

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RASAJİLİN İÇEREN AĞIZDA DAĞILAN TABLET  
FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ,  
İN VİTRO VE İN VİVO DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Ecz. Ertan ÖZDEMİR**

**Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı**

**DOKTORA TEZİ**

**ANKARA**

**2023**



T.C  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RASAJİLİN İÇEREN AĞIZDA DAĞILAN TABLET  
FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ,  
İN VİTRO VE İN VİVO DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Ecz. Ertan ÖZDEMİR**

**Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı**

**DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Selma ŞAHİN**

**ANKARA**

**2023**

**RASAJİLİN İÇEREN AĞIZDA DAĞILAN TABLET FORMÜLASYONLARININ  
GELİŞTİRİLMESİ, İN VİTRO VE İN VİVO DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Ecz. Ertan Özdemir**

**Danışman: Prof. Dr. Selma Şahin**

Bu tez çalışması 16.01.2023 tarihinde jürimiz tarafından "Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı" nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir

- Jüri Başkanı:** *Prof. Dr. Sevda Şanel*  
*Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji*  
*Anabilim Dalı*
- Üye:** *Prof. Dr. Sevgi Takka*  
*Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji*  
*Anabilim Dalı*
- Üye:** *Prof. Dr. Zeynep Şafak Teksin*  
*Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji*  
*Anabilim Dalı*
- Üye:** *Prof. Dr. İmran Vural*  
*Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji*  
*Anabilim Dalı*
- Üye:** *Doç. Dr. Tuğba Gülsün İnal*  
*Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji*  
*Anabilim Dalı*

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur

15 Şubat 2023

*Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN*

**Enstitü Müdürü**

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- o Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>

16/02/2023

**Ertan ÖZDEMİR**

<sup>1</sup>“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

(1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.

(2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.

(3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.

Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

\* **Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.**

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Prof. Dr. Selma şahin danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

**Ertan ÖZDEMİR**

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince bana her zaman her konuda yardımcı olan, daima hoşgörölü, anlayışlı ve sabırlı bir şekilde desteklerini esirgemeyen değerli hocam Sn. Prof. Dr. Selma ŞAHİN'e içtenlikle sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Doktora sürecim boyunca sürekli desteklerini gördüğüm başta Dr. Tuğba Gülsün İnal ve Dr. Nihan İzat olmak üzere Prof. Dr. Hakan Eroğlu, Dr. Selin Seda Doğan, Dr. Nazlı Erdoğan'a ve tez kapsamında deneysel çalışmalarımın yapılmasına olanak sağlayan Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Hocalarıma ve çalışmalarım da emekleri geçen tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

San-Tez projesi (00731.STZ.2010-2) kapsamında öncelikle proje yürütücüsü Prof. Dr. Sevda Şenel ile Sanayi ve Ticaret Bakanlığı ve Abdi İbrahim İlaç San. ve Tic. A.Ş.'ye desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmalarımın için proje desteği (TDK-2018-17258) sağlayan Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Tez izleme komitesindeki Prof. Dr. Sevgi Takka ile jüri üyeleri Prof. Dr. Zeynep Şafak Teksin ve Prof. Dr. İmran Vural hocalarıma teşekkür ederim.

Hayatımın her anında bana inanan ve beni destekleyen eşim Arzu Özdemir ile annem Zekiye Özdemir ve babam Elvan Özdemir'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Tezimi oğlum Uraz Demir Özdemir'e ithaf ediyorum.

## ÖZET

**Özdemir, E., Rasajilin İçeren Ağızda Dağılan Tablet Formülasyonlarının Geliştirilmesi, İn Vitro ve İn Vivo Değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı Doktora Tezi, Ankara, 2023.** Parkinson hastalığı, çoğunlukla motor hareketlerin, konuşmanın ve diğer fonksiyonların zayıfladığı, sinir sisteminin nörodejeneratif bir hastalığıdır. MAO-B enziminin dopamin metabolizmasında rolü nedeniyle, MAO-B inhibitörleri parkinson hastaları için önemli terapötik gelişmelerdir. Selejiline göre etkili ve daha selektif MAO-B inhibitörü olan rasajilin mesilatın ticari bir ODT formu mevcut değildir. Bu tez kapsamında, parkinson hastalığının tedavisinde kullanılmak üzere rasajilin içeren ağızda dağılan tablet formülasyonları geliştirilmesi amaçlanmıştır. Farklı dağıtıcı/süperdağıtıcı içeren plasebo ODT tabletleri geliştirilerek toz ve tablet kontrollerinden elde edilen sonuçlar doğrultusunda optimum ODT formülasyonu belirlenmiştir. Optimum ODT formülüne rasajilin eklendikten sonra toz ve tablet kontrolleri yapılmıştır. Ayrıca rasajilin intestinal permeabilitesini tayin etmek için Caco-2 hücreleri ve intestinal perfüzyonu yapılmıştır. Rasajilin hepatic disposizyonu *in situ* karaciğer perfüzyonu yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Optimum ODT formülasyonunun (ODT-9R) dağılma süresi  $10,67 \pm 1,04$  sn olarak tayin edilmiştir. İçerelik tekdüzeliği  $\%101 \pm 4,8$ 'dir. Çözünme hızı çalışmaları üç farklı ortamda (distile su, 0,1N HCl, pH 6,8 fosfat tamponu) gerçekleştirilmiş ve ilk 5 dakikada rasajilin yaklaşık  $\%100$ 'ü çözülmüştür. ODT-9R formülasyonunun Caco-2 hücre hattında permeabilitesi ( $5,624 \times 10^{-5} \pm 7,88 \times 10^{-6}$  cm/sn) eksipiyonların etkisiyle anlamlı derecede artmıştır ( $p < 0,05$ ). ODT-9R formülasyonunun intestinal permeabilite değerleri ( $3,73 \times 10^{-4}$ ,  $5,89 \times 10^{-4}$ , ve  $3,27 \times 10^{-4}$  cm/sn) jejunum, ileum ve kolonda artış göstermiştir. Eritrosit ve Evans mavisi ile karşılaştırıldığında, rasajilin karaciğerde daha geniş bir alana dağılmış, hepatic ekstraksiyonu  $0,404 \pm 0,060$ , hepatic klerensi ise  $0,101 \pm 0,015$  mL/sn olarak tayin edilmiştir. Tez çalışmalarından elde edilen bulgular doğrultusunda hedeflenen amaca uygun bir rasajilin ODT formülasyonu geliştirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ağızda dağılan tablet, Bağırsak perfüzyonu, Caco-2, Karaciğer perfüzyonu, Rasajilin

*Söz konusu tez, SANTEZ (00731.STZ.2010-2) ve HÜBAB (TDK-2018-17258) ile desteklenmiştir.*



## ABSTRACT

**Özdemir, E., Development of Orally Disintegrating Tablets Containing Rasagiline, In Vitro and In Vivo Evaluations, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, Biopharmaceutics and Pharmacokinetics Programme, Ph.D. Thesis, Ankara, 2023.** Parkinson's disease is a neurodegenerative disease of the nervous system, in which mostly motor movements, speech and other functions are impaired. Because of the role of the MAO-B enzyme in dopamine metabolism, MAO-B inhibitors are important therapeutic advances for Parkinson's patients. There is no commercial ODT form of rasagiline mesylate, which is an effective and more selective MAO-B inhibitor than selegiline. In this thesis, it is aimed to develop orally disintegrating tablet formulations containing rasagiline for use in the treatment of Parkinson's disease. Placebo ODT tablets containing different dispersants/superdispersants were developed and the optimum ODT formulation was determined in line with the results obtained from powder and tablet controls. After adding rasagiline to the optimum ODT formula, powder and tablet controls were made. In addition, Caco-2 cells and intestinal perfusion were performed to determine the intestinal permeability of rasagiline. The hepatic disposition of rasagiline was studied using the *in situ* liver perfusion method. The disintegration time of the optimum ODT formulation (ODT-9R) was determined as  $10.67 \pm 1.04$  s. Content uniformity is  $101.7 \pm 4.8$ . Dissolution studies were performed in three different media (distilled water, 0.1N HCl, pH 6.8 phosphate buffer) and approximately 100% of rasagiline was dissolved in the first 5 minutes. The permeability of the ODT-9R formulation in the Caco-2 cell line ( $5.624 \times 10^{-5} \pm 7.88 \times 10^{-6}$  cm/s) increased significantly with the effect of excipients ( $p < 0.05$ ). Intestinal permeability values of the ODT-9R formulation increased ( $3.73 \times 10^{-4}$ ,  $5.89 \times 10^{-4}$ , ve  $3.27 \times 10^{-4}$  cm/s) across jejunum, ileum and colon. Compared with erythrocyte and Evans blue, rasagiline was more widely distributed in the liver, hepatic extraction was determined as  $0.404 \pm 0.060$ , and hepatic clearance was determined as  $0.101 \pm 0.015$  mL/s. In line with the findings obtained from the thesis studies, a rasagiline ODT formulation suitable for the targeted purpose was developed.

**Key words:** Orally disintegrating tablet, Intestinal perfusion, Caco-2, Liver perfusion, Rasagiline

*The thesis in question was supported by SANTEZ (00731.STZ.2010-2) and HÜBAB (TDK-2018-17258).*

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xiii
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xviii
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	4
2.1. Ağızda Dağılan Tabletler	4
2.1.1. Ağızda Dağılan Tablet Formülasyonlarında İstenen Özellikler	6
2.1.2. Ağızda Dağılan Tabletlerin Üstünlükleri	7
2.1.3. Ağızda Dağılan Tabletlerin Kısıtlamaları	8
2.1.4. ODT Formülasyonları için Etkin Madde Seçimi	8
2.1.5. ODT'lerde Tat Maskeleyme	9
2.1.6. ODT Formülasyonlarında Kullanılan Süperdağıtıcılar	10
2.1.7. ODT Formülasyonlarının Üretim Teknolojileri	13
2.1.8. Piyasada Bulunan ODT Preparatları	24
2.1.9. Ağızda Dağılan Tabletlerde Yapılan Kontroller	30
2.2. Parkinson	31
2.2.1. Parkinson Hastalığının Teşhis ve Tedavisi	34

2.3. Rasajilin	39
2.3.1. Fizikokimyasal Özellikleri	43
2.3.2. Farmakolojik Özellikler	44
2.3.3. Farmakokinetik Özellikler	46
2.3.4. Yan Etkileri ve Kontrendikasyonları	47
2.3.5. Kullanım Dozu	48
2.3.6. Piyasa Preparatları	48
2.4. Permeabilite Tayini	49
2.4.1. Hücre Kültürü Çalışmaları	50
2.4.2. In Situ Üçlü Bağırsak Perfüzyonu Çalışmaları	53
2.5. In Situ Karaciğer Perfüzyonu Çalışmaları	54
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>57</b>
3.1. Kullanılan Kimyasal/ Biyolojik Maddeler	57
3.1.1. Deney Hayvanı	58
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	58
3.3. Analitik Yöntem Geliştirilmesi ve Validasyonu	59
3.3.1. Analitik Yöntem Validasyonu	60
3.4. Formülasyon Çalışmaları	65
3.4.1. Eksipiyanların Seçimi	65
3.4.2. Direkt Basım Yöntemine Uygun ODT Formülasyonlarının Geliştirilmesi	66
3.4.3. Tozların Fiziksel Özelliklerinin Tayini	68
3.4.4. Ağızda Dağılan Tabletlerde Yapılan Kontroller	69
3.5. Hücre Kültürü Çalışmaları	75
3.6. Organ Perfüzyonu Çalışmaları	77
3.6.1. In Situ Üçlü Bağırsak Perfüzyonu Çalışmaları	77

3.6.2. In Situ Karaciğer Perfüzyonu Çalışmaları	81
3.7. İstatistiksel Analiz	86
<b>4. BULGULAR</b>	87
4.1. Analitik Yöntem Geliştirilmesi ve Validasyonu	87
4.1.1. Formülasyon Çalışmaları	87
4.1.2. Hücre Kültürü ve Perfüzyon Çalışmaları	94
4.2. Formülasyon Çalışmaları	120
4.2.1. Tozların Fiziksel Özelliklerinin Tayini	120
4.2.2. Ağızda Dağılan Tabletlerde Yapılan Kontrol Testleri	122
4.3. Hücre Kültürü Çalışmaları	135
4.4. Organ Perfüzyonu Çalışmaları	136
4.4.1. In Situ Üçlü Bağırsak Perfüzyonu Çalışmaları	136
4.4.2. In Situ Karaciğer Perfüzyonu Çalışmaları	140
<b>5. TARTIŞMA</b>	143
5.1. Analitik Yöntem ve Validasyonu	143
5.2. Formülasyon Çalışmaları	144
5.2.1. Tablet Basım Yönteminin Seçilmesi	144
5.2.2. Yardımcı Maddelerin Seçimi	144
5.2.3. ODT Toz Karışımlarının Fiziksel Özelliklerinin Değerlendirilmesi	147
5.2.4. Ağızda Dağılan Tabletlerde Yapılan Karakterizasyon Çalışmalarının Değerlendirilmesi	149
5.2.5. Optimum Formülasyonda Gerçekleştirilen Çalışmalar	152
5.3. Permeabilite Sonuçlarının Değerlendirilmesi	157
5.4. Hepatik Dispozisyon Çalışmalarının Değerlendirilmesi	159
<b>6. SONUÇLAR</b>	161

<b>7. KAYNAKLAR</b>	163
<b>8. EKLER</b>	177
EK I-Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul İzni	
EK II-Turnitin Dijital Makbuz	
EK III-Tez Çalışması Orjinallik Raporu	
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	181

## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>AUC</b>	Eğri altında kalan alan
<b>BCS</b>	Biyofarmasötik sınıflandırma sistemi
<b>BDDCS</b>	Biyofarmasötik ilaç dispozisyon sınıflandırma sistemi
<b>Caco-2</b>	Kolorektal adenokarsinoma hücreleri
<b>CL</b>	Klerens
<b>COMT</b>	Katekol-o-metiltransferaz
<b>EMA</b>	Avrupa ilaç ajansı
<b>EP</b>	Avrupa farmakopesi
<b>FBS</b>	Fetal bovin serum
<b>FDA</b>	Amerika gıda ve ilaç idaresi
<b>HBSS</b>	Hanks dengeli tuz çözeltisi
<b>HPLC</b>	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
<b>LLOQ</b>	Tayin edilebilirlik sınırı
<b>LOD</b>	Saptanabilirlik sınırı
<b>MAO</b>	Monoamin oksidaz
<b>MTT</b>	Ortalama geçiş zaman
<b>NWF</b>	Net su akışı
<b>OBH</b>	Ortalama bağıl hata
<b>ODT</b>	Ağızda dağılan tablet
<b>P<sub>app</sub></b>	Görünür permeabilite katsayısı
<b>PD</b>	Parkinson hastalığı
<b>P<sub>eff</sub></b>	Efektif permeabilite katsayısı
<b>RSD</b>	Relative standart sapma
<b>SS</b>	Standart sapma
<b>TEER</b>	Transepitelyal elektrik rezistansı
<b>VK</b>	Varyasyon katsayısı

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Süperdağıtıcıların etki mekanizmaları: a) Kapiller etki, b) Şişme, c) Deformasyon, d) İtme	11
2.2. Parkinson hastalığı olmayan ve Parkinson hastalığı olan bir beynin substantia nigra kısımlarının karşılaştırılması	33
2.3. Parkinson hastalığında dopaminin azalması ve oluşan semptomlar	33
2.4. Rasajilinin etki mekanizması	40
2.5. Rasajilin mesilatın kimyasal yapısı	43
2.6. Rasajilin, selejilin ve metabolitleri ait kimyasal yapıları	45
2.7. Caco-2 hücrelerinin farklılaşması	50
2.8. Caco-2 hücre hattında bulunan metabolik enzimler ve ilaç taşıyıcı proteinler	51
2.9. Caco-2 hücre taşıma sisteminin şematik gösterimi (bir tek transwell)	53
3.1. Perfüzyon sistemi ve cerrahi yöntemin şematik olarak gösterilmesi	79
3.2. Karaciğerin portal venden perfüzyonu amacıyla yapılan cerrahi işlemler	84
4.1. Asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65, h:h) mobil faz sisteminde rasajiline (10 µg/mL) ait HPLC kromatogramı.	87
4.2. Rasajilinin asetonitril:tampon (pH:6,2) mobil faz sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemi (ortalama ±SS; n=6)	88
4.3. Asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65, h:h) mobil faz sistemindeki çözücüye (asetonitril-su) ait HPLC kromatogramı	89
4.4. Asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65, h:h) mobil faz sistemindeki plasebo ODT-9'a ait HPLC kromatogramı	89
4.5. Asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65, h:h) mobil faz sisteminde rasajilin içeren ODT-9R'a ait HPLC kromatogramı	90
4.6. Rasajilinin (5µg/mL) hücre kültürü ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı (rasajilinin alıkonma zamanı: 6.189 dk)	95
4.7. Rasajilinin hücre kültürü ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemi (ortalama ±SS; n=6)	95

4.8.	Rasajilinin (125 µg/mL) bağırsak perfüzyonu ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı (rasajilinin alıkonma zamanı: 5,58 dk)	96
4.9.	Rasajilinin bağırsak perfüzyonu ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemi (ortalama ±SS; n=6)	96
4.10.	Metoprolol tartaratın (125 µg/mL) bağırsak perfüzyonu ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı (metoprolol tartaratın alıkonma zamanı: 3,28 dk)	97
4.11.	Metoprolol tartaratın bağırsak perfüzyonu ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemi (ortalama ±SS; n=6)	97
4.12.	Fenol kırmızısının (125 µg/mL) bağırsak perfüzyonu ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı (fenol kırmızısı alıkonma zamanı: 1,97 dk)	98
4.13.	Fenol kırmızısının bağırsak perfüzyonu ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemi (ortalama ±SS; n=6)	98
4.14.	Sıçan eritrositlerin 300-600 nm dalga boyu aralığındaki UV spektrumu	99
4.15.	Karaciğer perfüzyonu çalışmalarında kullanılan eritrositlerin tayini amacıyla kullanılan kalibrasyon doğrusu ve denklemi ( $\lambda_{maks}=412$ nm)	99
4.16.	Evans mavisinin 400-800 nm dalga boyu aralığında UV spektrumu	100
4.17.	Karaciğer perfüzyonu çalışmalarında kullanılan Evans mavisinin tayini amacıyla kullanılan kalibrasyon doğrusu ve denklemi ( $\lambda_{maks}=607$ nm)	100
4.18.	Hücre kültürü ortamın (25 mM D-glikoz ve 10 mM HEPES içeren HBSS transport ortamı) asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı	101
4.19.	Hücre kültürü ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65, h:h) mobil faz sistemindeki plasebo ODT-9'a ait HPLC kromatogramı	102
4.20.	Hücre kültürü ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65, h:h) mobil faz sisteminde rasajilin içeren ODT-9R'a ait HPLC kromatogramı	102
4.21.	Bağırsak perfüzyonu çalışmalarında kullanılan ortamın (MES tamponu, referans maddeler olmadan) asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı	103
4.22.	Bağırsak perfüzyonu ortamı ve metanol karışımının asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı	103
4.23.	Bağırsak perfüzyonu ortamındaki fenol kırmızısı (100 µg/mL ), metoprolol tartarat (125 µg/mL) ve rasajilinin (50 µg/mL)	104



asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65: h:h)) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramları (alikonma zamanları; fenol kırmızısı:1,97 dk; metoprolol tartarat: 3,28 dk; rasajilin:5,58 dk)	
<b>4.24.</b> Karaciğer perfüzyon çalışmalarında kullanılan ortamın (Krebs bikarbonat çözeltisi) asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı	105
<b>4.25.</b> Karaciğer perfüzyon ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sisteminde rasajilinin HPLC kromatogramı	105
<b>4.26.</b> Plasebo ODT'lere ait kalınlık ölçüm sonuçları (ortalama $\pm$ SS; n=10)	124
<b>4.27.</b> Plasebo ODT'lere ait çap ölçüm sonuçları (ortalama $\pm$ SS; n=10)	124
<b>4.28.</b> Plasebo ODT'lere ait sertlik analiz sonuçları (ortalama $\pm$ SS; n=10)	125
<b>4.29.</b> Plasebo ODT'lere ait friyabilite analiz sonuçları (ortalama $\pm$ SS)	125
<b>4.30.</b> Plasebo ODT'lere ait ıslanma süreleri analiz sonuçları (ortalama $\pm$ SS; n=3)	126
<b>4.31.</b> Plasebo ODT'lere ait su absorplama kapasitesi analiz sonuçları (ortalama $\pm$ SS; n=3)	127
<b>4.32.</b> Plasebo ODT'nin zamana bağlı olarak (0-75sn) ıslanma ve su absorpsiyonunu gösteren görseller	127
<b>4.33.</b> Plasebo ODT'lerin dağılma zamanına ait sonuçlar (ortalama $\pm$ SS; n=6)	128
<b>4.34.</b> Geliştirilen ODT'lerin dağılma zamanı ve ıslanma zamanı arasındaki ilişki.	128
<b>4.35.</b> Rasajilin mesilata ait FT-IR spektrumu	131
<b>4.36.</b> Plasebo ODT-9'a ait FT-IR spektrumu	131
<b>4.37.</b> Rasajilin içeren ODT-9R'a ait FT-IR spektrumu	132
<b>4.38.</b> ODT-9R formülasyonunun üç farklı ortamdaki çözünme hızı profilleri (ortalama $\pm$ SS; n=6)	134
<b>4.39.</b> Rasajilin ve rasajilin içeren ağızda dağılan tablet formülasyonunun (ODT-9R) Caco-2 hücre hattında apikalden bazolaterale doğru permeabilite bulguları (ortalama $\pm$ SS; n=6)	136
<b>4.40.</b> Rasajilinin ve metoprolol tartaratın farklı bağırsak segmentlerindeki (ileum, jejunum ve kolon) permeabilitesi (ortalama $\pm$ SS; n=6)	137
<b>4.41.</b> Metoprolol tartarat ve rasajilin içeren ODT-9R'ın farklı bağırsak segmentlerindeki (ileum, jejunum ve kolon) permeabilitesi (ortalama $\pm$ SS; n=6)	138

<b>4.42.</b>	Rasajilin ve rasajilin içeren ODT-9R'ın farklı bağırsak segmentlerindeki (ileum, jejunum ve kolon) permeabilitesi (ortalama±SS; n=6)	138
<b>4.43.</b>	Metoprolol tartarat, rasajilin ve rasajilin içeren ODT-9R'ın farklı bağırsak segmentlerindeki (ileum, jejunum ve kolon) permeabilitesi (ortalama±SS; n=6)	139
<b>4.44.</b>	Rasajilin portal venden bolus enjeksiyonu sonrası hepatik dilüsyon profili (ortalama ± SS; n=6)	141
<b>4.45.</b>	Eritrositlerin portal venden bolus enjeksiyonu sonrası hepatik dilüsyon profili	142
<b>4.46.</b>	Evans mavisinin portal venden bolus enjeksiyonu sonrası hepatik dilüsyon profili	142

## TABLOLAR

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
2.1. Farklı süperdağıtıcılar ve özellikleri	12
2.2. Türkiye’de bulunan ODT’lere örnekler	25
2.3. Dünya piyasasında bulunan ODT’lere örnekler	29
2.4. Patentli ODT teknolojilerine örnekler	30
2.5. Parkinson tedavisinde kullanılan ilaçlar, kullanım dozları ve olası etkileri	36
2.6. Rasajilin Mesilatın fizikokimyasal özellikleri	44
2.7. Türk ilaç piyasasındaki rasajilin içeren preparatlar	49
3.1. Rasajilinin HPLC ile miktar tayinininde kullanılan kromatografik koşullar	60
3.2. Plasebo ODT formülasyonlarının kalitatif/kantitatif bileşimleri ve ekspiyanların formülasyondaki fonksiyonları	67
3.3. ODT-9 ve ODT-9R Formülasyonları	71
3.4. Bağırsak perfüzyonu çalışmalarında kullanılan perfüzyon çözeltisinin bileşimi	77
3.5. Karaciğer perfüzyonu çalışmalarında kullanılan perfüzyon çözeltisinin bileşimi.	81
4.1. Rasajiline ait doğrusallık bulguları (n=6)	90
4.2. Rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemle ait doğruluk bulguları (n=6)	91
4.3. Rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar edilebilirlik bulguları (ortalama±SS; n=6)	92
4.4. Rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar elde edilebilirlik bulguları (ortalama±SS; n=6)	93
4.5. Rasajilinin analiz süresinde dayanıklılığını göstermek amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular (n=6)	94
4.6. Hücre kültürü çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin doğrusallık bulguları (n=6)	106

- 4.7. Perfüzyon çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilin, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısının tayininde kullanılan analitik yöntemin doğruluk bulguları (n=6) 107
- 4.8. Hücre kültürü çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilin tayininde kullanılan analitik yöntem a ait doğruluk bulguları (n=6) 108
- 4.9. Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilin tayininde kullanılan analitik yöntem a ait doğruluk bulguları (n=6) 109
- 4.10. Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki metoprolol tartaratın tayininde kullanılan analitik yöntem a ait doğruluk bulguları (n=6) 109
- 4.11. Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki fenol kırmızısının tayininde kullanılan analitik yöntem a ait doğruluk bulguları (n=6) 110
- 4.12. Hücre kültürü çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar edilebilirlik bulguları (n=6) 111
- 4.13. Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar edilebilirlik bulguları (n=6) 112
- 4.14. Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki metoprolol tartaratın tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar edilebilirlik bulguları (n=6) 113
- 4.15. Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki fenol kırmızısının tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar edilebilirlik bulguları (n=6) 114
- 4.16. Hücre kültürü çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar elde edilebilirlik bulguları (n=6) 115
- 4.17. Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar elde edilebilirlik bulguları (n=3) 116
- 4.18. Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki metoprolol tartarat tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar elde edilebilirlik bulguları (n=3) 116
- 4.19. Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki fenol kırmızısı tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar elde edilebilirlik bulguları (n=3) 117
- 4.20. Hücre kültürü ortamındaki rasajilin analiz süresince dayanıklılığını göstermek amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular (n=3) 118

4.21.	Bağırsak perfüzyonu ortamındaki rasajilinin analiz süresince dayanıklılığını göstermek amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular (n=3)	119
4.22.	Bağırsak perfüzyonu ortamındaki metoprolol tartaratın analiz süresince dayanıklılığını göstermek amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular (n=3)	119
4.23.	Bağırsak perfüzyonu ortamındaki fenol kırmızısının analiz süresince dayanıklılığını göstermek amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular (n=3)	119
4.24.	ODT formülasyonlarına ait tozlarının fiziksel özellikleri (n=3, Ortalama±SS)	121
4.25.	Plasebo ODT'lerde yapılan kalite kontrol testlerine ait bulgular (Ortalama± SS)	123
4.26.	ODT-9R ve ODT-9'un toz kontrolleri ve tablet kontrolleri	130
4.27.	Distile su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı çalışmasına ait bulgular.	133
4.28.	0,1N HCl ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı çalışmasına ait bulgular	133
4.29.	pH 6,8 fosfat tamponu ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı çalışmasına ait bulgular	134
4.30.	Rasajilin ve rasajilin içeren ağızda dağılan tablet formülasyonunun (ODT-9R) Caco-2 hücre hattında apikalden bazolaterale doğru permeabilite bulguları	135
4.31.	Metoprolol tartarat, rasajilin ve rasajilin içeren tablet formülasyonunun farklı bağırsak segmentlerinden permeabilite değerleri (ortalama ± SS; n=6)	137
4.32.	Rasajilin ve Rasajilin içeren ODT-9R için net su akış değerleri ( $\mu\text{L}/\text{dk}/\text{cm}$ , n=6).	139
4.33.	Ertirosit ve Evans Mavisinin hepatik portal vene bolus dozda enjeksiyonundan sonra tayin edilen farmakokinetik parametreler (ortalama ± SS; n=3-4)	140
4.34.	Rasajilinin hepatik portal vene bolus dozda enjeksiyonundan sonra tayin edilen farmakokinetik parametreler (ortalama ± SS; n=6)	141

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Parkinson hastalığı, çoğunlukla motor hareketler, konuşma ve diğer fonksiyonların zayıfladığı, sinir sisteminin nörodejeneratif bir hastalıdır. Hastalık, tremor (titreme), rijidite (kaslarda gerginlik), bradikinezi (istemli hareketlerin başlama ve sürdürülmesinde yavaşlık), postür (duruş) bozukluğu, bradimimi (maske yüz) ve yürüme bozuklukları ile karakterize olur (1). Nörodejeneratif hastalıklar arasında dünyada ikinci sırada yer alan Parkinson hastalığının, 65 yaş üzeri kişilerdeki insidansı %2-3'tür (1, 2).

Parkinson hastalığı beyindeki nigrostriatal dopaminerjik yolak nöronlarının (*substansia nigra* ve *corpus striatum*'daki) sayıca azalmasına bağlı olarak gelişmektedir. Bu bazal ganglionlar (*substansia nigra* ve *corpus striatum*) istemli hareketlerin kontrolünü sağlarlar. Parkinson hastalığında bu bölgede dopamin üreten nöronların dejenere olması ve striatum üzerinde kontrolün azalması ile kas hareketlerinin kontrolü bozulur. Parkinson hastalığında kullanılan ilaç gruplarından bazıları (L-dopa, Karbidopa, Benserazid, MAO inhibitörleri, COMT inhibitörleri gibi) temel olarak bu yolak üzerine etkili ajanlardır (3). Parkinson tedavisinin amacı azalmış dopamini yerine koymakla birlikte, kolinerjik nöronların uyarıcı etkilerini antagonize ederek bozulmuş "dopaminerjik/kolinerjik" dengeyi yeniden sağlamaktır.

MAO enzimi, mitokondrial membranın dış kısmında yer alan ve monoamin nörotransmitterlerin (dopamin, serotonin, noradrenalin) oksidatif demainasyonundan sorumlu olan bir enzimdir. MAO-A ve MAO-B olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır. MAO-A gastrointestinal kanalda total MAO aktivitesinin %80'ini sağlamak üzere periferik organlarda bulunmaktadır. MAO-B ise beyinde ve bazal gangliada bulunan başlıca izoformdur (1, 4-7). MAO-B enziminin dopamin metabolizmasındaki rolü nedeniyle, MAO-B inhibitörleri (selejilin, rasajilin ve safinamid) parkinson hastaları için önemli terapötik gelişmelerdir (8). Safinamid MAO-B'yi geri dönüşümlü olarak inhibe eder ve levodopaya ek tedavi olarak kullanılmaktadır (9). Selejiline kıyasla rasajilin daha etkili, selektif ve geri dönüşümsüz bir monoamin oksidaz-B (MAO-B) inhibitörüdür. Rasajilinin ağızda

dağılan tablet formunda ticari preparatı mevcut değildir. Rasajilinin yüksek oranda karaciğerde ilk geçiş etkisine uğraması, metabolitlerinin diğer MAO inhibitörlerine göre toksik olmaması ve oral biyoyararlanımının düşük olması nedeniyle ağızda dağılan tablet formülasyonunun geliştirilmesinin gerekliliği açıktır.

