol® ATO 888 kullanarak hazırladıkları α - tokoferol yüklü KLN ve nanoyapılı lipit taşıyıcı (*nanostuctured lipid carriers*- NLT) sistem geliştirdikleri çalışmada, etkin madde, lipit ve hazırladıkları KLN ve NLT sisteminin DSC ile termal analizini gerçekleştirmiştir. Hazırlanan KLN ve NLT sisteminde etkin maddeye ait erime pikinin görülmemesi etkin maddenin lipit ile kaplandığı ve lipitin kimyasal yapısı içindeki boşluklarda dağılarak matris sistem oluşturulduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Bu çalışmada hazırlanan KLN formülasyonunun erime derecesinin saf katı lipite oranla çok az düştüğü gözlenmiştir (Bkz. Şekil 5.74. ve Şekil 5.75.). Bu durumun KLN hazırlama sırasında kullanılan prob ultrasonikasyon yöntemi ile ufak parçacık boyutu elde edilmesi, ortamda düşük oranda yüzey etkin madde bulunması ve parçacık boyutuna bağlı olarak artan yüzey alanından kaynaklandığı düşünülmüştür (Venkateswarlu ve Manjunath, 2004, s. 634).

Büyükköroğlu, Yazan ve Öner'in (2015, s.1015-1017) Dynasan® 116, Gelucire® 33/01 ve Compritol® 888 ATO katı lipitleri ve katyonik ajan olarak DOTAP® (N-(1-(2,3-dioleoksil)propil)-N,N,N-trimetilamonyum) kullanarak yüksek hızlı karıştırma tekniği ile gen terapisi için hazırladığı KLN formülasyonunun termogramında DOTAP®'a ait piklerin gözlenmemesinin DOTAP®'ın amorf kimyasal yapısından kaynaklandığı belirtilmiştir. Aynı sonuç X-ışını kırınım profilinde DOTAP®'a ait piklerin gözlenmemesi ile desteklenmiştir. KLN formülasyonunda erime derecesinin katı lipitlerin erime derecesine göre az miktarda düşmesi oluşturulan kristallerin ufak parçacık boyutuna bağlanmıştır.

Hazırlanan KLN formülasyonunun ve katı lipitlerin X-ışını kırınım profili karşılaştırılarak lipit yapısındaki olası değişiklikler açıklığa kavuşturulabilir. KLN hazırlama koşullarında ortaya çıkan değişim maddenin iç yapısı incelenerek açıklanabilir; inceleme için sıklıkla kullanılan yöntem X-ışını kırınım analizidir. X-ışını kırınım tekniği ile analiz yapıldığında maddenin fiziksel durumu hakkında ayrıntılı bilgiye ulaşılabilir. Kristalin yapıya sahip tüm maddelerin (saf halde veya fiziksel karışım) her birisi kendine ait kırınım modeli oluşturur ve X-ışını kırınım analizi bu gerçeğe dayanır (Kaş, 2002, s. 78; Büyükköroğlu, 2005, s. 107).

Bu çalışmada lipit tipi ve DT'nin KLN formülasyonunun fiziksel durumuna etkisi ve karşılaştırma yapabilmek amacıyla öncelikle kullanılan lipitlerin (Compritol® 888 ATO ve Dynasan® 114) ve DT'nin, ardından hazırlama yöntemi ile oluşabilecek değişiklikleri

incelemek amacıyla Compritol® 888 ATO ve Dynasan® 114 ile hazırlanan etkin maddesiz ve etkin maddeli formülasyonun X-ışını kırınım analizi yapıldığında tüm saf maddelerin kristal yapıda olduğu saptanmıştır (Bkz. Şekil 5.76. ve Şekil 5.77.). Referans ve deneysel piklerin her biri bir düzlem ailesini temsil ettiğinden karşılaştırma yapılan malzemenin pikleri hazırlanan formülasyona ait piklerle karşılaştırılarak karşılaştırılabilir (Büyükköroğlu, Yazan ve Öner, 2015 s. 1018-1019). Bu bilgiye dayanarak yapılan incelemede, Compritol® 888 ATO ve Dynasan® 114'ün saf hallerinde gözlemlenen kristal yapının formülasyon hazırlama koşulunda bozulmadığı ancak kırınım düzeninde ve pik şiddetinde azalma olduğu görülmüştür. Bu çalışmada bulunun sonuç ile örtüşen bulgular literatürde bulunmaktadır (Jenning ve Gohla, 2000, s. 221-222; Souto vd., 2004, s. 88). KLN formülasyonunun X-ışını kırınım profilinde saf lipitler ile benzer 2 Θ açılarında piklerinin çakışması kullanılan lipitlerin yapısında formülasyon hazırlama koşulundan kaynaklanan değişim olmadığını göstermiştir. Oysa DT'e ait spesifik pikler KLN formülasyonunun X-ışını kırınım profilinde gözlenmemiştir. Bunun nedeninin etkin maddeli formülasyonda DT'nin düşük derişimde bulunmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

DT'nin KLN formülasyonu içindeki kararlılığını incelemek için yalnızca termal ve X-ışını analizi yeterli bulunmadığından FT-IR ve NMR analizi de gerçekleştirilmiştir (Bunjes ve Unruh, 2007, s. 399; Attama, Reichl ve Müller-Goymann, 2008, s. 311; Başaran vd., 2010, s.42).

FT-IR analizi lipit yapıdaki olası mikro-yapısal değişimi incelemek ve kristal yapının korunduğunu kanıtlamak için yapılır. Bu çalışmada kullanılan tüm lipitlerin ve etkin maddenin FT-IR spektrumu literatür ile uyumlu bulunmuş (Bkz. 6.1. Deksketoprofen Trometamol ve Yardımcı Maddeler ile Yapılan Çalışmalar) ve maddelerin saf olduğuna karar verilmiştir. Etkin maddesiz COMP ve DYN formülasyonun FT-IR spektrumunun saf katı lipitin spektrumu ile aynı olması üretim parametresi olan % 60 güçteki prob sonikasyonun 5 dakika uygulanmasının formülasyonu etkilemediği ve katı lipit yapısını değiştirmedeği olarak değerlendirilmiştir (Yenilmez, Başaran ve Yazan, 2011, s. 890).

COMP-DT'nin FT-IR spektrumu etkin maddesiz COMP-Plasebo ve Compritol® 888 ATO'ya ait FT-IR spektrumu ile benzer bulunmuştur (Bkz. Şekil 5.78.). Aynı durum DYN-DT formülasyonu için de geçerlidir (Bkz. Şekil 5.79.). Fiziksel karışımda ise karakteristik DT pikleri az yoğun olarak görülmüştür. Saf katı lipit ile karşılaştırıldığında COMP-DT ve DYN-DT'nin bazı bölgelerinde yoğunluğun düşük olması yeni kristal lipit kafesin oluştuğu şeklinde yorumlanmıştır (Başaran, 2010, s. 43). Fonksiyonel gruplarda hafif kayma ve gerilim piklerinin tepe noktasının bazı yerlerde yoğunluğunun azalması

DT ve katı lipit arasında hidrojen (H) bağının varlığını kanıtlamıştır. FT-IR spektrumu ışığında lipit yapıda herhangi bir değişikliğin olmadığı ve DT'nin katı lipit ile enkapsüle edildiği sonucuna varılmıştır.

Yöntem olarak çözücü enjeksiyon ve ultrasonikasyonun kullanıldığı bir çalışmada karbamazepin yüklü tristearin KLN formülasyonunun FT-IR spektrumunda karbamazepine ait piklerin yok olduğu ancak karbamazepin-tristearin fiziksel karışımında karbamazepin piklerinin az yoğun olarak gözlenmesi, etkin maddenin herhangi bir kimyasal etkileşime girmeden KLN formülasyonuna enkapsüle edildiği şeklinde yorumlanmıştır (Nair vd., 2012, s. 2 ve 6).

Yine bir başka çalışmada etkin maddenin katı lipite başarıyla yüklendiği KLN formülasyonunun FT-IR spektrumunda etkin madde pikleri gözlenmemiştir; bu durum ortamdaki etkin madde derişiminin düşük olması ve katı lipitin yüksek oranda bulunmasına bağlanmıştır (Yassin vd., 2010 s. 403).

¹H-NMR analizi nano lipit taşıyıcıların yapısı ve kompozisyonunun değerlendirilmesi için oldukça etkili analiz yöntemidir. Etkin maddenin katı matriste bulunduğu birçok ilaç taşıyıcı sistemde olduğu gibi KLN sisteminde de etkin madde ile diğer maddeler arasındaki moleküler etkileşim ve moleküler hareketlilik NMR analizi ile tanımlanabilir (Jenning, Mader ve Gohla, 2000, s. 16).

Bu çalışmada ¹H-NMR sinyallerinin engellenmemesi amacıyla KLN formülasyonu liyofilize edilip formülasyondaki suyun ortamdan uzaklaştırılmasının ardından analiz edilmiştir. Analiz sonuçları değerlendirildiğinde etkin maddesiz formülasyon ile saf lipit spektrumları arasında önemli farklılık olmadığı görülmüştür. Spektrumlar diğer madde veya hazırlama koşullarının etkisi ile yapısal herhangi bir değişikliğin olmadığını açıkça göstermiştir. COMP-DT ve DYN-DT kodlu formülasyonda düşük derişimde DT bulunması ile orantılı olarak DT'e ait 7-8 ppm'deki karakteristik pikler düşük şiddette gözlenmiştir (Bkz. Şekil 5.80. ve Şekil 5.81.). Bu durum DT'nin katı lipit ile enkapsüle edildiğini düşündürmüştür.

Yenilmez (2007, s. 85) katı lipit olarak Compritol® 888 ATO kullanarak hazırladığı E vitamini yüklü KLN formülasyonunun ¹H-NMR analizi sonucunda etkin maddesiz ve etkin maddeli formülasyonun sinyallerinin farklı olmasını ve etkin maddeli formülasyonda E vitamini'ne ait karakteristik piklerin gözlenmesini E vitamininin KLN'ye başarılı olarak yüklendiği şeklinde yorumlamıştır.

Zimmermann, Souto ve Müller (2005, s. 511-512) yaptıkları çalışmada makrolit türevi olan immünbaskılayıcı özellikteki RMEZ98 yüklü gliserol monostearat KLN formülasyonuna düşük oranda RMEZ98 eklediklerinde NMR spektrumunda özgün pik görülmemiştir. ¹H-NMR analizinin enkapsülasyonla bağlantılı olduğunu düşünen araştırmacılar pik gözlenmemesinin nedenini formülasyona düşük derişimde giren RMEZ98'e bağlamış ancak çalışmayı termal analiz ile destekleyerek başarılı enkapsülasyon gerçekleştirdiklerini bildirmiştir.

6.6. PNP ve KLN formülasyonunda etkin madde miktar tayini

Nanopartikül 1000 µm'den daha ufak boyutlu, doğal/sentetik polimer ve lipit gibi maddelerden oluşan parçacıktır. İlaç etkin maddesi matrisin içinde veya yüzeyine tutunmuş olarak bulunabilir (Sahoo, Dilnawaz ve Krishnakumar, 2008, s. 147; Bucolo, Drago ve Salmone, 2012, s. 191). Bu nedenle PNP ve KLN sistemindeki etkin madde miktarı analizinde hem enkapsüle edilen miktar hem de polimer ve katı lipit yüzeyine tutunan miktar belirlenmelidir. Yöntemler, 4.4.5.8., *Formülasyonda etkin madde miktar tayini* ve 4.6.4.8. *Formülasyonda etkin madde miktar tayini* kısmında belirtildiği şekilde gerçekleştirilen yükleme etkinliği çalışmasında hazırlanan PNP formülasyonlarından KSR-3, ERS-2 ve ERL-3'ün ve KLN formülasyonlarından DYN-DT'nin yükleme kapasitesinin diğer formülasyonlara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (Bkz. Çizelge 5.8. ve Çizelge 5.14.).

KSR-1, KSR-2 ve KSR-3'ün yükleme etkinliği, sırasıyla, % 46.995±2.483 (Ort±SH), % 40.674±3.038 (Ort±SH) ve % 48.477±2.278 (Ort±SH) olarak bulunmuştur. ERS-1 ve ERS-2'nin yükleme etkinliği sırasıyla % 43.742±3.642 (Ort±SH) ve % 43.887±2.605 (Ort±SH) iken, 0.15 g etkin madde bulunan ERS-3'de % 39.093±3.746 (Ort±SH) olduğu belirlenmiştir. ERS'de etkin madde miktarı arttıkça polimere enkapsüle edilen DT miktarının azaldığı görülmüştür. ERL-1, ERL-2 ve ERL-3'de sırasıyla % 37.079±1.340 (Ort±SH), % 38.873±1.027 (Ort±SH) ve % 35.177±0.458 (Ort±SH) olan yükleme etkinliğinin aynı oranda DT içeren COMP-DT ve DYN-DT'de sırasıyla % 8.802±1.747 ve % 11.612±0,204 (Ort±SH) olduğu saptanmıştır.

DT'nin süzgece olası adsorpsiyonu için gerçekleştirilen test sonucunda 0.05 µg.mL⁻¹ derişim için % 99.5±0.3 (Ort±SH), 0.10 µg.mL⁻¹ derişim için % 99.2±0.4 (Ort±SH) ve 0.15 µg.mL⁻¹ derişim için % 99.1±0.6 (Ort±SH) yüzde geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Yüksek % geri kazanım değerleri nedeni ile miktar tayini analizinde poliamit süzgeç kullanımının uygun olduğuna karar verilmiştir

6.7. PNP ve KLN formülasyonu, DT ve Rastel® Tablet ile yapılan *in vitro* salım çalışması

Oral kontrollü salım sistemlerinden etkin madde salımı kullanım amacına yönelik olarak farklı şekillerde tasarlanabilir. Kontrollü salım sisteminde genellikle hemen salınan ve kandaki ilaç düzeyini kısa sürede istenen terapötik düzeye ulaştıracak başlangıç dozu ve ardından sürdürme dozu adı verilen kontrollü olarak salınan ilaç etkin maddesi ile istenilen düzeyi koruyan doz bulunur. Geleneksel ilaç taşıyıcı sistemlerde tek doz ilaç alındığında kan düzeyi kısa sürede yükselir ancak emilim sona erdikten sonra kısa denebilecek sürede düşer. Bu durum özellikle yarılanma ömrü kısa olan ilaçlarda sık ilaç alımını gerektirir ve kan düzeyinin dalgalanmasına neden olur. Kontrollü salım sisteminin başlıca amacı bu sakıncaları önlemek ve dolayısıyla farmakolojik etki azalması olasılığını ortadan kaldırmaktır (Dortunç, 2002, s. 151).

DT'nin kısa yarı ömürlü etkin madde olması ve piyasada bulunan geleneksel tablet formülasyonundan hızla salınması hastanın günde en az üç kez ilacı kullanmasını gerektirmektedir. Bu çalışmada PNP ve KLN hazırlanmasındaki amaç parçacık dışında kalan DT miktarı ile başlangıç dozunu ve parçacıklara yüklenen DT ile de sürdürme dozunu sağlamaktır. *In vitro* salım çalışmalarında bu amaca yönelik test gerçekleştirilmiştir.

Nanotaşıyıcılar ile GİS ortamı arasındaki olası etkileşimin öngörülebilmesi açısından *in vitro* teknikler oldukça yararlıdır. Uygulanan teknikler arasında yapay mide-barsak sıvısı ve membran kullanılması sayılabilir. Yapay GİS sıvılarının kullanıldığı model nanotaşıyıcıların GİS sıvısında davranışını, membran model ise nanotaşıyıcıların barsak epitelinden taşınmasını aydınlatır (Acartürk, 2014, s. 231).

Bu çalışmada hazırlanan tüm formülasyonlar için zaman karşı kümülatif çözünen etkin madde miktarı Çizelge 5.9., Çizelge 5.10., Çizelge 5.11. ve Çizelge 5.15'te sunulmuştur. Toz DT'nin salımı ilk iki saat içinde % 92.217±0.682 (Ort±SH) orana ulaşırken, DT içeren ticari Rastel® tabletin salımı 2 saat sonunda %103.342±1.116'ya (Ort±SH) yükselmiştir.

Hazırlanan PNP ve KLN formülasyonlarından *in vitro* salımın suda ve yağda çözünen DT'e ve ticari RASTEL® tablete oranla daha uzun sürede gerçekleştiği Şekil 5.84.'te açıkça görülmektedir.

Parçacık yüzeyinde tutunan etkin maddenin salım ortamında hızla çözünmesinden dolayı ani derişim artışı gözlenmiş, daha sonra parçacıkların içinde hapsolan etkin

maddenin 48 saat boyunca sürekli salım gösterdiği saptanmıştır. *In vitro* salım çalışmasının 48 saat süre sonunda durdurulmasının nedeni DT'nin uygulandıktan yaklaşık 30 dakika sonra C_{maks} değerine ulaşması, dağılım yarı ömrü ve eliminasyon yarı ömrünün sırasıyla 0.35 ve 1.65 saat olmasıdır. Ayrıca etkin maddelerin vücut içerisinde 48 saatten daha uzun süre tutulması ilk geçiş etkisi ve entero-hepatik döngü gibi fizyolojik nedenlerle güçtür.

DT içeren PNP'ler arasındaki KSR-2, ERS-3 ve ERL-3'ün 48 saat sonunda daha fazla miktarda DT salımını sağladığı görülmektedir. KSR-2, ERS-3 ve ERL-3'den salınan DT oranının, sırasıyla, % 50.714 ± 1.053 (Ort $\pm$ SH), % 54.407 ± 2.466 (Ort $\pm$ SH) ve % 51.870 ± 1.505 (Ort $\pm$ SH) olduğu bulunmuştur. Benzer sonuç gösteren COMP-DT'den 48 saat sonunda salınan DT oranı % 67.742 ± 0.128 (Ort $\pm$ SH) olmuştur. Oral olarak kullanılan nanosistemlerde etkin maddenin düzgün ve yüksek oranda salınması önemli olduğundan, PNP ve KLN sistemleri kendi içinde değerlendirildiğinde KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT'nin amaçlanan etkinliği sağlayabileceği düşünülmüştür.

Çift emülsiyon-çözücü uçurma tekniği ile vankomisin yüklü Eudragit® RS 100 PNP sisteminin hazırlandığı çalışmada, hazırlanan formülasyonun ve etkin madde-polimer fiziksel karışımının 24 saatlik *in vitro* salım çalışması $37 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklıktaki PBS (pH 7.4) ortamında, 100 rpm karıştırma hızı ile diyaliz membranı yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Loveymi vd, 2012, s. 49-51). Çok hızlı salım gösteren fiziksel karışımda 60 dakika içinde %100 derişim oranına ulaşılmıştır. Hazırlanan nanopartiküller ise % 100'e ulaşmamış ancak 24 saat boyunca sürekli salım göstermiştir. Bu durum Eudragit® RS 100 ile hazırlanan matris sistemin vankomis'in sürekli ve kontrollü salımını sağladığı şeklinde değerlendirilmiştir.

Saf tamoksifen sitrat ve tamoksifen sitrat yüklü Kollidon® SR nanopartikülünün *in vitro* salım performansının değerlendirildiği bir çalışmada, sert jelatin kapsüle doldurulan 15.2 mg tamoksifen sitrat ve 15.2 mg tamoksifen sitrat içeren nanopartikül için USP Apparatus 1 ile $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 'deki hidroklorik asit (pH 1.2) salım ortamı ve 100 rpm karıştırma hızı kullanılmıştır (Kapse vd., 2012, s.109-111). Saf etkin madde salımı ilk 60 dakikada % 100 derişim oranına ulaşırken bu sürede nanopartikül formülasyonundan salınan tamoksifen sitrat oranı % 100'e ulaşmamıştır. Bu durum kontrollü ve uzun süreli nano-salım sistemi geliştirildiği şeklinde yorumlanmıştır.

Ultrasonikasyon yöntemi ile stearik asit, gliseril monostearat ve Compritol® 888 ATO katı lipidleri kullanılarak hazırlanan montelukast sodyum yüklü KLN sisteminden diyaliz membranı yöntemi ile *in vitro* salım çalışması % 0.5 sodyum lauril sülfat içeren

distile su ortamında 100 rpm karıştırma hızı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Priyanka ve Sathali, 2012, s. 131 ve 133). Montelukast sodyumun saf çözeltisi 4 saatte % 100 derişim oranına ulaşırken, üç farklı katı lipit kullanılarak hazırlanan KLN sisteminin birbirine benzer profilinde ilk 30 dakikada ani salım ve ardından 12 saate kadar % 59'a varan oranda salım elde edilmiştir. Ani salımın parçacık içine hapsedilemeyen etkin maddeden ileri geldiği ifade edilmiştir. Etkin maddenin ilk 30 dakikadan sonraki aşamada yavaş salımı çözünmüş veya dağılmış etkin maddenin çözünme ve difüzyon yoluyla lipit matristen yavaş yavaş serbest bırakıldığını düşündürmüştür. Elde edilen sonuçlar tüm lipitler için değerlendirildiğinde uzun karbon zincirine sahip olan Compritol® 888 ATO'nun diğer lipitlere göre sürekli salım için daha uygun olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada hazırlanan tüm PNP ve KLN formülasyonları üzerinde gerçekleştirilen parçacık büyüklüğü, zeta potansiyel, taramalı elektron mikroskobu, termal, X-ışını kırınım, FT-IR, NMR, etkin madde miktar tayini ve oral sistemler için önemli olan *in vitro* salım sonuçları değerlendirilerek PNP'lerden KSR-2, ERS-3 ve KLN'lerden COMP-DT optimum formülasyon seçilerek kararlılık, sitotoksosite ve *in vivo* çalışmalarda kullanılmalarına karar verilmiştir.

6.8. *In Vitro* Salım Kinetiği Çalışması

In vitro salım çalışması ilaç taşıyıcı sistemlerin formülasyonu ve kalite kontrolünde önemli rol oynar. *In vitro* salım test sonuçları ilaçların yalnızca kararlılığını izlemek için değil, aynı zamanda ilaçların *in vivo* emilimini öngörmek için de kullanılır. Pahalı olan *in vivo* emilim çalışmalarına göre çok daha ucuz ve hızlı bir yöntemdir. Bu nedenle *in vitro* salım çalışması farmasötik alanda yapılan çalışmalarda sıklıkla kullanılan ve büyük ilgi gören çalışma tekniğidir (Zhang vd., 2010, s. 263).

Kullanılan geleneksel dozaj şekillerinin yerine kontrollü salım şekillerinin tasarlanması ve kullanımında son yıllarda büyük ilerleme kaydedilmiştir. Piyasada birçok ilaç etkin maddesinin kontrollü salım yapan dozaj şekli bulunmaktadır. Geliştirilen ilaçların çoğu sıfır derece veya birinci derece ya da hızlı bir salımın ardından sıfır derece veya birinci derece kinetikte salım göstermektedir (Dash vd., 2010, s. 217).

