

**FLUKONAZOL ve KETOKONAZOL'ÜN
β-SİKLODEKSTRİN ile
HAZIRLANAN
KOMPLEKSLERİ ÜZERİNDE
YAPILAN ÇALIŞMALAR**

Gülsel Yurtdaş

Yüksek Lisans Tezi

**FLUKONAZOL ve KETOKONAZOL'ÜN
β-SİKLODEKSTRİN ile
HAZIRLANAN
KOMPLEKSLERİ ÜZERİNDE
YAPILAN ÇALIŞMALAR**

Gülsel Yurtdaş
Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
Eskişehir, Ocak 2010

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Müzeyyen DEMİREL

Gölsel YURTDAS'ın "FLUKONAZOL ve KETOKONAZOL'ÜN β -SİKLODEKSTRİN ile HAZIRLANAN KOMPLEKSLERİ ÜZERİNDE YAPILAN ÇALIŞMALAR" başlıklı, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'ndaki Yüksek Lisans Tezi, 29.01.2010 tarihinde, aşğıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değeriendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	Doç. Dr. Müzeyyen DEMİREL Anadolu Üniversitesi	
Üye	Prof. Dr. Yasemin YAZAN Anadolu Üniversitesi	
Üye	Doç. Dr. İmran VURAL Hacettepe Üniversitesi	

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
13.01.2010 tarih ve ...01/4..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Yasemin YAZAN



ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Gülsel YURTDAS
Doğum tarihi ve yeri : 1985, KASTAMONU
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri : Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
Tel : 0 222 3350580/3730
Fax : 0 222 3350750
e-posta : gyurtdas@anadolu.edu.tr

Eğitim Durumu

İlköğretim : Adalet İlköğretim Okulu, 1991-1996
Ortaokul : Fatih Anadolu Lisesi, 1996-2000
Lise : Fatih Anadolu Lisesi, 2000-2002
Özel Atayurt Lisesi, 2002-2003
Lisans : Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 2003-2007
Yabancı Diller : İngilizce
Almanca (Temel Düzeyde)

Mesleki Deneyim

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar

Kontrollü Salım Sistemleri Derneği (CRS)

Yayınlar

Poster Bildiriler :

M. Demirel, **G. Yurtdaş**, “Formulation of Ketoconazole loaded O/W Microemulsions for Ocular Drug Delivery” 14th International Pharmaceutical Technology Symposium, 8-10 September, Antalya (2008).

M. Demirel, L. Genç, **G. Yurtdaş**, “Preparation and Characterization of Betacyclodextrin Complexes Toward Improving Physicochemical Properties of Ketoconazole, 2nd PharmSciFair Premier European Platform for Advancing Pharmaceutical Sciences, Nice, 8-12 June (2009).

L. Genç, M. Demirel, **G. Yurtdaş**, Phase Solubility and Characterization of Betacyclodextrin/Fluconazole Inclusion Complex, International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Ankara, 23-26 June (2009).

G. Yurtdaş, E. Yenilmez, E. Başaran, Y. Yazan, “Preparation and Characterization of Fluconazole Containing Chitosan Particulate System” 11th International Conference on Chitin and Chitosan & The 8th Asia-Pacific Chitin and Chitosan Symposium, 6-9 September, Taipei (2009).

ÖNSÖZ

Bu çalışmada antifungal özellikli suda düşük çözünürlüğe sahip flukonazol ve ketokonazol'un β -Siklodekstrin ile kompleksleşme suretiyle fizikokimyasal özelliklerinde iyileşmenin sağlanması amaçlanmış ve farklı yöntemlerle hazırlanan komplekslerin kapsül ve vajinal supozitivar formülasyonu haline getirilmesi planlanmıştır.

Çalışma süresinde kullanılan püskürterek kurutma cihazında meydana gelen hasar nedeniyle bu yöntem ile bir seri kompleks hazırlanabilmiş ve ketokonazol için bu yöntem ile hazırlanan yeterli miktarda kompleks bulunmaması nedeniyle vajinal supozitivar formülasyonu hazırlanamamıştır.

Ketokonazol komplekslerinde kullanılan dondurarak kurutma tekniğinin üçüncü yönteminde, dondurarak kurutma işleminden ~ 1 gün sonra, elde edilen toz şeklindeki üründe meydana gelen renklenme nedeniyle ketokonazolün asit hidrolizinden şüphelenilmiş ve bu formül ile yalnızca karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

Çalışmam süresince her türlü olanağı sağlayan, bilgi, yardım ve önerilerini esirgemeyen, sonsuz bir hoşgörü, iyi niyet ve sabır göstererek çalışmamın her safhasında benimle aynı heyecanı paylaşan danışman hocam Doç.Dr. Sayın Müzeyyen Demirel'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman geniş bilgi birikiminden yararlandığım, anlayış ve hoşgörü göstererek beni destekleyen ve yardımcı olan Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Sayın Yasemin Yazan'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım ve BİBAM'da gerçekleştirdiğim çalışmalarına olanak sağlayan, bölüm hocalarımdan BİBAM Müdür Yardımcısı Doç.Dr. Sayın Lütfi Genç'e teşekkürlerimi sunarım.

BİBAM'da gerçekleştirilen Nükleer Manyetik Rezonans ve İnfrared analizlerinin gerçekleştirilmesinde yardımcı olan Araş.Gör. Özgür Alver'e ve Güner Saka'ya, stereomikroskop ile görüntüleme çalışmalarında bana sabırla yardımcı olan Şennur Görgülü'ye ve dondurarak kurutma işlemlerinin gerçekleştirilmesinde BİBAM personeline teşekkür ederim.

Antimikrobiyal etkinlik çalışmalarını gerçekleştiren, Anadolu Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden Araş.Gör. Rasime Demirel'e teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm sevgili hocalarım ve bölüm arkadaşlarım, Yrd.Doç.Dr. Gülay Büyükköroğlu'na, Yrd.Doç.Dr. Ebru Başaran'a, Yrd.Doç.Dr. Evrim Yenilmez'e, Yrd.Doç.Dr. Murat Sami Berkman'a, Uzm. Sefa Avcıer'e ve Araş.Gör. Behiye Şenel'e çok teşekkür ederim.

Beni her zaman destekleyen, yüreklendiren, sevgi ve ilgilerini her zaman yanımda hissettiğim çok sevgili annem, babam ve kardeşime; gösterdiği anlayış ve varlığıyla bana mutluluk veren biricik arkadaşım Melih Kırımlıoğlu'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Gülsel YURTDAS

FLUKONAZOL ve KETOKONAZOL'ÜN β -CD ile HAZIRLANAN KOMPLEKSLERİ ÜZERİNDE YAPILAN ÇALIŞMALAR

ÖZET

Flukonazol (FZ) ve ketokonazol (KZ), mikotik enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan azol türevi antifungal farmasötik etkin maddelerdir. Her iki etkin maddenin de sudaki çözünürlüğü düşüktür. Doygunluk çözünürlüğünün artırılmasına yönelik olarak kullanılan teknolojilerden bir tanesi siklodekstrin komplekslerinin hazırlanmasıdır. Bu amaçla, çözünürlük faz diyagramı çalışmalarının ardından farklı yöntemler (dondurarak kurutma, püskürterek kurutma, birlikte buharlaştırma ve yoğurma) kullanılarak FZ ve KZ'nin β -siklodekstrin (β -CD) ile kompleksleri hazırlanmıştır.

1:1 molar oran ile hazırlanan kompleksler üzerinde % verim, termal, çözünürlük, parçacık şekli, X-ışını kırınımı, infrared, nükleer manyetik rezonans, etkin madde miktarı ve *Candida albicans* ile antifungal etkinlik analizleri yapılmıştır. FZ/ β -CD kompleksleri ile hazırlanan sert selüloz kapsüllerin *in vitro* çözünme hızı, saf FZ ve piyasa kapsülü ile; KZ/ β -CD kompleksleri ile hazırlanan vajinal supozituarların *in vitro* çözünme hızı, saf KZ ve piyasadaki vajinal supozituarı ile karşılaştırılmış ve f_1 (fark), f_2 (benzerlik) etkenleri açısından değerlendirilmiştir. *In vitro* çözünme deneylerinde, USP 31'de tanımlanan palet yöntemi ile birlikte yüksek basınçlı sıvı kromatografisi miktar tayini yöntemi kullanılmıştır.

β -CD komplekslerinin hazırlanması ile etkin maddelerin sudaki çözünürlüğünde ve antifungal etkinliklerinde, hazırlama yöntemine bağlı olarak farklı oranlarda artış tespit edilmiştir. β -CD komplekslerinden salımın saf etkin maddelere oranla yüksek olması, etkin madde ve siklodekstrin arasındaki etkileşim, yüksek enerjili amorf durum ve β -CD'nin sahip olduğu yüzey etkin özellik nedeniyle suda çözünmeyen etkin maddeler ve çözünme ortamları arasındaki yüzey geriliminin düşürülmesine bağlanmıştır.

Sonuç olarak, geliştirmek istediğimiz FZ/ β -CD ve KZ/ β -CD komplekslerinin genel olarak değerlendirilmesinde; çözünürlük ve çözünme hızının artırılması ile biyoyararlanım problemlerinin düzeltilebileceği, aynı zamanda *Candida albicans* üzerindeki antifungal etkinliğin artması ile de klinikte kullanılan etkin madde dozunun azaltılabileceği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: flukonazol, ketokonazol, β -siklodekstrin kompleksi, çözünme hızı, antifungal etkinlik, *Candida Albicans*

STUDIES on FLUCONAZOLE and KETOCONAZOLE COMPLEXES PREPARED with β -CYCLODEXTRIN

ABSTRACT

Fluconazole (FZ) and ketoconazole (KZ) are azole derivative antifungal pharmaceutical active agents which are widely used for the therapy of micotic infections. Both of the active agents have low aqueous solubility. Preparation of cyclodextrin complexes is one of the technologies used to enhance saturated solubility. For this purpose, following phase solubility diagram studies β -cyclodextrin (β -CD) complexes of FZ and KZ were prepared using different preparation methods (freeze drying, spray-drying, co-evaporation and kneading).

Characterization of complexes prepared with molar ratio of 1:1 was performed by yield %, thermal, aqueous solubility, particle shape, X-ray diffraction, infrared, nuclear magnetic resonance, active agent amount and antifungal activity studies against *Candida albicans*. *In vitro* dissolution from hard cellulose capsules containing FZ/ β -CD complexes was compared to pure FZ and its commercial capsules while *in vitro* dissolution from vaginal suppositories containing KZ/ β -CD complexes were compared to the pure KZ and its commercial vaginal suppositories. During comparison f_1 (difference) and f_2 (similarity) factors were evaluated. Paddle method defined in USP 31 together with high pressure liquid chromatographic method were used in *in vitro* dissolution experiments.

By means of β -CD complex preparation, varying enhancements in solubilities and antifungal activities of active agents were determined depending on preparation methods. High release of active agents from β -CD complexes compared to pure active agents was attributed to the interactions between β -CD and active agents, high energetic amorphous state and decrease in the interfacial tension between insoluble active agents and dissolution media.

As a conclusion, the overall of FZ/ β -CD and KZ/ β -CD complexes designed to be developed showed that bioavailability problems could be overcome by increasing the aqueous solubility and dissolution and also clinical doses of active agents could be decreased by increase in the antifungal activity on *Candida albicans*.

Key Words: fluconazole, ketoconazole, β -cyclodextrin complex, solubility rate, antifungal activity, *Candida Albicans*

	SAYFA
ÖZGEÇMİŞ	i
ÖNSÖZ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xviii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	xxii
GİRİŞ ve AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	2
Siklodekstrinler	2
<i>Yapı ve Çeşitleri</i>	2
<i>Kompleks Oluşumu</i>	4
<i>Çözünürlük Faz Diyagramı</i>	4
<i>Kompleks Hazırlama Yöntemleri</i>	6
<i>Birlikte Çöktürme Yöntemi</i>	6
<i>Dondurarak Kurutma Yöntemi (Liyofilizasyon)</i>	6
<i>Püskürterek Kurutma Yöntemi</i>	7
<i>Nötralizasyon Yöntemi</i>	7
<i>Birlikte Buharlaştırma Yöntemi</i>	7
<i>Çimento Yöntemi</i>	7
<i>Pasta (Yoğurma) Yöntemi</i>	8
<i>Kapalı Kaptaki Isıtma Yöntemi</i>	8
<i>Ekstrüzyon Yöntemi</i>	8
<i>Öğütme Yöntemi</i>	8
<i>Mikrodalga Radyasyon Yöntemi</i>	8
<i>Süper Kritik CO₂ Yöntemi</i>	9
<i>İlaç Teknolojisinde Siklodekstrinlerin Kullanım Amaçları</i>	9
<i>Etkin Madde Çözünürlüğü ve Dissolüsyonu Üzerine Etkisi</i>	9
<i>Biyoyararlanım Üzerine Etkisi</i>	10
<i>İlaç Güvenliği Üzerine Etkisi</i>	11
<i>Etkin Madde Kararlılığı Üzerine Etkisi</i>	11
<i>Farmakolojik Etkinlik Üzerine Etkisi</i>	12



<i>Siklodekstrinlerin Uygulama Yolları</i>	13
Flukonazol	13
<i>Flukonazol'ün Farmakolojik Özellikleri</i>	13
<i>Flukonazol'ün Farmakodinamik Özellikleri</i>	15
<i>Flukonazol'ün Farmakokinetik Özellikleri</i>	15
<i>Flukonazol'ün Kararlılığı</i>	16
<i>Flukonazol'ün Yan Etkileri ve Toksisitesi</i>	16
<i>Flukonazol'ün Miktar Tayini Yöntemleri</i>	17
<i>Flukonazol İçeren Ticari Preparatlar</i>	18
Ketokonazol	19
<i>Ketokonazol'ün Farmakolojik Özellikleri</i>	19
<i>Ketokonazol'ün Farmakodinamik Özellikleri</i>	20
<i>Ketokonazol'ün Farmakokinetik Özellikleri</i>	20
<i>Ketokonazol'ün Kararlılığı</i>	21
<i>Ketokonazol'ün Yan etkileri ve Toksisitesi</i>	22
<i>Ketokonazol'ün Miktar Tayini Yöntemleri</i>	24
<i>Ketokonazol İçeren Ticari Preparatlar</i>	25
Kapsüller	25
<i>Sert Jelatin Kapsüller</i>	26
<i>Sert Hidroksipropil Metilselüloz (HPMC) Kapsüller</i>	26
<i>Kapsüllerde Yapılan Kontroller</i>	26
Vajinal Supozituarlar	27
<i>Vajina Anatomisi ve Fizyolojisi</i>	27
<i>Vajinal Sıvı</i>	27
<i>Vajinal Enzim Etkinliği</i>	27
Vajinit	28
<i>Vajinal Yolla İlaç Uygulanması</i>	28
<i>Vajinal Supozituarların Hazırlanışı</i>	29
<i>Vajinal Supozituarlarda Yapılan Kontroller</i>	30
GEREÇLER	32
Kullanılan Maddeler	32
Kullanılan Cihazlar	33
YÖNTEMLER	35
Kullanılan Maddeler ile Yapılan Çalışmalar	35

Flukonazol ile Yapılan Çalışmalar	35
<i>Erime Derecesi Tayini</i>	35
<i>Termal Analiz</i>	35
<i>Çözünürlük Tayini</i>	35
<i>X-Işını Kırınım Analizi</i>	35
<i>İnfrared Analizi</i>	35
<i>Nükleer Manyetik Rezonans Analizi</i>	35
<i>İnce Tabaka Kromatografisi</i>	35
<i>Flukonazol'un Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile</i>	
<i>Analitik Miktar Tayini</i>	36
-Doğrusallık	36
-Kesinlik	36
-Doğruluk	36
-Duyarlılık	37
-Seçicilik	37
-Sistem Uygunluk Testleri	37
-Kararlılık	38
*Kompleks Hazırlama Koşullarındaki Kararlılık	38
*Çözünme Ortamındaki Kararlılık	38
Ketokonazol ile Yapılan Çalışmalar	38
<i>Erime Derecesi Tayini</i>	38
<i>Termal Analiz</i>	38
<i>Çözünürlük Tayini</i>	39
-Saf Su Ortamındaki Çözünürlük Tayini	39
-Yapay Vajinal Sıvı (YVS) Ortamındaki Çözünürlük Tayini	39
<i>X-Işını Kırınım Analizi</i>	39
<i>İnfrared Analizi</i>	39
<i>Nükleer Manyetik Rezonans Analizi</i>	39
<i>İnce Tabaka Kromatografisi</i>	39
<i>Ketokonazol'un Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile</i>	
<i>Analitik Miktar Tayini</i>	39
-Doğrusallık	39
-Kesinlik	40
-Doğruluk	40

-Duyarlılık	40
-Seçicilik	40
-Sistem Uygunluk Testleri	40
-Kararlılık	40
*Kompleks Hazırlama Koşullarındaki Kararlılık	40
*Çözünme Ortamındaki Kararlılık	41
β-Siklodekstrin ile Yapılan Çalışmalar	41
Erime Derecesi Tayini	41
Termal Analiz	41
X-Işını Kırınım Analizi	41
İnfrared Analizi	41
Nükleer Manyetik Rezonans Analizi	41
Formülasyon Çalışmaları	41
FZ ve β-CD Üzerinde Çözünürlük Faz Diyagramı Çalışmaları	41
Çözünürlük Faz Diyagramı için Denge Süresinin Belirlenmesi	41
Çözünürlük Faz Diyagramının Saptanması	42
FZ/β-CD Komplekslerinin Hazırlanışı	42
Dondurarak Kurutma Yöntemi	42
Püskürterek Kurutma Yöntemi	42
Birlikte Buharlaştırma Yöntemi	42
Yoğurma (Pasta) Yöntemi	43
FZ/β-CD Kompleksleri Üzerinde Çalışmalar	43
Verim Değeri	43
Termal Analizleri	43
Çözünürlüğün Saptanması	43
Parçacık Şekli Analizleri	43
X-Işını Kırınım Analizleri	43
İnfrared Analizleri	43
Nükleer Manyetik Rezonans Analizleri	44
Etkin Madde Miktar Tayini	44
Antifungal Etkinlik Çalışmaları	44
FZ/β-CD Kompleksleri ile Hazırlanan Kapsüller Üzerinde Yapılan Çalışmalar	45
Ağırlık Sapması	45

Çözünme Hızı Testleri	45
KZ ve β-CD Üzerinde Çözünürlük Faz Diyagramı Çalışmaları	46
Çözünürlük Faz Diyagramı için Denge Süresinin Belirlenmesi	46
Çözünürlük Faz Diyagramının Saptanması	46
KZ/β-CD Komplekslerinin Hazırlanışı	46
Dondurarak Kurutma Yöntemi	47
Püskürterek Kurutma Yöntemi	47
Birlikte Buharlaştırma Yöntemi	47
Yoğurma (Pasta) Yöntemi	47
KZ/β-CD Kompleksleri Üzerinde Çalışmalar	48
Verim Değeri	48
Termal Analizleri	48
Çözünürlüğün Saptanması	48
Parçacık Şekli Analizleri	48
X-Işını Kırınım Analizleri	48
Infrared Analizleri	48
Nükleer Manyetik Rezonans Analizleri	48
Etkin Madde Miktar Tayini	49
Antifungal Etkinlik Çalışmaları	49
KZ ve KZ/β-CD Kompleksleri ile Hazırlanan Vajinal Supozituvarlara	
ait Çalışmalar	50
Ön Formülasyon Çalışmaları	50
Formülasyonların Hazırlanışı	51
Vajinal Supozituvallar Üzerinde Yapılan Çalışmalar	51
Ağırlık Sapması	51
Organoleptik Kontroller	51
Sertlik Tayini	51
Etkin Madde Miktar Tayini	51
İn Vitro Çözünme Hızı Çalışması	52
BULGULAR ve TARTIŞMA	53
Kullanılan Maddeler ile Yapılan Çalışmalar	53
Flukonazol ile Yapılan Çalışmalar	53
Erime Derecesi Tayini	53
Termal Analiz	53

Çözünürlük Tayini	53
X-Işını Kırınım Analizi	53
İnfrared Analizi	54
Nükleer Manyetik Rezonans Analizi	55
İnce Tabaka Kromatografisi	56
Flukonazol'ün Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile	
Analitik Miktar Tayini	56
-Doğrusallık	56
-Kesinlik	57
-Doğruluk	57
-Duyarlılık	57
-Seçicilik	58
-Sistem Uygunluk Testleri	62
-Kararlılık	62
Ketokonazol ile Yapılan Çalışmalar	63
Erime Derecesi Tayini	63
Termal Analiz	63
Çözünürlük Tayini	64
X-Işını Kırınım Analizi	64
İnfrared Analizi	65
Nükleer Manyetik Rezonans Analizi	66
İnce Tabaka Kromatografisi	67
Ketokonazol'ün Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile	
Analitik Miktar Tayini	67
-Doğrusallık	67
-Kesinlik	68
-Doğruluk	68
-Duyarlılık	68
-Seçicilik	69
-Sistem Uygunluk Testleri	73
-Kararlılık	73
β-Siklodekstrin ile Yapılan Çalışmalar	73
Erime Derecesi Tayini	73
Termal Analiz	73

<i>X-Işını Kırınım Analizi</i>	73
<i>Infrared Analizi</i>	74
<i>Nükleer Manyetik Rezonans Analizi</i>	75
Formülasyon Çalışmaları	76
FZ ve β-CD Üzerinde Çözünürlük Faz Diyagramı Çalışmaları	76
<i>Çözünürlük Faz Diyagramı için Denge Süresinin Belirlenmesi</i>	76
<i>Çözünürlük Faz Diyagramının Saptanması</i>	76
FZ/β-CD Kompleksleri Üzerinde Çalışmalar	77
<i>Verim Değeri</i>	77
<i>Termal Analizleri</i>	77
<i>Çözünürlüğün Saptanması</i>	79
<i>Parçacık Şekli Analizleri</i>	79
<i>X-Işını Kırınım Analizleri</i>	80
<i>Infrared Analizleri</i>	82
<i>Nükleer Manyetik Rezonans Analizleri</i>	82
<i>Etkin Madde Miktar Tayini</i>	85
<i>Antifungal Etkinlik Çalışmaları</i>	85
FZ/β-CD Kompleksleri ile Hazırlanan Kapsüller Üzerinde Yapılan Çalışmalar	86
<i>Ağırlık Sapması</i>	86
<i>Çözünme Hızı Testleri</i>	87
KZ ve β-CD Üzerinde Çözünürlük Faz Diyagramı Çalışmaları	91
<i>Çözünürlük Faz Diyagramı için Denge Süresinin Belirlenmesi</i>	91
<i>Çözünürlük Faz Diyagramının Saptanması</i>	91
KZ/β-CD Kompleksleri Üzerinde Çalışmalar	92
<i>Verim Değeri</i>	92
<i>Termal Analizleri</i>	92
<i>Çözünürlüğün Saptanması</i>	95
<i>Parçacık Şekli Analizleri</i>	96
<i>X-Işını Kırınım Analizleri</i>	96
<i>Infrared Analizleri</i>	100
<i>Nükleer Manyetik Rezonans Analizleri</i>	101
<i>Etkin Madde Miktar Tayini</i>	106
<i>Antifungal Etkinlik Çalışmaları</i>	106

<i>KZ ve KZ/β-CD Kompleksleri ile Hazırlanan Vajinal Supozituvarlara ait Çalışmalar</i>	109
<i>Ön Formülasyon Çalışmaları</i>	109
<i>Formülasyonların Hazırlanışı</i>	109
<i>Vajinal Supozituvallar Üzerinde Yapılan Çalışmalar</i>	110
<i>Ağırlık Sapması</i>	110
<i>Organoleptik Kontroller</i>	110
<i>Sertlik Tayini</i>	111
<i>Etkin Madde Miktar Tayini</i>	111
<i>İn Vitro Çözünme Hızı Çalışması</i>	112
SONUÇ ve ÖNERİLER	116
KAYNAKLAR	117
EKLER	
EK-1	
Poster Bildiriler	

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI	SAYFA
Çizelge 1 Siklodekstrinlerin Özellikleri	3
Çizelge 2 Siklodekstrin Kullanımı ile Çözünürlük ve Dissolüsyonun İyileştirilmesine ait Örnekler	10
Çizelge 3 Etkin Madde Kararlılığı Üzerine Siklodekstrin Etkisi	12
Çizelge 4 Flukonazol ile Eş Zamanlı Kullanımda Bazı İlaç Etkileşimleri	17
Çizelge 5 Flukonazol İçeren Ticari Preparatlar	18
Çizelge 6 Ketokonazol ile Eş Zamanlı Kullanımda Bazı İlaç Etkileşimleri	23
Çizelge 7 Ketokonazol İçeren Ticari Preparatlar	25
Çizelge 8 Polietilen Glikollerin Çeşitleri ve Özellikleri	30
Çizelge 9 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Çalışma Koşulları	36
Çizelge 10 Flukonazol ve Flukonazol/β-Siklodekstrin Kompleksleri için 4 mg.50 µL ⁻¹ Konsantrasyonda Etkin Madde İçeriği Hazırlamak Amacı ile Kullanılan Miktarlar ve Çözündürüldükleri Ortamlar	45
Çizelge 11 Ketokonazol ve Ketokonazol/β-Siklodekstrin Kompleksleri için 0.13 mg.50 µL ⁻¹ Konsantrasyonda Etkin Madde İçeriği Hazırlamak Amacı ile Kullanılan Miktarlar ve Çözündürüldükleri Ortamlar	49
Çizelge 12 Vajinal Supozituarın Ön Formülasyon Çalışmalarında Kullanılan Formülasyonların Kod, Bileşen ve Miktarları	50
Çizelge 13 Yapay Vajinal Sıvı Bileşimi	52
Çizelge 14 Flukonazol'un Tek Konsantrasyonda Gün-İçi ve Günler-Arası Kesinlik Sonuçları	57
Çizelge 15 Flukonazol'un Doğruluk Çalışması için Hazırlanan Seriler ve % Geri Kazanım Sonuçları	57
Çizelge 16 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Cihazının Parça, Marka ve Modelleri	62

Çizelge 17	Ketokonazol'ün Farklı Ortamlardaki Çözünürlük Değerlerine ait Bulgular	64
Çizelge 18	Ketokonazol'ün Tek Konsantrasyonda Gün-İçi ve Günler-Arası Kesinlik Sonuçları	68
Çizelge 19	Ketokonazol'ün Doğruluk Çalışması için Hazırlanan Seriler ve % Geri Kazanım Sonuçları	68
Çizelge 20	Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerine ait Verim Değerleri	77
Çizelge 21	Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin Saf Sudaki Çözünürlük Değerlerine ait Bulgular	79
Çizelge 22	Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerine ait % Yüklene Etkin Madde Miktarlarının Ortalamaları ve Standart Sapma Değerleri	85
Çizelge 23	Flukonazol ve Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin <i>Candida albicans</i> Üzerinde Oluşturdukları İnhibisyon Zonları	85
Çizelge 24	Flukonazol ve Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Sert Selüloz Kapsüllerin ve Flukonazol Piyasa Kapsülünün Ağırlık Değerleri	86
Çizelge 25	Flukonazol ve Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Sert Selüloz Kapsüllerin ve Flukonazol Piyasa Kapsülünün Çözünme Verileri	88
Çizelge 26	Flukonazol ve Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Kapsüller ile Flukonazol Piyasa Kapsülünün (Fluzole®) Çözünme Profillerinin Karşılaştırılmasına ait Fark (f_1) ve Benzerlik (f_2) Etkenleri	90
Çizelge 27	Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Kapsüller ile Flukonazol Kapsülünün Çözünme Profillerinin Karşılaştırılmasına ait Fark (f_1) ve Benzerlik (f_2) Etkenleri	90
Çizelge 28	Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerine ait Verim Değerleri	92
Çizelge 29	Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin Saf Sudaki Çözünürlük Değerlerine ait Bulgular	95

Çizelge 30	Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerine ait % Yüklenen Etkin Madde Miktarlarının Ortalamaları ve Standart Sapma Değerleri	106
Çizelge 31	β -Siklodekstrin, Plasebo Formülasyonlar ve Çözücülerin <i>Candida albicans</i> Üzerinde Oluşturdukları İnhibisyon Zonları	107
Çizelge 32	Ketokonazol ve Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin <i>Candida albicans</i> Üzerinde Oluşturdukları İnhibisyon Zonları	108
Çizelge 33	Ketokonazol ve Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Vajinal Supozituarlar ile Ketokonazol Piyasa Vajinal Supozituarının Ağırlık Değerleri	110
Çizelge 34	Ketokonazol ve Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Vajinal Supozituarlar ile Ketokonazol Piyasa Vajinal Supozituarındaki Etkin Madde Miktarları	111
Çizelge 35	Ketokonazol ve Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Vajinal Supozituarlar ile Ketokonazol Piyasa Vajinal Supozituarına ait Çözünme Verileri	113
Çizelge 36	Ketokonazol ve Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksleri ile Hazırlanan Vajinal Supozituarlar ile Ketokonazol Piyasa Vajinal Supozituarının (Ketoral®) Çözünme Profillerinin Karşılaştırılmasına ait Fark (f_1) ve Benzerlik (f_2) Etkenleri	115
Çizelge 37	Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksleri ile Hazırlanan Vajinal Supozituarlar ile Ketokonazol Vajinal Supozituarının Çözünme Profillerinin Karşılaştırılmasına ait Fark (f_1) ve Benzerlik (f_2) Etkenleri	115

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA
Şekil 1 A) Siklodekstrinin Şematik Gösterimi	
B) Glukopiranoz Ünitesinin Kimyasal Yapısı	3
Şekil 2 Çözünürlük Faz Diyagramları	5
Şekil 3 Flukonazol'ün Kimyasal Yapısı, Açık ve Kapalı Formülü	13
Şekil 4 Ketokonazol'ün Kimyasal Yapısı, Açık ve Kapalı Formülü	19
Şekil 5 Flukonazol'ün Termal Analizine ait Termogram	53
Şekil 6 Flukonazol'ün X-Işını Kırınım Profili	54
Şekil 7 Flukonazol'ün İnfrared Analizi Spektrumu	54
Şekil 8 Flukonazol'ün ¹ H-NMR Analizi Spektrumu	55
Şekil 9 Flukonazol'ün ¹³ C-NMR Analizi Spektrumu	55
Şekil 10 Flukonazol'ün Doğrusallık Eşitliği ve Grafiği	56
Şekil 11 Hareketli Faza ait Kromatogram	58
Şekil 12 Flukonazol'ün Hareketli Fazdaki Çözeltisine ait Kromatogram	59
Şekil 13 β-Siklodekstrinin Sulu Çözeltisine ait Kromatogram	59
Şekil 14 Flukonazol ve β-Siklodekstrinin Sulu Çözeltisine ait Kromatogram	59
Şekil 15 Flukonazol'ün Hareketli Fazdaki Çözeltisine ait Kromatogram	60
Şekil 16 Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Hazırlanan Plasebo Formülasyona ait Kromatogram	60
Şekil 17 Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Hazırlanan Flukonazol/β-Siklodekstrin Kompleksine ait Kromatogram	60
Şekil 18 Flukonazol'ün Hareketli Fazdaki Çözeltisine ait Kromatogram	61
Şekil 19 Sert Selüloz Kapsül Kabuğuna ait Kromatogram	61
Şekil 20 Flukonazol İçeren Sert Selüloz Kapsüle ait Kromatogram	61
Şekil 21 Flukonazol ve Ketokonazol'ün Çalışma Ortamlarındaki Kararlılığına ait İnce Tabaka Kromatogramı	63

Şekil 22	Ketokonazol'ün Termal Analizine ait Termogram	64
Şekil 23	Ketokonazol'ün X-Işını Kırınım Profili	65
Şekil 24	Ketokonazol'ün İnfrared Analizi Spektrumu	65
Şekil 25	Ketokonazol'ün ¹ H-NMR Analizi Spektrumu	66
Şekil 26	Ketokonazol'ün ¹³ C-NMR Analizi Spektrumu	66
Şekil 27	Ketokonazol'ün Doğrusallık Eşitliği ve Grafiği	67
Şekil 28	Hareketli Faza ait Kromatogram	69
Şekil 29	Ketokonazol'ün Hareketli Fazdaki Çözeltilisine ait Kromatogram	70
Şekil 30	β-Siklodekstrinin Sulu Çözeltilisine ait Kromatogram	70
Şekil 31	Ketokonazol ve β-Siklodekstrinin Sulu Çözeltilisine ait Kromatogram	70
Şekil 32	Ketokonazol'ün Hareketli Fazdaki Çözeltilisine ait Kromatogram	71
Şekil 33	Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Hazırlanan Plasebo Formülasyona ait Kromatogram	71
Şekil 34	Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Hazırlanan Ketokonazol/β-Siklodekstrin Kompleksine ait Kromatogram	71
Şekil 35	Ketokonazol'ün Hareketli Fazdaki Çözeltilisine ait Kromatogram	72
Şekil 36	Plasebo Vajinal Supozituvaya ait Kromatogram	72
Şekil 37	Ketokonazol İçeren Vajinal Supozituvaya ait Kromatogram	72
Şekil 38	β-Siklodekstrin'in Termal Analizine ait Termogram	73
Şekil 39	β-Siklodekstrin'in X-Işını Kırınım Profili	74
Şekil 40	β-Siklodekstrin'in İnfrared Analizi Spektrumu	74
Şekil 41	β-Siklodekstrin'in ¹ H-NMR Analizi Spektrumu	75
Şekil 42	β-Siklodekstrin'in ¹³ C-NMR Analizi Spektrumu	75
Şekil 43	Flukonazol'ün Çözünürlük Faz Diyagramı	76
Şekil 44	Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerine ait Termogramlar	78

Şekil 45	Flukonazol ve Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin Stereomikroskop Görüntüleri	80
Şekil 46	Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin X-Işını Kırınım Analizleri	81
Şekil 47	Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin İnfrared Analizi Spektrumları	82
Şekil 48	Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin ¹ H-NMR Analizi Spektrumları	83
Şekil 49	Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin ¹³ C-NMR Analizi Spektrumları	84
Şekil 50	Flukonazol ve Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerine ait İnhibisyon Zonları	85
Şekil 51	Boş Selüloz Kapsül Kabuğuna ve Saf Flukonazol İçeren Selüloz Kapsüllere ait Görüntüler	86
Şekil 52	Flukonazol ve Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Kapsüller ile Flukonazol Piyasa Kapsülüne ait Çözünme Profilleri	89
Şekil 53	Ketokonazol'ün Çözünürlük Faz Diyagramı	91
Şekil 54	Farklı Dondurarak Kurutma Yöntemleri ile Hazırlanan Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerine ve Plasebo Formülasyonlara ait Termogramlar	93
Şekil 55	Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerine ait Termogramlar	94
Şekil 56	Ketokonazol ve Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerine ait Stereomikroskop Görüntüleri	97
Şekil 57	Farklı Dondurarak Kurutma Yöntemleri ile Hazırlanan Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin ve Plasebo Formülasyonların X-Işını Kırınım Profilleri	98
Şekil 58	Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin X-Işını Kırınım Profilleri	99

Şekil 59	Farklı Dondurarak Kurutma Yöntemleri ile Hazırlanan Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin ve Plasebo Formülasyonların İnfrared Analizi Spektrumları	100
Şekil 60	Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin İnfrared Analizi Spektrumları	100
Şekil 61	Farklı Dondurarak Kurutma Yöntemleri ile Hazırlanan Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin ve Plasebo Formülasyonların ^1H -NMR Analizi Spektrumları	102
Şekil 62	Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin ^1H -NMR Analizi Spektrumları	103
Şekil 63	Farklı Dondurarak Kurutma Yöntemleri ile Hazırlanan Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin ve Plasebo Formülasyonların ^{13}C -NMR Analizi Spektrumları	104
Şekil 64	Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin ^{13}C -NMR Analizi Spektrumları	105
Şekil 65	β -Siklodekstrin ve Plasebo Formülasyonlara ait İnhibisyon Zonları	106
Şekil 66	Kullanılan Çözücülere ait İnhibisyon Zonları	107
Şekil 67	Ketokonazol ve Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerine ait İnhibisyon Zonları	107
Şekil 68	Saf Ketokonazol İçeren Vajinal Supozituvarlara ait Görüntüler	109
Şekil 69	Ketokonazol ve Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini içeren Vajinal Supozituvlar ile Ketokonazol Piyasa Vajinal Supozituvvarına ait Çözünme Profilleri	114

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

α	: Seçicilik Faktörü
β -CD	: Beta-Siklodekstrin
BSS	: Bağlı Standart Sapma
Cap	: Kapsül
CD	: Siklodekstrin
$(CD_3)_2CO$	: Dötero-aseton
CSF	: Serebrospinal Sıvı
CZE	: Kapiller Bölge Elektroforezi
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetri
DMSO	: Dimetilsülfoksit
D ₂ O	: Döteryum Oksit
FZ	: Flukonazol
F-CE	: Birlikte Buharlaştırma Yöntemi ile Hazırlanan Flukonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksi
F-FD	: Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Hazırlanan Flukonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksi
F-KN	: Yoğurma Yöntemi ile Hazırlanan Flukonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksi
F-SD	: Püskürterek Kurutma Yöntemi ile Hazırlanan Flukonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksi
GA	: Güven Aralığı
GC	: Gaz Kromatografisi
GI	: Gastrointestinal
HME	: Isıyla Eritme Kalıplaştırma
HPMC	: Hidroksipropil Metilselüloz
IR	: Infrared
İTK	: İnce Tabaka Sıvı Kromatografisi
KBr	: Potasyum Bromür
k'	: Kapasite Faktörü
KZ	: Ketokonazol
K-CE	: Birlikte Buharlaştırma Yöntemi ile Hazırlanan Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksi

K-FD1	: Birinci Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Hazırlanan Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksi
K-FD2	: İkinci Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Hazırlanan Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksi
K-FD3	: Üçüncü Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Hazırlanan Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksi
K-KN	: Yoğurma Yöntemi ile Hazırlanan Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksi
K-SD	: Püskürterek Kurutma Yöntemi ile Hazırlanan Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksi
LC-MS	: Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrofotometrisi
LOD	: Saptama Sınırı
LOQ	: Miktar Tayini Alt Sınırı
MECC	: Miseller Elektrokinetik Kapiller Kromatografisi
MeOH	: Metanol
MIC	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
n	: Tekrarlanan Deney Sayısı
N	: Teorik Tabaka Sayısı
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
Ort	: Ortalama
PEG	: Polietilen Glikol
PLA	: Plasebo
R _s	: Ayırım Gücü
SH	: Standart Hata
SS	: Standart Sapma
T	: Kuyruklanma Faktörü
TBAHS	: Tersiyer Butil Amonyum Hidrojen Sülfat
UV	: Ultraviyole
VSup	: Vajinal Supozituar
XRD	: X-Işını Kırınımı
YBSK	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
YVS	: Yapay Vajinal Sıvı

GİRİŞ ve AMAÇ

FZ ve KZ, mikotik enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan azol türevi antifungal farmasötik etkin maddelerdir. Her iki etkin maddenin de sudaki çözünürlüğü düşüktür.

Tedavide 50, 100 ve 150 mg dozlarda oral olarak kullanılan FZ'nin eliminasyon yarı ömrü otuz saattir. Gastrointestinal (GI) kanaldan iyi emilim göstermekle birlikte renal ve hepatik bozukluğu olan hastalarda dikkatli kullanılması gerekmektedir. KZ yüzeysel ve sistemik enfeksiyonların tedavisinde oral (200, 400 ve 800 mg) ya da topik (% 2) olarak kullanılmaktadır. Oral verilişte KZ'nin kana ulaşma miktarı dozun % 37-97 aralığındadır. GI kanaldaki bu emilim değişkenliği nedeniyle biyoyararlanımı da değişkenlik göstermektedir. KZ tedavisinde nadir görülmesine rağmen en ciddi yan etki hepatotoksisitedir.

Suda çözünürlüğü düşük ilaçların, FZ ve KZ'de de olduğu gibi, düşük oral biyoyararlanım ve değişken biyoyararlanım gibi sorunları mevcuttur. Biyoyararlanım problemini çözmek için sudaki çözünürlüğü düşük ilaçların çözünürlüğünü arttırmak gerekir. Bu yaklaşımlar arasındaki fiziksel modifikasyonlar içerisinde, kristal yapının modifikasyonu ve kompleksleştirme yer almaktadır.

Çalışmada seçilen etkin maddelerin çözünürlük problemlerinin çözümüne yönelik olarak toksisitesi düşük, kimyasal modifikasyon bölgesi fazla, hidrofobik merkezi boş ve hidrofilik dış yüzeye sahip olan β -siklodekstrin (β -CD) ile komplekslerinin hazırlanması planlanmıştır. Çalışmanın amacı, her iki etkin maddenin β -CD ile komplekslerinin hazırlanması yoluyla çözünürlük, biyoyararlanım, yan etki ve toksisite problemlerine çözüm aranmasıdır. Komplekslerdeki etkin maddelerin çözünürlük artışı ispatlandıktan sonra, komplekslerin dozaj şekillerinde kullanımı ile piyasa preparatları ile karşılaştırılması da bu çalışmanın amaçları arasındadır. Bu çalışmadaki bir diğer amaç ise, FZ/ β -CD ve KZ/ β -CD komplekslerinin *Candida albicans* üzerindeki antifungal etkinliklerinin incelenmesi ile etkinlikte artış sağlanıp sağlanamadığının araştırılmasıdır.

KAYNAK BİLGİSİ

Siklodekstrinler

Siklodekstrinler (CD'ler) ilk defa 1891 yılında Villiers tarafından izole edilmiştir. Villiers, nişasta içeren ortamda bulunan *Bacillus amylobacter*'in kültür ortamından az miktarda kristal maddeyi izole etmiştir. Villiers bu kristal maddeye 'cellulosine' adını vermiştir. Daha sonra Schardinger 1903 – 1911 yılları arasında yaptığı çalışmalar sonucunda, izole ettiği kristal yapıdaki ürünleri dekstrin α ve dekstrin β olarak adlandırmıştır (Del Valle, 2004). Yaptığı çalışmalarla CD kimyasının temelini oluşturan Schardinger'in onuruna sonraki yıllarda CD'ler "Schardinger dekstrinleri" olarak anılmıştır (Loftson ve Duchéne, 2007). 1930'lu yıllarda γ -dekstrini izole eden Freudenberg ve arkadaşları ise, CD'lerin glikoz ünitelerinden oluşan siklik oligosakkaritler olduğunu göstermiştir (Vyas ve ark., 2008).

1940'lı yıllarda yapıları aydınlatılan α -, β - ve γ -CD'nin inklüzyon kompleksi oluşturma yeteneği fark edilmiştir (Del Valle, 2004). CD ve komplekslerine ilişkin ilk patent 1953 yılına aittir. Bununla birlikte, 1970'e kadar çok az miktarda CD üretilmiş ve yüksek üretim maliyetleri nedeniyle endüstriyel kullanımları sınırlanmıştır. Daha sonra biyoteknolojik gelişmeler sayesinde üretim maliyetlerinin düşürülmesi, yüksek saflıkta CD ve türevlerinin üretilmesiyle CD üretim teknolojisinde büyük ilerlemeler kaydedilmiştir (Singh ve Aboul-Enein, 2005).

CD'ler ilaç, kimyasal tarım, gıda ve kozmetik endüstrilerinde "moleküler kafes" adı ile büyük ilgi görmüşlerdir. İlaç endüstrisinde genellikle suda çözünürlüğü zayıf olan ilaçların çözünürlüğünü, biyoyararlanımını ve kararlılığını arttırmak için kompleks yapıcı ajan ve tablet eksipiyani olarak kullanılırlar. Ayrıca CD'ler GI ilaç irritasyonunu azaltmak, sıvı ilaçları amorf ya da mikrokristalin şekle dönüştürmek ve ilaç-ilaç, ilaç-yardımcı madde etkileşimlerini önlemek için kullanılabilirler (Rasheed ve ark., 2008).

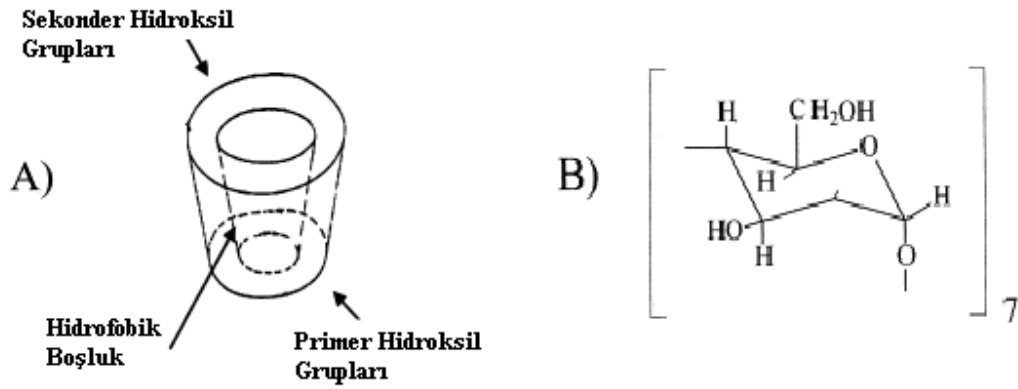
CD'ler iyi bir ilaç taşıyıcı sistem adayıdır. Çünkü:

- Kimyasal yapıları iyi tanımlanmıştır ve kimyasal modifikasyon bölgeleri fazladır.
- Farklı iç boşluğu büyüklüklerine sahip olmaları sayesinde çok sayıda etkin madde için kullanıma uygundur ve hapsettikleri etkin maddeleri biyodegradasyondan korurlar.
- Düşük toksisite ve düşük farmakolojik etkinliğe sahiptirler.

Yapı ve Çeşitleri

CD'ler farklı sayıda α -D-glukopiranoz üniteleri içeren, lipofilik merkezi boşluk ve hidrofilik dış yüzeye sahip siklik oligosakkaritlerdir (Rasheed ve ark., 2008). Glukopiranoz üniteleri arasındaki bağların serbest dönüş yetersizliği nedeniyle CD molekülleri, silindirik şekilli değildir. Kesik koni ya da toroidal şekilli olan CD yapısında primer hidroksil grupları halkanın dar kenarında sekonder hidroksil grupları halkanın daha geniş kenarında, apolar hidrojenler ve eter benzeri oksijenler molekülün içerisinde yer alır (**Şekil 1A**) (Loftson ve Brewster, 1996; Del Valle, 2004).

Doğal CD'ler sırasıyla 6, 7 ve 8 glukopiranoz ünitesi (**Şekil 1B**) içeren α -, β - ve γ -tipleridir (**Çizelge 1**). Doğal CD'lerin yanı sıra primer ve sekonder hidroksil gruplarının modifikasyonu ile çeşitli CD türevleri sentezlenmiştir. Farmasötik ilgiyi üzerine çeken çeşitli CD türevleri; β -CD, β ve γ hidroksipropil CD (HP- β -CD ve HP- γ -CD), rastgele metillenmiş β -CD (RM- β -CD), sülfobutil eter β -CD (SBE- β -CD) ve maltosil- β -CD gibi dallanmış CD'leri kapsar (Rasheed ve ark., 2008, Vyas ve ark., 2008). Ayrıca yüksek hidrofilik özellikteki CD moleküllerine bağlı dış hidrofobik özellik kazandırmak amacıyla amfifilik CD molekülleri de sentezlenmektedir. α , β veya γ -CD'ye hidrokarbon zincirlerinin eklenmesiyle elde edilen amfifilik CD'ler ilaç hedeflenmesi ve taşınmasında kullanılırlar (Duchéne ve ark., 1999). β -CD ve türevleri ise kolay elde edilebilirlik ve çok çeşitli ilaçlar için uygun boşluğa sahip olma özellikleri nedeniyle farmasötik uygulamalar için sıklıkla tercih edilirler.



Şekil 1. A) Siklodekstrinin Şematik Gösterimi B) Glukopiranoz Ünitesinin Kimyasal Yapısı (Becket, 1999; Vyas ve ark., 2008)

Çizelge 1. Siklodekstrinlerin Özellikleri (Del Valle, 2004)

Özellik	α - CD	β -CD	γ - CD
Glukopiranoz ünitelerinin sayısı	6	7	8
Molekül ağırlığı (g/mol)	972	1135	1297
25° C'de sudaki çözünürlüğü (% a/h)	14.5	1.85	23.2
Dış çap Å	14.6	15.4	17,5
İç çap Å	4.7–5.3	6.0–6.5	7.5–8.3
Yükseklik Å	7,9	7.9	7.9
Boşluk hacmi Å ³	174	262	427

Kompleks Oluşumu

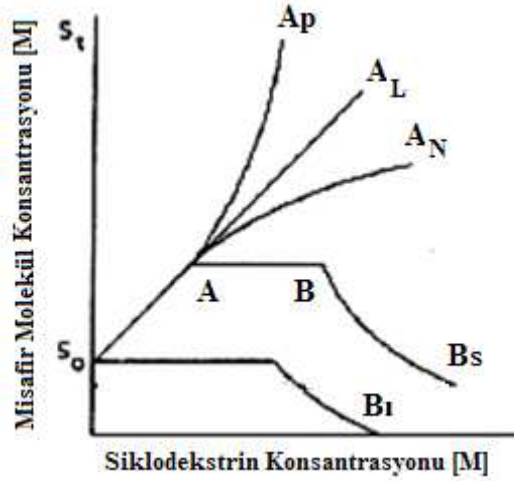
CD'lerin en önemli özelliği çeşitli katı, sıvı ve gaz bileşikleriyle moleküler düzeyde kompleksleşmeyle katı inklüzyon bileşikleri oluşturma yetenekleridir. Farmasötik alandaki bu komplekslerde etkin madde molekülü (misafir molekül) CD molekülünün (ev sahibi) boşluğuna alınır ya da başka bir ifade ile CD molekülü etkin madde molekülünü kaplar. Kompleks oluşumu ev sahibi molekül boşluğu ve misafir molekülü arasındaki boyutsal bir uyumdur. CD moleküllerinin lipofilik boşluğu, içerisine uygun boyuttaki apolar grupların inklüzyon bileşikleri oluşturmak üzere girebildiği bir mikroortam sağlar. Inklüzyon kompleksi oluşumu sırasında kovalan bağ oluşmaz ya da kırılmaz. Kompleksleşme sırasında kompleksteki ilaç molekülleri ve çözeltideki serbest etkin madde molekülleri hızla dengeye erişir. Kompleks oluşumunda merkezi boşluktan su salımı, hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimleri ve yük aktarımı gibi etkileşimleri kapsayan itici güçler yer alır. Kompleks oluşumunun esas itici gücü CD molekülünün boşluğundan entalpi açısından zengin su moleküllerinin serbest bırakılmasıdır. Su molekülleri apolar-apolar birleşme sağlamak üzere çözeltide bulunan daha hidrofobik olan etkin madde molekülleri ile yer değiştirir ve böylece CD halkasının gerginliğini azaltarak daha kararlı düşük enerjili durum oluşur (Del Valle, 2004; Rasheed ve ark., 2008).

Kompleks oluşumunu etkileyen çeşitli etkenler mevcuttur. Öncelikle kompleksleşmenin gerçekleşebilmesi için etkin madde molekülünün büyüklüğünün CD boşluğuna uygun olması gerekir. Taşıdıkları yük açısından değerlendirildiğinde CD ve etkin madde molekülü farklı yüklerde olduğunda kompleksleşme artar. Genellikle etkin maddelerin non-iyonik şekilleri iyonize olmuş durumlarına göre daha kararlı kompleks oluşturmaktadır. İyonize olabilen etkin maddelerle kompleks oluşumunda ise pH etkin rol oynar. Bunlara ek olarak kompleks oluşumunda sıcaklık değişimi ve hazırlama yöntemi de önemlidir (Challa ve ark., 2005).

Çözünürlük Faz Diyagramı

CD komplekslerinin kararlılık sabitinin belirlenmesi, inklüzyon sonrasında etkin maddenin fizikokimyasal özelliklerindeki değişimin göstergesi olduğundan çok önemlidir. Bu konuda en yaygın kullanılan analitik yöntem Higuchi ve Connors tarafından tanımlanan çözünürlük faz yöntemidir. Bu yöntemde göre, bir seri flakon ya da ampul içerisine substratın yani misafir molekülün aşırısı ve eşit miktarda çözücü eklenir. Bu karışım üzerine artan konsantrasyonda ligand yani CD eklenerek ağız sıkıca kapatılan kaplar sabit sıcaklıkta çözünürlük dengesine ulaşmaya kadar karıştırılır. Denge süresi sonunda üstte kalan berrak kısım analiz edilir (Higuchi ve Connors, 1965).

Çözünürlük faz diyagramı CD molar konsantrasyonuna karşı misafir molekülün çözelti fazında bulunan total molar konsantrasyonunun grafiğe geçirilmesi ile elde edilir. Çözünürlük faz diyagramları A ve B tipi olmak üzere iki ana kategoriye ayrılır. A tipi diyagramlar çözünür kompleks oluşumunu gösterirken, B tipi diyagramlar düşük çözünürlüğe sahip kompleks oluşumunu gösterir (**Şekil 2**) (Higuchi ve Connors, 1965).



Şekil 2. Çözünürlük Faz Diyagramları (Higuchi ve Connors, 1965)

A-tipindeki çözünürlük faz diyagramlarında, CD konsantrasyonunun artırılmasıyla substratın konsantrasyonu artar. A tipi diyagramlar A_L , A_P ve A_N olmak üzere üç tiptir. A_L tipi diyagramda CD konsantrasyonunun fonksiyonu olarak misafir molekülün çözünürlüğünde doğrusal artış görülür. A_L tipi sistemin eğimi 1'den büyükse yüksek dereceli kompleks (S -CD, S_2 -CD, S_3 -CD,..., S_m -CD) olduğu düşünülür; eğim 1'den küçükse ve başka bir bilgi yoksa 1:1 oranında kompleksleştiği varsayılır. A_P tipi diyagramlarda pozitif yöne doğru eğilim söz konusudur ve yüksek dereceli inklüzyon kompleksi (S -CD₂, S -CD₃,..., S -CD_n) oluşumunu gösterir. A_N tipi diyagramlarda negatif yöne doğru eğilim vardır ve yorumlanması zor olan sistemlerdir (Higuchi ve Connors, 1965; Del Valle, 2004). Doğrusallıktan negatif sapma, kompleks çözünürlüğündeki değişiklikler, CD moleküllerinin kendi aralarındaki birlikteliği, çözünen-çözücü ya da çözünen-çözünen etkileşimi ile ilişkilidir (Başaran, 2005; Rasheed ve ark., 2008).

B tipi çözünürlük faz diyagramları B_S ve B_I olmak üzere iki tiptir. B_S tipi diyagramlarda A noktasında kompleks çözünürlük sınırına erişir ve çözünürlük sabitlenir. Daha fazla CD eklenmesine karşılık B noktasında substratın tamamı daha az çözünür inklüzyon kompleksine çevrilmiştir. B_I tipi diyagramlarda inklüzyon kompleksi pratik olarak çözünmez (Higuchi ve Connors, 1965; Başaran, 2005).

Çözünürlük faz diyagramları nitel değerlendirmenin yanı sıra aynı zamanda kararlılık değişiminin belirlenmesinde kullanılır. Higuchi eşitliğine göre çözünürlük denge katsayısı (K_C) çözünürlük faz diyagramının doğrusal kısmının eğim ve kesişim değerlerinden hesaplanır (Higuchi ve Connors, 1965; Del Valle, 2004).

$$K = \text{eğim} / \text{kesişim (1-eğim)}$$

(Eşitlik 1)

Bu katsayı aynı zamanda kompleksin kararlılığını ifade eder. Biyoyararlanımın iyileştirilmesi çalışmalarında K_C sabitinin misafir molekülün mukozadan emilimine izin verecek kadar küçük olması istenirken kararlılık çalışmalarında ise mümkün olduğunca büyük olması istenir (Başaran, 2005).

Kompleks Hazırlama Yöntemleri

CD komplekslerinin hazırlanmasında çok çeşitli yöntemler kullanılır. Yöntemin etkinliği başta misafir molekül ve CD yapısına bağlı olmak üzere sıcaklık değişiklikleri, yardımcı madde özellikleri gibi faktörlerden etkilenebilir (Challa ve ark., 2005).

Birlikte Çöktürme Yöntemi

Yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. CD suda çözündürülür ve CD çözeltisi karıştırılırken etkin madde ya da etkin maddenin organik çözeltisi eklenir. Etkin madde göz önüne alınarak belirlenen sıcaklıkta, bir saatten bir haftaya kadar istenilen süre karıştırma işlemine devam edilir. Bu yöntemin kullanıldığı birçok durumda, CD ve etkin madde molekülü içeren çözeltinin çökelek oluşmadan soğutulması gerekir (Del Valle, 2004). Soğutma öncesi çözücünün bir kısmı uçurularak uzaklaştırılabilir. Soğutma işlemi kademeli olarak ya da buzdolabında gerçekleştirildikten sonra ya da uygun karıştırma süresi sonunda kristalleşme gerçekleşir (Arshady, 1999; Braga ve ark., 2003).

Oluşan çökelek dekante etme, santrifüj ya da (vakumla) filtrasyonla alınabilir ve az miktarda su veya suyla karışabilen etanol, metanol veya aseton gibi çözücülerle yıkanabilir (Del Valle, 2004). Etüvde ya da oda sıcaklığında kurutma sonrası gerekli görüldüğü takdirde, elde edilen kompleks istenilen gözenek çapına sahip elekten elenir.

Bu yöntemde yalnızca CD ya da yalnızca etkin maddenin çökeltisi oluşabilir. Yalnızca CD çökmesini önlemek için suda çözünürlüğü olan organik çözücülerin kullanılması tercih edilebilir (Başaran, 2005). Ortamda bulunan kompleksleşmemiş etkin madde moleküllerini ayırmak içinse çöktürme öncesi filtrasyon uygulanabilir (Stancanelli ve ark., 2008).

Bu yöntemin en büyük sakıncası büyük ölçekte hazırlanması aşamasındadır. CD'nin sınırlı suda çözünürlüğü nedeniyle büyük hacimde su kullanılması gerekir. Tank kapasitesi, ısıtma ve soğutma için geçen zaman ve enerji önemli etkenlerdir (Del Valle, 2004).

Dondurarak Kurutma Yöntemi (Liyofilizasyon)

Etkin madde ve CD içeren sulu çözeltilerin ya da ender olarak sulu süspansiyonların kurutulmaları için uygulanan yöntemlerden birisi de dondurarak kurutma yöntemidir. Genellikle süspansiyon yöntemi denilen yöntem kullanılır. β -CD çözeltisine aşırı miktarda misafir molekül eklenmesi ile elde edilen süspansiyonlar çözünürlük faz diyagramı esas alınarak belirlenen denge süresi boyunca çalkalanır. Dengeye erişen süspansiyonların santrifüj edildikten sonra süzülmesiyle elde edilen süzüntü dondurarak kurutulur (Bilensoy ve ark., 2007). Bunun yanı sıra uygun molar oranda eklenen misafir molekülün denge zamanı süresince çalkalama sonrası tamamen çözündüğü durumlarda da elde edilen çözelti dondurarak kurutulmuştur (Araujo ve ark. 2008).

Tek fazlı çözelti yöntemi ile dondurarak kurutmada ise misafir molekül asit ortamda ya da etanol vb. çözücülerde çözündürülür ve β -CD'nin sudaki çözeltisi ile karıştırılır. Karıştırma sonrası elde edilen berrak çözeltiden ismini alan

yöntemde β -CD ve misafir molekülü içeren tek fazlı karışım dondurarak kurutulur (Badr-Eldin ve ark., 2008).

Dondurarak kurutma yöntemi, uçucu bileşiklerin kaybını en aza indirir. Özellikle sıcaklığa duyarlı misafir moleküller ve β -CD, HP- β -CD gibi çözünen kompleksler için kullanışlı bir yöntemdir (Del Valle, 2004).

Dondurarak ve püskürterek kurutma yöntemlerinde üretim veriminin yüksek olması, büyük ölçekte üretim yapılabilmesi gibi üstünlükler söz konusudur. Ancak yöntemlerin pahalı ve zaman alıcı olması, elde edilen ürünün inklüzyon kompleksi yanında serbest CD molekülü ile serbest etkin maddeyi de içerebilmesi gibi sakıncaları söz konusudur (Başaran, 2005).