Ağızda dağılan tablet formülasyonu klinik olarak absorpsiyonda artış, daha hızlı etki gösterme, ilk geçiş etkisinde azalma ve buna bağlı olarak biyoyararlanımda artış sağlamaktadır. Ayrıca çiğneme ve yutma gereksinimi ortadan kalkacağı için hasta uyuncundaki artışla beraber (yutma kolaylığı, suya ihtiyaç olmaması, ağızda iyi tat bırakma) etkililik ve güvenilirlikte de artış olacaktır. Ayrıca sıvı dozaj şekillerine göre daha doğru dozlama, tek doz paketleme olduğu için stabilitede artış ve yaygın olarak kullanılan proses ve konvansiyonel ekipman ile üretilebilmesiyle birlikte ürün farklılığı da üstünlük sağlamaktadır.

Bu tez çalışmasının amacı, parkinson tedavisinde tek başına veya levodopa ile birlikte kullanılan, ağızda dağılan tablet formunda bir ticari preparatı bulunmayan, hazırlaması kolay, maliyeti düşük rasajilin içeren ağızda dağılan tablet formülasyonlarının geliştirilmesi, *in vitro* ve *in vivo* değerlendirilmesidir. Bu amaç doğrultusunda:

- Farklı dağıtıcı/süperdağıtıcı ile rasajilin içeren ağızda dağılan tablet formülasyonları geliştirilerek, tozların akış özellikleri ve tabletlerin kalite kontrol karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.
- Rasajilinin dissolüsyon çalışmalarından elde edilen numunelerdeki miktarını tayin etmek amacıyla bir yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (*high-performance liquid chromatography*, HPLC) yöntemi geliştirilerek analitik yöntem validasyonu yapılmıştır.
- Rasajilinin intestinal permeabilitesini tayin etmek amacıyla Caco-2 hücre kültürü çalışmaları yapılarak formülasyonda yer alan yardımcı maddelerin rasajilinin permeabilitesi üzerine bir etkisi olup olmadığı incelenmiştir.
- Rasajilinin intestinal permeabilitesini tayin etmek amacıyla sıçanlarda üçlü bağırsak perfüzyonu tekniği kullanılarak farklı bağırsak segmentlerinden

(jejunum, ileum ve kolon) permeabilitesinin değişip değişmediği incelenmiştir.

- Rasajilinin hepatik dispozisyonu sıçanlarda *in situ* karaciğer perfüzyonu tekniği kullanılarak incelenmiştir.
- Hücre kültürü, bağırsak perfüzyonu ve karaciğer perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilin miktarı valide HPLC yöntemi ile tayin edilmiş ve biyoanalitik yöntem validasyonu yapılmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Ağızda Dağılan Tabletler

Ağız yolu ile kullanılan katı dozaj şekilleri (ör. tabletler, kapsüller) tüm farmasötik dozaj şekilleri içerisinde en büyük ve en önemli yeri tutmaktadır. Özellikle tekrarlanan veya rutin dozlama gerektiren ilaç tedavisinde, en kolay ve en rahat uygulama oral yolla olur. Ağız yolu ile alınan katı dozaj şekilleri, hastanın günde bir veya birkaç kez bir bardak su ile alabileceği en kolay ve en çok kabul gören ilaç uygulamasıdır (10, 11).

Son yüzyılda teknoloji, tıp bilimleri ve refah seviyesindeki gelişmeler nedeniyle ortalama yaşam süresi uzamıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün Küresel Sağlık ve Yaşlanma hakkındaki raporuna göre 65 yaş ve üstü insan sayısının 2050'de yaklaşık 1,5 milyara çıkacağı tahmin edilmektedir (12). Kronik hastalıklar yetişkinleri ve yaşlıları etkileyen en yaygın büyük sağlık tehdididir. Bu nedenle yaşlılıkta tıbbi tedavi önemli bir konudur.

Fizyolojik fonksiyonlarda azalmaya bağlı olarak yaşlılarda işitme, hafıza, görme, fiziksel yetenekler, tat alma, koku alma ve yutma'da değişiklikler ortaya çıkmaktadır (13). Yutma zorluğu sadece yaşlılarda değil aynı zamanda çocuklar içinde ağızdan ilaç uygulamasında önemli bir sorundur. Çocuklar genellikle yaklaşık altı yaşından itibaren katı dozaj şekillerini yutmayı öğrenir ve on yaşına kadar katı dozaj şekillerini kendi başlarına alabilirler (14). Yaşlılar ve çocuklar sıvı dozaj şekillerini kolayca kullanabilirler ancak bu dozaj şekillerinin stabilitelelerinin düşük olması, nakliye ve depolamalarının zahmetli olması ve ambalajlamaya bağlı yüksek maliyet gibi bazı dezavantajları vardır. Bu sebeplerden dolayı ilaç endüstrisi tarafından çocuk ve yaşlı hastalar tarafından kolayca kullanılacak ağızda hızlı dağılan/çözünen tabletler adı verilen bir dozaj şekli geliştirilmiştir (15). Bu dozaj şekilleri ağızda dağılan tabletler (*orally disintegrating tablets*, ODT), hızlı dağılan (*rapidly disintegrating*, *fast disintegrating*), hızlı disperse olan (*fast dispersing*), hızlı çözünen

(*rapid dissolving, fast dissolve/dissolving*), hızlı eriyen (*rapid melting, fast melting*), ve/veya orodispers (*orodisperse*) tablet olarak da adlandırılmaktadır (11, 16).

Avrupa Farmakopesi (EP 10.0)'de ağızda dağılan tabletler için "*orodispersible tablets*" ifadesi kullanılmakta olup "ağıza yerleştirilen ve yutulmadan önce ağızda hızla disperse olan kaplı olmayan tablet" olarak tanımlanmaktadır. Bu tabletlerin suda (15-25 °C) 3 dakika içerisinde dağılması gerektiği bildirmektedir (17). Amerika Gıda ve İlaç İdaresi (*United States Food and Drug Administration, FDA*) tarafından ağızda dağılan tabletler (*orally disintegrating tablets*) olarak adlandırılan bu dozaj şekli "dilinin üzerine yerleştirildiğinde genellikle saniyeler içinde hızla dağılan, tıbbi madde içeren katı dozaj şekli" olarak tanımlanmıştır (18).

Ağızda dağılan tabletler katı ve sıvı dozaj şekillerinin avantajlarını birleştiren, kolay uygulanabilen, tadı ve stabilitesi daha iyi olan dozaj şekilleridir. Suyu ihtiyaç duyulmadan geleneksel tablet üretiminde kullanılan ekipmanlarla, basit ve ekonomik hazırlama yöntemleriyle hazırlanırlar. Suyu ihtiyaç duyulmadan kolayca alınabilmeleri nedeniyle ODT'ler yaşlılar, çocuklar, psikiyatrik ve felçli hastalarda en çok tercih edilen dozaj şekilleridir (19-21).

Ağızda dağılan tablet (ODT) formülasyonları ağız boşluğunda su gerektirmeden birkaç saniye içinde dağılarak çözünmektedir. Ayrıca üretim esnasında ve sonrasındaki basamaklarda dayanıklı ve günümüzde kullanılan proses ve paketleme makinelerine uyumlu olup, uygun paketleme koşullarında rutubet ve sıcaklık gibi çevre koşullarından etkilenmemektedir. Düşük maliyetli olmaları da diğer bir önemli tercih nedenidir. ODT formülasyonlarında ilacın etkisinin hızlı ve biyoyararlanımının artırılması istenmektedir. Ağız boşluğunda tükürük etkisiyle kolayca dağılmaları sayesinde ilacın hızlı çözündüğü durumlarda bazı formülasyonlarda pregastrik absorpsiyon söz konusudur. Bu sayede hepatik eliminasyonu yüksek ilacın karaciğerden ilk-geçiş eliminasyonu önlenmektedir. Bu nedenle pregastrik emilime sahip ilaçlar ağızda dağılan tablet formunda farklı farmakokinetik profil gösterebilirler. ODT formunda hazırlanan ilaçlar özellikle hızlı etkinin önemli olduğu migren, depresyon ve şizofreni gibi zihinsel hastalıklara kadar pek çok endikasyon için

uygulanmaktadır. ODT'lerin geliştirilmesi aşamasında, aday ilacın fiziko-kimyasal, farmakokinetik ve klinik özellikleri, üretilebilirliği ve dozaj şekline bağlı teknik kısıtlamalar dikkate alınmalıdır. Bu dozaj şekillerinde birim formülasyona yüklenebilecek ilaç miktarı sınırlıdır. Liyofilize ürünler gibi kırılğan ürünler maliyeti arttıran özel ambalaj malzemeleri gerektirebilir. Tadı tolere edilemeyecek acılıkta olan ilaçları ODT olarak formüle etmek zordur (17, 22-24).

Rasajilin içeren hemen salan konvansiyonel tablet formu (Azilect<sup>®</sup>, Etkinia<sup>®</sup>, Azapar<sup>®</sup>, Nervogil<sup>®</sup>, Parlin<sup>®</sup>, Rajil<sup>®</sup>, Rasalas<sup>®</sup>) ticari olarak bulunmakla beraber ağızda dağılan tablet formu piyasada mevcut değildir. Bu nedenle bu tez çalışmaları kapsamında Parkinson tedavisinde kullanılan dopaminerjik bir ajan olan MAO-B inhibitörü ilaçlardan rasajilin içeren ağızda dağılan tablet formülasyonlarının geliştirilmesi amaçlanmıştır.

### 2.1.1. Ağızda Dağılan Tablet Formülasyonlarında İstenen Özellikler

Ağızda dağılan tabletleri konvansiyonel dozaj şekillerinden ayırmak için bazı ideal özellikler göstermelidirler. Bu dozaj şeklinin sahip olması istenen özellikler aşağıda verilmiştir (25-27).

- Yutma sırasında suya gereksinim yoktur, fakat ağızda çok kısa sürede dağılmalı veya çözünmelidir
- Ağızda hoş bir his bırakmalıdır
- Tat maskeleye için uygun olmalıdır
- Mekanik direnci ambalajlanması veya taşınması için yeterli düzeyde olmalıdır
- Oral kullanım sonrası çok az veya hiç kalıntı bırakmamalıdır
- Kolay yutulabilecek ve taşımada kolaylık sağlayacak boyutta olmalıdır
- Nem, sıcaklık gibi değişen çevre koşullarına karşı hassas olmamalıdır
- Yüksek dozda ilaç yüklemesine olanak sağlamalıdır

- Üretimde kullanılan teknolojinin maliyeti kabul edilebilir düzeyde olmalıdır

### 2.1.2. Ağızda Dağılan Tabletlerin Üstünlükleri

Ağızda dağılan tablet formülasyonları katı ilaç şekillerinin stabilite, kesin dozlama ve kolay üretim gibi avantajlarının yanında, sıvı dozaj şekillerinin de kolay uygulaması gibi avantajlarını bir arada sağlar. Tablet ve kapsüllerin yutulmaları veya çiğnenmeleri açısından yaşanan zorluklar ortadan kalkmıştır (20, 27-31). Birçok ODT formülasyonunda tat maskeleyen ajanları ve tatlandırıcılar kullanılmaktadır ve bu da hastalar açısından tercih sebebi olmaktadır (28, 31, 32). Hasta uyuncu açısından diğer efervesan veya kuru toz süspansiyon gibi önceden hazırlanması gerekliliği yoktur. Ayrıca ODT'ler, konvansiyonel dilaltı tabletler, pastil ve bukal tabletlerin ağızda çözünmeleri için bir dakikadan daha fazla süreye ihtiyaç duyulması nedeniyle farklılık gösterir (33). Kolay taşınabilir olması da uyuncu arttırmaktadır (20, 28). Su bulmakta güçlük çeken hastalar için avantaj teşkil eder. Migren hastalarında, kalp rahatsızlıklarında ve uyku sorunu olan hastalarda tercih edilmektedirler. Özellikle psikiyatrik hastalarda ilacı kabul etmeme, yaşlı ve çocuklarda yutma zorluğu gibi sorunları ortadan kaldırır (28-30, 32, 34). Bütün yaş gruplarında farklı sebeplerle tablet ve kapsül yutma güçlüğü sözkonusudur ve bu da ilaçların istenilen düzeyde kullanılamamasına ve tedavilerinin aksamasına neden olmaktadır (20). Tükürükle temas ettiğinde çabucak dağılacak veya çözünecek şekilde tasarlandığı için tabletlerin hızlı dağılması sonucunda, çabuk çözünme ve absorpsiyon ile ilacın hızlı etki etmesi sağlanır (30). Konvansiyonel tabletlere göre biyoyararlanımı artmaktadır (28-32). Pregastrik absopsiyona uğrayan ilaçların ağızda dağılan tablet formülasyonlarının hazırlanmasıyla karaciğerden ilk geçiş etkisi de önlenilmekte ve biyoyararlanım artmaktadır. Bazı ilaçların istenmeyen toksik metabolitlerinin bu sayede minimuma indirilmesi sağlanmaktadır (25, 28, 30). Endüstriyel alandaki ürün farklılığı, patent süresini uzatma gibi avantajlar sunar (32). Direkt basım yöntemi ile düşük maliyetle üretim sağlanabilir (28, 29).

### 2.1.3. Ağızda Dağılan Tabletlerin Kısıtlamaları

ODT'ler yapısı gereği higroskopiktir. Bu nedenle sıcaklık ve neme hassastırlar (27, 28). ODT'ler gözenekli ve yumuşak yapıda olduğundan kırılğan ve kullanımı zor olabilmektedir (28, 29). Ayrıca hem suda hem de tükürükte stabilitesi iyi olmalıdır (28). Bazı ilaçların tadının acı olması nedeniyle tat maskelemede zorluk yaşanabilmektedir (28, 29). Etkin madde miktarı yüksek olan tabletlerin hazırlanması zordur (27, 28, 32). Ağız kuruluğu olan hastalarda kullanım güçlüğü yaratabilmektedir (32, 35).

### 2.1.4. ODT Formülasyonları için Etkin Madde Seçimi

Ağızda dağılan tablet formülasyonu için etkin madde seçiminde birçok parametre göz önünde bulundurulmalıdır. Bu parametreler (25, 36):

- Tadı acı olmamalıdır
- Dozu 20mg'dan az olmalıdır
- Suda ve tükürükte çözünürlüğü iyi olmalıdır
- Küçük ve orta molekül ağırlıkta olmalıdır
- Ağız boşluğunun pH'sında kısmen non-iyonize olmalıdır
- Gastrointestinal sistemin üst kısımlarında difüze olmalı ve dağılım göstermelidir ( $\log P > 1$  ya da  $\log P > 2$ )
- Oral mukozal dokuya penetre olabilmelidir
- Tercihen Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi Sınıf I ve II'de yer almalıdır
- Yarılanma ömrü çok kısa olmamalıdır.

### 2.1.5. ODT'lerde Tat Maskeleye

Bir ilacın tadı, kokusu, kullanım sonrasında ağızda bıraktığı tat ve kalıntılar, dış görünüm özellikleri bu ilacın yutulabilirliğini etkilemektedir. Yutulabilirlik büyük ölçüde tadına bağlıdır. Özellikle ODT'lerde tat maskeleye ilacın kullanımını doğrudan etkileyen bir parametre olduğu için oldukça önem taşımaktadır.

Tat maskeleye ilacın oral çözünürlüğünün azaltılması veya ilacın dildeki tat tomurcuklarıyla etkileşimlerinin azaltılması ile sağlanır. Bu da ilacın tükürük pH'sındaki çözünürlüğü azaltılarak ya da tat reseptörlerine olan afinitesini değiştirerek ya da ilacın yapısında değişiklik yapılarak tat maskelenir (37). Bunun için birçok teknik uygulanmaktadır (38). Bunlardan bazıları aşağıda başlıklar halinde verilmiştir (39, 40);

- Granülasyon
- İyon değiştirici reçineler
- İlacı polimer ile kaplama, mikroenkapsülasyon
- Aromatizanlar, tatlandırıcılar
- İnküzyon oluşturma
- Katı dispersiyonlar
- Lipozom oluşturma
- Çoklu emülsiyonlar
- Adsopsiyon
- pH düzenleyiciler
- Viskozite modifikasyonu
- Tuz ve türevlerine dönüştürülmesi
- Tat baskılayıcı ve tat arttırıcılar
- Ön ilaç şeklinde hazırlanarak
- Jelasyon ile
- Lipofilik taşıyıcılar ile
- Efervesan ajanlar ile

Tat maskeleye yapılmaktadır.

### 2.1.6. ODT Formülasyonlarında Kullanılan Süperdağıtıcılar

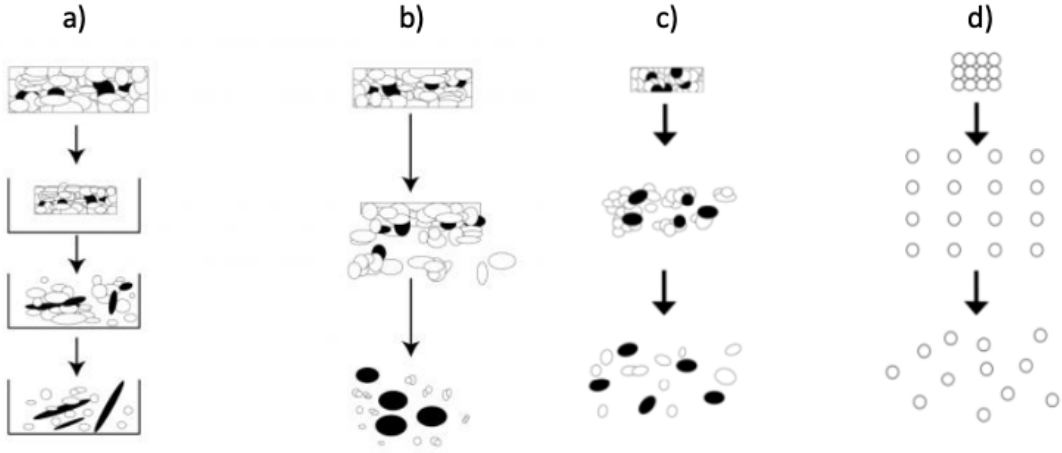
Bir formülasyonda dağıtıcılar, tablet veya kapsülün daha küçük parçacıklara ayrılmasını veya dağılmasını kolaylaştıran ve bu sayede içeriğinin daha hızlı çözünerek daha hızlı etki etmesini sağlayan maddeler veya madde karışımlarıdır. Süperdağıtıcılar, ağızda dağılan katı dozaj şekillerinin etkinliğini arttırmak için toplam dozaj ağırlığının % 1-15 oranında kullanılır (41-46).

Ağızda dağılan tabletlerde kullanılacak süperdağıtıcılar mekanik olarak ufalanmaya uğramayacak şekilde dayanıklı ve sıkıştırılabilir özellikte olmalıdır. Hastanın uyuncunu sağlayacak düzeyde ağızda güzel bir his bırakmalıdır. Formülasyonun akış özelliklerini olumsuz etkilemeyecek şekilde akış göstermelidir. Ağızda tükürükle temas ettiğinde hızlı bir şekilde dağılma sağlamalıdır (41). Bunların yanında düşük çözünürlük ve jel oluşumuna sahip olmalı su absorplama kapasitesi yüksek olmalıdır. Diğer yardımcı maddelerle ve etkin maddeyle etkileşim göstermemelidir (42, 43). Partikül boyutu küçük olmalı ve toksik olmamalıdır (44). Süperdağıtıcılar düşük konsantrasyonlarda kullanılmaktadır. Çok sayıda ilaç ve yardımcı maddelerle geçimlidir. Akışkanlık ve sıkıştırılabilirliği etkilemezler (44). Ancak neme karşı hassastırlar (44, 45).

Ağızda dağılan tablet formülasyonuna giren süperdağıtıcılar doğal ve sentetik süperdağıtıcılar olarak sınıflandırılabilir. Doğal süperdağıtıcılara örnek olarak *Hibiscus rosa-sinensis* Linn. müsilağı, *Isapghula Husk* müsilağı (*Plantago ovata*), *Cucurbita maxima pulp* tozu, *Lepidium sativum* çekideği müsilağı, *Fenugreek* çekirdeği müsilağı, kitosan, nişasta, prejelatinize nişasta (Starch 1500), selülozlar, mikrokristalin selüloz verilebilir. Sentetik süperdağıtıcılar'a örnek olarak çapraz bağlı polivinil pirolidon (Krospovidon), kroskarmelloz sodyum, sodyum nişasta glikolat verilebilir.

Süperdağıtıcılar, farklı mekanizmalarla etkilerini gösterirler. Bunlar; porozite ve kapiler etki (*wicking*), şişme ile (*swelling*), ıslatma ısısı (*heat of wetting*), gaz salımı etkisi, enzimatik etki, kimyasal reaksiyon (asit-baz reaksiyonu), deformasyon ile,

partiküllerin itici kuvveti ile (*repulsive forces*) olabilmektedir (41-44, 47). Kapiller etki ile dağılmada tablet sulu bir ortama konulduğunda ortam tablet içine penetre olarak partiküllerin üzerine adsorbe olmuş havayla yer değiştirir, böylece moleküllerarası bağlar zayıflayarak tablet parçacıklara ayrılır. Şişme yoluyla dağılmada partiküllerin şişmesine bağlı olarak matriks iç basınçla içten parçalanır. Deformasyonda tablet basımı sırasında deforme olan dağıtıcı partiküller sulu ortamla temas edince basım öncesi büyüklüğüne geri döner ve deforme partiküllerin hacim artışına bağlı olarak tablet parçalanır. İtme kuvvetinde ise porların içerisine su girer ve oluşan elektriksel kuvvete bağlı olarak partiküller birbirlerini iter. Gaz salımında, tablet ıslandığında bikarbonat ve karbonat ile sitrik asit veya tartarik asitin etkileşmesi sonucu açığa çıkan karbondioksit tabletin içinde basınç oluşturarak tabletin dağılmasına yol açar. Süperdağıtıcıların bazı etki mekanizmaları Şekil 2.1’de verilmiştir.



**Şekil 2.1.** Süperdağıtıcıların etki mekanizmaları: a) Kapiller etki, b) Şişme, c) Deformasyon, d) İtme (41, 46).

Bazı süperdağıtıcılar ve özellikleri Tablo 2.1’de verilmiştir.



**Tablo 2.1.** Farklı süperdağıtıcılar ve özellikleri (48).

<b>Süperdağıtıcı</b>	<b>Ticari olarak mevcut ürünler</b>	<b>Etki mekanizması</b>	<b>Diğer özellikler</b>
Çapraz-bağlı selüloz	Crosscarmellose <sup>®</sup> , Ac-Di-Sol <sup>®</sup> , Nymce ZSX <sup>®</sup> Primellose <sup>®</sup> , Solutab <sup>®</sup> , Vivasol <sup>®</sup> , L-HPC	10 sn'den daha az sürede 4-8 kat şişer Kapiller etki ve şişme	İki boyutta şişer Direkt basım veya granülasyonla
Çapraz bağlı PVP	Crosspovidon M <sup>®</sup> , Kollidon <sup>®</sup> , Polypladone <sup>®</sup>	Çok az şişer ve sıkıştırmadan sonra orijinal boyutuna döner, ancak kapiller etkiyle hareket eder	Doğada suda çözünmez ve süngerimsi olduğundan gözenekli tablet elde edilir
Çapraz bağlı Nişasta	Explotab <sup>®</sup> , Primogel <sup>®</sup>	30 sn'den daha az sürede 7-12 kat şişer	Üç boyutlu ve yüksek seviyede şişme sayesinde, sürekli salınım matrisi görevi görür
Çapraz bağlı Aljinik asit	Alginic acid NF	Sulu ortamda hızlıca şişer veya kapiller etki	Hem kuru hem de yaş granülasyonda parçalanmayı sağlar
Soya Polisakkaritleri	Emcosoy <sup>®</sup>		Nişasta ve şeker içermez. Beslenme ürünlerinde kullanılır
Kalsiyum silikat		Kapiller etki	Son derece gözenekli ve hafif

### 2.1.7. ODT Formülasyonlarının Üretim Teknolojileri

Ağızda dağılan tabletler için farklı prensiplere dayanan çeşitli hazırlama teknikleri mevcuttur. Bu teknikler genel olarak konvansiyonel teknikler ve patentli teknikler olmak üzere iki grup altında incelenebilir (11, 49).

- **Konvansiyonel Teknikler**

- *Direkt basım tekniği (Direct compression)*

Direkt basım yöntemi, etkin madde ve yardımcı maddelerden oluşan toz karışımının akıcılığının ve basılabilirliğinin uygun olması koşuluyla ağızda dağılan tabletlerin hazırlanmasında en çok tercih edilen yöntemlerden birisidir. Bu yöntemin avantajı yaygın olarak kullanılan ekspiyanlarla, konvansiyonel üretim ekipmanları kullanılarak sınırlı sayıda işlem basamağı uygulamasıdır (50). Maliyeti düşük bir teknik olup ısıya ve neme hassas maddelere rahatlıkla uygulanabilir. Ağızda dağılan tabletler ağızda hızla dağılacak şekilde tasarlandıkları için, bu formülasyonlarda kritik parametre dağıtıcı/süperdağıtıcı ya da bunların kombinasyonlarının (ör. sodyum nişasta glikolat, krospovidon, Ac- Di-Sol<sup>®</sup>) uygun konsantrasyonda (yaklaşık %2-5) kullanılmasıdır (51, 52). Doldurucu, bağlayıcı ve dağıtıcı/süper dağıtıcıları birlikte içeren ve direkt basıma uygun kullanıma hazır ağızda dağılan tablet ekspiyanları (ör. Ludiflash<sup>®</sup>, Parateck ODT<sup>®</sup>, 9) ticari olarak mevcuttur. Bu yöntemle uygun sertlik ve friyabiliteye sahip tablet hazırlayarak ağızda dağılmalarını olumsuz yönde etkilememek için basım kuvvetinin optimize edilmesi gerekir. Yaş granülasyon yöntemine göre daha hızlı çözünme sağlayabilir. Düşük nem içeriği ve bağlayıcı içermemesi nedeniyle yüksek dağılma sağladığından ağızda dağılan tablet hazırlama yöntemleri içerisinde en etkili yöntem olarak direkt basım kabul edilir (31, 53). Ancak bu yöntem etken madde miktarı yaklaşık olarak 50 mg (veya %30) ile sınırlıdır. Düşük kütle dansitesine sahip ve zayıf akış gösteren ilaçlar için uygun değildir, ayrışma olabilmektedir. Karıştırma sırasında oluşan statik yüke bağlı olarak topaklanma gibi istenmeyen etkiler görülebilir (50, 53).

- *Dondurarak kurutma (Lyophilization)*

Liyofilizasyon (ya da dondurarak kurutma) uygun sıcaklık ve basınç koşulları altında (0.44 mbar and $-55^{\circ}\text{C}$ ) suyun süblimasyon ile uzaklaştırılarak kurutulması işlemidir (31, 54, 55).

Bu yöntemde, etkin madde ve uygun yardımcı maddeler stabil süspansiyon/çözelti elde etmek için bir taşıyıcıda çözülür veya süspande edilir. Hazırlanan karışım blister boşlukları içerisine doldurulduktan sonra sıvı azot altında ya da  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulur. Dondurulmuş karışımı içeren blister ambalajlar liyofilizatöre yerleştirilerek uygun basınç ve sıcaklık koşullarında (0.44 mbar and $-55^{\circ}\text{C}$ ) liyofilizasyon işlemine tabi tutulur ve işlem sonunda blisterler kapatılır (25). Bu yöntemde köpürmeyi önleyici (ör. simetikon) ve makriks oluşturucu (ör. jelatin ve sodyum aljinat) eksipiyenlar kritik maddelerdir. Kullanılan matriks oluşturan maddenin özelliğine göre ağızda dağılan tabletlerin dağılma ve çözünme hızı özellikleri farklılık gösterebilir. Bu yöntem ısıya hassas ve dozu düşük maddeler için uygundur.

Bu yöntemle hazırlanan ağızda dağılan tabletler düşük sertlik, yüksek friyabilite ve hızlı dağılma ile konvansiyonel tabletlere benzerlik gösterirler. Liyofilize tabletler oldukça gözeneklidir, yüksek yüzey alanına sahiptir, hızlıca çözünür ve bunun sonucunda iyi bir absorpsiyon ve biyoyararlanım gösterir. Ağız boşluğuna yerleştirildiğinde çok kısa sürede dağılırlar ve hızlı erime etkisi sayesinde ağızda güzel bir his yaratırlar. Nispeten pahalı ve zaman alıcı bir yöntem olup nihai ürünün stabilitesi düşük ve kırılma bir yapıdadır. Neme çok hassas olmaları nedeniyle uygun ambalajlama gerektirir. Fiziksel dirençleri düşüktür ve suda çözünür ilaçlar düşük dozda uygulanabilir (25). Liyofilizasyon yöntemi için ideal ilaç adayının partikül boyutu 50  $\mu\text{m}$ 'den küçük, tatsız ve suda çözünmeyen özellikte olmalıdır. Partiküllerin büyümesi imalat sırasında çökme sorunları oluşturabilir. Suda çözünen ilaçlarda yetersiz donma ve çökme meydana gelebilir. Çözünürlüğü düşük olan ilaçlar çözücüye zayıf bağlanacağından dondurarak kurumuş forma daha rahat dönüştürülürler. Ayrıca zayıf oranda çözünmeleri nedeniyle tat maskeleymesi gerektirmez. Suda çözünen

ilaçlar bazı durumlarda daha az çözünür forma dönüştürerek liyofilize edilebilir (54). Ayrıca liyofilizasyon işlemi sırasında etkin ve yardımcı maddelerin camsı amorf yapısında artış olabilir (56). Liyofilizasyonun işleminin zaman alması, maliyetin yüksek olması, her bir seride kısıtlı miktarda üretim yapılabilmesi bu yöntemin kısıtlamaları arasındadır.