İlaç salım verileri oluşturulan birçok matematiksel model ve istatistiksel parametre kullanılarak değerlendirilmektedir. Bu modellerin çoğu doğrusal olmayan eşitlik içerir. Matematiksel modelleri kullanan programın yokluğu, profil karşılaştırmanın güçlüğü ve kullanıcı hatasından kaynaklı birçok deneysel hata ve bilgi bulunmaktadır. Bu sorunun

üstesinden gelmek için araştırmacılar salım verilerinin değerlendirilmesinde kırk farklı dissolüsyon parametresini değerlendirebilen DDSolver bilgisayar programını geliştirmiştir (Zhang vd., 2010, s. 264; Zuo vd., 2014, s. 2). Bu çalışmada da hesaplama zamanını kısaltmak, hesaplama hatalarını elimine etmek ve doğru salım profilini belirlemek için DDSolver bilgisayar programı kullanılmıştır.

In vitro salım deneyinin ardından hazırlanan dokuz PNP formülasyonu ve iki KLN formülasyonu için zamana karşı % kümülatif çözünen miktar hesaplandığında tüm formülasyonların 48 saat boyunca sürekli salım yaptığı görülmüştür. Hesaplamadan sonra veriler üç önemli kriteri belirlemek üzere DDSolver programına aktarılmıştır. Bu kriterler hız sabiti (k), Akaike bilgi kriteri (AIC) ve determinasyon katsayısıdır (r^2) ve değerlendirmede en yüksek k ve r^2 değeri ile en düşük AIC değeri baz alınmıştır (Zuo vd., 2014, s. 3). Programda kontrollü salım sağlayan sıfır derece ve birinci derece kinetik, Higuchi, Hopfenberg, Hixon-Crowell ve Korsmeyer-Peppas modelleri seçilmiş ve yapılan değerlendirmenin ardından salım profilinin Higuchi ve Korsmeyer-Peppas modeline uyum gösterdiği belirlenmiştir. Bu iki model değerlendirme kriterlerine göre karşılaştırıldığında Korsmeyer-Peppas modeli en uygun model olarak seçilmiştir. Elde edilen bulgular Çizelge 5.21’de, programdan alınan salım grafikleri ise Şekil 5.115-Şekil 5.122’de sunulmuştur. Korsmeyer-Peppas modeline uygunluk ilgili şekilde açıkça görülmektedir.

Bağımlı değişken ve bağımsız birden fazla değişken olmak üzere değişkenler arasındaki sebep-sonuç ilişkisini matematiksel bir model olarak koyan yönteme çoklu regresyon analizi adı verilir. Çoklu regresyon analizinde r^2 değeri eksi değer alabilmektedir. r^2 değerinin negatif olduğu durumda değer sıfır olarak düşünülmeli ve buna göre yorum yapılmalıdır (Özdamar, 1997, s. 413-414). Çizelge 5.21’de r^2 değerinin negatif olduğu göze çarpmaktadır. Değerin negatif çıkması doğrusal regresyon analizinde mümkün değilken DDSolver programında çoklu doğrusal regresyon analizi yapıldığı için negatif değer alabilmektedir. Literatüre göre çoklu regresyonda r^2 değeri değerlendirildiğinde, en büyük r^2 değeri Korsmeyer-Peppas modelinde gözlenmiştir.

Korsmeyer-Peppas modeli ilaç etkin maddesinin matris sistem olarak geliştirilen nano taşıyıcıdan kontrollü olarak salındığını gösteren modeldir (Dash vd., 2010, s. 220). Korsmeyer-Peppas modeline uyması ve yapılan tüm karakterizasyon testlerinin sonucunda hazırlanan formülasyonların matris model oluşturulduğu ve kontrollü salım yaptığı kanısına varılmıştır.

6.9. Kararlılık Çalışması

4°C, 25°C ve 40°C'de kararlılık kabinlerinde saklanan PNP ve KLN'nin 0. zaman, 1., 2., 3. ve 6. aylardaki fiziksel görünüşü görsel olarak incelendiğinde, 4°C ve 25°C'de saklanan PNP ve KLN'de herhangi bir değişiklik belirlenmemiştir. 40°C'de saklanan ERS-3'de kararlılık test süresi sonunda sararma görülmüştür. 40°C'de saklanan ERS-3 ve KSR-2 kodlu PNP formülasyonunda katı parçacıkların agrege yapılar oluşturduğu ancak distile suda kolayca dağıtılabildiği saptanmıştır. COMP-DT'nin ise tüm kararlılık ortamlarında kararlı yapıda olduğu, formülasyonda fiziksel açıdan herhangi bir değişiklik görülmediği ve hazırlandığı andan itibaren rengini ve tekdüze görünümünü koruduğu gözlenmiştir.

Nanopartiküllerin fiziksel kararlılığına karar vermek için önem içeren parçacık boyutu ve dağılımı dinamik ışık saçılması, lazer kırınımı ve foton korelasyon spektroskopisi gibi yöntemlerle saptanabilir (Kavaz, 2011, s. 13).

KSR-2'nin 0. zaman, 1., 2., 3. ve 6. aylardaki parçacık boyutu ve dağılımı Çizelge 5.16., Çizelge 5.17. ve Çizelge 5.18.'de, tüm zamanlarda elde edilen parçacık boyutu ise karşılaştırmalı olarak Şekil. 5.85.'te sunulmuştur. KSR-2'nin 226.109 ± 0.751 nm ($Ort \pm SH$) olan 0. zaman parçacık boyutu, 6. ay sonunda 4°C'de saklanan formülasyonda 650.512 ± 1.029 nm ($Ort \pm SH$), 25°C'de saklanan formülasyonda 635.313 ± 4.981 nm ($Ort \pm SH$) ve 40°C'de saklanan formülasyonda 715.312 ± 1.569 nm ($Ort \pm SH$) olarak belirlenmiş ve dolayısıyla parçacık boyutunun yüksek sıcaklıkta arttığı düşünülmüştür. KSR-2'nin 0. zaman ve 3. aydaki parçacık boyutu istatistiksel olarak karşılaştırıldığında 4°C, 25°C ve 40°C'de saklanan formülasyonlar arasında çok önemli fark ($p < 0.01$) olduğu belirlenmiştir. KSR-2'nin 0. zaman ve 6. aydaki parçacık boyutunun istatistiksel karşılaştırılmasında ise 4°C, 25°C ve 40°C'de saklanan formülasyonlarda ileri düzeyde önemli fark ($p < 0.001$) olduğu görülmüştür. Tüm kararlılık ortamlarında saklanan KSR-2'nin parçacık boyutunda artış görülmekle birlikte en yüksek artış 40°C'de saklanan formülasyonda 6. ayın sonunda 715.312 ± 1.569 nm ($Ort \pm SH$) değeri ile gözlenmiştir.

ERS-3'ün 0. zaman, 1., 2., 3. ve 6. aylardaki parçacık boyutu ve dağılımı Çizelge 5.16., Çizelge 5.17. ve Çizelge 5.18.'de, tüm zamanlarda elde edilen parçacık boyutu ise karşılaştırmalı olarak Şekil. 5.86.'da sunulmuştur. ERS-3'ün 0. zamanda 690.667 ± 0.613 nm ($Ort \pm SH$) olan parçacık boyutunun, 6. ay sonunda 4°C'de saklanan formülasyonda 756.058 ± 1.364 nm ($Ort \pm SH$), 25°C'de saklanan formülasyonda 732.672 ± 0.985 nm ($Ort \pm SH$) ve 40°C'de saklanan formülasyonda 765.500 ± 1.312 nm ($Ort \pm SH$) olarak arttığı

ancak KSR-2'ye göre daha düşük artış olduğu görülmüştür. ERS-3'ün 4°C ve 25°C'de saklanan formülasyonunun 0. zaman ve 3. aydaki parçacık boyutunda çok belirgin artış yokken 40°C'de saklanan formülasyonda artış saptanmıştır. 3. ve 6. ayların sonuçları paralellik göstermiştir. ERS-3'ün 0. zaman ve 3. aydaki parçacık boyutu istatistiksel olarak karşılaştırıldığında 4°C ve 25°C'de saklanan formülasyonlarda önemli fark ($p<0.05$), 40°C'de saklanan formülasyonda ise çok önemli fark ($p<0.01$) olduğu belirlenmiştir. ERS-3'ün 0. zaman ve 6. aydaki parçacık boyutunun istatistiksel karşılaştırılmasında önemli fark ($p<0.05$), 40°C'de saklanan formülasyonda ise çok önemli fark ($p<0.01$) olduğu görülmüştür. Tüm kararlılık test ortamlarında saklanan ERS-3'ün parçacık boyutunda artış bulunmasıyla birlikte en yüksek artışın 765.500 ± 1.312 nm ($Ort\pm SH$) ile 40°C'de saklanan formülasyonda 6. ayın sonunda olduğu belirlenmiştir.

COMP-DT'nin 0. zaman, 1., 2., 3. ve 6. aylardaki parçacık boyutu ve dağılımı Çizelge 5.16., Çizelge 5.17. ve Çizelge 5.18.'de, tüm zamanlarda elde edilen parçacık boyutu ise Şekil. 5.87.'de karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. COMP-DT'nin 100.410 ± 1.820 nm ($Ort\pm SH$) olan 0. zaman parçacık boyutu, 6. ay sonunda 4°C'de saklanan formülasyonda 190.862 ± 1.265 nm ($Ort\pm SH$), 25°C'de saklanan formülasyonda 170.674 ± 2.689 nm ($Ort\pm SH$) ve 40°C'de saklanan formülasyonda 220.311 ± 1.844 nm ($Ort\pm SH$) olarak belirlendiğinden parçacık boyutunun arttığı düşünülmüştür. En yüksek parçacık boyutuna 40°C'de saklanan COMP-DT'nin 6. ayında 220.311 ± 1.844 nm ($Ort\pm SH$) ile ulaşılmıştır. Diğer kararlılık ortamlarında da başlangıç parçacık boyutuna göre boyut artışı olduğu gözlenmiştir. COMP-DT'nin 0. zaman ve 3. aydaki parçacık boyutu istatistiksel olarak karşılaştırıldığında 4°C ve 25°C'de saklanan formülasyonlarda önemli fark ($p<0.05$), 40°C'de saklanan formülasyonda ise çok önemli fark ($p<0.01$) olduğu görülmüştür. COMP-DT'nin 0. zaman ve 6. aydaki parçacık boyutunun istatistiksel karşılaştırılmasında 4°C ve 25°C'de saklanan formülasyonlarda önemli fark ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. 40°C'de saklanan formülasyonda ise çok önemli fark ($p<0.01$) saptanmıştır.

Sonuç olarak, 6 ay sonunda PNP ve KLN formülasyonlarının parçacık boyutunda, özellikle 40°C'de saklanan formülasyonlarda daha yüksek olmak üzere, artış gözlenmiş ancak tüm formülasyonların parçacık boyutu nanometre aralığında kalmıştır.

Literatüre göre polidisperslik indisi (PDI) değeri tek fazlı sistemler için 0.01 civarından 0.5-0.7 değerine kadar çıkabilir ve 0.7 değerinden daha yüksek değerler çok geniş parçacık boyut dağılımının göstergesidir (Lopedota vd., 2009, s. 503). Kararlılık

testi boyunca KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT'nin PDI değeri 0.7'nin altında olduğundan tekdüze dağılımın korunduğu sonucuna varılmıştır. 40°C'de saklanan KSR-2 ve ERS-3'ün taramalı elektron mikroskobu görüntüsünde görülen topaklanmaya karşın distile su içinde kolayca dağılmalarından dolayı PDI değerlerinin istenilen aralıkta olduğu düşünülmüştür (Çizelge 5.16., Çizelge 5.17. ve Çizelge 5.18.).

PNP ve KLN'de zeta potansiyelin ölçülmesi kolloidal dispersiyonun saklama kararlılığı hakkında öngörüle bulunmaya olanak verir. Genel olarak, yüksek zeta potansiyeli sahip parçacıklarda agregasyonunun oluşma olasılığı elektriksel itme nedeniyle daha düşüktür. Nanopartiküllerin zeta potansiyeli ölçülerek kararlılığı ve topaklaşma eğilimi öngörülebilir. Zeta potansiyel değeri ± 60 mV üzerinde ise parçacıkların yüksek düzeyde kararlı, ± 20 -30 mV arasında da kararlı olduğu ifade edilmiştir (Kavaz, 2011, s. 13).

Bu çalışmada hazırlanan KSR-2'nin 0. zaman, 1., 2., 3. ve 6. aylardaki zeta potansiyel değeri Çizelge 5.19'da, tüm zamanlarda elde edilen zeta potansiyel verileri ise Şekil 5.88.'de karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. KSR-2'nin -16.43 ± 0.45 mV ($Ort \pm SH$) olarak ölçülen 0. zaman zeta potansiyel değerinin, 6. ay sonunda, 4°C'de saklanan formülasyonda -19.62 ± 0.56 mV ($Ort \pm SH$), 25°C'de saklanan formülasyonda -20.54 ± 1.52 mV ($Ort \pm SH$) ve 40°C'de saklanan formülasyonda -22.07 ± 1.96 mV ($Ort \pm SH$) olduğu belirlenmiştir. KSR-2'nin 0. zaman ve 6. ay zeta potansiyel değeri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında 4°C, 25°C ve 40°C'de saklanan formülasyonlarda önemli fark ($p < 0.05$) gözlenmiştir.

ERS-3'ün 0. zaman, 1., 2., 3. ve 6. aylardaki zeta potansiyel değeri Çizelge 5.19.'da ve tüm zamanlarda elde edilen zeta potansiyeli Şekil 5.89.'da karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. ERS-3'ün $+26.15 \pm 1.42$ mV ($Ort \pm SH$) olarak ölçülen 0. zaman zeta potansiyel değeri, 6. ay sonunda 4°C'de saklanan formülasyonda $+30.25 \pm 1.78$ mV ($Ort \pm SH$), 25°C'de saklanan formülasyonda $+28.98 \pm 0.90$ mV ($Ort \pm SH$) ve 40°C'de saklanan formülasyonda $+27.32 \pm 0.77$ mV'ye ($Ort \pm SH$) yükselmiştir. ERS-3'ün 0. zaman ve 6. ay zeta potansiyel değeri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında 4°C, 25°C ve 40°C'de saklanan formülasyonlar arasında önemli fark ($p < 0.05$) gözlenmiştir.

COMP-DT'nin 0. zaman, 1., 2., 3. ve 6. aylardaki zeta potansiyel verileri Çizelge 5.19'da ve tüm zamanlarda elde edilen zeta potansiyel değerleri karşılaştırmalı olarak Şekil 5.90.'da sunulmuştur. COMP-DT'nin -10.80 ± 0.05 mV ($Ort \pm SH$) olarak ölçülen 0.

zaman zeta potansiyel değeri, 6. ay sonunda, 4°C'de saklanan formülasyonda -13.75 ± 1.15 mV (Ort $\pm$ SH), 25°C'de saklanan formülasyonda -14.25 ± 0.85 mV (Ort $\pm$ SH) ve 40°C'de saklanan formülasyonda -12.25 ± 0.95 mV (Ort $\pm$ SH) olarak belirlenmiştir. COMP-DT'nin 0. zaman ve 6. ay zeta potansiyel değeri istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve 4°C, 25°C ve 40°C'de saklanan formülasyonlar arasında önemli fark ($p < 0.05$) gözlenmiştir.

ERS-3 dışındaki KSR-2 ve COMP-DT'nin kararlılık ortamında saklama süresi boyunca zeta potansiyel değerinde görülen farklar nedeniyle ve ayrıca zeta potansiyel değerinin literatürde belirtilen optimum aralığa girmemesinden dolayı 6. ay sonunda kararlı olmadığı söylenebilir.

4°C, 25°C ve 40°C'de saklanan PNP'nin 6. ay sonunda alınan taramalı elektron mikroskobu görüntüsünde KSR-2 ve ERS-3'ün küresel yapısını 6 ay boyunca koruması ve DT'e ait spesifik kristal görüntünün gözlenmemesi parçacıklarda bozunma olmadığı ve DT'i hapsederek koruduğu şeklinde değerlendirilmiştir (Bkz. Şekil 5.91., Şekil 5.92., Şekil 5.93., Şekil 5.94., Şekil 5.95. ve Şekil 5.96.). COMP-DT'nin 6. ay sonunda alınan taramalı elektron mikroskobu görüntüsünde de literatürde bildirilen plaka şeklinin korunduğu görülmüştür (Bkz. Şekil 5.97., Şekil 5.98. ve Şekil 5.99.) (Mehnert ve Mäder, 2001, s. 184).

Hazırlanan PNP ve KLN formülasyonunda, saklama süresince oluşabilecek olası değişikliklerin belirlenebilmesinde referans olarak kullanılmak üzere saf maddelerin DSC, FT-IR ve NMR analizi gerçekleştirilmiştir. DSC ve X-ışını kırınım analizi PNP ve KLN sistemlerin fiziksel durumu ve yüzey özelliği hakkında bilgi verirken, yapısal özelliği FT-IR ve NMR spektroskopisi ile araştırılabilir. İlaç etkin maddesinin nanopartikül içerisindeki fiziksel durumu ve yerleşimi DSC ve X ışını kırınımı cihazı ile, nanopartikülün kristal özelliğine etkisi de özellikle X-ışını kırınım cihazı ile incelenebilir (Kavaz, 2011, s. 14).

Tüm kararlılık ortamlarında saklanan KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT'nin termogramında cihaza bağlı küçük morfolojik değişimler dışında önemli fark gözlenmediğinden DT içeren PNP ve KLN'nin 6 ay süresince kararlılığını koruduğu ve sıcaklıktan etkilenmediği düşünülmüştür (Bkz. Şekil 5.100., Şekil 5.101., Şekil 5.102., Şekil 5.103., Şekil 5.104., Şekil 5.105., Şekil 5.106., Şekil 5.107. ve Şekil 5.108.).

Farmasötik dozaj şekillerinin kararsızlık durumu fiziksel görünüş, renk, koku, tat ve yüzey dokusu gibi özellikler incelenerek belirlenebilir, ancak dozaj şeklinde oluşabilecek

kimyasal değişiklikler yalnızca kimyasal analiz yardımı ile saptanabilir. Farmasötik formülasyonların kimyasal kararlılığının değerlendirilmesinde kullanılan tekniklerden biri de FT-IR analizidir (Wilson vd., 2008, s. 81).

Bu çalışma kapsamında KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT üzerinde 0. zaman, 3. ve 6. ayda yapılan FT-IR ve ¹H-NMR spektrumlarının birbirini desteklemesi ve 0. zaman spektrumu ile benzer bulunması formülasyonların kimyasal kararlılığını göstermiş ve herhangi bir etkileşme ve bozunma olmadığını düşündürmüştür (Bkz. Şekil 5.109., Şekil 5.110. ve Şekil 5.111.). Kimyasal kararlılığın değerlendirilmesinde bir diğer teknik olan ¹H-NMR analizinde KSR-2 ve ERS-3 doğrudan dötero kloroform (CDCL₃) içinde çözündürülerek, COMP-DT ise sinyallerin engellenmemesi amacıyla liyofilize edilip formülasyondaki suyun ortamdan uzaklaştırılmasının ardından dötero kloroform (CDCL₃) içinde çözündürülerek kullanılmıştır. ¹H-NMR spektrumlarında PNP ve KLN için kararlılık çalışması süresince alınan sinyallerin 0. zaman lipid sinyallerinden çok farklı olmaması ve 7-8 ppm aralığında DT'e ait piklerin gözlenmesi FT-IR analizini destekleyerek kimyasal kararlılığa işaret etmiş ve dolayısıyla kimyasal yapının korunduğu ve etkin madde ile etkileşim olmadığı düşünölmüştür (Bkz. Şekil 5.112., Şekil 5.113. ve Şekil 5.114.).

İlaç etkin maddesinin veya bu madde ile hazırlanan taşıyıcı sistemin hazırlanışından tamamen tüketildiği zamana kadar geçen süre içinde fiziksel, kimyasal ve farmakolojik özelliklerini yitirmeden koruması istenir. 4°C, 25°C ve 40°C'de saklanan KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT'nin 0. zaman, 1., 2., 3. ve 6. aylar sonunda elde edilen % yükleme etkinliği Çizelge 5.20.'de sunulmuştur. Tüm kararlılık ortamlarında bekletilen formülasyonlar kendi içlerinde istatistiksel olarak değerlendirildiğinde önemli fark ($p>0.05$) gözlenmediğinden, PNP ve KLN formülasyonu içindeki DT miktarının değişmediği ve kayıp veya bozunma olmadığı kararına varılmıştır.

6.10. Sitotoksisite Çalışması

In vitro sitotoksisite testi yeni bir formülasyonun biyolojik uyumluluğunun değerlendirilmesinde önemlidir. Hazırlanan formülasyonun hücre költürü ortamında yol açtığı hücre büyümesinin oranı araştırıldıktan sonra toksisite profilinin çıkarılıp hayvan deneyinin yapılması zaman ve ekonomik yönden üstünlük sağlar. Ayrıca hazırlanan formülasyonun sitotoksisite testi hastaya herhangi bir risk getirmediğinden veya akut toksisite cevabı ortaya çıkmaması açısından emin olmak için yaşamsal önem taşır.

MTT [3-(4,5-dimetiltriazol-2-il)-2,5-dimetiltetrazolyum bromür] testi dolaylı olarak hücre büyümesi ve/veya hücre ölümünü değerlendirmeyi amaçlayan, hücre kültürü esasına dayanan ilaç duyarlılığı testidir. İlk olarak Mosmann (Mosmann, 1983, s. 55-57) tarafından tanımlanmış ve geliştirilmiş, ardından Alley vd.'nin yaptığı çalışma ile geliştirilmiştir (Stockert vd., 2012, s. 785; Rakers, Imse ve Gebert, 2014, s. 1583). Hücre biyolojisinde hücre canlılığı, ölümü ve proliferasyonun değerlendirilmesinde en sık kullanılan ekonomik bir yöntemdir.

MTT yöntemi ile hücre topluluğundaki canlı hücreler kolorimetrik ve kantitatif olarak saptanabilir. Birçok hücre popülasyonu için toplam mitokondriyel aktivite canlı hücre sayısı ile ilişkilidir. MTT sitotoksisite testi canlı hücrelerin sağlam mitokondrileri tarafından süksinat dehidrojenaz enzimi ile tetrazolyum halkasının ayrılması sonucu formazan kristallerine dönüştürülmesi ve sonuç olarak suda çözünebilen tetrazolyum tuzuna dönüşmesi esasına dayanır. Daha sonrasında mor renkli formazan maddesinin çözünmesi amacıyla DMSO eklenir ve ortaya çıkan renkli çözeltinin spektrofotometrede ışık absorplamasının ölçülmesiyle canlı hücre yoğunluğu belirlenebilir. MTT analizi sonucunda elde edilen boya yoğunluğunun canlı hücre sayısı ile doğru orantılı olduğu bildirilmiştir (Fotakis ve Timbrell, 2006, s. 171-172; Boncler vd., 2014, s. 9).