Püskürterek Kurutma Yöntemi

Kompleksler püskürterek kurutma yöntemi ile de hazırlanabilir. Konik ya da silindirik kurutma kazanında üstten aşağıya doğru püskürtülen etkin madde CD çözeltisi damlacıkları, aynı yönden gelen sıcak hava içinde her biri birer küresel parçacık olacak şekilde kurutulur. Püskürtme nedeniyle kurutulacak maddenin yüzey alanı arttığından kuruma işlemi hızlı gerçekleşir (Doğanay, 2004).

Püskürterek kurutma yöntemi iç ve dış sıcaklığın, akış hızının ve hava basıncının kontrol edilebilmesi avantajına sahiptir. Sıcaklığa karşı kararlılık problemi olan ve uçucu maddeler için püskürterek kurutma koşulları uygun hale getirilebilir (Del Valle, 2004; Başaran, 2005).

Nötralizasyon Yöntemi

Asidik veya alkali ortamda CD içeren çözelti içerisinde misafir molekül çözüldürülür ve daha sonra çözelti nötralize edilir. Nötralizasyon ile denge noktasına ulaşıldığında inklüzyon bileşiği oluşumuna bağlı olarak beyaz çökelti gözlenir. Çökelti dekante etme, santrifüj ve filtrasyonla ayrılabilir (Moyano ve ark., 1997).

Birlikte Buharlaştırma Yöntemi

CD ve misafir molekül sırasıyla distile su ve etanolde ya da yalnızca distile suda çözüldürülür. Etanol ve su kullanılarak elde edilen çözeltiler karıştırılır. CD ve misafir molekülü içeren çözeltiler döner buharlaştırıcıda çözücülerinden uzaklaştırılır (Al-Marzouqi ve ark., 2009). Gerekli görüldüğü takdirde kompleks etüvde kurutulabilir.

Çimento Yöntemi

Kompleks oluşumu için CD'nin tamamen çözünmesi gerekli değildir. Bu yöntemde CD, katı maddenin % 50-60'ı kadar distile suya eklenir ve karıştırılır. Sulu faz çözelti içindeki CD ile doygun hale gelir. Eklenen misafir moleküller çözelti içerisindeki CD ile kompleks oluşturur. CD molekülleri sulu fazı doyuracağından oluşan kompleksler sulu fazın dışında kristallenecek ya da çökecektir. Oluşan kompleksler birlikte çöktürme yönteminde olduğu gibi ayrılabilir (Del Valle, 2004).

Bu yöntemin düşük enerji tüketimi, organik çözücü kullanılmaması, gereken su miktarının azaltılması, yüksek verim ve büyük ölçekte üretim yapılabilmesi gibi üstünlüklerinin yanında, uzun zamanda hazırlaması ve birlikte çöktürme

yöntemine oranla daha düşük saflıkta kompleks elde edilmesi gibi sakıncaları söz konusudur (Başaran, 2005).

Pasta (Yoğurma) Yöntemi

Çimento yönteminin bir türevi olan bu yöntemde, β -CD ve misafir molekülün fiziksel karışımı üzerine pasta kıvamı elde etmek için distile su, etanol ya da su:etanol (50:50, h/h) karışımından az miktarda eklenir. Homojen bulamaç elde etmek için misafir moleküle bağlı olarak belirlenen süre içerisinde ya da çözücü tamamen uzaklaşıncaya kadar elde edilen karışım yoğrulur. Elde edilen karışım isteğe bağlı olarak oda sıcaklığında ya da daha yüksek sıcaklıklarda vakum altında kurutulur (Moyano ve ark., 1997; Al-Marzouqi ve ark., 2009). Pastaların tamamen kurutulması sonucu ortaya çıkan sert kütle öğütülerek toz şeklinde elde edilebilir (Del Valle, 2004).

Kapalı Kapta Isıtma Yöntemi

Bu yöntemde çok az miktarda su kullanılır ya da hiç kullanılmaz. Kullanılacak su miktarı CD ve misafir moleküldeki hidrasyon suyu miktarının en fazla % 20–25'i kadar olmalıdır. Öncelikle misafir molekülün ve CD molekülünün fiziksel karışımı cam kaba konulur. Üzerine çok az miktarda su eklenmesinin ardından cam kaplar alevle kapatılır. Kapalı kap ve içeriği 100°C'ye kadar ısıtılır ve içerisindeki kompleks alınıp kurutulur. Her misafir molekül için eklenecek uygun su miktarı, fiziksel karışım hazırlanırken kullanılacak olan uygun karıştırma derecesi ve ısıtma süresi belirlenmelidir (Del Valle, 2004; Al-Marzouqi ve ark., 2009).

Ekstrüzyon Yöntemi

Kapalı kapta ısıtma yönteminin türevi olan bu yöntem, sürekli bir sistemdir. Bu yöntemde CD, misafir molekül ve su önceden ya da ekstrüdere eklenirken karıştırılır. Karıştırma derecesi, ısıtma miktarı ve süresi ekstrüderin silindiri içinde kontrol edilebilir. İçeriğindeki su miktarına bağlı olarak ekstrüde edilen kompleks soğutulduğunda kuruyabilir ya da kurutma için fırına yerleştirilebilir.

Ekstrüzyon sistemi, sürekliliğin sağlanması ve çok az su kullanılması üstünlüklerine sahiptir. İşlem sırasında ısı uygulandığından ısıya dayanıksız olan misafir moleküller bu yöntem kullanıldığında parçalanabilir (Del Valle, 2004).

Öğütme Yöntemi

Bu yöntemde su ve organik çözücü kullanılmamaktadır. Misafir molekül ve CD vibrasyonlu öğütücüde ya da havanda birlikte öğütülür. Misafir moleküle bağlı olarak belirlenen süre öğütme işlemine devam edilir. Basit ve hızlı olması, çözücü gerektirmemesi, büyük ölçeğe uyabilen bir yöntem olması üstünlüklerinin yanı sıra, bütün etkin maddelere uygulanamaması, kısmi inklüzyon kompleksinin elde edilmesi, oluşan tozun fiziksel karışım niteliğinde olma riski, yüksek nem bulunan ortamlarda inklüzyon komplekslerinin parçalanması gibi sakıncaları vardır (Moyano ve ark., 1997; Başaran, 2005).

Mikrodalga radyasyon yöntemi

Farmasötik Teknoloji'de termal etkisinden dolayı kurutma işlemlerinde, enjeksiyon ve infüzyon şeklindeki preparatların sterilizasyonunda kullanılan

mikrodalga radyasyon son zamanlarda inklüzyon kompleksi hazırlamada da kullanılmaktadır. Bu yöntemde, misafir molekül-CD fiziksel karışımının üzerine minimum miktarda etanol:su karışımı eklenir ve homojenize edilir. Karışım mikrodalga fırında tepkimeye bırakılır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra, istenilirse kalan β -CD ve misafir molekülünü uzaklaştırmak için yeterli miktarda çözücü (etanol:su karışımı) eklenebilir. Elde edilen çökelti süzülerek ayrılır. Vakum altında kurutma sonucu toz şeklinde kompleks elde edilir. Mikrodalga radyasyon yöntemi düşük reaksiyon süresi, yüksek verim ve az miktarda çözücü ihtiyacı gibi büyük üstünlüklere sahiptir (Wen ve ark., 2004; Nacs ve ark., 2008).

Süper Kritik CO₂ Yöntemi

Son yıllarda araştırma ve uygulama alanlarında süper kritik sıvı teknolojisi büyük önem taşımaktadır. Süper kritik CO₂ yanıcı, toksik ve pahalı olmaması, kimyasal açıdan kararlı, çevre yönünden kabul edilebilir olması ve karışımdan kolaylıkla ayrılabilmesi yönünden farmasötik işlemlerde sıklıkla tercih edilmektedir. Inklüzyon kompleksi hazırlanmasında da kullanılan süper kritik CO₂ yönteminde, CD ve misafir molekülün fiziksel karışımı aletteki hücreye yerleştirilir. İstenilen basınç ve sıcaklığa kadar sisteme basınç uygulanır ve sistem ısıtılır. Genellikle üç saat süresince sistem istenilen basınç ve sıcaklıkta durağan modda çalıştırılır. Basıncın düşürülmesinden sonra hücre içindeki kompleks alınır ve homojenize edilir (Al-Marzouqi ve ark., 2009).

İlaç Teknolojisinde Siklodekstrinlerin Kullanım Amaçları

CD'ler farmasötik alanda çözünürlüğü, kararlılığı, biyoyararlanımı ve farmakolojik etkinliği arttırmak, yan etkileri azaltmak gibi amaçlar ile yaygın olarak kullanılmaktadır.

Etkin Madde Çözünürlüğü ve Dissolüsyonu Üzerine Etkisi

CD'ler, inklüzyon kompleksi ya da katı dispersiyon yoluyla görünür etkin madde çözünürlüğünün ve dissolüsyonunun iyileştirilmesi amacıyla suda zayıf çözünürlüğe sahip etkin maddelerin formülasyonunda önemli rol oynarlar. Arttırılmış çözünürlük ve çözünme hızı, çözünürlük faz diyagramı ve ilaç dissolüsyon kinetikleri yardımıyla belirlenebilir (Singh ve Aboul-Enein, 2005; Rasheed ve ark., 2008). CD molekülleri kompleksleşme için elverişsiz molekül özelliklerine sahip etkin maddeler için hidrofilik taşıyıcı görevi görürler. CD'lerin çözündürücü ajan olarak çeşitli kullanımları **Çizelge 2'** de özetlenmiştir.

Ticari CD'ler arasında, düşük molar süstitüsyon gösteren metil CD en güçlü çözündürücüdür. Ayrıca yüklü CD'ler bazı durumlarda iyi çözündürücü özellik gösterebilirler. Çözündürücü etkileri, yükün CD boşluğuna yakınlığına ve lokalizasyonuna bağlı olarak değişir.

Sulu çözeltelerde suda çözünen polimerler, etkin madde-CD kompleksinin kararlılık değişmesini arttırarak CD'lerin çözündürücü etkilerini arttırırlar. Aynı şekilde sitrik, malik ve tartarik asit gibi hidroksi asitlerin eklenmesi sonucu tuz ya da süper kompleks oluşumu yoluyla CD'nin çözündürücü etkisi iyileştirilebilir (Singh ve Aboul-Enein, 2005).

CD'lerle kompleksleşmede ya da katı dispersiyonda etkin madde kristalliğinin azaltılması ile, etkin madde çözünürlüğünün ve çözünme hızının artırılmasına katkı sağlanır (Rasheed ve ark., 2008).

Çizelge 2. Siklodekstrin Kullanımı ile Çözünürlük ve Dissolüsyonun İyileştirilmesine ait Örnekler (Rasheed ve ark., 2008)

CD	Etkin Maddeler
β -CD	Nimesulit, sulfometiyazol, lorazepam, ketoprofen, griseofulvin, prazikuantel, klortalidon, etodolak, piroksikam, itrakonazol, ibuprofen
α -CD	Prazikuantel
γ -CD	Prazikuantel, omeprazol, digoksin,
HP- β -CD	Albendazol, DY-9760e, ETH-615, levopamil HCl, sulfometiyazol, ketoprofen, grisofulvin, itrakonazol, karbamazepin, zolpidem, fenitoin, rutin
DM- β -CD	Naproksen, kamfotesin
SBE- β -CD	DY-9760e, danazol, fluasteron, spiranolakton
RM- β -CD	ETH-615, takrolimus
Rasgele açılınmış amorf β -CD	Naproksen

Biyoyararlanım Üzerine Etkisi

CD, suda çözünmeyen etkin maddelerin çözünürlüğünü, dissolüsyonunu ve permeabilitesini artırarak biyoyararlanımını iyileştirir. Bu iyileştirme; deri, mukoza, göz korneası gibi biyolojik engel yüzeyinde etkin maddeyi bulunur hale getirmeleri ile olur. Etkin madde buradan lipit engellere zarar vermeden membrandan partisyona uğrayarak geçer (Challa ve ark, 2005). Bu gibi durumlarda, sulu ortamda etkin maddeyi çözmek için yeterli miktarda CD kullanmak önemlidir çünkü aşırı etkin madde yararlanımını azaltabilir (Vyas ve ark, 2008). Polimer eklenmesi ile sulu CD çözeltilerinden etkin madde permeabilitesi daha da iyileşir. Suda çözünen etkin maddeler için, CD mukoza membranları üzerine direkt etki ederek etkin madde permeabilitesini artırır, emilimini ve biyoyararlanımını iyileştirir (Rasheed ve ark., 2008).

Hidrofilik CD'ler ile kompleks oluşturan etkin maddelerin emiliminin artırılması ile biyoyararlanımının iyileştirilmesi dört mekanizma ile gerçekleşir. (a) CD'ler suda az çözünen etkin maddelerin ıslanabilirliğini, çözünme hızını ve çözünürlüğünü artırır; (b) CD'ler kimyasal açıdan kararsız etkin maddelerin saklama esnasında ve GI sistemde dispozisyonunu ve bozunmasını önler. (c) CD'ler nazal ve rektal mukozanın membran akışkanlığını bozarak peptit ve protein yapılı etkin maddelerin emiliminini artırırlar. (d) CD'nin içerdiği etkin

maddeyi salması için üçüncül bileşenlerle (safra asidi, kolesterol, lipit vb.) yarışmalı kompleksleşmesi söz konusu olabilir (Vyas ve ark, 2008).

Etkin madde irritasyonunu iyileştirme yetenekleri ile transdermal, rektal, oküler, nazal emilim bölgelerinde etkin maddenin temas süresini arttırmaları CD'ler ile biyoyararlanımın iyileştirilmesine katkı sağlayan diğer önemli etmenlerdir (Challa ve ark, 2005).

İlaç Güvenliği Üzerine Etkisi

CD'ler etkin maddelerin neden olduğu irritasyonu iyileştirmek için kullanılırlar. ilaç çözünürlüğünü arttırmaları sonucu etkin madde etkinliğini artırırlar. Böylece daha düşük dozlarda etkin madde etkili olduğundan, toksisite azaltılabilir (Rasheed ve ark., 2008). β -CD'nin insan sitomegalo virüsü üzerinde gansiklovirin antiviral etkinliğini artırdığı ve etki artışı sonucu toksisitenin azaltılabileceği gösterilmiştir (Nicolazzi ve ark, 2002). Parenteral formülasyonlarda suda zayıf çözünen etkin maddelerin kristalizasyonuna ilişkin toksisite, çözünür etkin madde/CD kompleks oluşumu ile azaltılabilir. Ayrıca, CD'lere moleküler düzeyde etkin madde hapsedilmesi ile etkin maddenin biyolojik membranla direk teması önlenir ve böylece terapötik yararlanımda etkili kayıplar olmaksızın lokal irritasyon ve yan etkiler azaltılır (Vyas ve ark, 2008).

Etkin Madde Kararlılığı Üzerine Etkisi

CD'ler, katı ve sıvı hal kararlılığına etki ederek çeşitli kararsız moleküllerin sıcaklığa, dehidrasyona, hidrolize, oksidasyona ve fotobozunmaya karşı kararlılığını iyileştirir ve böylece etkin maddelerin raf ömrünü uzatırlar (Acartürk, 1993, Challa ve ark., 2005). **Çizelge 3**'te CD'lerin etkin madde kararlılığı üzerine etkileri özetlenmiştir. CD'lerin, etkin maddenin ortamla etkileşimini engellemesi ve emilim bölgesinde etkin maddenin biyodönüşümünü bloke etmesi sonucunda ilaç kararlılığındaki artışı indüklediği bildirilmiştir (Rasheed ve ark., 2008). Moleküler kalkan sağlaması nedeniyle, CD kompleksi kararsız etkin maddeleri moleküler düzeyde enkapsüle eder ve böylece çeşitli etkin madde bozunmalarına karşı etkin madde moleküllerini ortamdan izole eder. SBE- β -CD diğer CD'lere oranla kimyasal açıdan kararsız birçok etkin madde için kararlılık açısından daha büyük iyileşme gösterir (Loftson ve Brewster, 1996; Rasheed ve ark., 2008). CD'lerin ortam ve etkin madde kararlılığındaki stabilize edici etkisi, içerdiği fonksiyonel grupların yapısına ve etkisine bağlıdır (Acartürk, 1993).

CD'lerin trimeprazin, prometazin ve metronidazol benzoatın fotokararlılığını iyileştirdiği bildirilmiştir (Acartürk, 1993, Rasheed ve ark, 2008). CD'ler ile enkapsüle edilmiş etkin maddenin hidrolizi serbest etkin maddeye göre daha yavaş olduğundan, etkin madde/CD kompleksinin kararlılığı, korumanın derecesinin belirlenmesinde önemli rol oynar (Nagase ve ark., 2001; Kang ve ark, 2002). Ancak kompleks oluşumu bozunma reaksiyonunu her zaman engellemeyebilir. Hatta belirli koşullar altında, CD kompleksleşmesi CD tipine ve kompleksleşme sırasında etkin madde molekülünde oluşan yapısal değişikliklere bağlı olarak etkin madde bozunmasını hızlandırabilir (Rasheed ve ark, 2008). Genellikle kararlılık, kompleksin tam olarak oluşup oluşmadığına ve oluşan kompleksin yapısına bağlıdır (Acartürk, 1993).

Çizelge 3. Etkin Madde Kararlılığı Üzerine Siklodekstrin Etkisi (Rasheed ve ark., 2008)

Etkin Madde	CD	Etki
Prometazin	HP- β -CD, DM- β -CD	Fotokararlılık
2-etilhekzil p-(dimetilamino)benzoat	HP- β -CD	Fotokararlılık
Glibenklamid	β -CD	4 yıl süresince çözünme hızının etkilenmediği raf ömrü
Diklofenak sodyum	β -CD	Katı halde termal kararlılık
Kuinaril	β -CD, HP- β -CD	Katı halde molekül içi halkalaşmaya karşı kararlılık
Doksorubisin	HP- β -CD, HP- γ - CD	Fotobozunmaya ve asid hidrolizine karşı kararlılık
Gansiklovir' in açıl ester ön ilacı	HP- β -CD	Hidrolize karşı kararlılık
Digoksin	γ - CD	Hidrolize karşı kararlılık
Rutin	HP- β -CD	Hidrolize karşı kararlılık
Kamfotesin	RDM- β -CD	Hidrolize karşı kararlılık
Melfalan, Karmustin	SBE- β -CD, HP- β -CD	Hidrolize karşı kararlılık
Paklitaksel	γ - CD, HP- γ - CD, HP- β -CD	Hidrolize karşı kararlılık
Spiranolakton	SBE- α -CD, SBE- β -CD, HP- β -CD, γ - CD, β -CD	Deaçilasyon veya bozunma
Flutamit	β -CD	Fotoreaktivite

Farmakolojik Etkinlik Üzerine Etkisi

CD'ler farklı farmakolojik etki grubuna üye ajanlarla inklüzyon kompleksi oluşturmak suretiyle etkin maddelerin farmakolojik etkinliğini arttırabilirler. Etidokain, lipokain, prilokain, mepivakain, bupivakain ve ropivakainin HP- β -CD veya diğer CD türevleri ile inklüzyon kompleksi oluşturmaları sonucunda anestezi etkilerinin arttırıldığı ve etki sürelerinin uzatıldığı bildirilmiştir (Araujo ve ark., 2008).

Tamoksifen sitrat, DY-9760e ve paklitaksel gibi antitümöral etkin maddelerin, sırasıyla, amfilik β -CD, sülfobutil eter β -CD ve dimetil β -CD ile kompleks haline getirilmesi ile ilişkili olarak *in vitro* antikanser etkinlikte artış görüldüğü bildirilmiştir (Nagase ve ark, 2001; Alcaro ve ark., 2002; Bilensoy ve ark., 2007).

β -CD, α -CD ve DM- β -CD gibi farklı CD türleri ve klotrimazol ile gerçekleştirilen bir başka çalışmada, kullanılan tüm CD türleri ile kompleksleşme sonunda

antifungal etkinlik artışı görüldüğü ve en yüksek artışın DM- β -CD kullanılan komplekslerde olduğu gösterilmiştir (Ahmed ve ark., 1998).

Siklodekstrinlerin Uygulama Yolları

Oral: CD kompleksleriyle hızlı, kontrollü ve geciktirilmiş salım yapan oral dozaj şekilleri hazırlanabilir.

Rektal: Çözünürlüğü zayıf olan etkin maddelerin CD'ler ile inklüzyon kompleksleri hazırlanarak rektal yoldan emilimleri artırılabilir.

Dermal: CD'ler dermal biyoyararlanım ve kararlılığı artırır; yan etkileri azaltır. β -CD deriye penetrasyon yeteneği en fazla olan türevidir.

Oküler: Lokal irritasyonun az olması ve korneadan geçişin modifiye edilebilmesi açısından oküler uygulamada avantajlıdır.

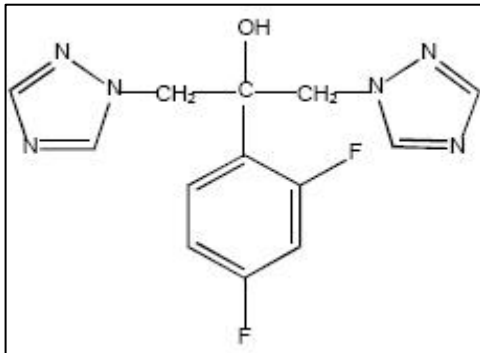
Nazal: β -CD, HP- β -CD ve γ -CD nazal mukozada kalış süresini uzatır.

Pulmoner: Peptitlerin, proteinlerin, testosteron, salbutamol, insülin gibi maddelerin CD kompleksleri pulmoner yoldan uygulanabilir.

Parenteral: CD kompleksleri ile etkin maddelerin hemolitik etkileri azaltılabilir. Bu etki en iyi HP- β -CD'de görülür (Challa ve ark., 2005; Rasheed ve ark., 2008).

Flukonazol

FZ, yüzeysel ve sistemik fungal enfeksiyonların tedavisinde kullanılan, florlanmış bistriazol yapısında üçüncü kuşak azol türevidir, lipofilik karakterli antifungal bir ajandır (The Merck Index, 1989; Höller ve Valenta, 2007; Martindale, 2009). Molekül ağırlığı 306.3 olan FZ polimorfizm özelliği gösterir. Kristal yapıda olan FZ'nin erime derecesi 138-140°C aralığındadır. Beyaz veya beyazımsı tozudur. Suda yavaşça, asetonda ve metanolde serbestçe çözünür (The Merck Index, 1989; British Pharmacopoeia, 2008).



Kapalı Formülü: $C_{13}H_{12}F_2N_6O$

Açık Formülü: α -(2, 4-Diflorofenil)- α -(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1H-1,2,4-triazol-1-etanol

Şekil 3. Flukonazol'un Kimyasal Yapısı, Açık ve Kapalı Formülü (The Merck Index, 1989)

Flukonazol'ün Farmakolojik Özellikleri

FZ geniş spektrumdaki fungal enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Oral yolla ya da intravenöz infüzyon yoluyla uygulanan FZ yüzeysel mukozal kandidiyaziste (orofarınjal, özofajiyal veya vajinal), idrar yolu enfeksiyonları, pnömoni, peritonit tedavisinde ve fungal deri enfeksiyonlarında kullanılır. Aynı zamanda sistemik kandidiyazis, koksidioidomikozis ve kriptokokozis gibi sistemik enfeksiyonlarda da kullanılır (Martindale, 2009). FZ histoplazmozis, blastomikozis, sporotrikozis,

onikomikozis ve vücut ringformuna karşı etkinlik gösterir (Goodman Gilman's, 1995).

FZ bağışıklık yetmezliği olan hastaların tümünde neredeyse tüm kandida enfeksiyonlarında birincil tedavi seçeneğidir (Bachhav ve Patravale, 2009). Özellikle sitotoksik ilaç kullanan kanser hastalarında ve HIV virüsü ile enfekte olmuş AIDS'li hastalarda yaygın görülen orofarınjal kandidiyazis tedavisinde yüksek tedavi oranı ve hızlı cevap oluşturması nedeniyle tercih edilir (Al-Marzouqi, 2009). Oude Lashof ve ark.'larının (2004) nötropenik olmayan kanserli hastalar üzerinde yaptığı çalışmada, orofarınjal kandidiyazis üzerine itraconazol ve flukonazol kapsüllerinin etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda FZ'nin orofarınjal kandidiyazis tedavisinde daha iyi klinik sonuç ve mikolojik yok etme sağladığı bildirilmiştir. Barbaro ve ark.'larının (1996) benzer çalışmasında AIDS'li orofarınjal kandidiyazis hastalarında kısa süreli tedavide FZ itraconazole oranla daha yüksek tedavi hızı sağlamıştır. Orofarınjal kandidiyaziste günlük 50-100 mg dozda etkili olduğu bildirilmiştir (Goodman Gilman's, 1995).

Vulvovajinal kandidiyazis ise her kadının yaşam döngüsünde en az bir kez karşılaşması muhtemel fungal enfeksiyonlardan biridir. Bachhav ve Patravale (2009), FZ ile vajinal kandidiyazis tedavisinin diğer bölgelere göre daha etkili olması ve vajinal taşımanın yararlılığını göz önüne alarak yaptıkları mikroemülsiyon bazlı jel sistemi ile vajinal yoldan FZ taşınmasını sağlamışlardır. Hazırlanan jel sistemi FZ standardına ve klotrimazol içeren Candid® jele oranla *in vitro* açıdan antifungal etkinlik artışı göstermiştir. Tavşanlarda irritasyona neden olmadığı ve kadınlarda yapılan klinik deneylerde kandidiyazis tedavisinde kullanılan mevcut topik formülasyonlara alternatif olduğu gösterilmiştir (Bachhav ve Patravale, 2009).

% 0.2 oranında FZ içeren göz damlası formülasyonu gözdeki fungal enfeksiyonlar için hazırlanmıştır ve iyi tolere edilmiştir. Hazırlanan oftalmik jel formülasyonu ile yüksek penetrasyon sağlanmış, FZ'nin derin korneal stromaya ve aköz göz sıvısına ulaştığı saptanmıştır (Behrens-Baumann, 1999).

FZ AIDS nedeniyle bağışıklık yetmezliği olan hastalarda kriptokokal menenjitin akut tedavisinde kullanılır; ancak bu grup dışındaki hastalarda kriptokokozis tedavisinde FZ'nin rolü tam olarak tanımlanamamıştır. Ayrıca koksidioidal menenjit tedavisinde ölüm yüzdesi daha düşük olduğundan diğer antifungal etkin maddelere tercih edilir (Goodman Gilman's, 1995).

Bağışıklık yetmezliği olan (AIDS'li hastalar, kemoterapi tedavisi gören kanser hastaları ya da kemik iliği transplantasyonu sonrası radyasyon tedavisi gören hastalar ve fungal enfeksiyon riski taşıyan hastalarda profilaksi amacıyla kullanılabilir (Shrum ve Milikan, 2000; Martindale, 2009). FZ diğer antifungallerin başarısız olduğu ya da tolere edilemediği kandidiyazis enfeksiyonların profilaksisinde de kullanılır.

FZ'nin yaygın kullanımının ardından son yıllarda FZ'ye karşı direnç gelişimi bildirilmiştir. Yapılan biyokimyasal çalışmalar direnç gelişiminde; *efflux* (dışarıya atma), geri alma, hedef bölgeler ve sterol biyosentezindeki değişiklikler gibi mekanizmaları vurgulamaktadır (Sun ve ark., 2004).

Flukonazol'ün Farmakodinamik Özellikleri

FZ maya ve mantarlarda mikrozomal enzim olan sitokrom P450 14- α -demetilazı seçici olarak inhibe eder. Lanosterolün ergosterole dönüşümünde rol oynayan bu enzimin inhibisyonu ile fungal sitoplazmik membran bütünlüğü için gerekli olan ergosterol sentezi engellenir. 14- α -metilsterollerin birikimi ile metilsterollerin membran bileşenleri ile etkileşimi nedeniyle membranın gerçek şekli ve fiziksel özellikleri değişir; permeabilite değişiklikleri ve membran proteinlerinde işlev bozuklukları görülür. Sonuçta fungal büyüme etkili şekilde önlenir (Shrum ve Milikan, 2000; Martindale, 2009).

Flukonazol'ün Farmakokinetik Özellikleri

FZ oral uygulamayı takiben GI kanaldan iyi emilim gösterir (Martindale, 2009). Oral ya da intravenöz verilmesi ile elde edilen plazma konsantrasyonlarının benzer olduğu bildirilmiştir. Biyoyararlanımı besinle ya da gastrik asidite ile değişmez. 100 mg'lık tekrarlanan dozlamadan sonra maksimum plazma konsantrasyonu 4-8 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ 'dir (Goodman Gilman's, 1995). Oral uygulama sonrası maksimum konsantrasyona bir veya iki saatte erişilir. 6-10 günde, eğer yükleme dozu verildiyse 2 günde kararlı durum konsantrasyonuna erişim sağlanabilir (Martindale, 2009).

FZ vücutta geniş ölçüde dağılım gösterir. Görünür dağılım hacmi vücuttaki toplam su hacmine yakındır. Anne sütü, eklem sıvısı, tükürük, balgam, vajinal sıvı ve peritonal sıvıdaki konsantrasyonları plazmada ulaşılan miktara benzerlik gösterir. Oral verililişinin ardından FZ'nin tükürük konsantrasyonları, tükürük salgısı azalmış AIDS'li hastalarda dahi özofajiyal ve orofarinjal kandidiyazis tedavisi için yeterlidir. Menenjiyal inflamasyon yokluğunda dahi serebrospinal sıvıdaki (CSF) konsantrasyonu, plazma konsantrasyonunun % 50-90'ı aralığındadır. Elde edilen CSF konsantrasyonu kriptokokal menenjit tedavisi için yeterlidir (Martindale, 2009). Göze penetrasyonu değerlendirildiğinde iyi ve uygun bulunmuş ve fungal endoftalmide başarıyla kullanıldığı bildirilmiştir (Behrens-Baumann, 1999). Plazma proteinlerine bağlanma oranı düşük olup, yaklaşık % 12'dir (Martindale, 2009).

Alınan FZ dozunun yaklaşık % 80'i idrarla değişmeden, yaklaşık % 11' i ise 1,2,3-triazol ve 2-N-dealkile edilmiş bileşik olan metabolitleri şeklinde renal yolla atılır. Otuz saat olan eliminasyon yarı ömrü, renal fonksiyon bozukluğu olan hastalarda daha uzundur ve doz ayarlaması gerektirir (Shrum ve Milikan, 2000; Martindale, 2009).

Uzun süreli FZ kullanımı ile deri ve tırnaklardaki FZ düzeyi yükselir. FZ düzeyi ekrin ter ve dermis-epidermiste serum düzeyinden daha yüksek olduğunda, FZ hem dermis-epidermisten direk difüzyon ile hem de ter ile *Stratum Corneum*'a ulaşır. FZ tedavisinin bırakılmasından birkaç hafta sonra dahi uzatılmış keratin düzeyine rastlanır (Shrum ve Milikan, 2000).

Flukonazol'ün Kararlılığı

FZ'nin gama ışınlarına maruziyet sonucu fizikokimyasal özelliklerinin değişmesi sonucunda radyokimyasal olarak kararlı yapıya sahip olmadığı ve gama radyasyonla sterilize edilmemesi gerektiği bildirilmiştir (Marciniec ve ark., 2007).

FZ'nin hava geçirmeyen kaplarda saklanması önerilmektedir (British Pharmacopaeia, 2008).

Flukonazol'ün Yan Etkileri ve Toksisitesi

Patolojik durumlar (örneğin; renal ve hepatik bozukluk) veya farklı ilaç tedavileri ile eş zamanlı kullanımı sonucu ortaya çıkan etkileşimler FZ'nin farmakokinetik profilini etkileyebilir. Bu durum terapötik etkinlikte değişime ve yan etkilerin ortaya çıkmasına neden olabilir (Jovanović ve ark., 2005).

FZ kullanımı ile bildirilen yan etkiler genellikle GI sistemle etkileşimi ile ilişkilidir. Abdominal ağrı, diyare, flatülans (mide veya barsakta aşırı gaz toplanması), mide bulantısı, kusma ve tat bozukluğu gibi yan etkiler bildirilmiştir. Diğer yan etkiler; baş ağrısı, baş dönmesi, lökopeni (kanda lökosit azlığı), trombositopeni, hiperlipidemi ve karaciğer enzim değerlerindeki artıştır. Şiddetli hastalığı olanlarda hepatotoksisite bildirilmiştir (Martindale, 2009). Hepatik yetmezliğe bağlı olarak nadiren ölüm vakaları görülmüştür (Goodman Gilman's, 1995).

Nadir olmakla birlikte anaflaksi ve anjiyoödem saptanmıştır. Deri reaksiyonlarına da az rastlanır ancak AIDS'li hastalarda başta olmak üzere toksik epidermal nekroz ve *Stevens-Johnson* sendromu gibi ekfoliyatif kütanöz reaksiyonlar görüldüğü bildirilmiştir. Uzun süreli FZ kullanımında nadiren alopesi (saç dökülmesi) görülmüştür (Martindale, 2009).

FZ, renal ve hepatik bozukluğu olan hastalarda dikkatle kullanılmalıdır. Hayvanlara yüksek dozda FZ verilmesiyle teratojenite belirlendiğinden gebelikte kullanımı önerilmemektedir. Anne sütüne geçtiğinden emziren kadınlarda da kullanılmamalıdır (Martindale, 2009).

FZ ile eş zamanlı kullanımda bazı ilaç etkileşimleri **Çizelge 4'**te verilmiştir. FZ bazı ajanlarla eş zamanlı kullanıldığında büyük olasılıkla sitokrom P450 inhibisyonu nedeniyle bu ajanların metabolizasyonunu engeller. Bu durum fenitoinin, sülfonilürenin ve hipoglisemik ajanların plazma konsantrasyonundaki artışın ve sülfametoksazolün toksik metabolitinin üretimindeki azalmanın açıklamasıdır. Yüksek doz FZ'nin ardından terfenadin konsantrasyonundaki artış elektrokardiyogram anomalileri ile ilişkilidir. Benzer etki astemizol ile de beklenir. FZ'nin astemizol, sisaprit veya terfenadin ile eş zamanlı kullanımından kardiyak aritmi riski nedeniyle kaçınılmalıdır. FZ aynı zamanda bazı oral antikoagülanların etkisini arttırabilir ve teofilinin atılımını ve oral kontraseptiflerin etkinliğini azaltabilir (Goodman Gilman's, 1995; Martindale, 2009).

**Çizelge 4. Flukonazol ile Eş Zamanlı Kullanımda Bazı İlaç Etkileşimleri
(Goodman Gilman's, 1995; Martindale, 2009)**

Etkin Madde İsmi	Etkileşim Şekli
Rifampin	FZ metabolizması artar.
Siklosporin	Siklosporinin plazma konsantrasyonu ve AUC değeri artar.
Fenitoin	Fenitoinin plazma konsantrasyonu artar ve toksisite olasılığı görülür.
Rifabutin Takrolimus Sülfonilüreler Zidovudin Sisaprit Terbinafin Trisiklik Antidepresanlar Benzodiazepinler Kortikosteroidler	Bu etkin maddelerin serum konsantrasyonu artar.
Varfarin	Protrombin zamanı artar.
Hidroklorotiyazit	Hidroklorotiyazitin renal klirensi azalır, serum konsantrasyonu artar.
Simetidin	FZ serum konsantrasyonu azalır. Bu kombinasyondan kaçınılmalıdır.

Flukonazol'un Miktar Tayini Yöntemleri

Formülasyonlardaki ve vücut sıvılarındaki FZ miktarının belirlenmesinde miseller elektrokinetik kapiller kromatografi (MECC) (Heeren ve ark., 1996), gaz kromatografisi (GC) (Faergemann, 1999), ince tabaka sıvı kromatografisi (İTK) (Selçuk ve ark., 1995) ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) (Kim ve ark., 2007; Bachhav ve Patravale, 2009) gibi çeşitli analitik yöntemler literatürde tanımlanmıştır.

FZ'nin araştırmacılar tarafından en çok tercih edilen miktar tayini yöntemlerinin başında YBSK gelmektedir. Örnek olarak Bachhav ve Patravale (2009) hazırladıkları mikroemülsiyon bazlı jel sistemine yükledikleri FZ miktarını, YBSK yöntemini kullanarak, 214 nm'de analiz ederek belirlemişlerdir.

Kim ve arkadaşları (2007), iç standart olarak kullandıkları fenasetin yardımıyla, gönüllülerden elde edilen plazma örnekleri üzerinde YBSK yöntemi ile FZ miktarını belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada, iç standart olarak diamonyum hidrojen sülfat kullanılmış ve sıçan kanındaki ve dermal dokularındaki FZ mikrodializ örnekleyici sisteme sahip YBSK sistemi ile 210 nm'de analiz edilebilmiştir (Mathy ve ark., 2003). Jovanović ve ark. (2005) ve Porta ve ark. (2005), ekstraksiyon işleminde ya da kullanılan analitik koşullarda kromatografik ayrılmada sorun çıkarabilen iç standart madde kullanmaksızın, plazma

örneklerindeki FZ miktarını farklı hareketli faz ve kolon sistemleri ile sırasıyla 260 nm ve 210 nm’de başarılı şekilde analiz etmişlerdir.

Selçuk ve ark. (1995), FZ kapsül ve şuruplarındaki etkin madde miktarının belirlenmesinde YBSK, ultraviyole (UV) spektroskopisi ve İTK dansitometrik yöntemlerini kullanarak üç analitik yöntemin de kantitatif analiz için uygun olduğunu ve yöntemler karşılaştırıldığında anlamlı farklılık gözlenmediğini belirtmişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada, insan plazması ve tükürüğündeki FZ tayininde MECC yöntemi 190 nm’de UV belirleme ile deproteinize ve ekstre edilmiş plazma örnekleri ile denenmiştir (Heeren ve ark., 1996).

Faergemann (1999), gönüllüler üzerinde yaptığı iki farklı çalışma ile tırnak, serum, *Stratum Corneum*, dermis-epidermis ve ekrin terdeki FZ konsantrasyonunu belirli ekstraksiyon prosedürleri sonrasında, elektron yakalama dedektörü ya da azot seçici dedektör kullanımı ile iç standart varlığında kapiller gaz kromatografisi yöntemi ile belirlemiştir.

Flukonazol İçeren Ticari Preparatlar

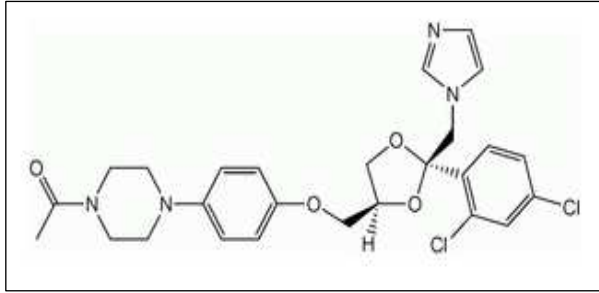
FZ içeren ticari preparatlar kapsül, şurup, intravenöz infüzyon çözeltisi gibi dozaj şekilleri ile **Çizelge 5**’te sunulmuştur (Farmalist Vademecum, 2008; RxMediaPharma®, 2009).

**Çizelge 5. Flukonazol İçeren Ticari Preparatlar
(Vademecum, 2008; RxMediaPharma®, 2009)**

Preparat İsmi	Firma İsmi	Farmasötik Şekli
Triflucan®	Pfizer	2 mg.mL ⁻¹ , 50 mL i.v. infüzyon çözeltisi
Triflucan®	Pfizer	50 mg.mL ⁻¹ , 70 mL şurup
Flucan®	Pfizer	150 mg FZ içeren kapsül
Lumen®	Mustafa Nevzat	2 mg.mL ⁻¹ , 50 mL i.v. infüzyon çözeltisi
Zolax®	Sanovel	50, 100, 150 ve 200 mg FZ içeren kapsül
Kandizol®	Nobel	150 mg FZ içeren kapsül
Trizol®	Koçak	50, 100 ve 150 mg FZ içeren kapsül
Fungan®	İ.E. Ulagay	150 mg FZ içeren kapsül
Funolteva®	Med-İlaç	150 mg FZ içeren kapsül

Ketokonazol

KZ, insanda görülen mikotik enfeksiyonların tedavisinde kullanılan imidazol yapısında ikinci kuşak azol türevi antifungal ajandır (Micromedex, 2003). Yüksek permeabilitesi ve suda düşük çözünürlüğü ile Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi'nde ikinci sınıfta yer alır (Mooter ve ark., 2001). Molekül ağırlığı 531.4 olan KZ zayıf baz özelliğindedir (British Pharmacopoeia, 2008; Wang ve Tang, 2008). Erime derecesi 148-152°C aralığındadır. Beyaz veya beyazımsı tozdur. Suda çözünmezken, metilen klorür ve etanolde çözünür (British Pharmacopoeia, 2008; USP 31, 2008).



Kapalı Formülü:

$C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$

Açık Formülü: 1-asetil-4-[4-
[[[(2RS,4SR)-2-(2,4-diklorofenil)-
2-(1H-imidazol-1-ilmetil)-1,3-
dioksolan-4il]metoksi]fenil]
piperazin

Şekil 4. Ketokonazol'un Kimyasal Yapısı, Açık ve Kapalı Formülü
(The Merck Index, 1989; British Pharmacopoeia, 2008)

Ketokonazol'un Farmakolojik Özellikleri

KZ, yüzeysel ve sistemik mantar enfeksiyonlarının tedavisinde oral ya da topik olarak kullanılan geniş spektrumlu antifungal etkin maddedir. KZ, kronik mukokütanöz kandidiyazis, vajinal kandidiyazis, GI kanaldaki mantar enfeksiyonları, topik uygulamaya yanıt vermeyen deri ve tırnağın dermatofit enfeksiyonları, sistemik blastomikozis, kandidiyazis, koksidioidomikozis, histoplasmozis ve parakoksidioidomikozis enfeksiyonları tedavisinde oral yolla verilir (Martindale, 2009).

Vajinal kandidiyaziste oral KZ uygulanmasının yanı sıra biyoadezif tabletinin geliştirilmesi ile sistemik uygulama ile görülen yan etkilerin azaltılması ya da ortadan kaldırılması ve vajinal yolla uygulamanın üstünlükleri sağlanmıştır. Karasulu ve ark. (2004) hazırladıkları biyoadezif tablet ile vajinal mukoza ile temas süresini ve salım zamanını arttırarak vajinal kandidiyaziste KZ'nin terapötik etkinliğini arttırmışlardır. Başka bir çalışmada, Wang ve Tang (2008) geliştirdikleri efervesan biyoadezif vajinal tablet ile gerçekleştirdikleri *in vitro-in vivo* çalışmalar sonucunda biyoadezif tabletin en az 24 saat etkisini sürdürdüğünü bildirmişlerdir.

KZ *Tinea* enfeksiyonlarının çeşitli tiplerinde (*T. cruris*, *T. corporis*, *T. versicolor*) başarı ile kullanılır (Shrum ve Milikan, 2000). *Tinea* enfeksiyonlarında oral yolla 200-400 mg KZ içeren tablet ya da topik olarak % 2 oranında KZ içeren krem formülasyonunun uygulanması ile enfeksiyona karşı etkinlik görüldüğü bildirilmiştir (Micromedex, 2003; Martindale, 2009).

KZ hem kortikosteroid hem de androjen yolaklarında steroid metabolizmasını engellediğinden, *Cushing* sendromu, hirsutizm (aşırı kılınma), erken puberte (ergenlik) ve prostat kanseri gibi durumlarda terapötik amaçla kullanılabilir

(Shrum ve Milikan, 2000). *Cushing* sendromunda ilaç tedavisi yardımcı ve palyatiftir. Hipofiz radyoterapisine yardımcı olarak KZ kullanımına ait güvenilir sonuçlar bildirilmiştir (Martindale, 2009).

KZ'nin *Pityrosporum ovale*'ye karşı etkinliği nedeniyle saçlı deri, yüz ve diğer bölgelerdeki seboreik dermatit tedavisinde % 2 oranında KZ içeren şampuan, jel ve krem formülasyonlarının etkili olduğu bildirilmiştir (Faergemann, 2000; Micromedex, 2003).

Onikomikozis (tırnağın mantar enfeksiyonu) tedavisinde antimikotik maddelerin tırnak plağına zayıf penetrasyonu nedeniyle daha çok plastik sanayisinde kullanılan ısıyla eritme-kalıplaştırma (HME) tekniğinin uygulanmasıyla KZ içeren ilaç taşıyıcı filmler geliştirilmiştir. KZ içeren ince filmler % 20'ye kadar yüklenme kapasitesi ve *ex vivo* çalışmalarla kanıtlanan uygun biyoadesif özellikleri ile onikomikozis ve diğer fungal enfeksiyonların tedavisi için potansiyel dozaj şekli olarak önerilmiştir (Mididoddi ve Repka, 2007).

Gözün fungal enfeksiyonlarından keratomikozis ve kandida kaynaklı fungal endoftalmide oral yolla uygulanan KZ'nin etkili olduğu bildirilmiştir. Hint yağının sıvağ olarak kullanıldığı % 2 oranında KZ içeren yağlı göz damlaları *Aspergillus*, *Fusarium solani* ve *Alternaria* türlerine karşı etkili bulunmuştur (Behrens-Baumann, 1999).

KZ değişken emiliminden ve yavaş terapötik cevabından dolayı bağışıklık yetmezliği olan hastalardaki ciddi enfeksiyonlarda ve fungal menenjit gibi hayatı tehdit edici mantar enfeksiyonlarında kullanılmamalıdır (Martindale, 2009).

Ketokonazol'un Farmakodinamik Özellikleri

KZ mantarlarda bulunan bir mikrozomal enzim olan sitokrom P450 14- α -demetilazı inhibe eder. Lanosterolün ergosterole dönüşümünde rol oynayan bu enzimin inhibisyonu ile fungal sitoplazmik membran bütünlüğü için gerekli olan ergosterol sentezi engellenir. Fungal hücre membranı permeabilitesi değişir; membran proteinlerinde işlev bozukluğu görülür. Sonuç olarak fungal büyüme etkili şekilde önlenir (Shrum ve Milikan, 2000; Martindale, 2009). KZ'nin membran permeabilitesini değiştirmesinin yanı sıra oksidatif ve peroksidatif enzimlerin sentezi ve RNA ve DNA prekürsörlerinin alımının inhibisyonu yoluyla da antifungal etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Micromedex, 2003).

KZ, duyarlı mantarlar üzerinde etkili olurken, kortikosteroid ve androjen sentez yollarında insan steroid metabolizmasını engeller (Shrum ve Milikan, 2000).

Ketokonazol'un Farmakokinetik Özellikleri

KZ'nin GI kanaldan emilimi değişkenlik gösterir (Goodman Gilman's, 1995). Emilim ve çeşitli bireysel faktörlere bağlı olarak, KZ oral dozunun % 37-97 aralığında kana ulaşan miktarı değişken biyoyararlanıma neden olur (Shrum ve Milikan, 2000). KZ çözünürlüğü için asit ortam gerekli olduğundan mide pH'sının azalması ile emilim artar (Martindale, 2009). Aynı zamanda aklorhidri ya da antiasit, antiparkinson, antikolinergik veya H₂ reseptör antagonisti gibi ajan grupları kullanımı ile görülen hipoasidite durumlarında KZ emilimi azalır (Micromedex, 2003). Emilimi arttırmak ve GI bozuklukları azaltmak amacıyla besinlerle birlikte verilmesi önerilir. Tok karnına KZ alınması ile emilim hızında

ve miktarında azalma görülür (Goodman Gilman's, 1995). KZ içeren tabletlerle köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada, aç karnına uygulama ile karşılaştırıldığında beslenme sonrası uygulamada plazma konsantrasyonu zaman eğrisinde emilime bağlı olarak faz gecikmesi gözlemlendiği ve biyoyararlanımda bireylerarası değişkenlik görüldüğü bildirilmiştir (Vertzoni ve ark., 2006).

200, 400 ve 800 mg KZ oral dozunun ardından elde edilen maksimum plazma konsantrasyonları yaklaşık olarak 4, 8 ve 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ 'dir. Sağlıklı deneklerde topikal ve vajinal uygulama sonrası sistemik emilimin minimum olduğu belirlenmiştir (Goodman Gilman's, 1995; Martindale, 2009).

KZ vücutta geniş ölçüde dağılım gösterir. Akciğer, karaciğer, böbrekler, kemik iliği ve kalp kasında yüksek konsantrasyonda olmak üzere tüm vücutta dağılır. Anne sütünde görülür (Micromedex, 2003). Güçlü keratin adherensi nedeniyle keratinositlere yeterli ölçüde ulaşır. Eklem sıvısı, idrar, tükürük, sebum, ekren ter ve vajinal sıvıdaki konsantrasyonları plazmada ulaşılan miktara benzerlik gösterir (Shrum ve Milikan, 2000). CSF'ye penetrasyonu zayıftır. Fungal menenjitli hastalarda CSF'deki KZ konsantrasyonu plazmadaki toplam etkin madde konsantrasyonunun % 1'inden azdır (Goodman Gilman's, 1995). KZ başta albümin olmak üzere % 90 oranında plazma proteinlerine bağlanır (Martindale, 2009).

KZ metabolizasyonunda yapısında bulunan imidazol ve piperazin halkaları okside olur ve KZ hepatik mikrozomal (sitokrom P450) enzimler aracılığıyla karaciğerde degradasyona uğrar; inaktif metabolitlere metabolize edilir (Micromedex, 2003).

KZ eliminasyonu iki saatlik başlangıç yarılanma ömrü ve sekiz saatlik sonlanma yarılanma ömrü ile bifaziktir (Micromedex, 2003). KZ değişmeden ya da metabolitleri şeklinde başlıca feçesle, az miktarda idrar ve safra yolu ile atılır (Martindale, 2009).

Ketokonazol'un Kararlılığı

Sulu çözelti halinde genellikle tüm etkin maddelerde kimyasal bozunma reaksiyonları görülür. KZ de özellikle sulu ortamda uygun şekilde formüle edilmediği takdirde hidroliz ve oksidasyona uğramaktadır.

Skiba ve ark. (2000), sulu ortamdaki KZ kararlılığı üzerine pH ve antioksidan düzeylerinin etkisini araştırmışlardır. KZ kararlılığında pH etkisinin araştırılmasında pH 1'de bozunma hız sabitinin en yüksek değerde olduğunu ve buna bağlı olarak KZ'nin spesifik asit katalizine maruz kaldığını bildirmişlerdir. KZ'nin bir başka bozunma mekanizması olan oksidasyon üzerine yaptıkları çalışmada antioksidan konsantrasyonunun artırılmasıyla özellikle pH 1'de kararlılığın anlamlı ölçüde iyileştirildiğini rapor etmişlerdir.

KZ'nin ışıktan korunarak saklanması önerilmektedir (British Pharmacopoeia, 2008).

Ketokonazol'un Yan etkileri ve Toksisitesi

KZ'nin oral uygulanmasının ardından en çok görülen yan etkiler kusma, mide bulantısı ve abdominal ağrı gibi GI bozukluklardır. Bu etkiler doza bağlıdır (Martindale, 2009). KZ'nin besinlerle, uykudan önce ya da bölünen dozlarla kullanımı toleransı artırabilir (Goodman Gilman's, 1995).

KZ kullanan hastaların % 10'unda serum transaminazlarında asemptomatik geçici yükselmeler meydana gelebilir. Tedavinin sonlandırılması veya KZ tedavisine devam edilmesi ile de karaciğer enzim düzeylerinin normale döndüğü bildirilmiştir (Shrum ve Milikan, 2000; Martindale, 2009).

KZ tedavisinde nadir olarak görülmesine rağmen en ciddi yan etki hepatotoksisitedir. KZ nedenli semptomatik hepatik hasarın tahmin edilen görülme sıklığı 1:2000 ile 1:50000 aralığındadır. Sarılık, anoreksi, halsizlik ve mide bulantısı ile seyreden semptomlar potansiyel olarak ölüme ilerleme gösterir. Hepatotoksiste semptomları gözlemlendiğinde KZ'ye devam edilmemelidir (Shrum ve Milikan, 2000; Micromedex, 2003).

KZ sitokrom P450'ye bağımlı enzim sistemlerini inhibe ettiğinden steroid biyosentezini de engeller. Bu inhibisyona bağlı olarak erkeklerde jinekomasti (tek veya iki taraflı meme büyümesi), oligospermi (sperm azlığı) ve libido (cinsel istek) kaybına ve kadınlarda menstrüal düzensizliklere neden olduğu bildirilmiştir (Goodman Gilman's, 1995). KZ'nin bir diğer endokrinolojik yan etkisi adrenal korteks süpresyonudur (Micromedex, 2003).

KZ kullanımına bağlı olarak bildirilen diğer yan etkiler ürtiker, anjiyoödem, prürit, saç dökülmesi, baş ağrısı, baş dönmesi ve şuur bulanıklığı gibi alerjik yan etkilerdir. Nadir olarak anaflaksi, trombositopeni, parestezi ve fotofobi görüldüğü belirtilmiştir (Goodman Gilman's, 1995; Shrum ve Milikan, 2000).

Hepatotoksiste ve hipoadrenalizm riski nedeniyle, adrenal bez ve hepatik fonksiyon bozukluğu olan hastalarda dikkatle kullanılmalıdır (Micromedex, 2003). Hayvan çalışmalarıyla teratojenik etkisi gösterilmiştir. Hamilelikte yalnızca annenin yararı fetusun zarar riskinden üstünse kullanılmalıdır. Anne sütüne geçtiğinden emziren kadınlarda da kaçınılmalıdır (Martindale, 2009).

KZ'nin bazı ajanlarla eş zamanlı kullanımı sonucunda ortaya çıkan etkileşimler **Çizelge 6**'da yer almaktadır. Ayrıca alkolle birlikte KZ kullanımı sonucunda kızarma, kusma, solunum hızında artış ve taşikardi ile seyreden disülfiram benzeri reaksiyon görülebilir (Martindale, 2009).

Çizelge 6. Ketokonazol ile Eş Zamanlı Kullanımda Bazı İlaç Etkileşimleri
(Goodman Gilman's, 1995; Micromedex, 2003)

Etkin Madde İsmi	Etkileşim Şekli
Antimuskarinikler Antiasitler Histamin (H ₂) antagonistleri Proton pompası inhibitörleri	Mide pH'sını arttırdıkları için KZ emilimini azaltırlar.
Rifampisin İzoniazit Fenitoin	Karaciğer enzimlerini indükledikleri için KZ'nin plazma konsantrasyonu düzeylerini azaltırlar.
Fenitoin Alfentanil Midazolam ve triazolam Siklosporin Sisaprit Dihidropridin kalsiyum kanal blokörleri HIV-proteaz inhibitörleri İmmünosüpresanlar (takrolimus) Metilprednisolon Delavirdin Pimazit Kinidin Sertindol Sildenafil Statinler (lovastatin, simvastatin) Tolbutamid ve verapamil Buspiron Karbamazepin Digoksin Dosetaksel Trimetreksat Vinka alkaloitleri	KZ, CYP3A4'ü inhibe ettiği için, bu etkin maddelerin plazma konsantrasyonunu artırabilir.
Astemizol Sisaprit Pimazit Kinidin Terfenadin	Bu ilaçlar KZ ile birlikte alındığında kardiyak aritmi riski artar.
Oral kontraseptifler	KZ oral kontraseptiflerin etkinliğini azaltır.
Sukralfat	Sukralfat, KZ'nin oral biyoyararlanımını azaltır.

Ketokonazol'un Miktar Tayini Yöntemleri

Dozaj şekillerinde, insan biyolojik materyallerinde KZ miktarının belirlenmesinde ve kararlılık çalışmalarında UV spektrofotometri, YBSK (Vertzoni ve ark., 2006; Staub ve ark., 2007), kapiller bölge elektroforezi (CZE) (Velikinac ve ark., 2004), sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (LC-MS) (Chen ve ark., 2002) ve mikrobiyolojik yöntemler (Staub ve ark., 2005) kullanılmıştır.

KZ'nin miktar tayininde en yaygın kullanılan ve farmakope yöntemi olan YBSK'dır. USP 31'de oral KZ süspansiyonu için tanımlanan yöntemde 30°C'de 223 nm dalga boyu önerilirken KZ tabletleri için yer alan yöntemde iç standart olarak terkonazol kullanımı ile 225 nm'de analiz öngörülmüştür (USP 31, 2008). Örnek olarak, Staub ve ark. (2005), hazırladıkları şampuan formülasyonlarındaki KZ miktarını USP'de KZ tabletleri için öngörülen YBSK yöntemi ile belirlemişlerdir.

Brujin ve ark. (2001), iç standart olarak kullandıkları klotrimazol yardımıyla KZ ve antikanser etkin maddeler arasındaki etkileşimi araştırdıkları çalışmalarında, insan plazmasındaki KZ miktarını belirlemek için YBSK yöntemini kullanmışlardır. Başka bir çalışmada, iç standart olarak 9-asetilantrasen kullanılmış ve köpek plazmasındaki KZ miktarı YBSK ile 240 nm'de analiz edilmiştir (Vertzoni ve ark., 2006).

Antioksidan ve pH düzeyi gibi çeşitli formülasyon faktörlerinin KZ kararlılığı üzerine etkisinin incelendiği çalışmada, farklı koşullardaki çözeltilerde bulunan KZ miktarı YBSK ile 254 nm'de belirlenmiştir (Skiba ve ark., 2000). Mididoddi ve Repka (2007) ise, HME teknolojisi ile hazırladıkları filmlerdeki KZ miktarının belirlenmesine yönelik kararlılık çalışmasını KZ bozunma ürünlerini saptama yeteneğine sahip YBSK sistemi ile 225 nm'de gerçekleştirmişlerdir.

YBSK yöntemi ile kütle spektrometrisinin kombinasyonunun kullanıldığı bir başka çalışmada, insan plazmasında KZ miktarı tek basamaklı sıvı-sıvı ekstraksiyon prosedürünün ardından kısa analiz süresinde ve yüksek duyarlılıkla belirlenmiştir (Chen ve ark., 2002).

Velikinac ve ark. (2004), KZ içeren krem ve tablet formülasyonlarında CZE ve YBSK yöntemi ile analiz ettikleri KZ miktarlarının birbirine yakın olduğunu bulmuşlardır. Elde edilen verilere göre, her iki yöntemin de krem ve tablet formülasyonlarında KZ miktarının belirlenmesinde analitik koşulları sağladığını ve geliştirdikleri CZE yöntemi daha seçici iken YBSK yönteminin de daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir (Velikinac ve ark., 2004).

Wang ve Tang (2008), hazırladıkları KZ içeren biyoadezif tabletler üzerinde yaptıkları *in vitro* salım çalışmasında belirli zamanlarda aldıkları örnekleri UV ile 222 nm'de analiz etmişlerdir. Başka bir çalışmada KZ içeren biyoadezif tabletler üzerinde yapılan dissolüsyon çalışmasında elde edilen süzüntülerdeki KZ miktarı 269 nm'de UV yardımıyla belirlenmiştir (Karasulu ve ark., 2004).

KZ'nin antifungal etkinliğine dayanan mikrobiyolojik yöntemler genellikle özgünlükten yoksun ve düşük duyarlılığa sahip yöntemlerdir (Chen ve ark., 2002; Vertzoni ve ark., 2006). Bunun tersine Staub ve ark.'nın (2005) KZ içeren şampuanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, mikrobiyolojik yöntem ile YBSK yöntemi karşılaştırmalı olarak kullanılmış, ANOVA testi ile yapılan istatistik

değerlendirme sonucunda iki yöntem arasında hiçbir anlamlı fark olmadığı gösterilmiştir. Şampuan formülasyonundaki KZ miktarının tayininde kullanılan mikrobiyolojik yöntemin doğrusal, kesin ve tekrarlanabilir olduğu bildirilmiştir (Staub ve ark., 2005).

Ketokonazol İçeren Ticari Preparatlar

Türkiye’deki mevcut KZ içeren ticari preparatlar **Çizelge 7**’de sunulmuştur.