- *Tablet şekillendirme (Tablet moulding)*

Tablet şekillendirme yöntemi sıkıştırarak şekillendirme (*compressing molding*) ve ısıyla şekillendirme (*heat molding*) olmak üzere iki teknikle gerçekleştirilir.

Sıkıştırmayla şekillendirme yönteminde maksimum çözünürlük elde etmek için hidrofilik eksipyanlar kullanılır. Yöntem ıslatma, disperse etme ya da çözme, tablet basımı ve kalan çözücünün uçurulması aşamalarından oluşur. Hazırlanan toz karışımı hidroalkolik bir çözücü ile ıslatılarak konvansiyonel tabletlerin sıkıştırılmasında kullanılanlardan daha düşük basınçla tablet haline getirilir. Daha sonra çözücünün kurutma işlemi ile uzaklaştırılmasıyla işlem tamamlanır (*compression moulding*). Bu yöntemle hazırlanan tabletler düşük basınçla hazırlandıkları için mekanik dirençleri düşüktür. Konvansiyonel tabletlere göre çok daha gözenekli bir yapıya sahip oldukları için 5 ila 15 saniye içinde dağılırlar ve çok hızlı bir çözünme hızına sahiptirler (25, 31, 54, 57).

Isıyla şekillendirme yönteminde ilacın, ksilitol, agar, mannitol, laktoz, sükroz gibi suda çözünür şekerlerle bir süspansiyonu hazırlanır. Agar çözültüsü bağlayıcı olarak kullanılır. Hazırlanan karışım blistirler ambalajlara dökülür. Jel formu elde etmek için agar katılaştırılır ve daha sonra vakum altında 30°C’de kurutulur. Suda çözünür şekerlerin bulunmasından dolayı bu yöntemle hazırlanan ağızda dağılan tabletlerin ağızda güzel bir tat bıraktığı tespit edilmiştir (54).

Suda az çözünen ilaçların bu teknikle hem tamamen çözüldüğü hem de çözünme hızlarının arttığı görülmüştür. Şekillendirilmiş tabletler, liyofilize formlara kıyasla istenilen dağılma süresine ulaşamamış olsa da şekillendirme yönteminin endüstriyel ölçekte kolay ve kullanışlı olduğu görülmektedir. Mekanik olarak çok

dayanıklı değillerdir. Kullanım sırasında veya ambalajlardan çıkarma işlemleri sırasında kırılabilirler. Bağlayıcıların yeterli oranda eklenmesi ile bu olumsuzluklar önlenebilir (54).

- *Püskürterek kurutma (Spray drying)*

Bu yöntem, etkin madde ve yardımcı maddeleri içeren sulu süspansiyonun püskürtülerek kurutulmasıyla elde edilen toz karışımının tablet halinde basılması esasına dayanmaktadır. Püskürtülerek kurutma işlemiyle yüksek oranda gözenekli ve küresel yapıda olmaları nedeniyle akıcılığı daha iyi tozlar elde edilir. Bu tozların basılmasıyla hazırlanan tabletlerin dağılma süreleri de oldukça kısa ve çözünme hızları da daha iyidir. Destekleyici ajan olarak hidrolize veya hidrolize olmayan jelatinler, seyreltici doldurucu olarak mannitol, dağıtıcı ajan olarak sodyum nişata glikolat veya kroskarmeloz sodyum, çözünmeyi arttırmak için sitrik asit veya sodyum bikarbonat kullanılmaktadır (25, 31, 56, 57). Hem suda çözünürlüğü düşük hem de suda çözünürlüğü yüksek etkin maddeler ile ağızda dağılan tablet hazırlamada püskürterek kurutmanın uygun bir yöntem olduğu belirtilmiştir.

- *Süblimasyon (Sublimation)*

Süblimasyon, bir maddenin katı fazdan buhar fazına geçmesi işlemidir. Konvansiyonel tabletler, suda iyi çözünür özellikte bileşenler içermesine rağmen düşük gözenekli bir yapıya sahip olduklarından genel olarak hızlı bir şekilde dağılmazlar (30). Süblimasyon tekniğinde formülasyona inert uçucu maddeler de (ör. üre, amonyum karbonat, amonyum bikarbonat, hekzametilen tetramin naftalin, kafur) eklenerek düşük basınç altında tabletler basılır. Daha sonra vakum altında belli sıcaklıklarda ve belli sürelerde (ör. kafur içeren tabletler için 80°C’de 30dk süblimasyon) bu uçucu bileşenler uzaklaştırılarak yüksek poroziteye sahip ve daha hızlı dağılan tabletler elde edilir (51, 54, 58). Ek olarak sikloheksan ve benzen gibi birkaç çözücünün kullanılması gözenek oluşturmada etkili olmuştur (25). Bu yöntemle iyi bir fiziksel dirence sahip gözenekli bir yapı elde edilir ancak zararlı atık maddeler oluşabilir. Isıtma için ekstra ekipman gerekmektedir. Ayrıca uçucu ve ısıya duyarlı ilaçlar için uygulanması mümkün değildir (25).

- *Kütle ekstrüzyon (Mass-extrusion)*

Bu teknikte etkin madde ve yardımcı maddeler önce polietilen glikol ve etanol karışımıyla yumuşatılır. Yumuşayan kütle bir şırınga veya *extruder*'dan geçirilerek silindirik bir yapı elde edilir. Isıtılmış bıçak yardımı ile bu silindirik yapı eşit parçalara bölünerek tabletler elde edilir. Bu teknikle istenmeyen tada sahip etkin madde içeren granüllerin kaplanarak tat maskelemede etkili olduğu bildirilmiştir (16, 25, 31).

- *Eritme granülasyon yöntemi*

Eritme granülasyon (*melt granulation*) yönteminde süperpolistat (polietilen glikol-6-stearat) gibi eriyebilir özellikte bağlayıcı ile granülasyon işlemi yapılarak tabletler elde edilir. Bu yöntemin en büyük avantajı suya veya organik bir çözücüye gerek olmaması ve çözünürlüğü az olan maddeler için uygun bir teknik olmasıdır. Kullanılan bağlayıcılar hem fiziksel direnci artırır hem de hızlıca eridikleri için kalıntı bırakmadan tabletin ağızda hızlı bir şekilde dağılmasını sağlarlar. Kurutma işlemi olmadığından yaş granülasyona göre daha kısa süre ve işlemle sonuca ulaşılır (25, 54, 59). Tat maskeleme için etkili bir yöntem olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (60).

- *Kristal lif yöntemi (Cotton-candy process)*

Kristal lif yönteminde eritme ve döndürme ile polisakkaritler veya sakkaritlerle iplik (*floss*) olarak adlandırılan bir matriks oluşturulur. Bu ipliksi matriks yapısı kısmen yeniden kristalize edilerek akış ve basılabilirlik özellikleri iyileştirilir. Kristalize matriks yapısı öğütülüp etkin madde ve ekşiyanlarla karıştırılarak basıldığında porozitesi yüksek tabletler elde edilir. Tükürkle temasta şekerler hızla çözüldüğü için ağızda hoş bir tad bırakırlar. Bu yöntemle hazırlanan tabletlerin (ör. Flasdose®) mekanik dayanıklılıkları yüksektir ve fazla miktarda etkin maddeyle çalışmaya olanak sağlar. Matriks yüksek sıcaklıkta eritildiği için ısıya hassas maddeler için uygun bir yöntem olmamaktadır (25, 31, 54, 57).

- *Faz geçiş yöntemi (Phase-transition process)*

Bu yöntemde düşük ve yüksek erime derecesine sahip şeker alkollerinin (ör. mannitol, sorbitol, eritrol) birleşimi ve üretim sırasında faz geçişinin sağlanmasıyla ağızda dağılan tabletler hazırlanmaktadır (50). Bu amaçla önce düşük ve yüksek erime derecesine sahip şeker alkolü içeren toz basılarak tablet haline getirilir. Daha sonra şeker alkollerinin erime dereceleri arasındaki bir sıcaklıkta ısıtılıp daha sonra soğutulmasıyla ağızda dağılan tabletler elde edilir. Düşük erime dereceli şeker alkolü içeriği ve ısıtma işlemi ağızda dağılan tabletlerin sertlik ve dağılma zamanını etkileyebilir. Isıtma işlemi ile artan tablet sertliği bağlanma yüzeyindeki artış veya partiküller arasındaki bağların kuvvetlenmesi ile sağlanmaktadır (50, 61).

- *Üç boyutlu baskılama yöntemi (Three-dimensional Printing)*

Katı dozaj şekillerinin baskısı için fizibilitesi araştırılan umut verici üç boyutlu baskı (3DP) teknolojisi, bir seçici lazer sintirlemedir (SLS). SLS, üç boyutlu bir yapı oluşturmak amacıyla bir toz yatağı kullanılarak eklemeli bir endüstriyel üretim tekniğidir. SLS, etkin madde ve yardımcı maddeleri içeren toz karışımını bir yazıcı başlığı tarafından katman katman eklenerek son ürün elde edilir (62).

Bu teknikle çok kısa sürelerde dağılan ODT'ler elde edilebilmiştir. En büyük avantajı kişiselleştirilmiş dozaj ve boyuta özel dozaj şekillerinin üretiminin yapılabilir olmasıdır. Bu nedenle 3DP, ilaç üretiminde devrim niteliğinde bir potansiyele sahiptir (63).

- *Nanolaştırma yöntemi (Nanonization)*

Özel öğütme tekniği yardımı ile ilaç partikül boyutu nano boyutlara düşürülür. İlaç nanokristalleri daha sonra yüzey absorpsiyonu ile aglomerasyona karşı stabilize edilir. Bu teknik suda az çözünür ilaçlar için uygulanabilir. Nanopartiküllerin hızlı dağılması ve çözünmesi ile absorpsiyonda artış ve buna bağlı olarak biyoyararlanımda artış

sağlanır. Üretim maliyeti düşüktür. Geniş bir dozlama aralığına sahip ve iyi bir stabilite sağlar. Geleneksel paketleme yöntemleri ile paketleme yapılabilir (64).

- *Oral filmler (Oral films)*

Bu yöntemde suda çözünür film oluşturucu polimer (ör. hidroksil propilselüloz, sodyum aljinat, pullulan, hidroksipropil metilselüloz, karboksi metilselüloz, polivinil alkol), ilaç ve tat maskeleyici maddeler susuz bir çözücü içinde çözülür. Çözücünün buharlaşmasından sonra ince bir film elde edilir. Tadı acı bir ilaç olması durumunda, ilacın kaplanmış mikropartikülleri filme dahil edilebilir. Film ağıza yerleştirildikten sonra hızla eriyerek veya çözünerek ilacı çözelti veya süspansiyon halinde salar (65, 66).

- **Patentli Teknikler**

Günümüzde birçok patentli üretim teknolojisi ODT üretiminde kullanılmaktadır. Bunlardan en çok tercih edilenler aşağıda verilmiştir.

- *Zydis<sup>®</sup> teknolojisi*

İlacın suda çözünür sakkarit ve polimerden (jelatin, dekstran, aljinates) oluşan bir matriks içinde dondurularak kurutulması ile üretilir. Cardinal Health, Inc. tarafından 1986 yılında pazara sunulan ilk teknoloji tabletidir. Son ürünlerdeki su miktarı çok düşük olduğundan ve mikrobiyal üreme engellediğinden kendi kendini korur. Ürün çok gözenekli, çok hafif ve kırılındır. Özel ambalajlarda saklanmalıdır. Tükürükle temas ettiğinde hemen dağılır. Zydis<sup>®</sup> için ideal ilaç adayları, suda çözünürlüğü düşük ve kimyasal olarak stabil, partikül büyüklüğü küçük ve tatsız olmalıdır. Suda çözünür ilaçlar için üst yükleme limiti (60 mg) düşük iken suda çözünmeyen tabletler için daha yüksektir (400 mg/tablet). Pahalı ve zaman alıcı bir yöntemdir. Yüksek nem ve sıcaklıkta stabil değildir (32, 54, 56).



- *Quicksolv<sup>®</sup> teknolojisi*

Bu teknolojinin patent sahibi Janssen firmasıdır ve esaslı liyofilizasyon olup matriks içeren ilacın sulu dispersiyon/çözeltilisinin dondurulması ve daha sonra alkol ekstraksiyonu ile suyun uzaklaştırılmasıyla kurutulması esasına dayanır (64, 67). Gözenekli bir katı form elde edilir. İlaç mikrokapsüllenmiş partiküllerde korunur. Bu yöntem tat maskelemede de kullanılır. Nihai ürün çok hızlı dağılır (68). Ancak düşük dozda ilaç yüklemesi yapılabilir ve ekstraksiyon çözücüsünde çözünmeyen ilaçlar için uygulanabilir. Bu teknolojiye uygunluk açısından 50 µm'den küçük partikül boyutlu, suda çözünürlüğü düşük olan ve sulu ortamda stabilitesi iyi olan ilaçlar seçilmelidir.

- *Lyoc<sup>®</sup> teknolojisi*

Cephalon Corporation'ın sahibi olduğu Lyoc<sup>®</sup> teknolojisinde dondurarak kurutma işlemi kullanır, ancak ürünün dondurarak kurutma raflarında dondurulması bakımından Zydis'ten farklıdır. Etkin madde ile birlikte doldurucu, viskozite arttırıcı ajanlar, sürfaktanlar, uçucu olmayan tatlandırıcıların çözeltilisi veya süspansiyonu hazırlanır. Son homojen sıvı blister boşluklarına aktarılır ve dondurarak kurutma işlemi yapılır. Bu tabletler koruyucu içermezler. İşlemler sırasında çökme olmaması için süspansiyonun viskozitesinin arttırılması gerekmektedir. Bunun için de büyük oranda inert dolgu maddesi olarak mannitol kullanılır. Dolgu maddesinin yüksek oranda olması ile son üründe gözeneklilik artar ve hızlıca dağılırlar (54). Bu teknikle yüksek dozda ilaçlar yüklenebilir. Ancak mekanik olarak çok dayanıklı değildir (36).

- *Flashtab<sup>®</sup> teknolojisi*

Prographarm tarafından geliştirilen Flashtab<sup>®</sup> teknolojisinde Eudrajit ile kaplı ilaç ile şişmeyi sağlayan bir ajan (karboksimetil selüloz (CMC), nişasta, modifiye nişasta, mikrokristalin selüloz gibi) karboksi metil nişasta ve dağıtıcı bir ajan (poli vinil pirolidon ya da CMC gibi) birlikte kullanılır. Matriks tablet, kaplı kristal yapıda

ilaç molekülleriyle beraber modifiye nişasta veya mikrokristalin selüloz gibi bir şişirme maddesi ve krospovidon veya kroskarmeloz gibi bir süperdağıtıcı içerir (54, 69). Bu teknikte ekspiyanların yaş veya kuru granülasyon yöntemiyle granülasyonu yapılır, sonra da direkt basım ile tabletler basılır (36). Bu işlemle üretilen tabletler yumuşak, kırılğan ve neme hassastırlar (49) ama çabuk dağılırlar. Ambalaj malzemesi olarak yüksek neme dayanıklı malzemeler kullanılmalıdır.

- *Orasolv<sup>®</sup> teknolojisi*

Orasolv<sup>®</sup>, Cima Labs, Inc tarafından ilk geliştirilen ağızda dağılan dozaj şeklidir. Bu teknoloji, ağızda dağılma ve çözünme süresini en aza indirmek için efervesan ajanın ve tadı maskelenmiş ilacın düşük basım kuvvetinde direkt basımı esasına dayanmaktadır. Efervesan ajanlar (ör. karbonatlar (sodyum bikarbonat, sodyum katbonat, potasyum bikarbonat ve potasyum karbonat, magnezyum karbonat) ve asitler (ör. sitrik, tartarik, fumarik, suksinik gibi)) dağıtıcı ajan olarak %20-25 oranında kullanılır. Bu teknolojiyle 1-500 mg arasında etkin madde yüklenebilir. Tat maskeleme etkin bir şekilde sağlanır. Hastanın ağızında hoş bir his sağlanır. En büyük dezavantajı düşük mekanik dirençtir ve özel ambalajlama yapılması gerekir (19, 25, 32).

- *Durasolv<sup>®</sup> teknolojisi*

Durasolv<sup>®</sup>, Cima Labs, Inc'nin ikinci nesil hızlı çözünen/parçalanen tablet formülasyonudur. Orasolv<sup>®</sup> teknolojisine benzer şekilde üretim yapılır ancak tablet basımında daha yüksek basınç uygulandığı için mekanik direnci daha yüksektir, üretim maliyeti daha düşüktür ve daha hızlı üretilir. Bu teknolojiyle üretilen tabletler ilaç, seyreltici-doldurucu ve kaydırıcı içerir, konvansiyonel tablet ekipmanı ile üretilir. Özel ambalajlama gerektirmez. Yüksek dozda ilaçlar için uygun değildir. Ayrıca dağılma süresi biraz daha uzundur (32, 54, 56).

- *Wowtab<sup>®</sup> teknolojisi*

Wowtab<sup>®</sup> teknolojisi Yamanouchi Pharma Technologies tarafından geliştirilerek patentlenmiştir. ‘Wow’ susuz anlamına gelmektedir. Bu teknolojide yardımcı maddeler tabletin %50’sini oluşturabilmektedir. Bu teknolojide yeterli sertlik ve hızlı çözünme hızına sahip bir tablet formülasyonu elde etmek için iki farklı sakkarit seçilmektedir. Mannitol, laktoz, glikoz, sükroz ve eritritol gibi çok hızlı çözünme, düşük sıkıştırılabilirlik özelliklerine sahip bir şekerle maltoz, sorbitol, trehaloz ve maltitol gibi iyi bağlanma ve sıkıştırılabilirliği ile yeterli sertlik sağlayan fakat yavaş dağılan bir şeker seçilir. Etkin madde düşük sıkıştırılabilirlik özelliğine sahip sakkaritler ile karıştırıldıktan sonra yüksek sıkıştırılabilirlik özelliğine sahip sakkaritler ile granüle edilir ve daha sonra tablet halinde basılır (49, 54). Bu teknikte tat maskeleyici tescillidir. Ayrıca pürüzsüz bir yapıya sahip olduğundan erime süresince ağızda güzel bir his bırakır ve 15 saniye gibi çok kısa sürede erir (70). Zydis<sup>®</sup> ve Orasolv<sup>®</sup>’a göre daha dayanıklıdır, hem blister hem de şişe ambalajlamaya uygundur (36).

- *Ziplot<sup>®</sup> teknolojisi*

Suda çözünmeyen veya kaplanmış mikropartiküller şeklindeki ilaçlar için kullanılan bir teknolojidir. Eurand International (Pessano con Bornago, İtalya) tarafından patentlenmiştir (71, 72). Bir ya da daha fazla dağıtıcı ajanla birlikte uygun miktarda suda çözünmeyen inorganik yardımcı madde kullanılarak mekanik direnci yüksek optimum sertlikte tabletler elde edilmiştir. Tabletteki inorganik yardımcı maddeler dağılmayı hızlandırıp dağılma süresinin kısılmasını sağlamaktadır (64). Genellikle suda çözünür bileşenlerden oluşan tabletler çözünme eğiliminde olduklarından bu da dağılma süresini uzatmaktadır (73).

- *Advatab<sup>®</sup> teknolojisi*

Eurand tarafından geliştirilen bu teknoloji yeni nesil patentli harici bir kayganlaştırıcı sistemine dayanan teknolojidir. Kayganlaştırıcı, sadece üretim esnasında tablet yüzeyine uygulanır. Bu sayede yüksek sıkıştırma kuvvetleri uygulanmadan sert ve dayanıklı tabletler elde edilir. Bu yöntemde midede çözünen bir polimer kullanılarak hem tadın maskelenmesi hem de hem de ağızda çözünmesi amacıyla mikroenkapsülasyon yöntemi kullanılmıştır. Advatab tabletler 30 saniyeden daha kısa bir süre içerisinde ağızda dağılırlar. Bu yöntemle geliştirilen tabletler, tablet ve kapsül yutmada zorlanan hastalar için daha uygundur (54).

- *Flashdose<sup>®</sup> teknolojisi*

Fuisz Technologies, Ltd. tarafından patentlenen bu teknoloji kristal lif yöntemine (*Cotton-candy process*) dayanmaktadır. Bu yöntemde flaş eritme ve iğirme işlemlerinin eş zamanlı etkisi ile polisakkarit veya sakkarit matrisi ısıl işlemle oluşturulur. Daha iyi akış ve basılabilirlik elde etmek için oluşturulan matris kısmen kristallendirilir, öğütüldükten sonra etkin ve yardımcı maddelerle karıştırılarak tablet halinde basılır (64, 74). Yüksek dozda (600 mg) etkin madde yüklenebilir, mekanik direnç iyidir ancak yüksek ısı uygulaması bu yöntemin kullanımını kısıtlamaktadır.

- *Oraquick<sup>®</sup> teknolojisi*

KV Pharmaceutical tarafından patentlenen bu teknolojiye tabletler şeker (sükroz, mannitol, sorbitol, ksiloz, dekstroz, fruktoz, mannoz gibi) ve proteinin (albumin ya da jelatin) uygun bir çözücü (su, etanol, izopropil alkol, etanol-su karışımı) içinde çözülmesiyle hazırlanır. Bu matris çözeltisi gözenekli yapı elde etmek için püskürtülerek kurutulur. Kullanılan çözücüye bağlı olarak gözeneklilik değişir. Oluşan gözenekli granüller etkin madde ve diğer yardımcı maddelerle karıştırıldıktan sonra düşük basınçta sıkıştırılarak tabletler elde edilir (54).

Üretim sırasında tat maskeleye için çözücü kullanılmadığından daha hızlı ve verimli bir üretim sağlanır. Ayrıca düşük üretim ısısına ihtiyaç duyulduğundan nispeten ısıya duyarlı ilaçlar için az da olsa uygunluk sağlamaktadır. Ayrıca mikrokapsüllenmiş partiküller halinde ilacı çevreleyen ve koruyan matris yapı esnek olduğundan tat maskeleye bozulmadan sıkıştırılabilir tabletler elde edilir (64, 75, 76).

- *Multiflash Teknolojisi (Prographarm)*

Bu teknoloji kaplanmış mikrogranüllerden ve hızlıca dağılmayı sağlayan eksipyanlardan oluşan çok üniteli bir tableti kapsar. Bu tablet az bir miktar su ile yutulduktan sonra yemek borusunda hızla parçalanır. Bu tabletlerde mukozal yapışma önlenmiştir (53).

### **2.1.8. Piyasada Bulunan ODT Preparatları**

Türkiye ve Dünyada bulunan ağızda dağılan tabletlerden müstahzarlarına örnekler Tablo 2.2 ve Tablo 2.3’de verilmiştir.

**Tablo 2.2.** Türkiye’de bulunan ODT’lere örnekler.

<b>Etkin madde</b>	<b>Preparat adı</b>	<b>Endikasyon</b>	<b>Firma</b>
Aripiprazol	Abizol Easytab <sup>®</sup> Ağızda Dağılan Tablet	Şizofreni, Bipolar Bozukluk	Nobel İlaç Pazarlama ve Sanayii Ltd. Şti.
	Arifay <sup>®</sup> Ağızda Dağılan Tablet	Şizofreni, Bipolar Bozukluk	Zentiva Sağlık Ürünleri San.ve Tic.A.Ş.
	Fixment <sup>®</sup> Ağızda Dağılan Tablet	Şizofreni, Bipolar Bozukluk	NEUTEC İlaç San. Tic.A.Ş.
	Ripazol <sup>®</sup> Ağızda Dağılan Tablet	Şizofreni, Bipolar Bozukluk	Generica İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Betahistin Dihidroklorür	Vasoserc Fort <sup>®</sup> Ağızda Eriyen Tablet	Meniere	Abdi İbrahim İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Desmopressin	Minirin Melt <sup>®</sup> Oral Liyofilizat Tablet	Primer enürezis noktürna	Ferring İlaç San.ve Tic. Ltd. Şti.
Donepezil HCI	Alzancer Easytab <sup>®</sup> Ağızda Dağılan Tablet	Alzheimer tipi demans	Nobel İlaç Pazarlama ve Sanayii Ltd. Şti.
	Aricept Evess <sup>®</sup> ODT	Alzheimer tipi demans	Pfizer İlaçları Ltd. Şti
	Doenza <sup>®</sup> ODT Ağızda Dağılan Tablet	Alzheimer tipi demans	Sanovel İlaç San. ve Tic. A.Ş
	Dozyl Easy <sup>®</sup> Ağızda Dağılan Tablet	Alzheimer tipi demans	Abdi İbrahim İlaç San. ve Tic. A.Ş.

**Tablo 2.2 (Devam).** Türkiye’de bulunan ODT’lere örnekler.

<b>Etkin madde</b>	<b>Preparat adı</b>	<b>Endikasyon</b>	<b>Firma</b>
Donepezil HCl/ Memantadin HCl	Rememba® Dağılıbilir Tablet	Orta ve Şiddetli Evre Alzheimer	Drogsan İlaçları San. ve Tic. A.Ş.
Essitalopram	Estalora® Ağızda Dağılan Tablet	Depresyon	Polpharma Sağlık Ürünleri San. Ve Tic. A.S.
Kalsiyum Karbonat/ Kolekalsiferol	Zentius Flash® Ağızda Dağılan Tablet	Osteoporoz	İTF İlaç San. ve Tic.Ltd.Şti
Lorazepam	Ativan Expidet® Tablet	Anksiyete	Pfizer PFE İlaçları Anonim Şirketi
Memantin HCl	Demax Easytab® Ağızda Dağılan Tablet	Orta ve Şiddetli Evre Alzheimer	Abdi İbrahim İlaç San. ve Tic. A.Ş.
	Melanda Rapid® Ağızda Dağılan Tablet	Orta ve Şiddetli Evre Alzheimer	Ali Raif İlaç Sanayi A.S.
Mirtazapin	Zestat® Ağızda Dağılan Tablet	Majör depresif bozukluk	Abdi İbrahim İlaç San. ve Tic. A.Ş.
	Velorin OD® Ağızda Dağılan Tablet	Majör depresif bozukluk	Teva İlaç San. ve Tic. A.Ş.

**Tablo 2.2 (Devam).** Türkiye’de bulunan ODT’lere örnekler.

<b>Etkin madde</b>	<b>Preparat adı</b>	<b>Endikasyon</b>	<b>Firma</b>
Olanzapin	Olfrex Easytab <sup>®</sup> Ağızda Dağılan Tablet	Şizofreni	Nobel İlaç Pazarlama ve Sanayii Ltd. Şti.
	Ozaprin Rapid <sup>®</sup> Ağızda Çözünebilir Tablet	Şizofreni	Ali Raif İlaç Sanayi A.S.
	Rexapin Easytab <sup>®</sup> Ağızda Dağılan Tablet	Şizofreni	Abdi İbrahim İlaç San. ve Tic. A.Ş.
	Zyprexa Velotab <sup>®</sup> ODT	Şizofreni	Lilly İlaç Ticaret Ltd. Şti.
Ondansetron	Onzyd <sup>®</sup> Ağızda Dağılan Tablet	Bulantı-Kusma	Platin Kimya Mümessillik ve Dış Ticaret Ltd. Şti.
	Santis <sup>®</sup> Ağızda Dağılan Tablet	Bulantı-Kusma	Kaya Beseri İlaç Sanayi ve Ticaret Anonim Sirketi
	Zofran Zydis <sup>®</sup> Hızlı Çözünen Dil Üstü Tablet	Bulantı-Kusma	Sandoz İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Piroksikam	Felden Flash <sup>®</sup> Tablet	Non-steroid antiinflamatuvar	Pfizer İlaç San. ve Tic. Ltd. Şti
Risperidon	Risperdal Quicklet <sup>®</sup> Ağızda Çözünür Tablet	Psikoz	Johnson & Johnson San. ve Tic. Ltd. Şti.



**Tablo 2.2 (Devam).** Türkiye’de bulunan ODT’lere örnekler.

<b>Etkin madde</b>	<b>Preparat adı</b>	<b>Endikasyon</b>	<b>Firma</b>
Rizatriptan	Maxalt Rapidisc <sup>®</sup> Ağızda Eriyen Tablet	Migren	Organon Turkey İlaçları Limited Şirketi
Sildenafil	Viagra <sup>®</sup> Ağızda Dağılan Tablet	Eretil Disfonksiyon	Pfizer İlaçları Ltd.Şti
Tadalafil	Icarus <sup>®</sup> Ağızda Dağılan Film	Eretil Disfonksiyon	Centurion Pharma İlaç ve San.Tic. Ltd. Şti.
Tiyokolşikosid	Maxthio <sup>®</sup> ODT	Kas Gevşetici	Deva Holding A.Ş.
Vardenafil	Levitra <sup>®</sup> Ağızda Dağılan Tablet	Eretil Disfonksiyon	Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti.
Zolmitriptan	Zomig Rapimelt <sup>®</sup> Film Tablet	Migren	Astrazeneca İlaç San.ve Tic.Ltd. Şti.