Bu çalışmada farklı derişimde DT içeren PNP ve KLN sisteminin sitotoksisitesinin belirlenmesinde kullanılan MTT yönteminde suda çözünebilen sarı tetrazolyum boyası canlı hücreler tarafından suda çözünmeyen mor formazan tuzuna indirgenir. Canlı hücre miktarı ile doğru orantılı olan formazan miktarı spektrofotometrik olarak ölçülebilir (Arranja vd., 2014, s. 88).

Sağır vd.'nin (2013, s. 912-918) primer kondrosit hücreleri üzerinde yalnızca DT ile yaptığı çalışmada 0.25 mL ve 0.125 mL DT 24 kuyucuklu plakalara besiyeri ile uygulanmış ve 15., 30., 45. ve 60. dakikalarda besiyerleri tazelenerek inkübasyon sürdürülmüştür. 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sonrasında absorbanslar ölçülerek hücre canlılığı saptanmıştır. DT ile muamele edilmemiş kontrol hücreleriyle karşılaştırıldığında *in vitro* DT uygulamasının 24, 48 ve 72 saatte hücre azalması ve belirgin sitotoksisiteye neden olduğu görülmüştür. Bu çalışma DT'nin sitotoksisitesinin MTT yöntemi kullanarak denendiği ilk ve tek çalışmadır.

Wang, Wang ve Meng'in (2016, s. 7-8) yaptığı bir diğer çalışmada Compritol® 888 ATO ile hazırlanan boş KLN'nin 24 saatlik sitotoksisite testinde 100 µg/mL'de % 90'nın üzerinde hücre canlılığı görülmüştür. Etkin madde olarak sisplatin yüklü formülasyonda ise sitotoksisite oranının boş formülasyona benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Baek ve Cho'nun (2015, s. 627-630) katı lipit olarak % 2 Compritol® 888 ATO ile sıcak ve soğuk homojenizasyon tekniği kullanarak hazırladığı nanopartiküle paklitaksel ve dosetaksel yüklenmiştir. MCF-7 ve MCF-7/ADR hücrelerinde 0.001'den 10 µM'a kadar etkin madde derişiminin sitotoksisite denemesinde 72 saatlik inkübasyon sonunda boş KLN formülasyonu için hücre canlılığı en yüksek dozda dahi % 80'nin altına inmemiştir. Buna karşın yüklenen etkin maddelerin antikanser özelliği nedeniyle sitotoksisitenin yüksek olduğu gözlenmiştir.

Bir başka çalışmada Olbrich vd.'nin (2001, s. 353) % 4 Compritol® 888 ATO ve Tween® 80 kullanarak hazırladığı KLN'nin WST-1 ile 48 saatlik sitotoksisite testi sonucunda 40 µg/mL'den yüksek dozda hücre canlılığının % 50'nin altına düştüğü rapor edilmiştir.

Yuan vd.'nin (2008, s. 143) yaptığı diğer bir çalışmada % 1 Compritol® 888 ATO'nun da içinde bulunduğu bir çok KLN formülasyonu hazırlanmıştır. 72 saatlik inkübasyonun ardından etkin madde yüklenmemiş formülasyonun IC₅₀ değerinin 471.48 µg/mL olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada % 5 oranında Compritol® 888 ATO içeren COMP-Plasebo'nun 24 saatlik inkübasyon sonrasında IC₅₀ değeri DT içeren COMP-DT'ye göre daha düşük derişimde bulunmuştur. Bu durum KLN hazırlama sırasında parçacık yüzeyine tutunan DT'nin hücre kültüründe önce, katı lipitin içindeki DT'nin daha sonra çözünmesi nedeniyle ortaya çıkmıştır. Zaman ilerledikçe formülasyonların parçalanması sonucu oluşan artıkların hücreler üzerinde daha çok sitotoksik etki yarattığı düşünülmüştür.

Aksungur vd.'nin (2011, s. 290-291) PLGA ve Eudragit® RL karışımı ile hazırladığı PNP'nin L929 hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile yapılan sitotoksisite çalışmasında etkin madde yüklenmemiş nanopartikülün 24 ve 48 saatlik inkübasyonunun ardından 0.5 mg/mL ile 125 mg/mL arasındaki derişimde hücre canlılığının % 80'nin altına düşmediği rapor edilmiştir. Benzer şekilde Naha, Byrne ve Panda'nın (2012, s. 27) PLGA ve Eudragit® RS 100 ile hazırladığı nanopartikülde 96 saatlik inkübasyon sonucunda en yüksek dozda dahi (500 µg/mL) hücre canlılığı yaklaşık % 85'in altına düşmemiştir. Hao vd.'nin (2013, s. 4565) yaptığı çalışmada da 400 µg/mL derişimdeki Eudragit® RL'nin hücre canlılığı üzerinde sitotoksik etki göstermediği gösterilmiştir. Bu çalışmalara göre Eudragit® polimeri tek başına toksik özellikte değildir.

Bu çalışmada DT içermeyen en yüksek miktardaki Eudragit® RS 100 nanopartikülünün dahi toksisite göstermediği, ancak DT içeren ERS-3'ün 24 saatlik inkübasyon sonrasında en yüksek dozda (100 µg/100 µL) % 50'ye düşen hücre canlılığı

gösterdiği ve 48 saatlik inkübasyondan sonra da 50 µg/100 µL'den yüksek dozda hücre canlılığının % 50'nin altına düştüğü saptanmıştır.

Kollidon® SR kullanarak hazırlanan nanopartikül çalışması literatürde yok denecek kadar azdır. Bunun yanı sıra Kollidon® SR ile yapılan hiçbir çalışmada MTT ile sitotoksosite testine yer verilmemiştir. Bu nedenle bu çalışmada Kollidon® SR ile elde edilen sitotoksosite değerleri literatürdeki ilk sonuçlar olma özelliğindedir. MTT ile elde edilen sonuçlarda Kollidon® SR'nin tek başına kullanıldığı KSR-Plasebo ve DT içeren KSR-2 için kuyularda en yüksek dozda dahi hücre canlılığı % 70'in altına düşmemiştir. Sonuçta Kollidon® SR'nin biyoyumlu bir madde olduğu ve yüksek dozdaki DT'nin sitotoksitesini dahi engelleyebildiği gösterilmiştir.

Bu çalışmada hazırlanan formülasyonların derişim ve zamana bağlı olarak yalnızca yüksek dozlarda sitotoksosite gösterdiği saptanmıştır. Elde edilen sonuçlardan bazıları literatürdeki sonuçlar ile tutarlı olmakla birlikte, bazıları değildir. Bu farklılığın çalışmada kullanılan lipit/polimer derişimi, kullanılan yüzey etkin madde ve sitotoksosite ölçümü yapılan zaman farklılığından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Sonuç olarak Eudragit® ya da Compritol® sistemi ile ilgili çalışmalar literatürde bulunurken, DT ile hazırlanmış sistemin MTT ile sitotoksitesi üzerine yapılan çalışma yoktur. Bu nedenle bu çalışma ile literatürdeki çalışmaları karşılaştırmak olanaksızdır. Bu açıdan bakıldığında da bu çalışma özgünlük taşımaktadır.

6.11. *In Vivo* Çalışma

İlaçların analjezik etkisinin deney hayvanlarında değerlendirilmesine yönelik olarak duyarlı ve güvenilir davranışsal modeller geliştirilmiştir. Bu modeller genellikle termal, kimyasal ve mekanik uyarana bağlı gelişen ağrı ve acı duygusunun eşığının ölçülmesi esasına dayanır. Ağrı mekanizmaları *medulla spinalis*'in farklı bölgeleri, beyin sapı, ön beyin ve periferel dokular gibi çeşitli anatomik bölgelerle ilişkili olabilir. Ayrıca farklı ağrı tiplerinde farklı mekanizma ve anatomik bölgelerin katkısı söz konusudur. İlaç etkin maddesinin ağrı üzerine etkisinin deney hayvanlarında değerlendirilmesinde birden fazla test kullanılması daha geçerli sonuca ulaşmaya yardımcı olur (Uzbay, 2004, s.139).

Bu çalışmada hazırlanan PNP ve KLN'nin farklı mekanizmalar ile gerçekleşen ağrı durumuna karşı etkisi incelenmiştir. DT ve DT içeren KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT'nin santral düzeydeki analjezik etkinliğini değerlendirmek amacıyla yapılan sıcak zemin testi sonuçları Çizelge 5.22., Şekil 5.125. ve Şekil 5.126.'da verilmiştir. Sıcak zemin testinde

10 mg/kg dozda DT ve 10 mg/kg DT içeren KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT'nin analjezik etkinliği öncelikle kontrol grubu (SF) ile, ardından DT ile karşılaştırılmıştır. DT'nin 1. saatteki analjezik etkinliği ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak önemli fark ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. DT'nin 3., 6. ve 9. saatteki analjezik etkisi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli fark bulunmamıştır. Şekil 5.126.'da görüldüğü üzere, DT'nin 3. saatteki analjezik etkinliği ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmasa da, analjezik etkinliğin göreceli olarak azalarak sürdüğü görülmektedir. DT'nin maksimum analjezik etkiyi 1. saatte sağladığı; 3. saat ve ilerleyen saatlerde etkinin azaldığı, 6. ve 9. saatte ise hemen hemen etkisiz olduğu belirlenmiştir. Hazırlanan formülasyonların analjezik etkinliği kontrol grubu ile karşılaştırıldığında KSR-2 ve ERS-3 ile 1. saatte önemli fark gözlenmezken, COMP-DT ile 1. saatte kontrol grubuna göre çok önemli fark ($p<0.01$) saptanmıştır. Bu durum COMP-DT'nin daha ufak boyutlu ve dış yüzeyinde kalan DT miktarının yüksek olmasından dolayı santral sinir sistemine kolayca geçerek anlamlı analjezik etki sağlaması olarak açıklanmıştır. Tüm formülasyonların 3. ve 6. saat analjezik etkinliği kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ileri düzeyde önemli fark ($p<0.001$) gözlenmiştir. KSR-2'nin 9. saat analjezik etkinliği kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve önemli fark ($p<0.05$) olduğu ve ERS-3 için ise ileri düzeyde önemli fark ($p<0.001$) bulunduğu görülmüştür. COMP-DT 9. saat kontrol grubuna göre önemli bir fark göstermese de etkisinin göreceli olarak hala sürdüğü Şekil 5.126.'da görülmektedir. COMP-DT, DT'ye göre daha uzun süre analjezik etki gösterirken, KSR-2 ve ERS-3'e göre analjezik etkinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. COMP-DT'nin 9. saat analjezik etkisi KSR-2 ve ERS-3 ile karşılaştırıldığında ise önemli fark olmadığı saptanmıştır. Hazırlanan formülasyonların 1. saatteki analjezik etkinliğinin DT ile karşılaştırılmasında aralarında önemli fark olmadığı gözlenmiştir. 3. saatte ise KSR-2 ve ERS-3 DT'ye göre önemli fark ($p<0.05$) gösterirken, COMP-DT ve DT arasında önemli fark olmamakla birlikte DT'den göreceli olarak daha etkili olduğu belirlenmiştir (Şekil 5.62.). Ayrıca, formülasyonlar kendi içlerinde karşılaştırıldığında COMP-DT'nin 3. saat analjezik etkinliği ve KSR-2 ve ERS-3'ün etkinliği arasında önemli fark olmadığı saptanmıştır. 6. saatte tüm formülasyonların DT'nin etkinliği ile karşılaştırılmasında ileri düzeyde önemli fark ($p<0.001$) olduğu görülmüştür. KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT'nin 9. saatte farklı düzeyde farklılık (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.01$) sürdürdüğü saptanmıştır. Tüm bu veriler ışığında, sıcak zemin testinde DT'nin 1. saatte maksimum etkinlik sağladığı oysa diğer zaman aralıklarında tedavi değerinin azaldığı, ancak hazırlanan tüm formülasyonların analjezik etkinliğini 9 saate kadar sürdürdüğü belirlenmiştir.

Bu çalışmada DT ve DT içeren KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT için santral analjezik etkinliğinin değerlendirildiği bir diğer test olan kuyruk batırma testi ile elde edilen sonuçlar Çizelge 5.23., Şekil 5.127. ve Şekil 5.128.'de verilmiştir. Kuyruk batırma testi ile 10 mg/kg DT ve 10 mg/kg DT içeren KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT'nin santral analjezik etkinliği öncelikle kontrol grubu (SF) ile ve ardından hazırlanan tüm formülasyonlar ile karşılaştırılmıştır. DT'nin 1. saat analjezik etkinliği ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak önemli fark ($p<0.05$) olduğu ancak sıcak zemin testinde olduğu gibi 3., 6. ve 9. saat analjezik etkisi ile kontrol grubu arasında önemli fark olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). DT'nin 3. saat analjezik etkisi ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmasa da, analjezik etkinliğin göreceli olarak sürdüğü belirlenmiştir (Şekil 5.128.). Bu çalışmada elde edilen bulgulara göre DT'nin maksimum analjezik etkisini 1. saatte sağladığı, 3. saat ve ilerleyen saatlerde etkinin düştüğü, 6. ve 9 saatte ise etkisiz olduğu düşünülmüştür. Hazırlanan formülasyonların analjezik etkinliği kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT'nin 1. saatte önemli fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). KSR-2 ve ERS-3'ün 3. saat analjezik etkinliği kontrol grubu ile fark göstermezken, COMP-DT'nin 3. saat etkinliği kontrol grubuna göre çok önemli fark ($p<0.01$) göstermiştir. Bu durum COMP-DT'nin dış yüzeyinde bulunan DT miktarının diğer formülasyonlara göre daha yüksek olması ve daha ufak boyutundan dolayı santral sinir sistemine daha kolaylıkla geçtiğini ve dolayısıyla daha yüksek analjezik etki sağladığını düşündürmüştür. KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT'nin 6. saat analjezik etkinliği kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.001$, $p<0.001$) bulunmuştur. KSR-2'nin 9. saat analjezik etkinliği ile kontrol grubu arasında önemli fark ($p<0.05$) görülmüştür. ERS-3 ve COMP-DT için ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak fark gözlenmemesine karşın Şekil 5.128.'de analjezik etkinliğin DT'den çok daha yüksek olduğu açıkça görülmektedir. Tüm formülasyonların analjezik etkinliğine ait 9. saat verileri kendi içinde karşılaştırıldığında önemli fark göstermemiştir ($p>0.05$). Hazırlanan formülasyonların 1. saat analjezik etkinliği ile DT'nin etkinliği arasında COMP-DT ($p<0.05$) dışında önemli fark olmadığı saptanmıştır. KSR-2 ve ERS-3'ün 3. saatteki analjezik etkinliğinin DT etkinliği ile karşılaştırılmasında önemli fark bulunmazken, COMP-DT'nin DT'e göre önemli fark ($p<0.05$) gösterdiği görülmüştür. 6. saatte tüm formülasyonların analjezik etkinliği ve DT etkinliği karşılaştırıldığında, ERS-3 ve COMP-DT ile ileri düzeyde önemli fark ($p<0.001$) ve KSR-2 ile çok önemli fark ($p<0.01$) olduğu belirlenmiştir. ERS-3 ve COMP-DT analjezik etkinliğini 9. saatte önemli fark ($p<0.05$) ile, KSR-2 ise çok önemli fark ($p<0.01$) ile sürdürmüştür. Sonuç olarak, kuyruk batırma testi ile DT'nin 1. saatte maksimum etkinlik sağladığı, diğer zaman

aralıklarında etkisini giderek kaybettiği, ancak hazırlanan tüm formülasyonların 9. saatte belirli düzeyde analjezik etkinlik gösterdiği saptanmıştır.

Periferik düzeydeki analjezik etkinliği değerlendirmek amacıyla yapılan kıvranma testi sonuçları Çizelge 5.24, Şekil 5.129 ve Şekil 5.130'da verilmiştir. DT ve tüm formülasyonlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm zaman aralıklarında ileri düzeyde önemli fark ($p<0.001$) olduğu saptanmıştır. Test edilen formülasyonların sağladığı periferik analjezik etkinin DT ile karşılaştırılmasında 1. ve 3. saatte anlamlı fark gözlenmemiştir. 6. saatte ise DT'nin analjezik etkisinin azalması sürerken, DT ile karşılaştırıldığında KSR-2 ve COMP-DT ileri düzeyde önemli fark ($p<0.001$) ve ERS-3 önemli fark ($p<0.05$) göstermiştir. Analjezik etkinlik 9. saatte KSR-2 için önemli fark ($p<0.05$) ile devam ederken, COMP-DT için ileri düzeyde önemli fark ($p<0.001$) görülmüştür. ERS-3 ve DT'nin analjezik etkisi arasında istatistiksel olarak fark gözlenmemesine karşın Şekil 5.130'da periferik analjezik etkinliğin DT'den daha yüksek olduğu açıkça görülmektedir. Kıvranma testi için yapılan tüm istatistiksel veriler ışığında DT'nin 1. saatte maksimum etkinlik sağladığı, diğer zamanlarda analjezik etkinin azaldığı, ancak tüm formülasyonlar için tüm ölçüm saatlerinde periferik analjezik etkinliğin sürdüğü belirlenmiştir.

Kontrollü salım sisteminin en önemli üstünlüğünden biri farmakolojik etkinliğin düşük doz ile uzun süre sürdürülmesidir. Bu çalışmada elde edilen tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT'nin hem santral hem de periferik analjezik etkisinin tek doz uygulanan DT ile ilk saatlerde birbirine yakın olduğu, DT'nin etkisinin ilerleyen zamanlarda düşmesine karşın tüm formülasyonların analjezik etkinliğinin 9. saatte dahi sürdüğü görülmüştür. Deksketoprofen ve türevlerinin parçacık boyutunun 300-2500 mikrometre aralığında değiştiği bildirilmiştir (http-17). DT'nin ve hazırlanan formülasyonların ilk saatlerde etkinliğinin aynı olması, hazırlanan formülasyonlarda parçacık yüzeyine tutunan DT'nin boyutunun hazırlama yöntemleri sırasında nanometre değerlerine düşmesi ve dolayısıyla hızla parçacıktan ayrılarak *in vivo* ortamda çözünüp hızla emilerek analjezik etkiyi sağlayan ilk dozu sağlaması olarak değerlendirilmiştir. Parçacık içine hapsedilen DT'nin de sürdürme dozu olarak davrandığı ve analjezik etkinliğin 9 saat boyunca sürdürülebildiği görülmüştür.

Chandran ve Prasanna (2016, s. 2299-2300) hazırladığı loperamid yüklü Polisorbate® 80 kaplı formülasyonun fareler üzerinde santral analjezik etkisini sıcak zemin testi ve kuyruk batırma testi ile periferik analjezik etkisini ise kıvranma testi ile incelemiştir. Hazırladıkları formülasyonları (Loperamid, Polisorbate® 80 ile kaplı/kaplanmamış ve loperamid içermeyen etkin maddesiz lipozom formülasyonu)

uygulama yoluna göre (intravenöz, *i.v.* ve intratekal, *i.t.*) ve uygulanan formülasyona göre gruplara ayırmıştır. *I.v.* uygulama dozu 0.03 mg/kg ve *i.t.* uygulama dozu 3 µg/mL olarak belirlenmiştir. Sıcak zemin ve kuyruk batırma testine uygulama sırasında başlanarak 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda tekrarlanmıştır. Kıvrınma testinde ise formülasyon yukarıdaki şekilde ayrılmış gruplara verildikten sonra deney hayvanlarına asetik asit çözeltisi (% 1 h/h, 10 mL/kg) uygulanmıştır. 5 dakikalık bekleme süresinin ardından kıvrınma hareketi 10 dakika boyunca her hayvanda gözlenmiştir. Loperamid'in sıcak zemin testinde 60. dakika ve kuyruk batırma testinde 90. dakika sonrasında analjezik etkinin azaldığı, Polisorb[®] 80 kaplanmış lipozomun analjezik etkisinin ise daha yüksek ve daha uzun süreli olduğu ve kıvrınma testi sonucunda da hazırlanan formülasyonların kıvrınma sayısını anlamlı olarak azalttığı belirtilmiştir. Sonuç olarak Polisorb[®] 80 kaplı lipozom formülasyonunun loperamid'in santral ve periferik analjezik etkisini arttırdığı kararına varılmıştır.

Altın nanopartikülünün analjezik ve antikanser etkinliğinin incelendiği bir diğer çalışmada, sıcak zemin testinin kullanıldığı deneyde 5 gruba ayrılan deney hayvanlarından kontrol grubuna 10 mg/kg polivinilpirolidon, pozitif kontrol grubuna 10 mg/kg morfin ve deney gruplarına ise 700, 1000 ve 1500 µg/kg altın nanopartikülü oral olarak uygulanmıştır (Araújo Júnior vd., 2017, s. 122, 125-127). Sıcak zemin testinde 30 dakika ara ile (0., 30., 60., 90. ve 120. dakika) ölçüm alınmıştır. Kıvrınma testinde de deney hayvanları sıcak zemin testinde olduğu gibi 5 gruba ayrılmış ancak sıcak zemin testinden farklı olarak pozitif kontrol grubuna 10 mg/kg indometazin uygulanmıştır. Test maddesinin enjeksiyonundan 30 dakika sonra % 0.6 asetik asit çözeltisinin *i.p.* uygulanmasının ardından kıvrınma hareketi 20 dakika boyunca her hayvanda gözlenmiştir. Altın nanopartikülünün uygulandığı her üç dozda sıcak zemin testi sonucunda analjezik etki gözlenmemesi ve kıvrınma testinde pozitif kontrol grubuna göre zamana bağlı olarak kıvrınma sayısındaki düşmenin prostaglandin sentezi ile analjezik etkinliğin azalması sonucu ortaya çıktığı bildirilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada magnezyum klorür yüklü nanovezikülün nosiseptif etkinliği fareler üzerinde kuyruk batırma testi ile gerçekleştirilmiştir (Boanca vd., 2015, s. 363-364). 3 gruba ayrılan deney hayvanlarından kontrol grubuna 0.1 mL/g su, diğer gruplara 1 mmol/kg magnezyum klorür ve 1 mmol/kg magnezyum klorür yüklü nanovezikül oral olarak uygulanmıştır. 15., 30., 60. ve 90. dakika, 2., 4., 6., 8., 10. ve 12. saatte alınan ölçüm sonucunda, saf magnezyum klorür'ün analjezik etkisinin hemen başlayıp 60. dakikada maksimuma ulaşarak 120. dakikada azaldığı, oysa magnezyum klorür yüklü nanovezikülün etkisinin 90. dakikada başlayıp 2. ve 4. saatler arasında

maksimuma ulaşarak 6 saatten fazla sürdüğü gözlenmiştir. Hazırlanan formülasyonun kuyruk batırma testinin de değerlendirildiği çalışmada magnezyum klorür'ün sürekli salım yapan sisteminin hazırlandığı sonucuna varılmıştır.