**Çizelge 7. Ketokonazol İçeren Ticari Preparatlar
(Vademecum, 2008; RxMediaPharma 2009[®])**

Müstahzar İsmi	Firma İsmi	Farmasötik Şekli
Ketoral [®]	Bilim	% 2 KZ içeren deri kremi
Ketoral [®]	Bilim	400 mg KZ içeren vajinal supozituar
Ketoral [®]	Bilim	% 2 KZ içeren medikal şampuan
Ketoral [®]	Bilim	200 mg KZ içeren tablet
Nizoral [®]	Janssen-Cilag	% 2 KZ içeren krem
Nizoral [®]	Janssen-Cilag	400 mg KZ içeren vajinal supozituar
Nizoral [®]	Janssen-Cilag	% 2 KZ içeren medikal şampuan
Nizoral [®]	Janssen-Cilag	200 mg KZ içeren tablet
Konazol [®]	Kurtsan	% 2 KZ içeren krem
Konazol [®]	Kurtsan	% 2 KZ içeren medikal şampuan
Ketoderm [®]	Terra	% 2 KZ içeren krem
Fungal [®]	Sandoz	% 2 KZ içeren şampuan

Kapsüller

Kapsüller, etkin maddenin çeşitli şekil ve kapasitede, çözünebilen kap veya kabuk içine doldurulmasıyla hazırlanan tek dozlu katı ilaç şekilleridir. Tatsız, kolaylıkla yutulabilen, bir veya daha fazla etkin maddenin formüle edilebildiği dozaj şekilleridir. Sert, yumuşak, mide asidine dayanıklı (enterik) ve modifiye salım yapan kapsül tipleri bulunmaktadır (Acartürk, 2004).

Sert kapsüller kapak ve gövde olmak üzere iki parçadan oluşur. Sert kapsül hazırlamakta kullanılan maddeler başta jelatin olmak üzere nişasta, selüloz türevleri ve polivinilalkol/vinil asetat karışımlarıdır (Jones, 1990; Acartürk, 2004).

Sert kapsüllere toz, granül, pellet, tablet, sıvı ve yarı katı şekiller doldurulabilir. Kapsüllere doldurulan her tür formülasyon için iki temel gereklilik söz konusudur:

- Formülasyon doğru dozda doldurulmalıdır.
- Etkin madde hastanın tedavisi için yeterli miktarda salınmalıdır (Acartürk, 2004).

Basit toz doldurulmuş hemen salım yapan sert kapsüller en çok kullanılan kapsül tipleridir. Hazırlanmaları kolaydır ve kullanılan yardımcı maddelerin sayısı tablet ve kaplı tabletlerle karşılaştırıldığında daha azdır. Sert kapsül formülasyonlarının hazırlanması amacıyla kullanılan maddeler etkin madde, dolgu maddeleri (nişasta, laktoz, vb.), akış özelliklerini düzelten maddeler (glidanlar) (talk, kolloidal silika, vb.), sürtünmeyi önleyici maddeler (lubrikanlar) (magnezyum stearat, kalsiyum stearat, vb.), dağıtıcılar (kroskarmeloz sodyum, vb.) ve yüzey etkin maddelerdir (sodyum lauril sülfat) (Acartürk, 2004).

Sert Jelatin Kapsüller

Sert jelatin kapsüller tabletler ile karşılaştırıldığında biyoyararlanımlarının daha iyi olması, hazırlanmalarının tabletlere göre daha kolay olması, üretim proses validasyon ölçütlerinin daha az olması ve kapsüllere geniş çeşitlilikteki maddelerin doldurulabilirliği (mikrokapsül, yarı katı maddeler, tiksotropik karışımlar, patlar, vb.) gibi üstünlüklere sahiptir.

Sert jelatin kapsüllerin sakıncaları ise yüksek nem içerikleri nedeniyle kolay hidrolize uğrayan maddeler için uygun olmamaları, bazı etkin maddelerin jelatinin amin grupları ile reaksiyona girebilmesi, çevre koşullarına bağlı olarak nem çekmesi ya da kaybetmesi, hayvansal kaynaklı oldukları için vejeteryan diyetle veya dini inançlara bağlı olarak kullanımlarının kısıtlanması olarak sıralanabilir (Acartürk, 2004).

Sert Hidroksipiril Metilselüloz (HPMC) Kapsüller

Son yıllarda HPMC'den yapılmış kapsüller farmasötik endüstride yaygın olarak kullanılmaktadır. HPMC'den yapılan kapsüller fiziksel ve kimyasal olarak dayanıklıdır. Jelatin kapsüllere oranla daha düşük miktarda nem içerdikleri için hidrolize hassas maddeler için daha uygundur. Kuru ortamlarda nemlerini kaybetmeler dahi jelatin kapsüller gibi kırılgan hale gelmezler. Saklama koşullarından ya da aldehyitlerden kaynaklanan çapraz bağlanma riski yoktur. İçlerine 80°C'ye kadar sıvı madde doldurulabilir. Çözünme özellikleri jelatine eşdeğerdir. Koruyucu madde içermezler. Bu kapsüller bitkisel kökenli olduğu için katı vejeteryan diyet uygulayanlar ve dini inançları gereği jelatin kullanmayan hastalar tarafından tercih edilmektedir (Acartürk, 2004).

Kapsüllerde Yapılan Kontroller

Kapsüllerin kontrolü amacıyla yapılan testler aşağıda yer almaktadır:

- Dağılma kontrolü
- Çözünme kontrolü
- İçerik tekdüzeliği
- Ağırlık sapması (Acartürk, 2004; Allen ve ark., 2005).

Vajinal Supozituarlar

Vajinal supozituarlar, vajinaya uygulanan oval ya da küre şeklinde, genellikle lokal amaçla antiseptik, anestezi, antimikrobiyal ve kontraseptif etki için kullanılan preparatlardır (Özer, 2004). Tek dozluk katı preparatlar olan vajinal supozituarlar vajinaya uygulanacak kıvamdadır (Acartürk, 2007). Bir veya birden fazla etkin maddenin suda çözünen, dağılan veya vücut sıcaklığında eriyen sıvı içerisinde dağıtılması veya çözünmesi ile hazırlanırlar. Gerekli ise seyrelticiler, adsorbanlar, yüzey etkin maddeler, lubrikanlar, koruyucular ve boyalar yardımcı madde olarak kullanılabilir (European Pharmacopeia 5.0, 2004).

Vajinal supozituarlar ile ilgili bilgiye geçmeden önce vajina ve vajinal yolla uygulanan ilaçlar hakkında bilgi vermek yararlı olacaktır.

Vajina Anatomisi ve Fizyolojisi

Vajina yaklaşık 7-10 cm uzunluğunda, 2 cm genişliğinde, uterusla sonlanan S şeklinde bir kanaldır. Vajina oldukça fazla genişleme özelliğine sahiptir (Acartürk, 2007). Vajina duvarı *tunica mucosa*, *tunica muscularis* ve *tunica adventita* olmak üzere başlıca üç tabakadan oluşur. Vajina mukozasında bezler bulunmaz. Mukozayı sürekli ıslak ve kaygan tutan salgının bir kısmı uterusun serviksinden gelir, diğer kısmı ise uterus salgısının içerdiği enzimler ve vajinada bulunan bakterilerin etkisi ile oluşmaktadır (Çalış ve ark., 1994).

Vajinal Sıvı

Vajinanın yüzeyi film tabakası ile kaplıdır. Bu sıvı *Bartholin* ve *Skene* bezlerinden salgılanır. Vajinal sıvı, elektrolitler (kalsiyum, potasyum, sodyum ve klorür), enzimler, çeşitli enzim inhibitörleri, proteinler, karbonhidratlar, aminoasitler, alkoller, hidroksiketonlar, aromatik bileşikler, laktik asit, asetik asit, gliserin, üre, glikojen ve glikozdan oluşur. Bu sıvının bileşimi yaşa, hastalık durumuna ve menstrüal sıklusa göre değişkenlik gösterir (Owen ve Katz, 1999; Acartürk, 2007).

Normalde vajinal sıvının pH'sı 4-5 arasındadır. Bu asiditenin glikojenin yıkım ürünü olan laktik asit kaynaklı olduğu bilinmektedir (Çalış ve ark., 1994). Menopoz sonrası hücrelerdeki glikojen içeriğinin artmasına bağlı olarak pH artar ve 7'ye yükselir. Hamilelik döneminde de glikojen içeriği artar. Vajinal sıvının hacmi ve pH'sı intravajinal uygulanan lokal ve sistemik ilaçların biyoyararlanımını etkilediği için önem taşır (Acartürk, 2007).

Vajinal Enzim Etkinliği

Vajinal enzim etkinliği GI kanala göre düşük olmakla birlikte vajinada da çeşitli enzimler bulunmaktadır. Vajinal sıvıda bulunan enzimler arasında nükleaz, lizozim, esteraz, gayakol, peroksidaz, aldolaz ve β -glukuronidaz yer alır. Vajinal mukozada bulunan enzimler ise aminopeptidaz, β -glukuronidaz, fosfatazlar, laktat dehidrojenaz ve esterazlardır.

Vajinal enzim etkinliği, ilaç biyoyararlanımını ve intravajinal uygulanan sistemlerin uzun süreli kararlılığını etkiler (Acartürk, 2007).

Vajinit

Vajina mukozasının enfeksiyonu olan vajinitte en sık karşılaşılan mikroorganizma *Candida*'dır. *Trichomonas* ve *Hemophilus* gibi mikroorganizmalar da vajinit etkenidir (Aşıkoğlu, 1992). Bu bölgede normal koşullarda da bulunabilen bu mikroorganizmalar duygusal hassasiyet, dokuda değişim, bakteriyel flora, pH, beslenme ve hijyenik koşullar gibi bazı faktörlerin etkisi nedeniyle enfeksiyon oluşturabilmektedir (Çalış ve ark., 1994).

Vajinal kandidiyazis kadınların % 75'inin yaşamlarının en az bir döneminde karşılaştığı yaygın bir enfeksiyondur. Vajinal kandidiyazis akut seyredediği gibi kronik enfeksiyonlar da görülmüştür. *Candida albicans* vajinal kandidiyazisin en önemli etkenidir. Kandidal vajiniti olan bir çok hastanın nistatin veya imidazol yapısındaki antifungal ajanların topik tedavisine yanıt verdiği bildirilmiştir (Aşıkoğlu, 1992; Wang ve Tang, 2008).

Vajinal Yolla İlaç Uygulanması

Vajina gerek lokal gerekse sistemik ilaç uygulamaları için uygun veriliş yoludur. Vajinal ilaç uygulamasının üstünlükleri şöyle sıralanabilir:

- Vajinanın yüzey alanı geniştir.
- Vajinada damarlanma fazladır, buna bağlı olarak emilim artar.
- Karaciğerdeki ilk geçiş etkisi aşılmıştır.
- GI kanala göre enzim etkinliği düşüktür.
- Vajinaya lokal uygulanan sistemler, çok önemli irritasyon yapmaksızın diğer mukozal membranlara göre uzun süre vajinada kalabilir.
- Parenteral ilaç uygulamalarına uygun alternatif oluşturur.
- Uygulanan dozu tutma kapasitesi fazladır.
- Pek çok etkin madde için geçirgenlik oldukça yüksektir.
- Vajinal ilaç şekillerini hasta kendisi uygulayabilir ve gerektiğinde çıkararak uygulamaya hemen son verebilir.

Vajinal ilaç uygulamasının sakıncaları ise aşağıdadır:

- Uygulama cinsiyete bağlıdır, yalnızca kadınlarda uygulanabilir.
- Vajinal geçirgenlik menstrüal sıklusa bağlı olarak değişir.
- Sosyal ve kültürel etmenler vajinal ilaç uygulamasını sınırlar (Acartürk, 2007).

Vajinaya uygulanan ilaç taşıyıcı sistemler; supozituarlar, tabletler, biyoadezif tabletler, kapsüller, çözeltiler, emülsiyonlar ve süspansiyonlar, krem, jel ve merhem gibi yarı-katı preparatlar, köpükler, etkin madde içeren tamponlar ve halkalardır (European Pharmacopeia 5.0, 2004; Acartürk, 2007).

Sistemik ve lokal etki sağlamak amacıyla vajinal mukozadan uygulanan etkin madde grupları ve kullanım alanları aşağıdadır:

1. *Steroid hormonlar*: Kontrasepsiyon veya hormon yerine koyma tedavisinde,
2. *Spermisitler*: Kontrasepsiyon amacıyla,
3. *Antibakteriyel, antifungal, antiparaziter ve antiviral ajanlar*: Bakteri, mantar ve virüslerin neden olduğu vulvovajinal enfeksiyonların tedavisinde,

4. *Prostoglandinler*: Serviksin olgunlaşmasının gerekli olduğu, doğuma hazırlık evresinde veya gebeliğin erken sonlandırılmasının gerektiği durumlarda,
5. *Aşı ve Serumlar*: Aktif ve pasif bağışıklama sağlamak amacıyla kullanılmaktadır (Acartürk, 2007).

Vajinal Supozituvvarların Hazırlanışı

Vajinal supozituvvarlar genellikle eritme yöntemi ile hazırlanırlar. Eritme yöntemi, etkin maddenin erimiş sıvağ karışımında dağıtılıp veya çözündürülüp, kalıplara dökülmesinin ardından soğutulmasıdır (Özer, 2004). Etkin maddenin ortalama partikül büyüklüğü ve dağılımı önemlidir. Gerekli ise etkin madde değirmende toz edilir ve elenir (European Pharmacopeia 5.0, 2004).

Vajinal supozituvvarların hazırlanması amacıyla yağlı ve suda çözünen sıvağlar kullanılmaktadır. Witepsol® tipi sıvağlar, jelatin-gliserin-su sıvağları ve çeşitli molekül ağırlığına sahip polietilen glikol (PEG) türevleri en çok kullanılan supozituvvar sıvağlarıdır (Acartürk, 2007). Sıvağda aranan özellikler vücut sıcaklığında erimesi, çözünmesi ya da dağılması, uygulama yerini tahriş etmemesi, etkin madde ile geçimli olması, toksik olmaması, ısı ve basınca dayanıklı olması ve etkin maddeyi kolayca serbestleştirebilmesidir (Aşıkoğlu, 1992).

Vajinal supozituvvarlar genellikle ağırlık esasına göre hazırlandıklarından supozituvvar hazırlanmasında her etkin maddenin ne kadar sıvağın yerini tutacağını bilmesi gereklidir. Sıvağın etkin maddeyle yer değiştirme oranı, etkin maddenin yoğunluğuna ve madde sıvağ içinde çözünüyorsa moleküllerin karşılıklı etkileşmesine bağlıdır (Özer, 2004; Değim, 2007).

Etkin maddenin yer değiştirme faktörü (deplasman faktörü), etkin maddenin bir gramının hacmine eşdeğer hacimdeki sıvağın ağırlığıdır. Hesaplanan bir değer olup etkin madde ve kullanılan sıvağ için özeldir (Aşıkoğlu, 1992).

Kullanılacak toplam sıvağ miktarı aşağıdaki formülle hesaplanır:

$$M = F \times n - (f \times s \times n) \quad \text{(Eşitlik 2)}$$

Burada; M:Toplam sıvağ miktarı, F: Sıvağ ile hazırlanan supozituvvarların ağırlığı (boş kalıp), f: Deplasman faktörü, s: Bir supozituvvarda bulunması gereken etkin madde miktarı, n: Hazırlanacak supozituvvar sayısıdır.

Vajinal supozituvvar hazırlanmasında çok yaygın kullanılan madde gruplarından birisi PEG'lerdir. PEG'ler suda çözünen ya da suyla karışan sıvağlardır. Kimyasal olarak kararlı, fizyolojik olarak inertiirler (Özer, 2004). Çeşitli PEG'ler ve özellikleri **Çizelge 8**'de sunulmuştur. Farklı özellikteki PEG'lerin karışımı supozituvvar sıvağı olarak kullanılmaktadır. Hidrofob sıvağlara oranla PEG'lerden etkin madde salımının sıvağın erime derecesine değil çözünmesine bağlı olması; üretim, taşıma ve depolama sırasında karşılaşılan sıcaklıkla ilgili kararlılık sorunlarının az olması ve vücut sıvıları ile kolayca karışabilmesi gibi üstünlükleri vardır (Kibbe, 2000).

Farklı molekül ağırlığındaki PEG'lerin çeşitli karışımları vajinal supozituarlar için en çok kullanılan sıvağdır (Allen ve ark., 2005). PEG'ler eritme yöntemi ile supozituar hazırlama tekniklerine uygun özellikte supozituar sıvağlarıdır. Bazılarında erime noktası 50-60°C'ye kadar yüksek olmasına rağmen suda çözündükleri için etkin madde rezorbsiyonu kolay olur. Görünüşü yağlı değildir, yapışmaz ve kolay donar. Yağlı sıvağlarda görülen hidroliz veya oksidasyon gibi kararlılık problemleri yoktur. Yapıları mikroorganizma üremesine uygun değildir. Viskozitesi fazla olduğu için sedimentasyon olasılığı azdır (Geçgil, 1991).

Çizelge 8. Polietilen Glikollerin Çeşitleri ve Özellikleri (Geçgil, 1991; Kibbe, 2000)

PEG Çeşitleri	Ortalama Molekül Ağırlığı	Erime Derecesi (°C)	Görünüm
PEG 200	190-210	-	Sıvı
PEG 300	285-315	-	Sıvı
PEG 400	380-420	-	Kıvamlı sıvı
PEG 600	570-630	17-22	Koyu kıvamlı sıvı
PEG 1000	950-1050	35-40	Yarı katı yağ
PEG 1500	1400-1500	44-48	Balmumu kıvamında
PEG 4000	3900-4800	53-58	Katı
PEG 6000	5600-7000	55-60	Katı

PEG'lerin yüksek erime noktaları, ısıya duyarlı etkin maddeler ile çalışırken dikkate alınmalıdır. Yüksek molekül ağırlıklı PEG'lerin etkin madde salımını geciktirmek gibi sakıncası vardır (Özer, 2004). Sıvağ olarak PEG'lerin kullanıldığı supozituarların hazırlanmasında sıvağ kalıplara dökülürken kalıplar çok soğuk olmamalıdır; aksi halde kalıptan çıkartılırken ambalajlama esnasında kırılabilir (Aşıkoğlu, 1992).

Vajinal Supozituarlarda Yapılan Kontroller

Bitmiş üründe kalitenin sağlanması için bir seri test yapılması gerekir. Bu testler depolama sırasında da belirli aralıklarla tekrarlanmalıdır. Bu testler:

- Gözle değerlendirme (Organoleptik kontroller)
- Ağırlık sapması
- Erime derecesi
- Erime zamanı
- Mekanik dayanıklılık
- İçerik tekdüzeliği
- Etkin madde miktar tayini
- Çözünme testi
- Dağılma testi (Geçgil, 1991; Özer, 2004).

Kontrollerin yanısıra özellikle alkali pH enfeksiyon riskini arttırdığından hazırlanan vajinal supozitivar kütesinin pH değerinin asit özellikte olması istenmektedir. Ayrıca vajinal supozitivar hazırlanmasında temizliğe çok dikkat etmek gerekmektedir. Hassas vücut dokusuna sahip olan vajinaya uygulanan preparatlarda enfeksiyon hızlı gerçekleşmektedir (Geçgil, 1991).

GEREÇLER

Kullanılan Maddeler

Asetik Asit	: Riedel-de Haën, Seelze, Almanya
Asetonitril	: Sigma, Steinheim, Almanya
Bovin Serum Albümini	: Merck, Darmstadt, Almanya
β -Siklodekstrin	: Sigma, Steinheim, Almanya
<i>Candida Albicans</i>	: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Hasta İzolatı
Dimetilsülfoksit	: Sigma Aldrich, Seelze, Almanya
Döteryum Oksit	: Merck, Darmstadt, Almanya
Dötero-aseton	: Merck, Darmstadt, Almanya
Etanol	: Carlo Erba, Rodano, İtalya
Etil Asetat	: Carlo Erba, Rodano, İtalya
Flukonazol	: Bilim İlaç, Türkiye
Fluzole®	: Umut İlaç, Türkiye
n-Hekzan	: Merck, Darmstadt, Almanya
Hidroklorik Asit	: Sigma Aldrich, Seelze, Almanya
İzopropil Miristat	: Fluka, Steinheim, Almanya
Glasiyel Asetik Asit	: Riedel-de Haën, Seelze, Almanya
Gliserin	: Carlo Erba, Rodano, İtalya
Glikoz	: Sigma, Steinheim, Almanya
Kalsiyum Hidroksit	: Merck, Darmstadt, Almanya
Ketoral®	: Bilim İlaç, Türkiye
Ketokonazol	: Bilim İlaç, Türkiye
Kloroform	: Merck, Darmstadt, Almanya
Laktik Asit	: Merck, Darmstadt, Almanya
Metanol	: J.T Baker, Hollanda Merck, Darmstadt, Almanya
PEG 400	: Fluka, Steinheim, Almanya
PEG 1000	: Merck, Hohenbrunn, Almanya
PEG 6000	: Merck, Hohenbrunn, Almanya
Potasyum Bromür	: Merck, Darmstadt, Almanya
Potasyum Hidroksit	: Merck, Darmstadt, Almanya
Sabouraud Glikoz Agar	: Fluka, Steinheim, Almanya

Silikajel 60 F ₂₅₄	: Merck, Darmstadt, Almanya
Sodyum Klorür	: Fluka, Steinheim, Almanya Merck, Darmstadt, Almanya
Tersiyer Butil Amonyum	
Hidrojen Sülfat	: Merck, Hohenbrunn, Almanya
Üre	: Fluka, Steinheim, Almanya
Kullanılan Cihazlar	
Buzdolabı	: Arçelik No Frost, Türkiye
Çözünme Hızı Cihazı	: Aymes, Türkiye
Derin Dondurucu	: Bosch, Türkiye
Diferansiyel Taramalı Kalorimetri	: Shimadzu DSC-60, Japonya
Dondurarak Kurutma Cihazı	: Leybold Heraeus Lyovac GT-2, Almanya
Döner Buharlaştırıcı	: Buchi, Japonya
Erime Derecesi Tayin Cihazı	: Electrothermal 9300, Amerika
Etüv	: Nüve FN500, Türkiye
Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektrofotometresi	: Perkin Elmer Spektrum 2000, İngiltere
Hassas Terazı	: Ohaus, İsviçre
İnkübatör	: Nüve EN120, Türkiye
Manyetik Karıştırıcı	: Heidolph MR 3001 K, Almanya
Nükleer Manyetik Rezonans Spektrofotometresi	: Ultra Shield CP MAS NMR, Bruker, Almanya
Otoklav	: Hirayama H5, Japonya
pH metre	: WTW Profi Lab pH 597, Almanya
Saf Su Cihazı	: Millipore, Fransa
Santrifüj	: Eppendorf Centrifuge 5417R, Hamburg, Almanya Beckman Coulter Avanti J-30, Amerika
Supozituar Sertlik Tayin Cihazı	: Erweka, Almanya
Stereomikroskop ve Kamera Sistemi	: Leica, EM UC6, Almanya
Su banyosu	: Buchi, İsviçre
Ultrasonik Banyo	: Elma T470/H, Singen, Almanya

Vibrasyonlu alkalayıcı	: Heidolph Vibramax 100, Almanya Heidolph Unimax 1010, Almanya
X-Işını Kırınım Cihazı	: XRD-Rikagu D/Max-3C, Japonya
Yatay alkalayıcı	: WEB MLW Labortechnik ILMENAU TYS2, Almanya
Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi	: Shimadzu 20-A, Japonya

YÖNTEMLER

Kullanılan Maddeler ile Yapılan Çalışmalar

Flukonazol ile Yapılan Çalışmalar

Erime Derecesi Tayini

FZ'nin erime derecesi analizi, erime derecesi tayin cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz 3 kez tekrarlanmıştır.

Termal Analiz

FZ'nin (~4 mg ağırlığında) termal analizi diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) cihazı kullanılarak, basınç yardımıyla kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL.dk⁻¹ azot gazı akış hızı, 10°C.dk⁻¹ ısı artışı ile 50-200°C aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiş ve maddenin termogramı elde edilmiştir.

Çözünürlük Tayini

FZ'nin saf sudaki çözünürlüğünün saptanabilmesi için, balonjojelere konulan saf su üzerine FZ'nin aşırı miktarı konulmuş ve oda sıcaklığında 15 dk çalkalanmıştır. Bu süre sonunda 0.45 µm por çapına sahip selüloz asetat filtreden süzülerek alınan örnekler YBSK cihazı ile gerekli seyreltmelerden sonra analiz edilmiştir. Deney 3 kez tekrarlanmıştır.

X-Işını Kırınım (XRD) Analizi

FZ'nin XRD analizi, 2-40°C aralığında, 40 kV voltaj, 20 mA akım şiddeti ve 2°C.dk⁻¹ ilerleme hızında Rikagu jeneratör yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

Infrared (IR) Analizi

FZ'nin IR analizi, 4000-400 cm⁻¹ dalgaboyu aralığında, potasyum bromür (KBr) ile hazırlanan diski kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Analizi

FZ'nin yapısı, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR analizleri ile 25°C'de, çözücü olarak döteryum oksit (D₂O) kullanılarak araştırılmıştır.

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

FZ'nin tanınması ve çalışma ortamlarındaki kararlılığının izlenmesi amacıyla İTK çalışması yapılmıştır. Yöntem olarak pratik olması açısından ve FZ için de uygun olduğu yapılan ön denemelerle ispatlanan, USP 31'de KZ için önerilen İTK yöntemi kullanılmıştır (USP 31, 2008). Çalışmada FZ'nin kloroform içerisindeki 10 mg.mL⁻¹ konsantrasyondaki çözeltisinden 10 µL örnek, Silikajel 60 F₂₅₄ kaplı plağa uygulanmış ve plak, içerisinde n-hekzan: etil asetat: metanol: su: glasiyel asetik asit (42: 40: 15: 2: 1) karışımından oluşan hareketli faz bulunan tanka yerleştirilmiştir. Hareketli faz uygulama noktasından itibaren 5.5 cm yürütülmüş, plak kuruduktan sonra 254 nm'de UV lamba yardımıyla görüntülenmiştir. Gözlenen eflatun renkli leke yardımıyla R_f değeri hesaplanmıştır.

Flukonazol'un Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Analitik Miktar Tayini

FZ'nin miktar tayini YBSK yöntemi ile farmakopede yer alan çalışma koşulları kullanılarak gerçekleştirilmiştir (USP 31, 2008). Analizlerde kullanılan çalışma koşulları **Çizelge 9**'da sunulmuştur.

-Doğrusallık

FZ'nin YBSK yönteminde kullanılacak standart eğrisinin belirlenmesi amacıyla, hareketli faz içerisinde stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden hareketle 10 – 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ aralığında seyreltmeler yapılarak elde edilen beş nokta için FZ konsantrasyonuna karşılık gelen alan değerleri bulunmuştur. Kalibrasyon eşitlikleri oluşturulmuş ve güven aralığı tespit edilmiştir. Deney 6 kez tekrarlanmıştır (Shabir, 2003).

-Kesinlik

FZ'nin 3 farklı konsantrasyonunda (10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) çözeltileri hazırlanmış ve YBSK ile analiz edilmiştir. Her bir konsantrasyon için analizler, 6 kez tekrarlanmıştır. 1. gün içinde yapılan tüm çalışmalar 2. ve 3. günde de tekrarlanmıştır (k=3). Üç günde elde edilen değerler ile yöntemin gün-içi ve günler-arası tekraredilebilirlik değerleri ve güven aralığı hesaplanmıştır.

Çizelge 9. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Çalışma Koşulları (USP 31, 2008)

Cihaz	Shimadzu-20 A
Kolon	4.6 x 250 mm, 5 μm C ₁₈ ACE kolon Parçacık Boyutu: 100Å
Fırın Sıcaklığı	30°C
Hareketli Faz	Saf su [% 0.34 oranında tersiyer n-butil amonyum hidrojen sülfat (TBAHS) içeren]:Asetonitril [75:25, h/h]
Dedektör	Diode Array
Çalışılan Dalga Boyu	223 nm
Akış Hızı	1 mL.dk ⁻¹
Enjeksiyon Hacmi	25 μL

-Doğruluk

Doğruluk, kullanılan analitik yöntem ile elde edilen deney sonuçlarının gerçek değerlere olan yakınlığıdır (ICH, 1996).

FZ'nin 3 farklı konsantrasyonunda (500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 1500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) çözeltileri hazırlanmış, YBSK yöntemi ile analizler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçların, kalibrasyon eşitliği yardımı ile hesaplamaları yapılarak, eklenen

FZ konsantrasyonları ile bulunan değerler karşılaştırılmış ve yöntemin doğruluğu yüzde geri kazanım olarak hesaplanmıştır. Her deney 3 kez tekrarlanmıştır.

-Duyarlılık

Duyarlılık çalışmalarında, sistemin kantitatif sınırlar içerisine girmeyen en düşük derişimi olan saptama sınırı (LOD) değeri aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanmıştır (**Eşitlik 3**).

$$LOD = \frac{[3.3 \times SS]}{m} \quad (\text{Eşitlik 3})$$

Burada, SS: y eksen kesim değerlerinin standart sapması, m: korelasyon denkleminin eğimidir (ICH, 1996)

Analizi yapılan örneğin kabul edilebilir düzeyde kesin ve doğru olarak miktarının belirlenebildiği miktar tayini alt sınırı (LOQ) değeri ise **Eşitlik 4** kullanılarak belirlenmiştir.

$$LOQ = \frac{[10 \times SS]}{m} \quad (\text{Eşitlik 4})$$

Burada, SS: y eksen kesim değerlerinin standart sapması, m: korelasyon denkleminin eğimidir (ICH, 1996)

-Seçicilik

Seçicilik karışım içerisindeki tek bir maddenin, formülasyonda ya da ortamda bulunan diğer maddelerin varlığında, derişiminin tam ve doğru olarak belirlenebileceğini gösteren en önemli analitik parametrelerden biridir.

Yöntemin seçiciliğini belirlemek amacıyla; çözünürlük faz diyagramı çalışmalarına yönelik olarak, FZ'nin hareketli fazdaki çözeltisi, FZ içermeyen β -CD/sulu çözeltisi ve FZ içeren β -CD/sulu çözeltisi YBSK ile analiz edilmiştir.

FZ kompleksleri üzerinde yapılan çalışmalara yönelik olarak, matris girişiminin araştırılması için dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan plasebo formülasyon ile; dissolüsyon çalışmalarına yönelik olarak da kapsül kabuğunun girişimini araştırmak için dissolüsyon ortamında çözündürülen boş kapsül kabuğu ile seçicilik çalışmaları yapılmıştır.

Komplekslere ait seçicilik çalışmalarında, kompleks formülasyonlarında aynı maddeler aynı oranlarda kullanıldığı için seçicilik araştırması tek bir plasebo formülasyon ile yapılmıştır.

-Sistem Uygunluk Testleri

Sistem uygunluk testi ekipman bilgileri için, YBSK cihazının parça, marka ve modelleri, kalibrasyonu ve çalışmanın nerede yapıldığı hakkında bilgiler verilmiştir. Yapılan analizlerden elde edilen kromatogramlardaki FZ'nin pik morfolojisi YBSK cihazının yazılım programı kullanılarak hesaplanmıştır.

USP tarafından tanımlanan ve hesaplamaları yapılan sistem uygunluk testi parametreleri aşağıda verilmiştir.

***Teorik Tabaka Sayısı (N)**

Kolonun en önemli parametresidir. Kolondan çıkan pikin sivri/dar olması ile ilgilidir. N'nin sayısal değeri, analizi yapılan maddenin cinsine bağlı olduğu gibi deney koşullarına da bağlıdır. Önerilen değer $N > 2000$ 'dir (USP 31, 2008).

***Kuyruklanma (T) Faktörü**

Bu faktör pikin simetrik olması ile ilgilidir. T pik taban yüksekliğinin % 5'i civarında ölçülür ve T'nin ≤ 2.0 olması istenir (USP 31, 2008).

Bu kriterlerden başka USP tarafından pik morfolojisi ile ilgili olarak tanımlanan Kapasite Faktörü (k'), Seçicilik Faktörü (α), Ayırım Gücü (R_s), Pik Yüksekliği ve Alanın % BSS'si değerleri de mevcuttur (USP 31, 2008). Ancak analizlerimizde iç standart kullanmadığımız için ve tüm kriterlerin en az iki tanesinin gerekli koşulları sağlamasının yöntemin sistem uygunluğunu göstermesi nedeniyle, yalnızca N ve T değerleri hesaplanmıştır.

-Kararlılık

FZ'nin çalışma ortamlarındaki fiziksel ve kimyasal kararlılığı farklı yöntemlerle araştırılmıştır.

***Kompleks Hazırlama Koşullarındaki Kararlılık**

Kompleks hazırlama yöntemleri içerisinde yüksek sıcaklığın en uzun süreli kullanımı nedeniyle birlikte buharlaştırma yönteminde kullanılan koşullarda inceleme yapılmıştır.

FZ'nin etanol:su (50:50) karışımı içerisinde 10 mg.mL^{-1} konsantrasyonunda çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti taze iken ve 75°C 'de 24 saat bekletmenin ardından İTK sistemine $10 \mu\text{L}$ hacimde uygulanmıştır. Ayrıca, hazırlanan komplekslerin özelliklerini incelemek için yapılan IR, termal ve XRD analizlerinden elde edilen termogram, spektrum ve analiz değerleri, saf etkin maddeye ait sonuçlar ile karşılaştırılarak FZ'nin kararlılığı incelenmiştir.

***Çözünme Ortamındaki Kararlılık**

FZ'nin saf su içerisinde 5 mg.mL^{-1} konsantrasyondaki çözeltisi, çözünme çalışmasının koşulları göz önüne alınarak 37°C 'de bekletilmiştir. Taze hazırlanmış ve 37°C 'de 24 saat bekletilmiş çözeltilerden alınan $20 \mu\text{L}$ 'lik örnekler İTK sistemine uygulanmıştır.

Ketokonazol ile Yapılan Çalışmalar

Erime Derecesi Tayini

KZ'nin erime derecesi analizi, erime derecesi tayin cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz 3 kez tekrarlanmıştır.

Termal Analiz

KZ'nin ($\sim 7 \text{ mg}$ ağırlığında) termal analizi DSC cihazı kullanılarak, basınç yardımıyla kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL.dk^{-1} azot gazı akış hızı, 10°C.dk^{-1} ısı artışı ile $50\text{-}200^\circ\text{C}$ aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiş ve maddenin termogramı elde edilmiştir.

Çözünürlük Tayini

-Saf Su Ortamındaki Çözünürlük Tayini

KZ'nin saf sudaki çözünürlüğünün saptanabilmesi için, balonjojelere konulan saf su üzerine KZ'nin aşırısı konulmuş ve oda sıcaklığında 15 dk çalkalanmıştır. Bu süre sonunda 0.45 µm por çapına sahip selüloz asetat filtreden süzülerek alınan örnekler YBSK cihazıyla analiz edilmiştir. Deney 3 kez tekrarlanmıştır.

-Yapay Vajinal Sıvı (YVS) Ortamındaki Çözünürlük Tayini

KZ'nin YVS'deki çözünürlüğünün saptanabilmesi için, balonjojelere konulan YVS üzerine KZ'nin aşırısı konulmuştur. Oda sıcaklığında (25°C) ve 37°C'de 15 dk çalkalanmıştır. Bu süre sonunda 0.45 µm por çapına sahip selüloz asetat filtreden süzülerek alınan örnekler YBSK cihazıyla analiz edilmiştir. Deneyler 3 kez tekrarlanmıştır.

X-Işını Kırınım Analizi

KZ'nin XRD analizi, 2-40°C aralığında, 40 kV voltaj, 20 mA akım şiddeti ve 2°C.dk⁻¹ ilerleme hızında Rikagu jeneratör yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

Infrared Analizi

KZ'nin IR analizi, 4000-400 cm⁻¹ dalgaboyu aralığında, KBr ile hazırlanan disk kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Nükleer Manyetik Rezonans Analizi

KZ'nin yapısı, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR analizleri ile 25°C'de çözücü olarak döteroaseton [(CD₃)₂CO] kullanılarak araştırılmıştır.

İnce Tabaka Kromatografisi

KZ'nin tanınması ve çalışma ortamlarındaki kararlılığının izlenmesi amacıyla İTK çalışması yapılmıştır. Çalışmada KZ'nin kloroform içerisindeki 10 mg.mL⁻¹ konsantrasyondaki çözeltisinden 10 µL örnek, Silikajel 60 F₂₅₄ kaplı plağa uygulanmış ve plak, içerisinde n-hekzan: etil asetat: metanol: su: glasiyel asetik asit (42: 40: 15: 2: 1) karışımından oluşan hareketli faz bulunan tanka yerleştirilmiştir. Hareketli faz uygulama noktasından itibaren 5.5 cm yürütülmüş, plak kuruduktan sonra iyot tankına yerleştirilerek lekenin renklenmesi beklenmiştir (USP 31, 2008). Elde edilen kıvılc kahve renkli leke yardımıyla R_f değeri hesaplanmıştır.

Ketokonazol'un Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Analitik Miktar Tayini

KZ'nin analitik miktar tayini YBSK yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizde kullanılan çalışma koşulları FZ'nin analitik miktar tayininde kullanılan koşullar ile aynıdır (**Çizelge 9**).

-Doğrusallık

KZ'nin YBSK yönteminde kullanılacak standart eğrisinin belirlenmesi amacıyla, hareketli faz içerisinde stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden hareketle 10 – 1000 µg.mL⁻¹ aralığında seyreltmeler yapılarak elde edilen beş nokta için KZ konsantrasyonuna karşılık gelen alan değerleri bulunmuştur (Shabir, 2003).

Kalibrasyon eşitlikleri oluşturulmuş ve güven aralığı tespit edilmiştir. Deney 6 kez tekrarlanmıştır.

-Kesinlik

KZ'nin 3 farklı konsantrasyonunda ($10 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$) çözeltileri hazırlanmış ve YBSK cihazı ile analiz edilmiştir. Her bir konsantrasyon için analizler, 6 kez tekrarlanmıştır. 1. gün içinde yapılan tüm çalışmalar 2. ve 3. günde de tekrarlanmıştır ($k=3$). Üç günde elde edilen değerler ile yöntemin gün-içi ve günler-arası tekrar edilebilirlik değerleri ve güven aralığı hesaplanmıştır.

-Doğruluk

KZ'nin 3 farklı konsantrasyonda ($500 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $1500 \mu\text{g.mL}^{-1}$) çözeltileri hazırlanmış, YBSK yöntemi ile analizler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçların, kalibrasyon eşitliği yardımı ile hesaplamaları yapılarak, eklenen KZ konsantrasyonları ile bulunan değerler karşılaştırılmış ve yöntemin doğruluğu yüzde geri kazanım olarak hesaplanmıştır. Her deney 3 kez tekrarlanmıştır.

-Duyarlılık

KZ'nin analitik miktar tayininin duyarlılık çalışmalarında, LOD ve LOQ değerleri, FZ'nin YBSK ile analitik miktar tayini bölümünde sunulan ilgili eşitlikler yardımıyla hesaplanmıştır (ICH, 1996).

-Seçicilik

Yöntemin seçiciliğini belirlemek amacıyla; çözünürlük faz diyagramı çalışmalarına yönelik olarak, KZ'nin hareketli fazdaki çözeltisi, KZ içermeyen β -CD/sulu çözeltisi ve KZ içeren β -CD/sulu çözeltisi YBSK ile analiz edilmiştir.

KZ kompleksleri üzerinde yapılan çalışmalara yönelik olarak, matris girişiminin araştırılması için dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan plasebo formülasyon ile; YVS'de yapılan *in-vitro* dissolüsyon çalışmalarına yönelik olarak hem YVS ile hem de plasebo vajinal supozituar formülasyonu ile çalışılarak seçicilik araştırmaları gerçekleştirilmiştir.

-Sistem Uygunluk Testleri

KZ'nin analitik analizleri, FZ'nin analitik analizlerinin yapıldığı YBSK cihazı ile ve aynı çalışma koşulları ile gerçekleştirildiği için; KZ analizlerine ait sistem uygunluk testi ekipman bilgileri FZ'ninki ile aynıdır. KZ analizlerinden elde edilen kromatogramlardaki KZ'nin pik morfolojisine ait N ve T değerleri YBSK cihazının yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır.

-Kararlılık

KZ'nin çalışma ortamlarındaki fiziksel ve kimyasal kararlılığı farklı yöntemlerle araştırılmıştır.

**Kompleks Hazırlama Koşullarındaki Kararlılık*

KZ'nin etanol:su (50:50) içerisindeki 10 mg.mL^{-1} konsantrasyonundaki çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti taze iken ve 75°C 'de 24 saat bekletmeyi takiben İTK sistemine $10 \mu\text{L}$ hacimde uygulanmıştır. Ayrıca, hazırlanan komplekslerin özelliklerini incelemek için yapılan IR, termal ve XRD analizlerinden elde edilen

termogram, spektrum ve analiz değerleri saf etkin maddeye ait sonuçlar ile karşılaştırılarak KZ'nin kararlılığı izlenmiştir.

***Çözünme Ortamındaki Kararlılık**

KZ'nin YVS içerisinde 0.1 mg.mL^{-1} konsantrasyondaki çözeltisi, çözünme çalışmasının koşulları göz önüne alınarak 37°C 'de bekletilmiştir. Taze ve 37°C 'de 48 saat bekletilmiş çözeltiden $35 \mu\text{L}$ 'lik örnekler İTK sistemine uygulanmıştır.

β -Siklodekstrin ile Yapılan Çalışmalar

Erime Derecesi Tayini

β -CD'nin erime derecesi analizi, erime derecesi tayin cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz 3 kez tekrarlanmıştır.

Termal Analiz

β -CD'nin ($\sim 9 \text{ mg}$ ağırlığında) termal analizi DSC cihazı kullanılarak, basınç yardımıyla kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL.dk^{-1} azot gazı akış hızı, $10^{\circ}\text{C.dk}^{-1}$ ısı artışı ile $50\text{-}200^{\circ}\text{C}$ aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiştir.

X-Işını Kırınım Analizi

β -CD'nin XRD analizi, $2\text{-}40^{\circ}\text{C}$ aralığında, 40 kV voltaj, 20 mA akım şiddeti ve $2^{\circ}\text{C.dk}^{-1}$ ilerleme hızında Rikagu jeneratör yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

Infrared Analizi

β -CD'nin IR analizi, $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında, KBr ile hazırlanan disk kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Nükleer Manyetik Rezonans Analizi

β -CD'nin yapısı, $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ analizleri ile 25°C 'de, çözücü olarak D_2O kullanılarak araştırılmıştır.

Formülasyon Çalışmaları

FZ ve β -CD Üzerinde Çözünürlük Faz Diyagramı Çalışmaları

FZ ile β -CD'nin inklüzyon bileşiğini oluşturmak amacıyla her iki maddenin hangi oranlarda karıştırılacağını araştırmak için öncelikle çözünürlük faz diyagramı çalışması gerçekleştirilmiştir.

Çözünürlük Faz Diyagramı için Denge Süresinin Belirlenmesi

β -CD'nin $0 - 10 \times 10^{-3} \text{ M}$ konsantrasyon aralığında ($0 \times 10^{-3} \text{ M}$, $1 \times 10^{-3} \text{ M}$, $2 \times 10^{-3} \text{ M}$, $3 \times 10^{-3} \text{ M}$, $4 \times 10^{-3} \text{ M}$, $5 \times 10^{-3} \text{ M}$, $6 \times 10^{-3} \text{ M}$, $7 \times 10^{-3} \text{ M}$, $8 \times 10^{-3} \text{ M}$, $9 \times 10^{-3} \text{ M}$ ve $10 \times 10^{-3} \text{ M}$) sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin her 10 mL 'sine aşırı miktarda (150 mg) FZ eklenmiştir. Çalkalayıcıda oda sıcaklığında (25°C) çalkalanan karışımlar yardımıyla denge süresini belirlemek için 2., 4. ve 7. günde alınan örnekler $0.45 \mu\text{m}$ por çapına sahip selüloz asetat filtreden süzildükten ve gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra YBSK cihazı ile analiz edilmiştir. Daha sonra, FZ için doğrusallık çalışmasında oluşturulan kalibrasyon eşitliği kullanılarak FZ miktarları saptanmıştır. Deney 3 farklı karıştırıcı tipi (yatay

çalkalayıcı ve iki farklı marka vibrasyonlu çalkalayıcı) ile 7 defa gerçekleştirilmiştir.

Çözünürlük Faz Diyagramının Saptanması

β -CD'nin $0 \times 10^{-3}M$, $2 \times 10^{-3}M$, $4 \times 10^{-3}M$, $6 \times 10^{-3}M$, $8 \times 10^{-3}M$, $10 \times 10^{-3}M$ ve $20 \times 10^{-3}M$ konsantrasyonlarda sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin her 2 mL'sine aşırı miktarda FZ ilave edilip $25^{\circ}C$ sıcaklıkta daha önceden belirlenen denge süresince (4 gün) seçilen çalkalayıcı ile karıştırıldıktan sonra $0.45 \mu m$ por çapına sahip selüloz asetat filtreden süzülerek örnekler alınmış ve gerekli seyreltmeler yapılarak YBSK ile analiz edilmiştir. Elde edilen değerler ve daha önceden belirlenen kalibrasyon eşitliği kullanılarak miktar tayini yapılmıştır. Bulunan değerlere göre grafik çizilip Higuchi'nin çözünürlük diyagramına göre diyagram tipi belirlenmiştir (Higuchi ve Connors, 1965). Her bir deney 3 kez tekrarlanmıştır.

FZ/ β -CD Komplekslerinin Hazırlanışı

FZ ve β -CD içeren kompleksler çözünürlük faz diyagramı çalışmalarında belirlenen diyagram tipi nedeniyle 1:1 molar oran kullanılarak dondurarak kurutma, püskürterek kurutma, birlikte buharlaştırma ve yoğurma yöntemleri ile hazırlanmıştır.

Dondurarak Kurutma Yöntemi

$20 \times 10^{-3}M$ derişimde hazırlanan sulu β -CD çözeltisinin her 10 mL'sine, 1:1 molar oran için gerekli miktarda tartılan FZ eklenmiştir. Çözünürlük faz diyagramı için denge süresinin belirlenmesi çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre seçilen çalkalayıcıya yerleştirilmiş ve karışımlar $25^{\circ}C$ 'de yine denge süresinin belirlenmesi çalışmaları ile tespit edilen 4 gün süresince, dengeye ulaşılması için çalkalanmıştır. Çalkalama sonunda örnekler 15000 rpm'de 15 dk santrifüj edildikten sonra, $0.45 \mu m$ por çapına sahip selüloz asetat filtreden süzölmüştür. Elde edilen çözelti $-18^{\circ}C$ 'de 24 saat süre ile dondurulmuştur. Daha sonra liyofilizatörde 48 saat kurutularak katı kompleks elde edilmiştir (Bilensoy ve ark., 2007).

Püskürterek Kurutma Yöntemi

1:1 molar oran için gerekli miktarlarda tartılan FZ ve β -CD sırasıyla etanol ve saf suda çözöndürölmüştür. Hazırlanan iki berrak çözelti karıştırıldıktan sonra 0.7 mm çapta püskürtme başlığı olan püskürterek kurutma cihazında $105^{\circ}C$ 'lik giriş sıcaklığı ve $58^{\circ}C$ 'lik çıkış sıcaklığı kullanılarak $7mL.dk^{-1}$ besleme hızında kurutulmuştur. Kurutma sonunda toplama kabında ince toz halde kompleks elde edilmiştir (Demirel ve ark., 2006).

Birlikte Buharlaştırma Yöntemi

1:1 molar oran için gerekli miktarlarda tartılan FZ ve β -CD sırasıyla etanol ve saf suda çözöndürölmüştür. Hazırlanan iki berrak çözelti döner buharlaştırıcı balonunda karıştırıldıktan sonra su banyosu $75^{\circ}C$ 'ye ayarlanan döner buharlaştırıcıya yerleştirilmiş ve 210 rpm'de, 520 mbar'dan hareketle basıncın kademeli olarak azaltılmasıyla öncelikle etanol ardından sulu kısım vakum altında buharlaştırılmıştır. Elde edilen katı kompleks 24 saat desikatörde bekletilmiştir.

Tamamen kuruyan kütlenin spatül yardımıyla alınması ile toz şeklinde kompleks elde edilmiştir (Al-Marzoqui ve ark., 2008).

Yoğurma (Pasta) Yöntemi

1:1 molar oran için gerekli miktarlarda tartılan FZ ve β -CD havanda homojen olarak karıştırılmıştır. Bu fiziksel karışım üzerine etanol:su (50:50, h/h) çözeltisinden porsiyonlar halinde ilave edilerek havan eli yardımıyla pasta hazırlanmıştır. Havan ile birlikte 24 saat desikatörde bekletildikten sonra, tamamen kuruyan sert kütlenin havan eli yardımıyla havanda öğütülmesi ile toz şeklinde kompleks elde edilmiştir (Al-Marzoqui ve ark., 2008).

FZ/ β -CD Kompleksleri Üzerinde Çalışmalar

Verim Değeri

Kompleks oluşumu için kullanılan madde miktarları bilinmektedir. Farklı hazırlama yöntemleri ile elde edilen toz halindeki kompleksler tartılarak ve kullanılan madde miktarlarına oranlanarak yüzde verim hesaplanmıştır. Deney farklı yöntem ile hazırlanan her bir kompleks için 2 kez tekrarlanmıştır.

Ancak püskürtme başlığı bozulan püskürterek kurutma cihazı ile hazırlanan kompleks ile yalnızca bir seri hazırlanabilmiştir.

Termal Analizleri

Farklı yöntemlerle hazırlanan FZ/ β -CD komplekslerinin termal analizleri, DSC cihazı kullanılarak, basınç yardımıyla sıkıca kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL.dk⁻¹ azot gazı akış hızı, 10°C.dk⁻¹ ısı artışı ile 50-200°C aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiştir.

Çözünürlüğün Saptanması

Kompleks oluşumu nedeniyle FZ'nin sudaki çözünürlüğünde artış olup olmadığını araştırmak için, balonjojelere konulan saf su üzerine hazırlanan komplekslerin aşırısı konulmuş ve oda sıcaklığında 15 dk çalkalanmıştır. Bu süre sonunda 0.45 μ m por çapına sahip selüloz asetat filtreden süzülerek alınan örnekler YBSK cihazı ile analiz edilmiştir. Deneyler 3 kez tekrarlanmıştır.

Parçacık Şekli Analizleri

Farklı yöntemlerle hazırlanan FZ/ β -CD komplekslerinin parçacık şekli analizleri, yüzey özelliklerinin ve şekillerinin belirlenmesi amacıyla komplekslerin IPM içerisinde baget yardımıyla dağıtılmasını takiben stereomikroskop cihazında görüntüleme ile gerçekleştirilmiştir.

X-Işını Kırınım Analizleri

Farklı yöntemlerle hazırlanan FZ/ β -CD komplekslerinin XRD analizleri, 2-40°C aralığında, 40 kV voltaj, 20 mA akım şiddeti ve 2°C.dk⁻¹ ilerleme hızında Rikagu jeneratör yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

Infrared Analizleri

Farklı yöntemlerle hazırlanan FZ/ β -CD komplekslerinin 4000-400 cm⁻¹ dalga boyu aralığında, KBr ile hazırlanan diskleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Nükleer Manyetik Rezonans Analizleri

Farklı yöntemlerle hazırlanan FZ/ β -CD içeren komplekslerin bileşimi, yapı şekli moleküller arası veya molekül içi olası değişimleri ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR analizleri ile 25°C’de, çözücü olarak D₂O kullanılarak araştırılmıştır.

Etkin Madde Miktar Tayini

Hazırlanan komplekslerde FZ miktar tayini, FZ’nin YBSK ile Analitik Miktar Tayini bölümünde anlatılan analiz koşullarında gerçekleştirilmiştir.

~10 mg tam tartılmış kompleks, 5 mL hareketli fazda çözündürülmüştür. Elde edilen çözelti YBSK yardımıyla analiz edilmiştir. Daha önce FZ için belirlenen kalibrasyon eşitliği kullanılarak FZ miktarları saptanmıştır. Deney farklı yöntemlerle hazırlanan her kompleks için 3 kez tekrarlanmıştır.

Antifungal Etkinlik Çalışmaları

Kompleks hazırlama yöntemleri sonrasında etkin maddenin sahip olduğu antifungal etkinlikte bir değişim olup olmadığının araştırılması amacıyla, saf FZ ve FZ/ β -CD komplekslerinin *Candida albicans* üzerindeki antifungal etkinlikleri mikrobiyolojik yöntemle belirlenmiştir. FZ’nin farklı veriliş yollarıyla mukozal (orofarınjal, özofajiyal veya vajinal) ve sistemik kandidiyaziste kullanımı ile bağışıklık yetmezliği olan hastalarda neredeyse tüm kandida enfeksiyonlarında birincil tedavi seçeneği olması nedeniyle çalışmada *Candida albicans* kullanılmıştır (Kuştımur ve ark., 1993; Bachhav ve Patravale, 2009).

-Çalışmada Kullanılan Besi Ortamı ve Hazırlanışı

Pepton	10 g
D (+) Glikoz	20 g
Agar agar	17 g
Distile su	1000 mL (pH 5.6)

Yukarıda bileşimi sunulan hazır Sabouraud %2 Glikoz Agar (SGA) litrede 47 g olacak şekilde distile su ile karıştırılıp agar çözününceye kadar ısıtılmış ve 121°C’ de 15 dk 1.5 atm basınçta otoklavda sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra, steril petrilere yaklaşık 15-20 mL hacminde dağıtılmıştır. Hazırlanan besiyerleri *Candida albicans*’ın etkinleştirilmesi ve antimikrobiyal etkinliğin belirlenmesinde kullanılmıştır.

-Flukonazol ve FZ/ β -CD Kompleksleri ile Yapılan Mikrobiyolojik Çalışma

-85°C’de gliserol ortamında muhafaza edilen *Candida albicans* SGA besiyerine çizgi ekim tekniği ile inokule edildikten sonra 37°C’de 24 saatlik inkübasyon ile aktive edilmiştir. Diğer taraftan 100 mL % 1 oranında asetik asit içeren serum fizyolojik çözeltisi (Sodyum klorür 0.85 g, Asetik asit 1 g, Distile su k.m.100 mL) hazırlanarak, 10’ar mL hacimlerde tüplere dağıtılmış ve 121°C’ de 15 dk 1.5 atm basınçta otoklavda sterilize edilmiştir. Daha sonra steril koşullarda, 24 saatlik *Candida albicans* kültürü ve % 1 oranında asetik asit içeren serum fizyolojik karışımı ile hücre süspansiyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyon Thoma lamı ile sayılarak, süspansiyonun 1×10^5 konsantrasyonunda olması sağlanmıştır (Kuştımur ve ark., 1993; Logu ve ark., 2000).

1×10^5 konsantrasyonunda *Candida albicans* içeren hücre süspansiyonundan SGA besiyerlerinin yüzeyine 250 μ L aktarılıp steril drigalski spatülü ile petri yüzeyine homojen yayılması sağlanmıştır. İnoküle edilen hücre süspansiyonunun agar tarafından emilmesi için bir süre beklendikten sonra 6 mm çaplı, steril agar delici yardımı ile kuyucuklar açılmıştır. Açılan kuyucuklara FZ ve FZ/ β -CD kompleksleri için, Marangon ve arkadaşlarının (2004) değişik *Candida* izolatları ve FZ ile minimum inhibisyon konsantrasyonunu (MIC) belirleme çalışmalarında kullanılan 4 mg.mL⁻¹ değeri temel alınarak, 4 mg. 50 μ L⁻¹ konsantrasyonunda FZ içeren çözeltilerinden 50 ve 100 μ L hacimlerindeki örnekler aktarılmıştır (Marangon, 2004). 37°C'de 3 gün sürdürülen inkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zonları cetvel yardımı ile ölçülmüştür. β -CD, plasebo formülasyonlar ve çözücü olarak kullanılan dimetilsülfoksit (DMSO) ile % 50'lik metanolün (MeOH) antifungal etkinlik test kontrolü KZ bölümünde çalışılacağı için burada tekrarlanmamıştır. Kullanılan kimyasal maddelerin *Candida albicans* üzerine antifungal etkinliğini belirleme işlemi 4 paralel çalışma ile sonuçlandırılmıştır. Elde edilen verilerin ortalama değerleri alınmıştır.

Çizelge 10. Flukonazol ve Flukonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksleri için 4 mg.50 μ L⁻¹ Konsantrasyonda Etkin Madde İçeriği Hazırlamak Amacı ile Kullanılan Miktarlar ve Çözündürüldükleri Ortamlar

Kod	Etkin Madde İçeriği (%)	Kullanılan Kütle (mg)	Çözündürüldüğü Ortam
FZ	100	80	1 mL DMSO
F-FD	25.466	314	1 mL DMSO
F-CE	21.604	370	1 mL DMSO
F-KN	21.981	363.92	1 mL DMSO

FZ/ β -CD Kompleksleri ile Hazırlanan Kapsüller Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Çalışmada referans olarak kullanılan FZ'nin piyasa kapsülünde (Fluzole®) 50 mg FZ mevcuttur. Bu nedenle, etkin madde miktar tayini çalışmalarını takiben her kompleksten, 50 mg FZ içeren miktar tartılarak 0 no'lu sert selüloz kapsüllere doldurulmuştur. Ayrıca kompleks oluşumu sonrasında FZ'deki çözünürlük artışını, çözünme hızı testleri ile gösterebilmek amacıyla aynı sert selüloz kapsüller ile 50 mg saf FZ içeren kapsüller hazırlanmıştır. Yardımcı maddenin FZ'nin çözünme hızına olabilecek herhangi bir etkisinin önlenmesi, dolum sırasında kayma problemi yaşanmaması ve saf FZ içeren kapsül haricinde yeterli kütle içeriği nedeniyle dolgu maddesine ihtiyaç duyulmamış olması nedeniyle ve mevcut olan kapsül içeriği bileşiminde hiçbir yardımcı madde kullanılmamıştır.

Ağırlık Sapması

Doldurulan kapsüller tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir, ortalamaları, standart sapmaları ve standart hataları hesaplanmıştır.

Çözünme Hızı Testleri

Kapsüller üzerinde çözünme hızı çalışması yapılırken USP 31'de tanımlanan palet yöntemi (Apparatus II) esas alınarak ve kapsülün ortam yüzeyinde yüzmesini, kontrolsüzce dağılmasını veya küvetin dibine yapışmasını önlemek amacıyla

kapsüller üzerine helezon tel sarılmıştır. Çalışma koşulları 500 mL degaze edilmiş saf su ortamı, $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, 50 rpm palet dönüş hızı olarak belirlenmiştir (http-1). Kapsüller çözünme ortamına konulduktan ve cihaz çalıştırıldıktan sonra çözünme ortamından önceden belirlenen zaman aralıklarında enjektör yardımı ile alınan 2 mL’lik örnekler $0.45\ \mu\text{m}$ por çapına sahip selüloz asetat filtreden süzülüş ve daha önce FZ için belirtilen koşullarda YBSK cihazı ile analiz edilmiştir. Farklı zamanlarda çözünen madde konsantrasyonları ile hesaplanan % kümülatif çözünme değerleri zamanın fonksiyonu olarak grafiğe geçirilmiştir. Her bir yöntem ile hazırlanan kompleks için deneyler 6 kez tekrarlanmıştır.

Aynı çalışma saf FZ içeren sert selüloz kapsül ve FZ piyasa kapsülü (Fluzole®) üzerinde de gerçekleştirilmiştir. Bu testlerde kullanılan çalışma koşulları kompleksler ile hazırlanan kapsüllerde kullanılan çalışma koşulları ile aynı olup deney sayısı 6’dır.

KZ ve β -CD Üzerinde Çözünürlük Faz Diyagramı Çalışmaları

KZ’nin β -CD ile inklüzyon bileşimini oluşturmak amacıyla her iki maddenin hangi oranlarda karıştırılacağını araştırmak için, öncelikle çözünürlük faz diyagramı çalışması gerçekleştirilmiştir.