**Tablo 2.3.** Dünya piyasasında bulunan ODT'lere örnekler.

<b>Etkin madde</b>	<b>Preparat adı</b>	<b>Endikasyon</b>	<b>Firma</b>
Asetaminofen, parasetamol, kafein	Excedrin <sup>®</sup> Tablet	Migren	GlaxoSmithKline İlaçları San. ve Tic. A.Ş.
Baklofen	Kemstro <sup>®</sup>	Antispazmodik	Schwarz Pharma
Klonazepam	Klonopin Wafer	Anksiyete	Genentech USA, Inc.
Difenhidramin	Benadryl Fastmelt <sup>®</sup>	Antihistaminik	McNeil Products Limited
Famotidin	Pepcid <sup>®</sup> ODT	Peptik ülser	Merck&Co, Inc.
Hiyosinamin sülfat	Nulev <sup>®</sup>	GIS kramp	Meda Pharmaceuticals
İbuprofen	Cibalgina due FAST <sup>®</sup>	Analjezik	Vemedica Manufacturing
Loperamid HCl	Imodium Instant melts <sup>®</sup>	Diyare	Janssen
Montelukast	Romilast <sup>®</sup>	Astım	Ranbaxy
Olanzapin	Olanex Instab <sup>®</sup>	Şizofreni	Sun Pharmaceutical Industries Ltd
	Zyprexa Velotab <sup>®</sup> Ağızda Dağılan Tablet	Şizofreni	Lilly İlaç Ticaret Ltd. Şti.
Ondansetron	Zofran Zydis <sup>®</sup> Hızlı Çözünen Dil Üstü Tablet	Bulantı ve kusma	Sandoz İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Piroksikam	Feldene melt <sup>®</sup>	Analjezik	Pfizer İlaçları Ltd.Şti
Rizatriptan	Maxalt Rapidisc <sup>®</sup> Ağızda Eriyen Tablet	Migren	Merck Sharp Dohme İlaçları Ltd. Şti.
Rofekoksib	Dolib <sup>®</sup> MD	Analjezik	Panacea Biotec Ltd
Selejilin HCl	Zelapar <sup>®</sup> ODT	Parkinson	Valeant Pharmaceuticals International
Zolmitriptan	Zomig <sup>®</sup> ZMT	Migren	AstraZeneca

**Tablo 2.4.** Patentli ODT teknolojilerine örnekler.

<b>ODT Teknolojisi</b>	<b>Kullanılan Teknik</b>	<b>Patent Sahibi</b>
Zydis®	Liyofilizasyon	R.P. Scherer Inc.
Quicksolv®	Liyofilizasyon	Janseen Pharmaceutica
Flashtab®	Multipartiküler direkt basım	Prographarm
Lyoc®	Liyofilizasyon	Cephalon Corporation
Orasolv®	Direkt basım	Cima Labs Inc
Durasolv®	Direkt basım	Cima Labs Inc
Wowtab®	Şekillendirilmiş tabletler	Yamanouchi Pharma Technologies, Inc.
Flashdose®	Kristal lif yöntemi	Fuisz Technologies, Ltd.
Advatab®	Mikroenkapsülasyon	Eurand
Multiflash®	Kaplı mikrogranüllerden oluşan çok birimli tablet	Prographarm

### 2.1.9. Ağızda Dağılan Tabletlerde Yapılan Kontroller

Ağızda dağılan tabletlerin kalite kontrolleri amacıyla yapılan testler farmakopede kayıtlı olan ve farmakopede kayıtlı olmayan testler olmak üzere iki grup altında incelenebilir. Farmakopede kayıtlı testler ufalanma-aşınma-kırılma (*Friability*), dağılma süresi, içerik tek düzeligi ve çözünme hızı tayinidir. Farmakopelerde kayıtlı olmayan testler ise çap, kalınlık ve sertlik, ıslanma zamanı ve su absorpsiyon oranı, porozite'dir. ODT'lerin kontrolü amacıyla yapılan testlerin yapılışı Bölüm 3.4.4. Ağızda Dağılan Tabletlerde Yapılan Kontroller'de tanımlandığı için bu bölümde sadece başlık olarak verilmiştir.

## 2.2. Parkinson

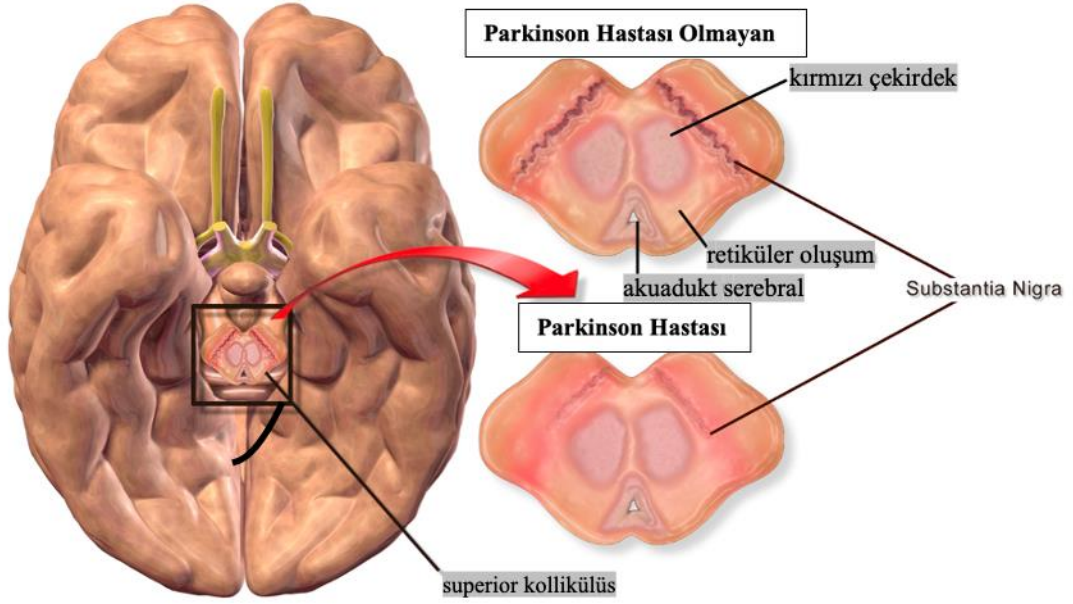
Parkinson hastalığı adını 1817'de *titremeli felç* olarak tarif eden İngiliz doktor James Parkinson'dan almıştır. Parkinson hastalığı (PD; Parkinson), esas olarak motor sistemi etkileyen, merkezi sinir sisteminin uzun vadeli dejeneratif bir bozukluğudur. PD'nin nedeni bilinmemekle birlikte genetik ve çevresel faktörlerin kombinasyonunun rol oynadığına inanılmaktadır. Parkinson hastalığı olan ailelerde kalıtsal risk faktörlerine bağlı olarak hastalığa yakalanma riski yüksektir. Pestisitlere maruz kalma ve önceki kafa yaralanmaları dikkat edilmesi gereken çevresel risk faktörleri arasında yer almaktadır. Kahve, çay ve tütün içenlerin daha az risk altında olduğu belirtilmiştir. Parkinson hastalığı, 65 yaş ve üstü nüfusun %2-3'ünü etkileyen Alzheimer'dan sonra en yaygın ikinci nörodejeneratif hastalıktır. İnsidansı, 65 yaş üzeri kişilerde 1:100'dür (2, 77-79). Hastalığın görülme riski yaşla birlikte artmaktadır. Erkeklerde görülme oranı kadınlardan daha yüksektir (yaklaşık 3:2 oranında daha fazla).

Semptomlar genellikle yavaş ortaya çıkar ve hastalık kötüleştikçe motor olmayan semptomlar daha sık görülür. Başlıca belirtileri tremor (titreme), rijidite (kaslarda gerginlik), bradikinezi (istemli hareketlerin başlama ve sürdürülmesinde yavaşlık), postür (duruş) bozukluğu, bradimimi (maske yüz) ve yürüme bozukluklarıdır. Hastalığın motor semptomları, *substantia nigra*'daki hücrelerin ölümünden kaynaklanır ve dopamin eksikliğine yol açar. Hücre ölümünün nedeni tam olarak anlaşılammakla birlikte nöronlarda yanlış katlanmış proteinlerin Lewy cisimciklerine birikmesiyle ilgilidir.

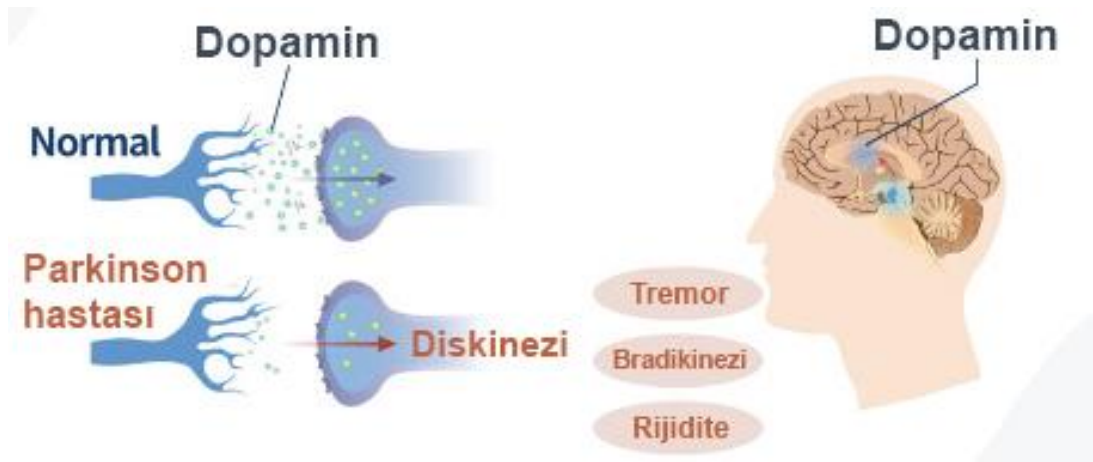
Bilişsel ve davranışsal problemler, PD'li birçok insanda meydana gelen depresyon, anksiyete ve ilgisizlik ile de ortaya çıkabilir. Psikoz %26 - 83 arasında değişen yaygınlıkta görülen bir semptomdur. Halüsinasyonlar veya sanrılar, hastalığın seyri boyunca Parkinson hastalarının yaklaşık %50'sinde görülür. Parkinson hastalığı demansı, hastalığın ileri evrelerinde yaygın hale gelir. Parkinson hastalarının uyku ve duyu sistemlerinde de sorun olabilir. Semptomlar gündüz uyuşukluğu (narkolepsiye benzeyen ani uyku atakları dahil), hızlı göz hareketi uykusunda bozukluklar veya uykusuzluk şeklinde kendini gösterebilir. Parkinson hastalığındaki gastrointestinal

sorunlar arasında kabızlık, mide boşalmasında bozulma yer alır. Aşırı tükürük üretimi, rahatsızlığa neden olacak veya sağlığı tehlikeye atacak kadar şiddetli olabilir. Ayrıca yutma bozukluğu ve ince bağırsakta aşırı bakteriyel büyüme de diğer gastrointestinal semptomlardır. Otonom sinir sistemindeki değişiklikler ortostatik hipotansiyona, yağlı cilde, aşırı terlemeye, idrar kaçırmaya ve cinsel işlevde değişkenliğe yol açabilir. Koku alma duyusunda bozulma, görmede bozulma, ağrı ve parestezi (karıncalanma ve uyuşma) gibi algıda değişiklikler olabilir ve bu semptomlar hastalığın teşhisinden yıllar önce ortaya çıkabilir.

Hastalık beyindeki dopaminerjik yolağın nöronlarının (*substantia nigra pars compacta*'daki (SNpc)) progresif sayıca azalmasına bağlı olarak ve Lewy cisimcikleri olarak adlandırılan intranöronal proteinli inklüzyonların varlığı ile karakterize edilir (80). Şekil 2.2'de Parkinson hastası ve Parkinson hastalığı olmayan bir bireyin beyinlerinin *substantia nigra* kısımları karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. Bu bazal ganglionlar (*substantia nigra ve corpus striatum*) istemli hareketlerin kontrolünü sağladığından buradaki dopamin üreten nöronların dejenere olması ve striatum üzerinde kontrolün azalması ile kas hareketlerinin kontrolü bozulur. Parkinson hastalığında (PD) nöronal ölüm, mitokondriyal kusurlar, oksidatif stres ve proteinin yanlış kullanımı gibi, nigrostriatal yoldaki apoptotik hücre ölümü durumunu destekleyen sınırlı sayıda koşulun karşılıklı etkileşimlerinden kaynaklanabilmektedir (81). Şekil 2.3'te dopaminin azalmasına bağlı gelişen semptomlar şematik olarak gösterilmiştir.



**Şekil 2.2.** Parkinson hastalığı olmayan ve Parkinson olan bir beynin substantia nigra kısımlarının karşılaştırılması (82).



**Şekil 2.3.** Parkinson hastalığında dopaminin azalması ve oluşan semptomlar (83).

Parkinson hastalığı benzeri “sekonder parkinsonizm” ise viral ensefalit ve küçük damar lezyonları ile oluşabilir. Fenotiyazinler ve haloperidol dopaminerjik reseptörleri bloke ederek Parkinson hastalığına benzer semptomlar oluşturabilir. Ayrıca rezepin yüksek dozlarda sinir uçlarındaki dopamini tüketerek sekonder Parkinson oluşturur. Bir meperidin analogu olan MPTP (metil fenil tetrahidropiridin) dopaminerjik reseptörleri yıkarak geri dönüşümsüz Parkinsonizm oluşturur. Bu madde hayvanlarda deneysel parkinson modeli oluşturmak amacıyla da kullanılmaktadır.

Dopamin esansiyel bir aminoasit olan tirozinden sentezlenir. Bu yolakta monoamin transmitterler sentezlenir. Parkinson hastalığında kullanılan ilaç gruplarından bazıları (L-dopa, karbidopa, benserazid, Monoamin oksidaz (MAO) inhibitörleri, Katekol-O-metiltransferaz (COMT) inhibitörleri) temel olarak bu yolak üzerine etkili ajanlardır. Parkinson tedavisinin amacı azalmış dopamini yerine koymakla birlikte, kolinerjik nöronların uyarıcı etkilerini antagonize ederek bozulmuş “dopaminerjik/kolinerjik” dengeyi yeniden sağlamaktır. Ayrıca beyinde yüksek oranda presinaptik olarak bilinen nöronal bir protein olan alfa-sinükleinin dopaminin salıverilmesinde ve depolanmasında görev aldığı düşünülmektedir. Nöroprotektif tedavide yeni bir yaklaşım olarak alfa-sinükleinlerin hedeflenmesi ile bu proteinin Lewy cisimciklerinin temel bileşenini oluşturuyor olması ve hücre ölümü ile bağlantılı olması nedeniyle alfa-sinüklein agregat oluşumunun önlenmesinin ya da yıkımının sağlanması ile tedaviye yanıt alınacağı düşünülmektedir (84).

### **2.2.1. Parkinson Hastalığının Teşhis ve Tedavisi**

Orta yaşta yapılan egzersiz ileri yaşta ortaya çıkabilecek PD riskini azaltabilir. Antioksidanların (C ve E vitaminleri gibi) hastalığa karşı koruma sağladığı öne sürülmekle birlikte olumlu bir etki gösterilememiştir (85). Steroid olmayan antienflamatuvar ilaçların (NSAID'ler) ve kalsiyum kanal blokerlerinin kullanımının koruyucu olabileceğine dair ön bulgular mevcuttur (86). 2010 yılında yapılan bir meta-analizde aspirin dışındaki NSAID'lerin, parkinson hastalığının gelişme insidansında en az %15 oranında bir azalma ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (87). NSAID'lerin PD'de nöroprotektif etkisinin olduğu konusunda artan kanıtlar olduğu belirtilmekle birlikte 2019 yılında yapılan bir meta-analizle bu ilişki doğrulanamamıştır. Bununla birlikte ibuprofen kullanımı ile parkinson gelişme riskinin azalması arasında bir bağlantı olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur (88).

Parkinsonda teşhis klinik belirtiler ve semptomlara göre belirlenir. En yaygın olarak kullanılan teşhis dopamin ilaçlarının (dopamin agonistleri ve L-dopa) verilmesiyle oluşan cevabın gözlenmesidir (78). Teşhiste manyetik rezonans (MR) ya da tomografik yöntemler pek faydalı olmamakla birlikte diğer hastalıkları ekarte etmek amacıyla kullanılabilir. Parkinsonlu hastaların bilgisayarlı tomografisi normal

görünebilir. MR görüntülemesi hastalığın teşhisinde zamanla daha doğru bir hale gelmiştir.

Parkinson hastalığının bir tedavisi yoktur ancak ilaçlar, cerrahi ve fizik tedavi rahatlama sağlayarak kişinin yaşam kalitesini artırabilir. Tedavide amaç semptomatik ve diskineziyi en aza indirmektir. Diskinezi, nöroleptik ilaçların belli bir süre kullanımından sonra ortaya çıkan değişik kas gruplarındaki istemsiz kompleks hareketlerdir (89). Motor semptomların tedavisinde yararlı ilaç levodopadır ve daima bir dopa dekarboksilaz inhibitörü, ve bir COMT inhibitörü, dopamin agonistleri ve MAO-B inhibitörleri ile kombine olarak kullanılır Parkinson tedavisinde en sık kullanılan ilaçlar ve uygulama dozları Tablo 2.5’de verilmiştir (90, 91).

İsrail'den Teva ve Danimarka'dan Lundbeck firmaları tarafından ortaklaşa geliştirilen Rasagilin mesilat (Azilect®), ilk olarak Şubat 2005'te Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından, 2006 yılında ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından Parkinson hastalığının tedavisinde monoterapi olarak onaylanmıştır.

Kök hücre ile Parkinson tedavisinde, uygun şekilde geliştirildiğinde etkili olabilecek umut verici çalışmalar bulunmaktadır. Ancak etik kaygılar ve kontrolsüz farklılaşmaya uğraması sonucu kansere sebebiyet verme olasılığı yönünden dezavantajları bulunmaktadır. Bu nedenle, etkinliğini belirlemek için çok daha fazla araştırma ve klinik denemelere ihtiyaç duyulmaktadır. Kök hücre, ilerleyen dönemlerde ümit verici bir tedavi yaklaşımı sağlayabilir (92).

Uluslararası Probiyotikler ve Prebiyotikler Bilimsel Derneği (ISAPP), probiyotikleri “yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlamaktadır. Probiyotikler ve nörodejeneratif bozukluklar arasındaki ilişki incelenmiştir. Probiyotiklerin PD hayvan modellerinin semptomlarını iyileştirebildiği birçok çalışmada gösterilmiştir. PD’li sıçanlarda mitokondriyal fonksiyonu ve enerji metabolizmasını eski haline getirdiği ve böylece dopaminerjik nöronlar üzerinde koruyucu bir etki sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca, belirli sürelerde probiyotik uygulaması yapılan çalışmalarda, yürüme



bozuklukları, denge fonksiyonu ve motor koordinasyondaki diskineziyi azalttığı belirtilmektedir. Bu nedenle, probiyotikler, PD'nin motor ve motor olmayan semptomlarını iyileştirerek tedavide olumlu etki sağlarlar (93-95).

**Tablo 2.5.** Parkinson tedavisinde kullanılan ilaçlar, kullanım dozları ve olası etkileri.

İlaç Sınıfı		Doz	Endikasyon	Yan etkiler
Levodopa-PDDI (periferal dopa dekarboksilaz inhibitör)	Levodopa-karbidopa	Günde üç kez 100/25 mg başlangıç dozu; maksimum 1500/375 mg veya semptomlara göre daha fazla	Tüm motor semptomlar	Mide bulantısı, ortostatik hipotansiyon, diskinezi ve halüsinasyonlar
	Levodopa-benserazid	Levodopa-karbidopa ile aynı dozlarda	Tüm motor semptomlar	Levodopa-karbidopa ile aynı etkiler
MAO B inhibitörleri	Selejilin	Günde bir kez 2,5 mg; maksimum, günde iki kez 5 mg	Erken, hafif semptomlar ve motor dalgalanmalar	Uyarıcı etki, baş dönmesi, baş ağrısı, konfüzyon ve levodopa yan etkilerinin şiddetlenmesi
	Rasajilin	Günde bir kez 1 mg	Erken, hafif semptomlar ve motor dalgalanmalar	Baş ağrısı, artralji, dispepsi, depresyon, grip benzeri sendrom, levodopa yan etkilerinin alevlenmesi ve kabızlık
	Safinamid	Levodopaya ek günde bir kez 50/100 mg	Levodopa tedavisinde doz sonu kötüleşmesinde	Uykusuzluk, diskinezi, baş dönmesi, bulantı

**Tablo 2.5 (Devam).** Parkinson tedavisinde kullanılan ilaçlar, kullanım dozları ve olası etkileri.

Dopamin agonisti	Pramipeksol	Günde üç kez 0.125 mg ile başlayın; maksimum, 4,5 mg/gün	Tüm motor semptomlar	Mide bulantısı, ortostatik hipotansiyon, halüsinasyonlar, ICD'ler, ödem ve artan uyku hali (uyku atakları dahil)
	Pramipeksol uzatılmış salım	Günde bir kez 0,26 mg, 0,52 mg, 1,05 mg, 2,1 mg veya 3,15 mg	Tüm motor semptomlar	Pramipeksol ile aynı etkiler
	Ropinirol	Günde üç kez 0,25 mg ile başlayın; maksimum, 24 mg/gün	Tüm motor semptomlar	Pramipeksol ile aynı etkiler
	Ropinirol uzatılmış salım	6-24 mg günde bir kez	Tüm motor semptomlar	Pramipeksol ile aynı etkiler
	Rotigotin	2 mg/24 saat başlayın; maksimum, 16 mg/24 saat	Tüm motor semptomlar	Pramipeksol ile aynı etkiler
COMT (katekol-O- Metil Transferaz) inhibitörleri	Entakapon	Her bir levodopa dozu ile 200 mg; maksimum, 8/gün	Motor dalgalanmalar	Koyu renkli idrar ve levodopa yan etkilerinin şiddetlenmesi
	Tolkapon	Günde üç kez 100-200 mg	Motor dalgalanmalar	Koyu renkli idrar, levodopa yan etkilerinin alevlenmesi ve hepatotoksiste
Beta blokör	Propranolol	Günde iki kez 40 mg ile başlayın; maksimum, 320 mg/gün	Titreme	Yorgunluk ve baş dönmesi

**Tablo 2.5 (Devam).** Parkinson tedavisinde kullanılan ilaçlar, kullanım dozları ve olası etkileri.

Antikolinergik	Triheksifenidil	Günde bir kez 1 mg ile başlayın; tipik idame dozu günde üç kez 2 mg	Titreme	Halüsinasyonlar, Kognitif bozukluk, mide bulantısı, ağız kuruluğu, bulanık görme, idrar retansiyonu ve kabızlık
	Benzotropin	Günde bir kez 0.5-1 mg ile başlayın; olağan doz günde üç kez 1-2 mg	Titreme	Triheksifenidil ile aynı etkiler
Nöroleptik	Klozapin	Yatmadan önce 6.25-12.5 mg'a başlayın; maksimum, 150 mg/gün	Tremor ve diskinezi	Agranülositoz, miyokardit, nöbetler, sedasyon ve ortostatik hipotansiyon
	Amantadin	Günde bir kez 100 mg ile başlayın; maksimum, günde 4 kez (günde üç kez tipiktir)	Yürüyüş disfonksiyonu ve diskinezi	Halüsinasyonlar, konfüzyon, bulanık görme, ayak bileği ödemi, Livedo reticularis, mide bulantısı, ağız kuruluğu ve kabızlık

İlaç tedavisinin artık yeterli olmadığı ilerlemiş PD'li hastalara cerrahi işlem uygulanabilmektedir. PD'de cerrahi işlem lezyonel ve derin beyin stimülasyonu (DBS) olmak üzere iki ana gruba ayrılır. DBS veya lezyonlar için talamus, globus pallidus veya subtalamik çekirdek hedef alanlardır. DBS, beynin belirli bölgelerine elektriksel uyarı gönderen nörostimülatör adı verilen tıbbi bir cihazın implante edilmesi esasına dayanır. DBS, şiddetli nöropsikiyatrik sorunları olmadığı sürece, motor dalgalanmaları ve tremoru ilaçla yeterince kontrol edilemeyen parkinson hastalarına veya ilacı tolere edemeyen hastalara önerilir (96, 97). Bu yöntemlerin de birtakım komplikasyonları, yan etkileri ve sakıncaları mevcuttur. Cerrahi komplikasyonlar (yara yeri enfeksiyonu, steril seroma, intraserebral hematoma, yabancı cisim reaksiyonu, santral sinir sistemi enfeksiyonu) olabilmektedir. DBS'ye iyi yanıt alınabilmesi için uygun hasta seçimi, doğru cerrahi teknik, stimülasyon

programlamasının optimum düzeyde ve medikal tedavinin yeterli olması gerekmektedir. DBS tedavisindeki Parkinson hastalarında konuşma ve ses bozuklukları sık görülen bir yan etki olarak tanımlanmıştır. Oküler deviasyon ve göz açma apraksisi gibi göz ile ilişkili anormallikler görülebilmektedir. DBS’de depresyon, anksiyete, apati, agresif davranış, manik epizod ve impuls kontrol bozukluğu gibi semptomlar ortaya çıkabilir (96).

Parkinson hastalarına egzersiz önerilmektedir. Fizik tedavi ile birlikte veya tek başına düzenli fiziksel egzersiz, hareketliliği, esnekliği, kuvveti, yürüme hızını ve yaşam kalitesini korumak ve iyileştirmek için faydalı olabilmektedir (98). Fizyoterapist gözetiminde yapılan egzersiz programıyla evde kendi kendine yapılan egzersiz programına göre motor semptomlarda, mental ve duygusal fonksiyonlarda, günlük yaşam aktivitelerinde ve yaşam kalitesinde daha fazla iyileşme olmaktadır (99-101). Ayrıca kafein içeren gıdaların tüketiminin de Parkinson Hastalığı’na yakalanma riskini azalttığı ve koruyucu etki sağladığı gösterilmiştir (102).

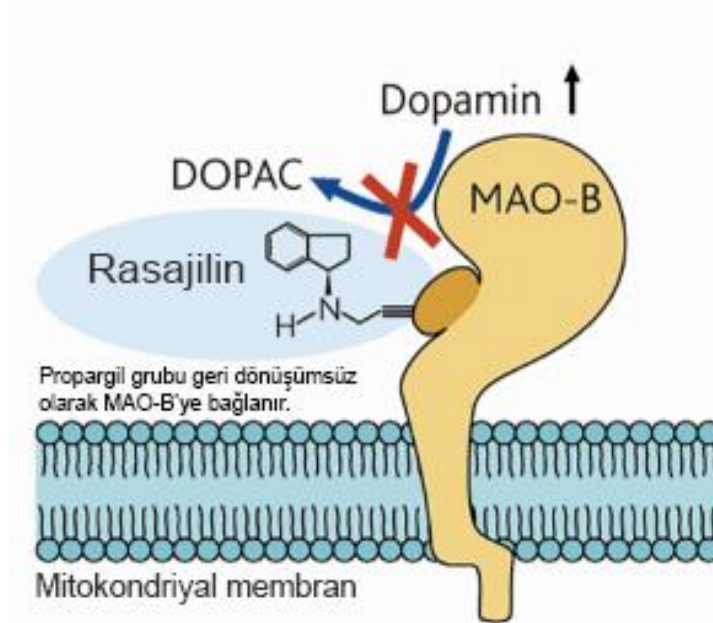
### 2.3. Rasajilin

Rasajilin mesilat (Azilect®), Teva-İsrail ve Lundbeck-Danimarka tarafından ortak geliştirilmiş olup, levodopa ile tedavi edilmeyen Parkinson hastalarında monoterapi ve levodopa ile tedavi edilen hastalarda levodopaya ek tedavi olarak kullanılmak üzere ilk olarak Avrupa İlaç Ajansı (European Medicines Agency, EMA) tarafından 2005 yılında, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (US Food and Drug Administration, FDA) tarafından 2006 yılında onaylanmıştır. Günümüzde elli ülkede Parkinson hastalarının tedavisinde kullanılmaktadır (103).

Rasajilin, monoamin oksidaz tip B (MAO-B)’nin yeni, seçici, geri dönüşümsüz ikinci nesil bir inhibitörüdür. Parkinson hastalığının tedavisinde, MAO-B inhibitörleri, striatal dopamin yıkılımını yavaşlatarak etkilerini gösterirler. MAO enzimi, mitokondrial membranın dış kısmında yer alan ve monoamin nörotransmitterlerin (dopamin, serotonin, noradrenalin) oksidatif deminasyonundan sorumlu olan bir enzimdir. MAO-A ve MAO-B olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır. MAO-A

gastrointestinal kanalda total MAO aktivitesinin %80'ini sağlamak üzere periferel organlarda bulunmaktadır. MAO-B beyinde ve bazal gangliada bulunan başlıca izoformdur. MAO-A ve MAO-B insan beyinde farklı bölgelerde bulunmaktadır. MAO-B, raphe çekirdeğinin serotonerjik nöronları ve glia hücrelerinde bulunurken, MAO-A locus coeruleus'un adrenerjik nöronlarında lokalizedir (104).

Rasajilin etkisini propargil alanı aracılığıyla bağlanan ve nöronal hücrelerde mitokondrinin dış zarında konumlanan MAO-B enziminin flavin adenin dinükleotid (FAD) kısmına kovalent olarak bağlanarak MAO-B'yi geri dönüşümsüz olarak inhibe eder. MAO-B'nin dopamini dihidroksifenilasetik aside (DOPAC) metabolize etmesi için FAD kısmı gerekli olduğundan, bu bölgeyi bloke ederek, rasajilin MAO-B tarafından dopamin metabolizmasını inhibe eder ve sinapstaki dopamin seviyesini yükseltir. Şekil 2.4'te şematik olarak gösterilmiştir (105).



Şekil 2.4. Rasajilin'in etki mekanizması (105).

Rasajilin, parkinson hastalığının tedavisinde monoterapi veya tedaviye yardımcı olarak kullanılmaktadır. Parkinson hastalığının erken safhalarında monoterapi ile etkili olduğu ve parkinson semptomlarını azalttığı görülmüştür. Ek olarak, levodopa ile birlikte uygulandığında orta ve ileri düzeydeki parkinsonda

tedaviye yanıt alınmıştır. Hastalarda iyi tolere edilen ve etkili bir seçenek olarak günümüz tedavisinde tercih edilmektedir (106).

MAO-B inhibitörlerinin antiapoptoz eyleminin hücrel mekanizmasının, mitokondriyal ölüm sinyalinin baskılanmasından kaynaklandığı ve rasajilinin, mitokondrinin zarlar arası boşluğunu stabilize ederek ve sitokrom C'nin sitoplazmaya salınmasını ve takip eden apoptoz aktivasyonunu önlediği düşünülmektedir (107-109).

Literatürde Parkinson tedavisinde kullanılmak üzere rasajilin içeren farklı dozaj şekilleri geliştirilerek yapılan çalışmalar mevcuttur. Bir çalışmada ısıya duyarlı mukoadhezif jelde (SLNs-GEL) rasajilin yüklü intranazal formülasyonlar hazırlanmıştır. Optimal formülasyonun 25°C'de nazal uygulamada sıvı, 32°C'de nazal sıcaklıkta viskoz olduğu gözlenmiştir. *Ex-vivo* permeasyon çalışmasında, mukozal boyunca geçirgenliğinde önemli bir artış olduğu gösterilmiştir. Rasajilinin jel formülasyonunun Parkinson hastalığının tedavisi için potansiyel bir ilaç verme sistemi olabileceğini ve kan-beyin engelini aşmak amacıyla nazal yoldan beyni hedefleme stratejisi için fayda sağlayacağı düşünülmektedir (110). Benzer bir çalışmada rasajilin yüklü kitosan glutamat nanopartikülleri ile farelerde yapılan *in vivo* biyodağılım çalışmaları, ilacın intravenöz ve nazal solüsyonlarının sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, beyine hedefleme için geliştirilen nanopartiküllerin üstünlüğünü göstermiştir. Kitosan nanopartiküllerinin nazal uygulanmasından sonra beyindeki biyoyararlanımın önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir. Nazal yoldan beyine doğrudan hedeflemenin Parkinson hastalığı tedavisinde önemli bir başarı olabileceği belirtilmiştir (111).