Ketoprofen yüklü Eudragit® RSPO ile hazırlanan nanopartikül sisteminin viseral ağrı (iç organlarda oluşan ağrı) etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 3 gruba (I: 0.1 mL/10 g distile su, II: 15 mg/kg ketoprofen, III: 15 mg/kg ketoprofen içeren nanopartikül uygulanan grup) ayrılan Swiss farelere belirlenen dozda distile su, ketoprofen ve nanopartikül uygulandıktan sonra 30. dakika, 1., 2., 3., 4., 5., 6. ve 8. saatlerde % 0.6 asetik asit çözeltisi *i.p.* yolla verilmiştir. İlk iki saatte saf ketoprofen uygulanan hayvanların kıvrınma sayısında görülen azalma 2 saat sonunda artarken nanopartikül sisteminde ilk 2 saat sonrasında düşme görüldüğünden hazırlanan nanopartikül sisteminin sürekli salım yaptığı kanısına ulaşılmıştır (Tartau vd., 2010, s. 114-115).

7. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada kullanılan deksketoprofen trometamol ve polimer/katı lipit maddelerinin termal, X-ışını kırınım, FT-IR, ¹H-NMR analiz sonuçları ve taramalı elektron mikroskobu görüntüleri literatür ile paralellik göstermiştir. Etkin maddenin, PNP ve KLN'nin hazırlama koşulu, etkin madde miktar tayini ve *in vitro* salım koşulunda karşılaşılabilecek sorunları öngörmek için etkin madde miktar tayinine dayalı analizler gerçekleştirilmiş ve kullanılan tüm yöntem ve koşulların uygun olduğuna karar verilmiştir.

DT'nin analitik miktar tayini için bu çalışmada modifiye edilen yöntemin doğrusallık, kesinlik, doğruluk, duyarlılık ve seçicilik parametreleri incelendiğinde kullanılan yöntemin uygun olduğu kanıtlanmıştır.

Bu çalışma kapsamında farklı polimer/katı lipit ve farklı yöntemler kullanarak DT yüklü PNP ve KLN formülasyonu hazırlanmıştır. Karakterizasyon, *in vitro* salım çalışması ve *in vitro* salım verileri kullanılarak kinetik model oluşturulmasına dayanarak optimum formülasyonlar seçilmiştir. Seçilen formülasyonların kararlılığının ve sitotoksitesinin ve saf DT ve serum fizyolojik ile karşılaştırmalı olarak deney farelerinde analjezik etkinliğinin araştırıldığı *in vivo* çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Üç farklı polimer ile hazırlanan PNP ve iki farklı katı lipit ile hazırlanan KLN'nin yapısı parçacık boyutu, zeta potansiyel, parçacık şekli ve yüzey özelliği, termal, X-ışını kırınım, FT-IR, ¹H-NMR, etkin madde miktar tayini analizi ve *in vitro* salım çalışması ile incelenmiştir.

Püskürterek kurutma yöntemi ile farklı polimerler ile hazırlanan PNP parçacıklarının daha küresel, prob sonikasyon yöntemi ile farklı katı lipitler ile hazırlanan hazırlanan KLN parçacıklarının klasik plaka şeklinde olduğu görülmüştür. Tüm karakterizasyonlar değerlendirildiğinde PNP sisteminin nanoküre yapısında matris sistem olduğu ve KLN sisteminin ise matris yapıda olduğu düşünülmüştür.

Tüm karakterizasyon çalışmaları doğrultusunda, daha iyi salım gösteren KSR-2 ve ERS-3 kodlu PNP formülasyonu ve COMP-DT kodlu KLN formülasyonu kararlılık, sitotoksitesite ve *in vivo* çalışma için seçilmiştir.

Kararlılık çalışmasında, seçilen tüm formülasyonların parçacık boyutunun nanometre aralığında kaldığı belirlenmiştir. Fiziksel görünüm açısından yalnızca 40°C sıcaklıkta saklanan PNP'de renklenme gözlenmiştir. Hazırlanan tüm formülasyonların zeta potansiyel değerinde en çok 4 mV'luk düşüş gözlenmiştir. Kararlılık çalışmasında alınan taramalı elektron mikroskobu görüntüsünde PNP küresel yapısını, KLN formülasyonu ise klasik plaka görüntüsünü korumuştur. Yapılan termal, FT-IR ve ¹H-

NMR analizi ile hazırlanan formülasyonlarda herhangi bir fark olmadığı gözlenmiştir. Etkin madde miktar tayini analizinde de standart hatalar göz önüne alındığında belirgin fark bulunmamıştır.

Sitotoksosite çalışması değerlendirildiğinde, hazırlanan formülasyonların derişim ve zamana bağılı olarak yalnızca yüksek dozda sitotoksosite gösterdiği saptanmıştır; ancak *in vivo* olarak kullanılan derişim değeri dikkate alındığında dozun toksik derişime ulaşmadığı görülmektedir.

In vivo değerlendirmede KSR-2, ERS-3 ve COMP-DT'nin santral ve periferik ağrı üzerine etkisi serum fizyolojik ve DT ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farklı düzeylerde önemli fark elde edilmiştir. Bu çalışmada hazırlanan tüm formülasyonların 9 saat boyunca analjezik etkinlik gösterdiği ve analjezik etkinliğin 9. saat sonunda bile saf DT'nin maksimum analjezik etkinlik sağladığı 1. saat ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Bu çalışmada gerçekleştirilen *in vitro* ve *in vivo* sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, kısa süreli analjezik etki gösteren saf DT'ye göre hazırlanan formülasyonların uzun süreli ve kontrollü etkinlik göstermesi nedeniyle umut vaad edici sistemler olduğu düşünülmüştür.

Çalışmanın bir sonraki aşamasında Üniversitad de Sevilla-İspanya ile hazırlanacak olan uluslararası projede nanoçöktürme yöntemi ile DT yüklü PLGA nanopartikül sistemi ve Università di Cagliari-İtalya ile hazırlanacak olan projede DT yüklü küçük tek tabakalı lipozom, çok tabakalı lipozom ve büyük tek tabakalı lipozom formülasyonları geliştirilip *in vivo* çalışmalarda kullanılmış olan PNP ve KLN ile karşılaştırma yapılması planlanmaktadır. Bu çalışmada kullanılan ağrı parametreleri değiştirilerek, farklı ağrı modelleri kullanılarak analjezik etkinlik incelenebilir.

KAYNAKÇA

- Aburahma, M.H. ve Badr-Eldin, S.M. (2014). Compritol 888 ATO: a multifunctional lipid excipient in drug delivery systems and nanopharmaceuticals. *Expert Opinion Drug Delivery*, 11(12), 1865-1883.
- Acartürk, F. (2014). Nanotaşıyıcıların oral uygulanması. A.Z. Gürsoy (Ed.), *Nanofarmasötikler ve uygulamaları içinde* (s. 227-241). İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını.
- Agarwal, T., Gupta, K.A., Alam, S., Zaidi, M.G.H. (2012). Fabrication and characterization of iron oxide filled polyvinyl pyrrolidone nanocomposites. *International Journal of Composite Materials*, 2(3), 17-21.
- Aksungur, P., Demirbilek, M., Denkbaş, E.B., Vandervoort, J., Ludwig, A., Ünlü, N. (2011). Development and characterization of cyclosporine a loaded nanoparticles for ocular drug delivery: cellular toxicity, uptake, and kinetic studies. *Journal of Controlled Release*, 151, 286-294.
- Al-Heibshy, F.N.S., Başaran, E. ve Demirel, M. (2016). Studies on rosuvastatin calcium incorporated chitosan salt nanoparticles. *Latin American Journal of Pharmacy*, 35 (Suppl. 1), 1065-1076.
- Allais, G., De Lorenzo, C., Airola, G., Peano, S., Benedetto, C. (2000). Dexketoprofen trometamol in the treatment of acute migraine attack. *Minerva medica*, 91, 153-159.
- Amin, S., Mir, S.R., Kohli, K., Ali, A. (2012). Novel polymeric matrix films for transdermal delivery of metoclopramide. *International Journal of Pharmaceutical Frontier Research*, 2(1), 48-60.
- Anh, N.T. , Chi, N.T., Tran, T.K., Dao, T.P.T., Le, N.T.N., Chien, D.M., Hoai, N.T. (2012). Preparation and characterization of ketoprofen loaded eudragit RS polymeric nanoparticles for controlled release. *Advances In Natural Sciences: Nanoscience And Nanotechnology*, 3, 1-7.

- Ansari, M.J., Anwer, K., Jamil, S., Al-Shdefat, R., Ali, B.E., Ahmad, M.M., Ansari, M.N. (2015). Enhanced oral bioavailability of insulin-loaded solid lipid nanoparticles: pharmacokinetic bioavailability of insulin-loaded solid lipid nanoparticles in diabetic rats. *Drug Delivery*, Early Online, s. 1-8.
- Anton, N., Benoit, J.P. ve Saulnier, P.(2008). Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates -a review. *Journal of Controlled Release*, 128, 185-199.
- Araújo Júnior, R.F., Araújo, A.A., Pessoa, J.B., Neto, F.P.F., Silva, G.R., Oliveira, A.L.C.S.L., Carvalho, T.G., Silva, H.F.O., Eugênio, M., Sant'Anna, C., Gasparotto, L.H.S. (2017). Anti-inflammatory, analgesic and anti-tumor properties of gold nanoparticles. *Pharmacological Reports*, 69, 119-129.
- Archana, K. ve Vikas, P. (2013). Development and validation of reversed-phase high performance liquid chromatographic method for estimation of dexketoprofen trometamol in bulk and tablet dosage form. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 4, 395-400.
- Arıcıoğlu, F. (2007). Ağrı araştırmalarında kullanılan hayvan modelleri. *Klinik Gelişim*, 20(3), 28-36.
- Ariasa, J.L, Gómez-Gallo, A., Delgado, A.V., Gallardo V. (2009). Study of the stability of Kollidon® SR suspensions for pharmaceutical applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 338, 107-113.
- Aronson, J.K. (2010). Meyler's Side Effects of Analgesics and Anti-inflammatory Drugs. *NSAID's içinde* (s. 223-371). Amerika: Elsevier.
- Arranja, A., Schroder, A.P., Schmutz, M., Waton, G., Schosseler F., Mendes, E. (2014). Cytotoxicity and internalization of pluronic micelles stabilized by core cross-linking. *Journal of Controlled Release*, 196, 87-95.
- Ash, M. ve Ash, I. (2004). *Handbook of Green Chemicals*, 2. Baskı. New york: Synapse Info Resources yayınları.
- Attama, A.A., Reichl, S., Müller-Goymann, C.C. (2008). Diclofenac sodium delivery to the eye: In vitro evaluation of novel solid lipid nanoparticle formulation using human cornea construct. *International Journal of Pharmaceutics*, 355, 307-313.

- Auda, S.H., El-Rasoul, S.A., Issa, S.A.M., Mahrous, G.M. (2016). Preparation and in vitro-in vivo evaluation of piroxicam dermal films. *Latin American Journal of Pharmacy*, 35(2), 305-311.
- Aydın, O.N. (2002). Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 3(2), 37-48.
- Aydın, S., Beis, R. ve Can, Ö.D. (2003). Analgesic and antispasmodic activities of 2-(2-nitro-phenyl)-1H-benzimidazole 5-carboxylic acid: evidence for the importance of the 2-(o-substitutedphenyl) group. *Pharmazie*, 58, 405-408.
- Aydın, S., Beis, R., Öztürk, Y., Baser, K.H.C. (1998). Nepetalactone: a new opioid analgesic from nepeta casearea boiss. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 50, 813-817.
- Aydoğan, S. (2015). *Kontrollü ilaç salım sistemleri için polimer kompozit malzemelerin geliştirilmesi, karakterizasyonu ve uygulaması*. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi.
- Baek, J.S. ve Cho, C.W. (2015). Comparison of solid lipid nanoparticles for encapsulating paclitaxel or docetaxel. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 45, 625-631.
- Bastos, G.N.T., Santos, A.R.S., Ferreira, V.M.M., Costa, A.M.R., Bispo, C.I., Silveira, A.J.A., Do Nascimento, J.L.M., (2006). Antinociceptive effect of aqueous extract obtained from roots of physalis angulata L. on mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 103, 241-245.
- Başaran, E., Demirel, M., Sirmagül, B., Yazan, Y. (2010). Cyclosporine-A incorporated cationic solid lipid nanoparticles for ocular delivery. *Journal of Microencapsulation*, 27(1), 37-47.
- Başaran, E., Demirel, M., Sirmagül, B., Yazan, Y. (2011). Polymeric cyclosporine-a nanoparticles for ocular application. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 7, 714-723.
- Başaran, E., Şenel, B., Kırımlıoğlu, G.Y., Güven, U.M., Yazan, Y. (2015). Ornidazole incorporated chitosan nanoparticles for ocular application. *Latin American Journal of Pharmacy*, 34(6), 1180-1188.

- Başaran, E., Yenilmez, E., Berkman, M.S., Büyükköroğlu, G., Yazan, Y. (2014). Chitosan nanoparticles for ocular delivery of cyclosporine A. *Journal of Microencapsulation*, 31(1), 49-57.
- Bermejo, P., Capelo, J.L., Mota, A., Madrid, Y., Camara, C. (2004). Enzymatic digestion and ultrasonication: a powerful combination in analytical chemistry. *Trends in Analytical Chemistry*, 23(9), 654-663.
- Bhalekar, M.R., Upadhaya, P.G., Nalawade, S.D., Madgulkar, A.R., Kshirsagar, S.J. (2015). Anti-rheumatic activity of chloroquine-sln gel on wistar rats using complete freund's adjuvant (cfa) model. *Indian journal of rheumatology*, 10(2), 58 -64.
- Bhalekar, M.R., Pokharkar, V., Madgulkar, A., Patil, N., Patil N. (2009). Preparation and evaluation of miconazole nitrate-loaded solid lipid nanoparticles for topical delivery. *AAPS PharmSciTec*, 10(1), 289-296.
- Bhardwaj, S.K., Dwivedia, K. ve Agarwal, D.D. (2015). A Review: HPLC method development and validation. *International Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 5(4), 76-81.
- Bilensoy, E. (2014). Nanopartiküller. A.Z. Gürsoy (Ed.), *Nanofarmasötikler ve uygulamaları* içinde (s. 23-39). İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını.
- Bindu, N.H.S., Kumar, S.R., Duganath, N., Devanna, N. (2013). Extraction and screening of trimyristin in the seeds of myristica fragnans and in poly herbal formulations by spectroscopic and chromatographic techniques. *International Journal Of Universal Pharmacy And Bio Sciences*, 2(3), 569-581.
- Biswal, I., Dinda, A., Mohanty, S., Dhara, M., Das, D., Chowdary, K.A., Si S. (2011). Influence of drug/polymer ratio on the encapsulation efficiency of highly hydrophilic drug. *Asian Journal of Chemistry*, 23(5), 1973-1978.
- Blanco, M., Alcal M., Gonzalez, J.M., Torras, E. (2006). Near Infrared Spectroscopy in the Study of Polymorphic Transformations. *Analytica Chimica Acta*, 567, 262-268
- Blasi, P., Giovagnoli, S., Schoubben, A., Ricci, M., Rossi, C. (2007). Solid lipid nanoparticles for targeted brain drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, 454-477.

- Boanca, M., Mititelu-Tartau, L., Lupusoru, R.V., Poroach, V., Bibire, N., Lupusoru, C.E. (2015). The effects of soft matter vesicles entrapping magnesium chloride in nociceptive reactivity in mice. *Farmacia*, 63(3), 362-365.
- Boncler, M., Róźalski, M., Krajewska, U., Podśędek, A., Watala C. (2014). Comparison of PrestoBlue and MTT assays of cellular viability in the assessment of anti-proliferative effects of plant extracts on human endothelial cells. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 69, 9-16.
- Borhade, N., Pathan, A.R., Halder, S. , Karwa, M., Dhiman, M., Pamidiboina, V., Gund, M., Deshattiwar, J.J., Mali, S.V., Deshmukh, N.J., Senthilkumar, S.P., Gaikwad, P., Tippamam, S.G., Mudgal, J., Dutta, M.C., Burhan, A.U., Thakre, G., Sharma, A., Deshpande, S., Desai, D.C., Dubash, N.P., Jain, A.K., Sharma, S., Nemmani, K.V.S, Satyam, A. (2012). NO-NSAIDs part 3: nitric oxide-releasing prodrugs of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 60(4), 465-481.
- Bosch, M., Manucci, S., Torras, E., Falorni, R., Gonzalez, J.M. (2007). Polymorphic forms of dexketoprofen trometamol, preparation and pharmaceutical compositions thereof. Avrupa Patent Uygulamaları. Patent No: EP1739072 A1
- Bucolo, C., Drago, F. ve Salomone, S. (2012). Ocular drug delivery: a clue from nanotechnology. *Pharmacology&therapeuetics*, 130(2), 192-201.
- Bueno, L.M., Manoel, J.W., Giordani, C.F.A., Mendez, A.S.L., Volpato, N.M., Schapoval, E.E.S., Steppe, M., Garcia, C.V. (2017). HPLC method for simultaneous analysis of ticagrelor and its organic impurities and identification of two major photodegradation products. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97, 22-29.
- Buhr, E., Senftleben, N., Klein, T., Bergmann, D., Gnieser, D., Frase, C.G., Bosse, H. (2009). Characterization of nanoparticles by scanning electron microscopy in transmission mode. *Measurement Science and Technology*, 20, 1-9.
- Bunjes, H. ve Unruh, T. (2007). Characterization of lipid nanoparticles by differential scanning calorimetry, x-ray and neutron scattering. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, 379-402.

- Burke, D. ve Bannister, J. (2003). Dexketoprofen trometamol in post-operative pain management. *Acute Pain*, 5, 57-62.
- Bühler, V. (2008). *Kollidon®*. 9. Baskı. Ludwigshafen: BASF SE Pharma Ingredient & Services Yayınları.
- Bürkia, K., Arpagausb, J.C. ve Betza, G. (2011). New insights into respirable protein powder preparation using a nanospray dryer. *International Journal of Pharmaceutics*, 408, 248-256.
- Büyükköroğlu, G. (2005). *Farmasötik biyoteknoloji’de gen tedavisi amaçlı plazmit DNA taşıyıcı katyonik katı lipit nano veya mikropartiküllerin hazırlanması çalışmaları*. Doktora Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi
- Büyükköroğlu, G., Yazan, Y. ve Öner, A.F. (2015). Preparation and physicochemical characterizations of solid lipid nanoparticles containing DOTAP for DNA delivery. *Turkish Journal of Chemistry*, 39, 1012-1024.
- Caldorera-Moore, M., Guimard, N., Shi, L., Roy, K. (2010). Designer nanoparticles: Incorporating size, shape, and triggered release into nanoscale drug carriers. *Expert Opinion Drug Delivery*, 7(4), 479-795.
- Carabaza, A., Cabré, F., Rotllan, E., Gómez, M., Gutiérrez, M., García, M. L., Mauleón, D. (1996). Stereoselective inhibition of inducible cyclooxygenase by chiral nonsteroidal anti-inflammatory agents. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 36, 505-512.
- Chan, Y.H. ve Wu, P.J. (2014). Semiconducting polymer nanoparticles as fluorescent probes for biological imaging and sensing. *Particle and Particle Systems Characterization*, DOI: 10.1002/ppsc.201400123, 1-18.
- Chandran, I.S. ve Prasanna, P.M. (2016). Formulation and evaluation of analgesic activity of polysorbate 80-coated loperamide liposomes in mice. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(11), 2297-2302.
- Chaturvedi, S.P. ve Kumar, V. (2012). Production techniques of lipid nanoparticles: A Review. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 3(3), 525-541.

- Chonga, G.H., Yunus, R., Choong, T.S.Y., Abdullah, N., Spotar, S.Y. (2011). Simple guidelines for a self-built laboratory-scale supercritical anti-solvent system. *The Journal of Supercritical Fluids*, 60, 69-74.
- Çelebi, N. (2004). Kolloitler. A.Z. Gürsoy (Ed.), *Farmasötik teknoloji-Temel konular ve dozaj şekilleri içinde* (s. 245-255). İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını.
- Dandagi, P.M., Dessai, G.A., Gadad, A.P., Desai, V.B. (2014). Formulation and evaluation of nanostructured lipid carrier (nlc) of Lornoxicam. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(2), 73-77.
- Dash, S., Murthy, P.N., Nath, L., Chowdhury, P. (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*, 67(3), 217-223.
- deMan, J.M., Mostafa, A.N. ve Smith, A.K. (1985). Thermal analysis microscopy for the study of phase changes in fats. *Food Microstructure*, 4, 233-239.
- Demir, Ö. (2014). *Tasarımla kalite (qbd) yaklaşımı kapsamında deksketoprofen trometamol tabletlerinin modelleme teknolojisi kullanılarak proses ve formülasyon tasarım aralığının belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi.
- Demirel, M. ve Yazan, Y. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN). *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25(4), 167-179.
- Derman, S., Kızılbey, K. ve Akdeste, Z.M. (2013). Polymeric nanoparticles. *Journal of Engineering and Natural Sciences*, 31, 107-120.
- des Rieux, A., Fievez, V., Garinot, M., Schneider, Y.J., Préat, V. (2006). Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines: a mechanistic approach. *Journal of Controlled Release*, 116, 1-27.
- Dhankar, P. (2014). Homogenization fundamentals. *IOSR Journal of Engineering*, 4(5), 1-8.
- Dokic, P. ve Sherman, P. (1980). Study on thermal induced phase inversion of concentrated o/w emulsions stabilized by various tween emulsifiers, *Colloid and Polymer Science*, 258, 1159-1169.