Çözünürlük Faz Diyagramı için Denge Süresinin Belirlenmesi

β -CD’nin $0 - 10\times10^{-3}\text{M}$ konsantrasyon aralığında ($0\times10^{-3}\text{M}$, $1\times10^{-3}\text{M}$, $2\times10^{-3}\text{M}$, $3\times10^{-3}\text{M}$, $4\times10^{-3}\text{M}$, $5\times10^{-3}\text{M}$, $6\times10^{-3}\text{M}$, $7\times10^{-3}\text{M}$, $8\times10^{-3}\text{M}$, $9\times10^{-3}\text{M}$ ve $10\times10^{-3}\text{M}$) sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin her 10 mL’sine aşırı miktarda (150 mg) KZ eklenmiştir. Vibrasyonlu çalkalayıcıda oda sıcaklığında (25°C) çalkalanan karışımlardan denge süresini belirlemek amacıyla 1., 2., 3., 4., 6. ve 7. gün alınan örnekler $0.45\ \mu\text{m}$ por çapına sahip selüloz asetat filtreden süzülükten ve gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra YBSK cihazı ile analiz edilmiştir. Daha sonra KZ için belirlenen kalibrasyon eşitliği kullanılarak KZ miktarları hesaplanmıştır. Deney 3 kez tekrarlanmıştır.

Çözünürlük Faz Diyagramının Saptanması

β -CD’nin $0\times10^{-3}\text{M}$, $2\times10^{-3}\text{M}$, $4\times10^{-3}\text{M}$, $6\times10^{-3}\text{M}$, $8\times10^{-3}\text{M}$ ve $10\times10^{-3}\text{M}$ konsantrasyonlarda sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin her 2 mL’sine aşırı miktarda KZ (30 mg) ilave edilip 25°C sıcaklıkta daha önceden belirlenen denge süresince (3 gün) seçilen çalkalayıcı ile karıştırılmaya bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda $0.45\ \mu\text{m}$ por çapına sahip selüloz asetat filtreden süzülerek örnekler alınmış ve YBSK ile analiz edilmiştir. Elde edilen değerler ve daha önceden belirlenen kalibrasyon eşitliği yardımıyla miktar tayini yapılmıştır. Bulunan değerlere göre grafik çizilip Higuchi’nin çözünürlük diyagramına göre diyagram tipi belirlenmiştir (Higuchi ve Connors, 1965). Her bir deney 3 kez tekrarlanmıştır.

KZ/ β -CD Komplekslerinin Hazırlanışı

KZ ile β -CD’nin kompleksleri, çözünürlük faz diyagramı çalışmalarında belirlenen diyagram tipi nedeniyle 1:1 molar oranda dondurarak kurutma, püskürterek kurutma, birlikte buharlaştırma ve yoğurma yöntemleri ile hazırlanmıştır.

Dondurarak Kurutma Yöntemi

KZ ile hazırlanan komplekslerde 3 farklı dondurarak kurutma yöntemi kullanılmıştır.

Birinci yöntemde; $20 \times 10^{-3} \text{M}$ derişimde hazırlanan sulu β -CD çözeltisinin her 10 mL'sine, 1:1 molar oran için gerekli miktarda tartılan KZ eklenmiştir. Vibrasyonlu yatay çalkalayıcıya yerleştirilen karışımlar ışıktan korunarak 25°C 'de 3 gün süresince, dengeye ulaşılması için çalkalanmıştır ve 15000 rpm'de 15 dk süresince santrifüj edildikten sonra, $0.45 \mu\text{m}$ por çapına sahip selüloz asetat filtreden süzölmüştür. Elde edilen çözelti -18°C 'de 24 saat süre ile dondurulmuştur. Daha sonra liyofilizatörde 48 saat kurutularak katı kompleks elde edilmiştir (Bilensoy ve ark., 2007).

İkinci yöntemde; $20 \times 10^{-3} \text{M}$ derişimde hazırlanan sulu β -CD çözeltisinin her 10 mL'sine, 1:1 molar oran için gerekli miktarda tartılan KZ eklenmiştir. Vibrasyonlu çalkalayıcıya yerleştirilen karışımlar ışıktan korunarak 25°C 'de 3 gün süresince dengeye ulaşılması için çalkalanmıştır. Elde edilen süspansiyonlar -18°C 'de 24 saat süre ile dondurulmuştur. Daha sonra liyofilizatörde 48 saat kurutularak katı kompleks elde edilmiştir.

Üçüncü yöntemde; 1:1 molar oran için gerekli miktarlarda tartılan KZ ve β -CD sırasıyla % 3'lük (h/h) asetik asitte ve saf suda çözöndürölmüştür. Karıştırılan çözelti -18°C 'de 24 saat süre ile dondurulmuş ve liyofilizatörde 48 saat kurutularak katı kompleks elde edilmiştir (Castillo ve ark., 1999; Badr-Eldin ve ark., 2008).

Pöskürterek Kurutma Yöntemi

1:1 molar oran için gereken miktarlarda tartılan KZ ve β -CD sırasıyla etanol ve saf suda çözöndürölmüştür. Hazırlanan iki berrak çözelti karıştırıldıktan sonra 0.7 mm çapta pöskürtme başlığı olan pöskürterek kurutma cihazında 105°C 'lik giriş sıcaklığı ve 58°C 'lik çıkış sıcaklığı kullanılarak $7 \text{ mL} \cdot \text{dk}^{-1}$ besleme hızında kurutulmuştur. Kurutma sonunda toplama kabında ince toz halde kompleks elde edilmiştir (Demirel ve ark., 2006).

Birlikte Buharlaştırma Yöntemi

1:1 molar oran için gerekli miktarlarda tartılan KZ ve β -CD sırasıyla etanol ve saf suda çözöndürölmüştür. Hazırlanan iki berrak çözelti döner buharlaştırıcı balonunda karıştırıldıktan sonra su banyosu 75°C 'ye ayarlanan döner buharlaştırıcıya yerleştirilmiş ve 210 rpm'de, 520 mbar'dan hareketle basıncın kademeli olarak azaltılmasıyla öncelikle etanol ardından sulu kısım vakum altında buharlaştırılmıştır. Elde edilen katı kompleks 24 saat desikatörde bekletilmiştir. Tamamen kuruyan kütlenin spatöl yardımıyla alınması ile toz şeklinde kompleks elde edilmiştir.

Yoğurma (Pasta) Yöntemi

1:1 molar oran için gerekli miktarda tartılan KZ ve β -CD havanda homojen karıştırılmıştır. Bu fiziksel karışım üzerine etanol:su (50:50, h/h) çözeltisinden porsiyonlar halinde ilave edilerek havan eli yardımıyla pasta hazırlanmıştır. Havan ile birlikte 24 saat desikatörde bekletildikten sonra tamamen kuruyan sert

kütlenin havaneli yardımıyla havanda öğütülmesi ile toz şeklinde kompleks elde edilmiştir.

KZ/β-CD Kompleksleri Üzerinde Çalışmalar

Verim Değeri

Kompleks oluşumu için kullanılan madde miktarları bilinmektedir. Farklı hazırlama yöntemleri ile elde edilen toz halindeki kompleksler tartılarak ve kullanılan madde miktarlarına oranlanarak yüzde verim hesaplanmıştır. Deney farklı yöntem ile hazırlanan her kompleks için 3 kez tekrarlanmıştır.

Ancak püskürtme başlığı bozulan püskürterek kurutma cihazı ile hazırlanan kompleks için yalnızca 1 seri hazırlanabilmiştir.

Termal Analizleri

Farklı yöntemlerle hazırlanan KZ/β-CD komplekslerinin termal analizleri, DSC cihazı kullanılarak, basınç yardımıyla sıkıca kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL.dk⁻¹ azot gazı akış hızı, 10°C.dk⁻¹ ısı artışı ile yoğurma, birlikte buharlaştırma ve püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlanan kompleksler için 50-200°C, dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan kompleksler için 50-250°C aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiştir.

Çözünürlüğün Saptanması

Kompleks oluşumu nedeniyle KZ'nin sudaki çözünürlüğünde artış olup olmadığını araştırmak için, balonjölere konulan saf su üzerine hazırlanan komplekslerin aşırısı konulmuş ve oda sıcaklığında 15 dk çalkalanmıştır. Bu süre sonunda 0.45 µm por çapına sahip selüloz asetat filtreden süzülerek alınan örnekler YBSK cihazı ile analiz edilmiştir. Deney 3 kez tekrarlanmıştır.

Parçacık Şekli Analizleri

Farklı yöntemlerle hazırlanan KZ/β-CD komplekslerinin parçacık şekli analizleri, yüzey özelliklerinin ve şekillerinin belirlenmesi amacıyla komplekslerin IPM içerisinde baget yardımıyla dağıtılmasını takiben stereomikroskop cihazında görüntüleme ile gerçekleştirilmiştir.

X-Işını Kırınım Analizleri

Farklı yöntemlerle hazırlanan KZ/β-CD komplekslerinin XRD analizleri, 2-40°C aralığında, 40 kV voltaj, 20 mA akım şiddeti ve 2°C.dk⁻¹ ilerleme hızında Rikagu jeneratör yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

İnfrared Analizleri

Farklı yöntemlerle hazırlanan KZ/β-CD komplekslerinin 4000-400 cm⁻¹ dalgaboyu aralığında, KBr ile hazırlanan diskleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Nükleer Manyetik Rezonans Analizleri

Farklı yöntemlerle hazırlanan KZ/β-CD komplekslerinin bileşimi, yapı şekli, moleküller arası veya molekül içi olası değişimleri ¹H-NMR ve ¹³C-NMR analizleri ile 25°C'de, çözücü olarak D₂O ve (CD₃)₂CO kullanılarak araştırılmıştır.

Etkin Madde Miktar Tayini

Hazırlanan komplekslerde KZ miktar tayini, KZ'nin YBSK ile Analitik Miktar Tayini bölümünde anlatılan analiz koşullarında gerçekleştirilmiştir.

~10 mg tam tartımı alınan kompleks, 5 mL hareketli fazda çözündürülmüştür. Elde edilen çözelti YBSK yardımıyla analiz edilmiştir. Daha önce KZ için belirlenen kalibrasyon eşitliği kullanılarak KZ miktarları saptanmıştır. Deney farklı yöntemlerle hazırlanan her kompleks için 3 kez tekrarlanmıştır.

Antifungal Etkinlik Çalışmaları

KZ kronik mukokütanöz kandidiyazis, vajinal kandidiyazis başta olmak üzere birçok yüzeysel ve sistemik mantar enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan bir antifungaldir (Martindale, 2009). Bu nedenle KZ'nin antifungal etkinliğinin kompleks hazırlama yöntemleri sonrasında değişime uğrayıp uğramadığının araştırılması *Candida albicans* ile yapılmıştır (Kuştımur ve ark., 1993; Bachhav ve Patravale, 2009).

Çizelge 11. Ketokonazol ve Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksleri için 0.13 mg.50 μ L⁻¹ Konsantrasyonda Etkin Madde İçeriği Hazırlamak Amacı ile Kullanılan Miktarlar ve Çözündürüldükleri Ortamlar

Kod	Etkin Madde İçeriği (%)	Kullanılan Kütle (mg)	Çözündürüldüğü Ortam
KZ	100	2.6	500 μ L MeOH:500 μ L Distile su
β -CD	-	104 ve 720	1 mL Distile su
K-FD1	7.928	32.7	500 μ L MeOH:500 μ L Distile su
K-FD2	42.592	6.1	500 μ L MeOH:500 μ L Distile su
K-FD3	27.367	9.5	500 μ L MeOH:500 μ L Distile su
K-CE	35.419	7.3	500 μ L MeOH:500 μ L Distile su
K-KN	29.279	8.9	500 μ L MeOH:500 μ L Distile su
PLA FD2	-	333	1 mL Distile su
PLA FD3	-	333	1 mL Distile su

FZ ile yapılan mikrobiyolojik çalışmada açıklanan şekilde hazırlanan 1×10^5 konsantrasyonunda *Candida albicans* içeren hücre süspansiyonundan SGA besiyerlerinin yüzeyine 250 μ L aktarılıp steril drigalski spatülü ile petri yüzeyine homojen yayılması sağlanmıştır. İnoküle edilen hücre süspansiyonunun agar tarafından emilmesi için bir süre beklendikten sonra 6 mm çaplı steril agar delici yardımı ile kuyucuklar açılmıştır. Açılan kuyucuklara KZ ve KZ/ β -CD komplekslerinin, Marangon ve arkadaşlarının değişik *Candida* izolatları ve KZ ile MIC değerini belirleme çalışmalarında kullanılan 0.128 mg.mL⁻¹ değeri temel alınarak, 0.13 mg. 50 μ L⁻¹ konsantrasyonunda KZ içeren çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltiden 50, 100 ve 150 μ L hacimlerindeki örnekler aktarılmıştır (Marangon ve ark., 2004). 37°C'de 3 gün sürdürülen inkübasyon sonunda oluşan

inhibisyon zonları cetvel yardımı ile ölçülmüştür (Kuştımur ve ark., 1993; Logu ve ark., 2000) .

Ayrıca β -CD, plasebo formülasyonlar ve çözücü olarak kullanılan DMSO ile %50'lik MeOH'ün antifungal etkinlik test kontrolü de aynı prensip ile kontrol edilmiştir. Kullanılan kimyasalların *Candida albicans* üzerine antifungal etkinliğini belirleme işlemi 4 paralel çalışma ile sonuçlandırılmıştır. Elde edilen verilerin ortalama değerleri alınmıştır.

KZ ve KZ/ β -CD Kompleksleri ile Hazırlanan Vajinal Supozituvarlara ait Çalışmalar

Kompleksler ile hazırlanacak dozaj şeklinin, piyasa preparatı ile karşılaştırılması için vajinal supozituar şekli seçilmiştir. Yapılması planlanan çözünme hızı çalışmalarında, kompleks formülasyonlarında beklenen olası çözünme hızı farklılığını sağlıklı izleyebilmek amacıyla dağılma süresi açısından, seçilen piyasa preparatına benzer bir formülasyon geliştirilmeye çalışılmıştır.

Ön Formülasyon Çalışmaları

KZ'nin vajinal supozituarını hazırlamak amacıyla yapılan ön çalışmalarda, vajinal supozituar sıvağı olarak PEG 6000, PEG 1000 ve PEG 400'ün farklı oranlarda kullanıldığı çeşitli formülasyonlar hazırlanmıştır.

Çizelge 12. Vajinal Supozituarın Ön Formülasyon Çalışmalarında Kullanılan Formülasyonların Kod, Bileşen ve Miktarları

Formülasyon Kodu	PEG 6000	PEG 1000	PEG 400
F ₁	70	-	30
F ₂	-	70	30
F ₃	50	-	50
F ₄	-	50	50
F ₅	50	50	-

Tüm değerler % ağırlığı [a/a] ifade etmektedir.

Formülasyonların hazırlanmasında sıcakta eritme yöntemi kullanılmıştır. Formülasyonlar, $65 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de ve 800 rpm karıştırma hızı ile mekanik karıştırıcı kullanılarak hazırlanmıştır. 15 dakika süresince mekanik karıştırıcı ile karıştırılan farklı bileşenler içeren sıvağlar vajinal supozituar kalıbına dökülmüştür. Oda sıcaklığında bekletilen supozituvlar donduktan sonra kalıptan çıkarılmıştır.

Ön formülasyon çalışmalarında kullanılan farklı vajinal supozituar formülasyonları dağılma süresi ve organoleptik kontroller açısından değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda seçilen en uygun formülasyon KZ ve KZ/ β -CD komplekslerinin ekleneceği ve çözünme hızı çalışmalarında kullanılacak olan vajinal supozituar formülasyonu olarak seçilmiştir.

Formülasyonların Hazırlanışı

Supozituvlar ağırlık esasına göre hazırlandıklarından öncelikle kullanılacak vajinal supozituv kalıbı için boş kalıp ağırlığı hesaplanmıştır (n=6). **Eşitlik 2'**de belirtilen formülasyona göre kullanılacak toplam sıvı miktarı hesaplanmıştır. Seçilen formülasyona ait hesaplanan miktarlarda sıvı bileşenleri tartılmış ve $65 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de su banyosunda eritilmiştir. Karışıma piyasa preparatındaki KZ miktarını (400 mg) içerecek oranda KZ/ β -CD komplekslerinin eklenmesini takiben 15 dk mekanik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Karışım baget yardımıyla sürekli karıştırılarak vajinal supozituv kalıbına dökülmüştür. Kütle dökülmeden önce supozituvların kalıptan kolay çıkabilmesi için kalıp sıvı parafin ile yağlanmıştır. Soğuyunca kütlenin hacmi küçüleceğinden kütle kalıp deliklerini tamamen doldurup biraz da taşacak şekilde dökülmüştür. Oda sıcaklığında bekletilen supozituvlar donduktan sonra jilet yardımıyla üzerindeki fazlalık kısmı alınarak kalıptan çıkarılmıştır. Aynı çalışma saf KZ ile 400 mg içeren supozituvların hazırlanması ile tekrarlanmıştır. Ancak birinci dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan kompleks diğer komplekslere göre düşük oranda KZ (% 5) içerdiği için, vajinal supozituvlara yüklenebilen maksimum miktarı ile 100 mg dozda hazırlanabilmiştir.

Her bir supozituv formülasyonu n=10 üzerinden çalışılmış, elde edilen 9 supozituv analizlere kadar alüminyum folyo ile sarılarak $+4^\circ\text{C}$ 'de buzdolabında saklanmıştır.

Vajinal Supozituvlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Ağırlık Sapması

Hazırlanan vajinal supozituvlar tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir, ortalamaları, standart sapmaları ve standart hataları hesaplanmıştır.

Organoleptik Kontroller

Hazırlanan vajinal supozituvlar yüzey rengi ve görünüşü açısından çatlama, çukur, sızıntı ve etkin madde göçü gibi faktörlerin kontrol edilmesi amacıyla değerlendirilmiştir.

Sertlik Tayini

Saf KZ ve dört farklı KZ/ β -CD kompleksi kullanılarak hazırlanmış olan 5 farklı vajinal supozituv formülasyonu üzerinde supozituv sertlik tayin cihazı ile kırılmaya karşı gösterdikleri direnç ağırlık cinsinden ölçülmüştür. Karşılaştırma amacıyla aynı test referans olarak seçilen Ketoral® vajinal supozituvu üzerinde de gerçekleştirilmiştir. Her bir test üç kez tekrarlanmıştır.

Etkin Madde Miktar Tayini

Saf KZ ve KZ/ β -CD kompleksleri ile hazırlanan vajinal supozituvlar ile referans üründe (Ketoral®) gerçekleştirilen etkin madde miktar tayininde, her bir supozituv 65°C 'de su banyosunda eritilmiş ve elde edilen eriyik 400 mL YVS'de dağıtılmıştır (Owen ve Katz, 1999) ve $60-65^\circ\text{C}$ 'de manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karıştırma sırasında 3 kez olmak üzere 1'er mL numune alınmıştır. Numune üzerine 2 mL etanol ilave edilmesi ile elde edilen çözelti daha

önce KZ için belirtilen koşullarda YBSK ile analiz edilmiştir. Deney her bir yöntem için 3 kez tekrarlanmıştır.

İn Vitro Çözünme Hızı Çalışması

Vajinal supozituarlar üzerinde çözünme hızı çalışması USP 31’de tanımlanan palet yöntemi (Apparatus II) esas alınarak gerçekleştirilmiştir (Özyazıcı ve ark., 2003; Azarmi ve ark., 2007; Değim ve ark., 2008). Çalışma koşulları 1000 mL YVS, $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, 50 rpm palet dönüş hızı olarak belirlenmiştir. Ancak birinci dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan kompleksin vajinal supozituarlarında 100 mg KZ bulunduğundan, karşılaştırmaların sağlıklı olması için bu supozituarların çözünme hızı çalışmasında kullanılan çözünme ortamı hacmi dozla orantılı olarak azaltılarak, 250 mL YVS kullanılmıştır. KZ’nin YVS’deki sınırlı çözünürlüğü nedeniyle sink koşul sağlanamamakla birlikte, KZ’nin rahat çözünebilmesi için çözünme ortamı hacmi ve palet dönüş hızı literatürdeki benzer çalışmalarda kullanılan değerlerde tutulmuştur (Alam ve ark., 2007; Wang ve Tang, 2008). Çalışmada çözünme ortamı olarak kullanılan YVS bileşimi **Çizelge 13**’te sunulmuştur (Owen ve Katz, 1999). Hazırlan YVS’nin pH’sı 1N HCl çözeltisi kullanılarak pH 4.2’ye ayarlanmıştır.

Vajinal supozituarlar çözünme ortamına konulduktan ve cihaz çalıştırıldıktan sonra çözünme ortamından belirli zamanlarda enjektör yardımı ile alınan 2 mL’lik örnekler 0.45 μm por çapına sahip selüloz asetat filtreden süzölmüş ve YBSK ile analiz edilmiştir. Çözünen madde konsantrasyonları hesaplandıktan sonra % kümülatif çözünme değerleri zamanın fonksiyonu olarak grafiğe geçirilmiştir. Her farklı yöntemle hazırlanan kompleks için deney 3 kez tekrarlanmıştır.

Aynı çalışma saf KZ içeren vajinal supozituar ve 400 mg KZ içeren piyasa vajinal supozituarı (Ketoral®) üzerinde de gerçekleştirilmiştir. Tüm *in vitro* çözünme hızı deneylerinde kullanılan çalışma koşulları aynıdır.

Gerçekleştirilen çözünme hızı çalışmaları sırasında, deneyin başlangıcından itibaren vajinal supozituarlar izlenmiş ve supozituar şeklinin kaybolduğu süreler tespit edilmiştir.

Çizelge 13. Yapay Vajinal Sıvı Bileşimi (Owen ve Katz, 1999)

Madde	Miktar
Sodyum klorür	3.51 g
Potasyum Hidroksit	1.40 g
Kalsiyum Hidroksit	0.222 g
Bovin Serum Albümini	0.018 g
Laktik Asit	2.0 g
Asetik Asit	1.0 g
Gliserin	0.16 g
Üre	0.40 g
Glikoz	5.0 g
Saf su k.m.	1000 mL

BULGULAR ve TARTIŞMA

Kullanılan Maddeler ile Yapılan Çalışmalar

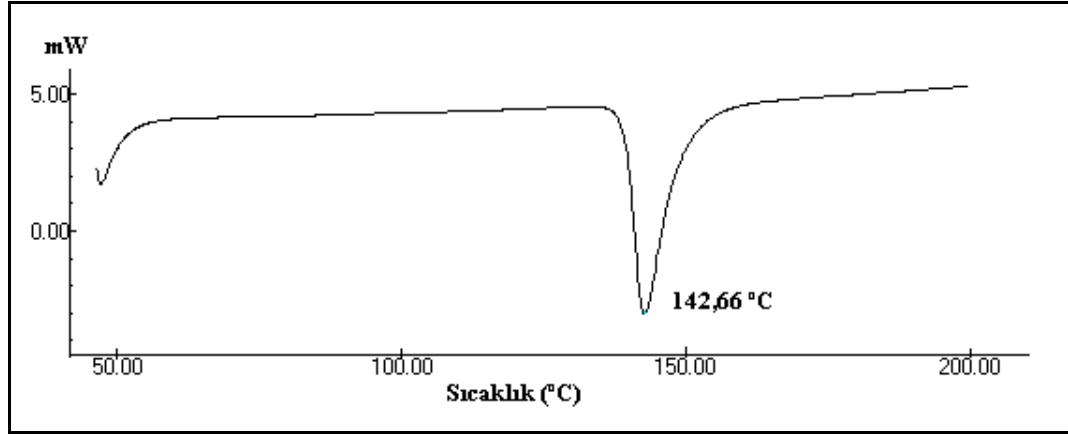
Flukonazol ile Yapılan Çalışmalar

Erime Derecesi Tayini

FZ'nin erime derecesi tayin cihazı kullanılarak gerçekleştirilen analizlerinde erime derecesi 139.833 ± 0.153 (ort $\pm$ SS) olarak bulunmuştur (n=3). Bulunan değer literatür bilgileri ile paralellik göstermiştir (British Pharmacopoeia, 2008).

Termal Analiz

FZ'nin DSC cihazı ile 50-200°C aralığında yapılan termal analizinde, erime sıcaklığı 142.66°C olarak bulunmuştur, termogramı **Şekil 5**'te sunulmuştur. Bilim İlaç tarafından bağışlanan maddenin, firma tarafından gönderilmiş spesifikasyonunda, erime derecesi 138-142°C olarak belirtilmiştir. Elde edilen sonucun ~142°C olması nedeniyle madde spesifikasyonu ve literatür bilgileri ile uyumlu olduğu görülmüştür (Alkhamis ve ark., 2002; Desai ve ark., 2003).



Şekil 5. Flukonazol'un Termal Analizine ait Termogram

Çözünürlük Tayini

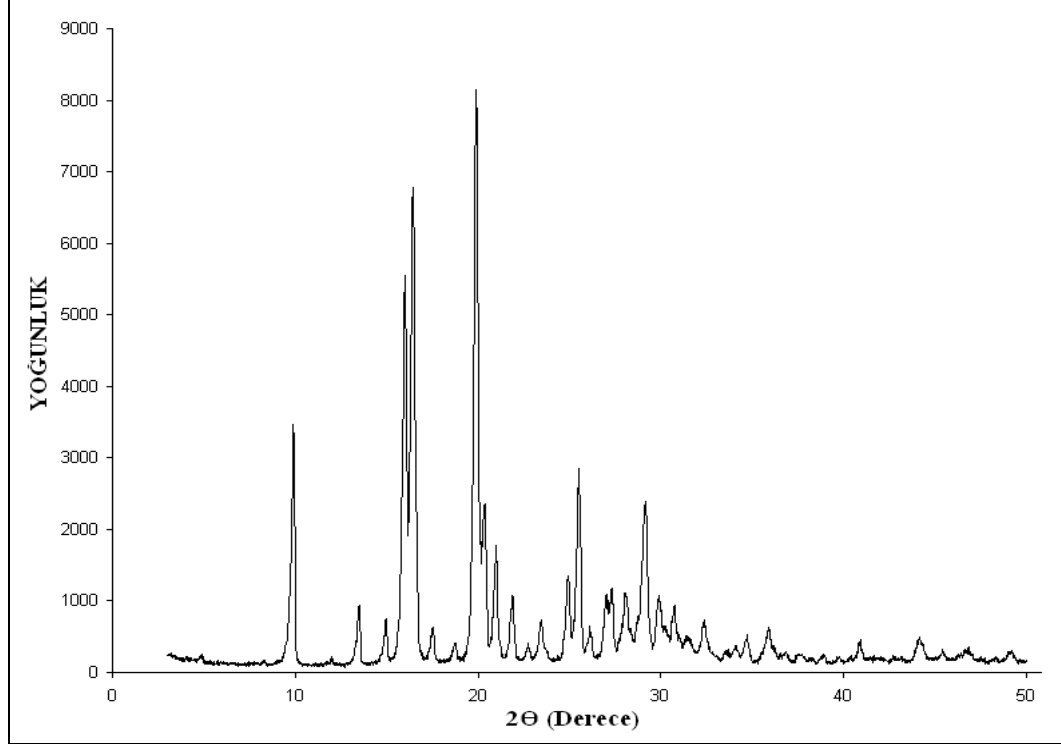
FZ'nin saf su ortamında oda sıcaklığındaki çözünürlük değeri 5.550 ± 1.002 mg.mL⁻¹ (ort $\pm$ SS) olarak bulunmuştur (n=3). Bu değer Bilim İlaç (Türkiye) tarafından gönderilen sertifikada yer alan 5.000 mg.mL⁻¹ değeri ile uyumludur (Fluconazole Certificate of Analysis, 2008). Bulunan çözünürlük değeri literatür ile de desteklenmektedir (Ayub ve ark., 2007).

X-Işını Kırınım Analizi

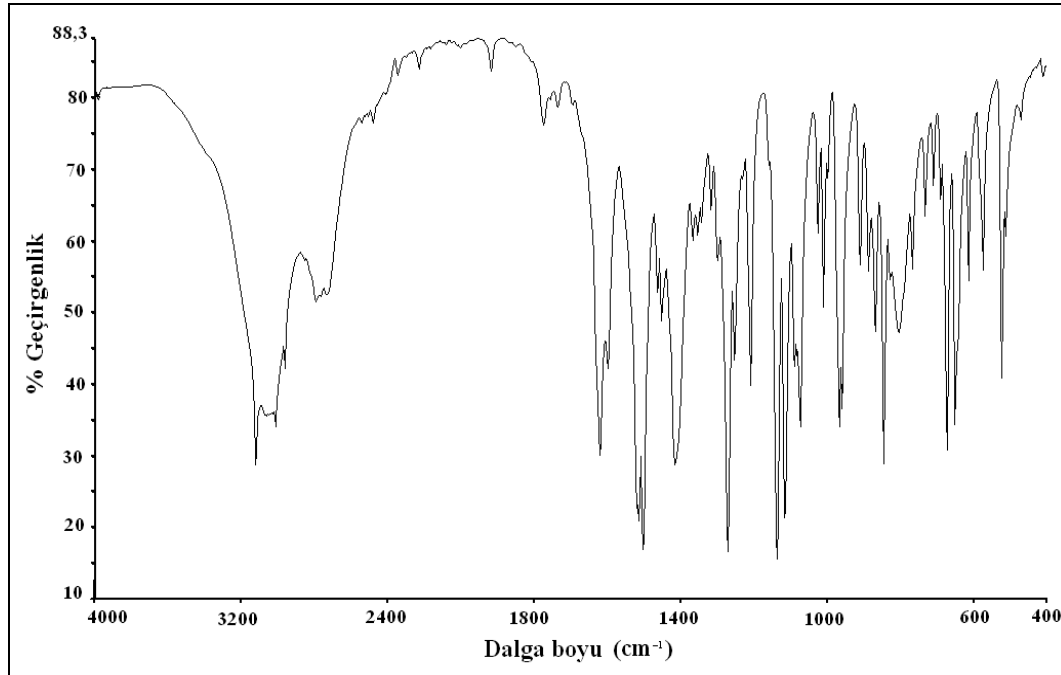
FZ'nin XRD profili **Şekil 6**'da sunulmuştur. FZ'nin X-ışını kırınım analizinden elde edilen spektrumunda karakteristik FZ pikleri gözlenmiştir FZ'nin X-ışını kırınım profili incelendiğinde, maddenin kristal yapıya sahip olduğu görülmektedir (**Şekil 6**). Elde edilen paternler çok az kayma ile literatürde FZ'nin anhidrat I şekli için verilen paternlere uygunluk göstermiştir (Alkhamis ve ark., 2002). Karakteristik pikler 9.9°, 16.0°, 16.44°, 19.9°, 25.54° ve 29.16° 2θ değerlerinde tespit edilmiştir.

İnfrared Analizi

FZ'nin KBr ile hazırlanan diski kullanılarak elde edilen IR spektrumu **Şekil 7**'de sunulmuştur. FZ'ye ait IR spektrumu incelendiğinde saf FZ'ye ait karakteristik pikler 1621, 1417, 1272, 1137 ve 968 cm^{-1} 'de tespit edilmiştir. Bu sonuçlar literatür ile uyumludur (Al-Marzouqi ve ark., 2009).



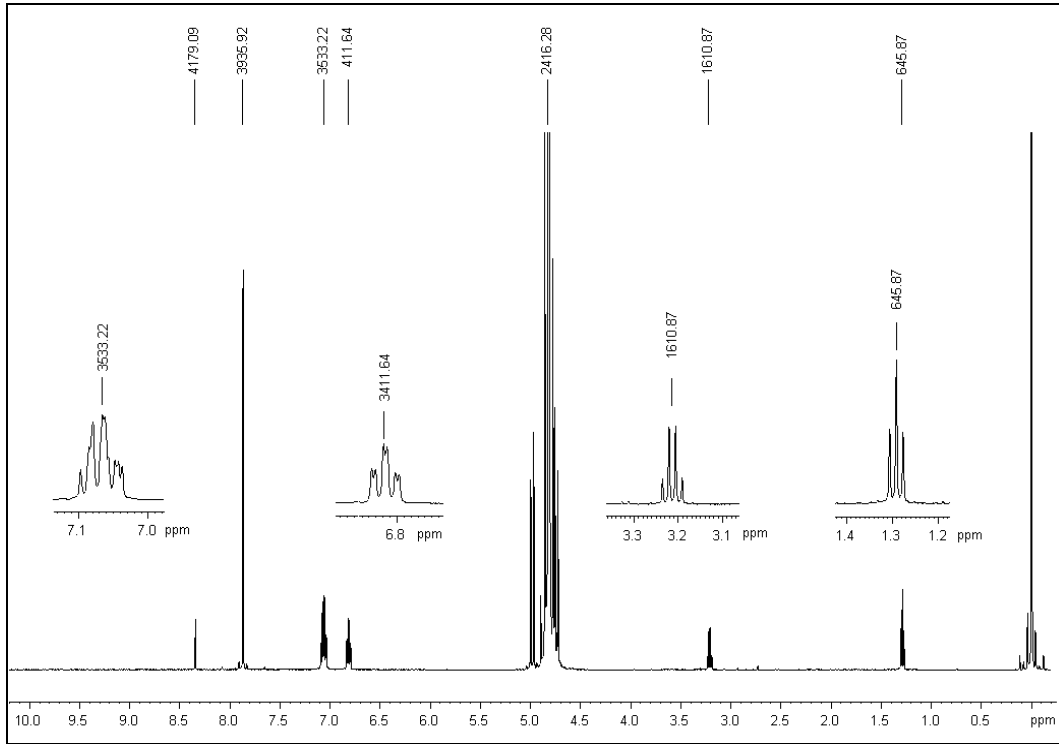
Şekil 6. Flukonazol'un X-Işını Kırınım Profili



Şekil 7. Flukonazol'un İnfrared Analizi Spektrumu

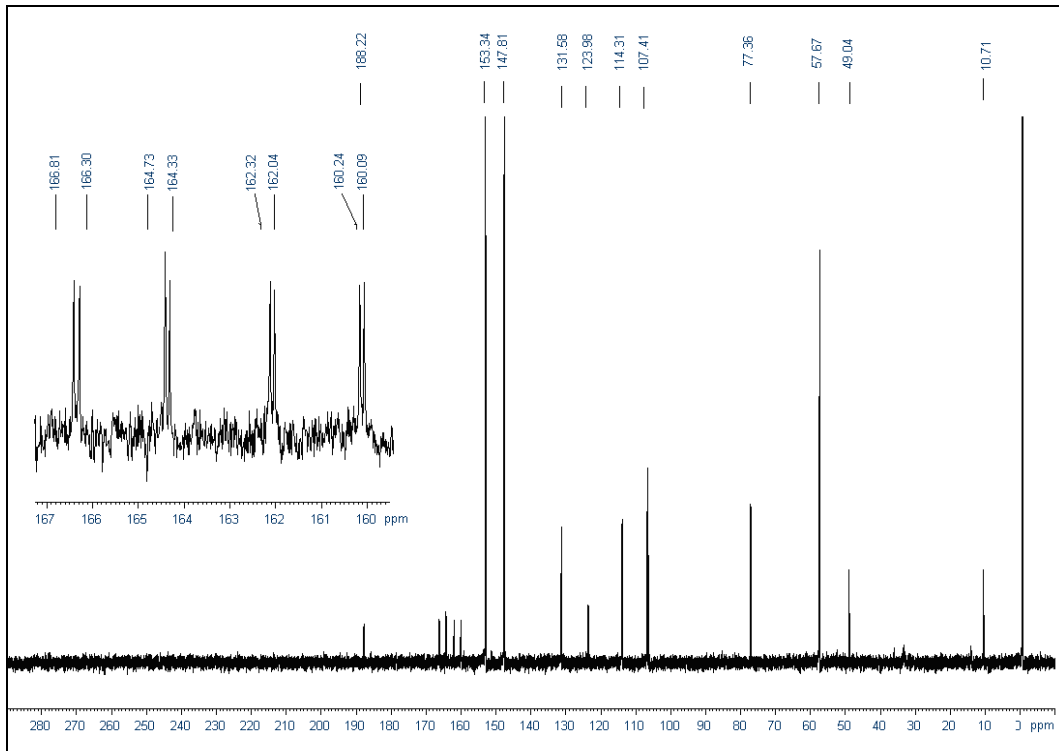
Nükleer Manyetik Rezonans Analizi

FZ'nin ^1H -NMR analizine ait spektrumu **Şekil 8**'de sunulmuştur.



Şekil 8. Flukonazol'un ^1H -NMR Analizi Spektrumu

FZ'nin ^{13}C -NMR analizine ait spektrumu **Şekil 9**'da sunulmuştur.



Şekil 9. Flukonazol'un ^{13}C -NMR Analizi Spektrumu

Yapılan analizler sonucunda elde edilen spektrumlarda karakteristik FZ pikleri gözlenmiştir (Upadhyay ve Kumar, 2009). FZ'nin ^1H -NMR analizine ait spektrumunda; 6-8 ppm aralığında benzen halkasında bulunan hidrojenlere ait pikler, 4-5 ppm aralığında (çözücü pikinin her iki yanında olmak üzere) FZ yapısındaki $-\text{CH}$ ve $-\text{CH}_2$ gruplarına ait pikler gözlenmiştir.

FZ'nin ^{13}C -NMR analizine ait spektrumunda 100-150 ppm aralığında görülen 6 adet pik benzen halkasına aittir. Bu pikler benzen halkasında süstitüe halde bulunan flor atomları nedeniyle yarılmıştır. 40-80 ppm aralığında görülen pikler ise yapıdaki $-\text{CH}$ ve $-\text{CH}_2$ gruplarına ait piklerdir.

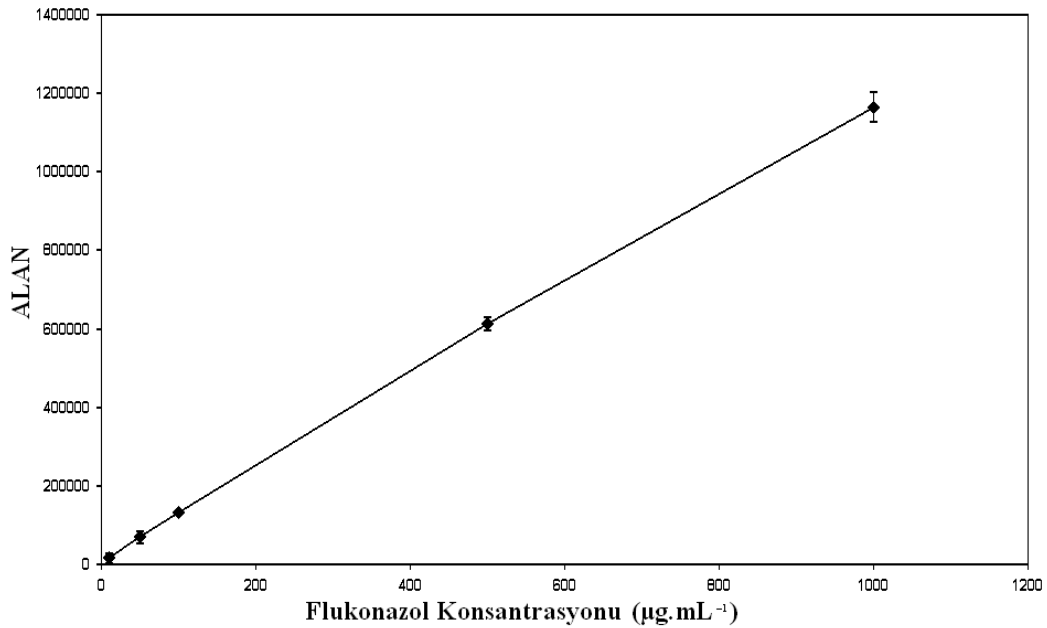
İnce Tabaka Kromatografisi

Yöntemler bölümünde anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen yöntemde FZ'nin R_f değeri 0.45 olarak bulunmuştur ve plağa ait görüntü **Şekil 21**'de sunulmuştur.

Flukonazol'un Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Analitik Miktar Tayini

-Doğrusallık

FZ'nin hareketli fazda hazırlanan 10 - 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlarına karşılık gelen alan değerleri kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve eğri ile eğriye ait doğru denklemi **Şekil 10**'da sunulmuştur. Doğrusallık çalışması için hazırlanan seriler ile yapılan analizde eğimin % 95 güven aralığı (GA) 1109.874-1211.983 olarak bulunmuştur. Yöntemin doğrusallığının yüksek olduğu 0.9997 değerindeki korelasyon katsayısı ile tespit edilmiştir (Shabir, 2003).



Şekil 10. Flukonazol'un Doğrusallık Eşitliği ve Grafiği (n=6)

[Doğrusallık Eşitliği: $y=1160.93x+13490.37$, $r= 0.9997$, $r^2= 0.9994$,
Eğim $\pm$ SS=1160.93 $\pm$ 36.556, Eğimin % 95 Güven Aralığı= 1109.874-1211.983]

-Kesinlik

Analitik yöntemin kesinliği ile ilgili tekrarlanabilirlik ve tekrar elde edilebilirlik ölçütlerinin değerlendirildiği üç farklı konsantrasyonda (düşük, orta, yüksek) yapılan ölçümlerde, bağıl standart sapma (BSS) değerleri 2'nin altında ise kullanılan yöntemin kesinliği kanıtlanmış denebilir. Literatür ayrıca, tekrarlanabilirlik için $BSS < \% 2$, maksimum $< \% 3$; tekrarlanabilirlik için $BSS < \% 5$ değerini vermektedir (Shabir, 2003). Tekrarlanabilirlik ve tekrar elde edilebilirlik test sonuçlarına ve bu literatür bilgisine göre, yöntemin kesinliği istenilen aralıklar içinde bulunmuştur (**Çizelge 14**).

Çizelge 14. Flukonazol'un Tek Konsantrasyonda Gün-İçi ve Günler-Arası Kesinlik Sonuçları

500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Gün-İçi(n=6)			Günler-Arası Ort. (n=18)
	1. Gün	2.Gün	3.Gün	
Ort. Alan	608985	606218	601033	605412
BSS	0.2373	0.0813	1.0550	0.8095
SH	589.7	201.4	2589	1155
% 95 GA	607469	605701	594378	602975
	610501	606736	607687	607849

FZ'nin kesinlik çalışmalarında değerlendirmeye alınan diğer iki konsantrasyona ait kesinlik sonuçları ise; 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ için gün içi BSS 0.756, günler arası BSS 0.803, 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ için gün içi BSS 2.108, günler arası BSS 2.160'dır.

-Doğruluk

Doğruluk çalışmalarından elde edilen sonuçlar ve doğru denklemi yardımı ile FZ miktarları hesaplanmış, eklenen FZ miktarları ile bulunan değerler karşılaştırılarak **Çizelge 15**'te sunulmuştur. Yüzde olarak bulunan doğruluk değerinin, literatürlere göre tüm konsantrasyonlar için %98-102 arasında olması gerekmektedir (Shabir, 2003). Yöntem iyi geri kazanım sonuçları göstermiştir.

Çizelge 15. Flukonazol'un Doğruluk Çalışması için Hazırlanan Seriler ve % Geri Kazanım Sonuçları (n=6)

FZ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Geri Kazanım Ort. ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	% Geri Kazanım (Ort)	SS
1500	1524.432	100.674	1.461
1000	1022.412	102.241	3.966
500	498.74	99.750	1.970

-Duyarlılık

Eşitlik 3 kullanılarak hesaplanan LOD değeri 1.898 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, **Eşitlik 4** kullanılarak hesaplanan LOQ değeri ise 5.751 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak bulunmuştur. YBSK yöntemi için oldukça yüksek olan bu değerler, çalışma aralığının çok altında olması nedeniyle uygun bulunmuştur.

-Seçicilik

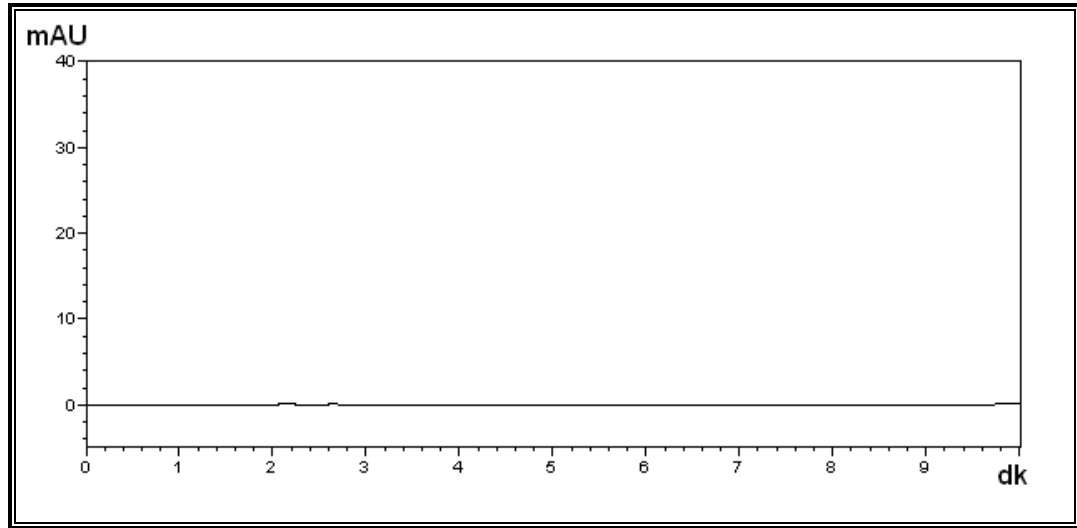
Analitik çalışmalarda, yöntemin belirli bir madde için seçici olduğunun kanıtlanması ve safsızlıkların belirlenmesi amacıyla seçicilik analizi mutlaka yapılmalıdır (ICH, 1996).

Çözünürlük faz diyagramı çalışmalarına yönelik olarak; hareketli faz, FZ'nin hareketli fazdaki çözeltisi ve FZ içermeyen β -CD/sulu çözeltisi ve FZ içeren β -CD/sulu çözeltisi analiz edilerek sistemin seçiciliği belirlenmeye çalışılmıştır. Hazırlanan çözeltilerin YBSK ile seçicilik analiz kromatogramları **Şekil 11 - 14**'te sunulmuştur.

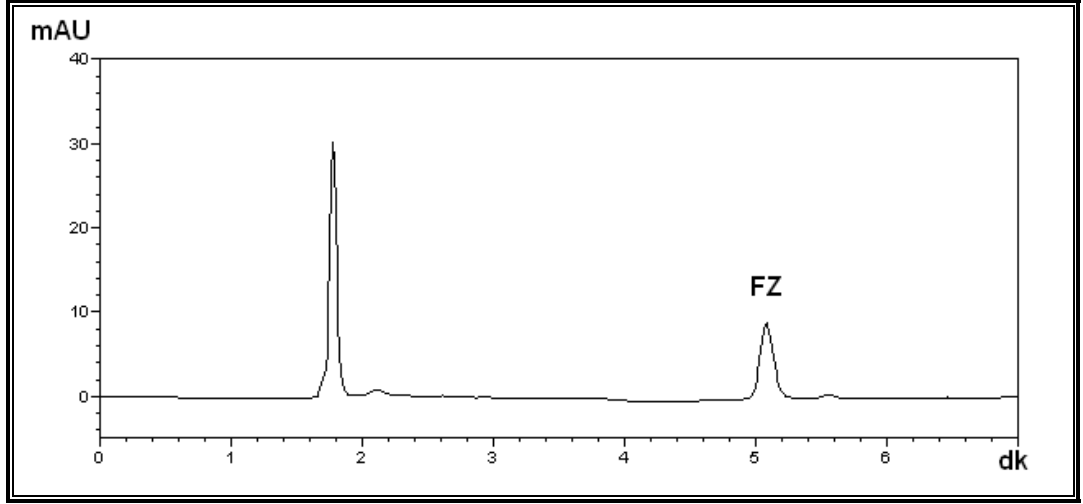
Gerçekleştirilen YBSK analiz kromatogramlarında FZ içermeyen β -CD/sulu çözeltisinde herhangi bir pik görülmezken, FZ içeren β -CD/sulu çözeltisi ve FZ' nin hareketli fazda çözündürüldüğü sistemlerde FZ kolaylıkla belirlenmiştir. Çözeltilerde bulunan diğer maddelerden sistemin etkilenmemesi ile yöntemin seçici olduğu görülmüştür.

FZ kompleksleri üzerinde yapılan çalışmalara ait seçicilik incelemelerinde; FZ'nin hareketli fazdaki kromatogramı, plasebo formülasyon ve FZ içeren kompleksin YBSK ile analizinden elde edilen kromatogramlar **Şekil 15-17**'de verilmiştir.

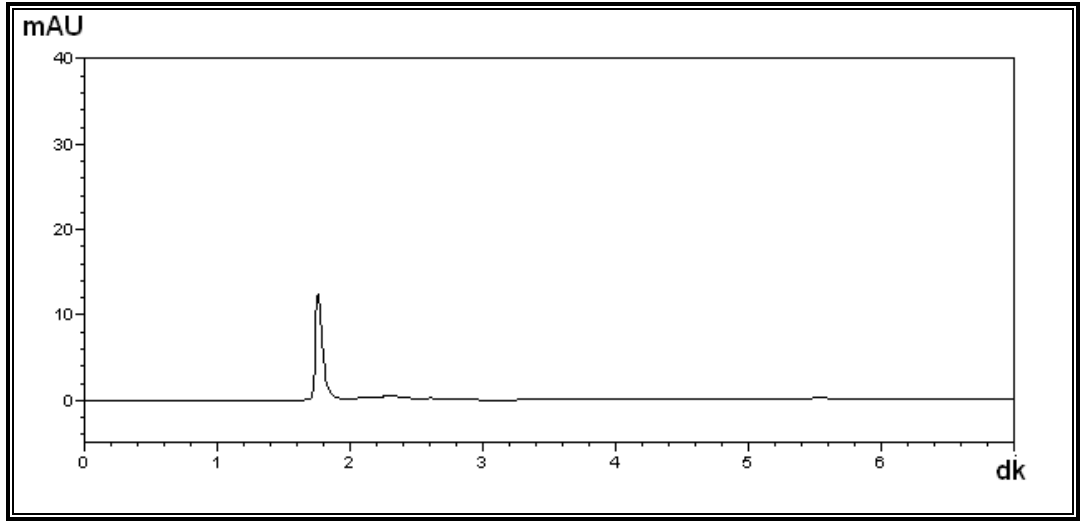
FZ/ β -CD kompleksleri ile hazırlanan kapsüller üzerinde yapılan çalışmalara ait seçicilik incelemelerine ait FZ'nin hareketli fazdaki kromatogramı, sert selüloz kapsül kabuğu ve FZ içeren sert selüloz kapsüle ait kromatogramlar **Şekil 18-20**'te verilmiştir.



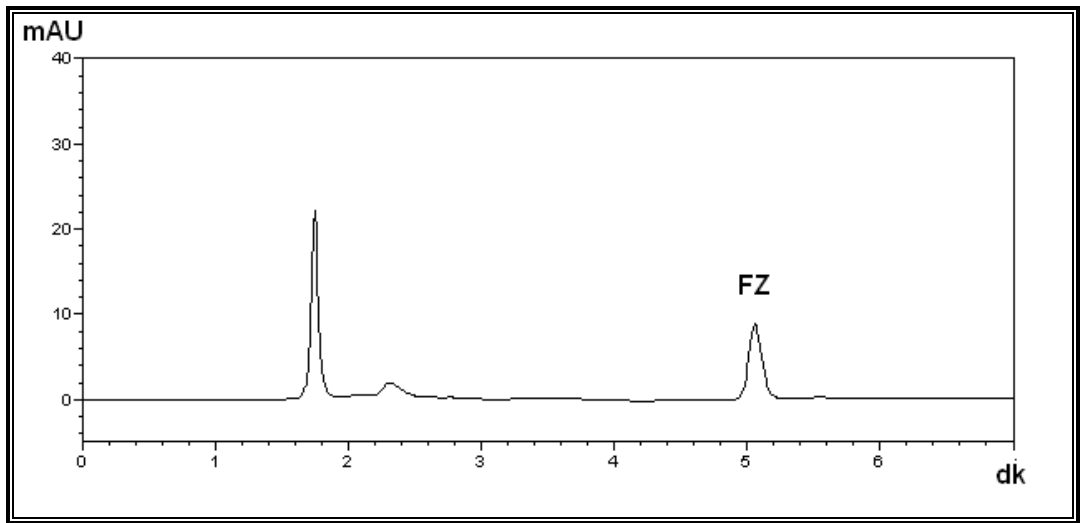
Şekil 11. Hareketli Faza ait Kromatogram



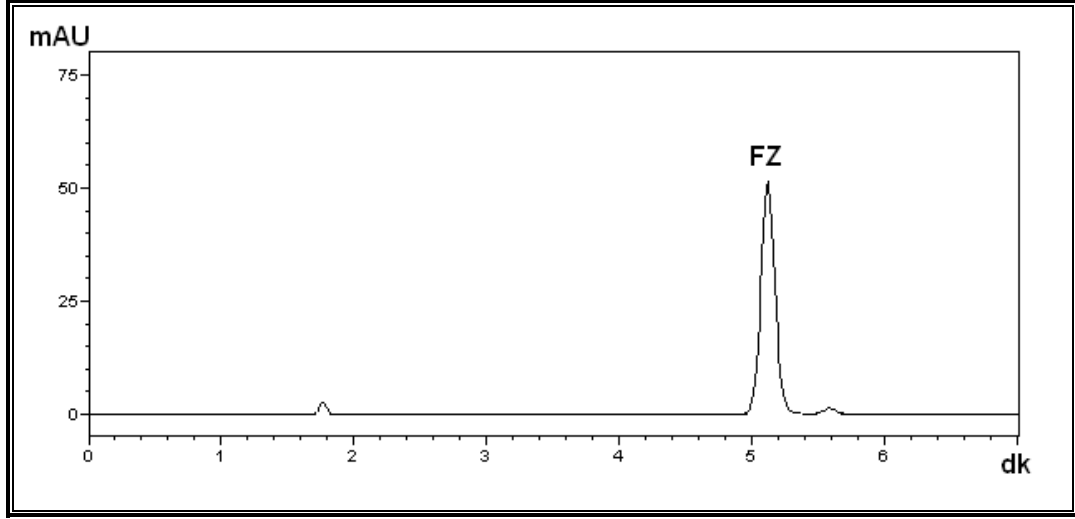
Şekil 12. Flukonazol'un Hareketli Fazdaki Çözeltisine ait Kromatogram



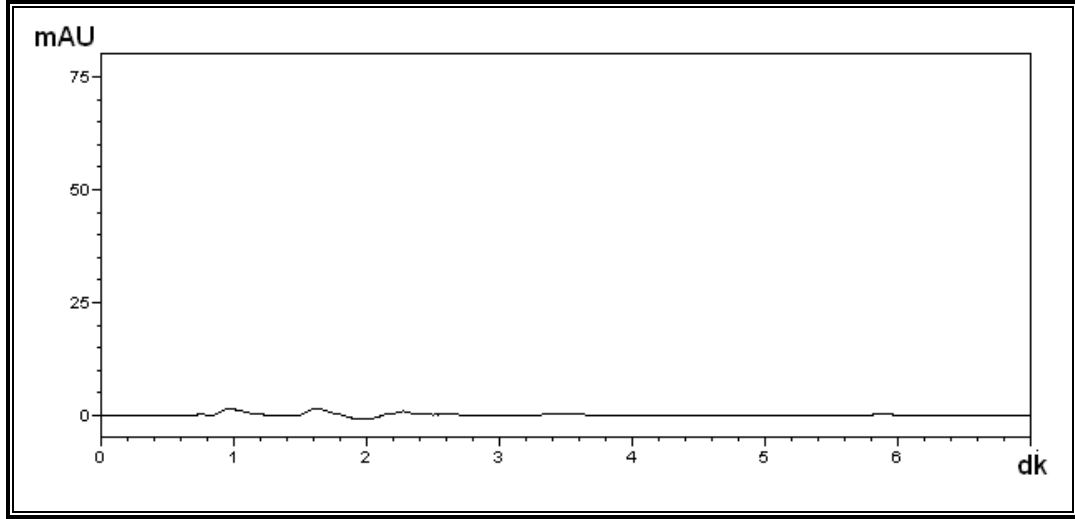
Şekil 13. β -Siklodekstrinin Sulu Çözeltisine ait Kromatogram



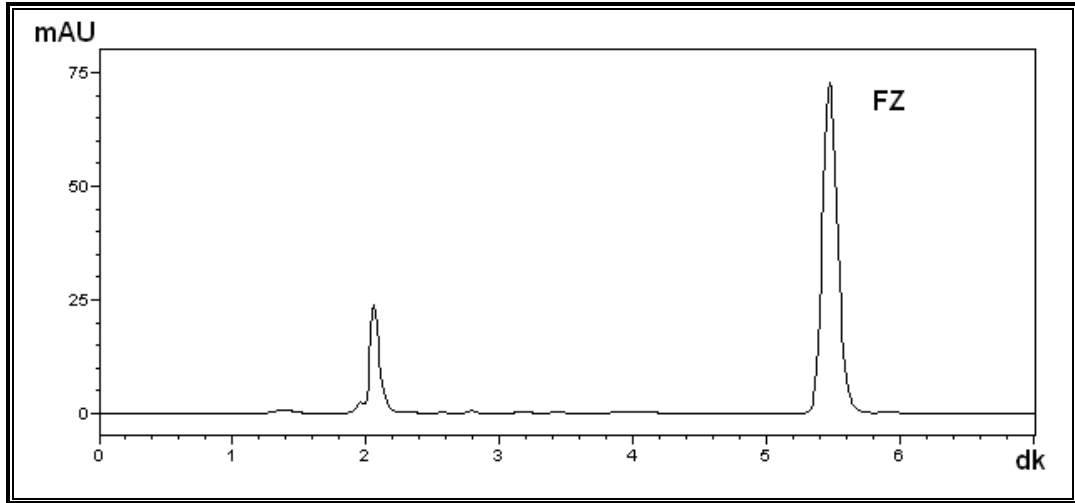
Şekil 14. Flukonazol ve β -Siklodekstrinin Sulu Çözeltisine ait Kromatogram



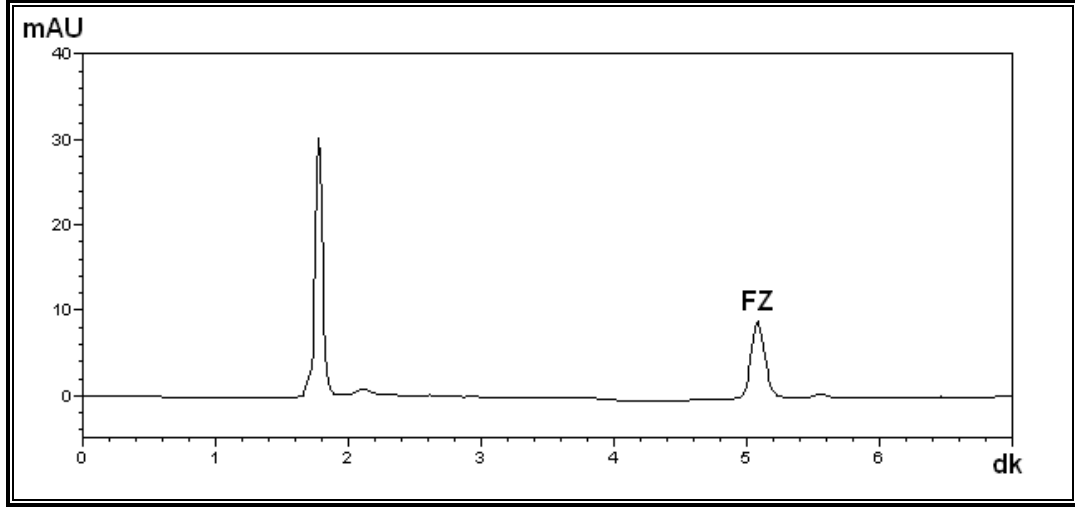
Şekil 15. Flukonazol'un Hareketli Fazdaki Çözeltisine ait Kromatogram



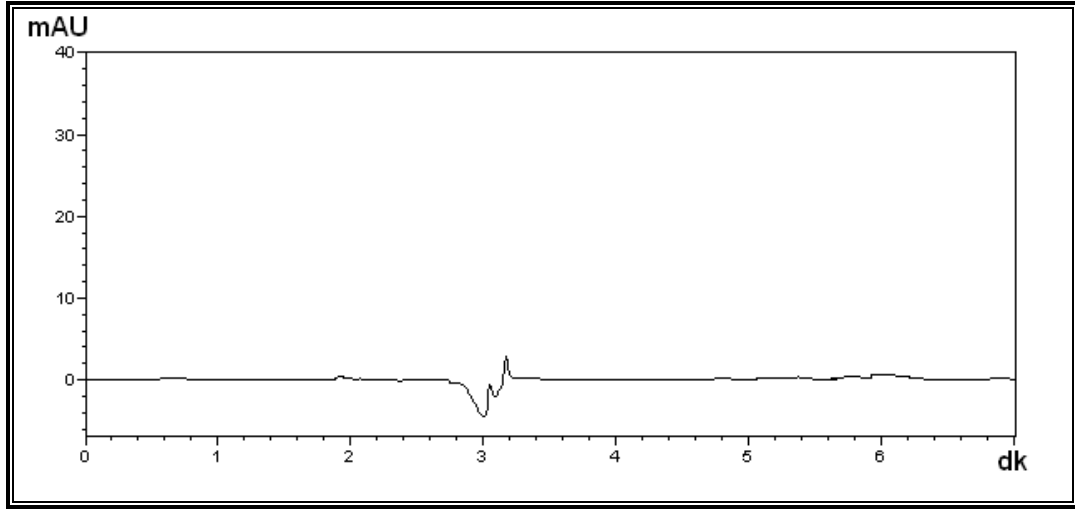
Şekil 16. Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Hazırlanan Plasebo Formülasyona ait Kromatogram



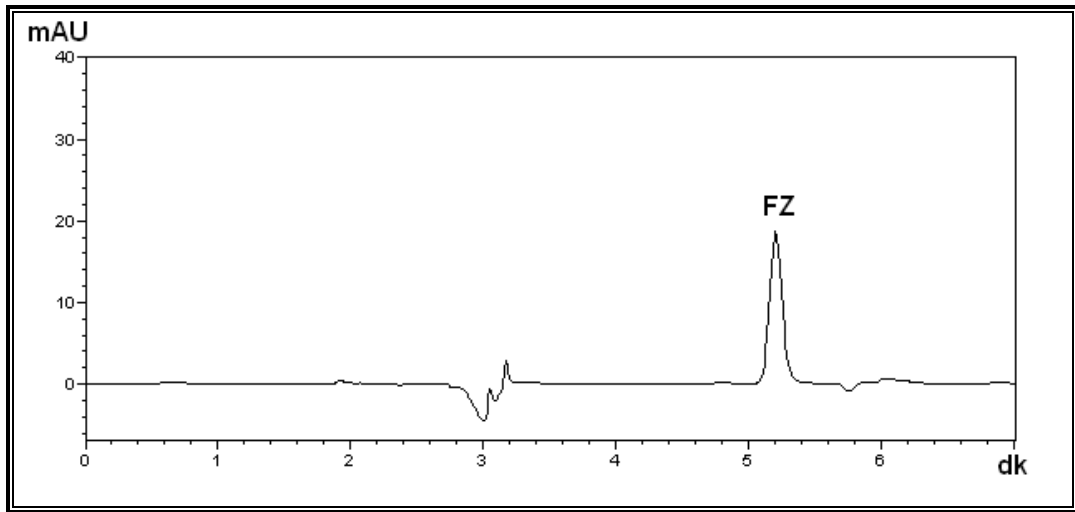
Şekil 17. Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Hazırlanan Flukonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksine ait Kromatogram



Şekil 18. Flukonazol'un Hareketli Fazdaki Çözeltisine ait Kromatogram



Şekil 19. Sert Selüloz Kapsül Kabuğuna ait Kromatogram



Şekil 20. Flukonazol İçeren Sert Selüloz Kapsüle ait Kromatogram

Gerçekleştirilen YBSK analiz kromatogramlarında FZ içermeyen örneklerde FZ'nin alıkonma zamanında herhangi bir pik görülmezken, FZ içeren örneklerde FZ kolaylıkla belirlenmiştir. Çözeltilerde bulunan diğer maddelerden sistemin etkilenmemesi ile yöntemin seçici olduğu görülmüştür.