Hesperetin ve naringenin'in sıçanlarda rasajilinin farmakokinetiği üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada, sıçanlara oral olarak tek başına rasajilin (2 mg/kg) verilerek tedavi edilmiş ve art arda 15 gün boyunca hesperetin ve naringenin (12.5 ve 25 mg/kg) ile birlikte uygulanmıştır. Rasajilinin eğri altındaki alanı (AUC), maksimum plazma konsantrasyonu ( $C_{maks}$ ) ve eliminasyon yarı ömrü ( $t_{1/2}$ ) ve de beyindeki rasajilin konsantrasyonu önemli ölçüde artmıştır. Hesperetin ve naringenin, rasajilinin sistemik maruziyetini arttırmasının CYP1A2'nin inhibisyonuna bağlı olabileceği belirtilmiştir (112).

Bir başka çalışmada insan histamin H3 reseptörü (H3R) ve MAO-B üzerindeki inhibe edici aktivite için bir dizi bileşik tasarlanmış ve *in vitro* olarak test edilmiştir. Bileşiklerin çoğu, H3R için zayıf afiniteye sahiptir, fakat MAO B için çok iyi inhibe edici güce sahiptir. *In vitro* çalışmalardan sonra en umut verici çift etkili ligand olan 1-(3-(4-(tert-bütil)fenoksi)propil) -2-metilpirolidin *in vivo* değerlendirme için seçilmiştir. Bileşiğin sıçanlarda 3 mg/kg dozda yapılan araştırmalar, H3R (yiyecek ve su tüketiminde azalma), sıçan serebral korteksindeki MAO B aktivitesinde düşüş (>%90) antagonistik etkilerini doğrulamıştır. Serebral korteks ve striatumdaki dopamin içeriğinde bir artış sağlamıştır. Ayrıca noradrenalinde hafif bir artışa, ancak serebral kortekste serotonin konsantrasyonunda bir azalmaya neden olmuştur. Bu nedenle, tedavi de umut verici potansiyel bir bileşik olmasına rağmen daha fazla çalışma gerekmektedir (113).

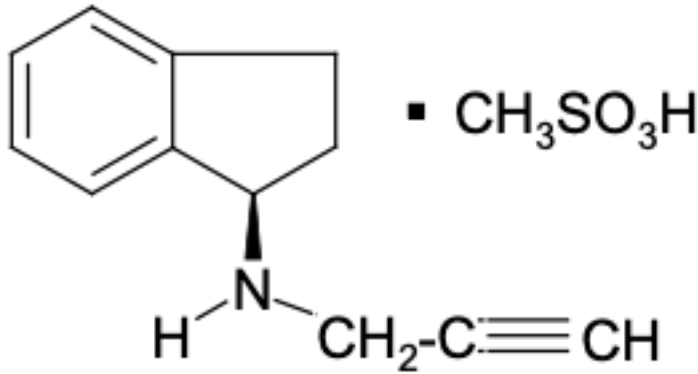
Rasajilin tartarat (1 mg) tabletler (test) ile rasagilin mesilat (1 mg) tabletleri (Azilect®) karşılaştırmak için randomize, iki tedavi, dört dönem, iki dizi, tek doz, tekrarlı sağlıklı, yetişkin erkek gönüllülerde çapraz geçişli bir biyoeşdeğerlik çalışması yapılmıştır. İki formun da ilaç alımını takiben aynı dağılım, metabolizma ve eliminasyon ile aynı terapötik ve güvenlik profillerine sahip olduğu, aynı etkiyi gösterdiği ve biyoeşdeğer olduğu gösterilmiştir (114).

Ticari bir ODT preparatı olmamasına rağmen, literatürde farklı yöntemlerle hazırlanmış (granülasyon, direkt basım, solvent döküm yöntemi gibi) rasajilin formülasyonları mevcuttur. Literatürde yapılan bir çalışmada rasajilin hızlı dağılan (*rapidly disintegrating*) tablet formülasyonları yaş granülasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. Bunlardan en kısa dağılma süresine sahip formülasyonunun dağılma süresi 4,3dk olarak tayin edilmiştir (115). Bir diğer çalışmada yaş granülasyonla hızlı salım tabletlerinin dağılma süreleri 15dk'ın altında tayin edilmiştir (116). Dağılma süresi bakımından bizim optimum formülasyonumuzla karşılaştırıldığında oldukça yüksek dağılma süresine sahip oldukları görülmektedir. Ayrıca hazırlama yönteminin de yaş granülasyonla olması işlem basamaklarını arttırmış hem zaman hem de maliyeti yükseltmiştir. Bir başka çalışmada ise solvent döküm yöntemi ile doğal bir polimer

olan polietilen oksit ile ağızda dağılan film formülasyonları hazırlanmıştır (117). Bu formülasyonlardan 12,39sn ile en kısa dağılma süresine sahip formülasyon bizim formülasyonlarımıza yakın değerdedir. Bir başka çalışmada ise rasajilinin direkt basım ODT formülasyonu hazırlanmıştır. Ancak dağılma süreleriyle ilgili bir bilgi paylaşılmamıştır (118). Bu tez kapsamında geliştirilen ODT formülasyonu hem dağılma süresi bakımından hem de direkt basım yöntemi ile hazırlandığı için daha kısa proses avantajı sağlamaktadır.

### 2.3.1. Fizikokimyasal Özellikleri

Propargilamin bazlı bir ilaç olan rasajilinin mesilatın (Şekil 2.5) kimyasal yapısı ile fizikokimyasal özellikleri Tablo 2.6'de verilmiştir (119).



Şekil 2.5. Rasajilin mesilatın kimyasal yapısı (119, 120).



**Tablo 2.6.** Rasajilin Mesilatın fizikokimyasal özellikleri (5, 119).

Kimyasal Formülü	1H-Inden-1 amine, 2, 3-dihydro-N-2-propynyl-, (1R)-, methanesulfonate.
Molekül Formülü	(C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> N)CH <sub>4</sub> SO <sub>3</sub>
Molekül Ağırlığı	267.34 g/mol
Fiziksel özellikleri	Katı beyaz kristal toz
Çözünürlük	Su ve etanolde serbestçe çözünür, izopropanolde az çözünür
İyonizasyon sabiti	$pK_a^T = 7.07(1)$ 25 °C de ve $7.16(1)$ 37 °C'de

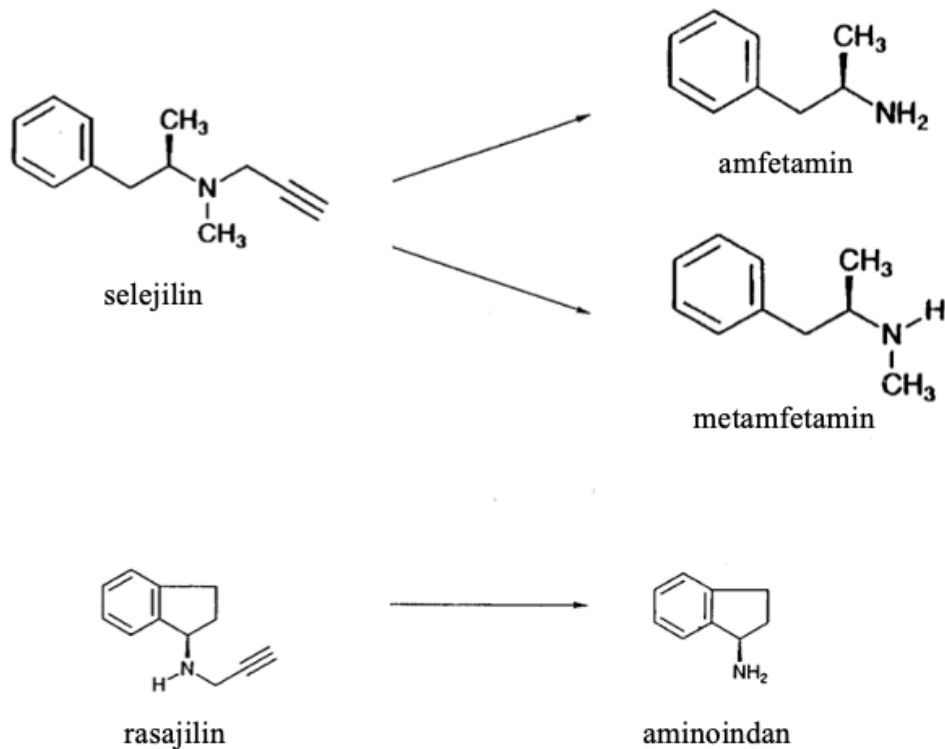
Rasajilin stok çözeltisi 2-8°C'de 28 gün, rasajilin plazma içinde oda sıcaklığında 24 saat, 20°C'de 55 saat, -30°C'de üç tekrarlı dondurulup çözülmesi ile ve uzun dönem 30°C'de 78 güne kadar dayanıklı olduğu yapılan literatür çalışmalarında gösterilmiştir (121, 122).

Rasajilin çözünürlük ve permeabilite özelliklerine göre Biyofarmasötik Sınıflandırma Sisteminde (BCS) Sınıf III (yüksek çözünürlük ve düşük permeabilite) bir ilaç olarak sınıflandırılmıştır (103, 123). Biyofarmasötik ilaç dispozisyon sınıflandırma sistemine göre ise rasajilin mesilat Sınıf I (yüksek çözünürlük, yüksek metabolizasyon) bir ilaç olarak sınıflandırılmıştır (124).

### 2.3.2. Farmakolojik Özellikler

Klinikte MAO inhibitörü olarak selejilin, rasajilin ve safinamid olmak üzere üç ilaç kullanılmaktadır. Bunlardan selejilin, L-amfetamin ve L-metamfetamin metabolitleri sebebi ile nörotoksik özellikler göstermektedir (125). Selejilinin oral biyoyararlanımı %10 olarak bildirilmiştir. Selejilinin biyoyararlanımı ve biyogüvenilirlik düzeyi ODT formülasyonu geliştirilerek iyileştirilmiştir. Oral yolla verildiğinde karaciğerden ilk-geçiş metabolizmasına uğrayan selejilinin ODT tableti ağızda alır almaz hemen dağılarak ve pregastrik olarak absorbe olarak hem ilk geçiş metabolizmasını hem de amfetamin türevi metabolitlerinin oluşması azalmıştır Ayrıca biyoyararlanımı % 80'e yükseltmiş ve bir defalık uygulama dozunun 4-5 kez azaltılmasını sağlamıştır (6, 126).

Rasajilinin striatumdaki ekstraselüler dopamin düzeylerinde artışa neden olabilen güçlü ve geri dönüşümsüz bir MAO-B selektif inhibitörüdür. Rasajilinin dopaminerjik motor disfonksiyon modellerinde görülen yararlı etkileri, yüksek dopamin düzeyi ve sonrasında artmış dopaminerjik aktivite aracılığıyla oluşmaktadır. Karaciğerde ilk-geçiş metabolizmasına uğrayan rasajilinin metabolitleri amfetamin türevi olmadığı için nörotoksik etkileri görülmemekte ve bu nedenle daha iyi tolere edilebilmektedir (127). Rasajilinin ana metaboliti 1-(R)-aminoindan (Şekil 2.6) hem nörotoksik değildir hem de rasajilinin etkilerine katkıda bulunmaktadır. Sıçanlarda 80 gün boyunca 1-(R)-aminoindan 0,5mg/kg günlük doz uygulanmasıyla yapılan bir çalışmada %43 oranında MAO-B aktivitesi inhibisyonu ve %6 MAO-A aktivitesi inhibisyonu sağlanmıştır (128). Rasajilin, akut ve kronik uygulamada *in vivo* olarak sıçan beyni ve karaciğerinde MAO-B'nin inhibisyonu için selegilinden 3-15 kat daha güçlü olduğu gösterilmiştir (125).



Şekil 2.6. Rasajilin, selejilin ve metabolitlerinin kimyasal yapıları (125, 129).

Rasajilinin striatumdaki ekstraselüler dopamin düzeylerinde bir artışa neden olabilen güçlü ve geri dönüşümsüz bir MAO-B selektif inhibitörü olduğu gösterilmiştir. Rasajilinin dopaminerjik motor disfonksiyon modellerinde görülen yararlı etkileri, yüksek dopamin düzeyi ve sonrasında artmış dopaminerjik aktivite aracılığıyla oluşmaktadır.

### 2.3.3. Farmakokinetik Özellikler

Rasajilin farmakokinetiği 0,5-2 mg doz aralığında doğrusaldır. Kadın ve erkeklerde farmakokinetik profili benzerdir ve yaşı (> 65 yaş) rasajilin farmakokinetiği üzerinde etkisi çok azdır (123).

Oral yolla uygulama sonrasında rasajilin hızla absorbe edilir ve maksimum plazma konsantrasyonuna ( $C_{maks}$ ) yaklaşık 1 saatte ulaşır. Tek bir rasajilin dozunun mutlak biyoyararlanımı yaklaşık %36'dır. Besinler rasajilinin  $t_{maks}$  değerini etkilememekle beraber, rasajilin çok yağlı bir yemekle birlikte alındığında  $C_{maks}$  ve eğri altı alan (AUC) değerleri sırasıyla yaklaşık % 60 ve % 20 oranlarında azalmıştır. AUC değeri anlamlı olarak etkilenmediği için, rasajilin yemeklerle birlikte veya tek başına alınabilir (123, 130).

İntravenöz yolla tek dozda uygulama sonrasında rasajilinin ortalama dağılım hacmi 182-243 litredir. Kan beyin engelini kolayca geçer. Rasajilin oral yolla tek dozda uygulandığında plazma proteinine (albümin) bağlanma oranı yaklaşık % 60 – 70 civarındadır (131, 132).

Rasajilin karaciğerde tama yakın biyotransformasyona uğrar. Rasajilin metabolizasyonu N-dealkilasyon ve/veya hidroksialkilasyon olmak üzere iki ana yoldan ilerler ve 1-aminoindan, 3-hidroksi-N-proparjil-1 aminoindan ve 3-hidroksi-1-aminoindan metabolitleri oluşur. Rasajilinin N-dealkilasyon ve hidroalkilasyonu sitokrom P450 sistemi tarafından gerçekleştirilir ve CYP1A2 rasajilinin metabolizmasından sorumlu ana izoenzimdir. Rasajilin ve metabolitlerinin konjugasyonunun, glükuronatları meydana getirmek üzere ana eliminasyon yolu

olduğu da görülmüştür. *Ex vivo* ve *in vitro* deneylerle rasajilinin CYP450 enzimlerinin inhibitörü ya da indükleyicisi olmadığı gösterilmiştir. <sup>14</sup>C ile işaretlenmiş rasajilinin oral yolla verilmesinden sonra, primer olarak idrar yoluyla (% 62,6) ve sekonder olarak feçesle (% 21,8) elimine edildiği gösterilmiştir, ve dozun % 84,4'ü 38 günlük bir dönemde elimine edilmiştir. Rasajilinin %1'inden azı, idrar yoluyla değişmeden atılmaktadır. Rasajilinin terminal yarı ömrü 0,6-2 saattir (123).

Hafif karaciğer yetmezliği olan hastalarda AUC ve C<sub>maks</sub> sırasıyla %80 ve %38 oranında artarken, orta derecede karaciğer yetmezliği olan kişilerde AUC ve C<sub>maks</sub> sırasıyla %568 ve %83 oranında artmıştır (133).

Hafif (CL<sub>cr</sub> 50-80 ml/dk) ve orta derecede (CL<sub>cr</sub> 30-49 ml/dak) böbrek yetmezliği olan hastalarda rasajilinin farmakokinetik özelliklerinin sağlıklı gönüllülere benzer olduğu belirtilmiştir (134).

#### **2.3.4. Yan Etkileri ve Kontrendikasyonları**

Klinik çalışmalarda monoterapideki vertigo ve Parkinson hastalarında sık gözlenen yan etkiler baş ağrısı, depresyon, influenza ve rinittir. Levodopa ya ek olarak kullanıldığında diskinezi, ortostatik hipotansiyon, düşme, karın ağrısı, bulantı ve kusma ve ağız kuruluğu görülmektedir. Her iki uygulamada sırt ve boyun ağrısı gibi kas-iskelet ağrısı ve artralji en sık görülen yan etkilerdir (134).

Rasajilinin 3 mg ile 100 mg arasında değişen dozlarda doz aşımı sonrası bildirilen semptomlar hipomani, hipertansif kriz ve serotonin sendromudur. Doz aşımı MAO-A ve MAO-B'nin inhibisyonu ile ilişkilendirilebilir. Sağlıklı gönüllülere günde 20 mg ve on gün süreyle günde 10 mg verildiğinde advers etkiler hafif veya orta düzeydedir ve rasajilin tedavisi ile ilişkili değildir. Kronik levodopa tedavisi alan ve günde 10 mg rasajilin ile tedavi edilen hastalarda yapılan bir doz titrasyon çalışmasında, tedavinin kesilmesinden sonra düzelen kardiyovasküler advers etkilere (hipertansiyon ve postural hipotansiyon dahil) ait bildirimler olmuştur. Bu semptomlar selektif olmayan MAO inhibitörleriyle gözlemlenenlere benzerdir. Doz aşımında

spesifik bir antidotu yoktur, hastalar izlenmeli ve destekleyici tedavi başlatılmalıdır (134).

Serotonin sendromu riski nedeniyle meperidin, tramadol, metadon, propoksifen ve diğer seçici MAO-B inhibitörleri dahil olmak üzere MAO inhibitörleri ile kullanımı kontrendikedir. Sarı kantaron, siklobenzaprin ve psikoz epizodu veya tuhaf davranış riski nedeniyle dekstrometorfan ile kullanımı kontrendikedir. Rasajilinin kesilmesi ile MAO inhibitörleri veya petidin tedavisine başlanması arasında en az 14 gün geçmelidir. Şiddetli karaciğer yetmezliğinde kullanımı değerlendirilmelidir (123, 134, 135).

### **2.3.5. Kullanım Dozu**

Rasajilinin etki mekanizması günde bir kez dozlamaya izin verir. Trombositlerde, beyinde ve karaciğerde geri dönüşümsüz MAO-B inhibisyonu birçok türde gösterilmiştir, bu nedenle etki süresi muhtemelen MAO-B sentezinin hızına bağlıdır (136).

Rasajilin için önerilen doz, tek başına veya levodopa ile birlikte günde bir kez 1 mg'dır. Yaşlı hastalarda doz değişikliğine gerek yoktur. Rasajilin ileri derecede karaciğer yetmezliği olan hastalarda kontrendikedir. Orta derecede karaciğer yetmezliği olan hastalarda kullanımından kaçınılmalı, hafif derecede karaciğer yetmezliğinde ise dikkatli olunmalıdır. Rasajilinin böbrek yetmezliği olan hastalarda kullanımında özel önlem alınmasına gerek yoktur.

### **2.3.6. Piyasa Preparatları**

Rasajilin mesilat 0,5 ve 1 mg'lık tabletler olarak bulunmaktadır. Bugüne kadar rasajilin için geliştirilmiş ticari bir ODT formu piyasada bulunmamaktadır. Rasajilinin için selejilinde olduğu gibi ODT formu geliştirilmesi ile oral yolla alınan konvansiyonel tabletle sağlanan biyoyararlanımın artırılması ve ilk geçişte hepatik metabolizmasının engellenmesi sayesinde biyogüvenilirliği daha yüksek olan etkin bir

dozaj şeklinin elde edilmesi mümkün olabilecektir. Rasajilin içeren ticari preparatlar Tablo 2.7’de verilmiştir.

**Tablo 2.7.** Türk ilaç piyasasındaki rasajilin içeren preparatlar.

<b>Müstahzar adı ve dozu</b>	<b>Firma</b>
Azilect <sup>®</sup> 1mg Film Tablet	Teva İlaç San. ve Tic. A.S.
Azipar <sup>®</sup> 1mg Tablet	Ali Raif İlaç Sanayi A.S.
Aziras <sup>®</sup> 1mg Tablet	Pharmactive İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.
Etkinia <sup>®</sup> 0.5 ve 1mg Tablet	Santa Farma İlaç Sanayii A.Ş.
Linra <sup>®</sup> 1mg Tablet	Angelini İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Nervogil <sup>®</sup> 1mg Tablet	İlko İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Noparks <sup>®</sup> 1mg Tablet	Dinçsa İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.
Parlin <sup>®</sup> 1mg Tablet	Nobel İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Rajil <sup>®</sup> 1mg Tablet	Generica İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Rasalas <sup>®</sup> 1mg Tablet	Abdi İbrahim İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Saglis <sup>®</sup> 1mg Tablet	Nobel İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Trepar <sup>®</sup> 1mg Tablet	Biofarma İlaç San. ve Tic. A.Ş.

#### 2.4. Permeabilite Tayini

Bir etkin maddenin permeabilitesi bağırsak membranının yapısı ve bütünlüğü, etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri (molekül büyüklüğü, hidrojen bağı yapabilme kapasitesi gibi) ve spesifik transport mekanizmaları (absorptif taşıyıcılar, eksorptif taşıyıcılar gibi) tarafından etkilenir. Bir etkin maddenin permeabilitesini tayin etmek amacıyla FDA ve EMA tarafından farklı yöntemler önerilmektedir (137, 138). Bu yöntemler;

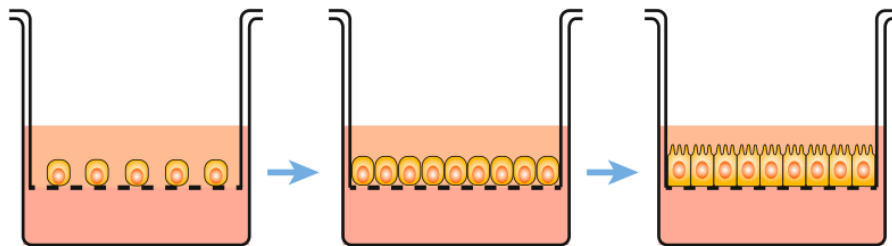
- Kütle-denge çalışmaları
- Mutlak biyoyararlanım çalışmaları
- Bağırsak perfüzyonu çalışmaları
  - İnsanlarda *in vivo* bağırsak perfüzyonu
  - Uygun havyan modeli (ör. sıçan) kullanarak *in vivo* ya da *in situ* bağırsak perfüzyonu
  - İnsan ya da hayvan bağırsak dokuları kullanarak *in vitro* permeasyon
  - Tek tabakalı epitel hücre kültüründen permeasyon çalışmaları

kullanılarak permeabilite tayin edilebilir. Bu tez kapsamında rasajilinin permeabilitesi tek tabakalı epitel hücre kültüründen (Caco-2 hücreleri) permeasyon ve sıçanlarda *in situ* bağırsak perfüzyonu yöntemleri kullanılarak tayin edilmiştir.

#### 2.4.1. Hücre Kültürü Çalışmaları

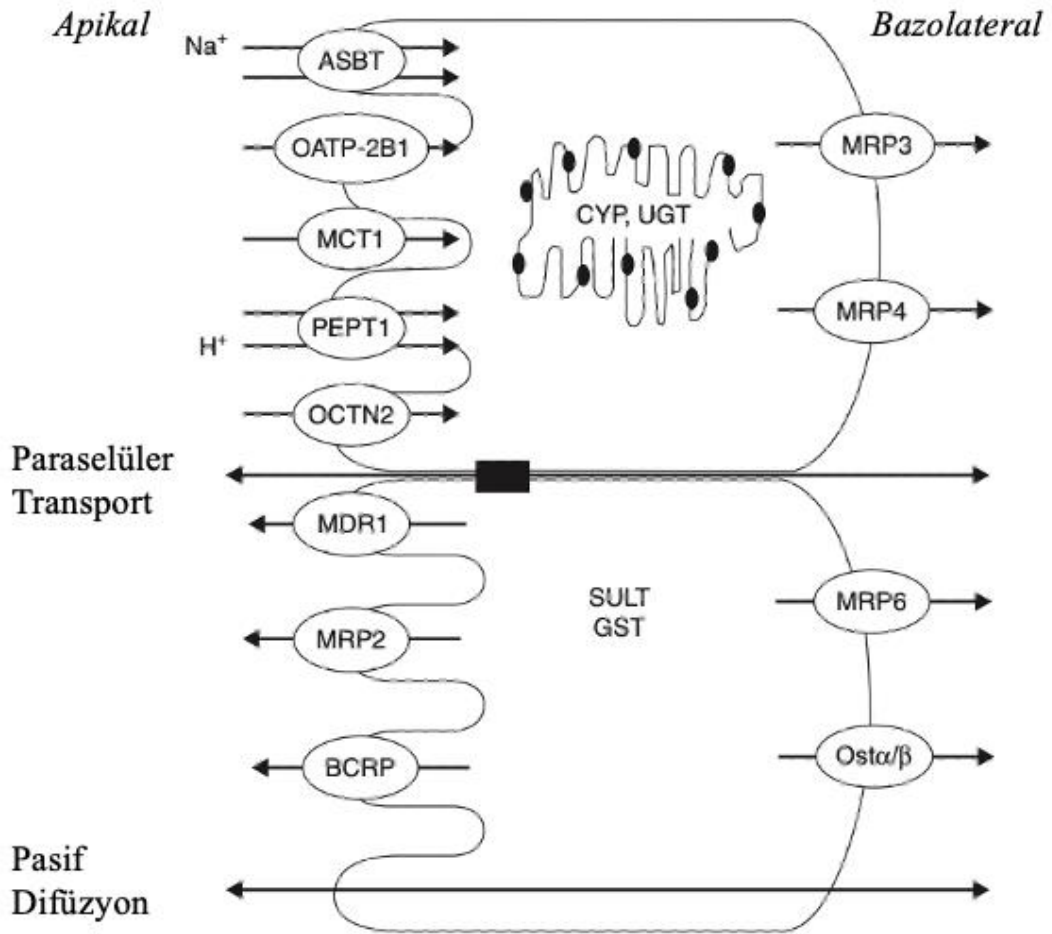
Sloan-Kettering Kanser Araştırma Enstitüsü'nde Jorgen Fogh tarafından insan kolorektal adenokarsinomasından elde edilen Caco-2 (*Cancer coli-2*) hücreleri etkin maddelerin intestinal permeabilitesini tayin etmek amacıyla bağırsak epitel bariyerinin bir modeli olarak yayın olarak kullanılmaktadır (139).

Uygun koşullarda uygun bir destek üzerinde büyütülen Caco-2 hücreleri polarize olarak sağlıklı bağırsak enterosit hücrelerinin özelliklerini gösterirler. Caco-2 hücreleri insertler üzerine ekildikten yaklaşık 21 gün sonra farklılaşarak apikal yüzeyde hücreler arasında sıkı kavşakların ve mikrovillilerin oluştuğu, enzim ve taşıyıcı proteinleri eksprese ettikleri tespit edilmiştir (Şekil 2.7) (140).



Şekil 2.7. Caco-2 hücrelerinin farklılaşması (140).

Ayrıca Caco-2 hücrelerinin apikal ve bazolateral yüzeylerinde substrat ilaçların permeabilite ve absorpsiyonları üzerine etki eden çeşitli absorptif ve eksorptif taşıyıcı proteinlerin eksprese edildiği tespit edilmiştir (Şekil 2.8). Bu nedenle, tek tabaka, ilaç absorpsiyon mekanizmalarının araştırılması ve substratların veya inhibitörlerin veya taşıyıcıların ve enzim indükleyicilerinin tanımlanması için kullanılır. Şekil 2.9'da şematik olarak Caco-2 hücre taşıma sistemi gösterilmiştir (141).



**Şekil 2.8.** Caco-2 hücre hattında bulunan metabolik enzimler ve ilaç taşıyıcı proteinler (141).

Yapılan çalışmalarda, Caco-2'den tayin edilen permeabilite değerleri ile insanlardaki absorpsiyon verileri karşılaştırıldığında özellikle pasif difüzyonla taşınan etkin maddeler için yüksek korelasyon olduğu bulunmuştur (141-143).



Caco-2 hücreleri kullanılarak yapılan çalışmalarda bağırsak mukozasının bariyer özelliklerinin biyolojik ve biyokimyasal temeli hakkında bilgi edilir, aynı zamanda etkin maddelerin emilimi hakkında bilgi elde edilir. İlaçların bağırsaklardan geçiş mekanizmaları (paraselüler ve transselüler gibi) tayin edilebilir (144). İlaçların ve/veya metabolitlerinin bağırsak mukozasındaki potansiyel toksik etkileri incelenebilir (145). Formülasyon bileşenlerinin etkin maddenin bağırsaklardan geçişi üzerine potansiyel etkileri tayin edilebilir (146, 147). Bir etkin maddenin bağırsak epitel hücrelerinde eksprese edilen absorptif (Organik anyon taşıyan polipeptidler gibi) ve /veya eksorptif (P-glikoprotein gibi) taşıyıcı proteinlerin substratı olup olmadığı (148) ve substrat/inhibitör ilaçlar arasında etkileşim olup olmadığı tayin edilebilir (149).

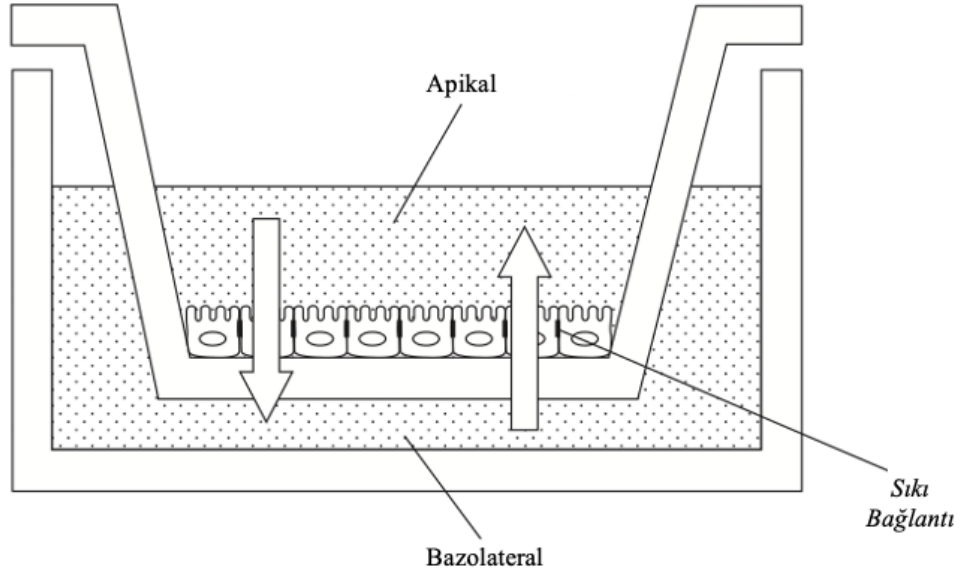
- **Caco-2 Hücrelerinin Avantaj ve Dezavantajları**

Caco-2 hücreleri, olgunlaşmış ince bağırsak enterositlerinin morfolojik ve fonksiyonel özelliklerini taşımak üzere kendiliğinden farklılaşırlar. HT29'a göre dört kat daha yüksek TEER değeri gösterir ve bu sayede *in vivo* özellikleri daha çok sağlar. Şekil 2.8'de de gösterildiği gibi normal epitelde bulunan aminopeptidaz, esteraz ve sülfataz gibi reseptörleri, taşıyıcıları ve ilaç metabolize edici enzimlerin çoğunu bulundurur. Ancak Caco-2 hücrelerinde P-450 metabolize edici enzim aktivitesi bildirilmemiştir.