- Dortunç, B. (2002). Oral sistemler. A.Z. Gürsoy (Ed.), *Kontrollü salım sistemleri içinde* (s. 151-176). İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını.
- Dugowson, C.E. ve Gnanashanmugam, P. (2006). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*, 17, 347-354.
- Ekambaram, P., Sathali A.A.A. ve Priyanka K. (2011). Solid lipid nanoparticles: a review. *Scientific Reviews & Chemical Communications*, 2(1), 80-102.
- Erkeç, Ö.E. ve Arihan, O. (2014). Tıbbi çalışmalarda hayvan modelleri. *International Journal of Human Sciences*, 11(2), 50-63.
- Fadda, P., Monduzzi, M., Caboi, F., Piras, S., Lazzari, P. (2013). Solid lipid nanoparticle preparation by a warm microemulsion based process: influence of microemulsion microstructure. *International Journal of Pharmaceutics*, 446, 166-175.
- Farshi, F., Soylemez, S., Koc, F., Durmus, S. (2012). A process for preparing dexketoprofen trometamol form a and form b crystals. Avrupa Patent Uygulamaları. Patent No: EP2475636 A1
- Fini, A., Cavallari, C., Ospitali, F., Gonzalez-Rodriguez, L. (2011). Theophylline-loaded compritol microspheres prepared by ultrasound-assisted atomization. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 100(2), 743-757.
- Florence, A.T. (2005). Nanoparticle uptake by the oral route: fulfilling its potential?. *Drug Discovery Today: Technologies*, 2(1), 75-81.
- Fotakis, G. ve Timbrell, J.A. (2006). In vitro cytotoxicity assays: Comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicology Letters*, 160, 171-177.
- Franco, F., Pérez-Maqueda, L.A. ve Pérez-Rodríguez, J.L. (2004). The effect of ultrasound on the particle size and structural disorder of a well-ordered kaolinite. *Journal of Colloid and Interface Science*, 274, 107-117.
- Freitas, C. ve Müller, R.H. (1998). Spray-drying of Solid Lipid Nanoparticles (SLN™), *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 46, 145-151.
- Gainzaa, G., Chuc, W.S., Guyc, R.H., Pedraza, J.L, Hernandez, R.M., Delgado-Charro, B., Igartual, M. (2015). Development and in vitro evaluation of lipid nanoparticle-

- based dressings for topical treatment of chronic wounds. *International Journal of Pharmaceutics*, 490, 404-411.
- Garti, N. ve Bisperink, C. (1998). Double Emulsions Progress and Application. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 3, 657-667.
- Garud, A., Singh, D. ve Garud, N. (2012). solid lipid nanoparticles (sln): method, characterization and applications. *International Current Pharmaceutical Journal*, 1(11), 384-393.
- Gattefosse. (2014). Smart strategies for sustained release tablets: Compritol® 888 ATO. *Formulation Guidelines for Sustained Release Tablets* içinde (s.1-6). Fransa: Gattefosse Yayınları.
- Gelperina, S., Kisich, K., Iseman, M.D., Heifets, L. (2005). The potential advantages of nanoparticle drug delivery systems in chemotherapy of tuberculosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 172(12), 1487-1490.
- Gois, J.R., Popov, A.V., Guliashvili, T., Serra, A.C., Coelho, J.F.J. (2015). Synthesis of functionalized poly(vinyl acetate) mediated by alkyne-terminated RAFT agents. *Royal Society of Chemistry*, 5, 91225-91234.
- Gonzalez, J.D. (2013). Stable pharmaceutical compositions with a fast onset. Avrupa Patent Uygulamaları. Patent No: EP2671569 A1
- Gökçe, E.H. (2007). *İmmünoşüpresan madde içeren oküler katı lipit nanopartikül formülasyonlarının geliştirilmesi in vitro, ex vivo, in vivo değerlendirilmesi*. Doktora tezi. İzmir: Ege Üniversitesi.
- Gökçe, H.G. ve Özer, Ö. (2014) Katı Lipit Nanopartiküller, A.Z. Gürsoy (Ed.), *Nanofarmasötikler ve uygulamaları* içinde (s. 77-88), İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını.
- Gu, B., Linehan, B. ve Tseng, Y.C. (2015). Optimization of the Büchi B-90 spray drying process using central composite design for preparation of solid dispersion. *International Journal of Pharmaceutics*, 491 (1-2), 208-217.

- Gupta, N.V., Natasha S., Getyala A., Bhat R.S. (2013). Bioadhesive vaginal tablets containing spray dried microspheres loaded with clotrimazole for treatment of vaginal Candidiasis. *Acta Pharma*, 63, 359-372.
- Güven, U.M. (2016). *Antihistaminik etkili oftalmik kontrollü salım gösterem farklı sistemler üzerinde çalışmalar*. Doktora Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi
- Haider, M.J. ve Mehdi, M.S. (2014). Study of morphology and zeta potential analyzer for the silver nanoparticles. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 5(7), 381-387.
- Hao, S., Wang, Y., Wang, B., Deng, J., Liu, X., Liu, J. (2013). Rapid preparation of pH-sensitive polymeric nanoparticle with high loading capacity using electrospray for oral drug delivery. *Materials Science and Engineering: C*, 33, 4562-4567.
- Hawkey, C.J. (2001). COX-1 and COX-2 inhibitors. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 15(5), 801-820.
- Heurtault, B., Saulnier, P., Pech, B., Proust, J.E., Benoit, J.P. (2003). Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. *Biomaterials*, 24, 4283-4300.
- ICH, International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. (2014). ICH Harmonised Tripartite Guideline Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). 1-13.
- Jagdale, S.C., Patil, S.A., Kuchekar, B.S., Chabukswar, A.R. (2011). Preparation and characterization of metformin hydrochloride-compritol 888 ato solid dispersion. *Journal of Young Pharmacists*, 3(3), 197-204.
- Jenning, V., Mader, K. ve Gohla, S.H. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLNTM) based on binary mixtures of liquid and solid lipids: A ¹H-NMR study. *International Journal of Pharmaceutics*, 205, 15-21.
- Jenning, V., ve Gohla S.H. (2000). Comparison of wax and glyceride solid lipid nanoparticles (SLN[®]). *International Journal of Pharmaceutics*, 196, 219-222.

- Jeong, Y., Cho, C., Kim, S., Ko, K., Kim, S., Shim, Y., Nah, J. (2001). Preparation of poly(dl-lactide-co-glycolide) nanoparticles without surfactant. *Journal of Applied Polymer Science*, 80, 2228-2236.
- Joga, R., Kumara, S., Shena, J., Jugadeb, N., Tanb, D.C.T., Gokhaleb, R., Burgessa, D.J. (2016). Formulation design and evaluation of amorphous ABT-102 nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 498, 153-169.
- Kapıcıoğlu, M.İ.S. (2007). Steroid Olmayan Antiinflatuar İlaçlar (NSAİİ). *TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi*, 6(1-2), 69-70.
- Kapsea, S.V., Gaikwadb, R.V., Samadb, A., Devarajana, P.V. (2012). Self nanoprecipitating preconcentrate of tamoxifen citrate for enhanced bioavailability. *International Journal of Pharmaceutics*, 429, 104-112.
- Kaş, H.S. (2002). İlaç taşıyıcı partiküler sistemler. A.Z. Gürsoy (Ed.), *Kontrollü salım sistemleri içinde* (s. 65-102). İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını.
- Kavaz, D. (2011). Nanopartiküller. *Nanobülten, Aylık Nanoteknoloji ve Nanotıp Bilim Dergisi*, 12, 12-19.
- Khoshneviszadeh, R., Bazzaz, B.S.F, Housaindokht, M.R., Ebrahim-Habibi, A., Rajabi, O. (2016). A comparison of explanation methods of encapsulation efficacy of hydroquinone in a liposomal system. *Journal of Paramedical Sciences*, 7(2), 23-28.
- Kılıç, F.S., Sirmagül, B., Öner, S., Erol, K. (2006). Putative antinociceptive effect of alpha-tocopherol in mice. *The Pain Clinic*, 18(1), 57-62.
- Kırımlıoğlu, G. ve Yazan, Y. (2016a). Formulation and *in vitro* characterization of polymeric nanoparticles designed for oral delivery of levofloxacin hemihydrate. *European International Journal of Science and Technology*, 5(4), 148-157.
- Kırımlıoğlu, G. ve Yazan, Y. (2016b). Development, characterization and *in vitro* release characteristics of rabeprazole sodium in halloysite nanotubes. *European International Journal of Science and Technology*, 5(4), 99-109.
- Kong, Y. ve Hay, J.N. (2002). The measurement of the crystallinity of polymers by DSC. *Polymer*, 43, 3873-3878.

- Kumar, S. (2014). *Spray dried nano-crystalline powders and in vitro dissolution performance*. Doktora Tezi. Connecticut: University of Connecticut Graduate School.
- Kumari, A., Yadav, S.K. ve Yadav, S.C. (2010). Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75, 1-18.
- Kupiec, T. (2004). Quality-control analytical methods:high-performance liquid chromatography. *International Journal of Pharmaceutical Compounding*, 8(3), 223-227.
- Lason, E. ve Ogonowski, J. (2011). Solid Lipid Nanoparticles-characteristics, application and obtaining. *Chemik*, 65(10), 964-967.
- Lee, S.H., Henga, D., Ng, W.K., Chanb, H.K, Tan, R.B.H. (2011). Nano spray drying: A novel method for preparing protein nanoparticles for protein therapy. *International Journal of Pharmaceutics*, 403, 192-200.
- Li, Y., Wong, H.L., Shuhendler, A.J., Rauth, A.M., Wu, X.Y. (2008). Molecular interactions, internal structure and drug release kinetics of rationally developed polymer-lipid hybrid nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 128, 60-70.
- Lin, P.C., Lin, S., Wang, P.C., Sridhar, R. (2014). Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnology Advances*, 32, 711-726.
- Lippacher, A., Müller, R.H. ve Mäder, K. (2000). Investigation on the Viscoelastic Properties of Lipid Based Colloidal Drug Carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, 196, s. 227-230.
- Lopedota, A., Trapani, A., Cutrignelli, A., Chiarantini, L., Pantucci, E., Curci, R., Manuali, E., Trapani, G. (2009). The use of Eudragit RS 100/cyclodextrin nanoparticles for the transmucosal administration of glutathione. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72, 509-520.
- Loveymi, B.D., Jelvehgari, M., Zakeri-Milani, P., Valizadeh, H. (2012). Design of vancomycin RS-100 nanoparticles in order to increase the intestinal permeability. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2(1), 43-56.

- Lu, G.W. ve Gao, P. (2010). Emulsions and microemulsions for topical and transdermal drug delivery. V.S. Kulkarni (Ed.), *Handbook of non-invasive drug delivery systems* içinde (s. 59-94). Elsevier Inc.
- Mainardes, R.M. ve Evangelista, R.C. (2005). Praziquantel-loaded PLGA nanoparticles: preparation and characterization. *Journal of Microencapsulation*, 22(1), 13-24.
- Mainardi, F., Maggioni, F., Pezzola, D., Zava, D., Zanchin, G. (2014). Dexketoprofen Trometamol in the Acute Treatment of Migraine Attack: A Phase II, Randomized, Double-Blind, Crossover, Placebo nrolled, Dose Optimization Study. *The Journal of Pain*,15(4), 388-394.
- Martín-Banderas, L., Álvarez-Fuentes, J., Durán-Lobato, M., Prados, J., Melguizo, C., Fernández- Arévalo, M. (2012). Cannabinoid derivate-loaded PLGA nanocarriers for oral administration: formulation, characterization, and cytotoxicity studies. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 5793-5806.
- Masood, F. (2016). Polymeric nanoparticles for targeted drug delivery system for cancer therapy. *Materials Science and Engineering C*, 60, 569-578.
- Matsui, H., Shimokawa, O., Kaneko, T., Nagano, Y., Rai, K., Hyodo, I. (2011). The pathophysiology of nonsteroidal antiinflammatory drug (NSAID) induced mucosal injuries in stomach and small intestine. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 48(07), 107-111.
- Mauleón, D., Artigas, R., García, M.L., Carganico, G. (1996). Preclinical and clinical development of dexketoprofen. *Drugs*, 5(24), 24-46.
- Mehnert, W. ve Mäder, K. (2001). Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47, 165-196.
- Mehnert, W. ve Mäder, K. (2012). Solid lipid nanoparticles-Production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 83-101.
- Melli, M. ve Kayaalp, O.S. (2009). Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar. O.S. Kayaalp (Ed.) *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji* içinde (s. 837-871) 9.Baskı. İstanbul: Pelikan yayıncılık.

- Merskey, H. ve Bogduk, N. (2002). Classification of chronic pain descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms (s 1-238). 2. Baskı Seattle:IASP
- Mishra, B., Patel, B.B., BPharm, Tiwari, S., MPharm. (2010). Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6, 9-24.
- Mohanraj, V.J. ve Chen, Y. (2006). Nanoparticles-a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1), 561-573.
- Moore, A.R. ve Barden, J. (2008). Systematic review of dexketoprofen in acute and chronic pain. *BMC Clinical Pharmacology*, 8(11), 1-11.
- Moore, N. (2007). Ibuprofen: a journey from prescription to over-the-counter use. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 48(100), 2-6.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55-63.
- Mudshinge, S.R., Deore, A.B, Patil, S., Bhalgat, C.M. (2011). Nanoparticles: emerging carriers for drug delivery. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 19, 129-141.
- Murakami, Y. ve Shimoyama, Y. (2006). Supercritical extraction of emulsion in microfluidic slug-flow for production of nanoparticle suspension in aqueous solution. *Journal of Supercritical Fluids*, 118, 178-184.
- Muthu, M.S. (2009). Nanoparticles based on plga and its copolymer: an overview. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 3(4), 266-273.
- Müller, R.H., Mäder, K. ve Gohla, S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery-a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1), 161-177.
- Müller, R.H., Mehnert, W., Lucks, J.S., Schwarz, C., zur Mühlen, A., Weyhers, H., Freitas C., Rühl, D. (1995). Solid lipid nanoparticles (sln)-an alternative colloidal carrier system for controlled drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 41, 62-69.

- Nagarwal, R.C., Kant, S., Singh, P.N., Maiti, P., Pandit, J.K. (2009). Polymeric nanoparticulate system: A potential approach for ocular drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 136, 2-13.
- Naha, P.C., Byrne, H.J., ve Panda, A.K. (2012). Role of polymeric excipients on controlled release profile of glipizide from PLGA and Eudragit RS 100 nanoparticles. *Journal of Nanopharmaceutics and Drug Delivery*, 1, 1-29.
- Nair, R., Kumar, A.C.K., Priya, V.K., Yadav, C.M., Raju, P.Y. (2012). Formulation and evaluation of chitosan solid lipid nanoparticles of carbamazepine. *Lipids in Health and Disease*, 11(72), 1-8.
- Nair, R., Priya, K.V., Kumar, K.S.A, Badivaddin, T.M., Sevukarajan, M. (2011). Formulation and evaluation of solid lipid nanoparticles of water soluble drug: isoniazid. *Journal of Pharmaceutical Sciences & Research*, 3(5), 1256-1264.
- Numanoğlu, U. ve Tarımcı, N. (2006). Katı lipid nanopartiküllerin (SLN) özellikleri, farmasötik ve kozmetik alandaki uygulamaları. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 35(3), 211-235.
- Olbrich, C., Bakowsky, U., Lehr, C.M., Müller, R.H., Kneuer, C. (2001). Cationic solid-lipid nanoparticles can efficiently bind and transfect plasmid DNA. *Journal of Controlled Release*, 77, 345-355.
- Ong, C.K.S., Lirk, P., Tan, C.H., Seymour, R.A. (2007). An evidence-based update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clinical Medicine & Research*, 5(1), 19-34.
- Öner, F. (2004). Süspansiyonlar. A.Z. Gürsoy (Ed.), *Farmasötik teknoloji-Temel konular ve dozaj şekilleri* içinde (s. 257-272). İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını.
- Önkol, T., Şahin, M.F., Yıldırım, E., Erol, K., Ito, S. (2004). Synthesis and antinociceptive activity of (5-chloro-2(3H)-Benzoxazolon-3-yl)propanamide derivatives. *Archives of Pharmaceutical Research*, 27(11), 1086-1092.
- Özdamar, K. (1997). Paket programlar ile istatistiksel veri analizi I. Eskişehir: T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları.

- Özgüney, İ., Shuwisitkul, D. ve Bodmeier, R. (2009). Development and characterization of extended release Kollidon® SR mini-matrices prepared by hot-melt extrusion. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 73, 140-145.
- Özgüney, İ. (2011). Peptic Ulcer Disease. J. Chai (Ed.), *Conventional and novel pharmaceutical dosage forms on prevention of gastric ulcers* içinde (s. 323-350). InTech Yayınları.
- Pagar, K. ve Vavia, P. (2013). Rivastigmine-loaded l-lactide-depsipeptide polymeric nanoparticles: decisive formulation variable optimization. *Scientia Pharmaceutica*, 81, 865-885.
- Pal, R. (2008). Viscosity models for multiple emulsions. *Food Hydrocolloid*, 22, 428-438.
- Pandya, J.B., Parmar, R.D., Soniwala, M.M., Chavda, J.R. (2013). Solid lipid nanoparticles: overview on excipients. *Asian Journal of Pharmaceutical Technology & Innovation*, 01(03), 1-9.
- Panyam, J. ve Labhasetwar, V. (2003). Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55, 329-347.
- Patel, R.P., Patel, M.P. ve Suthar, A.M. (2009). Spray drying technology: an overview. *Indian Journal of Science and Technology*, 2(10), 44-47.
- Payab, S., Jafari-Aghdam, N., Barzegar-Jalali, M., Mohammadi, G., Lotfipour, F., Gholikhani, T., Adibkia, K. (2014). Preparation and physicochemical characterization of the azithromycin-Eudragit RS100 nanobeads and nanofibers using electrospinning method. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 24(6), 585-590.
- Perez, B., Bulsara, P., Rawlings, A.V., Wei, W., Jensen, M.M., Wang, Z., Dickens, J., Zhang, S., Elliot, R.P., Glasius, M., Dong, M., Clarke, M.J., Guo, Z. (2016). Ultralong fatty acyl derivatives as occlusive structure lipids for cosmetic applications: synthesis and characterization. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, DOI: 10.1021/acssuschemeng.6b02021, 1-10.
- Perry, L.A., Mossler, C. Atkins, A., Minehart, M. (2014). Cardiovascular risk associated with nsaids and cox-2 inhibitors. *US Pharmacist*, 39(3), 35-38.

- Pignatello, R., Amico, D., Chiechio, S., Spadaro, C., Puglisi, G. (2001). Preparation and analgesic activity of eudragit RS100 microparticles containing diflunisal. *Drug Delivery*, 8, 35-45.
- Pignatello, R., Bucolo, C. ve Puglisi, G. (2002). Ocular tolerability of Eudragit RS100 and RL100 nanosuspensions as carriers for ophthalmic controlled drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 91(12), 2636-2641.
- Pignatello, R., Ferro, M. ve Puglisi, G. (2002). Preparation of solid dispersions of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with acrylic polymers and studies on mechanisms of drug-polymer interactions. *AAPS PharmSciTech*, 3(2), 1-10.
- Pignatello, R., Ricupero, N., Bucolo, C., Maugeri, F., Maltese, A., Puglisi, G. (2006). Preparation and characterization of eudragit retard nanosuspensions for the ocular delivery of cloricromene. *AAPS PharmSciTech*, 7(1), 1-7.
- Priyanka, K. ve Sathali, A.A.H. (2012). Preparation and Evaluation of Montelukast Sodium Loaded Solid Lipid Nanoparticles. *Journal of Young Pharmacists*, 4(3), 129-137.
- Raffin, R.P., Obach, E.S., Mezzalira, G., Pohlmann, A.R., Guterres, S.S. (2003). Nanocápsulas poliméricas secas contendo indometacina: estudo de formulação e de tolerância gastrintestinal em ratos. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 22(2), 163-172.
- Rakers, S., Imse, F. ve Gebert, M. (2014). Real-time cell analysis: sensitivity of different vertebrate cell cultures to copper sulfate measured by xCELLigence. *Ecotoxicology*, 23, 1582-1591.
- Ramteke, K., Joshi, S.A. ve Dhole, S.N. (2012). Solid lipid nanoparticle: a review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 2(6), 34-44.
- Rao, J.P. ve Geckeler, K.E. (2011). Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. *Progress in Polymer Science*, 36, 887-913.
- Reis, C.P., Ferreira, J.P., Candeias, S., Fernandes, C., Martinho, N., Aniceto, N., Cabrita, A.S., Figueiredo, I.V. (2013). Ibuprofen nanoparticles for oral delivery: proof of concept. *Journal of Nanomedicine and Biotherapeutic Discovery*, 4(1), 1-5.

- Reis, C.P., Neufeld R.J., Ribeiro, A.J., Veiga, F. (2006). Nanoencapsulation I. methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 2, 8-21.
- Reis, C.P., Neufeld, R.J., Ribeiro, A.J., Veiga, F. (2006). Nanoencapsulation II. Biomedical applications and current status of peptide and protein nanoparticulate delivery systems. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 2, 53-65.
- Rodríguez, M.J., Contreras, D., Gálvez, R., Castro, A., Camba, M.A., Busquets, C., Herrera, J. (2003). Double-blind evaluation of short-term analgesic efficacy of orally administered dexketoprofen trometamol and ketorolac in bone cancer pain. *Pain*, 104, 103-110.
- Rohrs, B.R. (2001). Dissolution method development for poorly soluble compounds. *Dissolution Technologies*, 8(3), 6-12.
- Roullin, V.G., Callewaert, M., Molinari, M., Delavoie, F., Seconde, A., Andry, M.C. (2010). Optimised NSAIDs-loaded biocompatible nanoparticles. *Nano-Micro Letters*, 2(4), 247-255.
- Sagir, O., Sunay, F.B., Yildirim, H., Aksoz, E., Ozsalan, S., Koroglu, A., Aydemir, T., Ulus, A.E., Kockar, F. (2013). Evaluation of the effects of dexketoprofen trometamol on knee joint: an in vivo & in vitro study. *Indian Journal of Medical Research*, 138(6), 912-918.
- Sahoo, S.K., Dilnawaz, F. ve Krishnakumar, S. (2008). Nanotechnology in ocular drug delivery. *Drug Discovery Today*, 13 (3-4), 144-151.
- Santos, H.M. ve Capelo, J.L. (2007). Trends in ultrasonic-based equipment for analytical sample treatment. *Talanta*, 73, 795-802.
- Sapsford, K.E., Tyner, K.M., Dair, B.J., Deschamps, J.R., Medintz, I.L. (2011). Analyzing nanomaterial bioconjugates: a review of current and emerging purification and characterization techniques. *Analytical Chemistry*, 83, 4453-4488.
- Schubert, M.A. ve Muller-Goymann, C.C. (2003). Solvent injection as a new approach for manufacturing lipid nanoparticles-evaluation of the method and process

- parameters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 55(1), 125-131.
- Sevimli, R. (2011). *Deksketoprofen trometamol kullanımının kırık iyileşmesi üzerine etkisinin ratlarda incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş: Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Shadab, B., Ali, M., Baboota, S., Sahni, J.K., Bhatnagar, A., Ali, J. (2014). Preparation, characterization, in vivo biodistribution and pharmacokinetic studies of donepezil-loaded PLGA nanoparticles for brain targeting. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 40(2), 278-287.
- Shah, K.A., Date, A.A., Joshi, M.D., Patravale, V.B. (2007). Solid lipid nanoparticles (sln) of tretinoin: potential in topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 345, 163-171.
- Shang, L., Wang, Y., Jiang, J., Dong, S. (2007). pH-Dependent protein conformational changes in albumin:gold nanoparticle bioconjugates: a spectroscopic study. *Langmuir*, 23, 2714-2721.
- Shen, J. ve Burgess, D.J. (2013). In vitro dissolution testing strategies for nanoparticulate drug delivery systems: recent developments and challenges. *Drug Delivery and Translational Research*, 3(5), 409-415.
- Sherman, P. ve Parkinson, C. (1978). Mechanism of temperature induced phase inversion in o/w emulsions stabilised by o/w and w/o emulsifier blends. *Progress in Colloid and Polymer Science*, 63, 10-14.
- Shin, S.B., Cho, H.Y., Kim, D.D., Choi, H.G., Lee, Y.B. (2010). Preparation and evaluation of tacrolimus-loaded nanoparticles for lymphatic delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 74, 164-171.
- Siddiqui, A., Alayoubi, A., El-Malah, Y., Nazzal, S. (2014). Modeling the effect of sonication parameters on size and dispersion temperature of solid lipid nanoparticles (SLNs) by response surface methodology (RSM). *Pharmaceutical Development and Technology*, 19(3), 342-346.
- Singh, R. ve Lillard, J. (2009). Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Experimental and Molecular Pathology*, 86, 215-223.