-Sistem Uygunluk Testleri

Sistem uygunluk testinin ekipman bilgileri için, YBSK cihazının parçaları, marka ve modelleri **Çizelge 16**'da verilmiştir. YBSK yöntem validasyonu ve miktar tayini işlemleri için Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık Teknolojisi Bölümü Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan, Shimadzu marka cihaz kullanılmıştır. Cihaz kalibrasyonu 01.18.2006 tarihinde Ant Teknik firması tarafından yeni alınmış olan cihazın teslimi sırasında yapılmıştır.

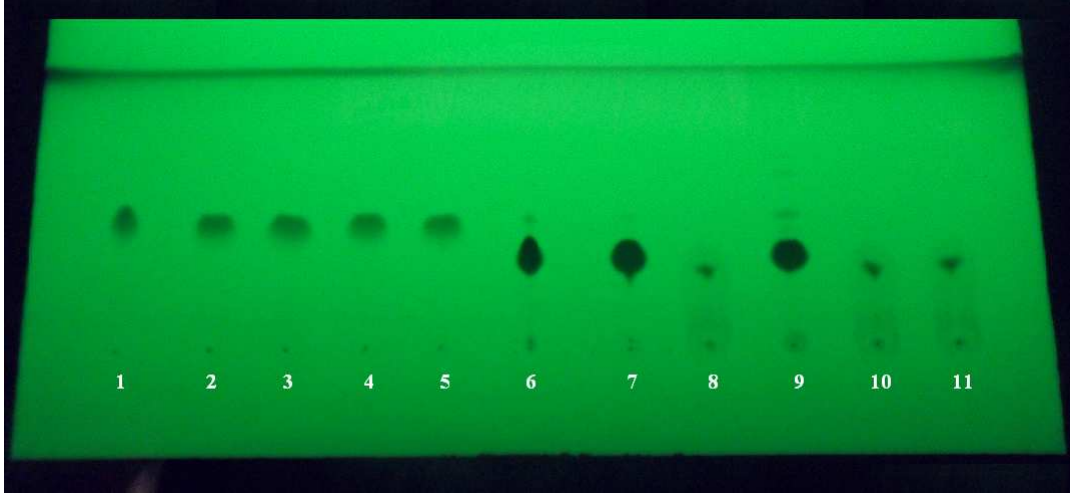
Çizelge 16. Yüksek Basıncı Sıvı Kromatografisi Cihazının Parça, Marka ve Modelleri

Parçalar	Marka	Model
Degazer	Shimadzu	DGU-20A ₅
Pompa	Shimadzu	LC-20 AT
Sistem Kontrol	Shimadzu	CBM-20A
Otoenjektör	Shimadzu	SIL-20A
Diode Array Dedektör	Shimadzu	SPD-MZO A
Kolon Fırını	Shimadzu	CTO-10AS VP

USP tarafından tanımlanan ve YBSK cihazının yazılımı kullanılarak hesaplamaları yapılan sistem uygunluk testi parametrelerinden N değeri 7292.838 T değeri 1.057 bulunmuştur. Bulunan sonuçlar $N > 2000$, $T \leq 2.0$ olması nedeniyle uygun bulunmuştur (USP 31, 2008).

-Kararlılık

İTK ile yapılan kararlılık incelemelerine ait kromatogram **Şekil 21**'de sunulmuştur. 1-5 numaralarında yer alan tüm lekeler için R_f değerlerinin (0.45) FZ referansı ile uyumlu olması, hazırlama yöntemlerinden kaynaklanan herhangi bir kararlılık probleminin mevcut olmadığını göstermiştir.



Şekil 21. Flukonazol ve Ketokonazol'un Çalışma Ortamlarındaki Kararlılığına ait İnce Tabaka Kromatogramı

- 1 FZ'nin Kloroform İçerisindeki Referans Çözeltilisi
- 2 FZ'nin Etanol:Su (50:50) İçerisindeki Bekletilmemiş Çözeltilisi
- 3 FZ'nin Çözünme Ortamındaki Bekletilmemiş Çözeltilisi
- 4 FZ'nin Etanol:Su (50:50) İçerisindeki 24 saat Bekletilmiş Çözeltilisi
- 5 FZ'nin Çözünme Ortamındaki 24 saat Bekletilmiş Çözeltilisi
- 6 KZ'nin Kloroform İçerisindeki Referans Çözeltilisi
- 7 KZ'nin Etanol:Su (50:50) İçerisindeki Bekletilmemiş Çözeltilisi
- 8 KZ'nin Çözünme Ortamındaki Bekletilmemiş Çözeltilisi
- 9 KZ'nin Etanol:Su (50:50) İçerisindeki 24 saat Bekletilmiş Çözeltilisi
- 10 KZ'nin Çözünme Ortamındaki 24 saat Bekletilmiş Çözeltilisi
- 11 KZ'nin Çözünme Ortamındaki 48 saat Bekletilmiş Çözeltilisi

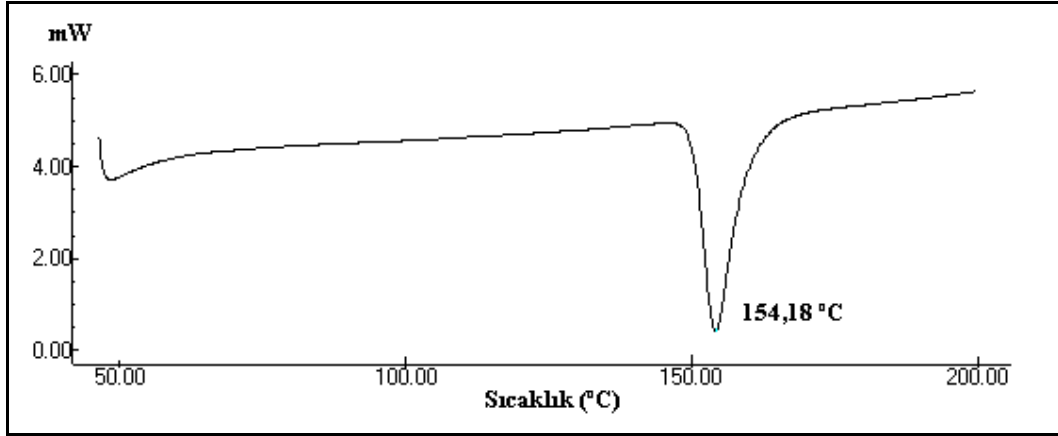
Ketokonazol ile Yapılan Çalışmalar

Erime Derecesi Tayini

KZ'nin erime derecesi tayin cihazı kullanılarak gerçekleştirilen analizlerinde erime derecesi, 149.7 ± 0.265 (Ort $\pm$ SS) olarak bulunmuştur (n=3). Bulunan bu veri literatür bilgileri ile paralellik göstermiştir (British Pharmacopeia, 2008; USP 31, 2008).

Termal Analiz

KZ'nin DSC cihazı ile 50-200°C aralığında yapılan termal analizinde, erime sıcaklığı 154.18°C olarak bulunmuştur, termogramı **Şekil 22**'de sunulmuştur. Elde edilen sonucun madde spesifikasyonu ve literatür bilgileri ile uyumlu olduğu görülmüştür (Taneri ve ark., 2003; USP 31, 2008).



Şekil 22. Ketokonazol'ün Termal Analizine ait Termogram

Çözünürlük Tayini

KZ'nin 25°C'de saf suda ve 25°C ile 37°C'de YVS ortamında gerçekleştirilen çözünürlük sonuçları **Çizelge 17**'de gösterilmiştir.

Çizelge 17. Ketokonazol'ün Farklı Ortamlardaki Çözünürlük Değerlerine ait Bulgular

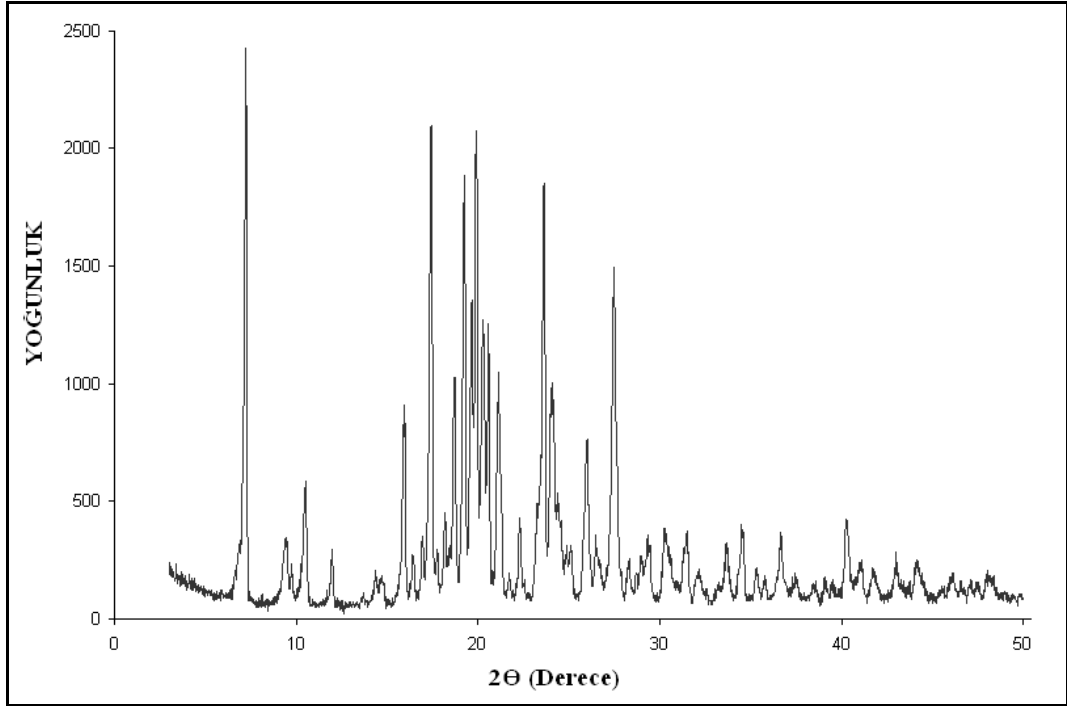
Çözünme ortamı ve sıcaklığı	Ortalama Çözünürlük (mg.mL ⁻¹)	± SS
Saf su (25°C)	-	-
YVS (25°C)	0.143	0.004
YVS (37°C)	0.165	0.021

KZ'nin 25°C'de saf sudaki çözünürlüğüne ait çalışmalarda, YBSK ile pikler izlenmiş ancak bu pik alanlarının kalibrasyon eşitliği ile değerlendirilemeyecek düzeyde düşük olması nedeniyle hesaplama yapılamamıştır. KZ'nin sudaki çözünürlüğüne ilişkin bu bulgu literatürü destekler niteliktedir (British Pharmacopeia, 2008; USP 31, 2008). YVS ile yapılan çalışmalarda sıcaklık artışı ile çözünürlükte de paralel olarak artış izlenmiştir.

X-Işını Kırınım Analizi

KZ'nin XRD profili **Şekil 23**'te sunulmuştur.

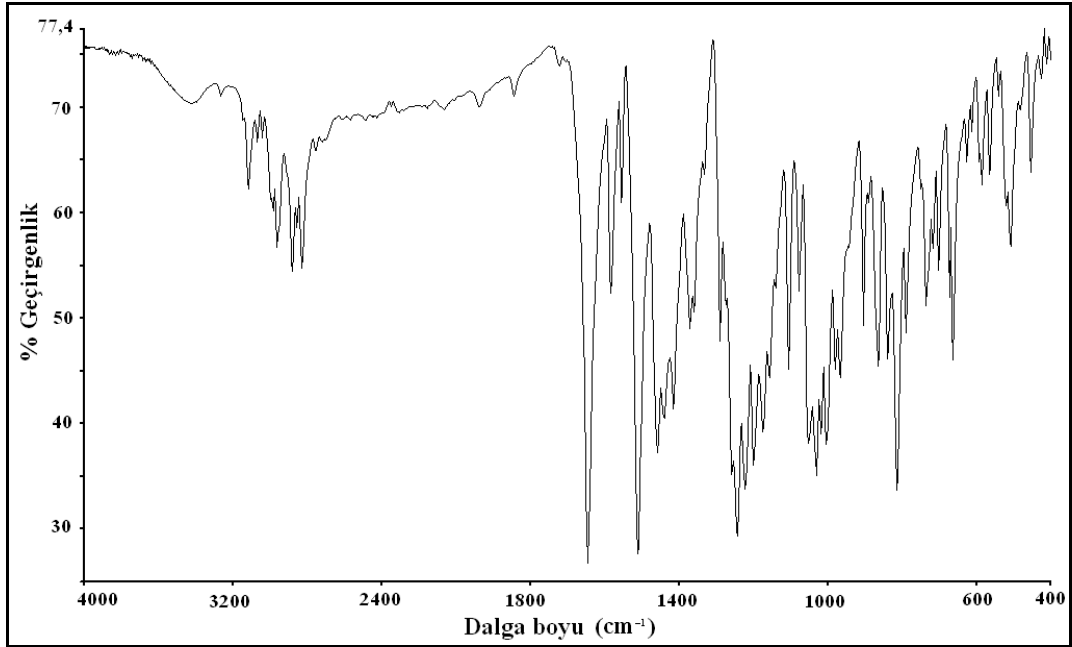
KZ'nin X-ışını kırınım analizinden elde edilen spektrumunda karakteristik KZ pikleri gözlenmiştir. KZ'nin X-ışını kırınım profili 10-30° aralığında keskin yoğun pikler sergilemesi nedeniyle maddenin kristalin karakterini ispatlamaktadır (**Şekil 23**). Bu literatüre benzer bir sonuçtur (Taneri ve ark., 2003). Bu analiz ile karakteristik pikler 15.96°, 17.42°, 20.56 °, 21.14 °, 23.62 ° ve 27.48 ° 2θ değerlerinde tespit edilmiştir.



Şekil 23. Ketokonazol'un X-Işını Kırınım Profili

İnfrared Analizi

KZ'nin KBr ile hazırlanan diski kullanılarak elde edilen IR spektrumu Şekil 24'te sunulmuştur.

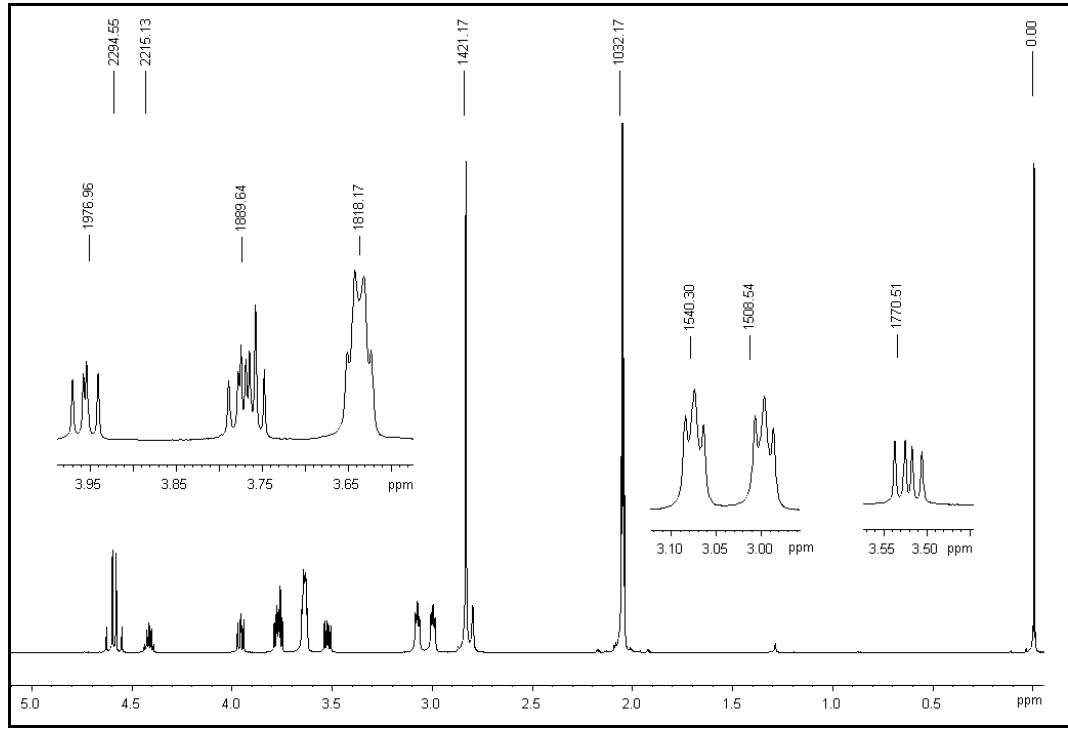


Şekil 24. Ketokonazol'un İnfrared Analizi Spektrumu

KZ'ye ait IR spektrumu incelendiğinde saf KZ'ye it karakteristik pikler 1646, 1535, 1512, 1458, 1291, 1244 ve 1106 cm^{-1} 'de tespit edilmiştir. Bu sonuçlar literatür ile uyumludur (Hanh ve ark., 2000).

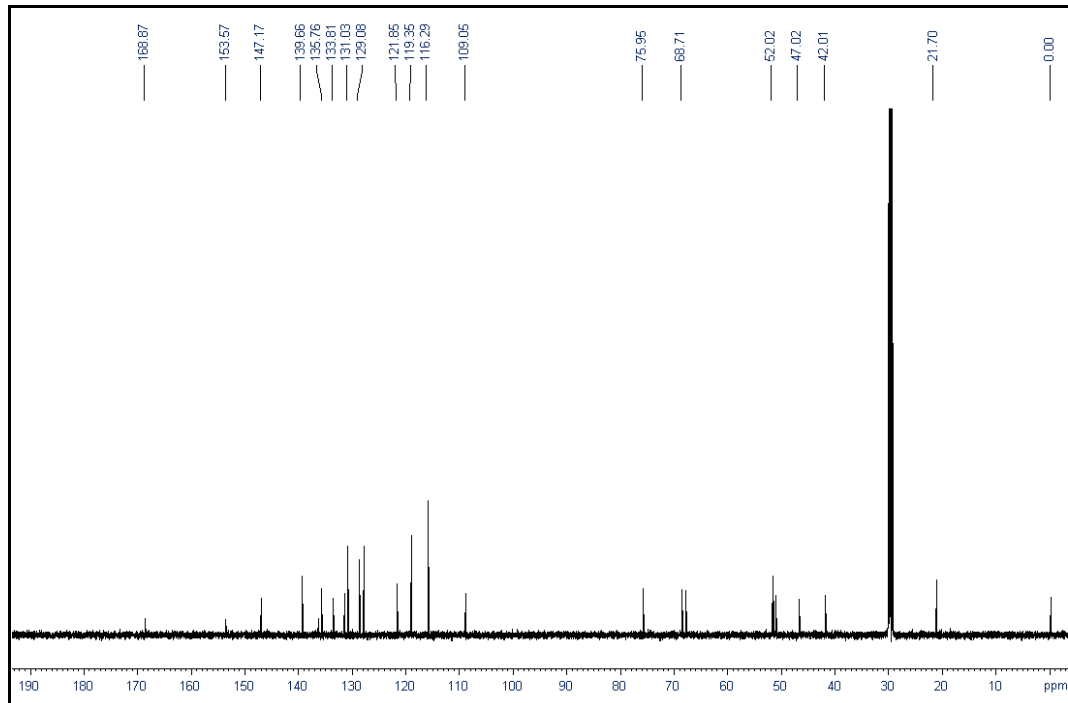
Nükleer Manyetik Rezonans Analizi

KZ'nin ^1H -NMR analizine ait spektrumu Şekil 25'te sunulmuştur.



Şekil 25. Ketokonazol'un ^1H -NMR Analizi Spektrumu

KZ'nin ^{13}C -NMR analizine ait spektrumu Şekil 26'da sunulmuştur.



Şekil 26. Ketokonazol'un ^{13}C -NMR Analizi Spektrumu

Yapılan analizler sonucunda elde edilen spektrumda karakteristik KZ pikleri gözlenmiştir (Redenti ve ark., 1999; Mooter ve ark., 2001).

KZ'nin $^1\text{H-NMR}$ analizine ait spektrumunda, 3-5 ppm aralığındaki pikler $-\text{CH}$ ve $-\text{CH}_2$ gruplarına ve 2.8 ppm'de görülen pik $-\text{CH}_3$ grubuna aittir.

KZ'nin $^{13}\text{C-NMR}$ analizi spektrumunda, KZ yirmi altı karbonlu bir yapıya sahip olmasına rağmen, benzen halkasındaki özdeş yapıdan dolayı yirmi dört adet karbon piki gözlenmiştir. Bu piklerden 170 ppm'de görülen pik karbonil grubuna, 110-140 ppm aralığındaki pikler yapıdaki benzen halkasına, 40-80 ppm aralığındaki pikler yapıdaki $-\text{CH}$ ve $-\text{CH}_2$ gruplarına ve 21 ppm'deki pik $-\text{CH}_3$ grubuna ait piklerdir.

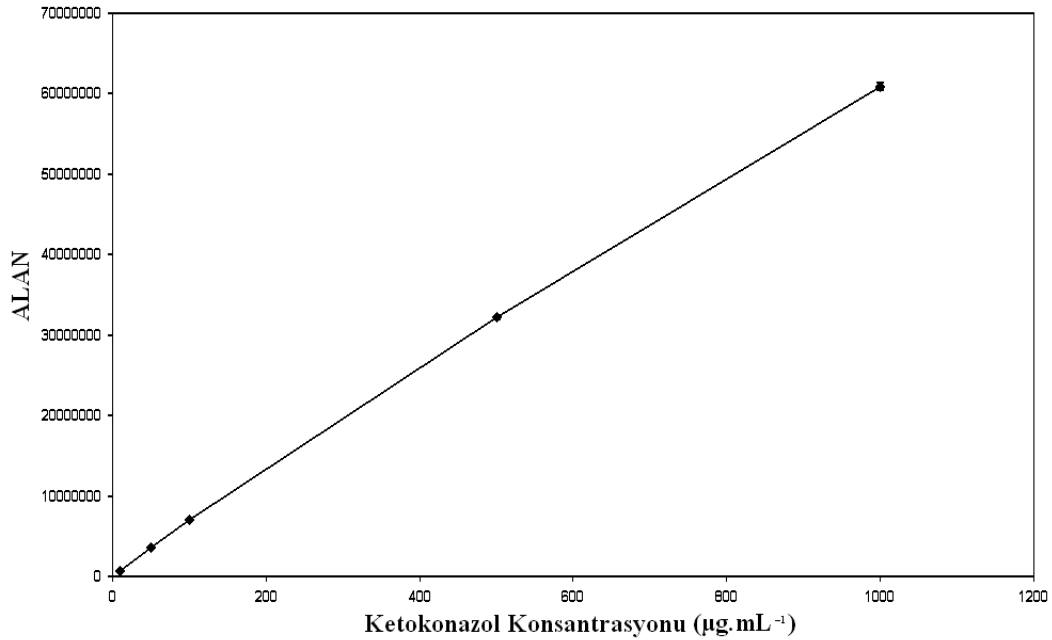
İnce Tabaka Kromatografisi

Yöntemler bölümünde anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen yöntemde KZ'nin R_f değeri 0.31 olarak bulunmuştur ve plağa ait görüntü **Şekil 21**'de sunulmuştur.

Ketokonazol'un Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Analitik Miktar Tayini

-Doğrusallık

KZ'nin hareketli fazda hazırlanan 10 - 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlarına karşılık gelen alan değerleri kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve eğri ile eğriye ait doğru denklemi **Şekil 27**'de sunulmuştur. Doğrusallık çalışması için hazırlanan seriler ile yapılan analizde eğimin % 95 GA 57719.67-63713.39 olarak bulunmuştur. Yöntemin doğrusallığının yüksek olduğu 0.9996 değerindeki korelasyon katsayısı ile tespit edilmiştir (Shabir, 2003).



Şekil 27. Ketokonazol'un Doğrusallık Eşitliği ve Grafiği (n=6)

[Doğrusallık Eşitliği: $y=60716.53x+728102.13$, $r=0.9996$, $r^2=0.9993$,
Eğim $\pm$ SS=60716.53 $\pm$ 941.8172, Eğimin % 95 Güven Aralığı= 57719.67-63713.39]

-Kesinlik

Yapılan analizler ile elde edilen sonuçlar formüller yardımıyla değerlendirilerek yöntemin BSS değerleri hesaplanmış ve sonuçları **Çizelge 18**'de sunulmuştur.

Çizelge 18. Ketokonazol'un Tek Konsantrasyonda Gün-İçi ve Günler-Arası Kesinlik Sonuçları

10 µg.mL ⁻¹	Gün-İçi(n=6)			Günler-Arası Ort. (n=18)
	1. Gün	2.Gün	3.Gün	
Ort. Alan	727843	724208	725589	725880
BSS	0.4956	3.2645	1.9025	2.0740
SH	1473	9652	5636	3548
% 95 GA	724058	699397	711102	718393
	731629	749018	740076	733367

KZ'nin kesinlik çalışmalarında değerlendirmeye alınan diğer iki konsantrasyona ait kesinlik sonuçları ise; 1000 µg.mL⁻¹ için gün içi BSS 0.108, günler arası BSS 1.524, 500 µg.mL⁻¹ için gün içi BSS'si 0.205, günler arası BSS'si 2.143'tür.

Analitik yöntemin kesinliği ile ilgili tekrarlanabilirlik ve tekrar elde edilebilirlik ölçütlerinin değerlendirildiği üç farklı konsantrasyonda (düşük, orta ve yüksek) yapılan ölçümlerde, BSS'nin 2'nin altında olması yöntemin kesinliğinin kanıtıdır. Bulunan sonuçlara göre en yüksek BSS değerinin 3.2645 olması nedeniyle yöntemin yeterli kesinlikte olduğu görülmüştür. Çünkü literatür tekrarlanabilirlik için BSS < % 2, maksimum < % 3, tekrar elde edilebilirlik için BSS < % 5 değerini vermektedir (Shabir, 2003).

-Doğruluk

Doğruluk çalışmalarından elde edilen sonuçlar ve doğru denklemi yardımı ile KZ miktarları hesaplanmış, eklenen KZ miktarları ile bulunan değerler karşılaştırılarak **Çizelge 19**'da sunulmuştur. Düşük konsantrasyon haricinde diğer değerlerin % 98-102 aralığından fazla sapmaması nedeniyle yöntemin yeterli geri kazanım sonuçları gösterdiği saptanmıştır (Shabir, 2003).

Çizelge 19. Ketokonazol'un Doğruluk Çalışması için Hazırlanan Seriler ve % Geri Kazanım Sonuçları (n=9)

KZ (µg.mL ⁻¹)	Geri Kazanım Ort. (µg.mL ⁻¹)	% Geri Kazanım (Ort.)	SS
1500	1539.070	102.61	0.873
1000	995.181	98.69	3.681
500	522.579	104.51	1.855

-Duyarlılık

Eşitlik 3 kullanılarak hesaplanan LOD değeri 3.032 µg.mL⁻¹, **Eşitlik 2** kullanılarak hesaplanan LOQ değeri ise 9.187 µg.mL⁻¹ olarak bulunmuştur. Bulunan sonuçlar, LOD ve LOQ değerleri için yüksektir. Ancak bu değerlerin çalışma aralığının altında olması ve çalışma süresince düşük derişimleri ölçme zorunluluğu olmaması nedeniyle olumsuzluk yaratmamaktadır.

-Seçicilik

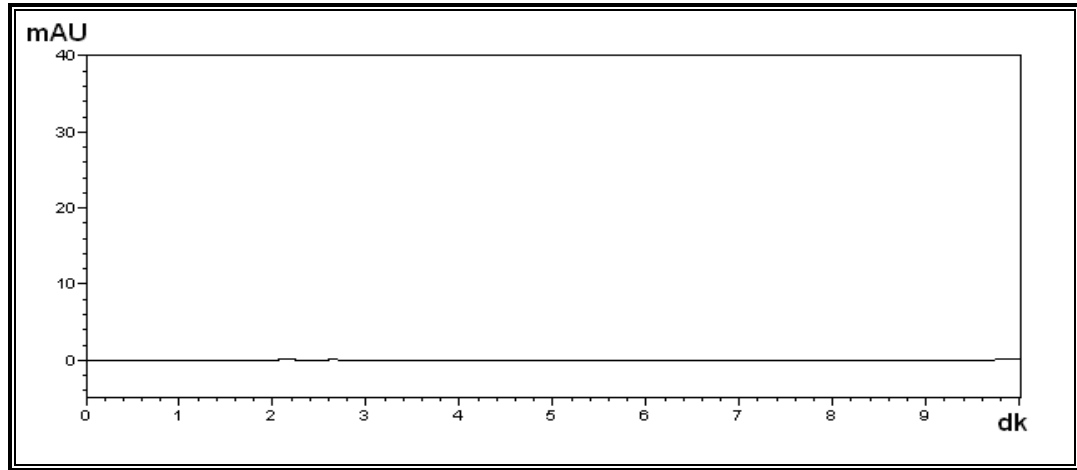
Seçicilik çalışması için KZ ile yapılan tüm çalışmalar göz önüne alınarak KZ'nin YBSK ile analiz edildiği tüm ortamlarda incelemeler yapılmıştır. Elde edilen kromatogramlar çözünürlük faz diyagramı çalışmaları, KZ kompleksleri ve vajinal supozituarlar üzerinde yapılan çalışmalar olmak üzere 3 grupta incelenmiştir.

Çözünürlük faz diyagramı çalışmalarına yönelik olarak; hareketli faz, KZ'nin hareketli fazdaki çözeltisi, KZ içermeyen β -CD/sulu çözeltisi ve KZ içeren β -CD/sulu çözeltisi analiz edilerek sistemin seçiciliği belirlenmeye çalışılmıştır. Hazırlanan çözeltilerin YBSK ile seçicilik analiz kromatogramları **Şekil 28-31**'de sunulmuştur.

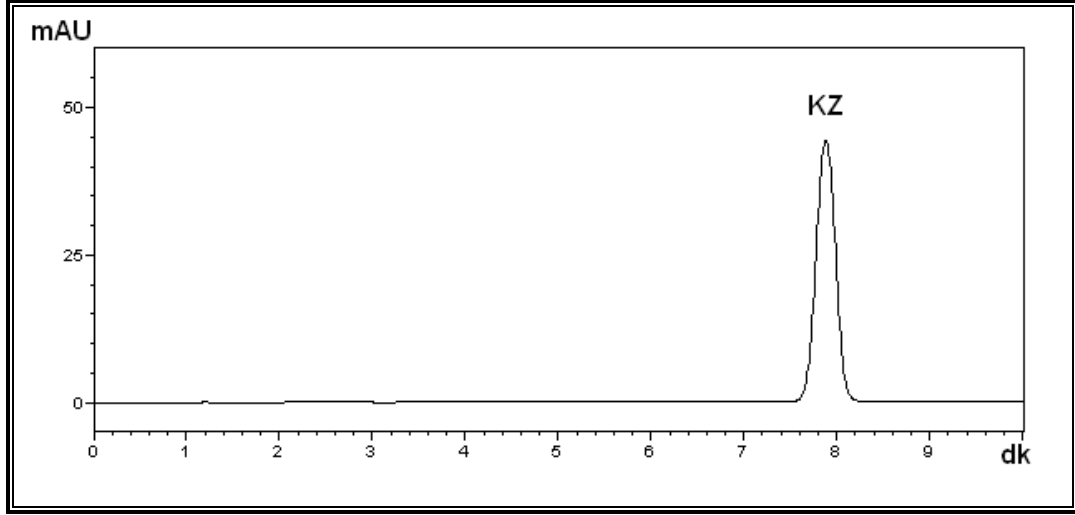
KZ kompleksleri üzerinde yapılan çalışmalara ait seçicilik incelemelerinde KZ'nin hareketli fazdaki çözeltisi, plasebo formülasyon ve KZ içeren kompleks ile YBSK ile analizinden elde edilen kromatogramlar **Şekil 32-34**'te verilmiştir.

KZ kompleksleri ile hazırlanan vajinal supozituarlar üzerinde yapılan çalışmalara ait seçicilik incelemelerinde KZ'nin hareketli fazdaki çözeltisi, plasebo vajinal supozituar ve KZ içeren vajinal supozituarın kromatogramları **Şekil 35-37**'de verilmiştir.

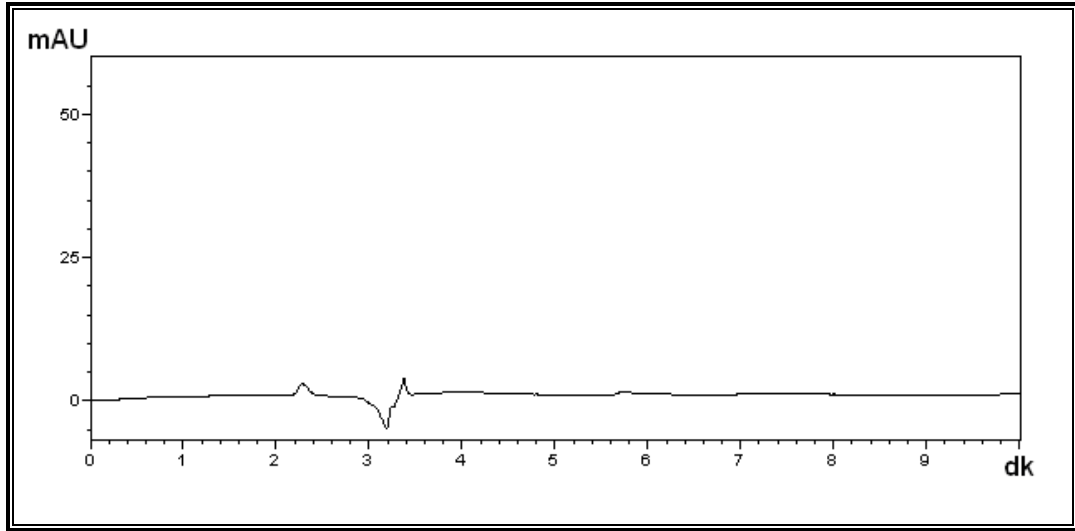
Gerçekleştirilen YBSK analizlerinde KZ içermeyen örneklerde KZ'nin alıkonma zamanında herhangi bir pik görülmezken, KZ içeren örneklerde KZ kolaylıkla belirlenmiştir. Çözeltilerde bulunan diğer maddelerden sistemin etkilenmemesi ile yöntemin seçici olduğu görülmüştür.



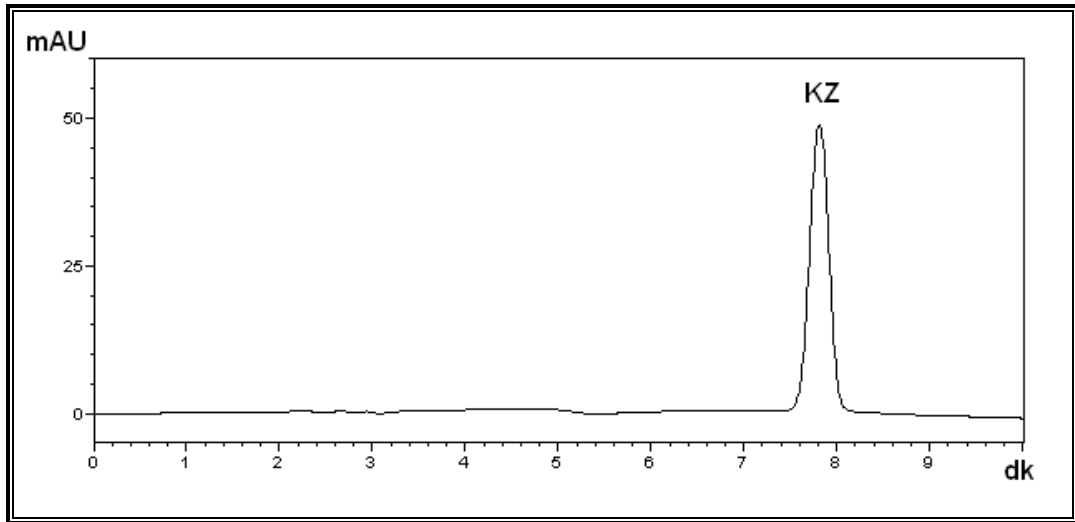
Şekil 28. Hareketli Faza ait Kromatogram



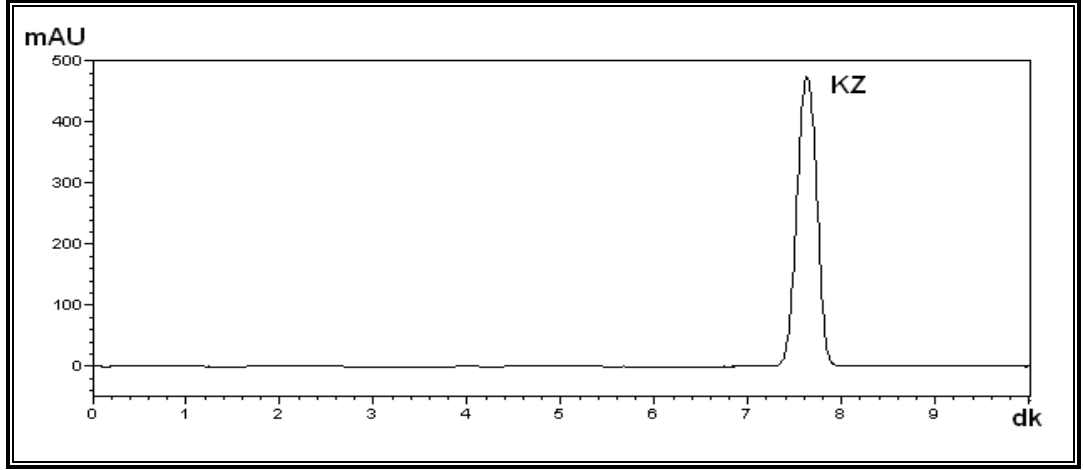
Şekil 29. Ketokonazol'un Hareketli Fazdaki Çözeltisine ait Kromatogram



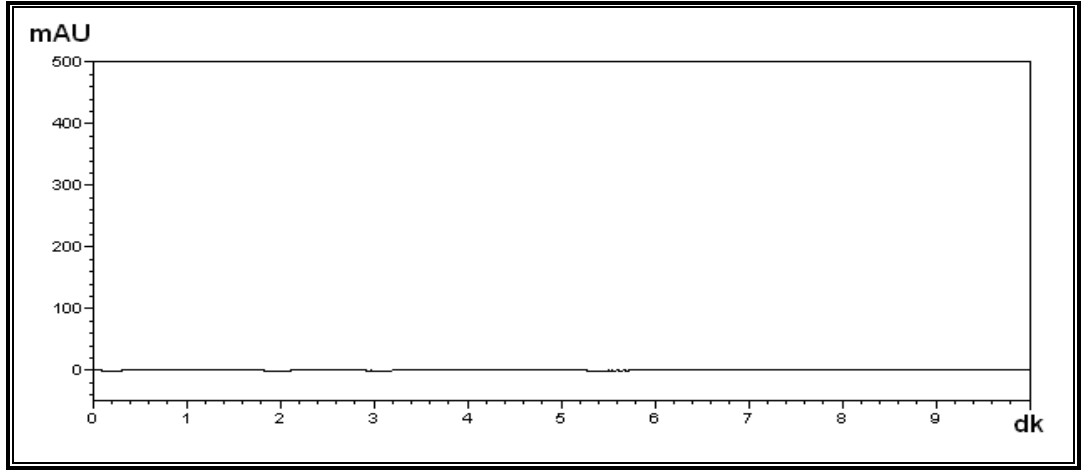
Şekil 30. β -Siklodekstrinin Sulu Çözeltisine ait Kromatogram



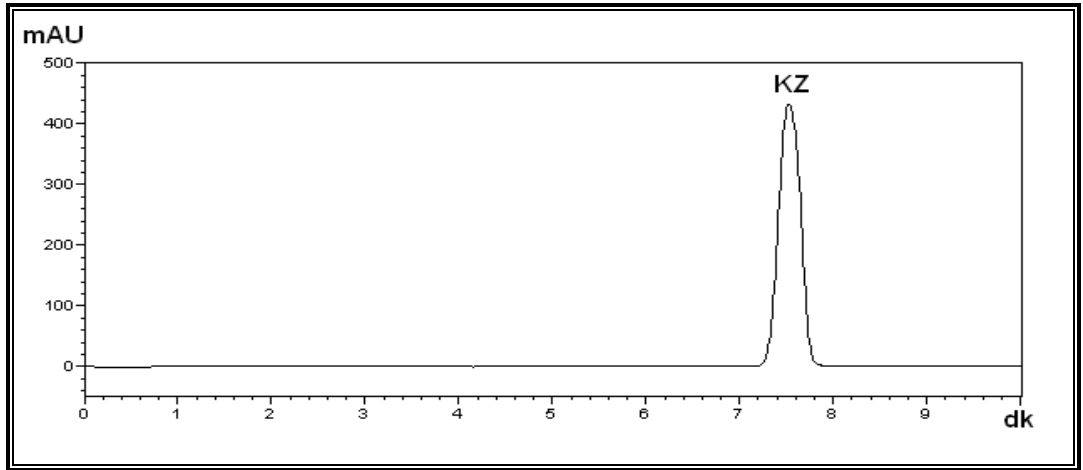
Şekil 31. Ketokonazol ve β -Siklodekstrinin Sulu Çözeltisine ait Kromatogram



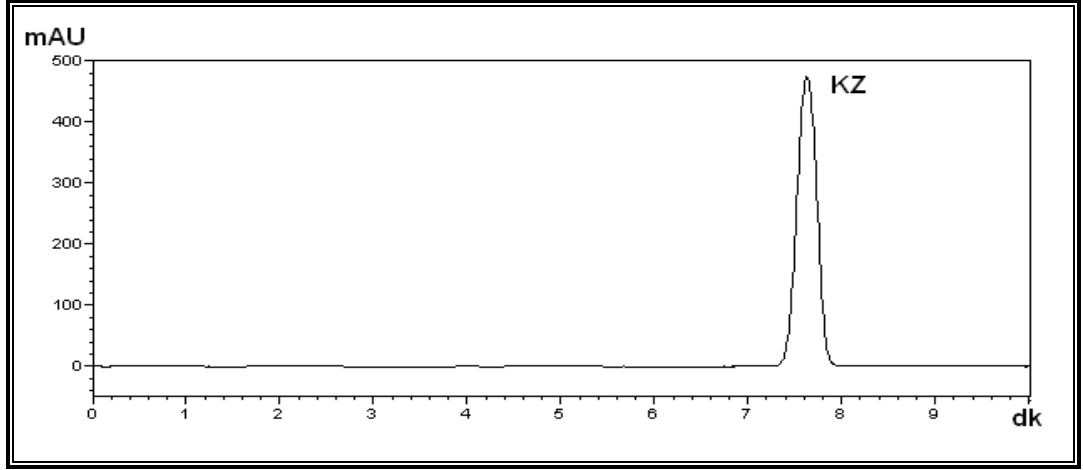
Şekil 32. Ketokonazol'un Hareketli Fazdaki Çözeltisine ait Kromatogram



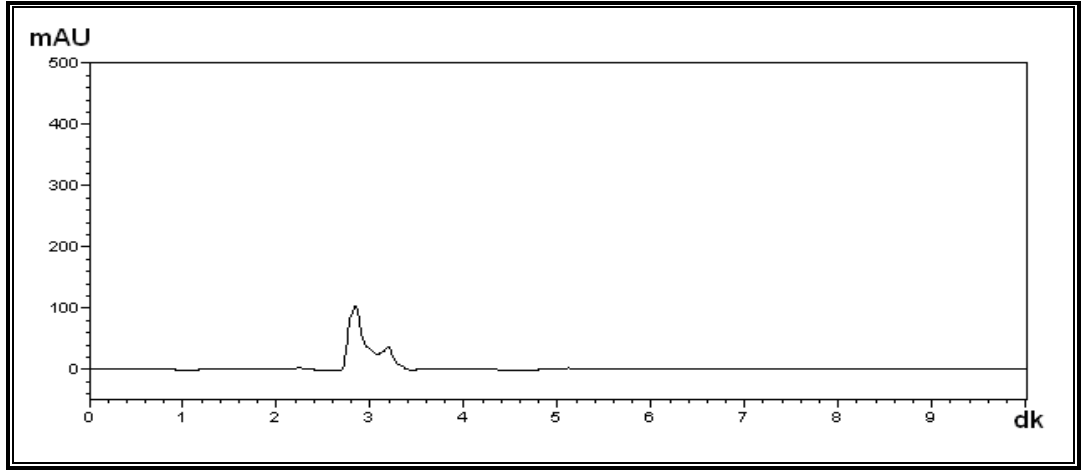
Şekil 33. Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Hazırlanan Plasebo Formülasyona ait Kromatogram



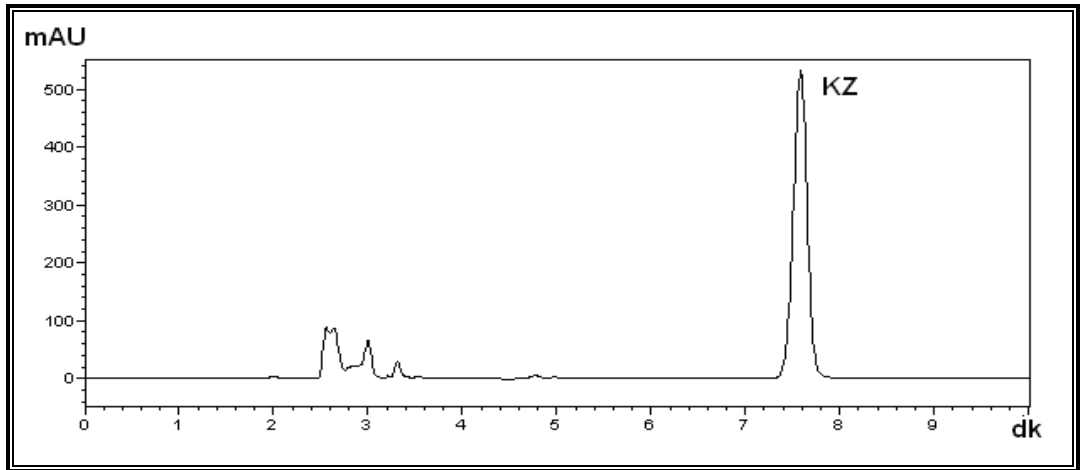
Şekil 34. Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Hazırlanan Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksine ait Kromatogram



Şekil 35. Ketokonazol'un Hareketli Fazdaki Çözeltisine ait Kromatogram



Şekil 36. Plasebo Vajinal Supozituvaya ait Kromatogram



Şekil 37. Ketokonazol İçeren Vajinal Supozituvaya ait Kromatogram

-Sistem Uygunluk Testleri

Ekipman bilgileri FZ için verilen bilgilerle aynıdır. Pik morfolojisi ile ilgili olarak YBSK cihazının yazılımı kullanılarak hesaplanmış olan N değeri 6171.367 T değeri 1.031'dir. Bulunan sonuçlarda $N > 2000$ ve $T \leq 2.0$ olması nedeniyle uygun görülmüştür (USP 31, 2008).

-Kararlılık

İTK ile yapılan kararlılık incelemelerine ait kromatogram **Şekil 21**'de sunulmuştur. 6-11 numaralarında yer alan tüm lekeler için R_f değerlerinin (0.31) referans ile uyumlu olması hazırlama yöntemlerinden kaynaklanan kararlılık ile ilgili bir problemin mevcut olmadığını göstermiştir.

β-Siklodekstrin ile Yapılan Çalışmalar

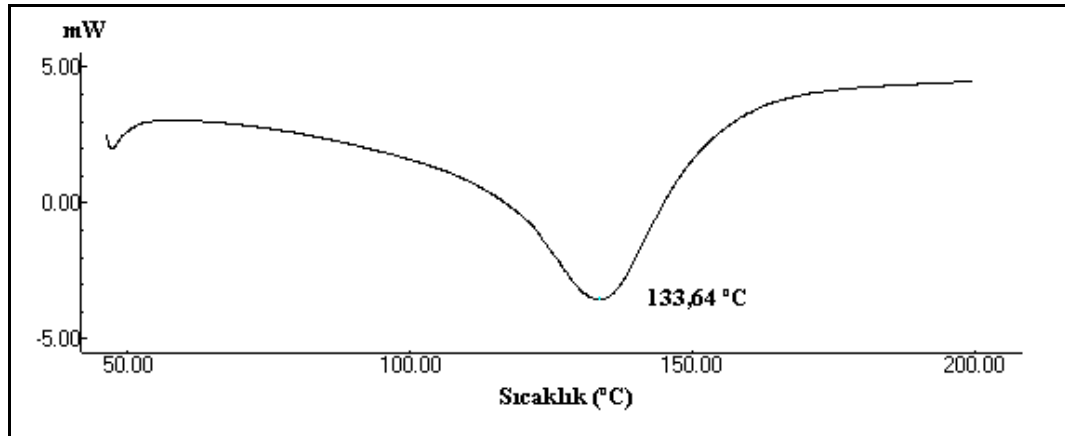
Erime Derecesi Tayini

β-CD'nin erime derecesi tayin cihazı kullanılarak gerçekleştirilen analizlerinde erimeden dekompoze olduğu gözlenmiştir. Dekompozisyon sıcaklığı 293.780 ± 1.670 (ort. $\pm$ SS) olarak bulunmuştur (n=3).

Termal Analiz

β-CD'nin DSC cihazı ile 50-200°C aralığında yapılan termal analizinde, tepe noktası 133.64°C olan bir endotermik pik görülmüştür, termogramı **Şekil 38**'de sunulmuştur.

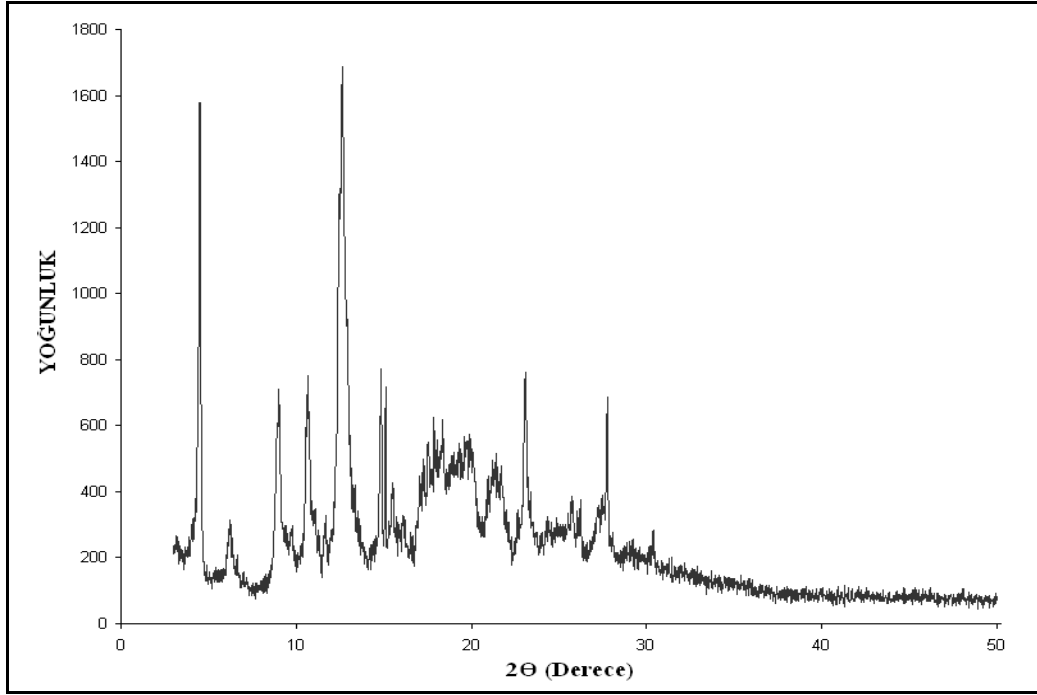
Literatürde β-CD'nin erime derecesi olarak 255-265°C aralığı verilmiştir (Kibbe, 2000). Erime derecesi tayin cihazı ile yapılan analizlerde erime derecesi olarak belirtilen derecelere daha ulaşmadan 200°C'nin üzerinde dekompozisyon görülmüştür. Benzer durum DSC'de de gözlemlendiği için, DSC'deki çalışma aralığı 50-200°C aralığında tutulmuştur. Maddenin yüksek sıcaklıklarda dekompoze olması nedeniyle elde edilen yaygın pikin dehidratasyon aşamasındaki su kaybını gösteren endotermik bir pik olduğuna karar verilmiştir (**Şekil 38**).



Şekil 38. β-Siklodekstrin'in Termal Analizine ait Termogram

X-Işını Kırınım Analizi

β-CD'nin XRD profili **Şekil 39**'da sunulmuştur.

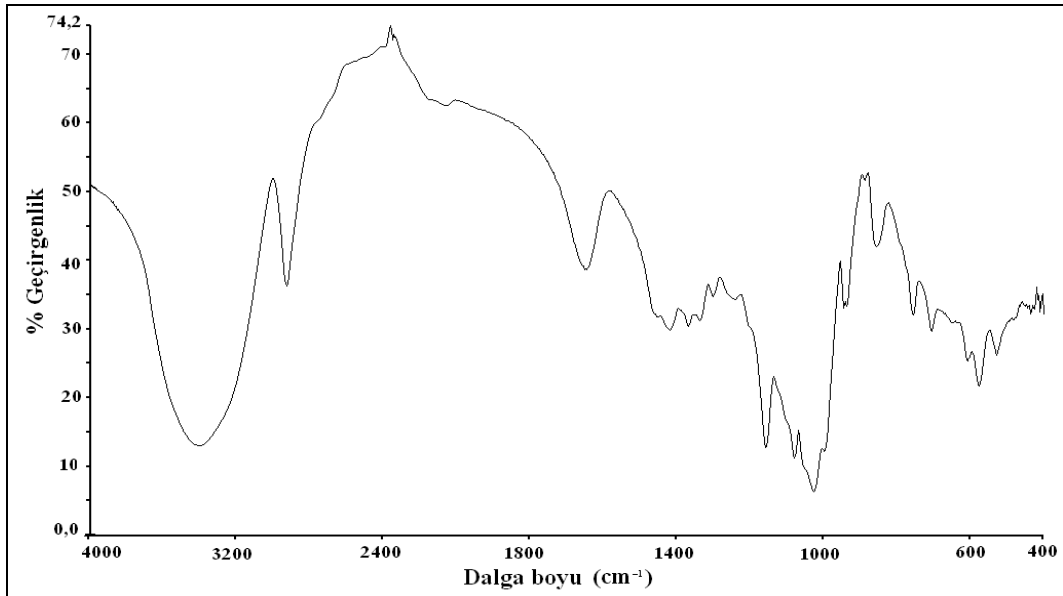


Şekil 39. β-Siklodekstrin'in X-Işını Kırınım Profili

β-CD'nin X-ışını kırınım analizinden elde edilen spektrumunda karakteristik β-CD pikleri gözlenmiştir. β-CD'nin 10-30° 2θ aralığında izlenen keskin pikler nedeniyle kristalin yapıya sahip olduğu görülmüştür (Şekil 39). Bu bilgi literatür ile uyumludur (Badr-Eldin ve ark., 2008).

İnfrared Analizi

β-CD'nin KBr ile hazırlanan diski kullanılarak elde edilen IR spektrumu Şekil 40'da sunulmuştur.