Caco-2 hücre modeli normal epitel tabakasıyla karşılaştırıldığında, normal epitel tabakalar sadece enterositleri değil, başka hücre tiplerini de içermektedir. Ayrıca Caco-2 hücre hattında mukus ve karıştırılmamış su tabakası bulunmamaktadır. Hücresel olmayan bu parametreler de hücrelerdeki belli bileşenlerin absorpsiyonlarını etkileyebilirler. Bu yüzden lipofilik moleküllerin taşınmasında safra asitleri ve fosfolipidler ile mukus tabakası bileşenleri ile karıştırılmamış su tabakası *in vivo* alımı ciddi bir oranda etkiler.

Caco-2 hücreleri, bağırsak epitel hücrelerinin özelliklerini incelemek için genellikle fayda sağlamaktadır. Her ne kadar etkili bir yöntem olarak kullanılsa da *in vivo* duruma göre değerlendirilirken dikkatli olunmalıdır.

Rasajilinin *in vitro* permeabilitesini tayin etmek amacıyla hücre kültürü çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla Caco-2 hücre hattı kullanılmıştır. Permeabilite deneylerinden önce hücre bütünlüğünü değerlendirmek amacıyla TEER (Transepitel Elektrik Rezistansı) değeri ölçülmüştür. TEER değeri uygun hücrelerde rasajilinin apikalden bazolaterale (gerekirse bazolateralden apikale) doğru permeabilite değeri tayin edilmiştir. Sonuçlar üçlü barsak perfüzyonu yöntemi kullanılarak tayin edilen permeabilite değerleriyle karşılaştırılmıştır (150).



**Şekil 2.9.** Caco-2 hücre taşıma sisteminin şematik gösterimi (bir tek transwell) (141).

#### 2.4.2. *In Situ* Üçlü Bağırsak Perfüzyonu Çalışmaları

Sistemik etki elde etmek amacıyla oral yolla uygulanan ilaçlar için gastrointestinal kanal membranı büyük önem taşımaktadır. Etkin maddeler gastrointestinal kanal membranını transselüler, paraselüler ve endositoz gibi mekanizmalarla geçebilmektedir. Etkin maddelerin membranlardan geçişini

(permeabilitesini) incelemek amacıyla farklı yöntemler önerilmektedir (Bkz. Bölüm 2.4). Önerilen bu yöntemler arasında *in situ* bağırsak perfüzyonu yöntemi nöral endokrin, lenfatik ve mezenterik kan dolaşımının korunması, insanlarda yapılan *in vivo* deneyle benzer sonuçlar vermesi nedenleriyle intestinal permeabilite ve absorpsiyonu incelemek amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır.

Bağırsak perfüzyon yöntemi ilk olarak 1958 yılında Schanker ve arkadaşları tarafından önerilmiştir (151). Cerrahi olarak basit ve rahat bir şekilde uygulanabilir olması, maliyetinin düşük olması sayesinde intestinal permeabiliteyi araştırmak amacıyla sıklıkla kullanılmıştır. Perfüzyon çözeltisinin tek geçişli (*single pass*) veya sirkülasyonlu (*recirculation*) olarak gerçekleştirildiği intestinal perfüzyon yöntemleri mevcuttur. Perfüzyon çözeltisinin sirküle edildiği yöntem Dulisio ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olup zamanın fonksiyonu olarak perfüzyon çözeltisinden eksilen kısmın ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Ancak absorpsiyonu düşük olan maddelerle çalışıldığında hatalı sonuçlar elde edilebilmektedir (152). Tek geçişli perfüzyon yöntemi Higuchi ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntemde tek bir segment perfüze edilebildiği gibi birden çok intestinal segment (ör. jejunum, ileum, kolon) eş zamanlı olarak perfüze edilebilmektedir (153).

Bu tez çalışması kapsamında rasajilinin intestinal permeabilitesini incelemek amacıyla lümen kayıp esasına dayanan ve üç farklı bağırsak segmentinin (jejunum, ileum ve kolon) eş zamanlı olarak perfüze edildiği üçlü barsak perfüzyonu tekniği kullanılmıştır (154).

## **2.5. *In Situ* Karaciğer Perfüzyonu Çalışmaları**

Karaciğer, vücuda zararlı olan toksik maddelerin temizlenmesi, protein sentezi ve sindirim için gerekli enzimlerin üretimini sağlayan, kırmızı kan hücrelerinin üretimi, hormonların üretimi, glikojen depolanması gibi birçok işlevi ile metabolizmada önemli rolü olan bir organdır. İnsanlarda karaciğer, diyaframın altında

karın bölgesinde sağ üst kısımda bulunmaktadır. Karaciğer yaklaşık 1,4-1,7 kg ağırlığında olup vücudun en büyük organıdır (155-158).

Karaciğer, kalpten pompalanan kanın %25'ini almaktadır. Bu kanın üçte ikisi portal ven tarafından, üçte biri ise hepatik arter tarafından sağlanmaktadır (159). Karaciğerde bulunan hücreler parenkimal (hepatositler) ve parenkimal olmayan hücreler (sinüzoidal endotelial hücreler, Kupfer hücreleri, Pit hücreleri, Ito hücreleri, kolanjiositler) olmak üzere iki grup altında toplanır. Karaciğer hücrelerinin yaklaşık %60-70'ini hepatositler oluşturur ve safra üretimi, endojen ve eksojen maddelerin biyotransformasyonu, bilirubin metabolizması, plazma proteinlerinin ve pıhtılaşma faktörlerinin sentezi ve cinsiyet hormonları metabolizması gibi hepatik fonksiyonların büyük bir kısmı bu hücreler tarafından yürütülür. Parenkimal olmayan hücreler karaciğer hücrelerinin yaklaşık %30-40'ını oluşturur (160). Karaciğerin en küçük fonksiyonel birimi hepatik asinus olarak adlandırılır. Hepatik asinus, portal üçlü (portal ven, hepatik arter ve safra kanalının terminal dalları)'den santral vene doğru 3 zondan oluşur. Portal üçlüye yakın olan bölümü Zon 1 (periportal zon) olarak adlandırılır, bu bölgeyi santral vene doğru olmak üzere sırayla Zon 2 (ara zon) ve Zon 3 (perivenöz zon) takip eder. Hepatik asinusta kan akışı Zon 1'den Zon 3'e doğru gerçekleştiği için oksijen ve kandaki diğer bileşenler açısından bir konsantrasyon gradyanı mevcuttur (157, 158, 161, 162). Ayrıca periportal zonda yer alan hücreler oksijen ve besince en zengin kan ile karşılaşırken perivenöz zondaki hücreler daha az besin ve oksijen aldığı için farklı zonlarda bulunan hepatositlerin metabolik kapasitelerinin farklı olduğu belirtilmiştir (163).

Karaciğer perfüzyonu yöntemi organın anatomik ve fonksiyonel bütünlüğü korunduğu için ve de hepatik dışı etkiler ortadan kaldırıldığı için ilaçların hepatik farmakokinetik parametrelerinin tayininde kullanılan altın standart olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, taşıyıcı aracılı farmakokinetik ve ilişkili ilaç-ilaç etkileşimlerinin araştırılması amacıyla yaygın olarak kullanılan prelinik bir yöntemdir. Ancak sıçan ve insan OATP/Oatp taşıyıcıları arasındaki sınırlı bir benzerlik olması ve NTCP taşıyıcısının sıçanlarda bulunmaması nedeniyle karaciğer bu yöntem ilaç-ilaç etkileşimleri kestiriminin çapraz kontrolünde kullanılmaktadır.

Karaciğer perfüzyonu verileri *in vivo* klerens kestirimlerinin iyileştirilmesi amacıyla da kullanılmaktadır.

Perfüzyonun amacına göre portal ven kanüle edildikten sonra karaciğer orijinal pozisyonunda gövde içerisinde ((*in situ* karaciğer) ya da çıkarılıp kapalı bir sistem içerisinde tutularak (izole karaciğer) deneyler yapılabilmektedir. İzole karaciğer yönteminde perfüzyon sırasında karaciğerin farklı loblarının incelenmesi ve örnek toplama işlemleri daha kolay olarak gerçekleştirilmekle birlikte orijinal pozisyonunun korunmasındaki zorluk ve izolasyon sırasında karaciğerin mekanik hasara maruz kalabilmesi söz konusudur. *In situ* perfüzonda teknik geliştirme daha kolay, hata olasılığı daha düşüktür ve karaciğerin mekanik hasara uğrama olasılığı daha düşüktür. Miller ve ark. tarafından 1951 yılında geliştirilen *in situ* izole sıçan karaciğer perfüzyon tekniği, hepatik absorpsiyon, metabolizasyon, hücre içi/hücreler arası iletişim ve organ nakli gibi bir çok araştırma konusu için tercih edilen ve iyi tanımlanmış dinamik bir modeldir (164).

Bu tez kapsamında rasajilinin karaciğerdeki dağılım ve eliminasyonunu incelemek amacıyla sıçanlarda *in situ* karaciğer perfüzyon tekniği kullanılmıştır ve perfüzyon deneyleri tek geçişli (*single-pass*) olarak gerçekleştirilmiştir (165).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Kimyasal/ Biyolojik Maddeler

Ac-Di-Sol	Abdi İbrahim / Türkiye
Aerosil	Abdi İbrahim / Türkiye
Asetonitril	Sigma-Aldrich / Almanya
Aspartam	Abdi İbrahim / Türkiye
Avicel pH 102	Abdi İbrahim / Türkiye
Caco-2 hücre hattı	Grenier BioOne/ Avusturya
Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM)	Biochrom AG/ Almanya
Fenol kırmızısı	Sigma-Aldrich / Almanya
Laktoz (spray-dried)	Abdi İbrahim / Türkiye
Metoprolol tartarat	Novartis Pharma AG / İsviçre
Mısır nişastası	Abdi İbrahim / Türkiye
Phosphate buffered saline- PBS; pH 7,4	Biochrom AG/ Almanya
Poliplasdon XL	Abdi İbrahim / Türkiye
Poliplasdon XL-10	Abdi İbrahim / Türkiye
Potasyum hidrojen fosfat (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	Isolab Chemicals/ Almanya
Potasyum klorür	Isolab Chemicals/ Almanya
Prejelatinize nişasta	Abdi İbrahim / Türkiye
Primojel	Abdi İbrahim / Türkiye
Rasajilin mesilat	Abdi İbrahim / Türkiye
Tripan mavisi	Sigma/ ABD
Tripsin-EDTA	Biochrom AG/ Almanya
Sodyum klorür	Isolab Chemicals/ Almanya
Stearik asit	Abdi İbrahim / Türkiye
Talk	Abdi İbrahim / Türkiye
% 10 fetal bovine serum- FBS	Cegrogen/ Almanya
25 mM D-glikoz ve 10 mM HEPES içeren HBSS transport ortamı	Biochrom AG/Almanya

### 3.1.1. Deneý Hayvanı

Sprague-Dawley Erkek Sıçan

Kobay Deneý Hayvanları A.Ş / Türkiye

### 3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Biyogüvenlik kabini

Faster BHG 2004 / İtalya

Cerrahi iplik

SMI / Belçika

Dağılma tayini cihazı

Pharma Test PTB / Almanya

Dissolüsyon cihazı

Sotax CH 4123 / İsviçre

Enjektör ucu filtre 0.2 µm, steril

Sartorius Stedim Biotech GmbH  
/Almanya

Enjektör ucu filtre 0.45 µm, steril

Sartorius Stedim Biotech GmbH  
/Almanya

Intravenöz kanül

Kendall Argyle Medicut/İngiltere

Friyabilitör

Pharma test PTB / Almanya

FTIR spektrofotometresi

Perkin-Elmer Spectrum / ABD

Hassas terazi

Shimadzu / Japonya

HPLC

Shimadzu / Japonya

HPLC kolonu, 250 x 4.6 mm, 5 µm

Abdi İbrahim / Türkiye

Hücre kültür kapları (flask, 25 cm<sup>2</sup>)

Greiner / Avusturya

Hücre kültürü kuyucukları

Grenier Bio-one/Almanya

Manyetik karıştırıcı

Heidolph / Almanya

Mikropipet

Eppendorf / Almanya

Mikropipet ucu

Greiner Bio-One / Almanya

Nem tayin cihazı

Ohaus Corporation / ABD

Perfüzyon tüpleri

Gilson / Fransa

Peristaltik pompa

Gilson / Fransa

pH metre

Hanna Instruments / ABD

Santrifüj

Nüve / Türkiye

Standart cerrahi makas	Steriway / Türkiye
Standart cerrahi penset	Steriway / Türkiye
Su banyosu, dijital	Jeiotech / Güney Kore
Tablet makinesi	Erweka AR 400 / Almanya
Tablet sertlik, çap, kalınlık ölçüm cihazı	Pharma Test PTB/Almanya
Toz karıştırıcı	Gryphan, Brookmoors Ltd./ İng.
Ultra saf su cihazı	Millipore / ABD
Ultrasonik banyo	AdvantageLab / Almanya
Vannas makas	Steriway / Türkiye
Vial	Allpro / Çin
Vorteks	Biosan / Litvanya
Yatay çalkalayıcı, dijital	Memmert GmbH /Almanya
96 kuyucuklu steril plaka	Greiner / Avusturya

### 3.3. Analitik Yöntem Geliştirilmesi ve Validasyonu

Tez kapsamında, ağızda dağılan tablet (ODT) formülasyonu geliştirilmesi, hücre kültürü çalışmaları, bağırsak perfüzyonu çalışmaları ve karaciğer perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilinin miktar tayini PDA dedektörlü ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak asetonitril: tampon pH:6.2 (Potasyum hidrojen fosfat) karışımı 35:65 (h:h) oranında kullanılmıştır ve ayırım fenil kolon (250 x 4.6 mm, 5 µm) ile gerçekleştirilmiştir. Farklı çalışmalardan elde edilen numunelerin analizinde aynı yöntem kullanılmış ancak numunelerin hazırlanmasında kullanılan çözücü ortamı deneysel çalışmaya göre değiştirilmiştir (Tablo 3.1).



**Tablo 3.1.** Rasajilinin HPLC ile miktar tayinininde kullanılan kromatografik koşullar.

<b>Kullanılan Ekipman</b>	HPLC, PDA dedektörlü
<b>Kolon</b>	SB Phenyl, 250 x 4,6 mm, 5µm
<b>Maksimum Dalga Boyu</b>	214 nm
<b>Akış Hızı</b>	1.5 mL/dakika
<b>Enjeksiyon Hacmi</b>	10µL
<b>Kolon Sıcaklığı</b>	40°C
<b>Numune Sıcaklığı</b>	25°C
<b>Rasajilin alıkonma zamanı</b>	<i>ODT: 6,60dk</i> <i>Hücre Kültürü: 6,19dk</i> <i>Bağırsak perfüzyonu: 5,63dk</i> <i>Karaciğer perfüzyonu: 6,17dk</i>
<b>Total Analiz Süresi</b>	8 dakika
<b>Numunelerin Hazırlanmasında Kullanılan Çözücü</b>	<i>ODT: Asetonitril-Su (35:65;h:h);</i> <i>Hücre kültürü: 25 mM D-glikoz ve 10 mM HEPES içeren HBSS transport ortamı</i> <i>Bağırsak perfüzyonu: MES tamponu</i> <i>Karaciğer perfüzyonu: Krebs bikarbonat çözeltisi</i>
<b>Tampon Hazırlanışı</b>	8,70 g Potasyum Hidrojen Fosfat (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) 950 mL suda çözülür. Fosforik asit (%85) ile pH 6,2'ye ayarlanır ve distile su ile 1000 mL'ye tamamlanarak karıştırılır.
<b>Mobil Faz hazırlanışı</b>	350 mL asetonitril ile 650 mL pH 6,2 tampon karıştırılır. 0,45 µm membran filtreden süzülerek degaze edilir.

### 3.3.1. Analitik Yöntem Validasyonu

Analitik yöntem validasyonu çalışmalarında ICH Harmonised Tripartite; Guideline Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1) kılavuzu esas alınmıştır (166). Deneysel çalışmalardan elde edilen numunelerin analizinde kullanılan analitik yöntemin validasyonu amacıyla özgüllük, doğrusallık, doğruluk, kesinlik (tekrar edilebilirlik, tekrar elde edilebilirlik), duyarlılık,

saptanabilirlik sınırı ve tayin edilebilirlik sınırı, dayanıklılık (etkin maddenin saptanması ve tayini aşamasında) ölçütleri incelenmiştir.

- **Özgüllük (*Specificity*)**

Bir analitik yöntemin özgüllüğü ortamda bulunabilecek diğer maddelerin, safsızlıkların veya parçalanma ürünlerinin varlığında etkin maddeyi analiz edebilmesidir. Farklı çalışmalardan elde edilen numunelerdeki rasajilin miktarının tayini için kullanılan analitik yöntemlerin sadece rasajiline ilişkin olduğunu göstermek amacıyla ODT formülasyonunda yer alan yardımcı maddelerin, hücre kültürü ortamının, bağırsak ve karaciğer perfüzyonu ortamlarının 214 nm’de bir pik vererek etkin madde ile girişim yapıp yapmadığı HPLC kromatogramları incelenerek değerlendirilmiştir.

- **Doğrusallık (*Linearity*)**

**Formülasyon çalışmaları:** Rasajilinin asetonitril-su (35:65, h:h) karışımındaki 150 µg/mL konsantrasyondaki stok çözeltisinden hareketle kalibrasyon doğrusu 8 konsantrasyon noktalı (1, 5, 10, 25, 50, 75, 100 ve 125 µg/mL) 6 tekrarlı hazırlanarak 214 nm’de HPLC ile analiz edilmiştir.

**Hücre kültürü çalışmaları:** Rasajilinin hücre kültürü ortamında 50 µg/mL konsantrasyondaki stok çözeltisinden hareketle kalibrasyon doğrusu 8 noktalı (0.25, 0.5, 1, 2, 5, 10, 25 ve 50 µg/mL) 6 tekrarlı hazırlanarak 214 nm’de HPLC ile analiz edilmiştir.

**Bağırsak perfüzyonu çalışmaları:** Rasajilinin perfüzyon ortamında 250 µg/mL konsantrasyondaki stok çözeltisinden hareketle kalibrasyon doğrusu 8 konsantrasyon noktalı (1, 5, 10, 25, 50, 75, 100 ve 125 µg/mL) 6 tekrarlı hazırlanarak 214 nm’de HPLC ile analiz edilmiştir.

Bağırsak perfüzyonu çalışmalarında referans madde olarak kullanılan metoprolol tartarat ve fenol kırmızısının her biri için perfüzyon ortamında 250 µg/mL'lik stok çözeltilerinden hareketle kalibrasyon doğruları 8 konsantrasyon noktalı (1, 5, 10, 25, 50, 75, 100 ve 125 µg/mL) 6 tekrarlı hazırlanarak 214 nm'de HPLC ile analiz edilmiştir.

Sprague Dawley cinsi bir erkek sıçanın kalbinden geniş uçlu bir enjektör yardımıyla alınan tam kan santrifüj edildikten sonra (3000 rpm 10 dk) plazma ve *buffy coat* uzaklaştırılmıştır. İzotonik sodyum klorür ile yıkanan eritrositler %50 (h/h) oranında seyreltildikten sonra sıçan eritrositlerinin maksimum absorbans verdiği dalga boyu 300-600 nm aralığında spektrumu alınarak tayin edilmiştir. Yedi konsantrasyonda (8.72, 17.4, 34.9, 69.8, 104.6, 139.5 ve 174.4 µg hemoglobin/mL) hazırlanan eritrosit çözeltilerinin absorbansları maksimum dalga boyunda (412 nm) ölçülerek lineer regresyon analizi ile standart doğru denklemi ve determinasyon katsayısı tayin edilmiştir.

Evans mavisinin (4,5 µg/mL) maksimum absorbans verdiği dalga boyu 400-800 nm aralığında görünür bölge spektrumu alınarak tayin edilmiştir. Evans mavisi stok çözeltisinden (EB: BSA 5:50 mg/mL) gerekli seyreltmeler yapılarak standart çözeltiler (0.25, 0.5, 1, 2.5, 5, 10 µg/mL) elde edilmiştir. Her bir örneğin verdiği absorbans maksimum dalga boyunda (607 nm) ölçülerek standart doğru denklemi ve determinasyon katsayısı regresyon analizi ile hesaplanmıştır.

Konsantrasyonlar ve pik alanları arasındaki ilişkinin doğrusallığı doğrusal regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. Regresyon analizi ile standart doğru denklemi ve determinasyon katsayısı ( $R^2$ ) tayin edilmiştir. Doğrusallığın gösterilmesi için  $R^2$ 'nin 1'e yakın bulunması gerekmektedir.

Ayrıca, her analizin başında ve sonunda 2 kalibrasyon serisi hazırlanarak gün içi ve günler arası farklılığın olup olmadığı değerlendirilmiştir.

- **Doğruluk (Accuracy)**

Kullanılan analitik yöntem ile elde edilen bulguların gerçek değerlere yakınlığının gösterilmesi amacıyla doğruluk analizi yapılmaktadır. Doğruluk analizi kapsamında:

Formülasyon çalışmaları için düşük, orta ve yüksek olmak üzere üç farklı konsantrasyonda (10 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL) 6 tekrarlı örnekler hazırlanarak aynı gün içerisinde analizleri yapılmıştır.

Hücre kültürü ve bağırsak perfüzyonu çalışmaları için üç farklı konsantrasyonda (hücre kültürü çalışmaları: 2 µg/mL, 10 µg/mL, 50 µg/mL; perfüzyon çalışmaları: 5 µg/mL, 50 µg/mL, 125 µg/mL) 6 tekrarlı örnekler hazırlanarak aynı gün içerisinde analizleri yapılmıştır.

Analiz sonucunda elde edilen bulguların gerçek değerlere yakınlıkları ortalama bağıl hata (% OBH) hesaplanarak değerlendirilmiştir (Eşitlik 3.1) (167).

$$\% \text{OBH} = (A - B) / B \times 100 \quad (3.1)$$

Eşitlikte, A: Tayin edilen konsantrasyon ve B: Gerçek konsantrasyon olarak verilmiştir. Doğruluğun gösterilmesi için OBH'nin %15'den düşük olması gerekmektedir.

- **Kesinlik (Precision)**

Bir yöntemin birbirini izleyen ölçümleri arasındaki yakınlığının derecesini ifade etmek amacıyla kesinlik çalışması yapılmaktadır. Kesinlik, spesifik analiz koşulları altında elde edilen bağımsız analitik sonuçlar arasındaki uyumun derecesi olup tesadüfi hataların dağılımı ile ilişkilidir ve gerçek değerle ilgisi yoktur. Sayısal bir değeri de yoktur. Bir analitik yöntemin kesinliği istatistiksel açıdan yeterli değerlendirmenin yapılacağı sayıda, aynı konsantrasyondaki numunenin art arda

ölçülerek ortalama, standart sapma (SS) ve varyasyon katsayısı (VK) hesaplaması ile değerlendirilir. Kesinlik tekrar edilebilirlik (*repeatability*) ve tekrar elde edilebilirlik (*reproducibility*) ile ifade edilir.

- ***Tekrar Edilebilirlik (Repeatability)***

Aynı konsantrasyondaki rasajilin çözeltilerinden hareketle, aynı laboratuvar, aynı analist ve aynı cihaz kullanılarak gerçekleştirilen ölçümlerde uyum ve uygunluk incelenmiştir. Bu amaçla düşük, ortak ve yüksek konsantrasyonlarda (formülasyon çalışmaları için 10, 50, 100 µg/mL; hücre kültürü çalışmaları için 2, 10, 50 µg/mL; bağırsak ve karaciğer perfüzyonu çalışmaları için 5, 50, 125 µg/mL) numuneler hazırlanarak her bir numune 6 kez art arda enjekte edilerek pik alanları tayin edilmiştir. Pik alanlarına karşılık gelen konsantrasyonlar için ortalama, SS ve VK hesaplanmıştır.

- ***Tekrar Elde Edilebilirlik (Reproducibility)***

Kullanılan analitik yöntemin farklı deney zamanlarında güvenilirliğinin kanıtlanması için tekrar elde edilebilirlik çalışması yapılmaktadır. Bu amaçla düşük, ortak ve yüksek konsantrasyonlarda (formülasyon çalışmaları için 10, 50, 100 µg/mL; hücre kültürü çalışmaları için (2, 10, 50 µg/mL, bağırsak ve karaciğer perfüzyonu çalışmaları için 5, 50, 125 µg/mL) 6 ayrı numune hazırlanarak pik alanları HPLC ile 214 nm’de tayin edilerek ortalama, SS ve VK hesaplanmıştır.

- ***Duyarlılık (Sensitivity)***

Rasajilin tayininde kullanılan analiz yöntemlerinin duyarlılığının belirlenmesi amacıyla saptanabilirlik (*limit of detection; LOD*) ve tayin edilebilirlik (*lower limit of quantification; LLOQ*) sınırları incelenmiştir. Teşhis sınırı (saptanabilirlik), sinyal: gürültü oranının 3:1 olduğu konsantrasyondur. Miktar tayini sınırı (tayin edilebilirlik) ise, analizi yapılan maddenin kabul edilebilir doğruluk ve tekrarlanabilirlikte tayin edilebileceği en düşük konsantrasyon olup bu değer sinyal: gürültü oranının 10:1 olduğu konsantrasyon değeridir.

- **Dayanıklılık (Stability)**

Dayanıklılık, etkin maddenin analiz süresince dayanıklı olup olmadığının saptanabilmesi için amacıyla yapılan bir validasyon ölçütüdür. Rasajilinin belirli konsantrasyonda hazırlanan çözeltisi, ölçüm süresince etkin maddenin dayanıklılığının gösterilebilmesi için 37°C sıcaklıkta bekletilerek değerlendirilmiştir. Formülasyon çalışmaları için 100 µg/mL konsantrasyondaki çözeltinin, hücre kültürü çalışmaları için 2, 10, 50 µg/mL, bağırsak perfüzyonu çalışmaları için 5, 50, 125 µg/mL konsantrasyonlardaki çözeltilerin absorbanları hazırlandığı anda, 12. ve 24. saatlerde okunarak konsantrasyonlardaki değişim incelenmiştir.

### **3.4. Formülasyon Çalışmaları**

#### **3.4.1. Eksipiyanların Seçimi**

Bu tez kapsamında direkt basıma uygun ODT formülasyonu geliştirilmesi hedeflendiğinden, formülasyonda kullanılacak eksipiyanlar bu amaca uygun olarak seçilmiştir. ODT'lerde en kritik parametrelerden birisi dağılma zamanı olduğu için, farklı dağıtıcıların (Avicel pH 102, mısır nişastası gibi) formülasyon performansı üzerine etkisi incelenmiştir. Ayrıca farklı doldurucu (ör. püskürterek kurutulmuş laktoz, mannitol) ve farklı süperdağıtıcılar (prejelatinize nişasta, Polyplasdone XL, Polyplasdone XL-10, Ac-Di-Sol, Primojel), tatlandırıcı ajan (aspartam), kaydırıcı (stearik asid) ve glidan (ör. talk, aerosil) ajanlar formülasyon geliştirilmesinde kullanılmıştır. Formülasyondaki eksipiyanların miktarları ve kombinasyonları değiştirilerek 17 farklı ODT formülasyonu geliştirmiş (Tablo 3.2) ve karakterizasyonları yapmıştır.

### 3.4.2. Direkt basım yöntemine uygun ODT formülasyonlarının geliştirilmesi

#### *Plasebo ODTs:*

Optimum ODT formülasyonunu belirlemek amacıyla etkin madde dozunun (1 mg) çok düşük olması nedeniyle formülasyon performansını etkilemeyeceği düşünüldüğü için öncelikle sadece eksipyanları içeren plasebo ODT formülasyonları geliştirilmiştir. Tüm eksipyanlar direkt basıma uygun seçildiği için, ayrıca direkt basım yöntemi hem daha ucuz hem de daha az basamak içermesi nedeniyle zamandan tasarruf sağladığı için ODT'ler direkt basım yöntemiyle basılmıştır.

Direkt basım için toz karışımının hazırlanmasında sterarik asit haricinde tüm eksipyanlar (talk, laktoz ya da mannitol, avicel pH 102, aspartam, aerosil, mısır nişastası ve süperdağıtıcı) sırasıyla eklenerek silindir karıştırıcıda homojen bir karışım elde edilinceye kadar 5 dk süreyle karıştırılmıştır (Karışım A). Stearik asit elekten geçirilip karışım A'ya eklendikten sonra 5 dk süreyle karıştırılmıştır (Karışım B).

Toz karışımlarının fiziksel özelliklerinin tayininden sonra (ör. yığın açısı, akış süresi, görünür/vuruş hacmi ve görünür/vuruş yoğunluğu), Karışım B Erweka AR 400 (Heusenstamm, Germany) tablet makinası ile basılarak plasebo ODT'ler elde edilmiştir.

#### *Rasajilin ODTs:*

Plasebo ODT'lerin fiziksel özellikleri değerlendirilerek optimum bir ODT formülasyonu belirlendikten sonra rasajilin içeren ODT plasebo ODT'lerin hazırlanışındaki gibi hazırlanmıştır. Rasajilin ve diğer eksipyanların (talk, laktoz ya da mannitol, avicel pH 102, aspartam, aerosil, mısır nişastası ve süperdağıtıcı) homojen bir karışım elde edilinceye kadar silindir bir karıştırıcıya karıştırılmasıyla Karışım A elde edilmiştir. Stearik asit elendikten sonra Karışım A'ya eklenip 5 dk süreyle karıştırılarak Karışım B elde edilmiştir. Rasajilin içeren Karışım B'nin önce

fiziksel özellikleri tayin edilmiş daha sonra Erweka AR 400 (Heusenstamm, Germany) tablet makinası ile basılarak rasajilin ODT elde edilmiştir.