- Singh, R. ve Lillard, J.W. (2009). Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Experimental and Molecular Pathology*, 86, 215-223.
- Soltani, S., Zakeri-Milani, P., Barzegar-Jalal, M., Jelvehgari, M. (2016). Design of eudragit RL nanoparticles by nanoemulsion method as carriers for ophthalmic drug delivery of ketotifen fumarate. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 19(5), 550-560.
- Sonics® Sonics&Materials, INC. (2015). *High Intensity Liquid Processors*. (1. Baskı). Newtown, Connecticut, Amerika.
- Sonje, A. ve Chandra, A. (2013). Comprehensive review on Eudragit polymers. *International Research Journal of Pharmacy*, 4(5), 71-74.
- Soppimatha, K.S., Aminabhavia, T.M., Kulkarnia A.R., Rudzinski W.E. (2001). Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of Controlled Release*, 70, 1-20.
- Sostres, C., Gargallo, C.J., Arroyo, M.T., Lanas, A. (2010). Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 24, 121-132.
- Souto, E.B., Mehnert, W. ve Müller, R.H. (2006). Polymorphic behaviour of Compritol 888 ATO as bulk lipid and as SLN and NLC. *Journal of Microencapsulation*, 23, 417-433.
- Souto, E.B., Wissing, S.A., Barbosa, C.M., Müller, R.H. (2004). Evaluation of the physical stability of SLN and NLC before and after incorporation into hydrogel formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 58, 83-90.
- Sternke, E.A., Abrahamson, K. ve Bai, M.J.(2016). Comorbid chronic pain and depression: patient perspectives on empathy. *Pain Management Nursing*, 17 (6), s. 1-9.
- Stockert, J.C., Blázquez-Castroa, A., Canete, M., Horobin R.W., Villanueva, A. (2012). MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. *Acta Histochemica*, 114, 785-796.

- Surender, V. ve Deepika, M. (2016). Solid lipid nanoparticles: a comprehensive review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(8), 102-114.
- Sutaria, D., Grandhi, B.K., Thakkar, A., Wang, J., Prabhu, S. (2012). Chemoprevention of pancreatic cancer using solid-lipid nanoparticulate delivery of a novel aspirin, curcumin and sulforaphane drug combination regimen. *International Journal of Oncology*, 41, 2260-2268.
- Şenel, S. (2014). Nanotaşıyıcılarda kullanılan polimerler. A.Z. Gürsoy (Ed.), *Nanofarmasötikler ve uygulamaları* içinde (s. 9-22). İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını.
- Tantra, R., Schulze, P. ve Quincey, P. (2010). Effect of nanoparticle concentration on zeta-potential measurement results and reproducibility. *Particuology*, 8, s. 279-285.
- Tartau., L., Lupuşoru., R.V., Bindar., D., Melnig., V. (2010). Experimental research on the effects of nano-vesicles encapsulating ketoprofen in a visceral pain model in mice. *Terapeutics, Pharmacology and Clinical Toxicology*, 24(2), 113-116.
- Tırnaksız, F. (2014). Nanoemülsiyonlar. A.Z. Gürsoy (Ed.), *Nanofarmasötikler ve uygulamaları* içinde (s. 101-108). İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını.
- Tiwari, R., Srivastava, B., Tiwari, G. , Rai, A. (2009). Extended release promethazine HCl using acrylic polymers by freeze-drying and spray-drying techniques: formulation considerations. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(4), 829-840.
- Trotta, M., Debernardi, F. ve Caputo, O. (2003). Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification-diffusion technique. *International Journal of Pharmaceutics*, 257, 153-160.
- Turk, C.T.S., Oz, U.C., Serim, T.M., Hascicek, C. (2014). Formulation and optimization of nonionic surfactants emulsified nimesulide loaded plga-based nanoparticles by design of experiments. *AAPS PharmSciTech*, 15(1), 161-176.

- Ubricha, N., Schmidt, C., Bodmeier, R., Hoffman, M., Maincent, P. (2005). Oral evaluation in rabbits of cyclosporin-loaded Eudragit RS or RL nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 288(1), 169-175.
- USP 31-NF 26. (2008). Physical Tests, <711> Dissolution. The United States Pharmacopeia-National Formulary (USP-NF), Baltimore, Amerika s. 267-278.
- Uzbay, T. (2004). Analjezi ölçümünde kullanılan modeller. *Psikofarmakolojinin temelleri ve deneysel araştırma teknikleri* içinde (s. 139-146). Ankara:Çizgi Tıp Yayınevi.
- Üneri M. ve Yeneri G. (2007). Importance of solid lipid nanoparticles (SLN) in various administration routes and future perspectives. *International Journal of Nanomedicine*, 2(3), 289-300.
- Venkateswarlu, V. ve Manjunath, K. (2004). Preparation, characterization and in vitro release kinetics of clozapine solid lipid nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 95, 627-638.
- Vino, S., Abinaya, A., Divya, V., Ghosh, A.R. (2014). Controlled release of phenytoin sodium from casein microparticles. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 5(2), 233-241.
- Vitorinoa, C., Carvalho, F.A., Almeida, A.J., Sousa, J.J., Pais, A.A.C.C. (2011). The size of solid lipid nanoparticles: An interpretation from experimental design. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 84, 117-130.
- Wang, J., Wang, Y. ve Meng, X. (2016). Chitosan nanolayered cisplatin-loaded lipid nanoparticles for enhanced anticancer efficacy in cervical cancer. *Nanoscale Research Letters*, 11(524), 1-8.
- Wang, L.Q., Exarhos, G.J. ve Liu, J. (1999). Nuclear magnetic resonance-characterization of self-assembled nanostructured materials. *Advanced Materials*, 11(16), 1331-1341.
- Wilson, B., Samanta, M.K., Santhi, K., Kumar, K.P.S., Paramakrishnan, N., Suresh, B. (2008). Targeted delivery of tacrine into the brain with polysorbate 80-coated poly(n-butylcyanoacrylate) nanoparticles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 70, 75-84.

- Wissing, S.A., Kayser, O. ve Müller, R.H. (2004). Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56, 1257-1272.
- Yassin, A.E.B., Anwer, K., Mowafy, H.A., El-Bagory, I.M., Bayomi, M.A., Alsarra, I.A. (2010). Optimization of 5-fluorouracil solid-lipid nanoparticles: a preliminary study to treat colon cancer. *International Journal of Medical Sciences*, 7(6), 398-408.
- Yenilmez, E. (2007). *E vitamini'nin farklı topik formülasyon sistemlerinde salımı ve in vitro-in vivo değerlendirilmesi*. Doktora Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi
- Yenilmez, E., Başaran, E., ve Yazan, Y. (2011). Release characteristics of vitamin E incorporated chitosan microspheres and in vitro-in vivo evaluation for topical application. *Carbohydrate Polymers*, 84, 807-811.
- Yong, H., Yonglin, W., Lingyun, S., Lin, Z., Feng, H., Yu, L.Y., Yongjun, L., Aimin, W., Saggao, L., Zhong, F.X., Wen, Z., Zhirong, Z., Hui, C. (2014). Dextetropfen trometamol quick-release/sustained-release double-layer tablet and preparation method thereof. Çin, No: CN103655504 A
- Yuan, H., Miao, J., Du, Y.Z., You, J., Hu, F.Q., Zeng, S. (2008). Cellular uptake of solid lipid nanoparticles and cytotoxicity of encapsulated paclitaxel in A549 cancer cells. *International Journal of Pharmaceutics*, 348, 137-145.
- Yun, Y., Cho, Y.W. ve Park, K. (2013). Nanoparticles for oral delivery: targeted nanoparticles with peptidic ligands for oral protein delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65, 822-832.
- Zhang, Y., Huo, M., Zhou, J., Zou, A., Li, W., Yao, C., Xie, S. (2010). DDSolver: an add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. *The AAPS Journal*, 12(3), 263-271.
- Zimmermann, E., Souto, E.B., Müller, R.H. (2005). Physicochemical investigations on the structure of drug-free and drug loaded solid lipid nanoparticles (SLNTM) by means of DSC and ¹H-NMR. *Pharmazie*, 60, 508-513.
- Zimmermann, M. (1983). Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*, 16, 109-110.

Zuo, J., Gao, Y., Bou-Chacra, N., Löbenberg, R. (2014). Evaluation of the ddsolver software applications. *BioMed Research International*, Article ID 204925, 1-9.

Zur Mühlen, A., Schwarz, C. ve Mehnert, W. (1998). Solid lipid nanoparticles (sln) for controlled drug delivery - drug release and release mechanism, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 45, 149-155.

¹<http://www.totbid.org.tr/upload/files/Modul6-TemelFarmakoloji-AgriYolaklari.pdf>

(Erişim tarihi 27.10.2016)

²<http://www.ttb.org.tr/STED/sted0101/5.html>

(Erişim tarihi 27.10.2016)

³https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dexketoprofen_trometamol#section=Top

(Erişim tarihi 27.10.2016)

⁴<http://merlab.metu.edu.tr/diferansiyel-taramali-kalorimetre-dsc>

(Erişim tarihi 22.10.2016)

⁵<http://merlab.metu.edu.tr/x-isini-difraktometresi>

(Erişim tarihi 22.10.2016)

⁶https://www.researchgate.net/post/How_to_define_and_calculate_Entrapment_efficiency

(Erişim tarihi: 05.11.2016)

⁷http://www.substech.com/dokuwiki/lib/exe/fetch.php?w=&h=&cache=cache&media=pressure_homogenizer.png

(Erişim tarihi 23.10.2016)

⁸http://www.higuchi-inc.co.jp/pharma/excipient/eudragit/pdf/detail_eudragitRLRS.pdf

(Erişim tarihi: 14.10.2016)

⁹<http://www.petercremerna.com/products/540195879>

(Erişim tarihi: 15.10.2016)

¹⁰<https://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/2012/1001938956.htm>

(Erişim tarihi: 15.10.2016)

¹¹http://www.oc-praktikum.de/nop/en/instructions/pdf/1021_en.pdf

(Erişim Tarihi: 15.11.2016)

¹²http://www.bayar.edu.tr/besergil/IR_3_uygulamalar.pdf

(Erişim Tarihi: 01.12.2016)

¹³<http://www.analyticalspectroscopy.net/ap3-5.htm>

(Erişim Tarihi: 01.12.2016)

¹⁴http://www.bayar.edu.tr/besergil/IR_1.pdf

(Erişim Tarihi: 01.12.2016)

¹⁵<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK32656/>

(Erişim Tarihi: 16.12.2016)

¹⁶<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK32654/>

(Erişim Tarihi: 16.12.2016)

¹⁷<http://www.google.com/patents/WO2013095315A1?cl=en>

(Erişim Tarihi: 25.02.2017)



T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(HADYEK)

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 12. 05. 2016
TOPLANTI SAYISI : 96
DOSYA KAYIT NUMARASI : 519-1
KARAR NUMARASI : 519-1
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ : Doç. Dr. Rana ARSLAN
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR : Arş. Gör. Ahmet Alper ÖZTÜRK
Yrd. Doç. Dr. Evrim YENİLMEZ
HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI : Swiss albino/ Balb -c (96 adet erkek ve dişi)

Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Doç. Dr. Rana ARSLAN'ın araştırma yürütücüsü olduğu 519-1/2016 kayıt numaralı ve "Deksketoprofen Trometamol Yüklü Kontrollü Salım Gösteren Nanoboyutta İlaç Taşıyıcı Sistem Geliştirilmesi " konulu çalışma; Deney Hayvanları Etik Kurulu Yönergesi'ne göre değerlendirilmiş ve gerekçede belirtildiği şekilde yapılması uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Kevser EROL (Başkan)

Prof. Dr. Kubilay UZUNER (Üye)

Prof. Dr. Hasan V. GÜNEŞ (Üye)

Prof. Dr. Emel FUZUPINAR. (Üye)

Doç. Dr. Emel YILDIRIM (Üye)

Yrd. Doç. Dr. Ünal ÖZELMAS (Üye)

Yrd. Doç. Dr. Nurdan KIRIMLIOĞLU (Üye)

Yrd. Doç. Dr. Vet. Hek. Oya ERALP İNAN (Üye)

Vet. Hek. Refik ARTAN (Üye)

Avukat Şükrü KIRDEMİR (Üye)



T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(HADYEK)

GEREKÇE

Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi **Doç. Dr. Rana ARSLAN**'ın araştırma yürütücüsü olduğu 519-1/2016 kayıt numaralı ve **“Deksketoprofen Trometamol Yüklü Kontrollü Salım Gösteren Nanoboyutta İlaç Taşıyıcı Sistem Geliştirilmesi”** konulu çalışma; tarafımızdan değerlendirilmiştir.

NSAİ ilaç grubu üyesi olan deksketoprofen trometamol kullanılarak formülasyonlar hazırlanacaktır. Hayvanlara deksketoprofen trometamol yüklü kitosanlı nanopartikül formülasyonu, deksketoprofen trometamol yüklü Eudragit®'li nanopartikül formülasyonu, deksketoprofen trometamol Compritol® katı lipit nanopartikül formülasyonu, deksketoprofen trometamol yüklü Dynasa® katı lipit nanopartikül formülasyonu ve piyasa preparatının eten maddesi olan deksketoprofen trometamol uygulanacaktır. **Deneyler swiss albino farelerde (28-35g) yapılacaktır (Ancak swiss albino fare bulunamadığı takdirde deneyler balb-c farelerde de yapılabilir).**

Hot-plate testi

Hot-plate (sıcak zemin) testi, en sık kullanılan termal analjezi ölçüm yöntemlerinden biridir. Bu test kapsamında kullanılan ve etrafı pleksiglas bir silindir ile sınırlandırılmış olan UGO BASILE (No: 7280) ısı tablası, 56 ± 1 °C'ye kadar ısıtılır. Hayvanın sıcak zemine bırakıldığı andan, arka ayaklarını çekme, yalama, bacakları üzerinde yükselme veya sıçrama hareketlerinden birinin gözlemlendiği zamana kadar geçen süre ölçülmektedir (Eddy ve Leimback, 1953).

Ölçümler, hayvanlara hem madde verilmeden önce hem de madde verildikten 60 dk sonra ölçüm yapılacaktır. **Deksketoprofen trometamol 50 mg/kg dozda uygulanacaktır.** Hayvanların ayaklarının sıcaktan zarar görmesini engellemek için deneyin bitirilme süresi 30 sn olarak belirlenmiştir. Test maddesinin bu deney modelinde etkili bulunması halinde deneylerin ölçümleri zamana bağlı olarak (180 ve 300 dk) tekrarlanacaktır.

Tail-immersion testi

Analjezi çalışmalarında kullanılan başlıca termal metotlardan bir diğeridir. Hayvanın kuyruğunun ucundan itibaren 3 cm'lik kısmı bir beher içerisinde bulunan $52,5 \pm 0,2$ °C sıcaklığındaki suya daldırılır. Kronometre ile yapılan ölçümler hayvanın kuyruğunun suyun içine daldırıldığı andan, suyun dışına doğru hızlıca çekmesine kadar geçen süreyi kapsar (Schmauss ve Yaksh, 1984).

Ölçümler, hayvanlara madde verilmeden önce ve madde verildikten 60 dk sonra yapılacaktır. Hayvanların kuyruklarının sıcaktan zarar görmesini engellemek için deneyin bitirilme süresi 15 sn olarak belirlenmiştir. Test maddesinin bu deney modelinde etkili



T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(HADYEK)

bulunması halinde deneylerin ölçümleri zamana bağlı olarak (180 ve 300 dk) **tekrarlanacaktır.** Veriler % maksimum olası etki olarak hesaplanacaktır.

Asetik asit kıvrınma testi

Hayvanlarda güçlü viseral ağrı oluşturabilmek için asetik asit solüsyonu kullanılarak uygulanan kimyasal analjezi ölçüm yöntemidir. Hayvanlarda, asetik asidin intraperitoneal olarak uygulanmasından sonra karın kaslarında kasılma ile başlayıp daha sonra arka ayakların geriye doğru gerilmesi ve karnın yere sürtünmesi ile karakterize bir kıvrınma durumu oluşmaktadır (Koster ve ark., 1959). Test maddesinin enjeksiyonundan 60 dk sonra, %0,6' lık asetik asit solüsyonu hayvanlara i.p yolla verilecektir. 5 dk'lık bekleme süresinin sonunda, her hayvanda yukarıda bahsedilen kıvrınma hareketleri 20 dk boyunca gözlenecektir (Nascimento, 2011). Bu deneyler farklı gruplarda zamana bağlı olarak tekrarlanacaktır (180 ve 300 dk).

Deneylerin sonunda tüm deney hayvanlarına yüksek doz anestezi uygulanarak ötanazi yapılacaktır.

Kullanılan yöntemler uluslararası standardı olan yöntemlerdir. Gerekli literatürler verilmiştir. Çalışmanın yapılmasında, Komisyonumuzun olumsuz görüşü bulunmamaktadır.



ESKİŞEHİR
OSMANGAZİ
ÜNİVERSİTESİ

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI

Belge No: 15-16

Sayın Ahmet Alper ÖZTÜRK

28 Mart – 08 Nisan 2016 tarihleri arasında düzenlenen

“Deney Hayvanları Kullanımı İle İlgili B Sınıfı Eğitim Programı” 80 saatlik teorik ve uygulamalarına katılarak tamamlamış ve yapılan sertifika sınavını başarıyla geçmiştir.

Prof. Dr. Kerşer EROL
Hayvan Deneyleri Yerel
Etik Kurulu Başkanı

Prof. Dr. Hasan GÖNEN
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Rektörü





ESKİŞEHİR
OSMANGAZI
ÜNİVERSİTESİ

ESKİŞEHİR OSMANGAZI UNIVERSITY ETHICAL ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE

Certificate of Education and Training in the Care and Use of Laboratory Animals

Reference Number: 15-16

This certificate confirms that Ahmet Alper ÖZTÜRK attended B Class of theoretical lessons and practices in the training course of Animal Care and Use held in Eskişehir Osmangazi University for 80 hours during March 28 – April 08, 2016, and successfully passed the certification examination.

Prof. Dr. Kevser EROL

Eskişehir Osmangazi University IACUC Program
Director

Prof. Dr. Hasan GÖNEN

President of Eskişehir Osmangazi University



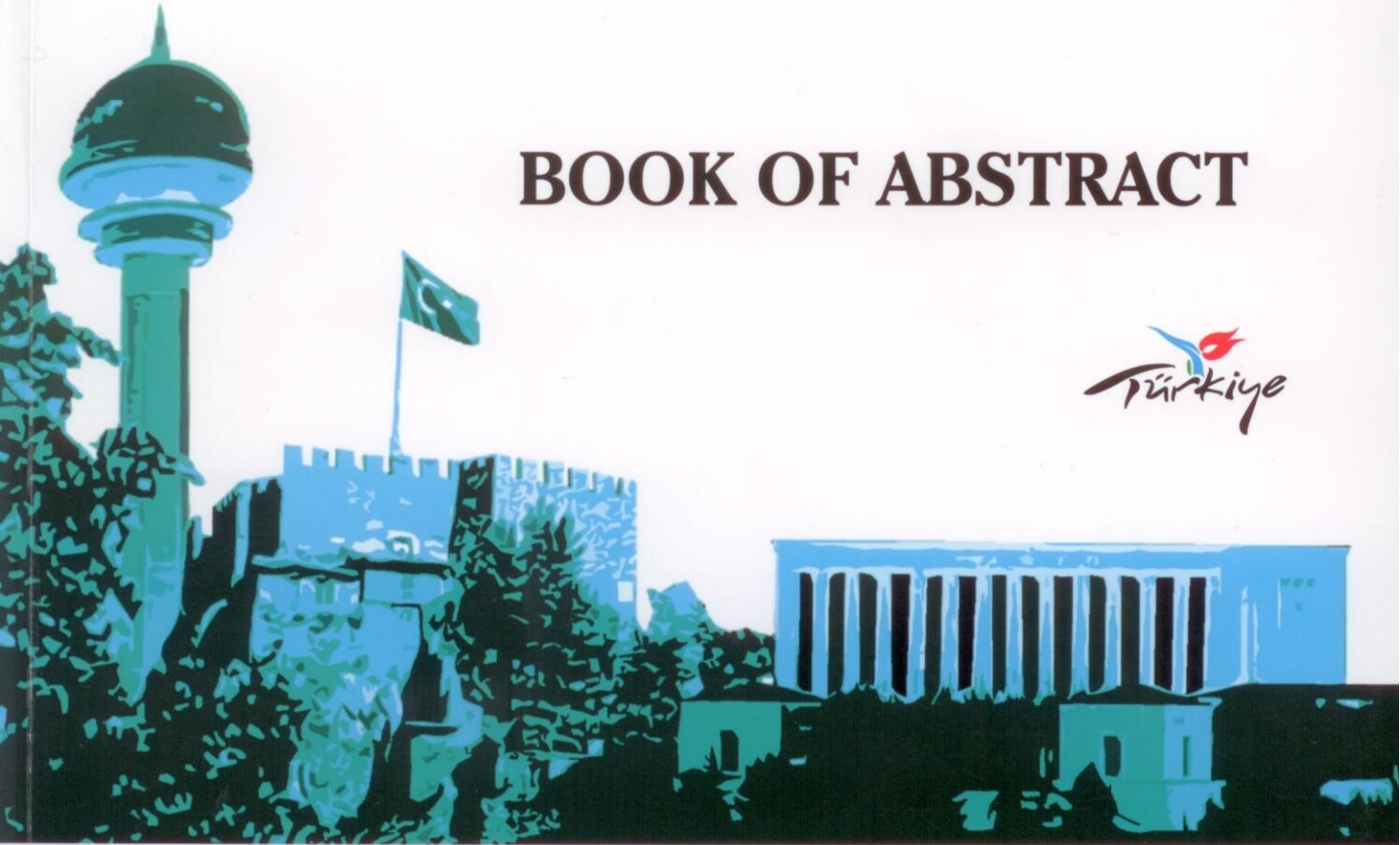


**ANKARA UNIVERSITY
FACULTY OF PHARMACY**



**I
S
O
P
S** **11th** **International
SYMPOSIUM ON
PHARMACEUTICAL
SCIENCES**

BOOK OF ABSTRACT



T.C.
KÜLTÜR VE TURİZM BAKANLIĞI



TÜBİTAK

**JUNE 09-12, 2015
ANKARA, TURKEY**

In vitro Evaluation of NPs

Surface Morphology

The surface morphology of the nanoparticles was examined by scanning electron microscope (SEM) (NOVA NanoSEM 430, FEI, Czech Republic).