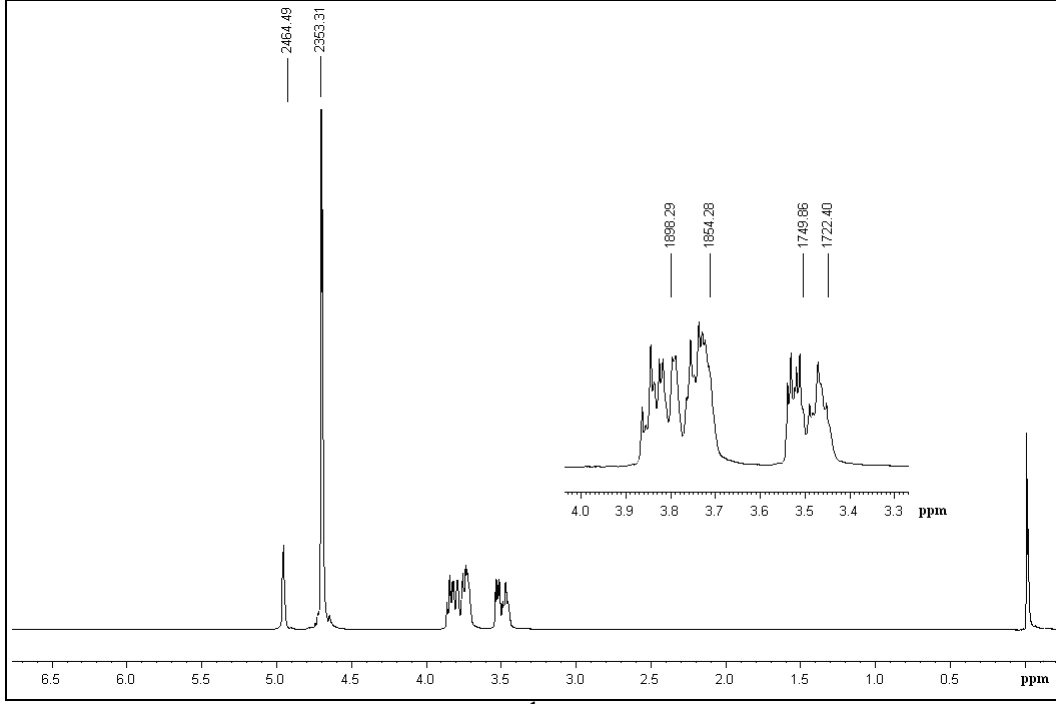


Şekil 40. β-Siklodekstrin'in İnfrared Analizi Spektrumu

β -CD'nin IR spektrumu incelendiğinde β -CD yapısında bulunan –OH gruplarına ait çok sayıda pik görülmüştür. Elde edilen spektrum literatür ile uyumludur (Al-Marzoqi ve ark., 2009).

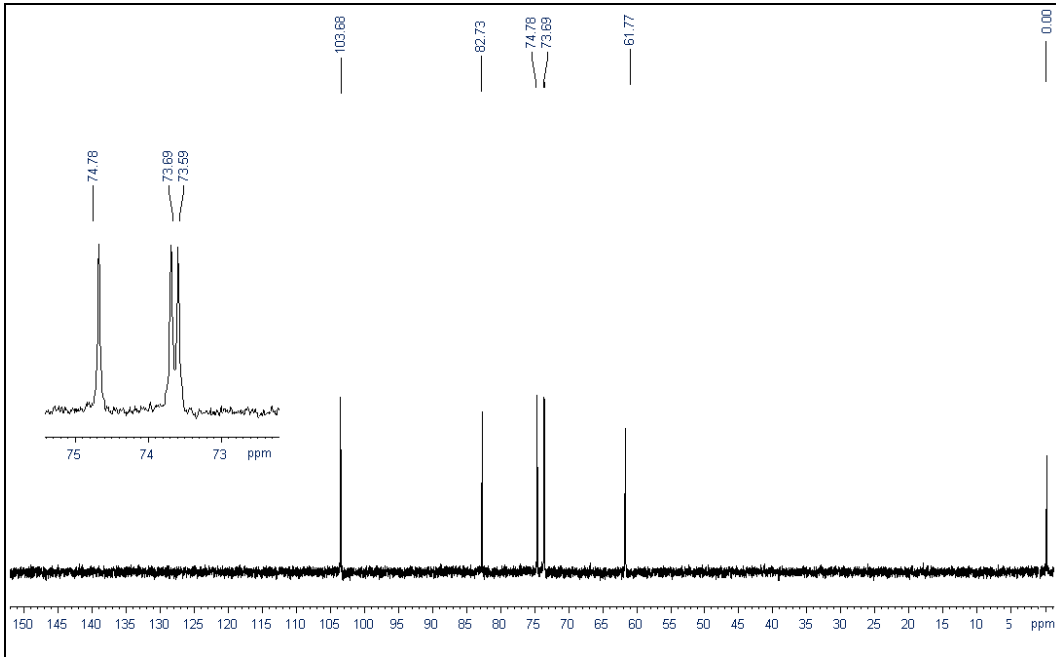
Nükleer Manyetik Rezonans Analizi

β -CD'nin ^1H -NMR analizine ait spektrumu **Şekil 41**'de sunulmuştur.



Şekil 41. β -Siklodekstrin'in ^1H -NMR Analizi Spektrumu

β -CD'nin ^{13}C -NMR analizine ait spektrumu **Şekil 42**'de sunulmuştur.



Şekil 42. β -Siklodekstrin'in ^{13}C -NMR Analizi Spektrumu

Yapılan analizler sonucunda elde edilen spektrumlarda karakteristik β -CD pikleri görülmüştür (Braga ve ark., 2003; Bilensoy ve ark., 2007).

β -CD'nin ^1H -NMR analizine ait spektrumunda, β -CD yapısında bulunan $-\text{CH}_2$ grubuna ait pikler 5-6 ppm aralığında, $-\text{CH}$ gruplarına ait pikler 3-4 ppm aralığında görülmektedir.

β -CD'nin ^{13}C -NMR analizine ait spektrumunda, β -CD yapısında bulunan glukopiranoz ünitesine ait pikler görülmektedir. 60-105 ppm aralığında (103.68, 82.73, 74.78, 73.69, 73.59 ve 61.77 ppm'de olmak üzere) 6 adet karbon piki yer almaktadır.

Formülasyon Çalışmaları

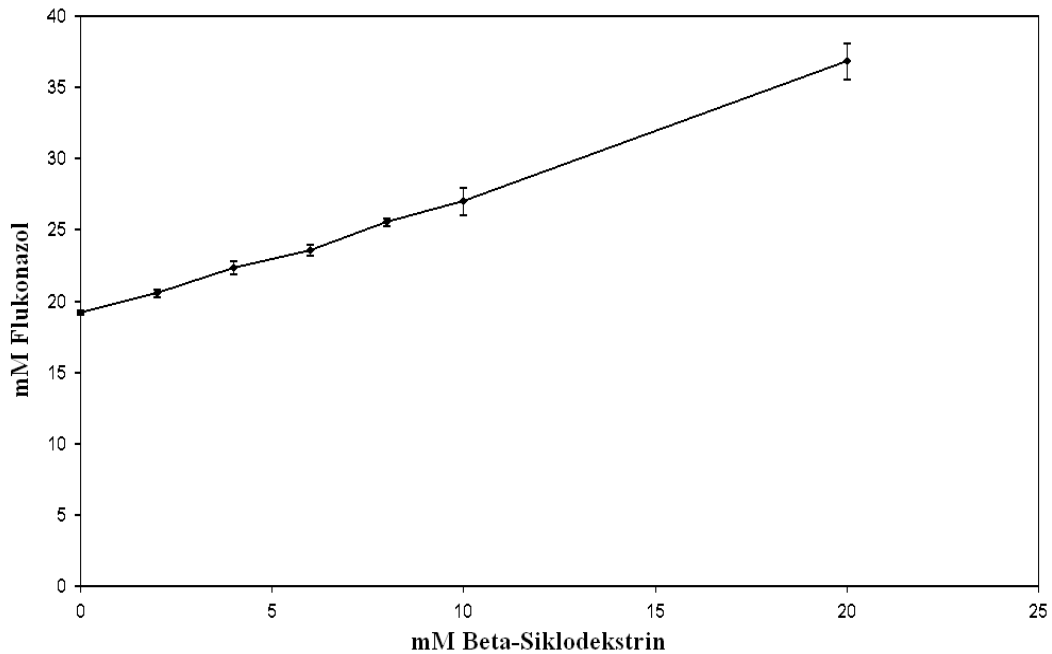
FZ ve β -CD Üzerinde Çözünürlük Faz Diyagramı Çalışmaları

Çözünürlük Faz Diyagramı için Denge Süresinin Belirlenmesi

Yöntemler kısmında anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen deneyler sonucu elde edilen sonuçlarda; FZ çözünürlüğünün çalkalama süresi ile ilişkili olarak artış göstermesi ancak 4 günde en yüksek çözünürlük değerine ulaşması ve bu süreden sonra da artış göstermemesi nedeniyle, çözünürlük dengesine ulaşmak için 4 günlük sürenin FZ için yeterli olduğuna karar verilmiştir. Ayrıca bu çalışmada test edilen 3 çalkalayıcıdan en yüksek ve en tutarlı değerlerin vibrasyonlu yatay çalkalayıcı ile elde edilmesi nedeniyle, ileriki çalışmalarda bu çalkalayıcı kullanılmıştır.

Çözünürlük Faz Diyagramının Saptanması

Yöntemler kısmında anlatıldığı şekilde elde edilen FZ çözünürlük faz diyagramı **Şekil 43**'te sunulmuştur.



Şekil 43. Flukonazol'un Çözünürlük Faz Diyagramı

Farklı β -CD konsantrasyonlarına karşılık FZ konsantrasyonu grafiğe geçirildiğinde elde edilen çözünürlük diyagramının Higuchi'nin çözünürlük faz diyagramlarından A_L tipi diyagrama uygunluk gösterdiği tespit edilmiştir (**Şekil 43**). A_L tipi diyagramla ilişkili olarak, komplekslerin hazırlanmasında 1:1 molar oranda FZ: β -CD kullanılmasına karar verilmiştir (Higuchi ve Connors, 1965).

FZ/ β -CD Kompleksleri Üzerinde Çalışmalar

Verim Değeri

FZ/ β -CD kompleksleri için hesaplanan verim değerleri **Çizelge 20**'de sunulmuştur.

Çizelge 20. Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerine ait Verim Değerleri

Kompleks Kodu	% Verim		Ortalama Verim
	(1.seri)	(2.seri)	
F-FD	64.29	75.09	69.69
F-SD	34.25	-	-
F-CE	93.14	94.73	93.94
F-KN	93.93	94.31	94.12

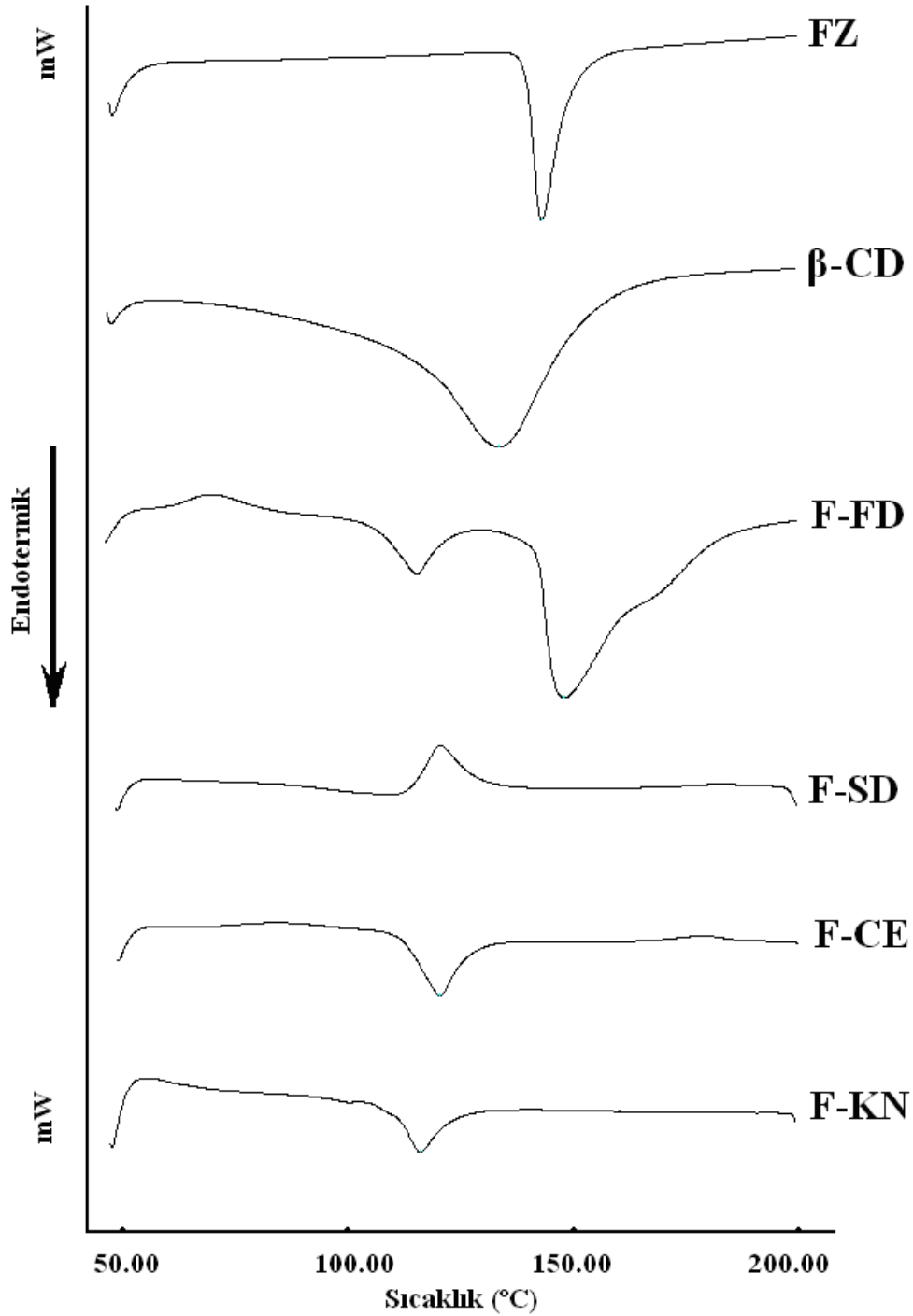
Elde edilen verim değerleri incelendiğinde yoğurma ve birlikte buharlaştırma yöntemleri ile hazırlanan komplekslerin verim değerlerinin yüksek ve seriler arası farkın da düşük olduğu görülmektedir. Dondurarak kurutma yönteminde denge süresince çalkalamadan sonra çözünmeden kalan FZ'nin süzülerek ortamdan ayrılması nedeniyle verim daha düşüktür. Püskürterek kurutma yöntemi ise en düşük verime sahiptir. Çok ince partiküller şeklinde elde edilen ürünün cihazın cam bölmelerinden toplanmasındaki zorluğun verim düşmesine neden olması yanında, bulunan değer literatürde de görülmektedir (Bittner ve ark., 1998).

Termal Analizleri

FZ/ β -CD komplekslerinin DSC analizlerine ait termogramlar **Şekil 44**'te sunulmuştur.

Maddelerin kristal yapıları ve oluşabilecek olası polimorfizm DSC ile saptanabilmektedir. Ek olarak inklüzyon kompleksleşmesinin bazı kanıtları da termal analiz ile elde edilebilmektedir. Misafir molekül CD boşluğuna veya kristal örgüsüne yerleştiğinde; erime, kaynama veya süblimasyon noktası genel olarak farklı bir sıcaklığa kayar veya CD'nin dekompoze olduğu sıcaklık aralığında kaybolur (Cabral Marques ve ark., 1990). Bu nedenle kullanılan madde ve hazırlanan katı komplekslerin termal incelemelerinde, diğer termal analiz yöntemlerine pek çok üstünlükleri olan diferansiyel taramalı kalorimetre kullanılmış, tüm analizlerde örneklere bir ısıtma programı uygulanmıştır.

Termogramlar incelendiğinde tüm katı komplekslerde FZ'ye ait endotermik pikin kaybolduğu görülmektedir (**Şekil 44**). Termal analizlerde, ekzotermik veya endotermik bir pikin kaybolması veya yeni bir pikin ortaya çıkması, etkileşme ve/veya geçimsizlik olarak değerlendirilir (Bulut ve Dinçol, 1991). Komplekslerde etkin madde erime pikinin kaybolması, katı kompleksin amorf olmasına veya inklüzyon kompleksinin oluşmasına ve hatta her iki durumun geçerli olmasına bağlanabilir (Yazan ve Sumnu, 1994; Fernandes ve ark., 2002).



Şekil 44. Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerine ait Termogramlar

Benzer şekilde loratadin ile yapılan bir çalışmada kompleksleştirme işlemi sonrasında etkin madde erime pikinin kaybolması iki olasılıkla açıklanmıştır; örnek, hazırlama yöntemi sırasında amorflaşmıştır veya gerçek kompleks meydana gelmiştir (Nacsı ve ark., 2008).

F-FD katı kompleksinde FZ'nin erime piki mevcut olmamakla birlikte, diğerlerinden farklı olarak, 140-160°C aralığındaki sıcaklıklara yayılmış yayvan ve yeni bir pik ortaya çıkmıştır, bu pikin ortaya çıkmasının ise, literatürde aynı dondurarak kurutma yöntemi ile elde edilen benzer sonuçta oluşan gerçek inklüzyon kompleksinin erimesine bağlı olduğu düşünülmüştür (Castillo ve ark., 1999).

Tüm formülasyonlar için yapılan değerlendirmeler ayrıca IR, XRD ve NMR analizleri ile desteklenecektir.

Çözünürlüğün Saptanması

FZ/ β -CD komplekslerinin saf su ortamında 25°C'de gerçekleştirilen çözünürlük değeri sonuçları **Çizelge 21**'de gösterilmiştir.

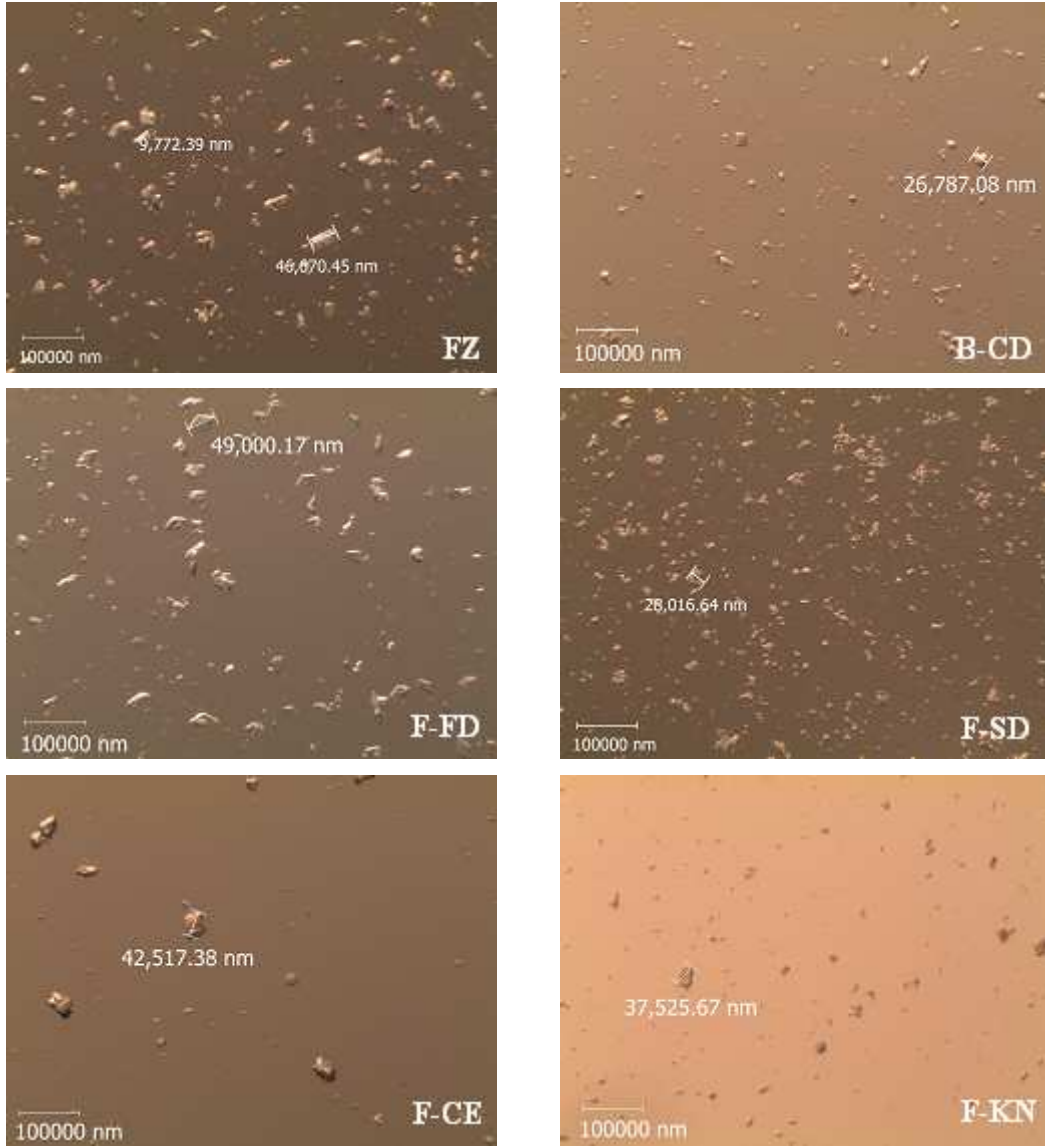
Çizelge 21. Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin Saf Sudaki Çözünürlük Değerlerine ait Bulgular

Kompleks Kodu	Ortalama Çözünürlük (mg.mL ⁻¹)	± SS	± SH
F-FD	8.359	0.027	0.016
F-SD	7.806	0.062	0.036
F-CE	7.883	0.518	0.299
F-KN	8.270	0.116	0.067

FZ'nin sudaki çözünürlük değeri (5.55 mg.mL⁻¹) ile bulunan değerler karşılaştırıldığında hazırlanan tüm komplekslerde FZ çözünürlüğünün artmış olduğu görülmektedir. Kompleks oluşumu ile çözünürlükte artış gözlenmesi literatürde sık görülen ve beklenen bir sonuçtur (Moyano ve ark., 1997; Kang ve ark., 2002; Al-Marzoqui ve ark., 2009).

Parçacık Şekli Analizleri

Stereomikroskop ile yapılan parçacık şekli analizlerine ait görüntüler **Şekil 45**'te sunulmuştur. Elde edilen sonuçlardan, hazırlama sonrası şekilsel olarak birbirine benzer ve iyi dağılım gösteren ürünler elde edilmiştir. Ayrıca formülasyon sonrası partikül büyümesinin izlenmemesi de olumlu bir bulgudur.

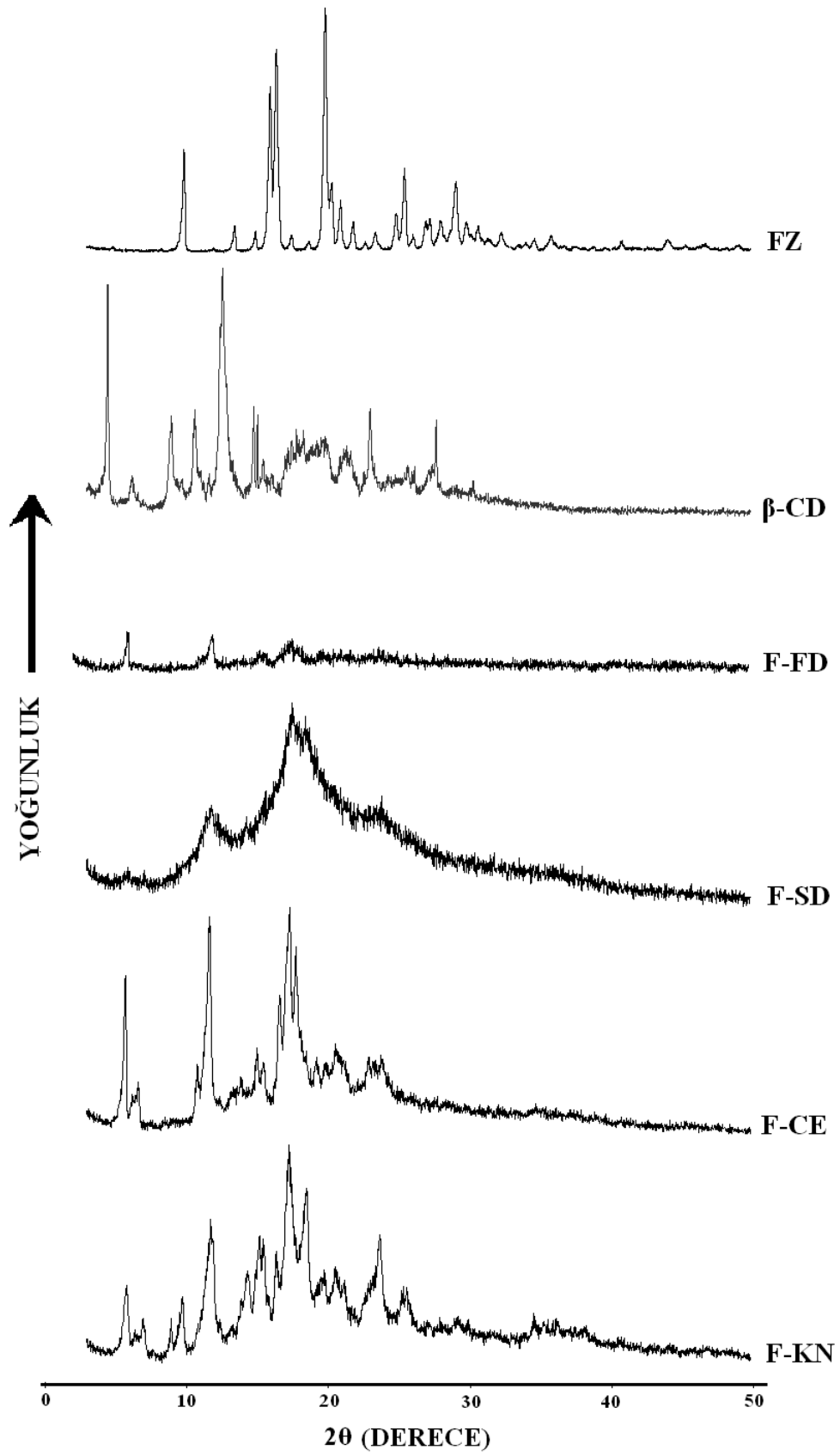


Şekil 45. Flukonazol ve Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin Stereomikroskop Görüntüleri

X-Işını Kırınım Analizleri

FZ komplekslerinin XRD profilleri **Şekil 46'**da sunulmuştur.

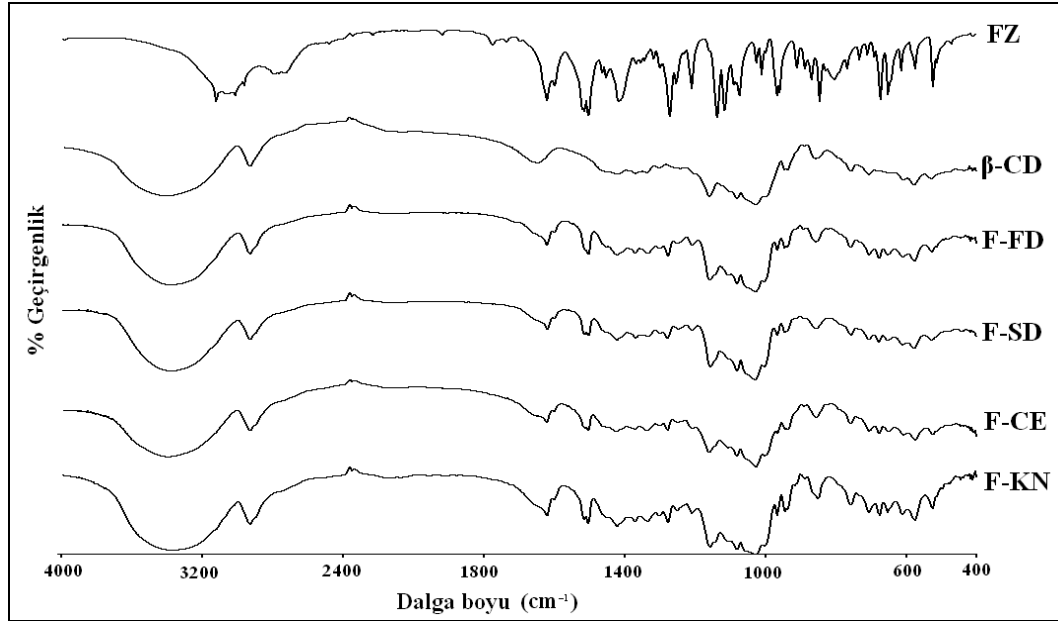
Şekil 46'daki FZ katı komplekslerinin X-ışını kırınım analizleri incelendiğinde, F-FD, F-SD ve F-CE kodlu formülasyonlarda FZ'nin karakteristik piklerinin tamamının kaybolduğu görülmüştür. Literatürde bu üç formülasyonda da olduğu gibi, kristalinitenin kaybolduğu bir çalışmada bu sonuç inklüzyon kompleksi oluşumuna bir kanıt olarak değerlendirilmiştir. Ancak diğer taraftan, dondurarak ve püskürterek kurutma proseslerini takiben ilacın amorfizasyonu bilinen bir gerçektir. X-ışını verileri ise böyle durumlarda yapının gerçek inklüzyon kompleksi mi yoksa amorf bileşenlerin homojen dispersiyonu mu olduğunu ayırt edememektedir (Redenti ve ark., 1996). Bununla birlikte, DSC analiz sonuçları göz önüne alındığında FZ erime pikinin kaybolması ile bu X-ışını kırınım verileri desteklendiğinde inklüzyon kompleksi olduğu düşünülebilir.



Şekil 46. Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin X-Işını Kırınım Analizleri

İnfrared Analizleri

FZ komplekslerinin KBr ile hazırlanan diski kullanılarak elde edilen IR spektrumları **Şekil 47'**de sunulmuştur.



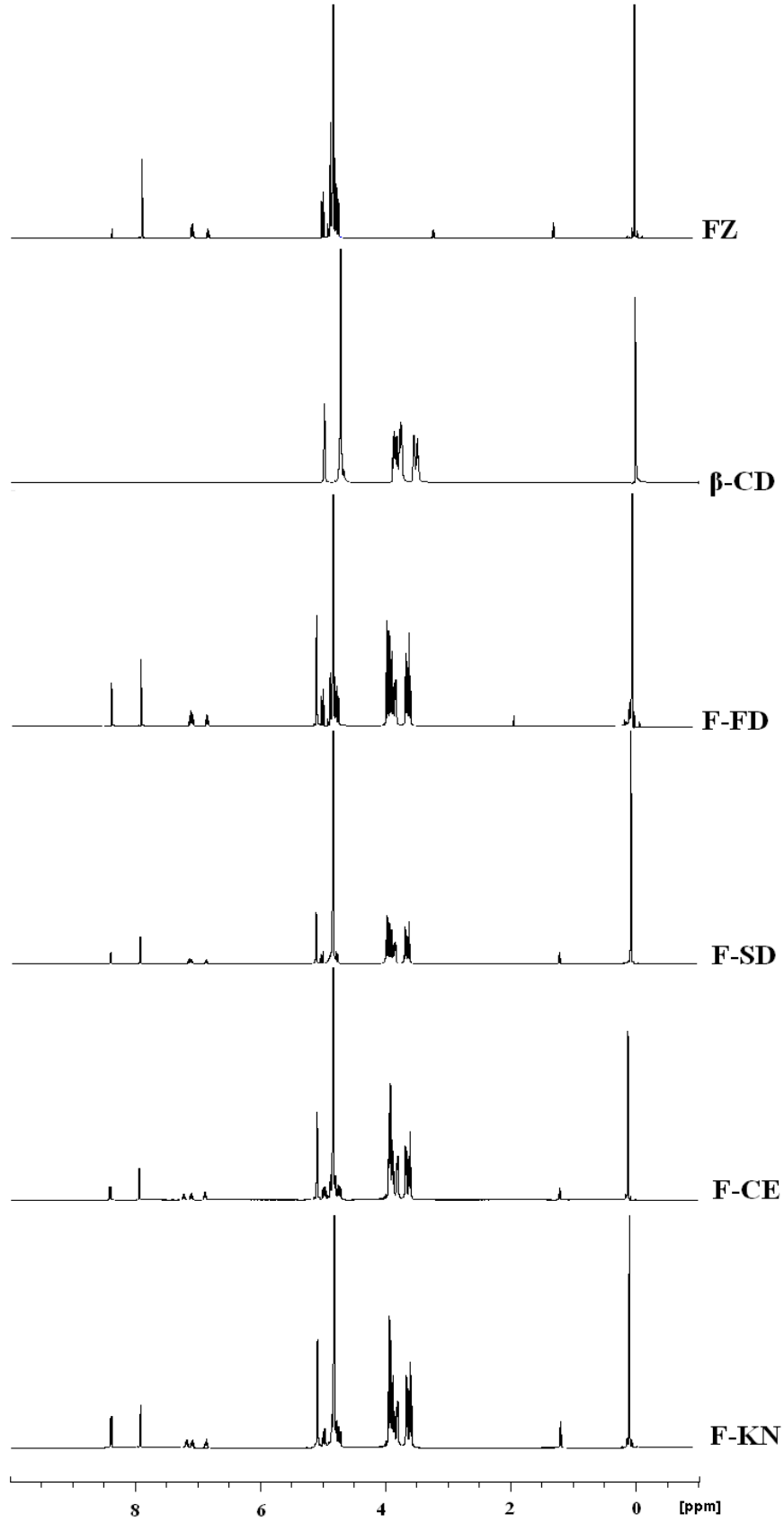
Şekil 47. Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin İnfrared Analizi Spektrumları

Şekil 47'deki saf FZ, β-CD ve FZ/β-CD komplekslerine ait IR spektrumları birlikte değerlendirildiğinde, genel olarak tüm komplekslerdeki FZ piklerinde saf maddeye oranla şiddet azalması mevcuttur. Hatta FZ'nin 1137 cm⁻¹'deki piki β-CD'nin –OH piki ile örtülerek neredeyse kaybolmuştur. Kompleksler arasında F-KN'de FZ'ye ait pik şiddetleri en yüksektir. Bunun yanında F-CE'deki 968 ve 1503 cm⁻¹'deki pikler ve F-FD'deki 1503 cm⁻¹'deki pik şiddetleri diğer komplekslere göre daha düşük şiddete sahiptir. 1625, 1624 cm⁻¹ gibi –CN grubuna ait absorpsiyon bantlarının şiddetindeki zayıflamanın –CN grubunun siklodekstrinin içine yerleştiğine ilişkin bir sonuç verdiği literatürde belirtilmiştir (Jianbin ve ark., 2002). Benzer durum çalışmamızda 1621 ve 1503 cm⁻¹'deki C=N piklerinde de mevcut olduğu için literatür ile uyumludur.

Nükleer Manyetik Rezonans Analizleri

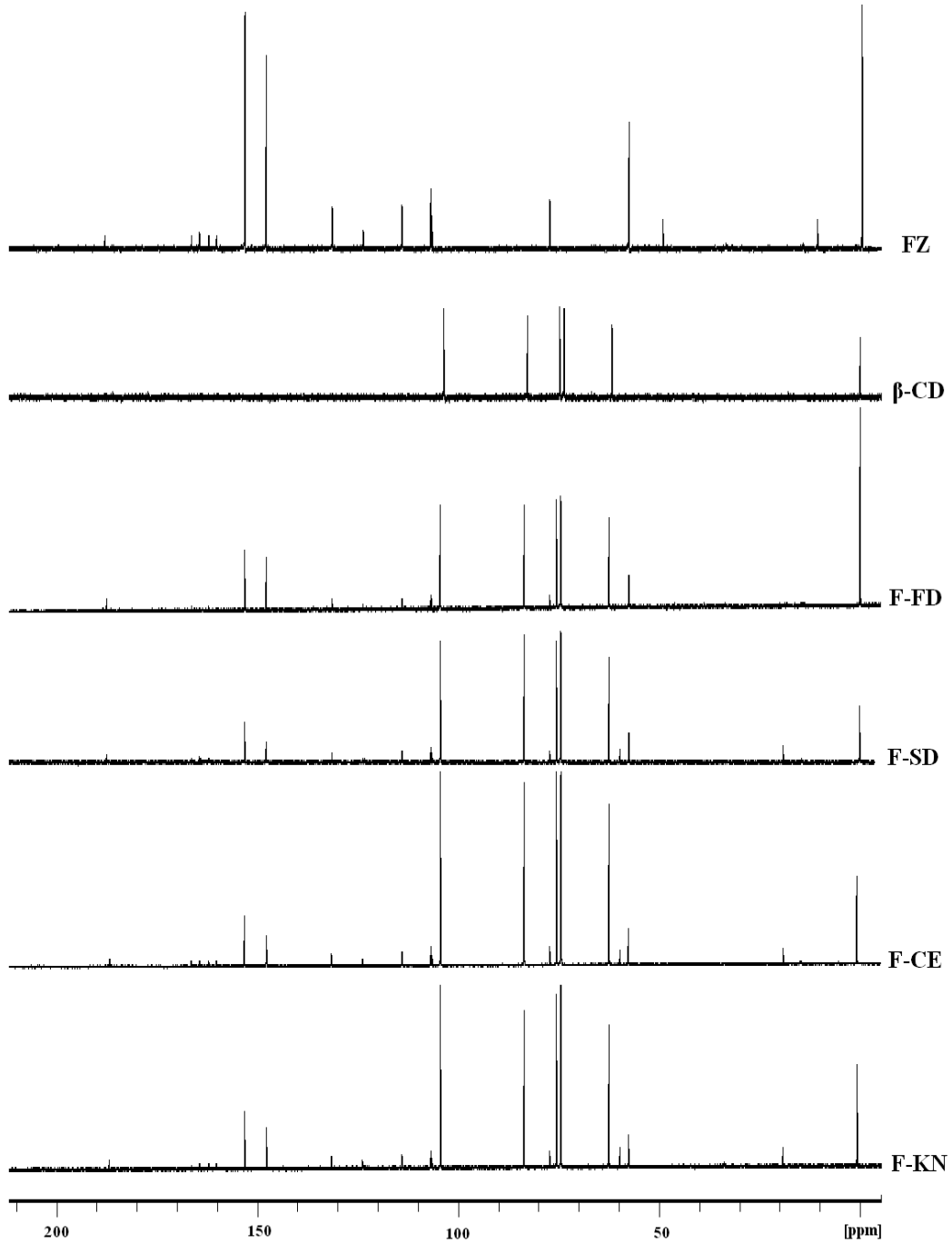
FZ/β-CD komplekslerinin ¹H-NMR analizine ait spektrumlar **Şekil 48'**de sunulmuştur.

Şekil 48'de yer alan FZ komplekslerine (F-FD, F-SD, F-CE ve F-KN) ait spektrumlar değerlendirildiğinde, elde edilen spektrumlarda hem FZ hem de β-CD'ye ait karakteristik proton pikleri görülmektedir. Kompleks spektrumlarında β-CD'ye ait proton piklerinde F-FD, F-SD, F-CE ve F-KN komplekslerinde sırasıyla 0.078, 0.049, 0.026 ve 0.028 ppm değerinde kaymalar görülmüştür. β-CD protonlarındaki kayma değerlerinin artması, yapının elektron açısından zengin grupları içermesinin sonucudur. Bu nedenle FZ yapısındaki fenil ve triazol gruplarının β-CD boşluğundaki protonlar ile etkileştiği ileri sürülmüştür (Upadhyay ve Kumar, 2009).



Şekil 48. Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin ^1H -NMR Analizi Spektrumları

FZ/ β -CD komplekslerinin ^{13}C -NMR analizine ait spektrumlar **Şekil 49**'da sunulmuştur.



Şekil 49. Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin ^{13}C -NMR Analizi Spektrumları

Şekil 49'da sunulan FZ, β -CD ve FZ/ β -CD komplekslerine ait spektrumlar değerlendirildiğinde, FZ kompleksleri spektrumlarında hem FZ hem de β -CD'ye ait karakteristik pikler görülmektedir. FZ yapısında bulunan -F1 süstitüe benzen halkasına ait piklerde görülen kayma değerleri FZ ile β -CD arasındaki etkileşimin göstergesidir (Wen ve ark., 2004; Misiuk ve Zalewska, 2009).

Etkin Madde Miktar Tayini

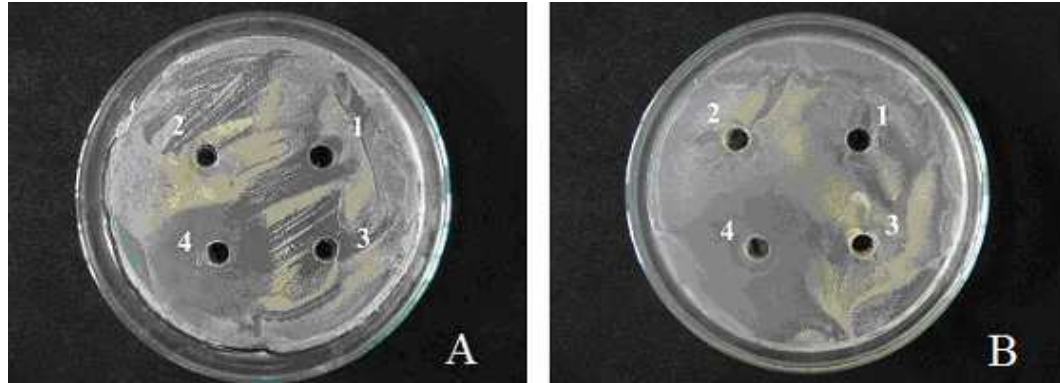
FZ içeren komplekslerde, YBSK yöntemi ile yapılan tayinlerden elde edilen sonuçlar **Çizelge 22**'de sunulmuştur.

Çizelge 22. Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerine ait % Yüklenen Etkin Madde Miktarlarının Ortalamaları ve Standart Sapma Değerleri (n=3 –her bir seri için-)

Kompleks Kodu	% Yüklenen FZ Miktarı	
	1.seri	2.seri
F-FD	25.466 ± 0.734	25.382 ± 0.180
F-SD	22.219 ± 0.264	-
F-CE	24.528 ± 0.786	23.008 ± 0.183
F-KN	21.981 ± 0.741	22.952 ± 0.283

Antifungal Etkinlik Çalışmaları

YÖNTEMLER bölümünün ilgili kısmında anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen çalışma sonunda izlenen SGA besiyerine ait görüntüler **Şekil 50**'de, ölçülen değerler ise **Çizelge 23**'de sunulmuştur.



Şekil 50. Flukonazol ve Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerine ait İnhibisyon Zonları
FZ (1), F-CE (2), F-KN (3), F-FD (4)

A: 4 mg FZ içeren uygulama B: 8 mg FZ içeren uygulama

Çizelge 23. Flukonazol ve Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin *Candida albicans* Üzerinde Oluşturdukları İnhibisyon Zonları (n=4)

Kompleks Kodu	Zon Çapı (mm)	
	Uygulanan Etkin Madde Miktarı: 4 mg	Uygulanan Etkin Madde Miktarı: 8 mg
FZ	0	0
F-FD	21.75 ± 2.36 A	28.75 ± 1.50 A
F-CE	0	0
F-KN	0	0

(A: Azaltma)

Şekil 50 ve **Çizelge 23** değerlendirildiğinde, saf FZ, F-CE ve F-KN'nin belirtilen konsantrasyonlarda *Candida albicans* üzerine antifungal etkinliklerinin olmadığı görülmektedir. Saf FZ, F-CE ve F-KN'de uygulanan etkin madde miktarları literatürden alınmış olup (Marangon ve ark., 2004), çalışmanın devamında miktarın artırılmasına ihtiyaç duyulduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 23 incelendiğinde yalnızca F-FD kodlu kompleksin 4 mg'ında 21.75 mm, 8 mg'ında da 28.75 mm zon çapına sahip azaltıcı bir etkinin tespit edildiği görülmektedir. "Azaltıcı etki" zon içerisindeki mikroorganizmaların tamamının ölmediğini, yalnızca sayıca azalmanın meydana geldiğini belirtmek için kullanılmış bir ifadedir. Saf FZ'de gözlenmeyen bu etkinin FZ'nin çözünürlük değerinin en fazla artmış olduğu bu komplekste ortaya çıkması, FZ'nin fizikokimyasal özelliğindeki değişime ek olarak farmakolojik etkide de değişimin söz konusu olabileceğini düşündürmüştür.

FZ Kompleksleri ile Hazırlanan Kapsüller Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Ağırlık Sapması

Saf FZ ve FZ/ β -CD kompleksleri ile 50 mg doz içerecek şekilde doldurulan kapsüllerin ve FZ piyasa kapsülünün ortalama ağırlıkları, standart sapmaları ve standart hataları **Çizelge 24**'te sunulmuştur. Ayrıca boş ve dolu kapsüllere ait görüntüler **Şekil 51**'de yer almaktadır.



Şekil 51. Boş Selüloz Kapsül Kabuğuna ve Saf Flukonazol İçeren Selüloz Kapsüllere ait Görüntüler

Çizelge 24. Flukonazol ve Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Sert Selüloz Kapsüllerin ve Flukonazol Piyasa Kapsülünün (Fluzole®) Ağırlık Değerleri (n=6)

Formülasyon Kodu	Ortalama ağırlık (g)	$\pm$ SS	$\pm$ SH
FZ-Cap	0.138	0.002	0.0008
F-FD-Cap	0.285	0.001	0.0004
F-SD-Cap	0.315	0.002	0.0008
F-CE-Cap	0.306	0.014	0.0060
F-KN-Cap	0.318	0.003	0.0012
Fluzole®	0.168	0.003	0.0012

Çözünme Hızı Testleri

Çözünme hızı çalışmaları sonucunda elde edilen veriler **Çizelge 25**'te, elde edilen çözünme hızı profilleri **Şekil 52**'de sunulmuştur.

Bu çalışma sırasında çözünme ortamına konulan piyasa kapsülünün 20.dk'da, toz FZ ve FZ/ β -CD kompleksleri ile doldurulan kapsüllerin 10.dk'da tamamen dağıldıkları görülmüştür. Kullanılan sert selüloz kapsül kabuğunun, piyasa kapsül kabuğuna göre daha hızlı çözünmesi nedeniyle; piyasa preparatından 20.dk'da % 11 FZ salınırken, FZ ve FZ/ β -CD kompleksleri ile doldurulan kapsüllerde 20.dk % 78-89 oranında değişen miktarlarda FZ salınmıştır.

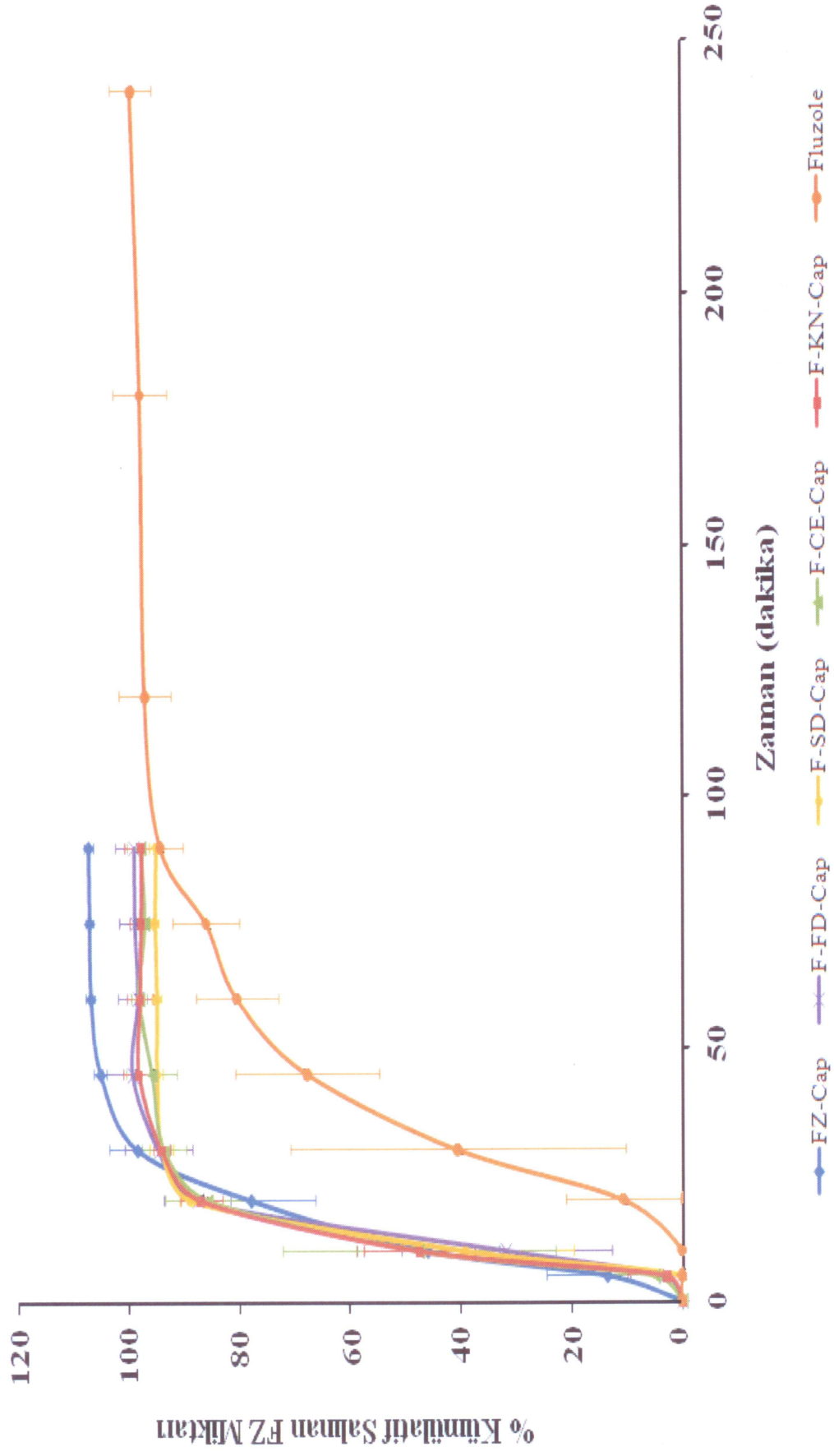
Hazırlanan kapsüllerin tamamı birlikte değerlendirildiğinde, FZ-Cap'ın 45.dk'da % 105'e, F-KN-Cap, F-CE-Cap, F-SD-Cap ve F-FD-Cap'ın aynı sürede sırasıyla % 98, % 96, % 95 ve % 99 etkin madde salımına ulaştığı görülmektedir. Piyasa preparatının % 99 etkin madde salımına ulaşması için 240 dk zaman geçmiştir.

Bu sonuçlar göz önüne alındığında piyasa preparatından FZ salımının, hazırlanan kapsül formülasyonlarına göre daha yavaş gerçekleştiği açıktır. Kapsül formülasyonlarımızdan piyasa preparatına göre daha hızlı etkin madde salımı, kompleksler üzerinde önceden tespit ettiğimiz FZ'nin saf sudaki çözünürlük artışı nedeniyle beklenen bir sonuçtur. Paralel olarak saf FZ ile hazırlanan FZ-Cap formülasyonunun da FZ'nin işlem görmemiş olması nedeniyle piyasa preparatına benzer hatta daha yavaş salım vermesi beklenmiş ancak sonuç böyle olmamıştır. FZ-Cap ve FZ kompleksleri ile hazırlanan kapsüllerin birbirine yakın sonuç vermesi ise şöyle açıklanmıştır. Kullanılan tüm kapsüllerin aynı numaraya sahip olması nedeniyle 50 mg saf FZ'nin bulunduğu FZ-Cap formülasyonunda kullanılan FZ deneyin yapıldığı ortam sıvısında kolayca dağılmış; buna karşılık 50 mg FZ içermesi için, kompleksler ile kapsüllere ~ 220 mg kompleks kütlesi konulmuş ve yerleştirilerek doldurulmuş olan kütlenin çözünme ortamında dağılması ve çözünmesi saf FZ'ye göre güçleşmiştir. Ayrıca formülasyonlarımızdaki standart sapma değerlerinin piyasa preparatına göre daha küçük değerlerde olması, birbirine yakın sonuçlar nedeniyle de güvenilirliği artırmıştır.

İstatistiksel açıdan çözünme profillerinin "yeterince yakın" olup olmadığının değerlendirilmesine yönelik olarak, resmi otoritelerce de kabul edilen iki yöntem geliştirilmiştir: f_1 (fark etkeni) ve f_2 (benzerlik etkeni) (Ağabeyoğlu, 2007).

Çizelge 25. Flukonazol ve Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Sert Setüloz Kapsüllerin ve Flukonazol Piyasa Kapsülünün Çözünme Verileri (n=6)

Örnek Zamanı (dakika)	% Kümülatif Salınan FZ Miktarı (Ort. $\pm$ SS)					
	Toz FZ-Cap	F-FD-Cap	F-SD-Cap	F-CE-Cap	F-KN-Cap	Fluzole®
5	13.643 $\pm$ 10.929	3.268 $\pm$ 6.384	0 $\pm$ 0	4.979 $\pm$ 8.575	2.903 $\pm$ 7.111	0 $\pm$ 0
10	46.029 $\pm$ 12.773	31.933 $\pm$ 18.986	39.409 $\pm$ 19.743	47.666 $\pm$ 24.710	47.615 $\pm$ 10.044	0 $\pm$ 0
20	77.923 $\pm$ 11.440	87.687 $\pm$ 6.043	88.890 $\pm$ 2.103	85.888 $\pm$ 7.748	87.008 $\pm$ 3.785	10.736 $\pm$ 10.295
30	98.517 $\pm$ 5.121	94.720 $\pm$ 6.128	94.162 $\pm$ 2.099	93.799 $\pm$ 3.936	94.120 $\pm$ 1.564	40.585 $\pm$ 30.370
45	105.223 $\pm$ 1.178	99.407 $\pm$ 5.366	95.056 $\pm$ 1.152	95.970 $\pm$ 4.604	98.186 $\pm$ 2.981	67.771 $\pm$ 12.967
60	106.997 $\pm$ 0.824	98.486 $\pm$ 3.532	95.049 $\pm$ 0.892	98.227 $\pm$ 1.388	97.986 $\pm$ 2.285	80.504 $\pm$ 7.405
75	107.221 $\pm$ 0.725	98.971 $\pm$ 2.886	95.361 $\pm$ 0.681	97.813 $\pm$ 1.369	97.789 $\pm$ 2.212	86.094 $\pm$ 6.020
90	107.375 $\pm$ 0.815	99.060 $\pm$ 3.464	95.215 $\pm$ 1.095	97.976 $\pm$ 2.444	97.771 $\pm$ 3.058	94.337 $\pm$ 4.020
120	-	-	-	-	-	97.108 $\pm$ 4.722
180	-	-	-	-	-	97.859 $\pm$ 4.836
240	-	-	-	-	-	99.472 $\pm$ 3.804



Şekil 52. Flukonazol ve Flukonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Kapsüller ile Flukonazol Piyasa Kapsülüne ait Çözünme Profilleri (n=6)

$$f_1 = \frac{\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|}{\sum_{t=1}^n R_t} 100 \quad (\text{Eşitlik 5})$$

$$f_2 = 50 \log \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2}} \quad (\text{Eşitlik 6})$$

Çözünme hızı profillerinin karşılaştırılması sonucu elde edilen fark (f_1) ve benzerlik (f_2) etkenleri **Çizelge 26**'da ve **Çizelge 27**'de sunulmuştur.

Çizelge 26. Flukonazol ve Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Kapsüller ile Flukonazol Piyasa Kapsülünün (Fluzole®) Çözünme Profillerinin Karşılaştırılmasına ait Fark (f_1) ve Benzerlik (f_2) Etkenleri

	FZ-Cap	F-FD-Cap	F-SD-Cap	F-CE-Cap	F-KN-Cap
f_1	58.740	52.182	48.340	49.903	50.742
f_2	18.824	19.059	19.424	19.734	19.379

Çizelge 27. Flukonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Kapsüller ile Flukonazol Kapsülünün Çözünme Profillerinin Karşılaştırılmasına ait Fark (f_1) ve Benzerlik (f_2) Etkenleri

	F-FD-Cap	F-SD-Cap	F-CE-Cap	F-KN-Cap
f_1	7.369	10.188	8.208	8.051
f_2	55.570	48.643	53.590	53.878

İki formülasyon arasında benzerlikten bahsedebilmek için f_1 değerinin 0'a; f_2 değerinin de 100'e yakın olması gerekmektedir. Genellikle f_1 'in 15'e kadar (0-15) ve f_2 'nin de 50'den büyük (50-100) olması yeterli görülmektedir (Ağabeyoğlu, 2007).

Çizelge 26'ya göre tüm kapsül formülasyonlarının çözünme profiline ait f_1 değerlerinin 15'ten büyük, f_2 değerlerinin de 50'den küçük olması nedeniyle kapsül formülasyonları ile referans ürüne (Fluzole®) ait çözünme profillerinin benzer olmadıkları açıkça görülmektedir.

Benzer şekilde **Çizelge 27** değerlendirildiğinde, f_1 değerlerinin 15'ten küçük, f_2 değerlerinin de 50'den büyük olması (F-SD-Cap hariç) nedeniyle FZ-Cap ile FZ/β-CD komplekslerini içeren kapsüllerin çözünme profilleri benzer bulunmuştur.

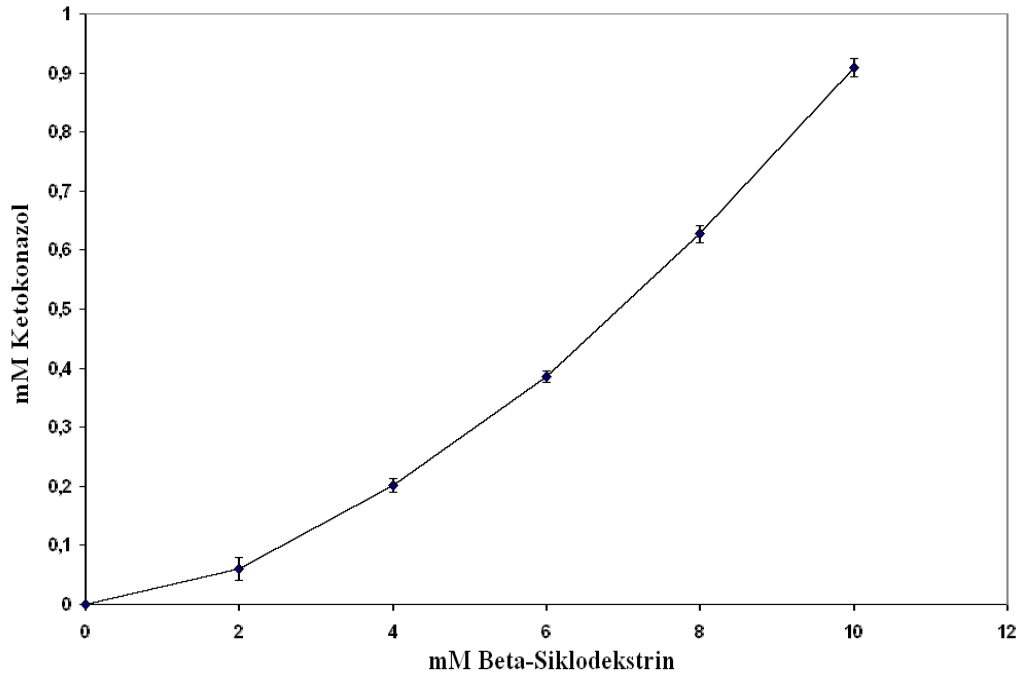
KZ ve β -CD Üzerinde Çözünürlük Faz Diyagramı Çalışmaları

Çözünürlük Faz Diyagramı için Denge Süresinin Belirlenmesi

Yöntemler kısmında anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen deneyler sonucu elde edilen sonuçlarda, KZ çözünürlüğünün çalkalama süresi ile ilişkili olarak artış göstermesi ancak 3. günde de en yüksek çözünürlük değerine ulaşması ve bu süreden sonra da artış göstermemesi nedeniyle, çözünürlük dengesine ulaşmak için 3 günlük sürenin KZ için yeterli olduğuna karar verilmiştir. Bu çalışmalarda en yüksek ve en tutarlı çözünürlük değerleri vermesi nedeniyle seçilmiş olan vibrasyonlu yatay çalkalayıcı kullanılmıştır.

Çözünürlük Faz Diyagramının Saptanması

YÖNTEMLER kısmında anlatıldığı şekilde elde edilen KZ çözünürlük faz diyagramı **Şekil 53**'te sunulmuştur.



Şekil 53. Ketokonazol'un Çözünürlük Faz Diyagramı

Farklı β -CD konsantrasyonlarına karşılık KZ konsantrasyonu grafiğe geçirildiğinde elde edilen çözünürlük diyagramının Higuchi'nin çözünürlük faz diyagramlarından A_L tipi diyagrama uygunluk gösterdiği tespit edilmiştir (**Şekil 53**). A_L tipi diyagram elde edilmesi nedeniyle KZ komplekslerinin hazırlanmasında 1:1 molar oranda KZ/ β -CD kullanılmasına karar verilmiştir (Higuchi ve Connors, 1965).