**Tablo 3.2.** Plasebo ODT formülasyonlarının kalitatif/kantitatif bileşimleri ve ekspiyanların formülasyondaki fonksiyonları.

İçindekiler (mg)	Laktoz (spray-dried)	Mannitol	Avicel pH 102	Aspartam	Stearik Asit	Talk	Aerosil	Mısır Nişastası	Prejelatinize Nişasta	Polyplasdone XL	Polyplasdone XL-10	Ac-Di-Sol	Primojel	Toplam
Eksipiyanların Fonksiyonları	Seyreltici/ Doldurucu	Seyreltici/ Doldurucu	Seyreltici/ Bağlayıcı/ Dağıtıcı	Tatlandırıcı	Kaydırıcı	Glidan	Glidan	Seyreltici/ Bağlayıcı/ Dağıtıcı	Dağıtıcı	Dağıtıcı	Dağıtıcı	Dağıtıcı	Dağıtıcı	
ODT 1	109,6	-	40	0,5	2,5	4	3,4	20	20	10	-	-	-	210
ODT 2	109	-	50	0,3	2,5	2,5	3,4	12	20	10	-	-	-	210
ODT 3	109	-	50	0,3	2,5	2,5	3,4	12	20	-	-	10	-	210
ODT 4	109	-	50	0,3	2,5	2,5	3,4	12	20	-	-	-	10	210
ODT 5	80	-	79	0,3	2,5	2,5	3,4	12	20	10	-	-	-	210
ODT 6	50	-	109	0,3	2,5	2,5	3,4	12	20	10	-	-	-	210
ODT 7	80	-	71	0,3	2,5	2,5	3,4	20	20	10	-	-	-	210
ODT 8	80	-	71	0,3	2,5	2,5	3,4	20	20	-	10	-	-	210
ODT 9	70	-	71	0,3	2,5	2,5	3,4	20	20	20	-	-	-	210
ODT 10	60	-	71	0,3	2,5	2,5	3,4	20	20	30	-	-	-	210
ODT 11	70	-	71	0,3	2,5	2,5	3,4	20	20	10	-	10	-	210
ODT 12	77	-	79	0,3	2,5	2,5	3,4	15	20	10	-	-	-	210
ODT 13	-	50	110	0	2,5	2,5	3,4	12	20	10	-	-	-	210
ODT 14	-	80	80	0	2,5	2,5	3,4	12	20	10	-	-	-	210
ODT 15	70,3	-	71	0,3	2,5	2,5	3,4	20	20	15	-	5	-	210
ODT 16	70	-	71	0,3	2,5	2,5	3,4	20	20	5	-	15	-	210
ODT 17	70	-	71	0,3	2,5	2,5	3,4	20	20	-	-	20	-	210



### 3.4.3. Tozların Fiziksel Özelliklerinin Tayini

Hazırlanan ODT toz karışımlarının (plasebo ODT ve rasajilin ODT) fiziksel özelliklerini tayin etmek amacıyla akış zamanı ve yığın açısı, görünür/vuruş hacmi ve dansitesi, nem içeriği tayin edilmiştir.

- **Akış Zamanı ve Yığın Açısı**

Hazırlanan toz karışımlarının yığın açısı ve akış zamanı Avrupa Farmakopesi 10.0'da belirtildiği gibi tayin edilmiştir (17). Bu amaçla dikey konumda sabitlenmiş ve alt ucu kapatılmış standart bir huniye 50 g toz karışımı eklenmiş, daha sonra huninin ucu açılarak tozun tamamının huniden aktığı süre kaydedilmiştir. Akan toz karışımının düz bir zeminde oluşturduğu koninin yüksekliği (h) ve çapı (r) kullanılarak yığın açısı ( $\alpha$ ) hesaplanmıştır.

$$\alpha = \tan^{-1}(h/r) \quad (3.2)$$

- **Görünür/Vuruş Hacmi ve Yoğunluğu**

Toz karışımlarının (50 g) görünür ( $V_{10}$ ; mL) ve vuruş ( $V_{100}$ ; mL) hacimleri volümünometre cihazı (Aymes Company, Türkiye) kullanılarak sırasıyla 10 ve 100 vuruş sonrası tayin edilmiştir. Görünür ve vuruş dansiteleri aşağıda verilen eşitlikler (Eşitlik 3.3 ve Eşitlik 3.4) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Görünür dansite (g/mL)} = m / V_{10} \quad (3.3)$$

$$\text{Vuruş dansitesi (g/mL)} = m / V_{100} \quad (3.4)$$

m: toz karışımının ağırlığı (g)

- ***Hausner Oranı ve Basılabilirlik İndisi***

Tozların basılabilirliğinin değerlendirilmesi amacıyla Hausner oranı ve basılabilirlik indisleri hesaplanmıştır.

$$\text{Hausner Oranı} = V_{10} / V_{100} \quad (3.5)$$

$$\text{Basılabilirlik İndisi} = (1 - V_{100}/V_{10}) \times 100 \quad (3.6)$$

- ***Toz Karışımlarının Nem İçeriği***

Toz karışımlarının nem içeriği bir nem tayin cihazı (MB45 Moisture Analyzer Ohaus Corporation, Parsippany, NJ) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla toz karışımı (5 g) sabit ağırlığa ulaşmaya kadar ısıtılarak (105°C) ağırlık kaybı (%) kaydedilmiştir.

#### **3.4.4. Ağızda Dağılan Tabletlerde Yapılan Kontroller**

Plasebo ve rasajilin içeren ODT'lerin kalite özelliklerini tayin etmek amacıyla çap, kalınlık, sertlik, ufalanma-aşınma, ıslanma zamanı ve su absorpsiyon oranı ve dağılma zamanı tayin edilmiştir.

- ***Çap, Kalınlık ve Sertlik Tayini***

Her bir ODT'den rastgele 20 tablet seçilerek çap (mm) ve kalınlık (mm) değerleri Pharma Test PTB (Hainburg, Germany) cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Tabletlerin sertlik (n=10) değerleri (Newton, N) Pharma Test PTB (Hainburg, Germany) cihazı ile ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar ort ± SS olarak verilmiştir.

- ***Ufalanma- Aşınma- Kırılabilirlik (Friability) Tayini***

Hazırlanan ODT'lerin ufalanma aşınma oranı Avrupa Farmakopesine 10.0'a göre gerçekleştirilmiştir (17). Tablet ağırlığı 650mg'dan az olduğu için yaklaşık 6,5g'a denk gelen kadar tablet tartılarak ( $W_0$ ) friyabilitör cihazına (Pharma Test PTB apparatus, Hainburg, Germany) yerleştirilerek 25rpm'de 4 dakika sürede 100 devir sonunda tabletler cihazdan alınarak tozları uzaklaştırılmış ve tekrar tartılmıştır ( $W_1$ ). Ufalanma-aşınmaya bağlı ağırlık kaybı (%) verilen eşitlik (Eşitlik 3.7) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ ağırlık kaybı} = \frac{W_0 - W_1}{W_1} \times 100 \quad (3.7)$$

Avrupa Farmakopesine 10.0'a göre kaplı olmayan tabletler için ağırlık kaybı 1%'den az olmalıdır (17).

- ***Islanma Zamanı ve Su absorpsiyon Oranı (R)***

Çift katlanmış bir peçete petri kabına yerleştirilerek oda sıcaklığında distile su ile ıslatılır (10 mL). Önceden tartılan ODT (n=3) ıslak peçete üzerine yerleştirilerek tabletin tüm yüzeyinin su ile ıslanması için geçen süre ölçülerek ıslanma süresi tayin edilir. Tamamen ıslanmış ODT tekrar tartılır (71, 168, 169).

Su absorpsiyon kapasitesi (R, %), kuru ( $W_a$ ) ve ıslak ( $W_b$ ) tablet ağırlıkları kullanılarak aşağıda verilen eşitlikle (Eşitlik 3.8) hesaplanmıştır.

$$R (\%) = \frac{W_a - W_b}{W_a} \times 100 \quad (3.8)$$

- ***Dağılma Süresi Tayini***

Geliştirilen ODT'lerin (n=6) dağılma süreleri 1000 mL distile su içerisinde ( $37 \pm 2^\circ\text{C}$ ) dağılma cihazı (Parma test PTZ-S, Hainburg, Germany) kullanılarak

gerçekleştirilmiştir. Tüm tabletlerin tamamen dağıldığı süre kaydedilmiştir. Avrupa Farmakopesi 10.0'a göre ODT'ler 3 dakika içerisinde dağılmalıdır (17). Eğer 1 veya 2 tablet dağılmazsa, dağılma testi 12 tabletle tekrar yapılır, 18 tabletten 16'sı dağılmalıdır.

- **Optimum Formülasyonda Gerçekleştirilen Çalışmalar**

Plasebo ODT toz karışımlarının fiziksel özellikleri ve Plasebo ODT'lerin kalite kontrol testlerinden elde edilen sonuçlar doğrultusunda, ODT-9 optimum formülasyon (Tablo 3.2) olarak seçilmiştir. Rasajilin içeren ODT (ODT-9R; Tablo 3.3), plasebo ODT-9'daki eksipiyenler kullanılarak Bölüm 3.4.2'de belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

ODT-9R toz karışımının fiziksel özellikleri (akış zamanı, yığın açısı, görünür/vuruş hacmi, görünür/vuruş dansitesi, nem içeriği) ve ODT-9R tabletin kontrol testleri (çap, kalınlık, sertlik, friabilite, dağılma, ıslanma zamanı ve su absorpsiyon oranı) Bölüm 3.4'de belirtildiği gibi yapılmıştır. İlave olarak hem plasebo ODT-9 hem de ODT-9R için FT-IR analizleri gerçekleştirilmiştir. İçerik tekdüzeliği ve çözünme hızı çalışmaları sadece ODT-9R için gerçekleştirilmiştir.

**Tablo 3.3.** ODT-9 ve ODT-9R Formülasyonları.

Formülasyonlar	ODT-9	ODT-9R
İçindekiler	Miktar (mg)	Miktar (mg)
Rasajilin mesilat	-	1,56
Laktoz (spray-dried)	70,3	68,74
Avicel pH 102	71	71
Aspartam	0,3	0,3
Stearik Asit	2,5	2,5
Talk	2,5	2,5
Aerosil	3,4	3,4
Mısır Nişastası	20	20
Prejelatinize Nişasta	20	20
Polyplasdone XL	20	20
<b>Toplam</b>	<b>210</b>	<b>210</b>

- ***Fourier-transform İnfared Spektroskopisi (FT-IR)***

Rasajilin mesilat, plasebo (ODT-9) ve rasajilin içeren ODT (ODT-9R)'in toz karışımları tablet içeriklerindeki miktarları kadar FT-IR cihazına yerleştirilmiş, infrared spectra'ları 4000 and 600cm<sup>-1</sup> aralığında Perkin- Elmer FT-IR (Waltham, MA) cihazı kullanılarak alınmıştır.

- ***İçerik Tekdüzeligi***

Avrupa farmakopesi 10.0'a göre kaplanmamış tabletlerin etkin madde miktarı 25mg veya daha az ise içerik tekdüzeligi testi yapılmalıdır. Rasajilin içeren ODT (ODT-9R)'deki etkin madde miktarı 1 mg olduğu için içerik tek düzeligi testi yapılmıştır.

Standart Çözelti Hazırlığı (2 adet hazırlanır)

15,61 mg rasajilin mesilat (10mg rasajiline eşdeğer) 100mL'lik balon jojeye hassas olarak tartılır. Yaklaşık 25mL çözücü ilave edilerek 10 dakika ultrasonik banyoda çözülür ve hacmine çözücü ile tamamlanır 0,45 µm PVDF filtre ile süzülür ve viallere koyulur (C<sub>Rasajilin</sub>=0,1 mg/mL).

Rasajilin 1mg Tablet Numune Çözeltisi Hazırlığı (2 adet hazırlanır)

Bu amaçla, 20 ODT-9R tartılıp ortalama tablet ağırlığı belirlendikten sonra havanda toz edilmiştir. Yaklaşık 525,00 mg tablet tozu (2,5mg rasajiline eşdeğer) 25mL'lik balonjojeye tartılır, 15mL çözücü eklenir. 10 dakika ultrasonik banyoda çözülür. Hacme çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm PVDF filtre ile süzülür ve viallere koyulur (C<sub>Rasajilin</sub>=0,1 mg/mL).

Rasajilin 1mg Tablet İçerik Tekdüzeligi Numune Çözeltisi Hazırlığı (10 adet hazırlanır)

1 adet ODT-9R tablet 10mL'lik balonjojeye tartılır, 5mL çözücü eklenir. 10 dakika ultrasonik banyoda çözülür. Hacme çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm PVDF filtre ile süzülür ve viallere koyulur ( $C_{\text{Rasajilin}}=0,1 \text{ mg/mL}$ ).

İşlem basamakları:

- i. Standart 1 çözeltisinden ardışık 2 enjeksiyon yapılır.
- ii. Standart 2 çözeltisinden ardışık 6 enjeksiyon yapılır.
- iii. Numune çözeltileri 2'şer kez enjekte edilir.
- iv. İçerik tekdüzeliği numune çözeltileri 1'er kez enjekte edilir.
- v. Numune enjeksiyonundan sonra Standart 2 çözeltisi kontrol standardı olarak 2 kez enjekte edilir.

Standart uyumu Eşitlik 3.9 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Standart Uyumu (\%)} = (R_{\text{Std1}} \times W_{\text{Std2}}) / (R_{\text{Std2}} \times W_{\text{Std1}}) \times 100 \quad (3.9)$$

$R_{\text{Std1}}$  = Standart 1 çözeltisinin ardışık 2 enjeksiyonundan elde edilen rasajilin mesilat pik alanlarının ortalaması

$R_{\text{Std2}}$  = Standart 2 çözeltisinin ardışık 6 enjeksiyonundan elde edilen rasajilin mesilat pik alanlarının ortalaması

$W_{\text{Std1}}$  = Standart 1 tartımı, mg

$W_{\text{Std2}}$  = Standart 2 tartımı, mg

Rasajilin 1 mg Miktar Tayini Eşitlik 3.10 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Rasajilin} = (R_N / R_S) \times (W_S / 100) \times P \times (25 / W_N) \times (O.T.A/L) \times (171.24 / 267.34) \times 100 \quad (3.10)$$

$R_N$  : Numune çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki rasajilin mesilat pik alanı

$R_S$  : Standart 2 çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki rasajilin mesilat pik alanı

$W_S$  : Standart 2 çözeltisindeki rasajilin mesilat tartımı, mg

$W_N$  : Numune tartımı, mg

P : Standard potansi

O.T.A= Ortalama tablet ağırlığı (mg/ tb)

L : Etikettedeki değer (1mg)

MW<sub>R</sub>: Rasajilin molekül ağırlığı (171,24 g/mol)

MW<sub>RM</sub> : Rasajilin mesilatın molekül ağırlığı (267,34 g/mol)

Rasajilin içeren tabletin içerik tekdüzeliği Eşitlik 3.11 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Rasajilin} = (R_N/R_S) \times (W_S/100) \times P \times (10/L) \times (171.24/267.34) \times 100 \quad (3.11)$$

R<sub>N</sub> : Örnek çözeltisindeki rasajilin pik alanı

R<sub>S</sub> : Standart 2 çözeltisindeki rasajilin pik alanı

W<sub>S</sub> :Standart 2 çözeltisindeki rasajilin mesilat miktarı (mg)

P : Standard potansi

L : Etikettedeki değer (1mg)

MW<sub>R</sub>: Rasajilin molekül ağırlığı (171,24 g/mol)

MW<sub>RM</sub> : Rasajilin mesilatın molekül ağırlığı (267,34 g/mol)

Kabul Kriterleri

- i. Standart 2 çözeltisinin ardışık 6 enjeksiyondan elde edilen kromatogramdaki Rasajilin Mesilat pik alanlarının relatif standart sapma (%RSD) % 85'den fazla olmamalıdır.
- ii. Standart 1 ve standart 2 uyumu % 98,0- 102,0 arasında olmalıdır.

Rasajilin 1mg tablet için miktar tayini limiti %100,0± %5 (%95,0- 105,0) olmalıdır. Rasajilin 1mg tablet için içerik tekdüzeliği limiti EP.2.9.40'a uygun olmalıdır. Avrupa Farmakopesi 10.0'a göre tüm tabletlerin içerik tek düzeliği %85-115 sınırları içerisinde olmalıdır. Tek bir tablet %85-115 sınırları dışındaysa veya bir tablet ortalamasının %75-125 sınırları dışındaysa içerik tekdüzeliği kabul edilmez. Eğer %85-115 limitleri dışında olan tablet %75-125 sınırları içerisindeyse, test 20 farklı

tabletle tekrar edilir. Elde edilen 30 sonuçtan bir tanesi %85-115 sınırları dışında olabilir, ancak tüm tabletler %75-125 sınırları içerisinde olmalıdır (17).

- **Çözünme Hızı Tayini**

Rasajilin içeren ODT (ODT-9R)'in çözünme hızı çalışmaları (n=6) üç farklı çözünme hızı ortamında (distile su, 0,1N HCl, pH 6,8 fosfat tamponu) Sotax Dissolüsyon Cihazı (Sotax Dissolution Apparatus, Binnigerstrasse, Switzerland) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çözünme hızı çalışmaları 500 mL (37°C)'de USP Aparat 2 (pedal) yöntemi kullanılarak 50 rpm'de 20 dk süreyle yapılmıştır. Daha önce belirlenen zaman noktalarında (2, 5, 10, 15 ve 20 dk), 2 mL örnek alınmış ve yerine taze ortam eklenmiştir. Örnekler 0,45µm PVDF filtrelerden süzildükten sonra, rasajilin miktarı valide bir HPLC yöntemi ile tayin edilmiştir. Çözünen miktarlar (%) hesaplanarak çözünme hız profilleri elde edilmiştir.

### 3.5. Hücre Kültürü Çalışmaları

Rasajilinin permeabilitesini tayin etmek amacıyla yapılan çalışmalar bağırsak epitel hücrelerini taklit eden kolon adenokarsinoma (Caco-2) hücre hattı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (170).

Dondurulmuş Caco-2 hücresi (pasaj sayısı: 28-32) 37°C'lik su banyosunda çözündürüldükten sonra kültür ortamına laminar akış kabini içerisinde eklenmiştir. Hücreler 1000 rpm'de 3 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatant atılmıştır. Hücreler taze kültür ortamında (%10 fetal bovine serum- FBS, 50 ünite/mL penisilin ve 50 µg/mL streptomisin içeren Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)) süspande edildikten sonra 25 cm<sup>2</sup> hücre kültür kaplarına (*flask*) aktarılarak 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren nemli bir ortamda 3 gün süreyle inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda kültür kaplarındaki ortam laminar akış kabini altında uzaklaştırılmış, yerine taze kültür ortamı eklenmiş ve inkübasyona aynı koşullar altında devam edilmiştir. Hücre kültür ortamı her iki günde bir aynı şekilde değiştirilmiştir. Hücre yoğunluğu %70-80 oranına ulaşıncaya hücre kültür kaplarındaki kültür ortamı laminar akış kabini altında



uzaklaştırılarak hücreler fosfatla tamponlanmış salin (*Phosphate Buffered Saline*-PBS; pH 7,4) ile iki kez yıkanmıştır. Flasklara yapışmış halde bulunan hücreler üzerine %0,025 tripsin-EDTA çözeltisi eklenerek 10 dakika süreyle inkübatörde tutulmuştur. İnkübatörden alınan hücre süspansiyonu besleme ortamı içeren kaba eklenmiştir.

Caco-2 hücre süspansiyonları 12 kuyucuklu (0,4 µm) insertlere tripan mavisi ile sayım yapıldıktan sonra apikalde 100,000 hücre/kuyucuk olacak şekilde (500 µL hücre süspansiyonu) ekilmiştir. Bazolateral tarafa ise sadece büyüme ortamı (1,5 mL) eklendikten sonra plakalar %5 CO<sub>2</sub> içeren nemli bir ortamda 37°C'de inkübe edilmiştir. Büyüme ortamı gün aşırı değiştirilmiş, 21 gün sonra Caco-2 hücrelerinin transepitel elektrik rezistans (TEER) değerleri Millicell-ERS epitel voltmetre ile ölçülmüştür. TEER değeri 600 Ωxcm<sup>2</sup>'den büyük olan hücreler permeabilite deneylerinde kullanılmıştır.

Permeabilite deneylerinde kullanılmak üzere 25 mM D-glikoz ve 10 mM HEPES içeren Hanks dengeli tuz çözeltisi (*Hanks Balanced Salt Solution*, HBSS) transport ortamı olarak hazırlanmıştır ve plakardaki kültür ortamı ile değiştirilmiştir. Öncelikle hücreler %5 CO<sub>2</sub> içeren nemli bir ortamda 37°C'de 30 dk. boyunca ön inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyonun ardından ortam tamamen uzaklaştırılmıştır ve transport ortamı içerisinde hazırlanan işlem görmemiş rasajilinin ve rasajilin içeren ağızda dağılan tablet (ODT-9R) çözeltileri (10 µM) hazırlanmıştır. Apikale rasajilin içeren 500 µL hacimde transport ortamı, bazolaterale ise 1500 µL transport ortamı eklenmiştir. 37°C ve 50-60 rpm koşullarındaki 2 saatlik inkübasyonun ardından bazolateral kompartmandan 200 µL örnek alınmıştır. Alınan örneklerdeki rasajilin miktarı HPLC ile analiz edilmiş ve konsantrasyon değerleri kalibrasyon doğrusu yardımıyla hesaplanmıştır (154). Rasajilinin görünür permeabilitesi (P<sub>app</sub>; cm/sn) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$P_{app} = (V_b C_b) / (C_0 A T) \quad (3.12)$$

V<sub>b</sub>: Bazolateral kompartmandaki tampon hacmi (cm<sup>3</sup>)

C<sub>b</sub>: Bazolateral kompartmandaki ilaç konsantrasyonu (M)

C<sub>0</sub>: Apikal kompartmandaki başlangıçtaki ilaç konsantrasyonu (M)

A: İnsertin yüzey alanı (1.131 cm<sup>2</sup>)

T: Deney süresi (sn)

### 3.6. Organ Perfüzyonu Çalışmaları

Tüm perfüzyon deneyleri, Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanan (2018/09-04) protokol doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Etik Kurul onayı EK-1’de verilmiştir.

Perfüzyon deneylerinde deney hayvanı olarak literatürde çok sayıda veri bulunması, büyüklüğünün uygun olması nedeniyle Sprague Dawley cinsi sağlıklı erkek sıçanlar kullanılmıştır.

#### 3.6.1. *In Situ* Üçlü Bağırsak Perfüzyonu Çalışmaları

- **Perfüzyon Çözeltisi**

Bağırsak segmentlerinin (jejunum, ileum, kolon) eş zamanlı olarak perfüzyonu amacıyla fenol kırmızısı içeren taze hazırlanmış MES tamponu kullanılmıştır (Tablo 3.4).

**Tablo 3.4.** Bağırsak perfüzyonu çalışmalarında kullanılan perfüzyon çözeltisinin bileşimi.

Madde	Konsantrasyon
MES tamponu	10 mM
NaCl	135 mM
KCl	5 mM
Fenol kırmızısı	0,1 mg/mL

Bağırsak perfüzyonu çalışmalarında etkin madde dozunu belirlemek amacıyla en sık kullanılan yaklaşım etkin maddenin piyasada mevcut en yüksek dozunun (rasajilin 1 mg) 250 mL’ye bölünmesidir. Bağırsak perfüzyonu çalışmalarında

kullanılacak rasajilin dozunun belirlenmesinde de bu yaklaşım benimsenmiştir. Perfüzyon deneylerinde rasajilin (4 µg/mL) model ilaç, metoprolol tartarat (100 µg/mL) yüksek permeabilite ajanı, fenol kırmızısı (100 µg/mL) bağırsaklarda su dengesine ulaşıp ulaşılmadığını tayin etmek amacıyla referans madde olarak kullanılmıştır. Rasajilin, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısı MES tamponuna eklenerek iyice karıştırılmış ve perfüzyon deneylerinde kullanılmıştır (154).

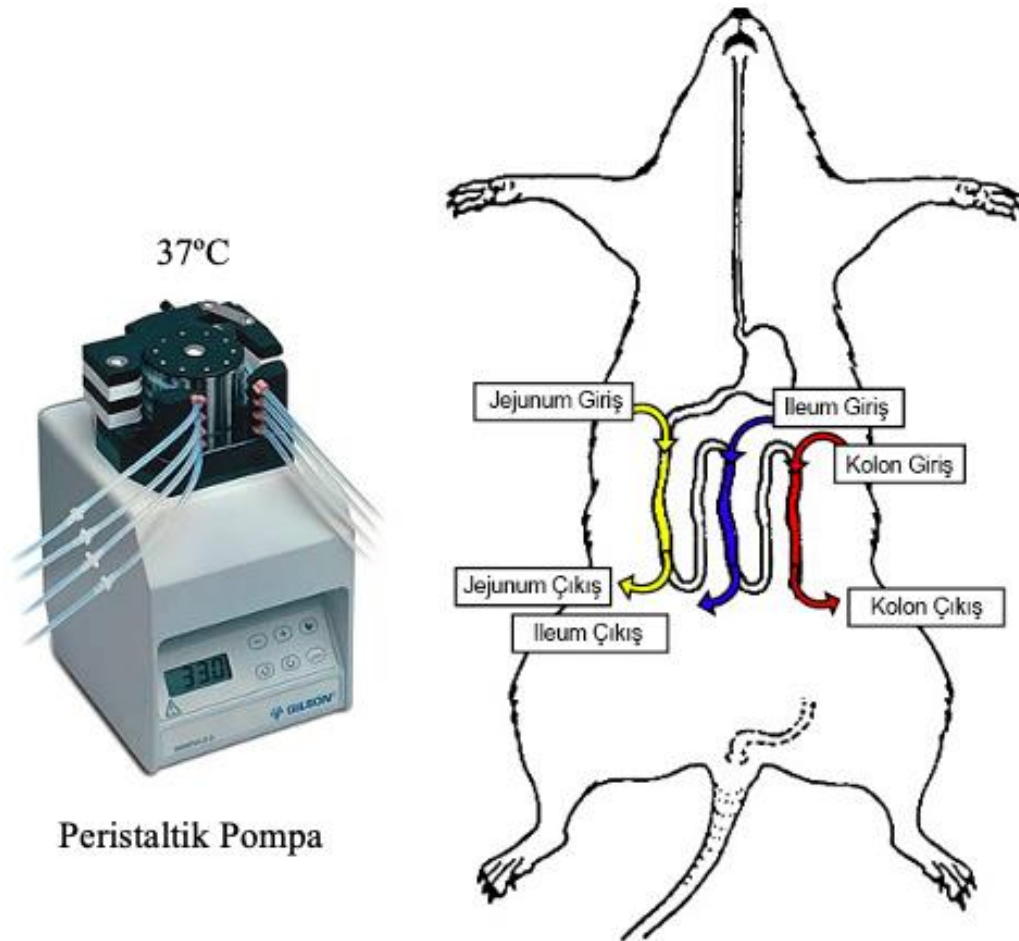
- **Cerrahi işlemler**

Bağırsak perfüzyon deneylerinde lümeden kayıp esasına dayanan ve farklı bağırsak segmentlerinin (jejunum, ileum, kolon) eş zamanlı olarak perfüze edildiği *in situ* single pass bağırsak perfüzyon tekniği kullanılmıştır.

Sprague Dawley cinsi sıçanlar (n=6) standart sıçan diyeti ile beslenmiş ve deneyden bir gece önce içme suları kısıtlanmadan aç bırakılmışlardır. Cerrahi işlemler anestezi altında gerçekleştirilmiştir. Anestezi ketamin (90 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg)'in intraperitoneal (i.p.) olarak verilmesiyle sağlanmıştır. Anestezi derinliği sıçanların ayak parmaklarının sıkıştırılmasına verilen reaksiyona göre değerlendirilmiştir. Deney boyunca anestezi derinliği takip edilerek gerektiğinde ek doz ketamin-ksilazin kombinasyonu uygulanmıştır. Karın duvarı orta hat boyunca kesildikten sonra jejunum, ileum ve kolon açığa çıkarılmıştır. Perfüze edilecek bağırsak segmenti uzunlukları jejunum için 4,0-10,0 cm, ileum için 3,0-4,8 cm ve kolon için 2,0-3,0 cm olarak ayarlanmıştır ve bölgedeki kan akımı korunarak izolasyonları sağlanmıştır. İzole edilen bağırsak segmentlerinin proksimal ve distal uçlarına silikon tüpler yerleştirilerek cerrahi iplikle sabitlenmiştir. İzole bağırsak segmenti serum fizyolojik (37°C) ile yıkanarak temizlenmiş ve temizlenme göstergesi olarak çözeltilinin berrak gelmesi esas alınmıştır. Peristaltik pompa aracılığıyla akış hızı 0,2 mL/dk olacak şekilde ayarlanmış ve deney sırasında perfüzyon çözeltisi sirküle edilmemiştir (171).

Deneyler 37°C'ye ayarlanmış bir perfüzyon kabini içerisinde gerçekleştirilmiştir. Perfüze edilen bağırsak segmentlerin deney sırasında kurumasını

önlemek amacıyla serum fizyolojik ile ara ara ıslatılmış ve üzerleri parafilm ile kapatılmıştır. Her deney sonunda hayvanlar eksanguinasyon yöntemi ile öldürülmüş ve perfüze edilen segmentler çıkartıldıktan sonra uzunlukları tekrar ölçülmüştür. Perfüzyon sistemi ve cerrahi işlem şematik olarak Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



**Şekil 3.1.** Perfüzyon sistemi ve cerrahi yöntemin şematik olarak gösterilmesi.

Tüm segmentler dengeye ulaştıktan sonra, jejunum, ileum ve kolon rasajilin -metoprolol tartarat ya da rasajilinle ODT eksipiyanları -metoprolol tartarat karışımını içeren MES tamponu ile eş zamanlı olarak 60 dk süreyle perfüze edilerek her 5 dk’da bir numune toplanmıştır. Toplanan numunelerdeki rasajilin miktarı valide edilmiş HPLC yöntemi ile tayin edilmiştir.