Determination of drug content of NPs and *In vitro* release study

Lyophilized nanoparticles (20 mg) in dichloromethane were sonicated for 15 minutes in ultrasonic bath and then mixed at 800 rpm for 30 minutes. To extract melatonin, phosphate buffer (PB; pH 7.4) was added into this mixture and mixed (800 rpm, 60 min.) After evaporation of organic solvent, the remaining aqueous dispersion was centrifuged at 12,000 rpm for 20 minutes. The drug content of each sample was then measured using a validated UV method at 222 nm.

In vitro release studies were performed using dialysis bag method. The freeze dried microparticles (15 mg) were suspended in PB pH 7.4 and sealed in a dialysis membrane (MWCO 14,000 Da). The sealed dialysis membrane was then placed in an amber vial containing 9 mL of PB (pH 6.8), and maintained at $(37 \pm 0.5^\circ\text{C})$, 50 rpm). At predetermined time intervals, samples (3 mL) were withdrawn from the release medium and replaced with fresh buffer. Prior to analysis, all samples were centrifuged at 12500 rpm for 10 min, and their drug content was measured by means of a validated UV method at 222 nm.

RESULTS AND DISCUSSION

Surface Morphology: The SEM image of melatonin-loaded NPs was given in Fig. 1.

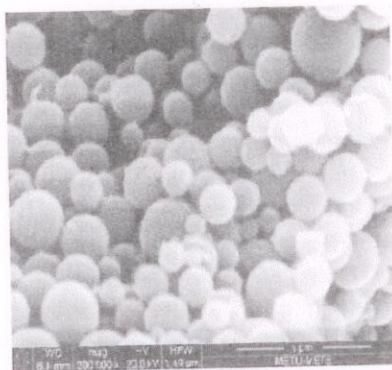


Fig. 1. The SEM image of melatonin-loaded NPs

Determination of drug content of NPs and *In vitro* release study: Unfortunately, the low encapsulation efficiency ($3 \pm 0.02\%$; mean $\pm$ SD, $n=2$) was observed for NPs. It may be due to the leakage of melatonin to the external medium during the preparation of NPs. Thus, more attempts (modifying the preparation method of NPs or using different methods/polymers) should be carried out to improve the encapsulation efficiency of melatonin. In PB (pH 7.4), about 15% and 89% of melatonin was released at 30 minutes and 48 hours, respectively (Fig. 2).

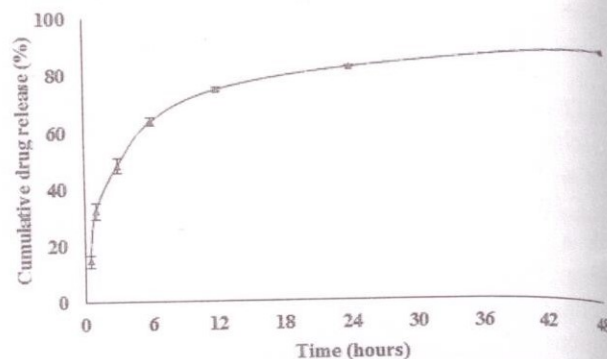


Fig. 2. *In vitro* release profile of melatonin from PLGA NPs (mean $\pm$ SD, $n=3$)

CONCLUSION

This study reports the preparations and *in vitro* evaluation of melatonin-loaded PLGA NPs. It might be useful to overcome the problems related to melatonin.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by Ataturk University Research Foundation (project number: 2013/012).

REFERENCES

- Schaffazicka, S.R.; Pohlmann, A.R.; Cordovac, C.A.S.; Creczynski-Pasac, T.B.; Guterres, S.S., Protective properties of melatonin-loaded nanoparticles against lipid peroxidation. *Int J Pharm* **2005**, 289(1-2), 209-213.
- Schaffazick, S.R.; Siqueira I.R.; Badejo A.S.; Jornada D.S.; Pohlmann A.R.; Netto C.A.; Guterres S.S., Incorporation in polymeric nanocapsules improves the antioxidant effect of melatonin against lipid peroxidation in mice brain and liver. *Eur J Pharm Biopharm* **2008**, 69(1), 64-71.
- Hafner, A.; Lovric, J.; Voinovich, D.; Filipovic-Gricic, J., Melatonin-loaded lecithin/chitosan nanoparticles: Physicochemical characterisation and permeability through Caco-2 cell monolayers. *Int J Pharm* **2009**, 381(2), 205-213.

P-62: PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF DEXKETOPROFENTROMETHAMOL LOADED KOLLIDON-SR NANOPARTICLES

A.A. Öztürk¹, E. Yenilmez¹, Y. Yazan¹

¹Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Eskisehir, TURKEY

INTRODUCTION

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are widely used for the treatment of musculoskeletal disorders such as osteoarthritis and rheumatoid arthritis [1]. Arylpropionic acid is among the NSAIDs which is currently produced in the racemic form. Dexketoprofen trometamol (DT) is the dextrorotatory enantiomer of ketoprofen synthesized as trometamine salt [2]. DT's distribution half-life and elimination

half-life are 0.35 and 1.65 hours, respectively [3]. Kollidon SR (KSR) is a polyvinyl acetate and povidone based matrix retarding agent [4]. Polymeric nanoparticles prepared by spray-drying method for controlled analgesic delivery of oral use was aimed in this study.

MATERIALS AND METHODS

DT was a kind gift from Abdi İbrahim (İstanbul, Türkiye). KSR was purchased from BASF, Germany and methanol from Sigma-Aldrich, Germany. Spray-drying was performed using Nano Spray Dryer B-90 (BÜCHI) with a long drying chamber.

For the preparation of polymeric nanoparticles, KSR was dissolved in methanol prior to the addition of DT. Spray-drying conditions are given in Table 1 and formulations prepared are summarized in Table 2.

Table 1. Spray Dryer conditions

Inlet Temperature	Outlet Temperature	Pump level	Spray level
120°C	54°C	3	%100

Table 2. Formulations

Code	KSR(g)	DT(g)	Methanol(mL)
KSR 0	1	-	100
KSR 1	1	0.05	100
KSR 2	1	0.1	100
KSR 3	1	0.15	100

Particle size, zeta potential and polydispersity index (PI) values of formulations were analyzed by Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK). Possible temperature-dependent structure and crystallinity changes in the nanoparticles prepared were analyzed using differential scanning calorimetry (DSC-60, Shimadzu, Japan).

RESULTS AND DISCUSSION

Table 3. Particle size, zeta potential and PI values of nanoparticles prepared (mean $\pm$ SE) (n = 3)

Code	Size (nm)	Zeta potential (mV)	PI
KSR 0	92.74 $\pm$ 0.98	-16.33 $\pm$ 0.12	0.38 $\pm$ 0.01
KSR 1	110.60 $\pm$ 1.87	-16.43 $\pm$ 0.45	0.38 $\pm$ 0.01
KSR 2	226.10 $\pm$ 0.75	-16.43 $\pm$ 0.76	0.38 $\pm$ 0.01
KSR 3	357.90 $\pm$ 1.72	-17.13 $\pm$ 0.17	0.39 $\pm$ 0.02

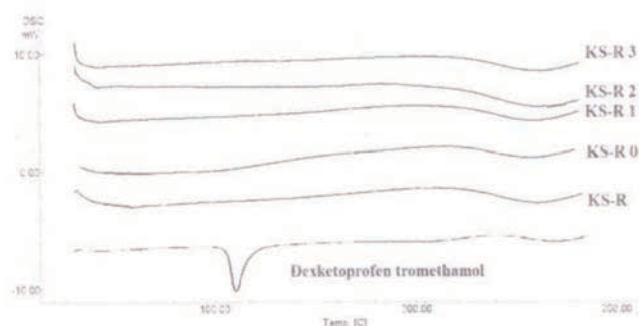


Figure 1. DSC profiles of nanoparticles prepared

CONCLUSION

KSR nanoparticles were prepared for analgesic delivery of DT by spray-drying method. Particle size, zeta potential and PI values and DSC analysis of formulations prepared confirmed the successful incorporation of DT into KSR nanoparticles. KSR formulations seem to be promising for controlled delivery of DT for oral use.

REFERENCES

1. Komatsu, T., Sakurada, T., Comparison of the efficacy and skin permeability of topical NSAID preparations used in Europe, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 47, 890-895 (2012).
2. Burke, D., Bannister, J., Dexketoprofen trometamol in post-operative pain management, *Acute Pain*, 5, 57-62 (2003).
3. <https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/17099>
4. Sakr, W., Alanazi, F., Sakr, A., Effect of Kollidon®SR on the release of albuterol sulphate from matrix tablets, *Saudi Pharm. J.*, 19, 19-27 (2011)

P-63: MAGNOLLOLOADED MESOPOROUS SILICA NANOPARTICLES FOR MODIFIED DRUG DELIVERY APPLICATIONS

A. Stefanache¹, A. Spac¹, A. M. Tomoioga², L. Ochiuz¹

¹University of Medicine and Pharmacy "Grigore T. Popa" Faculty of Pharmacy, Iasi, Romania,

²"A.I. Cuza" University of Iasi, Romania

INTRODUCTION

Natural products are proved historically to be a promising pool for drug discovery and application that have reduced toxicity, less side effects and are significantly well tolerated by the human body [1]. Therefore, considerable attention is focused on development of new approaches to deliver the active ingredients of an herbal drug, in such a controlled manner to improve its therapeutic outcomes. The goal of the present study is to develop such novel delivery systems based on unique properties of mesoporous silica materials specifically designed for loading and sustained-release of magnolol. Mesoporous silica as MCM-41 and SBA-15 have ordered, non-connecting pore structure, well-defined pore geometry, and

Kultur, S. P-279, P-306
 Kunak, C. S. OP-20, P-402
 Kupeli Akkol, E. P-325
 Kurbanoglu, S. OP-16, P-46, P-103
 Kurkuoglu, M P-361
 Kurnaz Yetim, N. P-138, P-139, P-155, P-156
 Kursun Aktar, B. S. P-176
 Kurt, M. P-313
 Kurt, Z. OP-13
 Kurtul, E. P-289
 Kurus, M. P-388
 Kus, C. P-183
 Kus, G. OP-10
 Kusman, T. P-181, P-285, P-334
 Kutlu, T. P-146, P-147
 Kutluay, V. M. P-341

L

Lacaille Dubois, M. A. PL-4
 Lacaille Dubois M. A. P-328
 Lachmann, M. P-74
 Laifa, E. A. P-203
 Lalaoui, K. P-367
 Lando, D. P-192
 Laouer, H. P-308
 Lazari, D. P-304
 Levent, S. P-231
 Lingeman, H. PL-12
 Lobenberg, R. P-77
 Lühring, H. PL-26

M

Macit, C. OP-26, P-95
 Macit, E. P-391, P-392, P-400
 Macit, M. OP-26, P-95
 Maiga, I. H. P-367
 Majekova, M. P-404
 Mamur, B. A. P-150
 Mansouri, O. OP-29
 Mares, M. P-92
 Marino, A. P-280
 Marrazza, G. PL-17
 Martinez, R. PL-18
 Matarashvili, I. P-20, P-56
 Matic, M. P-132
 Maulik, N. PL-32
 Mayorga Martinez, C. C. P-46
 Medina Sánchez, M. P-46
 Mega Tiber, P. P-414
 Merkoci, A. PL-2, P-46
 Mesut, B. P-68
 Miceli, N. P-280
 Midilli, A. OP-11
 Mihoglugil, F. P-297
 Milosevic Ifantis, T. P-304
 Miski, M. P-297, P-336
 Mitaine Offer, A. C. P-328
 Miyamoto, T. P-328
 Moghimipour, E. P-77, P-108
 Moien Moghimi, S. PL-11
 Mutlu, P. P-116, P-391, P-392, P-400

N

Nantchouang Ouete, J. L. P-355
 Nassima, Z. P-203
 Nemutlu, D. P-123
 Nemutlu, E. OP-8, P-57
 Nenni, M. P-35
 Ngadjui, B. T. P-355
 Nural, Y. P-187, P-226
 Nuray Yalcin, F. P-300

O

Ochiuz, L. P-63, P-92
 Ogutcu, H. P-139, P-155
 Oke Altuntas, F. P-354, P-355, P-356, P-357
 Okten, S. P-220
 Olgen, S. OP-13, P-239, P-247
 Onar, A. N. P-3, P-38
 Onbasli, D. P-287
 Onder, A. P-375
 Onec, K. P-136
 Oner, A. F. P-135
 Onguru, O. P-391, P-400
 Onur, F. P-11, P-31
 Oral, M. P-267
 Oruc Emre, E. E. P-176, P-185
 Orun, O. P-414
 Otlu, O. P-388
 Oz, U. C. P-67
 Ozadali Sari, K. P-186, P-189, P-218
 Ozakar, E. P-78
 Ozakca, I. P-119, P-121
 Ozalp, Y. P-74
 Ozaltin, N. P-45
 Ozay, Y. P-373
 Ozbas Turan, S. P-232
 Ozbek, N. P-243
 Ozbilge, H. P-421
 Ozbilgin, S. P-282, P-325
 Ozcan, S. P-36, P-50
 Ozcelik, A. B. P-177, P-221, P-222
 Ozcelik, B. P-213
 Ozcelik, E. P-68
 Ozcelikay, A. T. P-121
 Ozcelikay, G. P-14, P-84
 Ozcelikay, G. P-258, P-259, P-261, P-262, P-263, P-264, P-267, P-268
 Ozcicek, Z. OP-23
 Ozdamar, E. D. P-399
 Ozdemir, A. P-169, P-234
 Ozdemir, C. E. P-96
 Ozdemir, D. I. OP-22
 Ozdemir, E. S. P-250
 Ozdemir, H. P-407
 Ozdemir, M. P-28, P-29, P-30
 Ozdemir, N. P-99
 Ozdemir, S. P-95
 Ozdemir Ozmen, U. P-241, P-242, P-243, P-244
 Ozel, A. P-137, P-165, P-283
 Ozel Kizil, E. T. P-407
 Ozen, C. P-168, P-208
 Ozen Erol, O. P-38

Ozenver, N. P-314
 Ozer, E. K. P-223
 Ozer, G. P-295
 Ozerol, E. P-384, P-385
 Ozgen, U. P-164, P-272, P-273, P-292, P-337, P-338, P-339, P-340
 Ozgenc, E. P-94
 Ozger, E. P-376
 Ozgumus, S. P-82
 Ozguney, I. P-89
 Ozguven, H. P-407
 Ozhatay, N. P-360
 Ozkan, E. OP-8
 Ozkan, E. P-57
 Ozkan, O. P-126
 Ozkan, S. A. OP-16, OP-32, P-7, P-31, P-39, P-46, P-103
 Ozkan, S. P-14
 Ozkan, T. P-205, P-228
 Ozkan, Y. OP-16, P-103
 Ozkan Ariksoysal D. P-19
 Ozkanli, F. P-186
 Ozkay, Y. P-180, P-231, P-245, P-415
 Ozkurt, M. OP-10
 Ozsavci, D. P-195, P-214
 Ozsoy, Y. P-68, P-100
 Oztanir, M. N. P-375
 Ozturk, A. A. P-62
 Ozturk, C. P-109
 Ozturk, G. P-16
 Ozturk, M. P-185
 Ozturk, M. P-208, P-246, P-311, P-331, P-332
 Ozturk, S. P-422
 Ozturk Fincan, G. S. OP-6, P-209
 Ozturk Yidirim, S. P-209
 Ozyazgan, S. P-125
 Ozyazici, M. OP-7

P

Palabiyik, I. M. OP-13, P-11
 Palaska, E. P-189
 Parang, K. PL-25
 Parlak, D. P-300
 Parlakgumus, G. P-243
 Parlar, S. P-196, P-235
 Parsian, M. P-116
 Pasa, S. P-200
 Paskova, L. P-167
 Pasli, D. P-380
 Patris, S. P-39
 Paulikova, I. P-167
 Pavela, R. P-327
 Pehlivanli, A. C. P-393
 Pehlivanoglu, B. P-373
 Pekel Bayramgil N. P-202
 Pekyardimci, S. P-6, P-13
 Peptu, C. P-92
 Petrov, P. PL-20
 Piacente, S. P-300
 Popovici, I. P-92
 Poyraz, S. P-187, P-226



11th International
SYMPOSIUM ON
PHARMACEUTICAL
SCIENCES
JUNE 09-12, 2015 ANKARA, TURKEY



Certificate of Attendance

Ahmet Alper Öztürk

Ankara University Faculty of Pharmacy, Ankara - Turkey

Prof. Dr. Maksut COŞKUN
Chairperson

331st OMICS International Conference

Journal of Nanomedicine & Nanotechnology

Proceedings of

Nanotechnology Congress & Expo

August 11-13, 2015 Frankfurt, Germany

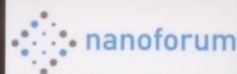
Exhibitor



In Association with



Media Partners



OMICS International Conferences

2360 Corporate Circle, Suite 400 Henderson, NV 89074-7722, USA Ph: +1-888-843-8169, Fax: +1-650-618-1417, Toll free: +1-800-216-6499

Email: nanotechnology@omicsgroup.com; nanotechnology@conferenceseries.net

Nanotechnology Congress & Expo

August 11-13, 2015 Frankfurt, Germany

Preparation and characterization of dexketoprofen tromethamol loaded Eudragit® RS 100 nanoparticles

Ahmet Alper Öztürk, Evrim Yenilmez and Yasemin Yazan
Anadolu University, Turkey

Nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) also called nonsteroidal anti-inflammatory agents/analgesics (NSAIDs) or nonsteroidal anti-inflammatory medicines (NSAIDs) are a class of drugs which provide analgesic (pain-killing) and antipyretic (fever-reducing) effects, and anti-inflammatory effects in higher doses. The most prominent members of this group, aspirin, ibuprofen and naproxen are all available as over-the-counter drugs in most countries. Arylpropionic acids are a group of NSAIDs currently produced in the racemic form. Dexketoprofen tromethamol is the dextrorotatory enantiomer of ketoprofen formulated as tromethamine salt. Dexketoprofen tromethamol's distribution half-life and elimination half-life are 0.35 and 1.65 hours, respectively. Eudragit polymers which are acrylic/metacrylic acid esters act as polyelectrolytes regulated by percentage of charged (quaternary ammonium) and non-ionized (ether) groups in their structures. Eudragit RS® 100 is a poly-(ethyl acrylate, methyl methacrylate, chloro trimethyl ammonium ethyl methacrylate) copolymer. It is insoluble at physiological pH values but undergoes swelling in water. Eudragit RS® 100 is commonly used for enteric coating of tablets and preparation of controlled-release drug forms and represents a prototype for dispersion of drugs. Polymeric nanoparticles prepared by spray-drying method and characterized for controlled oral delivery of dexketoprofen tromethamol was aimed in this study.

Biography

Ahmet Alper Öztürk received BA in June 2013 at Anadolu University, Faculty of Pharmacy. He started the PhD program in September 2013. He is working as a Research Assistant at the Department of Pharmaceutical Technology at Anadolu University since 2014. He has participated in the ERASMUS Internship Program at University of Cagliari, Italy in 2011.

aaoturk@anadolu.edu.tr

Notes:

Nanotechnology Congress & Expo

August 11-13, 2015 Frankfurt, Germany

INDEX

A L Stepanov	98	Kazutaka Ikeda	59
Abdulhamid Chaikh	47	Kimihisa Yamamoto	37
Ahmad Bahar	87	Kuniharu Takei	54
Ahmet Alper Öztürk	71	Lopatina O A	106
Alexander Eberle	48	Mahi R Singh	34
Aman Ullah	86	Mahmoud Goodarz Naseri	96
Anand Gadre	67	Masayoshi Tonouchi	77
Aruna Sharma	90	Max Eisele	81
Ashok Vaseashta	32	Mehdi Saeidmanesh	41
Ashok Vaseashta	50	Michael Hietschold	43
Bálint Náfrádi	39	Mouzouvi C R M	104
Beata Kalska-Szostko	46	Muhammad Y Bashouti	56
Carlos D S Brites	57	Nekane Guarrotxena	63
Carotenuto Rosa	105	Nekane Guarrotxena	68
CheolGi Kim	64	Nor Hazwani Ahmad	69
Ching-Fuh Lin	55	Osman Eksik	100
Christoph Rehbock	65	Pedro Gomez-Romero	58
Daniel Ibegbu	95	S Boubanga Tombet	79
Dmitry Turchinovich	80	S J Antony	74
E M Balashov	103	Sabyasachi Sarkar	70
E S Baeissa	92	Shashi Paul	83
G Linden	93	Sukkee Um	91
Gregory Nichols	102	Sylvia Wagner	66
Hanan Ramadan Hamad Mohamad	85	Takashi Tokumasu	53
Hari S Sharma	33	Tamara Milivojević	84
Hiroyuki Wada	40	Theoni K Georgiou	38
Hussein O Ammar	62	Tran Minh Thi	94
Ibrahim A Salem	99	Valérie Keller	60
Iwao Kawayama	78	Werner Lottermoser	44
John Boviatsis	97	Yuko S Yamamoto	45

Nanotechnology Congress & Expo-2015

Young Researchers Forum

*Prof/Dr/Mr/Ms. **Ahmet Alper Ozturk***

Anadolu University, Turkey

for presenting the oral entitled

Preparation and characterization of dexketoprofen tromethamol loaded

Eudragit® RS 100 nanoparticles

at the "Nanotechnology Congress & Expo"

held on August 11-13, 2015 in Frankfurt, Germany

The award has been attributed in recognition of research paper quality, novelty and significance.