KZ/ β -CD Kompleksleri Üzerinde Çalışmalar

Verim Değeri

KZ/ β -CD kompleksleri için hesaplanan verim değerleri **Çizelge 28**'de sunulmuştur.

Çizelge 28. Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerine ait Verim Değerleri

Kompleks Kodu	% Verim			Ort. Verim $\pm$ SS
	1.seri	2.seri	3.seri	
K-FD1	51.01	62.82	63.36	59.06 $\pm$ 6.981
K-FD2	72.05	90.54	92.60	85.06 $\pm$ 11.341
K-FD3	99.84	97.89	99.98	99.24 $\pm$ 1.169
K-SD	51.00	-	-	-
K-CE	91.22	99.95	97.72	96.30 $\pm$ 4.539
K-KN	91.34	96.69	92.37	93.47 $\pm$ 2.838

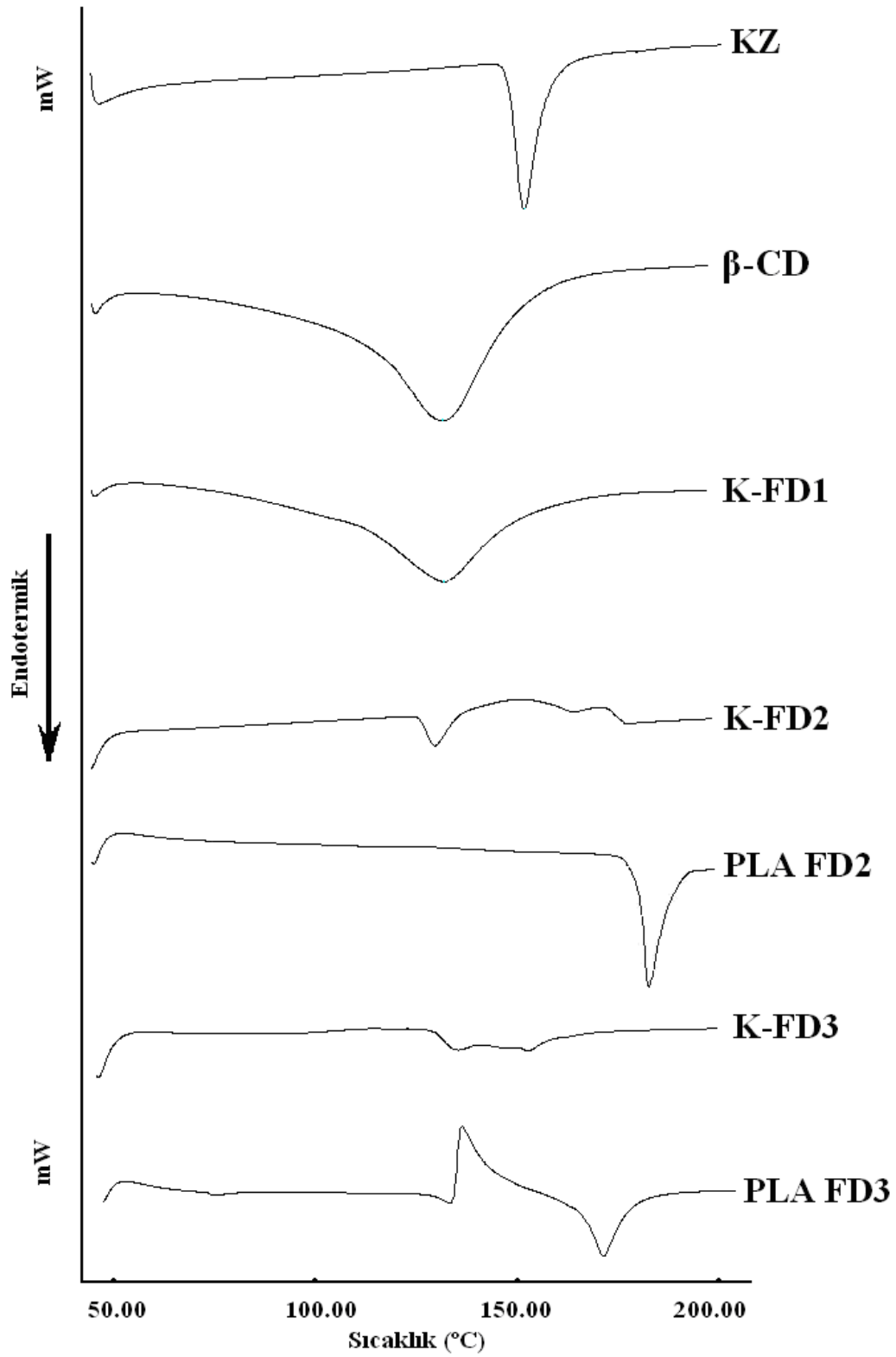
Değerler incelendiğinde, yoğurma, birlikte buharlaştırma ve dondurarak kurutma yönteminin üçüncü yönteminde % verim sonuçlarının yüksek (% 93, % 96 ve % 99), seriler arası farkın ise düşük olduğu görülmektedir. Seriler arası SS yüksek olmakla birlikte, % verim değeri açısından dondurarak kurutma yönteminin ikinci yöntemi de, nispeten yüksek verim değerine sahiptir (% 85).

Dondurarak kurutma yönteminin birinci yönteminde, çalkalamadan sonra çözünmeden kalan KZ'nin süzülerek ortamdan ayrılması nedeniyle verim % 59'a düşmüştür. Cihaz parçasının bozulması nedeniyle yalnızca birinci seri üzerinden hesaplanan püskürterek kurutma yönteminin verim değeri (% 51) ise literatür ile uyumludur (Bittner ve ark., 1998).

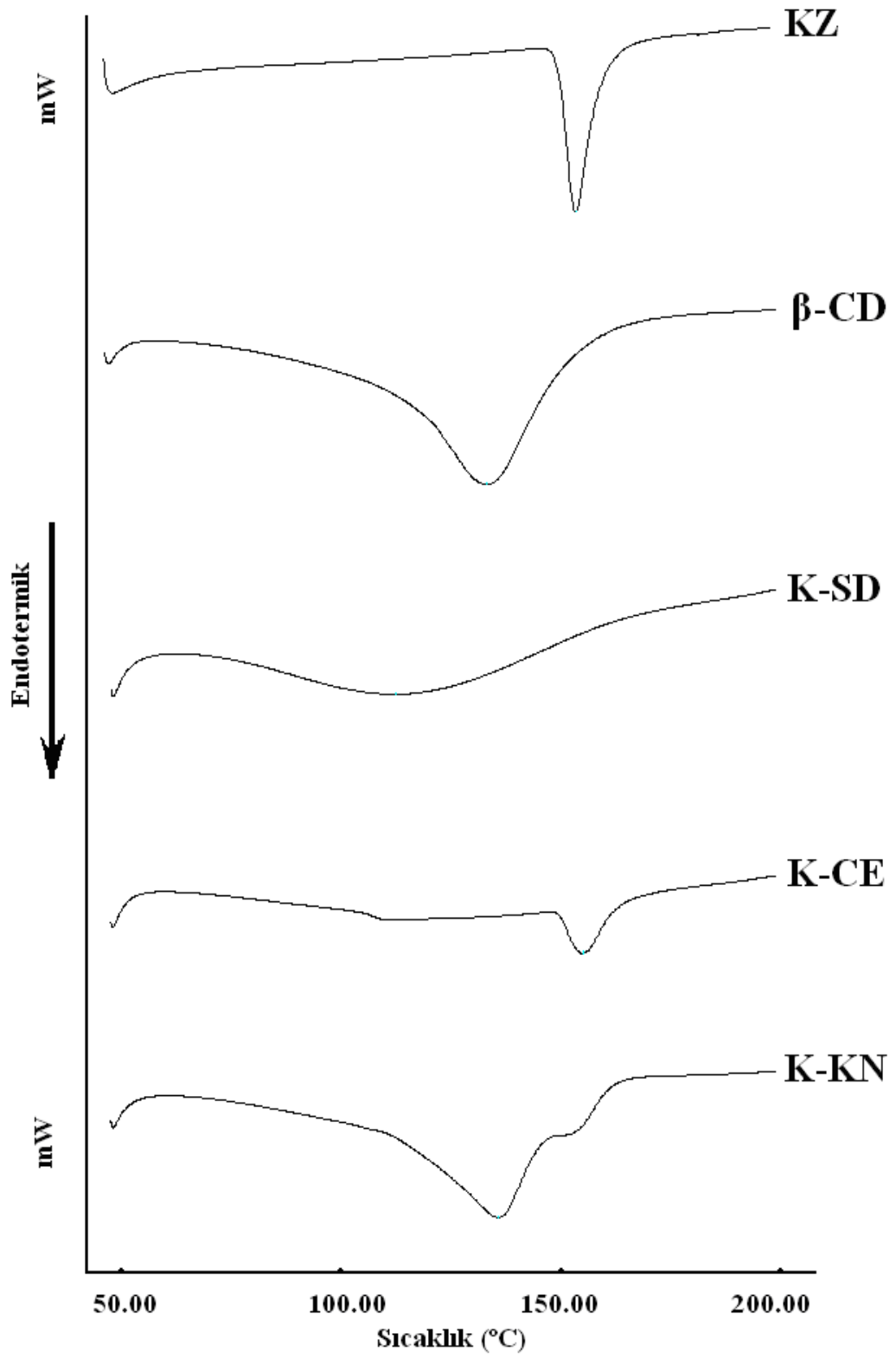
Termal Analizleri

Farklı dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan KZ/ β -CD komplekslerinin ve bunların plasebo formülasyonlarının DSC analizlerine ait termogramlar **Şekil 54**'te sunulmuştur.

Yoğurma, birlikte buharlaştırma ve püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlanan KZ/ β -CD komplekslerinin DSC analizlerine ait termogramlar ise **Şekil 55**'de sunulmuştur. Dondurarak kurutma yönteminin birinci ve ikinci yönteminde kullanılan formülasyonlar kalitatif ve kantitatif olarak aynı ve formülasyon basamakları da süzme işlemi dışında benzer olduğu için, plasebo formülasyonlar ikinci ve üçüncü yöntemler üzerinde çalışılmıştır.



Şekil 54. Farklı Dondurarak Kurutma Yöntemleri ile Hazırlanan Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerine ve Plasebo Formülasyonlara ait Termogramlar



Şekil 55. Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerine ait Termogramlar

Kompleks oluşumunu doğrulamak için KZ/ β -CD katı komplekslerinin termal davranışı DSC ile incelenmiştir. KZ'nin DSC termogramında 154.18 °C'de erime piki mevcuttur. Saf β -CD termogramı ise dehidratasyon aşamasındaki su kaybını gösteren geniş endotermik pik göstermiştir.

Farklı dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan formülasyonların termogramları, plasebo formülasyonlar ve saf madde termogramları ile karşılaştırıldığında, tüm formülasyonlarda KZ'ye ait endotermik pikin kaybolduğu görülmüştür (**Şekil 54**). Bu sistemlerde endotermik piklerin kaybolması, 1:1 molar orandaki KZ ve β -CD'nin kompleks oluşturmasının açık kanıtıdır. Bu sonuç literatür tarafından da desteklenmektedir (Yazan ve Sumnu, 1994; Rawat ve Jain, 2004).

Diğer hazırlama yöntemleri ile elde edilen formülasyonların termogramları incelendiğinde (**Şekil 55**), K-SD'de kristalin yapıların amorfa dönmesi nedeniyle hem KZ'nin erime piki hem de β -CD'nin yayvan endotermik dehidratasyon piki kaybolmuştur. K-KN'de KZ piki kaybolmuş, kompleks oluşumunu düşündüren yeni bir endotermik pik oluşmuştur. K-CE formülasyonunda ise KZ'nin erime derecesine karşılık gelen bir endotermik pik mevcuttur. Birlikte buharlaştırma yöntemi ile hazırlanmış olan K-CE örneğinin DSC eğrisinde izlenen KZ pik şiddetindeki azalma, KZ ile β -CD arasındaki etkileşmenin azlığını göstermektedir. Bu nedenle, bu formülasyonda gerçek kompleks oluşumunun gerçekleşmediği düşünülmüş, bunu destekleyebilmek için ek analizlere geçilmiştir.

Benzer şekilde tüm formülasyonlar için yapılan değerlendirmeler ayrıca IR, XRD ve NMR analizleri ile desteklenecektir.

Çözünürlüğün Saptanması

KZ/ β -CD komplekslerinin saf su ortamında 25°C'de gerçekleştirilen çözünürlük değeri sonuçları **Çizelge 29**'da gösterilmiştir.

Çizelge 29. Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin Saf Sudaki Çözünürlük Değerlerine ait Bulgular (n=3)

Kompleks Kodu	Ortalama Çözünürlük (mg.mL ⁻¹)	± SS	± SH
K-FD1	2.581	0.153	0.088
K-FD2	0.562	0.012	0.006
K-FD3	> 65.226	-	-
K-SD	2.420	0.104	0.060
K-CE	1.184	0.192	0.111
K-KN	0.683	0.013	0.007

KZ ile yapılan çalışmalarda; KZ'nin suda çözünmeyen bir madde olması ve kullanılan analitik yöntemin duyarlılığının ölçüm için yeterli olamaması nedenleri ile KZ'nin saf sudaki çözünürlük değeri tespit edilememiştir. Aynı analitik yöntem ve aynı madde ile çalışılıp, komplekslerinde ölçülebilir çözünürlük değerlerinin tespit edilmesi KZ'nin saf sudaki çözünürlüğünün artmış olduğunu ispatlamaktadır.

Dondurarak kurutma yöntemine ait üçüncü yöntem ile hazırlanan kompleks üzerinde gerçekleştirilen ilk deneyde, KZ'nin $65.226 \text{ mg.mL}^{-1}$ oranından daha yüksek oranda çözünbileceği tespit edilmiştir. Hem çözünürlük saptanması için yüksek miktarda formülasyona ihtiyaç duyulması hem de hazırlama basamaklarından kurutmayı takiben formülasyonda meydana gelen (turuncu) renklenme nedeniyle bu formülasyon için çözünürlük saptanmasına ait 2. ve 3. deneyler yapılmamış ve ileri araştırmalara gidilmemiştir.

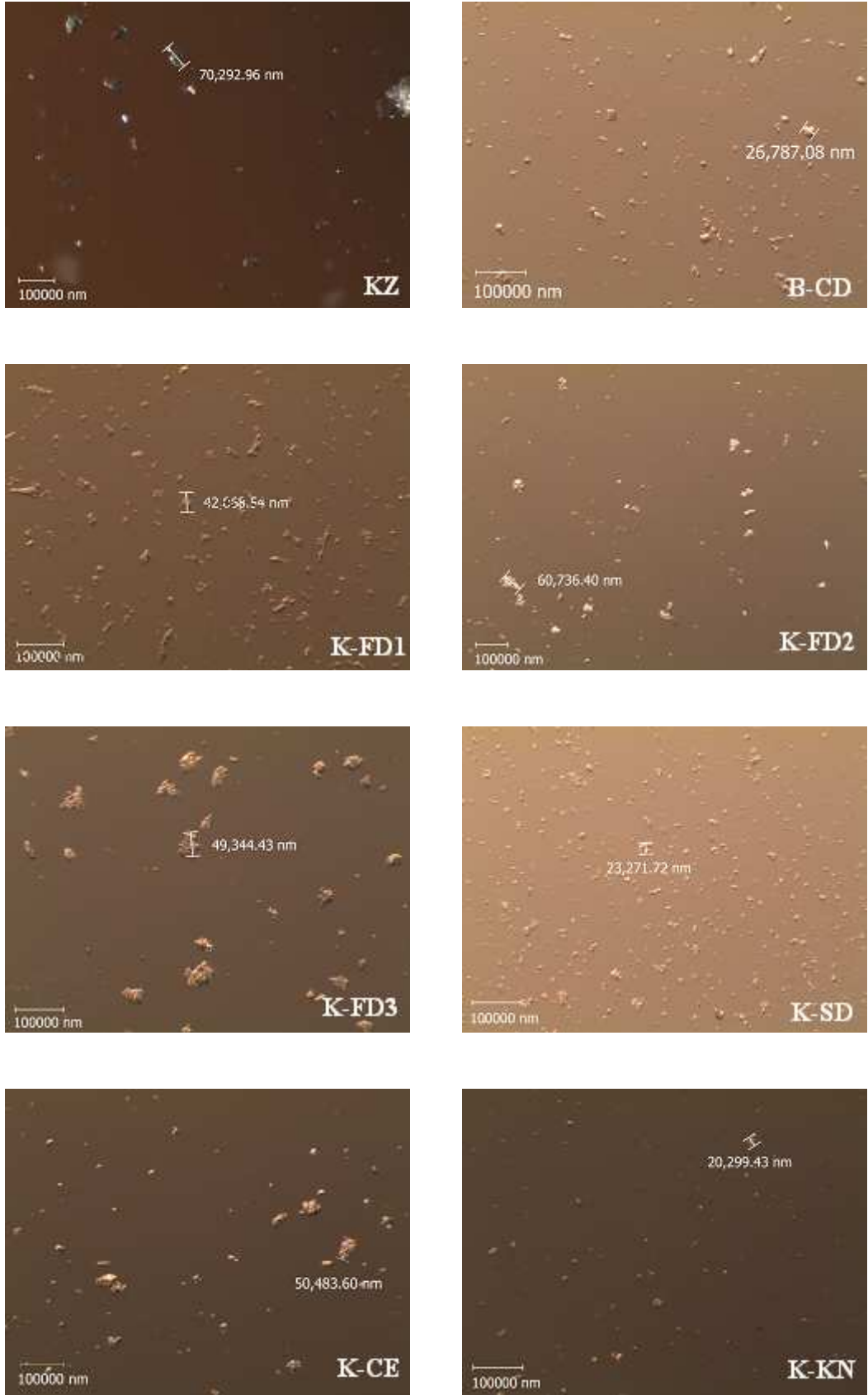
Parçacık Şekli Analizleri

Stereomikroskop ile yapılan parçacık şekli analizlerine ait görüntüler **Şekil 56'**da sunulmuştur. Elde edilen sonuçlardan, hazırlama sonrası şekilsel açıdan birbirine benzer iyi dağılım gösteren ürünler gözlenmiştir. Ayrıca formülasyon sonrası partikül büyümesinin izlenmemesi de olumlu bir bulgudur.

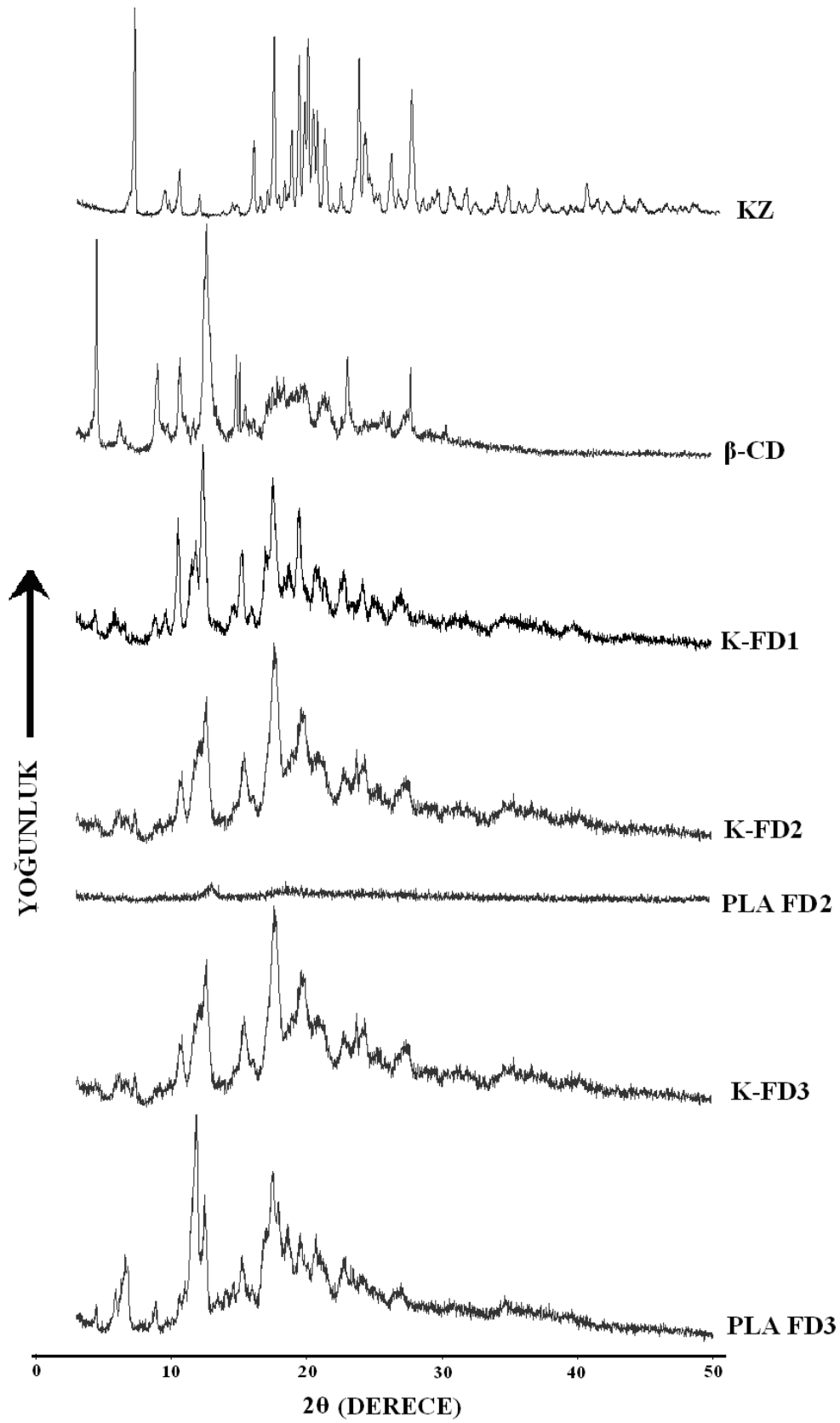
X-Işını Kırınım Analizleri

KZ/ β -CD komplekslerinin XRD profilleri **Şekil 57-58'**de sunulmuştur. **Şekil 57-58'**deki KZ/ β -CD katı komplekslerinin X-ışını kırınım analizleri incelendiğinde, K-FD1, K-FD2, K-FD3 ve K-SD kodlu formülasyonlarda KZ'ye ait tüm karakteristik pikler kaybolmuştur. Söz konusu dört formülasyonda da benzer olarak, proses sonucunda amorf ürün oluşumuna neden olan dondurarak ve püskürterek kurutma yöntemleri kullanılmıştır. Bu nedenle bu formülasyonlarda KZ piklerinin izlenmemesi karışımın amorf yapısından dolayı beklenen bir sonuçtur (Demirel ve ark., 2006). Böyle bir durumda ise, X-ışını kırınım analizi ile karışımın gerçek inklüzyon kompleksi mi yoksa amorf bileşenlerin homojen dispersiyonu mu olduğu ayırt edilememektedir (Redenti ve ark., 1996). Ancak bu dört formülasyona ait XRD verileri ile DSC analizlerinde KZ erime piklerinin kaybolmuş olması bilgileri birlikte değerlendirildiğinde yapının inklüzyon kompleksi olma olasılığı güçlenmektedir.

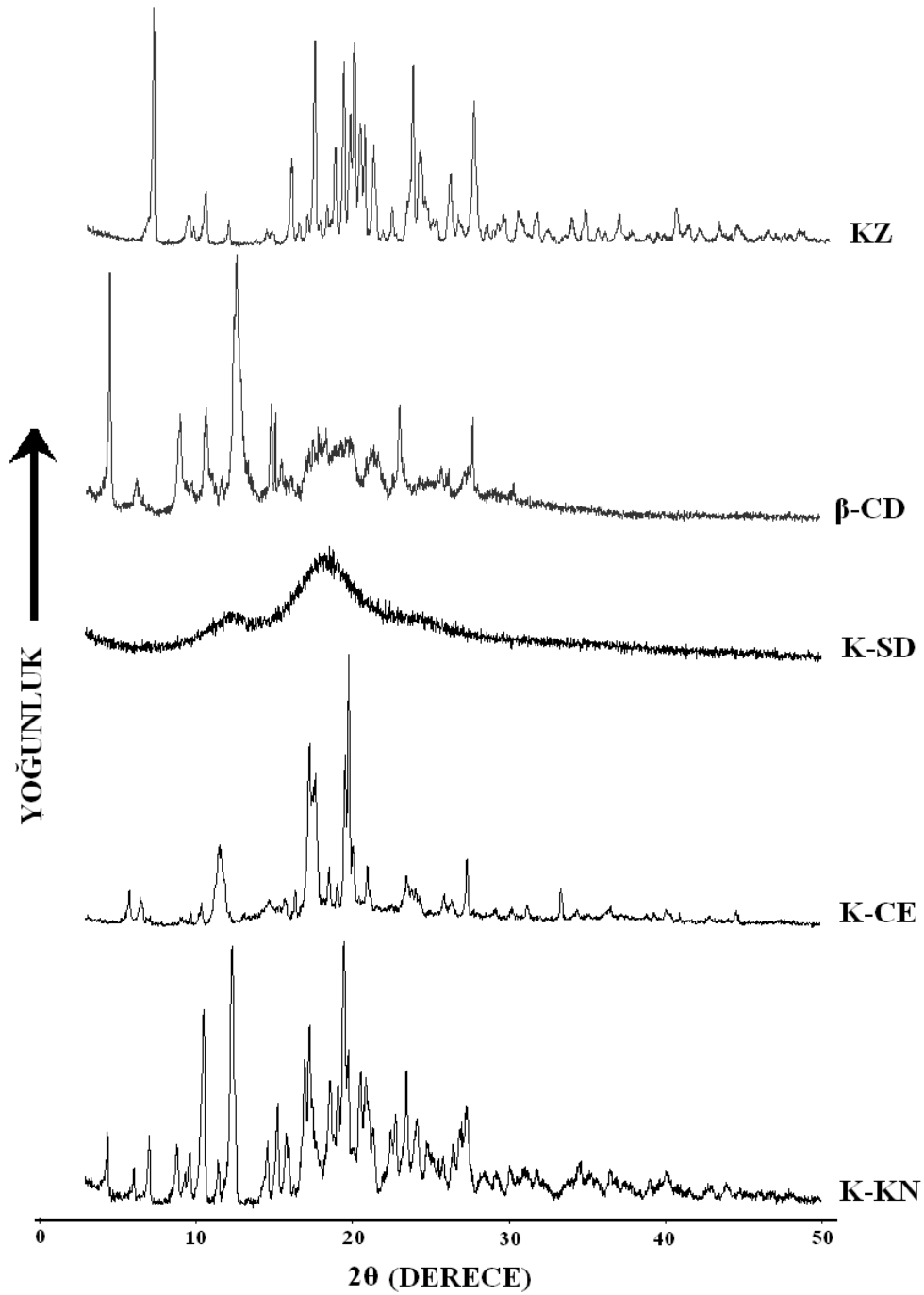
K-CE kodlu formülasyonda KZ'nin tüm pikleri mevcut olup, şiddetlerinde azalma görülmüştür. Yalnızca $17.32^\circ 2\theta$ değerindeki pikte şiddet artışı vardır. Bu veriler, literatüre benzer olarak, hazırlama yöntemleri arasında en fazla kristalin yapı gösteren yöntemin birlikte buharlaştırma yöntemi olduğunu ispatlamıştır (Fernandes ve ark., 2002). Karakteristik KZ piklerinin izlenmesi KZ için birlikte buharlaştırma yöntemi ile gerçek inklüzyon kompleksi hazırlanamadığını göstermiştir. Bu değerlendirmeyi formülasyonun DSC analizinde gözlenen KZ erime piki de desteklemektedir.



Şekil 56. Ketokonazol ve Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerine ait Stereomikroskop Görüntüleri



Şekil 57. Farklı Dondurarak Kurutma Yöntemleri ile Hazırlanan Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin ve Plasebo Formülasyonların X-Işını Kırınım Profilleri



Şekil 58. Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin X-Işını Kırınım Profilleri

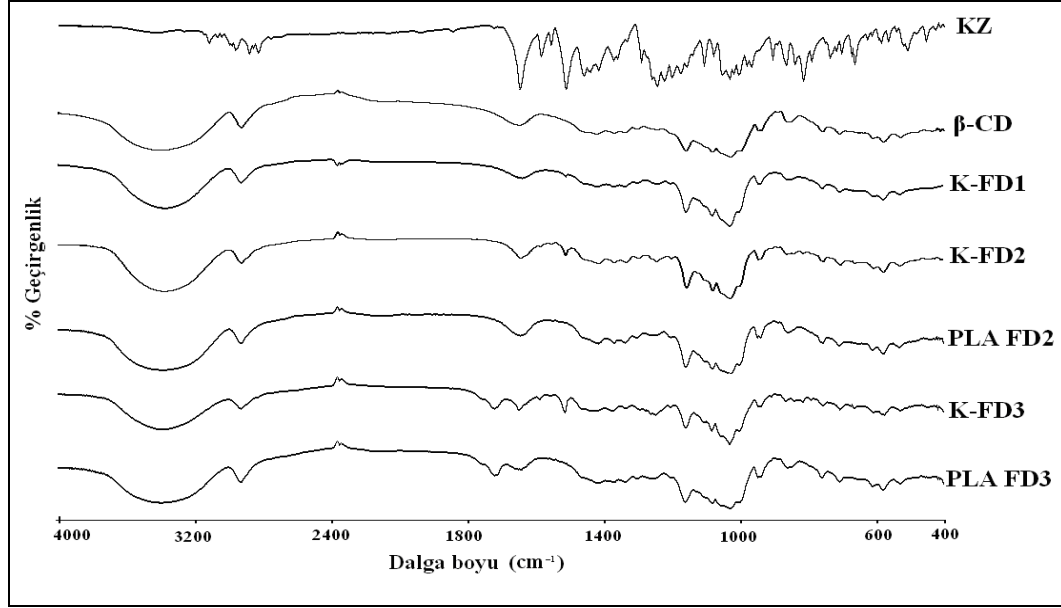
Ekonazol ile yapılan benzer bir çalışmada birlikte buharlaştırma yöntemi ile elde edilen üründe, önemli şiddet azalmasına rağmen yine de ekonazol ve β -CD karakteristik piklerinin tespit edilebilir olması, üründe ilacın kristalinitesini sürdürdüğünü göstermiştir ve β -CD ile kısmen bir etkileşme olduğu belirtilmiştir (Al-Marzouqi ve ark., 2008).

K-KN kodlu formülasyonda ise FZ'nin aynı yoğurma yöntemi ile hazırlanan formülasyonunda olduğu gibi, etkin maddenin karakteristik piklerinin pek çoğu kaybolmuş olup, en şiddetli iki pik izlenebilmiştir. K-KN kodlu formülasyondaki

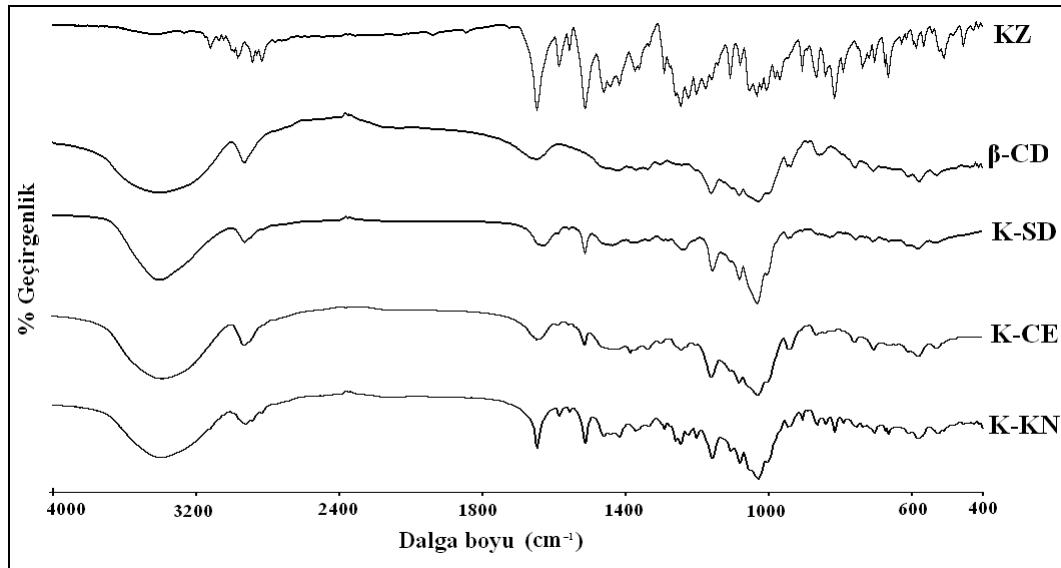
KZ'ye ait bu pikler 17.32° ve 20.60° 2θ değeriindeki karakteristik piklerdir. Sayı ve şiddetlerinde azalma gözlenmesine rağmen, yoğurma yöntemi ile hazırlanan K-KN formülasyonunun difraktogramında KZ piklerinin varlığı, serbest kristalin yapıdaki KZ'nin ortamdaki varlığını ve literatür bulgusunu desteklemektedir (Badr-Eldin ve ark., 2008).

İnfrared Analizleri

KZ komplekslerinin KBr ile hazırlanan disk kullanılarak elde edilen IR spektrumları **Şekil 59-60**'ta sunulmuştur.



Şekil 59. Farklı Dondurarak Kurutma Yöntemleri ile Hazırlanan Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin ve Plasebo Formülasyonların İnfrared Analizi Spektrumları



Şekil 60. Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin İnfrared Analizi Spektrumları

KZ'nin farklı dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan üç kompleksi (K-FD1, K-FD2, K-FD3) ile saf KZ'nin IR spektrumları birlikte değerlendirildiğinde (**Şekil 59**), tüm komplekslerde 1458, 1291, 1244 ve 1106 cm^{-1} 'deki pikler kaybolmuştur. –CN grubuna ait 1512, 1585 ve 1646 cm^{-1} pikler K-FD1 yönteminde tamamen kaybolurken, K-FD2'de 1512 cm^{-1} 'deki pik mevcut ancak şiddeti azalmış, K-FD3'te ise 1512, 1585 ve 1646 cm^{-1} 'deki pikler yine mevcut fakat şiddetleri azalmıştır. Tüm karakteristik piklerde ve özellikle de –CN grubundaki piklerde gözlenen değişimler KZ'nin –CN grubunun β -CD içerisine yerleştiğine ilişkin sonuç vermiştir (Jianbin ve ark., 2002).

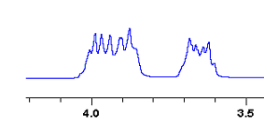
Şekil 60'ta yer alan KZ ve KZ/ β -CD komplekslerinin IR spektrumları incelendiğinde, K-KN kodlu formülasyonda KZ'nin tüm karakteristik pikleri mevcut olup şiddetleri azalmıştır. Diğer iki formülasyonda da (K-SD ve K-CE'de) ise 1512 ve 1244 cm^{-1} 'deki piklerin şiddetinde azalma; 1106, 1219, 1458, 1585 ve 1646 cm^{-1} 'deki piklerin izlenmediği görülmektedir.

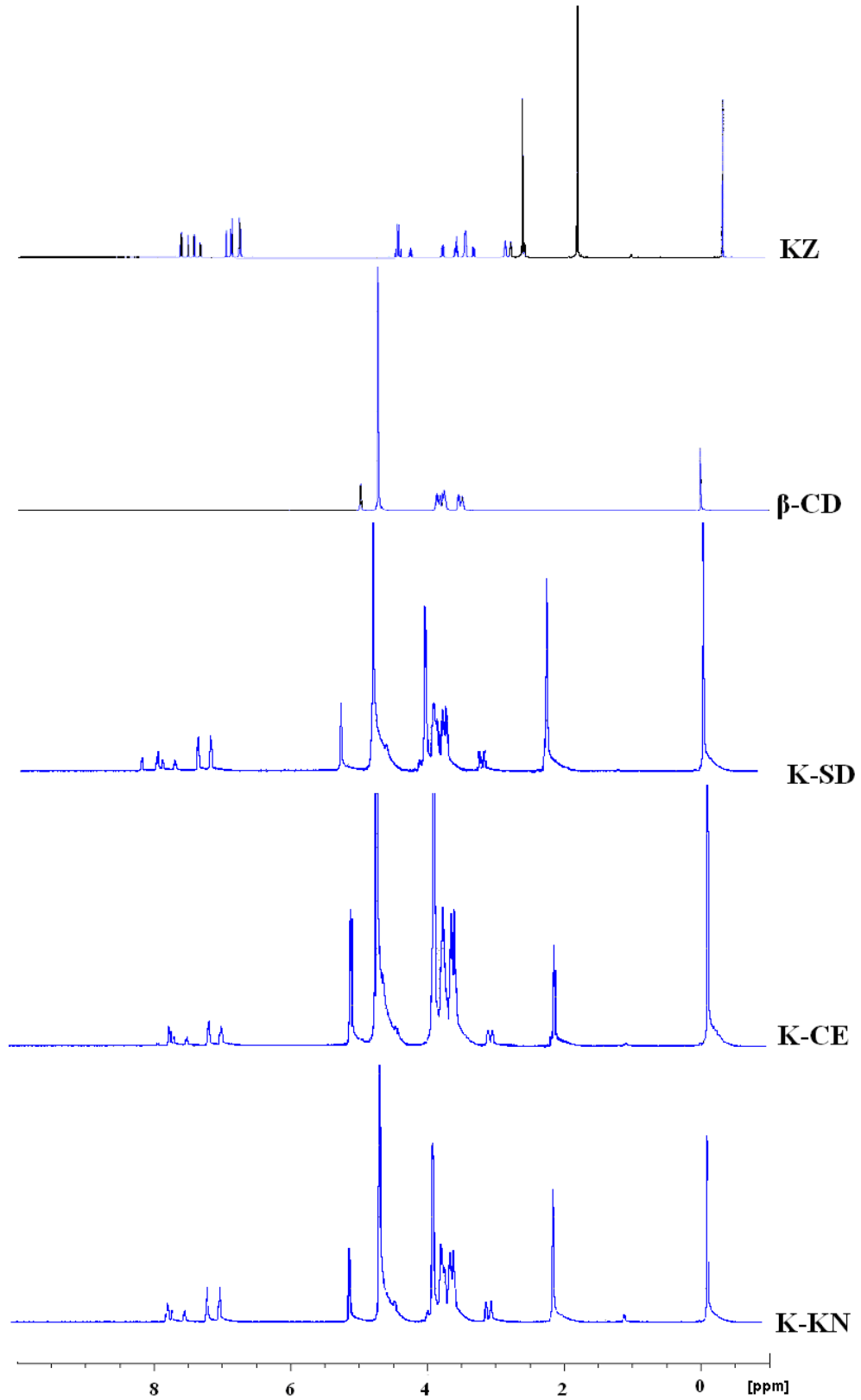
Nükleer Manyetik Rezonans Analizleri

KZ/ β -CD komplekslerinin ^1H -NMR analizine ait spektrumlar **Şekil 61-62**'de sunulmuştur. KZ'nin farklı dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan üç kompleksi (K-FD1, KFD2, K-FD3) ile saf KZ ve plasebo formülasyonların (PLA FD2 ve PLA FD3) ^1H -NMR spektrumları birlikte değerlendirildiğinde (**Şekil 61**), KZ/ β -CD komplekslerinde hem KZ'ye hem de β -CD'ye ait pikler görülürken, plasebo formülasyonlarda yalnızca β -CD'ye ait proton pikleri görülmektedir. Dondurarak kurutma yöntemlerinin ^1H -NMR spektrumunda KZ ile kompleksleşme sonucunda aromatik halka protonları piklerinde K-FD1'de 0.082 ppm yukarı alana kayma, K-FD2 ve K-FD3 komplekslerinde 0.070 ppm ve 0.361 ppm aşağı alan kayma görülmüştür. Bu piklerde meydana gelen kaymanın KZ yapısındaki aromatik grupların (benzen halkası ya da diklorofenil yapısı) β -CD ile etkileşmesi sonucu görüldüğü öngörülmüştür (Becket ve ark., 1999).

Farklı dondurarak kurutma yöntemlerine ait spektrumlarda KZ'nin –CH gruplarına ait pikler, β -CD'nin –CH gruplarına ait pikler tarafından örtülmüştür. β -CD'ye ait 3-4 ppm aralığında gözlenen bu proton piklerinde meydana gelen morfoloji değişimleri ve kaymalar β -CD'nin –OH gruplarının KZ ile etkileştiğini göstermektedir (Becket ve ark., 1999). β -CD'nin proton piklerinde meydana gelen kayma değerlerinin K-FD1'de daha yüksek olması nedeniyle bu komplekste daha kuvvetli etkileşim olduğu düşünülmüştür (Becket ve ark., 1999; Bilensoy ve ark., 2007).

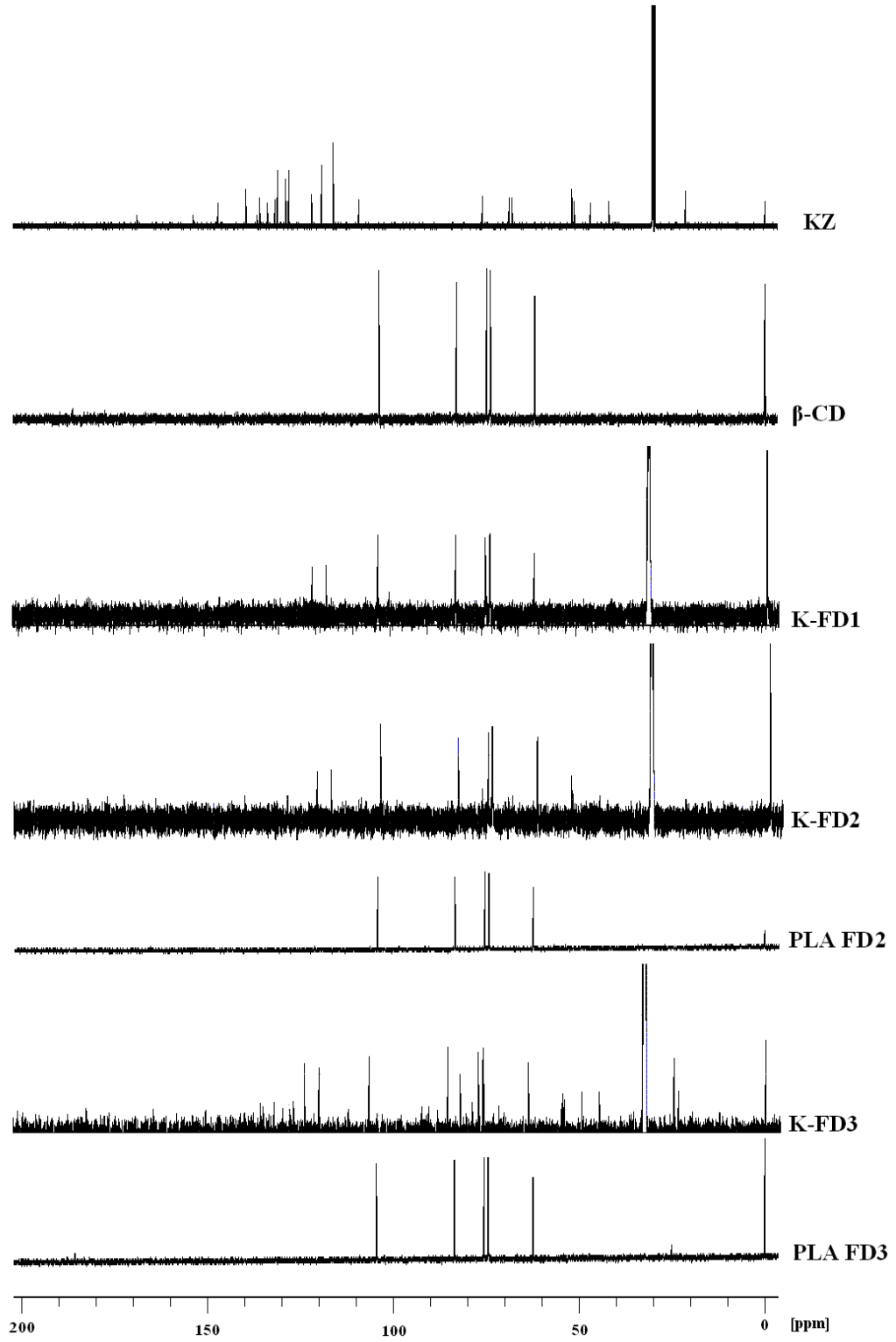
Şekil 62'de yer alan KZ ve KZ/ β -CD komplekslerinin ^1H -NMR spektrumları incelendiğinde, KZ'nin aromatik halka protonlarına ait piklerde K-SD, K-CE ve K-KN olmak üzere, sırasıyla 0.2856, 0.0798, 0.0950 ppm'lik kayma değerleri görülmüştür. β -CD yapısındaki –CH gruplarına ait kayma değerleri ise ~ 0.54 ppm ile birbirine benzerlik gösterir. Kayma değerlerinin artması ile kompleksleşmenin ve etkileşimin arttığı literatürde belirtildiğinden, yüksek kayma değerleri ile dondurarak kurutma yöntemlerinin tümünde etkileşimin olduğu ve diğer kompleksler göz önüne alındığında en düşük etkileşimin birlikte buharlaştırma yöntemi ile elde edildiği görülmektedir. Ayrıca piklerde görülen kayma değerleri, sterik düzensizliğe bağlı olarak inklüzyon kompleksi oluşumunu da desteklemektedir (Becket ve ark., 1999; Nagase ve ark., 2001).



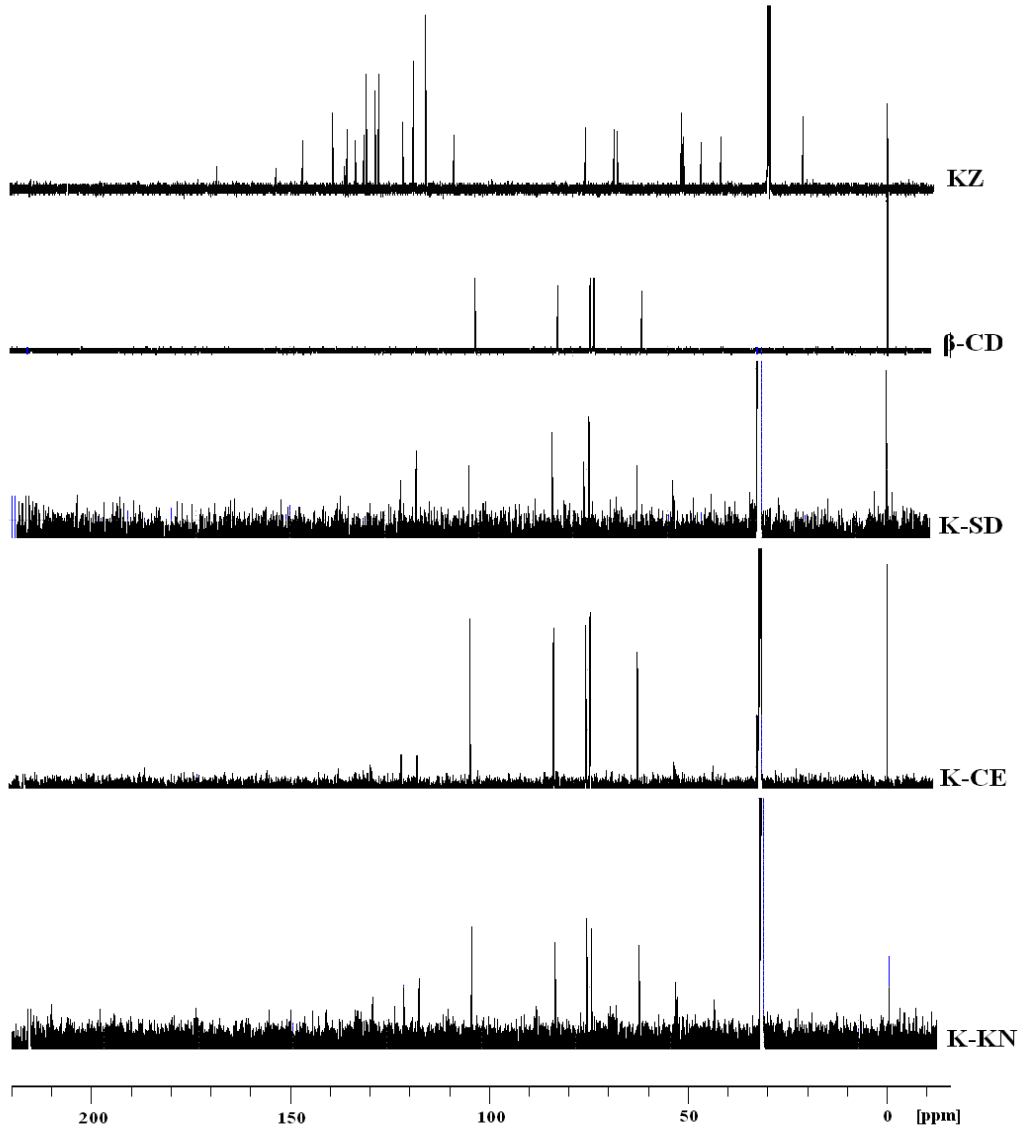


Şekil 62. Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin ¹H-NMR Analizi Spektrumları

KZ/ β -CD komplekslerinin ^{13}C -NMR analizine ait spektrumlar Şekil 63-64'te sunulmuştur.



Şekil 63. Farklı Dondurarak Kurutma Yöntemleri ile Hazırlanan Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerinin ve Plasebo Formülasyonların ^{13}C -NMR Analizi Spektrumları



Şekil 64. Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin ^{13}C -NMR Analizi Spektrumları

Şekil 63'te yer alan farklı dondurarak kurutma yöntemleri (K-FD1, K-FD2 ve K-FD3) ile hazırlanan KZ/β-CD komplekslerinde KZ ve β-CD'ye ait karbon pikleri görülürken; plasebo formülasyonlarda yalnızca β-CD yapısındaki glukopiranoz ünitesine ait altı adet karbon piki görülmektedir. K-FD1 kompleksine ait spektrumda KZ derişimi düşüklüğüne bağlı olarak KZ'ye ait pik şiddetleri düşüktür. β-CD'ye ait piklerde meydana gelen kayma değerleri β-CD ile KZ arasında meydana gelen etkileşimin göstergesidir (Wen ve ark., 2004; Misiuk ve Zalewska, 2009).

Dondurarak kurutma yöntemlerine benzer olarak, Şekil 64'te yer alan diğer yöntemlerle hazırlanan komplekslerde de (K-SD, K-CE ve K-KN) hem KZ'ye hem de β-CD'ye ait pikler görülmektedir. Kompleks spektrumlarında KZ'ye ait tüm piklerin görülmemesi ile birlikte, β-CD piklerinde meydana gelen kayma değerleri nedeniyle β-CD ile KZ arasında etkileşim olduğu düşünülmüştür (Misiuk ve Zalewska, 2009).

Etkin Madde Miktar Tayini

KZ/ β -CD kompleksleri üzerinde YBSK yöntemi ile yapılan tayinlerden elde edilen sonuçlar **Çizelge 30'**da sunulmuştur.

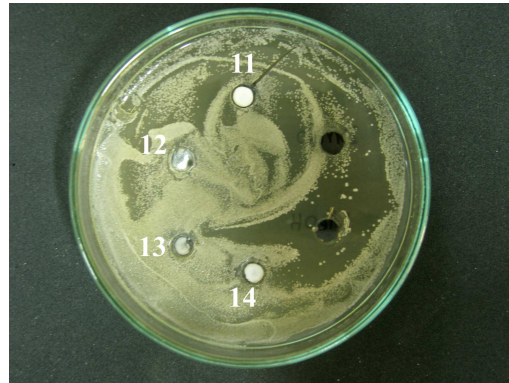
Çizelge 30. Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerine ait % Yüklenen Etkin Madde Miktarlarının Ortalamaları ve Standart Sapma Değerleri (n=3) (her bir seri için)

Kompleks Kodu	% Yüklenen KZ Miktarı			Ort. $\pm$ SS (n=9)
	1.seri	2.seri	3.seri	
K-FD1	5.374	5.272	5.352	5.333 $\pm$ 0.054
K-FD2	16.753	33.558	34.413	28.241 $\pm$ 9.958
K-FD3	27.367	28.277	25.911	27.185 $\pm$ 1,193
K-SD	32.555	-	-	-
K-CE	33.668	35.419	27.722	30,603 $\pm$ 6.881
K-KN	30.489	29.279	32.321	34.369 $\pm$ 7.791

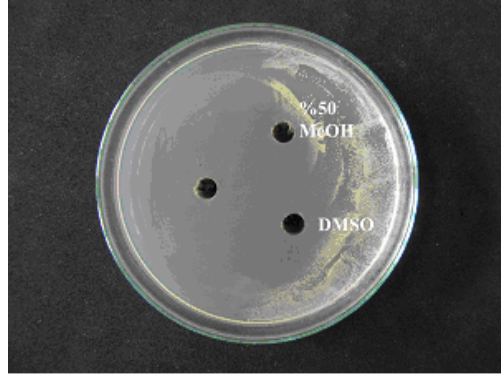
Antifungal Etkinlik Çalışmaları

β -CD, plasebo formülasyonlarda ve DMSO ile % 50'lik MeOH üzerinde yürütülen antifungal etkinlik kontrol testine yönelik çalışmanın sonuçları **Şekil 65-66'**da ve **Çizelge 31'**de verilmiştir.

Şekil 65-66 ve **Çizelge 31** incelendiğinde kompleks oluşumunda kullanılan taşıyıcı maddenin, gerek saf halde gerekse kompleks halindeki etkin maddenin besiyerine çözelti şeklinde taşınmasında kullanılan çözücülerin *Candida albicans* üzerine antifungal etkinliklerinin olmadığı görülmektedir. Taşıyıcı ve çözücülerde etkinliğinin mevcut olmaması, etkin madde ile yapılan çalışmalarda gerçekleşecek olası etkinlik ölçümlerinde hataya yol açmaması açısından beklenen ve istenilen bir sonuçtur.



Şekil 65. β -Siklodekstrin ve Plasebo Formülasyonlara ait İnhibisyon Zonları
PLA FD2 (11) (333 mg.mL⁻¹), PLA FD3 (12) (333 mg.mL⁻¹), β -CD (13) (104 mg.mL⁻¹),
 β -CD (720 mg.mL⁻¹)

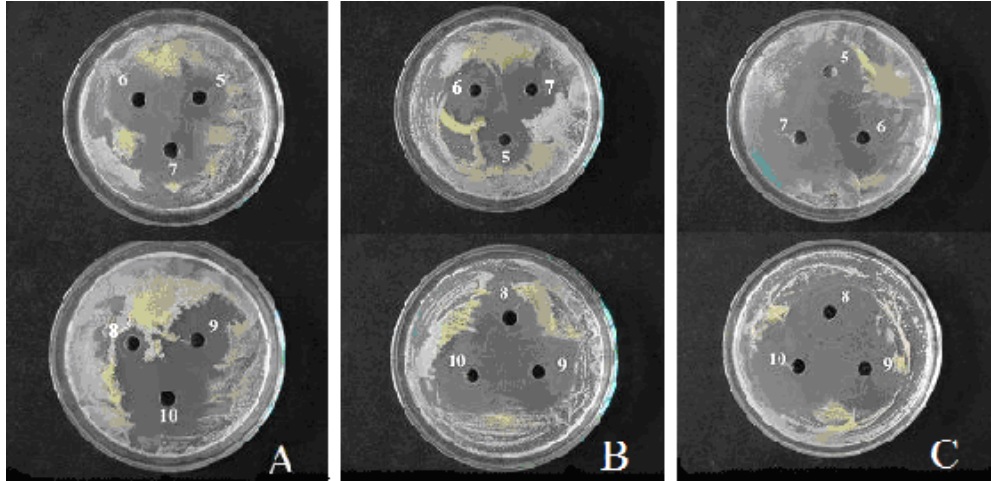


Şekil 66. Kullanılan Çözücülere ait İnhibisyon Zonları

Çizelge 31. β -Siklodekstrin, Plasebo Formülasyonlar ve Çözücülerin *Candida albicans* Üzerinde Oluşturdukları İnhibisyon Zonları

Kompleks Kodu	Uygulanan Madde Konsantrasyonu	Zon Çapı(mm)
PLA FD2	333 mg.mL ⁻¹	0
PLA FD3	333 mg.mL ⁻¹	0
β -CD	104 mg.mL ⁻¹	0
β -CD	720 mg.mL ⁻¹	0
DMSO	% 100	0
MeOH	% 50	0

KZ ve KZ/ β -CD kompleksleri ile *Candida albicans* üzerinde gerçekleştirilen antifungal etkinlik çalışmaları sonunda izlenen SGA besiyerlerinde oluşan inhibisyon zonlarına ait görüntüler Şekil 67’de, zon çaplarına ait ölçülen değerler ise Çizelge 32’de sunulmuştur.



Şekil 67. Ketokonazol ve Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerine ait İnhibisyon Zonları

KZ (5), K-CE (6), K-KM (7), K-FD1 (8), K-FD2 (9), K-FD3 (10)

A: 0.13 mg KZ içeren uygulama B: 0.26 mg KZ içeren uygulama
C: 0.39 mg KZ içeren uygulama

Çizelge 32. Ketokonazol ve Ketokonazol/β-Siklodekstrin Komplekslerinin *Candida albicans* Üzerinde Oluşturdukları İnhibisyon Zonları (n=4)

Kompleks Kodu	Ort Zon Çapı (mm) ± SS		
	Uygulanan Etkin Madde Miktarı: 0.13 mg	Uygulanan Etkin Madde Miktarı: 0.26 mg	Uygulanan Etkin Madde Miktarı: 0.39 mg
KZ	20.00 ± 0.00	24.50 ± 1.73	25.00 *
K-FD1	23.25 ± 2.06	26.50 ± 1.73	26.50 *
K-FD2	22.25 ± 5.32	28.00 ± 2.45	27.00 *
K-FD3	29.75 ± 4.50	30.00 ± 3.74	38.00 *
K-CE	22.67 ± 2.31	29.75 ± 2.36	25.50 *
K-KN	19.33 ± 3.79	23.75 ± 5.06	28.50 *

* İki paralel çalışmaya ait sonuçlardır.

Şekil 67'deki görüntüler ve **Çizelge 32'**teki değerler incelendiğinde tüm örneklerde antifungal etkinliğin mevcut olduğu ve genel olarak artan KZ miktarı ile birlikte etkinliğin de arttığı (K-CE ve K-FD2'nin 0.39 mg'lık) tespit edilmiştir. Çalışmanın bir amacının da kompleks hazırlama yöntemleri sonrasında KZ'nin etkinliğindeki olası değişimin araştırılması olduğu için; KZ/β-CD kompleksleri ile saf KZ'ye ait sonuçlar karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmada komplekslerin tümünde KZ'ye oranla antifungal etkinin arttığı görülmektedir. İncelenen komplekslerden dördü zon çapı olarak birbirine yakın sonuçlar gösterirken, K-FD3 kodlu kompleks daha belirgin bir artış göstermiştir. Bu formülasyonda diğerlerinden farklı olarak yalnızca asetik asit kullanımı mevcuttur. Ancak formülasyonun plasebosu (PLA FD3)'nda hiçbir etki olmaması bu farklılığın asetik asitle ilişkili olmadığını ispatlamıştır. Daha önceden de belirtildiği gibi, dondurarak kurutma işleminden ~ 1 gün sonra toz şeklindeki bu formülasyonda (K-FD3) meydana gelen renklenme nedeniyle KZ'nin asit hidrolizinden şüphelenilerek, bu formülasyon ile ileri çalışmalara devam edilmemiştir.