G. S. Babu

Gedela S Babu

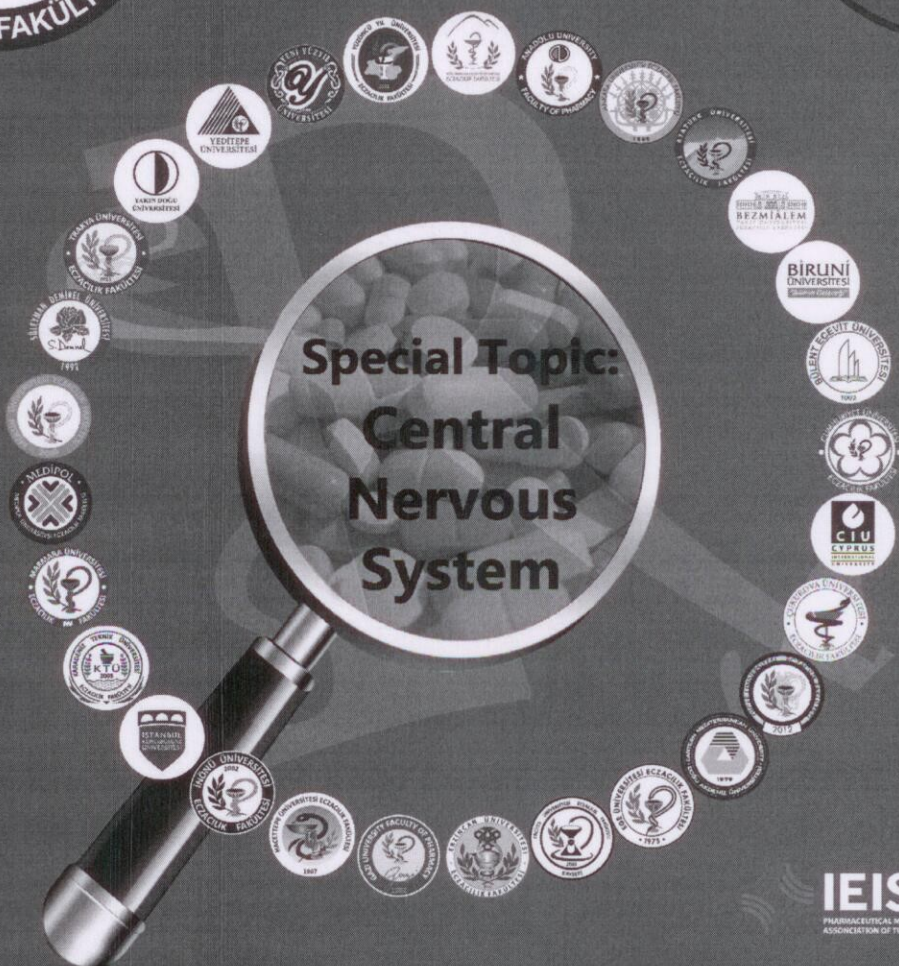
OMICS International, USA

INTERNATIONAL MULTIDISCIPLINARY SYMPOSIUM ON DRUG RESEARCH & DEVELOPMENT

IN MEMORY OF PROFESSOR ÜNSAL ÇALIŞ

Organized by;

Faculty of Pharmacy, Anadolu University & Society of Researchers in Pharmacy and Medicine (ILARUD)



ABSTRACT BOOK

Republic of Turkey
Ministry of Health
Medicines and Medical
Devices Agency of Turkey

IEIS
PHARMACEUTICAL MANUFACTURERS
ASSOCIATION OF TURKEY

www.drd2015.org

Anadolu University Atatürk Culture and Arts Center
Eskişehir - TÜRKİYE

15-17
October 2015

**P141 PREPARATION and CHARACTERIZATION of DEXKETOPROFEN
TROMETHAMOL LOADED EUDRAGIT®RL 100 NANOPARTICLES**

Ahmet Alper Öztürk, Evrim Yenilmez, Yasemin Yazan

Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Eskişehir, Turkey

(aaozturk@anadolu.edu.tr)

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) were successfully used for the alleviation of pain, fever and inflammation for at least 3500 years and continue to be used daily by millions of patients worldwide [1]. NSAIDs are widely used for the treatment of musculoskeletal disorders such as osteoarthritis and rheumatoid arthritis [2].

Dexketoprofen trometamol (DT) is the dextrorotatory enantiomer of ketoprofen formulated as the tromethamine salt [3]. DT's distribution and elimination half-lives are 0.35 and 1.65 hrs, respectively [4].

Eudragit polymers which are acrylic/metacrylic acid esters act as polyelectrolytes regulated by percentage of cationic (quaternary ammonium) and non-ionized (ether) groups in their structures. Some of them can be considered as polycations (Eudragit type E, RL, RS and NE) and the others as polyanions (Eudragit types L and S) [5, 6]. Eudragit RL100 is a well-known polymer commonly used as a pharmaceutical excipient for enteric and controlled-release dosage forms [7].

Over the past few decades, there was considerable interest in developing biodegradable nanoparticles as effective drug delivery systems [8]. Preparing and characterizing polymeric nanoparticles for oral controlled analgesic delivery was aimed in this study. Spray-drying was used as the preparation method and characterization was achieved by particle size/PDI and zeta potential measurements, DCS thermograms, SEM imaging and FT-IR and NMR spectroscopic analyses.

References:

- [1] Vonkeman, H.E., Laar, M.A.J.F., Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: Adverse effects and their prevention, *Semin.Arthrit.Rheum.*, 39, 294-312 (2010).
- [2] Komatsu, T., Sakurada, T., Comparison of the efficacy and skin permeability of topical NSAID preparations used in Europe, *Eur.J.Pharm.Sci.*, 47, 890-895 (2012).
- [3] Burke, D., Bannister, J., Dexketoprofen trometamol in post-operative pain management, *Acute Pain*, 5, 57-62 (2003).
- [4] <https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/17099>
- [5] Pignatello, R., Ferro, M., De Guidi, G., Salemi, G., Guccione, S., Geppi, M., Vandelli, M.A., Forte, C., Puglisi, G., Preparation, characterization and photosensitivity studies of solid dispersions of diflunisal and Eudragit R, RS100 and RLR 100, *Int.J.Pharm.*, 218, 27 (2001).
- [6] Moustafine, R.I., Kabanova, T.V., Kemenova, V.A., Van den Mooter, G., Characteristics of interpolyelectrolyte complexes of Eudragit E 100 with Eudragit L 100, *J.Control.Rel.*, 103, 191 (2005).
- [7] Ferreira, I.S., Bettencourt, A., Bétrisey, B., Gonçalves, L.M.D., Trampuz, A., Almeida, A.J., Improvement of the antibacterial activity of daptomycin-loaded polymeric microparticles by Eudragit RL100: an assessment by isothermal microcalorimetry, *Int.J.Pharm.*, 485, 171-182 (2015).
- [8] Soppimath, K.S., Aminabhavi, T.M., Kulkarni, A.R., Rudzinski, W.E., Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices, *J.Control.Rel.*, 70, 1-20 (2001).

INTERNATIONAL MULTIDISCIPLINARY SYMPOSIUM ON DRUG RESEARCH & DEVELOPMENT

IN MEMORY OF PROFESSOR UNSAL CALIS

Öz E.	P35
Özaltın N.	P30
Özçelik B.	P99
Özçelikay G.	P151
Özdatlı Ş.	P107
Özdemir F.	P42, P93, P94
Özdemir H.	P160, P161
Özdemir Ö.	P88
Özdemir Z.	P100, P109, P165
Özden T.	PL32
Özel Kızıl E.T.	P160, P161
Özer A.Y.	OP13, PL41
Özgenç E.	P140
Özgüven H.	P160, P161
Özkan B.	P142, P144
Özkan E.	P39
Özkan S.A.	P26
Özkay Y.	P76, P77, P78, P80, P121, P127, P128, P129, P130, P131, P132, P133
Özkılıç H.	P147
Özsoy Y.	P12
Öztürk A.	P84
Öztürk A.A.	P141
Öztürk B.	P92

Öztürk İ.	P103
Öztürk N.	P63, P121
Öztürk Y.	OP1, P69, P71, P79
Özzambak M.E.	P63
P	
Parini A.	PL16
Parlakpınar H.	P109
Pathania M.	OP3
Pekel H.	P107
Pérez A.	P21
Pir M.	P102
Pletzer D.	OP3
Püsküllü M.O.	PL6
R	
Rangari V.D.	PL20
Reçber T.	P39, P40
Russell R.	P56
S	
Saçkes Z.	P123
Sağ Erdem S.	P118
Sağlık B.N.	P121, P128, P129, P131
Saka O.M.	P154
Sakagami H.	P104, P105

GAZİ

INTERNATIONAL

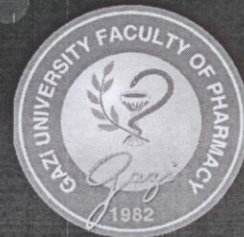
GPSS

GAZİ PHARMA SYMPOSIUM SERIES

SYMPOSIUM

SERIES

PHARMA



INTERNATIONAL
**GAZİ PHARMA
SYMPOSIUM**

November 12-15, 2015
Port Nature Luxury Resort Hotel & Spa
Belek - ANTALYA / TURKEY

**ABSTRACT
BOOK**

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF DEXKETOPROFEN TROMETHAMOL LOADED DYNASAN® 114 SOLID LIPID NANOPARTICLES (SLNs)

Ahmet Alper Öztürk, Evrim Yenilmez, Yasemin Yazan

Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology Eskisehir, TURKEY

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are one of the most widely prescribed medications in the World [1]. NSAIDs are used for the treatment of musculoskeletal disorders such as osteoarthritis and rheumatoid arthritis [2].

Dexketoprofen trometamol is the dextrorotatory enantiomer of ketoprofen formulated as tromethamine salt [3]. Dexketoprofen trometamol's distribution and elimination half-lives are 0.35 and 1.65 hr, respectively [4].

SLNs are colloidal carriers developed especially for the delivery of lipophilic compounds at the beginning of the 1990s as an alternative system to existing traditional carriers like emulsions, liposomes and polymeric nanoparticles [5].

Preparing and characterizing SLNs for oral controlled analgesic delivery was aimed in this study. Dynasan® 114 (Trimyristin/Glyceryl Trimyristate) was selected as the solid lipid. Dexketoprofen tromethamol loaded SLNs were prepared by hot homogenization method followed by probe ultrasonication and characterization was achieved by particle size/PDI and zeta potential measurements, DCS thermograms, SEM imaging FT-IR and NMR spectroscopic analyses.

This study was financed by Anadolu University Scientific Research Project No: 1502S081.

References

- [1] C. Sostres, C. J. Gargallo, M. T. Arroyo, A. Lanas, Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract, *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 24; 121-132, 2010.
- [2] T. Komatsu, T. Sakurada, Comparison of the efficacy and skin permeability of topical NSAID preparations used in Europe, *Eur.J.Pharm.Sci.*, 47, 890-895, 2012.
- [3] D. Burke, J. Bannister, Dexketoprofen trometamol in post-operative pain management, *Acute Pain*, 5, 57-62, 2003.
- [4] <https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/17099>
- [5] F. Castell, C. Puglia, M. G. Sarpietro, L. Rizza, F. Bonina, Characterization of indomethacin-loaded lipid nanoparticles by differential scanning calorimetry, *Int.J.Pharm.*, 304, 231-238, 2005.

AUTHOR NAME

ABSTRACT PAGE

A. Ahmet Başaran	215
A. Murat Tuncer	123, 127
A. Ramanaviciene	18
A. Ramanavicius	18
A. Raşıt Oztürk	127
A. Tanju Ozcelikay	58
Abbas Kaffashi	83
Abdelkader Mekhaldi	179
Abdelkrim Atmani	213
Abdoul Nzeyimana	176
Abdullah Can	212
Abdullah Eroğlu	137
Abdullah Uslu	74, 103, 104
Abdurrahman Olđaç	45, 206, 207
Afife Buşra Uğur	99
Agnes Noel	143
Ahmed Menad	178
Ahmet Alper Ozturk	62
Ahmet Aydın	22
Ahmet Cumaoglu	139
Ahmet Duran	171
Ahmet ILÇİM	160, 167, 168
Ahmet Samı Boşnak	41
Akkal Salah	181
Ali Esat Karakaya	121
Alp Giray Akdemir	185
Alper Gokbulut	162, 163
Alper Okyar	28
Alptuğ Eren Karaküçük	89
Amel Annrani	177
Annina Ghornı	213
Anatoli Dimoglo	187
Andrea Carotti	20, 45, 207
Andreas Peyrl	31
Anıl Banagar	96
Anıl Jadhav	96
Annabelle Ballesta	27
Antonio Macchiarulo	20, 36, 206, 207
Arzu Özel	175

AUTHOR NAME

ABSTRACT PAGE

Arzu Selen	14
Aslı Kara	83
Aslıhan Ekici	117
Aslıhan H. Algan	216
Aslı Kara	69, 70, 71, 146
Aslı Ozge Agkaya	139
Asma Mahmoudi	106
Asuman Bozkır	69, 70
Asuman Bozkır	
Asuman Karakaya	121
Atila Bozdağ	114
Audrone Maroziene	208
Ayca Aktas	122, 124
Ayça Çakmak Pehlivanlı	129
Aydin Erenmemişoğlu	74
Ayla Kaya	151, 152
Aylin Elkarna	121
Aylin Sepici Dinçel	137
Aymelek Gönenç	52
Aysel Bayhan Oktem	131
Aysel Berkkan	111, 116, 117
Aysun Hacışevki	138
Ayşe Mine Gençler Ozkan	158
Ayşe Nalbantsoy	100
Ayşe Nur Oktay	89
Ayşe Selcen Alpan	182
Ayşegul Karataş	216
Azime Bema Özçelik	183, 184, 185
B. Berk	147
Barış Banı	169
Barkın Berk	63, 188, 197
Bart Crielaard	34
Basrı Gülbakan	19
Başak Sevinç	114
Begüm Nurpelin Sağlık	193, 196
Belma Aslım	154, 170
Benaissa Elmoualij	143
Benedetto Natalini	20
Bensu Karahalil	21

GAZİ
INTERNATIONAL
GPSS
GAZİ PHARMA SYMPOSIUM SERIES



INTERNATIONAL
**GAZİ PHARMA
SYMPOSIUM**

November 12-15, 2015
Port Nature Luxury Resort Hotel & Spa
Belek - ANTALYA / TURKEY

Herewith we confirm the participation of

Ahmet Alper Öztürk

Anadolu University, Faculty of Pharmacy

at the 1st International Gazi Pharma Symposium Series

Prof. Dr. Tuncer Değim
Chair



International Society for Biomedical Polymers and Polymeric Biomaterials

The 3rd Annual Conference

August 11 - 12, 2016; Woodbridge, NJ, USA

Thanks to our Exhibitors & Sponsors!



POSTER AWARD Sponsored by:

Applied Polymer
SCIENCE

YOUNG RESEARCHER (ORAL) AWARD Sponsored by:



Isbpb Conference August 11 & 12, 2016 – Woodbridge, New Jersey, USA

2800 Kgs. Lyngby, Denmark

8. "Effect of BMP-2 loaded collagen conjugated microchanneled granules into TTCP-DCPA-MCPM based injectable bone substitute (IBS) system for bone healing." 1Gun Hee Lee*, 1Preeti Makkor, 1Kallyanshis Paul, 1Nathaniel T. Carpena, 2Swapan Kumar Sarker, 1,2Byong Taek Lee, 1Department of Regenerative Medicine, College of Medicine, Soonchunhyang University, 366-1 Ssangyong dong, Cheonan, 330-090, South Korea. 2Institute of Tissue Regeneration, College of Medicine, Soonchunhyang University, 366-1 Ssangyong dong, Cheonan, 330-090, South Korea.
 9. "Improvement of mechanical properties of smart chitosan -based nanobiocomposite hydrogel for orthopedic applications" Seyed Mohsen Latifia, Mohammadhossein Fathia,d, Jaleh Varshosaz, Materials Engineering Department, Isfahan University of Technology, Isfahan 84156-83111, Iran; Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy and Novel Drug Delivery Systems Research Centre, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan 81746-73461, Iran; Department of Engineering, Virginia Commonwealth University, Richmond, VA 23284, USA; Dental Materials Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
 10. *Solid Lipid Nanoparticles Containing Carvedilol: Formulation and Evaluation*, Zeynep Kipriye, Evrin Yenilmez, Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Eskişehir, TÜRKİYE
 11. *Solid Lipid Nanoparticles of Dexketoprofen Trometamol: Formulation and In Vitro Characterization*, Ahmet Alper Öztürk, Evrin Yenilmez, Yasemin Yazan, Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology Eskişehir, TURKEY
 12. *Chitosan Coated Paclitaxel Nanoparticles Aiming Colorectal Cancer Treatment*, Özge Atasoy¹, Ebru Başaran² ¹Sandoz Generic Pharmaceuticals Division of Novartis, Kocaeli, TURKEY; ²Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Eskişehir, TURKEY
 13. *Molecular Encapsulation by Cyclodextrins Effects on Drug Safety*, Müzeyyen Demirel, Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Eskişehir, TURKEY
 14. *Study of Polymeric, Ophthalmic, Sustained-Delivery Drug Systems*, Umay Merve Güven*, Murat Sami Berkman, Yasemin Yazan Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Eskişehir, TURKEY
 15. *Ocular Drug Delivery of Olopatadine Hydrochloride Using Temperature Modulated In Situ Gelling Systems*, Umay Merve Güven*, Murat Sami Berkman, Yasemin Yazan, Anadolu University, Department of Pharmaceutical Technology, Eskişehir, TURKEY
- Isbpbp Conference August 11 & 12, 2016 – Woodbridge, New Jersey, USA

Solid Lipid Nanoparticles of Dexketoprofen Trometamol: Formulation and *In Vitro* Characterization

Ahmet Alper Öztürk, Evrin Yenilmez, Yasemin Yazan

Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology Eskişehir,
TURKEY

Dexketoprofen trometamol is an S-(+)-2-(3-benzoylphenyl) propionic acid tromethamine salt. It is more potent and causes less gastrointestinal adverse effects when compared to ketoprofen. It was found to be highly effective in the treatment of moderate to severe pain when used as an analgesic in osteoarthritis, dysmenorrhea, orthopedics and dental surgery. Preparing and characterizing solid lipid nanoparticles for oral controlled analgesic effect was aimed in this study. Dexketoprofen tromethamol-loaded SLNs were prepared by hot homogenization method followed by probe ultrasonication and characterization was achieved by particle size/PDI and zeta potential measurements, DCS thermograms, SEM imaging and FT-IR and NMR spectroscopic analyses.

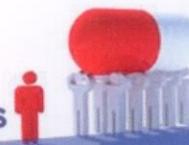
Attendee List

3rd Annual Formulation & Drug Delivery Congress and 2nd Annual Inhalation & Respiratory Drug Delivery Congress

Organised by:



Name	Job Title	Company Name
Michelle Calhoun	Director Sales & Marketing	AbbVie
Keith Kentala	Vice President Commercial Operations	AbbVie
Jeff Tremain	Business Development Sales Manager	AbbVie
Bernd Liepold	Group Leader, Senior Principal Research Scientist	AbbVie
Michael Siedler	Head of NBE Formulation Development	AbbVie Deutschland GmbH & Co KG
Holger Neecke	Director, Business Development	Adare Pharmaceuticals
Luigi Boltri	R&D Director, Innovation & Technology Liaison	Adare Pharmaceuticals
Kim Hejnaes	CMC Coordinator	Adenium Biotech
Zrinoslav Ranteš	Senior Associate – Specialist In The Department For Quality	Agency for Medicinal Products and Medical Devices - HALMED
Owain McKenzie	European Dissolution Business Team Manager	Agilent Technologies
Chris Benton	Account Manager	Agilent Technologies
Poula Maltha Sørensen	Marketing Associate	Albumedix
Nicholas Martin	Research Scientist	Albumedix
Neil Dodsworth	Science Manager	Albumedix
Jonas Skjødt Møller	Global Head of Marketing & Corporate Strategy	Albumedix
Muthusamy Jayaraman	Associate Director	Alnylam Pharmaceuticals
Jonathan Phillips	Principal Scientist	Amgen
Evrin Yenilmez	Assistant Professor	Anadolu University
Behiye Senel	Research Assistant	Anadolu University
Gülây Büyükköroğlu	Assistant Professor	Anadolu University
Ahmet Alper Öztürk	Research Assistant	Anadolu University
Umay Merve Güven	Research Assistant	Anadolu University
Axelle Staples	Key Account Manager	Aptar
Tim Calvert	Regional Director	Aptuit



Congress Workbook

8th – 9th May 2017

Radisson Blu Portman Hotel, London, UK

Formulation & Drug Delivery Congress Sponsors:

abbvie ADARE PharmaceuticalsTM  Agilent Technologies

 AlbumedixTM

aptuit


 CRYSTALLICS
 Pharmavize

 innocore
 pharmaceuticals

intertek
 Total Quality. Assured.

 juniper
 PHARMA SERVICES

XenoGesis 
 Preclinical DMPK & Bioanalysis


 Malvern

Patheon
 A HEALTHIER WORLD. DELIVERED.


 Quay Pharma

Recipharm
 good for business

 TRISKELION
 RESEARCH FOR BETTER LIVING

UNCHAINED
 LABS

Inhalation & Respiratory Drug Delivery Congress Sponsors:

 PHARMASOL
 PHARMASERVE NW

 pro^{veris}
 SCIENTIFIC


 sirius
 analytical

5. Entrapment Efficiency And In Vitro Dissolution Testing Of Different Polymeric Nanoparticles For Controlled Analgesic Delivery

Author: Ahmet Alper Öztürk
Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology

Additional Authors: Evrim Yenilmez; Yasemin Yazan
Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology

Contact: aaozturk@anadolu.edu.tr

Dexketoprofen trometamol (DT) is the water-soluble tromethamine salt formulation of dexketoprofen, a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID). Several clinical trials have been conducted with dexketoprofen trometamol using different models of acute and chronic pain. The S-enantiomer responsible for the pharmacological activity of ketoprofen. DT has rapid absorption and onset of action in pain relief. Polymer nanoparticles have attracted the interest of many research groups and have been utilized in an increasing number of fields during the last decades. In this study Kollidon® SR, Eudragit RS® 100 and Eudragit RL® 100 used as polymeric material. DT loaded polymeric nanoparticles prepared by spray-drying method for controlled analgesic delivery of oral use was aimed in this study. DT entrapment efficiency was calculated using a validated High performance liquid chromatography (HPLC) method. Release characteristics of the particles were evaluated with dialysis method at 37°C±1°C in phosphate buffer solution (pH 7.4) during 48 hours.

6. In Vitro Tests Of Solid Lipid Nanoparticles Containing Dexketoprofen Trometamol

Author: Evrim Yenilmez,
Anadolu University

Additional Authors: Ahmet Alper Öztürk, Evrim Yenilmez, Yasemin Yazan*

Contact: Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Eskişehir/Turkey; *evrimakyil@anadolu.edu.tr; Tel: +9 532 5575 409

Dexketoprofen trometamol is a new, quick acting analgesic for the treatment of painful musculoskeletal conditions such as osteo-arthritis and low back pain. It is also used as a treatment for post-operative pain, toothache and dysmenorrhoea. It is the active optical isomer of ketoprofen, a propionic acid non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID). Solid lipid nanoparticles (SLNs) are a new pharmaceutical delivery system or pharmaceutical formulation. In this study Compritol® 888 ATO and Dynasan® 114 used as solid lipid. DT loaded SLNs were prepared by hot emulsification technique followed by probe ultrasonication and formulations were cooled down to the room temperature for controlled analgesic delivery. A validated High performance liquid chromatography (HPLC) method was used for determination of incorporated DT. Release characteristics of the particles were analyzed with dialysis method in phosphate buffer solution (pH 7.4) for 48 hours.



OXFORD GLOBAL

Certificate of Attendance

3rd Annual Formulation & Drug Delivery Congress and 2nd Annual Inhalation & Respiratory Drug Delivery Congress

This is to certify and confirm that **Ahmet Alper Öztürk** of Anadolü University attended the 3rd Annual Formulation & Drug Delivery Congress and 2nd Annual Inhalation & Respiratory Drug Delivery Congress on the 8th and 9th May 2017, held at the Radisson Blu Portman Hotel, London.

Yours Sincerely

Cerlin Roberts
Managing Director
Oxford Global Conferences

Oxford Global Conferences

Part 1st Floor
Godstow Court
Minns Business Park
Botley
Oxford
OX2 0JB

Tel: +44 (0)1865 248455
Fax: +44 (0)1865 250985
www.oxfordglobal.co.uk