Tüm komplekslerde KZ'nin sudaki çözünürlüğünün artmasına benzer olarak antifungal etkinlik de de artış görülmüş, ancak KZ'nin sudaki çözünürlük artışı oranı ile antifungal etkinlik artışı oranı arasında bir ilişki kurulamamıştır. Olası bir ilişkinin kurulabilmesi için deney sayısının artırılmasına ihtiyaç olduğu düşünülmüştür. Sonuç olarak, KZ'nin kompleks sonrası antifungal etkinlik artışının tespiti, bu alanda sınırlı sayıdaki literatürleri desteklemesi açısından oldukça ümit vericidir (Ahmed ve ark., 1998; Bilensoy ve ark., 2007).

KZ ve KZ/ β -CD Kompleksleri ile Hazırlanan Vajinal Supozituvarlara ait Çalışmalar

Ön Formülasyon Çalışmaları

Ön formülasyon çalışmalarında hazırlanan ve **Çizelge 12**'de kod ve bileşimleri verilen beş farklı vajinal supozitivar formülasyonu organoleptik kontroller açısından değerlendirildiğinde; renk açısından beş formülasyon arasında bir farklılık görülmemiştir. Ancak yapılan organoleptik kontrolde F₂ ve F₄ kodlu formülasyonların diğer formülasyonlara göre daha yumuşak olduğu belirlenmiştir. Bu durumun her iki formülasyonda sıvağ bileşeni olarak kullanılan sıvı haldeki PEG 400 ve yarı katı haldeki PEG 1000'den kaynaklandığı düşünülmüştür. Ayrıca F₅ kodlu formülasyonda dış yüzeyden iç kısma doğru çatlaklar gözlenmiştir. Bunun ise sıvağ bileşimindeki katı kütle miktarının fazlalılığından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Formülasyonlar dağılma süreleri açısından değerlendirildiğinde; F₂ ve F₄ kodlu formülasyonların 10 dk, F₁ kodlu formülasyonun 25 dk, F₃ kodlu formülasyonun 30 ve F₅ kodlu formülasyonun 40 dk içerisinde neredeyse tamamen dağıldığı belirlenmiştir.

Sıvağ bileşenleri, organoleptik kontroller ve dağılma süreleri göz önüne alındığında; 1:1 kütsel oranda PEG 6000 ile PEG 400 bileşenlerinden oluşan sıvağın sertlik açısından uygunluğu ve 30 dakikalık dağılma süresi ile referans ürüne benzerliği nedeniyle, en uygun vajinal supozitivar formülasyonunun F₃ kodlu formülasyon olduğuna karar verilmiştir. KZ ve KZ/ β -CD kompleksleri ile hazırlanan vajinal supozituvarlarda bu formülasyon kullanılmıştır.

Formülasyonların Hazırlanışı

Vajinal supozitivar formülasyonları ilgili bölümde anlatıldığı şekilde eritme yöntemi ile hazırlanmıştır. Kullanılan yöntem ile KZ ve KZ/ β -CD komplekslerinin homojen dağıldığı vajinal supozituvlar elde edilmiştir (**Şekil 68**).

KZ ve KZ/ β -CD kompleksleri ile vajinal supozitivar hazırlanmasında tedavi dozu 400 mg olduğundan her bir vajinal supozitivar için 400 mg KZ ya da 400 mg KZ içeren miktardaki kompleksleri kullanılmıştır. Yalnızca dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan K-FD1 kodlu komplekste diğer yöntemlere oranla düşük miktarda (% 5.333 $\pm$ 0.054 oranında) KZ yüklenmesi nedeniyle ancak 100 mg KZ içeren kompleks vajinal supozitivar formülasyonlarına taşınabilmiştir.



Şekil 68. Saf Ketokonazol İçeren Vajinal Supozituvarlara ait Görüntüler

Vajinal Supozituvlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Ağırlık Sapması

Saf KZ ve KZ/ β -CD kompleksleri ile 400 mg (K-FD1 için 100 mg) doz içerecek şekilde hazırlanan vajinal supozituvlar ile Ketoral[®] referans ürününün ortalama ağırlıkları, standart sapmaları ve standart hataları **Çizelge 33**'te sunulmuştur.

Çizelge 33. Ketokonazol ve Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Vajinal Supozituvlar ile Ketokonazol Piyasa Vajinal Supozituvlarının Ağırlık Değerleri (n=9)

Formülasyon Kodu	Ortalama ağırlık (g)	$\pm$ SS	$\pm$ SH
KZ-VSup	4.794	0.090	0.027
K-FD1-VSup	5.034	0.110	0.037
K-FD2-VSup	4.953	0.083	0.028
K-CE-VSup	5.028	0.087	0.029
K-KN-VSup	4.960	0.083	0.028
Ketoral [®]	2.979	0.004	0.002

Komplekslerle hazırlanan supozituvlara ait sonuçlar birbirlerine yakın olmakla birlikte, referans ürün ile karşılaştırıldığında supozituv ağırlığı ~ 1.5 kat artış göstermiştir. Referans ürünle aynı dozda etkin madde kullanıldığı dikkate alındığında, bu artışın supozituv hacminden kaynaklandığı açıktır. Çünkü piyasa preparatı hazır plastik kalıplarla satışı sunulmuş yassı şekilli bir supozituvdur, hazırlanan supozituvlar ise klasik koni şeklindedir.

Formülasyonların standart sapma değerleri incelendiğinde, referans ürüne ait değerlerden yüksek olduğu belirlenmiştir. Komplekslerin aglomerasyona olan eğilimlerinin ve laboratuvarda eritme yönteminin kullanıldığı küçük ölçekteki üretimde karşılaşılan güçlüklerin buna neden olduğu düşünülmüştür. En yüksek sapmanın elde edildiği K-FD1-VSup kodlu formüldeki sapmanın % 2.2 olduğu göz önüne alındığında ağırlık sapmalarının kabul edilir sınırlarda olduğu düşünülmüştür.

Organoleptik Kontroller

Saf KZ ve KZ/ β -CD kompleksleri ile hazırlanan vajinal supozituvlar organoleptik kontroller açısından değerlendirildiğinde; renk açısından K-CE ve K-FD2 içeren vajinal supozituvların hafif sarımsı, K-KN, K-FD1 ve saf KZ içeren vajinal supozituvlar ile Ketoral[®] referans ürününün beyaz renkte olduğu gözlenmiştir. Ayrıca organoleptik incelemelerde, tüm vajinal supozituvlarda çökmenin olmadığını ve rengin homojen olduğunun gözlenmesi ile vajinal supozituvlarda etkin madde ve komplekslerin homojen dağıldıkları düşünülmüştür. Hazırlanan supozituvlarda çatlak ya da delik gözlenmemiştir.

Sertlik Tayini

Yapılan sertlik tayinlerinde, referans ürüne ait 3 test tekrarında da 800 g ağırlık uygulamasında kırıldıkları, saf KZ ve KZ/ β -CD kompleksleri ile hazırlanan 5 formülasyon için test edilen tüm supozituarların ise cihazın maksimum uygulama ağırlığı olan 6800 g'da kırılmadıkları tespit edilmiştir. 3 kez tekrar edilen tüm sonuçlar ilgili supozituar için aynı olduğundan standart sapma yoktur.

Çözünme hızına ve dolayısıyla klinikte biyoyararlanıma olumsuz etkisi olmaması koşuluyla, kırılmaya karşı direncin yüksek olması istenilen bir sonuçtur.

Etkin Madde Miktar Tayini

Saf KZ ve KZ/ β -CD kompleksleri ile hazırlanan vajinal supozituarlar ile referans üründe yapılan etkin madde miktar tayini testleri ile elde edilen sonuçlar **Çizelge 34**'te sunulmuştur.

Çizelge 34. Ketokonazol ve Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Vajinal Supozituarlar ile Ketokonazol Piyasa Vajinal Supozituarındaki Etkin Madde Miktarları (n=3)

Formülasyon Kodu	Ortalama Etkin Madde Miktarı (mg)	$\pm$ SS	$\pm$ SH
KZ-VSup	385.143	144.858	59.138
K-FD1-VSup	100.722	2.739	1.581
K-FD2-VSup	391.568	12.048	6.956
K-CE-VSup	423.018	20.562	11.871
K-KN-VSup	414.615	38.309	22.118
Ketoral [®]	420.748	9.900	5.718

Çizelge 34'teki sonuçlardan hazırlanan supozituar formülasyonlarındaki etkin madde miktar tayini sapmalarının referans ürüne göre yüksek olduğu izlenmektedir. Ağırlık sapmalarına ilişkin yapılan değerlendirmeye benzer olarak, komplekslerin aglomerasyona olan eğilimleri ve laboratuvarındaki küçük ölçekteki üretimde karşılaşılan güçlüklerin buna neden olabileceği düşünülmüştür. Çünkü eriyik halindeki supozituar kütesinin kalıplara dökülmesi sırasında hızlıca donması nedeniyle, kütlenin yeniden ısıtılması ve karıştırılması basamakları, bu sonuçta da olduğu gibi çeşitli olumsuzluklara yol açmıştır.

Hidrofilik sıvağda dağıtılan kütlenin hidrofilisitesinin etkin madde homojenitesine olan etkisi en yüksek sapmanın elde edildiği KZ-VSup ve en düşük sapmanın elde edildiği K-FD1-VSup formülasyonlarından açıkça görülmektedir. Saf KZ sudaki çok düşük çözünürlük karakterine ve K-FD1 kompleksi ise sahip olduğu en yüksek sudaki çözünürlük artışı değerine paralel olarak davranış göstermiş olup; saf KZ hidrofilik taşıyıcıda ideal bir durumda dağıtılamaz iken K-FD1 ideal olarak dağıtılmıştır. Çözünme hızı testlerinde % kümülatif salınan miktarların değerlendirilmesinde etkin madde miktarının ortalama değeri kullanılarak,

supozitivarlar arası etkin madde miktarı farkından kaynaklanabilecek hatalar azaltılmaya çalışılmıştır.

İn Vitro Çözünme Hızı Çalışması

Çözünme hızı çalışmaları sırasında, deneyin başlangıcından itibaren izlenen vajinal supozitivarların supozitivar şeklinin kaybolduğu süreler tespit edilmiştir. Dissolüsyon cihazı ile yapılan dağılma süresi tayini sonucunda K-KN, K-CE ve saf KZ içeren vajinal supozitivarların 40 dk, K-FD2 ve K-FD1 içeren vajinal supozitivarlar ile Ketoral® referans ürününün 50 dk içerisinde dağıldığı tespit edilmiştir.

Formülasyonlarımızda referans ürüne dağılma süreleri açısından benzerlik, sertlik sonuçları açısından farklılık elde edildiğinden, genel olarak referans ürüne olası avantajının tespiti için çözünme hızı sonuçlarına ihtiyaç duyulmuştur.

Supozitivarlar üzerinde gerçekleştirilen çözünme hızı çalışmaları sonucu elde edilen veriler **Çizelge 35**'te, elde edilen çözünme hızı profilleri **Şekil 69**'da sunulmuştur.

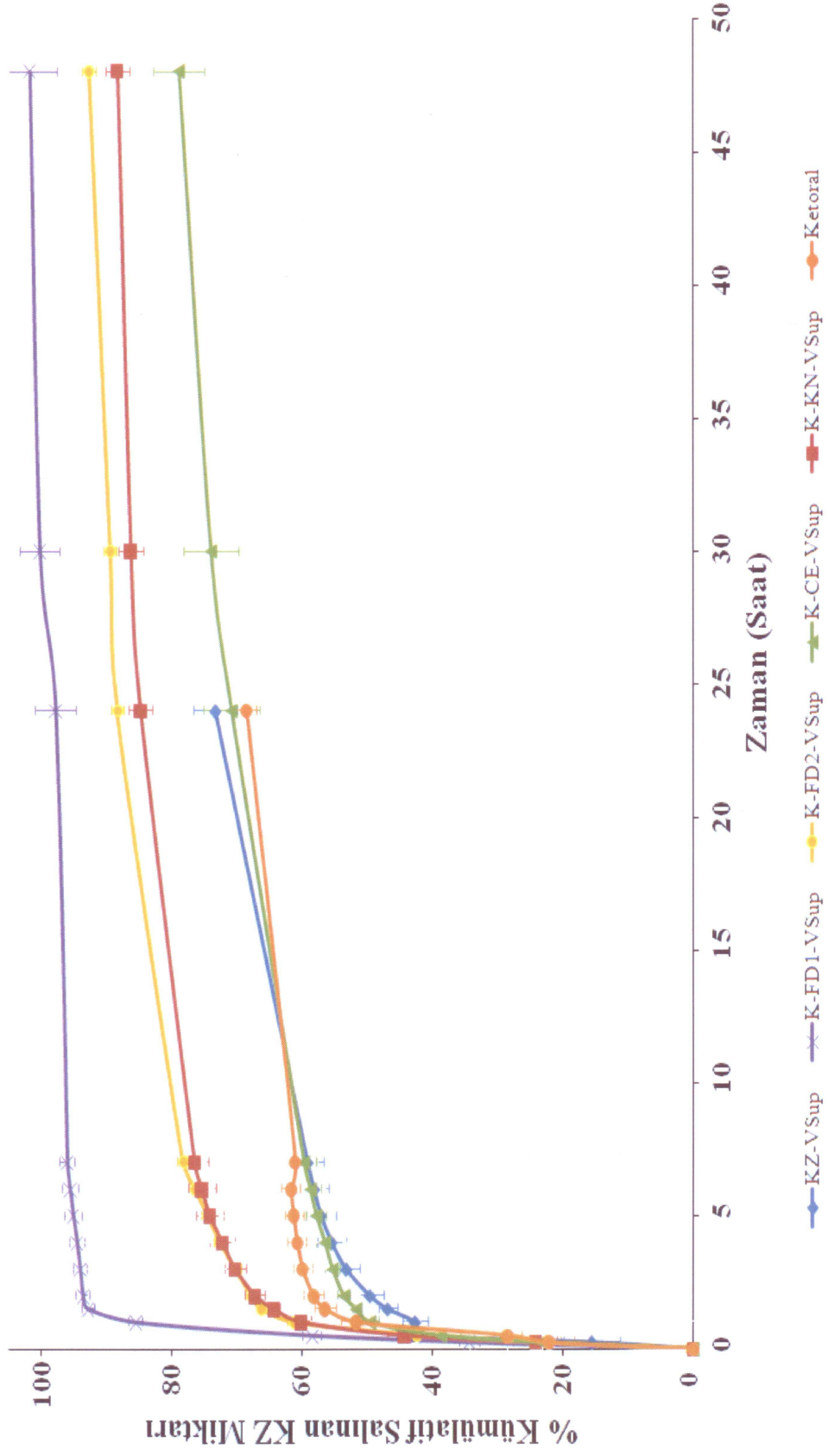
Çizelge 35 ve **Şekil 69**'daki sonuçlar incelendiğinde, 24. saatte referans ürünündeki etkin maddenin % 68.58 oranında, K-CE-VSup, KZ-VSup, K-KN-VSup, K-FD2-VSup ve K-FD1-VSup formülasyonlarındaki etkin maddenin de sırasıyla % 70.83, % 73.32, % 84.87, % 88.44 ve % 97.93 oranlarında salındığı görülmektedir. Saf KZ ile hazırlanan supozitivar formülasyonunun salım sonucunun referans ürüne benzerliği beklenen bir sonuçtur. Ancak komplekslerden bir tanesinin (K-CE), KZ'nin sudaki çözünürlüğünde artış göstermesine karşın *in vitro* çözünme testleri açısından referans ürün ile benzer sonuç vermesi açıklanamamıştır. Benzer şekilde KZ'nin sudaki çözünürlüğünde en az artış gösteren K-FD2 kompleksine ait supozitivarın referans ürüne kıyasla daha yüksek salım göstermesi de açıklanamamıştır. Bu açıdan sağlıklı değerlendirmeler yapılabilmesi için deney sayısının artırılmasına ihtiyaç vardır.

Diğer iki kompleks sudaki çözünürlük artışlarına paralel olarak *in vitro* çözünme testlerinde de salım artışı göstermişlerdir. Bu iki kompleks arasından K-FD1 hem en fazla sudaki çözünürlük hem de en yüksek *in vitro* salım hızı sonuçları ile dikkati çekmektedir. Ayrıca, tüm deneylerdeki sonuçlara ait sapmaların düşük olması sonuçların birbirine yakınlığını da ispatlamaktadır.

Elde edilen çözünme profillerinin yeterince benzer olup olmadığının resmi bir yöntemle tespiti için f_1 ve f_2 etkenleri, ilgili formüller yardımıyla hesaplanmış sonuçları **Çizelge 36** ve **37**'de sunulmuştur. **Çizelge 36** ve **37** incelendiğinde f_2 değerlerine göre, K-CE-VSup formülasyonu, hem referans ürüne hem de KZ-VSup formülasyonuna benzer bulunmuştur. Diğer kompleksler ile hazırlanan supozitivar formülasyonlarının referans ürün ve saf KZ'den farklı sonuç vermesi, etkin maddenin fizikokimyasal özelliklerinde değişim olduğuna dair bir kanıt olarak düşünülmüş ve çalışmanın amacına uygun bulunmuştur.

Çizelge 35. Ketokonazol ve Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Vajinal Supozituarlar ile Ketokonazol Piyasa Vajinal Supozituarına ait Çözünme Verileri (n=3)

Örnek Zamanı (saat)	% Kümülatif Salınan KZ Miktarı (Ort. $\pm$ SS)					
	KZ-VSup	K-FD1-VSup	K-FD2-VSup	K-CE-VSup	K-KN-VSup	Ketoral®
0.25	15.628 $\pm$ 4.392	34.334 $\pm$ 1.490	24.101 $\pm$ 0.892	23.161 $\pm$ 2.828	24.214 $\pm$ 3.351	22.185 $\pm$ 3.968
0.50	41.893 $\pm$ 3.692	58.471 $\pm$ 1.427	42.289 $\pm$ 1.485	38.736 $\pm$ 3.051	44.258 $\pm$ 2.695	28.531 $\pm$ 2.204
1.00	42.652 $\pm$ 1.924	85.600 $\pm$ 1.104	61.280 $\pm$ 1.375	49.519 $\pm$ 1.208	60.101 $\pm$ 1.408	51.725 $\pm$ 2.262
1.50	46.843 $\pm$ 1.465	92.835 $\pm$ 0.998	66.212 $\pm$ 0.976	51.643 $\pm$ 0.618	64.360 $\pm$ 1.035	56.452 $\pm$ 1.655
2.00	49.547 $\pm$ 2.050	93.646 $\pm$ 1.076	67.810 $\pm$ 0.818	53.543 $\pm$ 0.967	67.234 $\pm$ 1.480	58.277 $\pm$ 1.516
3.00	53.193 $\pm$ 2.064	94.077 $\pm$ 0.996	70.348 $\pm$ 0.896	55.273 $\pm$ 1.125	70.295 $\pm$ 1.610	59.915 $\pm$ 1.467
4.00	55.438 $\pm$ 2.212	94.580 $\pm$ 1.075	72.695 $\pm$ 1.304	56.451 $\pm$ 1.334	72.306 $\pm$ 1.929	60.775 $\pm$ 1.477
5.00	57.068 $\pm$ 2.335	95.154 $\pm$ 1.262	74.586 $\pm$ 1.603	57.778 $\pm$ 1.513	74.205 $\pm$ 2.094	61.283 $\pm$ 1.444
6.00	58.139 $\pm$ 2.287	95.635 $\pm$ 1.159	76.464 $\pm$ 1.418	58.675 $\pm$ 1.703	75.403 $\pm$ 2.140	61.711 $\pm$ 1.448
7.00	59.146 $\pm$ 2.445	96.062 $\pm$ 1.142	78.227 $\pm$ 1.569	59.674 $\pm$ 1.776	76.534 $\pm$ 2.222	61.060 $\pm$ 0.049
24.00	73.322 $\pm$ 3.436	97.925 $\pm$ 3.113	88.437 $\pm$ 0.676	70.825 $\pm$ 4.280	84.873 $\pm$ 1.810	68.580 $\pm$ 1.497
30.00	-	100.342 $\pm$ 3.109	89.564 $\pm$ 0.382	73.995 $\pm$ 4.299	86.352 $\pm$ 1.943	-
48.00	-	101.849 $\pm$ 4.192	92.784 $\pm$ 0.517	78.909 $\pm$ 3.861	88.366 $\pm$ 1.779	-



Şekil 69. Ketokonazol ve Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Komplekslerini İçeren Vajinal Supozituarlar ile Ketokonazol Piyasa Vajinal Supozituarına ait Çözünme Profilleri (n=3)

Çizelge 36. Ketokonazol ve Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksleri ile Hazırlanan Vajinal Supozituarlar ile Ketokonazol Piyasa Vajinal Supozituarının (Ketoral®) Çözünme Profillerinin Karşılaştırılmasına ait Fark (f_1) ve Benzerlik (f_2) Etkenleri

	KZ-VSup	K-FD1-VSup	K-FD2-VSup	K-CE-VSup	K-KN-VSup
f_1	12.504	58.904	22.347	7.124	20.882
f_2	42.371	10.445	30.498	53.018	32.046

Çizelge 37. Ketokonazol/ β -Siklodekstrin Kompleksleri ile Hazırlanan Vajinal Supozituarlar ile Ketokonazol Vajinal Supozituarının Çözünme Profillerinin Karşılaştırılmasına ait Fark (f_1) ve Benzerlik (f_2) Etkenleri

	K-FD1-VSup	K-FD2-VSup	K-CE-VSup	K-KN-VSup
f_1	69.718	30.673	6.099	29.109
f_2	7.849	25.153	56.261	26.505

İki formülasyon arasındaki benzerlikten bahsedebilmek için f_1 değerinin 0'a; f_2 değerinin de 100'e yakın olması gerekmektedir. Genellikle f_1 'in 15'e kadar (0-15) f_2 'nin de 50'den büyük (50-100) olması yeterli görülmektedir (Ağabeyoğlu, 2007).

Belirtilen bu limitler ile **Çizelge 36** birlikte değerlendirildiğinde, K-FD1-Vsup, K-FD2-Vsup ve K-KN-VSup formülasyonlarının piyasa preparatından farklı, K-CE-VSup formülasyonun piyasa preparatına benzer olduğu tespit edilmiş KZ-VSup için sağlıklı tespit yapılamamıştır. Kompleksleşmenin tamamen ve/veya kısmen gerçekleştiği dondurarak kurutma ve yoğurma yöntemlerinin piyasa preparatından farklı; kompleks oluşumunun gerçekleşmediği birlikte buharlaştırma yönteminde piyasa preparatına benzer sonuç elde edilmesi beklenen bir sonuçtur. KZ-VSup kodlu formülasyonun da piyasa preparatına benzer olması beklenmiş, yine de f_2 için elde edilen 42 değeri ile fazlaca farklı olmadığı düşünülmüştür.

Çizelge 37 değerlendirildiğinde, **Çizelge 36**'yı ve beklenen sonuçları destekleyen veriler elde edilmiştir. Şöyle ki; birlikte buharlaştırma yöntemi haricindeki diğer yöntemler saf KZ ile hazırlanan formülasyonla karşılaştırıldığında farklı bulunmuştur. Gerçek inklüzyon kompleksinin tüm analizlerde ispatlanmış olduğu K-FD1 ile hazırlanan vajinal supozituarın ise diğerlerine göre en yüksek farkı göstermesi, önceki bulgularımızı desteklediği için oldukça sevindiricidir.

Ancak mevcut farklılıkların anlamlılığının tespiti açısından sonuçların istatistiksel olarak da değerlendirilmesi uygun olacaktır.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmaya konu olan etkin maddelerin ve β -siklodekstrinin erime derecesi, termal, çözünürlük, XRD, IR ve NMR analizlerine ait sonuçların tamamı literatür ve maddelere ait firma spesifikasyonlarına uygunluk göstermiştir. Kompleks ve farmasötik şekillerin hazırlanma yöntemleri ile bu formülasyonların *in vitro* dissolüsyonlarının yapılacağı ortam ve şartlar göz önüne alınarak, FZ ve KZ'nin bu ortam ve şartlardaki kararlılığı İTK ile incelenmiştir. Bu incelemeler sonucunda etkin maddelerin analitik olarak takip edildiği tüm şekillerde ve ortamlarda yapısal kararlılığın korunduğu tespit edilmiştir.

FZ ve KZ'nin analitik miktar tayinlerinde, KZ için USP 31'de önerilen YBSK yöntemi valide edilerek kullanılmıştır. Her iki etkin madde için de validasyonu yapılan yöntemin güvenilir, doğrusal, kesin, doğru, hassas ve seçici olduğuna karar verilmiştir. Gerçekleştirilen YBSK ve İTK çalışmaları ile USP 31'de KZ için önerilen bu yöntemlerin FZ için de uygulanabilir ve güvenilir olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Kompleks formülasyonları öncesinde, etkin maddeler ile β -CD'nin hangi oranlarda karıştırılacağına tespiti için çözünürlük faz diyagramı çalışmaları yapılmıştır. Yürütülen çalışmalar sonucunda FZ ve KZ için elde edilen çözünürlük diyagramlarının Higuchi çözünürlük faz diyagramlarından A_L tipi diyagrama uygunluk gösterdiği tespit edilerek komplekslerin hazırlanmasında 1:1 molar oranın uygun olacağı belirlenmiştir.

FZ ve KZ'nin β -CD ile 1:1 molar orandaki komplekslerinin hazırlanmasında değişik dondurarak kurutma, püskürterek kurutma, birlikte buharlaştırma ve yoğurma yöntemleri kullanılmıştır. Hazırlanan katı komplekslerin % verim değerleri incelendiğinde, birlikte buharlaştırma ve yoğurma yöntemlerinin verim değerlerinin yüksek, dondurarak ve püskürterek kurutma yöntemlerinin verim değerlerinin düşük olduğu görülmüştür.

Komplekslere yüklenen etkin madde miktarları hesaplandığında; FZ/ β -CD komplekslerinde tüm hazırlama yöntemlerinde birbirine yakın % değerler izlenirken (% 22-25 arası), KZ/ β -CD komplekslerinde beş yöntemde birbirine yakın (% 26-34 arası) bir yöntemde ise (dondurarak kurutma birinci yönteminde) % 5 oranında etkin madde yüklendiği tespit edilmiştir. Dondurarak kurutma birinci yönteminde FZ ile yüksek (% 25), KZ ile düşük (% 5) yüklenme değerlerinin tespit edilmesinin nedeni olarak FZ molekülünün KZ'den küçük olması düşünülmüştür.

Kompleksler üzerinde DSC, XRD, IR, ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR ile yapılan karakterizasyon çalışmaları sonrasında, FZ ve KZ ile kompleksleri birlikte değerlendirilmiş, kompleks hazırlama yönteminin etkin madde ile β -CD arasındaki etkileşimde önemli rol oynadığı görülmüştür. Tüm hazırlama yöntemlerinde her iki maddenin de β -CD ile belli oranlarda etkileşmeye girdiği, ancak dondurarak ve püskürterek kurutma yöntemlerinde gerçek inklüzyon komplekslerinin oluştuğu görülmüştür. Bu bilgilere ise birbirini destekleyen DSC, XRD, IR, ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR sonuçları ile ulaşılmıştır. Aynı analiz sonuçları değerlendirildiğinde; KZ için birlikte buharlaştırma yönteminde, FZ için yoğurma yönteminde etkin madde ve β -CD arasındaki etkileşimin en düşük düzeyde olduğuna karar verilmiştir.

Komplekslerdeki etkin maddelerin su ortamındaki çözünürlüğünün belirlenmesi için kompleksler üzerinde yapılan çalışmaların tümünde, FZ ve KZ'nin saf halindeki çözünürlüğünün kompleks hazırlanmasının ardından tüm yöntemler ile artış gösterdiği tespit edilmiştir.

FZ ve KZ'nin β -CD komplekslerinin literatür yardımı ile belirlenen oranlar ile *Candida albicans* üzerinde antifungal etkinlik çalışmaları saf etkin maddeler ile paralel olarak gerçekleştirilmiştir. KZ/ β -CD komplekslerinin tümünde saf KZ'den yüksek etkinlik tespit edilirken, saf FZ ve FZ/ β -CD komplekslerinin biri hariç tümünde etkinlik tespit edilememiştir. Etkinlik tespit edilen FZ/ β -CD kompleksi dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanmış olup, söz konusu etkinlik ise izlenen zondaki mikroorganizmanın tamamının ölmesi değil, bu zondaki mikroorganizmanın sayısının azalmasıdır. Bu nedenle FZ/ β -CD kompleksleri için çalışmanın yüksek oranlarda tekrarlanmasının uygun olacağı düşünülmüştür.

Kompleksler üzerinde gerçekleştirilen çözünürlük ve farmakolojik etkinlik verileri birlikte değerlendirildiğinde, hem çözünürlüğün hem de farmakolojik etkinliğin kompleksleşme derecesi ile doğru orantılı bir artış gösterdiği saptanmıştır. Her iki etkin madde için de en yüksek çözünürlük ve antifungal etkinlik dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan kompleksler ile elde edilmiştir.

FZ/ β -CD kompleksleri ile hazırlanan kapsüller ve KZ/ β -CD kompleksleri ile hazırlanan vajinal supozituarlar ile yapılan *in vitro* salım çalışmalarında, f_1 ve f_2 etkenlerine göre yapılan değerlendirme ile piyasa preparatlarına oranla olumlu yönde farklılık tespit edilmiştir. KZ/ β -CD kompleksleri ile hazırlanan vajinal supozituarlar f_1 ve f_2 etkenlerine göre, saf KZ ile hazırlanan vajinal supozituarlardan beklenen doğrultuda farklı bulunmuştur. Ancak saf FZ ile hazırlanan kapsüller, FZ/ β -CD kompleksleri ile hazırlanan komplekslere f_1 ve f_2 etkenlerine göre benzer bulunmuştur. Buna neden olarak ise, FZ/ β -CD kompleksleri ile saf FZ'nin aynı büyüklükteki kapsüle konulması nedeniyle, kompleksler ile hazırlanan kapsüllerde çözünme ortamında dağılma sorununun yaşanmış olabileceği düşünülmüştür. Sonuç olarak, FZ ve KZ'nin β -CD ile komplekslerinin hazırlanması sonucu elde edilen çözünürlük ve farmakolojik etkinlik artışının, söz konusu etkin maddelerin biyoyararlanım, yan etki ve toksisite problemlerine çözüm olabileceği öngörülmüştür.

Çalışmanın sonraki aşamalarında, hazırlanan katı komplekslerin kararlılıklarının permeabilitelerinin ve farklı farmasötik şekillerdeki davranışlarının incelenmesi ile değişik amaçlarla kullanımlarına yönelik olarak sterilizasyonlarının ne şekilde yapılabileceğinin araştırılması planlanabilir. Antifungal etkinlik çalışmalarına yönelik olarak ise etkin maddelerin terapötik spektrumu içerisindeki farklı mikroorganizmalar üzerinde *Candida albicans* ile yapılan çalışmaya benzer olarak etkinlik çalışmaları ve ek olarak da MIC değerinin tespiti ile etki süresinin belirlenmesi gibi çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

Acartürk, F., Siklodekstrinlerin ilaçların fiziksel ve kimyasal stabilitesine etkisi, FABAD J. Pharm. Sci., 18, 77-85 (1993).

Acartürk, F., Sert ve Yumuşak Kapsüller, In: Farmasötik Teknoloji-Temel Konular ve Dozaj Şekilleri, A.Z., Gürsoy (Ed), Pıksel Bilişim Matbaacılık, Reklamcılık ve Filmcılık Hizmetleri Ltd. Şti., İstanbul, 331-347 (2004).

Acartürk, F., Vajinal ilaç sistemleri, In: Modern Farmasötik Teknoloji, Fersa Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 379-390 (2007).

Ağabeyoğlu, İ., Biyofarmasötik, In: Modern Farmasötik Teknoloji, Fersa Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 407-457 (2007).

Ahmed, M.O., El-Gibaly, I., Ahmed, S.M., Effect of cyclodextrins on the physicochemical properties and antimycotic activity of clotrimazole, Int. J. Pharm., 171, 111-121 (1998).

Alam, M.A., Ahmad, F.J., Khan, Z. I., Khar, K.R., Ali, M., Development and evaluation of acid-buffering bioadhesive vaginal tablet for mixed vaginal infections, AAPS Pharm. Sci. Tech., 8 (4), E1-E8 (2007).

Alcaro, S., Ventura, C.A., Paolino, D., Battaglia, D., Ortuso, F., Cattel, L., Puglisu, G., Fresta, M., Preparation, characterization, molecular modeling and invitro activity of paclitaxel-cyclodextrin complexes, Bioorg. Med. Chem. Lett., 12, 1637-1641 (2002).

Alkhamis, K.A., Obaidat, A.A., Nuseriat, A.F., Solid state characterization of fluconazole, Pharm. Dev. Tech., 7, 491-503 (2002).

Allen, L.V., Popovich, N.G., Ansel, H.C., Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Lippincott Williams & Wilkins, ABD, 204-332, 2005.

Al-Marzouqi, A.H., Solieman, A., Shehadi, I., Adem, A., Influence of the preparation method on the physicochemical properties of econazole- β -cyclodextrin complexes, J. Incl. Phenom. Macro., 60, 85-93 (2008).

Al-Marzouqi, A.H., Elwy, H.M., Shehadi, I., Adem, A., Physicochemical properties of antifungal drug-cyclodextrin complexes prepared by supercritical carbon dioxide and by conventional techniques, J. Pharm. Biopharm., 49, 227-233 (2009).

Araujo, D.R., Ttsuneda, S.S., Cereda, C.M.S., Carvalho, F.G.F., Prete, P.S.C., Fernandes, S.A., Yokaichiya, F., Franco, M.K.K.D., Mazzaro, I., Fraceto, L.F., Braga, A.F.A., Paula, E., Development and pharmacological evaluation of ropivacaine-2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex, Eur. J. Pharm. Sci., 33, 60-71 (2008).

Arshady, R., Manufacturing methodology of microcapsules, In: Microspheres, microcapsules and liposomes, R. Arshady (Ed), Citus Book, Londra, 320-326 (1999).

Aşıkoğlu, M., İzokonazol Nitratın Farklı Supozitivar Sıvağlarından *in-vitro* ve *in-vivo* Salınımı, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye (1992).

Ayub, A.C., Gomes, A.D.M., Lima M.V.C., Vianna-Soares, C.D., Ferreira, L.A.M., Topical delivery of fluconazole: *In vitro* skin penetration and permeation using emulsions as dosage forms, Drug Dev. Ind. Pharm., 33, 273-280 (2007).

Azarmi, S., Roa, W., Löbenberg, R., Current perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms, Int. J. Pharm., 328, 12-21 (2007).

Bachhav, Y.G., Patravale, V.B., Microemulsion based vaginal gel of fluconazole: Formulation, *in vitro* and *in vivo* evaluation, Int. J. Pharm., 365, 175-179 (2009).

Badr-Eldin, S.M., Elkheshen, S.A., Ghorab, M.M., Inclusion complexes of tadalafil with natural and chemically modified β -cyclodextrins. I: Preparation and *in-vitro* evaluation, Eur. J. Pharm. Biopharm., 70, 819-827 (2008).

Barbaro, G., Barbarini, G., Calderon, W., Grisorio, B., Alcini, P., Di Lorenzo, G., Fluconazole versus itraconazole for Candida esophagitis in acquired immunodeficiency syndrome. Candida esophagitis, Gastroenterology, 111, 1169-1177 (1996).

Başaran, B., Sipprofloksasin ve Hidroksipropil-Beta-Siklodekstrin Kompleksini içeren Oftalmik *İnsitu* Jel Formülasyonlarının Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye (2005).

Becket, G., Schep, L.J., Tan, M.Y., Improvement of the *in vitro* dissolution of praziquantel by complexation with α -, β - and γ -cyclodextrins, Int. J. Pharm., 179, 65-71 (1999).

Behrens-Baumann, W., Mycosis of the Eye and Its Adnexa, Kargers Publisher, Basel, 27-51, 1999.

Bilensoy, E., Doğan, L., Şen, M., Hıncal, A., Complexation behaviour of antiestrogen drug tamoxifen citrate with natural and modified β -cyclodextrins, J. Incl. Phenom. Macro., 57, 651-655 (2007).

Bittner, B., Marlock, M., Koll, H., Winter, G., Kissel, T., Recombinant human aeythropoietin (rhEPO) loaded poly(lactide-co-glycolide)microspheres: influence of the encapsulation technique and polymer purity on microsphere characteristics, Eur. J. Pharm. Biopharm., 45, 295-305 (1998).

Braga, S.S., Ribeiro-Claro, P., Pilinger, M., Gonçalves, I.S., Fernandes, A.C., Pereira, F., Romao, C.C., Correia, P.B., Teixeira-Dias, J.J.C., Interactions of omeprazole and precursors with β -cyclodextrin host molecules, J. Incl. Phenom. Macro., 47, 47-52 (2003).

British Pharmacopaeia, 918-920, 1245-1247 (2008).

Brujin, P., Kehrler, D.F.S., Verweji, J., Sparreboom, A., Liquid chromatographic determination of ketoconazole a potent inhibitor of CYP3A4-mediated metabolism, J. Chromatogr. B, 753, 395-400 (2001).

Bulut, P., Dinçol, F., Oksolamin sitrat ile tablet yardımcı maddeleri arasındaki geçimsizliğin diferansiyel tarama kalorimetresi ile araştırılması, FABAD Farm. Bil. Der., 16, 209-214 (1991).

Cabral Marques, H.M., Hadgraft, J., Kellaway, I.W., Studies of cyclodextrin inclusion complexes. I. The salbutamol-cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC, Int. J. Pharm., 63 (3), 258-266 (1990).

Castillo, J.A., Palama-Canales, J., Garcia, J., Lastres, J.L., Bolas, F., Torrado, J.J., Preparation and characterization of albendazole β -cyclodextrin complexes, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 25 (12), 1241-1248 (1999).

Challa, R., Ahuja, A., Ali, J., Khar, R.K., Cyclodextrins in drug delivery: an updated review, *AAPS PharmSciTech.*, 6(2), 329-357 (2005).

Chen, Y., Felder, L., Jiang, X., Naidong, W., Determination of ketoconazole in human plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrophotometry, *J. Chromatogr. B*, 774, 67-78 (2002).

Çalış, S., Şumnu, M., Hıncal, A.A., Vajinal Yolla Kullanılan Topik İlaç Şekilleri, Formülasyonları, Uygulamaları ve Kontrolleri, *FABAD J. Pharm. Sci.*, 19, 85-95 (1994).

Değim, İ.T., Demiröz, F.T., İlbasmış, S.T., Acartürk, F., Development of controlled release sildenafil formulations for vaginal administration, *Drug Deliv.*, 15, 259-265 (2008).

Değim, T., Supozituarlar, In: *Modern Farmasötik Teknoloji*, Fersa Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 365-378 (2007).

Del Valle, E.M.M., Cyclodextrins and their uses: a review, *Process Biochem.*, 39, 1033-1046 (2004).

Demirel, M., Büyükköroğlu, G., Kalava, B.S., Yazan, Y., Enhancement in dissolution pattern of pribedil by molecular encapsulation with β -cyclodextrin, *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.*, 28 (2), 83-88 (2006).

Desai, S.R., Shaikh, M.M., Dharwadkar, Thermoanalytical study of polymorphic transformation in Fluconazole drug, *Thermochim. Acta*, 399, 81-89 (2003).

Doğanay T., Isıtma ve Kurutma, In: *Farmasötik Teknoloji-Temel Konular ve Dozaj Şekilleri*, A.Z., Gürsoy (Ed), Pıksel Bilişim Matbaacılık, Reklamcılık ve Filmcilik Hizmetleri Ltd. Şti., İstanbul, 45-54 (2004).

Duchéne, D., Wouessidjewe, D., Ponchel, G., Cyclodextrins and carrier systems, *J. Control. Release*, 62, 263-268 (1999).

European Pharmacopeia 5.0, 629-631, 2004.

Faergemann, J., Pharmacokinetics of fluconazole in skin and nails, J. Am. Acad. Dermatol., 40 (6), S14-S20 (1999).

Faergemann, J., Seborrheic Dermatitis (Dandruff), In: Cosmeceuticals: Drugs vs. Cosmetics, P., Elsner, H. I. Maibach (Eds.), Marcel Dekker Inc., New York, 197-202 (2000).

Farmalist Vademecum, Farmatıp Yayıncılık, Ankara, 2008.

Fernandes, C.M., Vieira, M.T., Veiga, F.J.B., Physicochemical characterization and *in vitro* dissolution behavior of nicardipin cyclodextrins inclusion compounds, Eur. J. Pharm. Sci., 15, 79-88 (2002).

Fluconazole Certificate of Analysis (2008).

Geçgil, Ş., Farmasötik Teknolojiye Başlangıç, Cihan Matbaacılık, İstanbul, 315-373, 1991.

Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, The Mc. Graw Companies Inc., 9.Basım, 1175-1190, 1995.

Hanh, B.D., Neubert, R.H.H, Wartewig, S., Investigation drug release from suspension using FTIR-ATR technique: Part I. Determination of effective diffusion coefficient of drugs, Int. J. Pharm., 204, 145-150 (2000).

Heeren, F., Taner, R., Theurillat, R., Thormann, W., Determination of fluconazole in human plasma by micellar electrokinetic capillary chromatography with detection at 190 nm, J. Chromatogr. A, 745, 165-172 (1996).

Higuchi, T., Connors, K.A., Phase solubility techniques, Adv. Anal. Chem. Instrum., 4, 117-210 (1965).

Höller, S., Valenta, C., Effect of selected fluorinated drugs in a “ringing” gel on rheological behaviour and skin permeation, Eur. J. Pharm. Biopharm., 66, 120-126 (2007).

http-1 Dissolution Methods, http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_SearchResults_Dissolutions.cfm?PrintAll=1 (20.01.2010).

ICH Topic Q2B, Validation of analytical procedures: Methodolgy, The European Agency for the evaluation of medicinal product, CPMP/ICH/281/95, Step 4, Consensus guideline, 6 November 1996.

Jianbin, C., Liang, C., Hao, X., Dongpin, M., Preparation and study on the inclusion complex of ciprofloxacin with β -cyclodextrin, Spectrochim. Acta A-M, 58, 2809-2815 (2002).

Jones, B.E., Capsules Hard, In: Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, J.Swarbrick (Eds.), Vol.1, Marcel Dekker, New York, 406-418 (1990).

Jovanović, D., Kilibarda, V., Ćirić, B., Vućinić, S., Srnić, D., Vehabović, M., Potogija, N., A randomized open-label pharmacokinetic comparison of two oral formulations of fluconazole 150 mg in healthy adult volunteers, Clin. Ther., 27 (10), 1588-1595 (2005).

Kang, J., Kumar, V., Yang, D., Chowdury, P.R., Hohl, R.J., Cyclodextrin complexation: influence on the solubility, stability and cytotoxicity of camptothecin, an antineoplastic agent, Eur. J. Pharm. Sci., 15, 163-170 (2002).

Karasulu, H.Y., Hilmioğlu, S., Metin, D.Y., Güneri, T., Efficacy of a new ketoconazole bioadhesive vaginal tablet on *Candida Albicans*, Il Farmaco, 59, 163-167 (2004).

Kibbe, A.H., Handbook of Pharmaceutical Excipients, American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press, Amerika, 392-398, 2000.

Kim, S-S., Im, H-T., Kang, I-M., Lee, H-S., Lee, H-W., Cho, S-H., Kim, J-B, Lee, K-T., An optimized analytical method of fluconazole in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection and its application to a bioequivalence study, J. Chromatogr. B, 852, 174-179 (2007).

Kuştimur, S., Kutluay, L., Yavuz, S., Flukonazol'un *Candida albicans* ve suşlarına etkinliğinin *in-vitro* mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılması, FABAD J Pharm. Sci., 18, 157-159 (1993).

Loftson, T., Brewster, M.E., Pharmaceutical applications of cyclodextrins 1. Drug solubilization and stabilization, J. Pharm. Sci., 85 (10), 1017-1025 (1996).

Loftson, T., Duchéne, D., Cyclodextrins and their pharmaceutical applications, Int. J. Pharm., 329, 1-11 (2007).

Logu, A.D., Fadda, A.N., Pellerano, M.L., Diana, G., Schivo, M.L., Prevention by L- α -phosphatidylcholine of antifungal activity *in vitro* of liposome-encapsulated imidazoles determined by using time-killing curves, Int. J. Antimicrob. AG., 15, 43-48 (2000).

Marangon, F.B., Miller, D., Giaconi, J.A., Alfonso, E.C., *In vitro* investigation of voriconazole susceptibility of keratitis and endophthalmitis fungal pathogens, Am. J. Ophthalmol., 137 (5), 820-825 (2004).

Marciniec, B., Dettlaff, K., Jaroszkiewicz, E., Bafeltowska, J., Radiochemical stability of fluconazole in the solid state, J. Pharmaceut. Biomed., 43, 1876-1880 (2007).

Martindale The Complete Drug References, 36. Basım, Pharmaceutical Press, Amerika (2009).

Mathy, F-X., Vroman, B., Ntivunwa, D., Winne, A.J.D., Verbeeck, R.K., Pr  at, V., On-line determination of fluconazole in blood and dermal rat microdialysates by microbore high-performance liquid chromatography, J. Chromatog. B, 787, 323-331 (2003).

Mididoddi, P.K., Repka, M.A., Characterization of hot-melt extruded drug delivery systems for onychomycosis, Eur. J. Pharm. Biopharm., 66, 95-105 (2007).

Micromedex, Pharmaceutical Press (2003).

Misiuk, W., Zalewska, M., Investigation of inclusion complex of trazodone hydrochloride with hydroxypropyl- β -cyclodextrin, Carbonhyd. Polym., 77, 482-488 (2009).

Mooter, G.V., Wuyts, M., Blaton, N., Busson, R., Grobet, P., Augustijns, P., Kinget, R., Physical stabilisation of amorphous ketoconazole in solid dispersions with polyvinylpyrrolidone K25, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 12, 261-269 (2001).

Moyano, J.R., Arias-Blanco, M.J., Gines, J.M., Giordano, F., Solid-state characterization and dissolution characteristics of gliclazide- β -cyclodextrin inclusion complexes, *Int. J. Pharm.*, 148, 211-217 (1997).

Nacsa, A., Ámbrus, R., Berkesi, O., Szabó-Révész, P., Aigner, Z., Water-soluble loratadine inclusion complex: Analytical control of the preparation by microwave irradiation, *J. Pharmaceut. Biomed.*, 48, 1020-1023 (2008).

Nagase, Y., Hirata, M., Wada, K., Arima, H., Hirayama, F., Irie, T., Kikuchi, M., Uekama, K., Improvement of some pharmaceutical properties of DY-9760e by sulfobutyl ether β -cyclodextrin, *Int. J. Pharm.*, 229, 163-172, (2001).

Nicolazzi, C., Venard, V., Le Faou, A., Finance, C., *In vitro* antiviral activity of the gancyclovir complexed with beta cyclodextrin on human cytomegalovirus strains, *Antivir. Res.*, 54, 121-127 (2002).

Oude Lashof, A.M.L., De Bock, R., Herbrecht, R., Pauw, B.E., Krcmery, V., Aoun, M., Akova, M., Cohen, J., Siffnerová, H., Egyed, M., Ellis, M., Marinus, A., Slyvester, R., Kullberg, B.J., An open multicenter comparative study of the efficiency, safety and tolerance of fluconazole and itraconazole in the treatment of cancer patients with oropharyngeal candidiasis, *Eur. J. Cancer*, 40, 1314-1319 (2004).

Owen, H.D., Katz, D.F., A vaginal fluid simulant, *Original Research Article*, 59, 91-95 (1999).

Özer. Ö., Rektal ve Vajinal Supozituarlar, In: *Farmasötik Teknoloji-Temel Konular ve Dozaj Şekilleri*, A.Z., Gürsoy (Ed), Pıksel Bilişim Matbaacılık, Reklamcılık ve Filmcilik Hizmetleri Ltd. Şti., İstanbul, 301-312 (2004).

Özyazıcı, M., Turgut, E.H., Taner, M.S., Köseoglu, K., Ertan, G., *In-vitro* evaluation and vaginal absorption of metronidazole suppositories in rabbits, *J. Drug Target.*, 11 (3), 177-185.

Porta, V., Chang, K.H., Storpirtis, S., Evaluation of the bioequivalence of capsules containing 150 mg of fluconazole, *Int. J. Pharm.*, 288, 81-86 (2005).

Rasheed, A., Kumar, A.C.K., Sravanthi, V.V.N.S.S., Cyclodextrins as drug carrier molecule: a review, *Sci. Pharm.*, 76, 567-598 (2008).

Rawat, S., Jain, S.K., Solubility enhancement of celecoxib using β -cyclodextrin inclusion complexes, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 57, 263-267 (2004).

Redenti, E., Ventura, P., Fronza G., Selva, A., Rivara, S., Plazzi, P.V., Mor, M., Experimental and theoretical analysis of the interaction of ($\pm$)-cis ketoconazole with β -cyclodextrin in the presence of ($\pm$)-L-tartaric acid, *J. Pharm. Sci.*, 88 (6), 599-607 (1999).

Redenti, E., Peveri, T., Zanol, M., Ventura, P., Gnappi, G., Montenero, A., A study on the differentiation between amorphous piroxicam: β -cyclodextrin complex and a mixture of the amorphous components, *Int. J. Pharm.*, 129, 289-294 (1996).

RxMediaPharma[®] (2009).

Selçuk, F., Atay, O., Noyanalpan, N., Qualitative and quantitative studies on the drugs containing N-substituted triazole structures, *FABAD J. Pharm. Sci.*, 20, 87-94 (1995).

Shabir, G.A., Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization, *J. Chromatogr. A*, 987, 57-66 (2003).

Shrum, J.P., Milikan, L.E., Oral Antifungal Therapy, In: *Drug Therapy in Dermatology*, L.E. Milikan (Eds.), Markel Decker Inc., New York, 79-102 (2000).

Singh, I., Aboul-Enein, H.Y., Pharmaceutical applications of cyclodextrins, *FABAD J. Pharm. Sci.*, 30, 214-221 (2005).

Skiba, M., Skiba-Lahiani, M., Marchais, H., Duclos, R., Arnaud, P., Stability assesment of ketoconazole in aqueous formulations, *Int. J. Pharm.*, 198, 1-6 (2000).

Stancanelli, R., Ficarra, R., Cannava, C., Guardo, M., Calabro, M.L., Ficarra, P., Ottana, R., Maccari, R., Crupi, V., Majolino, D., Venuti, V., UV-vis and FTIR-ATR characterization of 9-fluorenon-2-carboxyester/(2-hydroxypropyl)- β -cyclodextrin inclusion complex, *J. Pharmaceut. Biomed.*, 47, 704-709 (2008).

Staub, I., Schapoval, E.E.S., Bergold, A.M., Microbiological assay of ketoconazole shampoo, *Int. J Pharm.*, 292, 195-199 (2005).

Sun, S., Lou, H., Gao, Y., Fan, P., Ma, B., Ge, W., Wang, X., Liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for the analysis of fluconazole and evaluation of the impact of phenolic compounds on the concentration of fluconazole in *Candida albicans*, *J. Pharmaceut. Biomed.*, 34, 117-1124 (2004).

Taneri, F., Güneri, T., Aigner, Z., Berkesi, O., Kata, M., Thermoanalytical studies on complexes of ketoconazole with cyclodextrin derivatives, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 74, 769-777 (2003).

The Merck Index, Merck & Co., Inc., Rahway, New Jersey, 4058-5183, 1989.

Upadhyay, S.K., Kumar, G., NMR and molecular modelling studies on the interaction of fluconazole and β -cyclodextrin, *Chem. Cent. J.*, 3, 1-9 (2009).

USP 31 (The United States Pharmacopeia), 26.Basım (NF 26), 238-243, 267-274, 2488-2490, 2008.

Velikinac, I., Čudina, O., Janković, I., Agbaba, D., Vladimirov, S., Comparison of capillary zone electrophoresis and high performance liquid chromatography methods for quantitative determination of ketoconazole in drug formulations, *Il Farmaco*, 59 (5), 419-424 (2004).

Vertzoni, M. V., Reppas, C., Archontaki, H.A., Optimization and validation of a high-performance liquid chromatographic method with UV detection for the determination of ketoconazole in canine plasma, *J. Chromatogr. B*, 839, 62-67 (2006).

Vyas, A., Saraf, S., Saraf, S., Cyclodextrin based novel drug delivery systems, *J. Incl. Phenom. Macro.*, 62, 23-42 (2008).

Wang, L., Tang, X., A novel ketoconazole bioadhesive effervescent tablet for vaginal delivery: Design, *in vitro* and *in vivo* evaluation, Int. J. Pharm., 350, 181-187 (2008).

Wen, X., Tan, F., Jing, Z., Liu, Z., Preparation and study the 1:2 inclusion complex of carvediol with β -cyclodextrin, J. Pharmaceut. Biomed., 34, 517-523 (2004).

Yazan, Y., Sumnu, M., Improvement in the dissolution properties of theophylline with β -cyclodextrin, S.T.P. Pharm. Sci., 4 (2), 128-132 (1994).



2nd

PHARMSciFAIR

Premier European Platform for Advancing Pharmaceutical Sciences

June 8-12 • 2009 • Nice • France

Initiated and organised by:
The European Federation for Pharmaceutical Sciences (EUFEPS),
several member societies and other proactive
scientific organisations

[HSPC], respectively), cholesterol and DOTAP (62.5/32.5/5), were freeze-dried with 2 lyoprotectants. The sizes, before and after freeze-drying, were measured with the Nanosizer ZS.

Ratios of lyoprotectants (lyoprotectant/lipid expressed in mass ratio) required to stabilise the size are indicated on table.

	Trehalose	Sucrose
EPC 5mM	15:1	10:1
SPC 5mM	10:1	5:1
SPC 10mM	5:1	ND
SPC 15mM	5:1	ND
SPC 20mM	3:1	ND

Dilution of the lipid content from 20mM to 5 mM was related with a destabilisation global effect ($p < 0.001$) and required higher lyoprotectant ratio to limit size increase. In the case of HSPC, slow (versus fast) cooling rate ($p < 0.05$), use of trehalose instead of sucrose ($p < 0.05$) and increase in the lyoprotectant ratio ($p < 0.001$) limited the size increase but all batches failed to maintain the initial size. On the contrary, SPC and EPC met the size-stabilisation criteria.

This work highlights the importance of initial lipid concentration, related to a probable bulk-effect, and differences between PC related to their rigidity. Further studies could be carried out to assess the influence of an encapsulated compound.

P-289

Inclusion complexes of oral chemotherapeutic exemestane with cyclodextrins: characterization and phase solubility studies

*Yavuz, Burcin; Bilensoy, Erem; Sumnu, Murat
Hacettepe University, Faculty of Pharmacy,
Pharmaceutical Technology, Ankara, Turkey*

Exemestane(EXE) is an irreversible aromatase inactivator used for the treatment of advanced postmenopausal breast cancer. EXE is orally active but its bioavailability is about 5% due to its low solubility in water. It is known that cyclodextrin(CD) complexation enhances oral bioavailability of poorly soluble drugs. Thus, it was aimed to design and develop CD complexes containing EXE to improve aqueous solubility and oral bioavailability. In this study, EXE's inclusion complexes were prepared and characterized. Phase solubility studies showed that the solubility of EXE increased linearly as a function of the CD concentration, a feature of AL-type complexes. The inclusion complexes of EXE with either methyl- β -cyclodextrin(M- β -CD), hydroxypropyl- β -cyclodextrin(HP- β -CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin(HP- β -CD) were prepared by both kneading and coprecipitation method and the molar ratio of EXE:CDs were 1:1. All complexes and physical mixtures were

characterized by Differential scanning calorimetry(DSC), Fourier transformation-infrared spectroscopy(FTIR), Scanning electron microscopy(SEM), ¹H NMR spectrometry and X-Ray diffractometry. Both phase solubility studies and characterization methods showed that the best results were obtained by kneading method and M- β -CD indicating that EXE:M- β -CD(1:1) kneaded complex might be an alternative to enhance EXE's oral bioavailability.

P-290

Preparation and characterization of β -cyclodextrin complexes toward improving physicochemical properties of ketoconazole

*Demirel, M.; Genç, L.; Yurtdağ, G.
Anadolu University, Faculty of Pharmacy,
Pharmaceutical Technology, Eskişehir, Turkey*

Ketoconazole (KET) is an imidazole antifungal agent with a broad spectrum of activity which is administered topically and also orally. It is taken orally for the treatment of chronic mucocutaneous candidiasis, dermatophyte infections of the skin, fungal infections of the gastrointestinal tract and some other systemic infections. Because of its variable absorption from the gastrointestinal tract and slow therapeutic response, KET should not be used for the treatment of life-threatening fungal infections.

The aim of this study was to prepare an inclusion complex of KET and β -cyclodextrin (β -CD), to improve the physicochemical and biopharmaceutical properties of KET. A linear increase in KET solubility as a function of β -CD concentration was verified using the phase-solubility diagram. The resulting diagram was classified as AL type, is generally related to the formation of a soluble complex.

Complexes were prepared in a 1/1 molar ratio by different methods, namely kneading, co-evaporation, spray-drying and freeze-drying. The physicochemical properties of the complex obtained were characterized by differential scanning calorimetry (DSC), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffractometry (PXRD) and ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H NMR and ¹³C NMR). Characterization studies provided additional evidences of complexation.

P-291

Pilocarpin HCl-loaded polymeric and lipid nanoparticles for ophthalmic application

*Genç, L.; Demirel, M.
Anadolu University, Faculty of Pharmacy,
Pharmaceutical Technology, Eskişehir, Turkey*

Pilocarpine (PLC) is used topically in the treatment of glaucoma. High of PLC concentrations in the eye cause undesirable

**ANKARA UNIVERSITY
FACULTY OF PHARMACY**



**9TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON
PHARMACEUTICAL SCIENCES**

ISOPS-9

PROCEEDINGS AND ABSTRACTS

JUNE 23-26, 2009

ANKARA – TURKEY



PHASE SOLUBILITY AND CHARACTERIZATION OF β -CYCLODEXTRIN/FLUCONAZOLE INCLUSION COMPLEX

L. Genç, M. Demirel, G. Yurtdaş

Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Eskişehir, Türkiye

Fluconazole (FZ) is a triazole antifungal drug whose efficacy is limited with its poor aqueous solubility and low dissolution rate¹⁻³. The aim of this study was to prepare an inclusion complex of FZ and β -cyclodextrin (β -CD) to improve the physicochemical and biopharmaceutical properties of FZ. The effect of β -CD on the solubility of FZ was investigated according to the phase solubility technique⁴. Excess amounts of FZ were added to either distilled water or aqueous solutions containing increasing concentrations of the β -CD. The suspensions obtained were shaken at ambient temperature for 4 days in a horizontal shaker. After equilibrium was attained aliquots were withdrawn, filtered and assayed with HPLC (n=3).

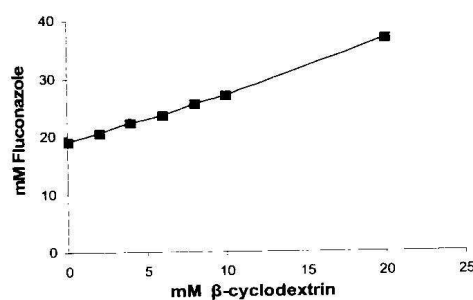


Figure 1. Phase solubility diagram for β -CD/FZ host-guest system.

Complexes were prepared in a 1/1 molar ratio using different methods, namely kneading, co-evaporation, spray-drying and freeze-drying^{3,5}. Physicochemical properties of the complexes obtained were determined by DSC, FTIR, XRD and ¹H NMR and ¹³C NMR³.

Phase solubility diagram of the β -CD/FZ system (Figure 1) verified that the solubility of FZ increased linearly with increasing β -CD concentration. The diagram can be classified as A_L type which is related to the formation of a soluble inclusion complex. Characterization studies provided additional evidences of complexation.

1. Martindale, Thirty-second edition, 383-384 (1999).
2. Goodman-Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Edition 9, 1175-1190, 1996.
3. Al-Marzouqi, A.H., Elwy, H.M., Shehadi, I., Adem, A., J Pharm Biomed Anal, 49, 227-233 (2009).
4. Higuchi, T., Connors, K.A., Adv Anal Chem. Instrumentation 4, 117-212 (1965).
5. Challa, R., Ahuja, A., Ali, J., Khar, R., AAPS Pharm Sci Tech., 6 (2), 329-357 (2005).