- **Bağırsak Perfüzyonu Veri Analizi**

Rasajilinin farklı bağırsak segmentlerinden (ileum, jejunum ve kolon) permeabilitesi ( $P_{eff}$ ) Eşitlik 3.13 kullanılarak tayin edilmiştir.

$$P_{eff} = \frac{Q \ln\left(\frac{C_{out}}{C_{in}}\right)^l}{2\pi \cdot R \cdot L} \quad (3.13)$$

Q: Akış hızı (mL/s)

$(C_{out}/C_{in})^l$ : Su taşınması için düzeltilmiş çıkış ve giriş (rezervuar) ilaç konsantrasyonuna oranı

R: Perfüze edilen bağırsak segmentinin yarıçapı (cm)

L: Perfüze edilen bağırsak segmentinin uzunluğu (cm)

Segmentlerin ortalama yarıçapları jejunum ve ileum için 0,18 cm, kolon için 0,2 cm olarak kabul edilmiştir (172). Formülde verilen  $(C_{out}/C_{in})^l$  oranı ( $C_{out}/C_{in}$  düzeltilmiş) aşağıda verilen Eşitlik 3.14 kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\left(\frac{C_{out}}{C_{in}}\right)^l = \left(\frac{C_{out}}{C_{in}}\right)_{ilaç} \times \left(\frac{C_{in}}{C_{out}}\right)_{fenol \text{ kırmızısı}} \quad (3.14)$$

Segmente giren ve segmentten çıkan perfüzyon çözeltisindeki fenol kırmızısının konsantrasyon değerleri kullanılarak net su akışı değeri (*Net Water Flux*; NWF) Eşitlik 3.15 ile hesaplanmıştır.

$$NWF = \frac{Q \cdot \left[1 - \left(\frac{C_{out}}{C_{in}}\right)_{fenol \text{ kırmızısı}}\right]}{L} \quad (3.15)$$

NWF değerini hesaplamak için farklı yöntemler de kullanılmaktadır. Bunlardan birisi gravimetrik yöntem bir diğeri  $^{14}\text{C}$ - PEG-3500 ile yapılan ölçümlerdir

(173, 174). Bu çalışmada bağırsaklardaki su dengesini incelemek amacıyla en sık kullanılan fenol kırmızısı kullanılmıştır.

NWF değerinin negatif çıkması, mukozal (lümen) taraftan serozal (kan) tarafa doğru bir sıvı akışının (absorpsiyon) olduğunu gösterir. Pozitif olması durumunda ise sıvının segmente doğru salgılandığını (sekresyon) göstermektedir (175-178).

### 3.6.2. *In Situ* Karaciğer Perfüzyonu Çalışmaları

- **Perfüzyon çözeltisi**

Perfüzyon çözeltisi olarak glikoz (3 g/L) ve sodyum taurokolat (6 mg/L) içeren Krebs-bikarbonat çözeltisi (Tablo 3.5) kullanılmıştır. Taze olarak hazırlanan perfüzyon çözeltisi membran filtreden (0,45 µm) süzülükten sonra 30 dk süreyle karbojen gazı (%95 oksijen, %5 karbondioksit) ile oksijenlendirilmiş ve pH'sı 7,4'e ayarlanmıştır.

**Tablo 3.5.** Karaciğer perfüzyonu çalışmalarında kullanılan perfüzyon çözeltisinin bileşimi.

<b>Madde</b>	<b>Konsantrasyon (g/L)</b>
Sodyum klorür	6,92
Sodyum bikarbonat	2,09
Kalsiyum klorür dihidrat	0,37
Potasyum klorür	0,35
Magnezyum sülfat heptahidrat	0,29
Potasyum dihidrojen fosfat	0,16
Glikoz	3,00
Sodyum taurokolat	0,006

- **Perfüzyon Sistemi**

Karaciğer perfüzyonu deneyleri, rezervuar, kabarcık tutucu ve peristaltik pompanın yer aldığı ısı kontrollü bir kabin içerisinde (37°C) içerisinde gerçekleştirilmiştir. Plastik tüpler (*tubings*) aracılığıyla perfüzyon çözeltisinin rezervuardan kabarcık tutucuya ve oradan da portal vene akışı bir peristaltik pompa ile 15 mL/dakika olacak şekilde ayarlanmıştır. Perfüzyon çözeltisi sirküle edilmemiştir.

- **Cerrahi İşlemler**

Karaciğer donörü olarak erkek (250-300g) Sprague Dawley sıçanları (n=6) kullanılmıştır. On iki saat aydınlık on iki saat karanlık döngüsüne tabi tutulan hayvanlar standart sıçan diyeti ile beslenerek deneyden önce aç bırakılmamıştır. Cerrahi işlemler ketamin (90 mg/kg)- ksilazin (5 mg/kg) kombinasyonunun i.p. olarak uygulanmasıyla sağlanan anestezi altında gerçekleştirilmiştir. Perfüzyon işlemi sırasında karaciğerin kandan temizlenmesini kolaylaştırmak amacı ile 1000 IU sodyum heparin ketamin-ksilazinden hemen sonra i.p. olarak enjekte edilmiştir.

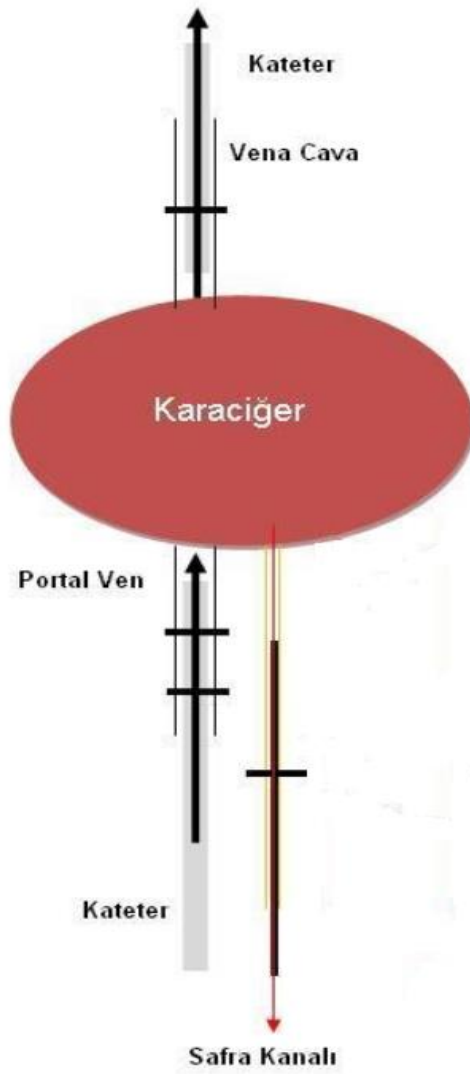
Karın duvarı kuyruk bölgesinden başlayarak göğüs kafesi hizasına kadar anestezi altında kesilerek karın bölgesinin içeriği hayvanın soluna alınarak karaciğer, portal ven, safra kanalı açığa çıkarılmıştır. Safra kanalı bir PE10 tüp ile kanüle edilmiş ve perfüzyon deneyi süresince safra bir ependorf tüp içerisine toplanmıştır. Portal ven etrafına iki adet, abdominal vena cava etrafına ise bir adet cerrahi iplik (3/0) yerleştirildikten sonra portal ven bir 16GA (1,7 mm dış çap x 45 mm) kateterle kanüle edilerek bir peristaltik pompa aracılığı ile perfüzyon işlemine başlanmıştır. Perfüzyon çözeltisinin (pH 7,4, 37°C) akış hızı 15 mL/dakika olacak şekilde ayarlanmıştır. Kateter sıkıca bağlandıktan sonra göğüs kafesi kesilerek kalbin sağ atriumundan sokulan bir 14GA kateter (2,1 mm dış çap x 45 mm) aracılığı ile hepatik ven kanüle edilmiştir (Şekil 3.2). Bu aşamada hayvan ölmektedir. Gevşek haldeki tüm cerrahi iplikler sıkıca bağlandıktan sonra karaciğer izotonik sodyum klorür çözeltisi ile ıslatılmış ve kurumayı önlemek amacıyla bir parça parafilm ile kaplanmıştır. Organın

canlılığı görsel olarak, safra akışı ve perfüzatın volumetrik değeri kullanılarak tayin edilmiştir.

Karaciğerin 20 dk stabilizasyonundan sonra, rasajilin çözeltisi bir enjeksiyon portu aracılığıyla (extension set with T piece and Luer Lock) PV içerisine bolus dozda (0,25 mg/mL; 50 µL) bir Hamilton şırıngasıyla enjekte edilmiştir. Bolus enjeksiyondan hemen sonra perfüzat örnekleri her 3 saniyede bir 3 dk süreyle bir örnek toplayıcı ile, daha sonra 15dk'ya kadar de elle toplanmıştır. Deneyleerin tamamlanmasından sonra perfüze edilen karaciğer çıkarılarak tartılmıştır. Toplanan numunelerdeki rasajilin miktarı valide edilmiş HPLC yöntemi (Bölüm 3.3) ile tayin edilmiştir.

Ayrıca, vasküler hacim tayini için eritrosit (RBC, 25 µL, 30 sn), ekstraselüler hacim tayini için Evans mavisi (EB, 5mg/mL; 60 sn) ayrı ayrı bolus dozda PV içerisine enjekte edilmiş ve zamanın fonksiyonu olarak perfüzat örnekleri toplanmıştır. Eritrosit ve Evans mavisinin en yüksek absorbands verdiği dalga boyu tayin edildikten sonra (Eritrosit için 412 nm, Evans mavisi için 607 nm) numunelerdeki referans madde miktarları kolorimetrik olarak tayin edilmiştir.





**Şekil 3.2.** Karaciğerin portal venden perfüzyonu amacıyla yapılan cerrahi işlemler.

- **Karaciğer Perfüzyonu Veri Analizi**

Rasajilin konsantrasyonu aşağıda verilen eşitlik kullanılarak frekans dağılımı ( $f(t)$ ;  $1/sn$ ) olarak ifade edilmiştir.

$$f(t) = \frac{C(t).Q}{D} \quad (3.16)$$

$C(t)$ : Rasajilin konsantrasyonu

Q: Perfüzyon çözeltisi akış hızı (mL/sn),

D: Enjekte edilen doz (mg/mL)

Perfüzyon sisteminin karaciğer haricindeki kısımlarındaki (*nonhepatik bölge*) gecikme, karaciğere giren ve karaciğerden çıkan kataterler birleştirilerek tayin edilmiş (yaklaşık 2 saniye) ve bu gecikme süresi tüm örnekleme zamanlarından çıkarılmıştır. Maksimum frekans ( $f_{maks}$ ) ve maksimum frekansa ulaşma zamanı ( $t_{maks}$ ) frekans-zaman verilerinden tayin edilmiştir.

Frekans- zaman profillerinden eğri altında kalan alan (*AUC*) ve ortalama geçiş zamanı (*MTT*) hesaplanmıştır (Eşitlik 3.17, Eşitlik 3.18).

$$AUC = \int_0^{\infty} f(t). dt \quad (3.17)$$

$$MTT = \frac{\int_0^{\infty} t.f(t).dt}{AUC} \quad (3.18)$$

Referans maddelerin (RBC ve EB) hepatik dağılma hacimleri Eşitlik 3.19 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$V = Q.MTT \quad (3.19)$$

Karaciğerin total su hacmi liyofilizasyon yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir (179). Bu amaçla deneyden hemen sonra tartılan karaciğerler ( $W_{yaş}$ )  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulduktan sonra liyofilizatörde 24 saat ( $-50^{\circ}\text{C}$ ) kurutulduktan sonra tekrar tartılmıştır ( $W_{kuru}$ ). Karaciğerin total su hacmi yaş ve kuru ağırlıklar arasındaki farktan hesaplanmıştır (Eşitlik 3.20).

$$V_{total} = \frac{W_{yaş} - W_{kuru}}{W_{kuru}} \quad (3.20)$$

*İnterstitiyel* ( $V_{int}$ ) ve *intraselüler* ( $V_{intra}$ ) karaciğer hacimleri vasküler ( $V_{RBC}$ ), ekstraselüler ( $V_{EB}$ ) ve total hacim ( $V_{total}$ ) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$V_{int} = V_{EB} - V_{RBC} \quad (3.21)$$

$$V_{intra} = V_{total} - V_{EB} \quad (3.22)$$

Rasajilinin hepatik klerensi ( $CL$ , mL/sn) perfüzyon hızı ( $Q$ ) ve ekstraksiyon oranı ( $E$ ) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$CL = Q \cdot E \quad (3.23)$$

Ekstraksiyon oranı, rasajilinin frekans-zaman profilinin eğri altında kalan alanından tayin edilen hepatik geri kazanım ( $F$ ) değeri kullanılarak hesaplanmıştır ( $E=1-F$ ).

### 3.7. İstatistiksel Analiz

Deneyisel çalışmalardan elde edilen tüm veriler Ortalama $\pm$ SS olarak tablolanmıştır. İstatistiksel analizlerde güven aralığı %95 olarak seçilmiştir. Gruplar arasındaki farklılığın önemliliği elde edilen p değerinin  $\alpha$  ( $=0,05$ ) yanılma düzeyinden büyük ( $p>\alpha$ , istatistiksel olarak anlamsız) veya küçük ( $p<\alpha$  istatistiksel olarak anlamlı) olmasına göre değerlendirilmiştir. İstatistiksel karşılaştırma için çift yönlü Student's t-testi kullanılmıştır.

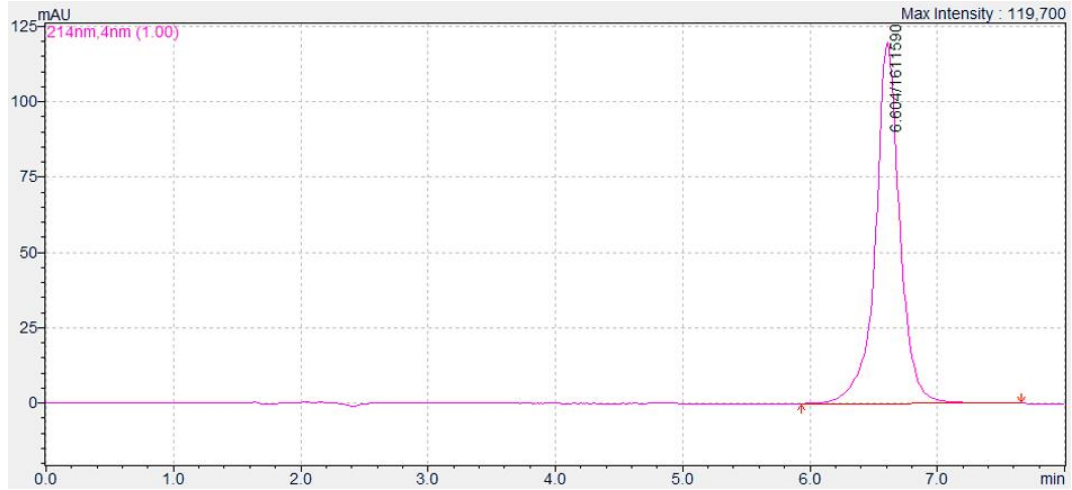
## 4. BULGULAR

### 4.1. Analitik Yöntem Geliştirilmesi ve Validasyonu

Deneysel çalışmalardan elde edilen numunelerin analizinde kullanılan analitik yöntemin validasyonu amacıyla Bölüm 3.3.1’de belirtildiği gibi özgüllük, doğrusallık, doğruluk, kesinlik (tekrar edilebilirlik, tekrar elde edilebilirlik), duyarlılık, saptanabilirlik sınırı ve tayin edilebilirlik sınırı, dayanıklılık (etkin maddenin saptanması ve tayini aşamasında) ölçütleri incelenmiştir. Validasyon çalışmaları kapsamında elde edilen bulgular Bölüm 4.1.1. Formülasyon Çalışmaları ve Bölüm 4.1.2 Hücre kültürü ve Perfüzyon Çalışmaları başlıkları altında sunulmuştur.

#### 4.1.1. Formülasyon Çalışmaları

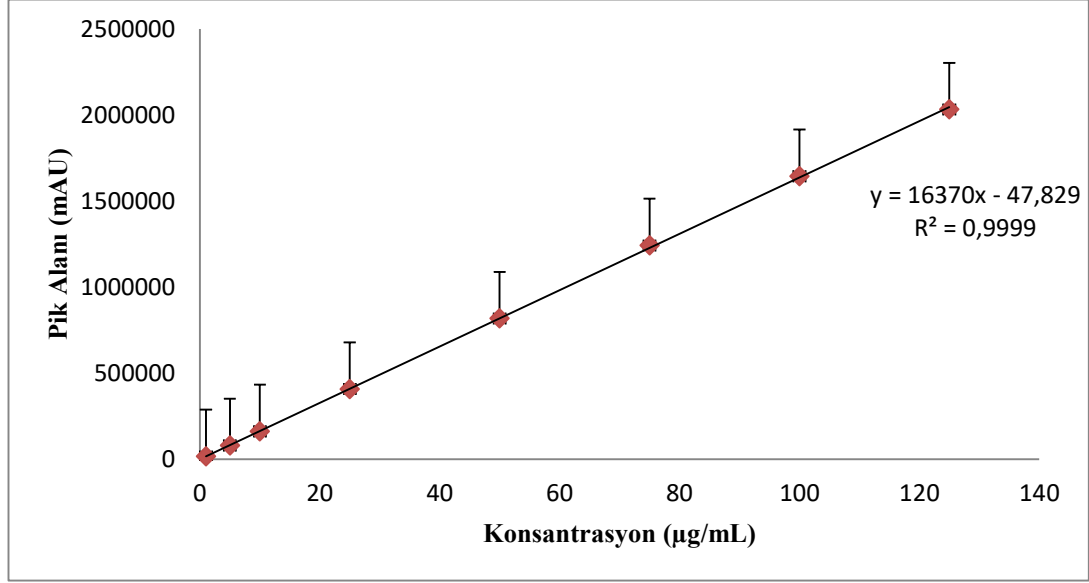
Rasajilinin DAD dedektörlü HPLC analizinde en yüksek absorbansın görüldüğü dalga boyu 214 nm ve retansiyon zamanı 6,60 dk olarak tayin edilmiştir (Şekil 4.1).



**Şekil 4.1.** Asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65, h:h) mobil faz sisteminde rasajiline (10 µg/mL) ait HPLC kromatogramı.

- **Kalibrasyon Doğrusu**

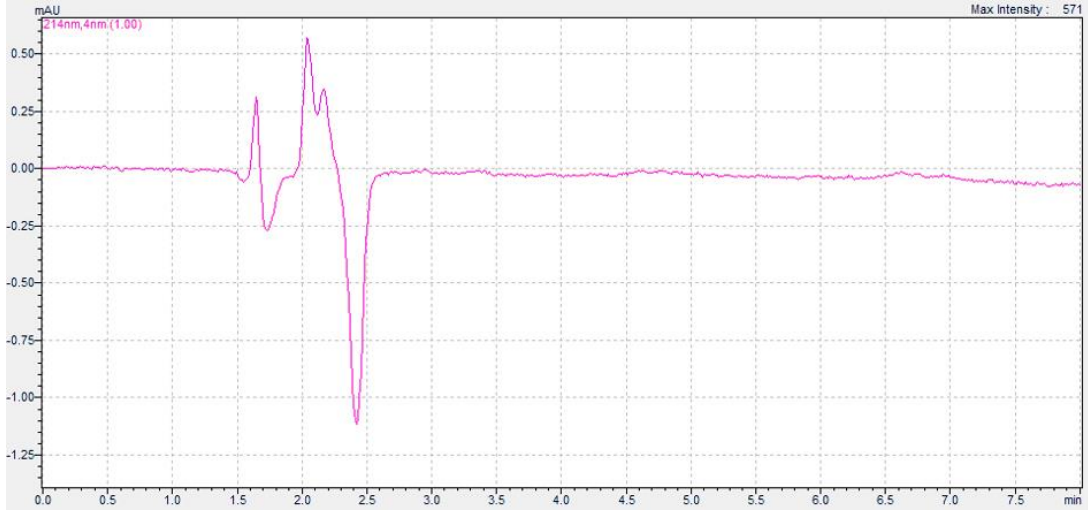
Formülasyon çalışmaları kapsamında yapılan çalışmalardan elde edilen numunelerdeki rasajilinin miktar tayininde kullanılan kalibrasyon doğrusu ve denklemi Şekil 4.2’de verilmiştir.



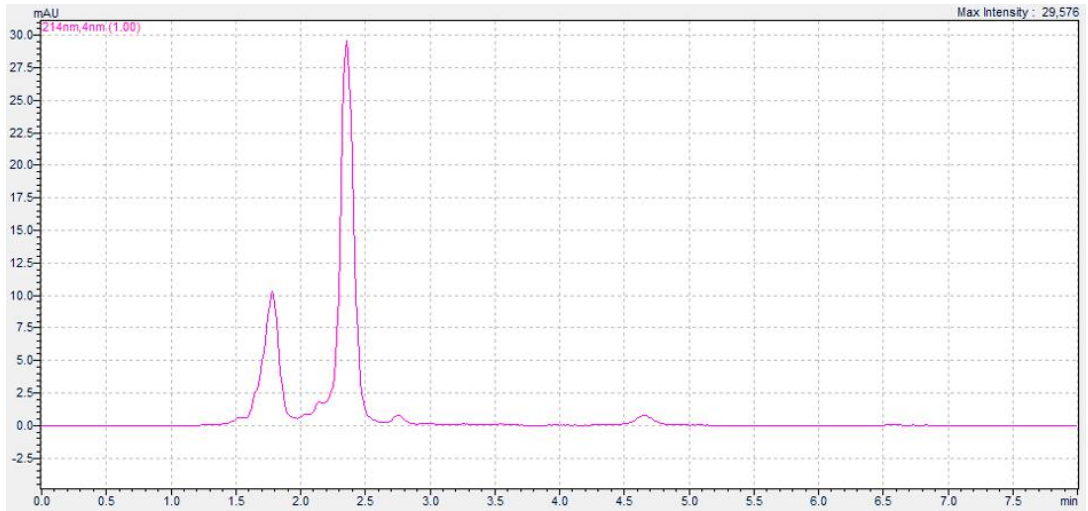
**Şekil 4.2.** Rasajilinin asetonitril:tampon (pH:6,2) mobil faz sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemi (ortalama ±SS; n=6)

- **Özgüllük (Specificity)**

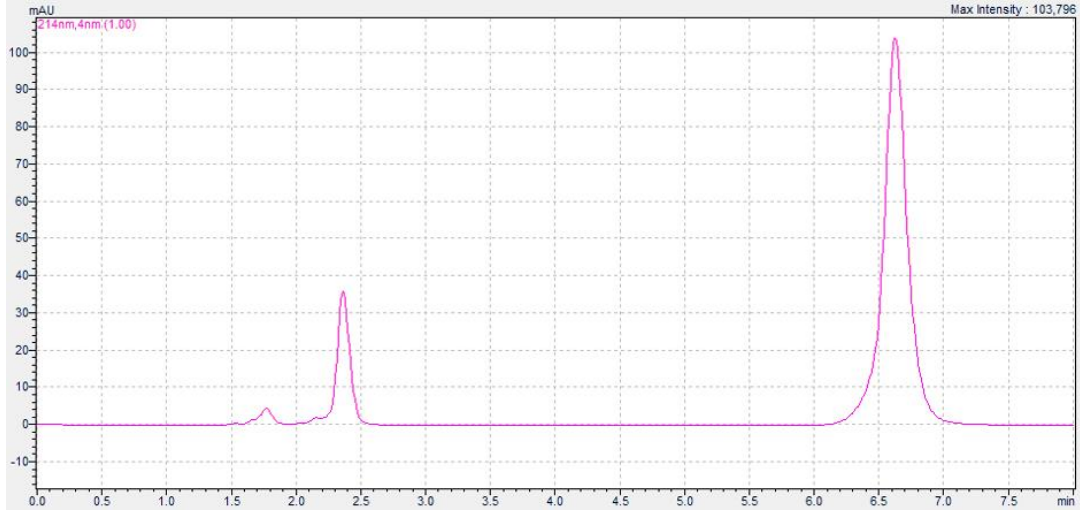
Formülasyonunda yer alan yardımcı maddelerin rasajilin'in maksimum absorbans verdiği 214 nm'de bir pik verip vermediğini incelemek amacıyla etkin içermeyen (plasebo ODT-9) ve etkin madde içeren optimum ODT (ODT-9R) formülasyonlarına ait çözeltilerin HPLC kromatogramları Bölüm 3.3.1'de verilen aynı analiz koşullarında elde edilmiş ve kullanılan yardımcı maddelerin rasajilin ile aynı yerde pik vermedikleri gözlenmiştir (Şekil 4.3-4.5).



**Şekil 4.3.** Asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65, h:h) mobil faz sistemindeki çözücüye (asetonitril-su) ait HPLC kromatogramı.



**Şekil 4.4.** Asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65, h:h) mobil faz sistemindeki plasebo ODT-9'a ait HPLC kromatogramı.



**Şekil 4.5.** Asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65, h:h) mobil faz sisteminde rasajilin içeren ODT-9R'a ait HPLC kromatogramı.

- **Doğrusallık (*Linearity*)**

Rasajilin'in tayininde kullanılan analitik yöntemin doğrusallığı tanımlayıcılık (determinasyon) katsayısının 1'e yakınlığına göre değerlendirilmiştir. Regresyon analizi sonucu determinasyon katsayısı  $R^2 = 0,9999$  olarak bulunmuş ve konsantrasyon ve absorbans değerleri arasındaki ilişkinin doğrusal olduğu gösterilmiştir (Şekil 4.2; Tablo 4.1).

**Tablo 4.1.** Rasajiline ait doğrusallık bulguları (n=6).

<b>Doğru Denklemi</b>	$y=16370x+47,829$
<b>Eğimin Standart Hatası</b>	158,1442
<b>Kesişimin Standart Hatası</b>	144,2549
<b>Determinasyon Katsayısı (<math>R^2</math>)</b>	0,9999
<b>Doğrusallık Aralığı (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	1-125
<b>Nokta Sayısı</b>	8
<b>LOD (ng/mL)</b>	99,24
<b>LLOQ (ng/mL)</b>	330,81

- **Doğruluk (Accuracy)**

Rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin doğruluğunu göstermek amacıyla düşük, orta, yüksek (10, 50, 100 µg/mL) olmak üzere üç farklı konsantrasyon düzeyinde yapılan çalışmalardan (Bölüm 3.3.1) elde edilen bulgular Tablo 4.2’de verilmiştir. Tüm konsantrasyon değerleri için OBH değerleri %1,5’ten küçük bulunmuştur.

**Tablo 4.2.** Rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemine ait doğruluk bulguları (n=6).

Eklenen Konsantrasyon (µg/mL)			Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL)			% OBH		
10	50	100	9,870	48,943	99,330	-1,296	-2,114	-0,670
10	50	100	9,779	49,556	103,733	-2,210	-0,888	3,733
10	50	100	9,804	48,905	99,337	-1,963	-2,190	-0,663
10	50	100	10,366	49,094	99,399	3,662	-1,812	-0,601
10	50	100	9,903	49,886	99,582	-0,966	-0,227	-0,418
10	50	100	9,854	50,567	101,328	-1,464	1,134	1,328
Ortalama			9,929	49,492	100,452	-0,706	-1,016	0,452
SS			0,219	0,651	1,783	2,187	1,302	1,783

- **Keskinlik (Precision)**

Rasajilin tayininde kullanılan analitik yöntemin keskinliği tekrar edilebilirlik ve tekrar elde edilebilirlik çalışmalarından elde edilen bulgular doğrultusunda değerlendirilmiştir.



- **Tekrar Edilebilirlik (Repeatability)**

Rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar edilebilirliği Bölüm 3.3.1’de belirtildiği gibi üç farklı konsantrasyon düzeyinde (10, 50, 100 µg/mL) incelenerek elde edilen bulgular Tablo 4.3’de verilmiştir. Çalışılan konsantrasyon düzeyleri için VK değerlerinin %2’den küçük bulunması yöntemin tekrar edilebilirliğini göstermiştir.

**Tablo 4.3.** Rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar edilebilirlik bulguları (ortalama±SS; n=6).

Konsantrasyon (µg/mL)	Pik Alanı	Tayin edilen Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama ± SS	VK(%)
10	162015	9,900	9,872 ± 0,046	0,470
	161036	9,840		
	161730	9,883		
	162529	9,931		
	161680	9,880		
	160367	9,799		
50	809892	49,477	49,508 ± 0,060	0,121
	812213	49,619		
	810610	49,521		
	809383	49,446		
	810263	49,500		
	809996	49,483		
100	1613602	98,574	98,424 ± 0,187	0,190
	1613175	98,548		
	1613249	98,552		
	1610697	98,396		
	1610648	98,393		
	1605517	98,080		

• *Tekrar Elde Edilebilirlik (Reproducibility)*

Rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar elde edilebilirliği Bölüm 3.3.1’de belirtildiği gibi üç farklı konsantrasyon düzeyinde (10, 50, 100 µg/mL) incelenerek elde edilen bulgular Tablo 4.4’de verilmiştir. Çalışılan tüm konsantrasyon düzeyleri için VK değerlerinin %2’den küçük bulunması yöntemin tekrar elde edilebilirliğini göstermiştir.

**Tablo 4.4.** Rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar elde edilebilirlik bulguları (ortalama±SS; n=6).

Konsantrasyon (µg/mL)	Pik Alanı	Tayin edilen Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama ± SS	VK(%)
10	162071	9,903	9,777 ± 0,093	0,947
	160035	9,779		
	158421	9,680		
	161255	9,854		
	159978	9,776		
	158233	9,669		
50	808412	49,387	49,462 ± 0,176	0,355
	811234	49,559		
	804270	49,134		
	811184	49,556		
	811335	49,565		
	811443	49,572		
100	1616094	98,726	98,270 ± 0,324	0,329
	1612697	98,518		
	1609498	98,323		
	1601392	97,828		
	1607040	98,173		
	1605099	98,054		

- **Duyarlılık (*Sensitivity*)**

Rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin LOD değeri 99 ng/mL ve LLOQ değeri ise 330 ng/mL olarak bulunmuştur (Tablo 4.1).

- **Dayanıklılık (*Stability*)**

Rasajilinin analiz süresince dayanıklılığını göstermek amacıyla 24 saat süreyle 37°C’de yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular Tablo 4.5’de verilmiştir. Bu süre sonunda tayin edilen rasajilin VK’sının %2’den küçük olması numunelerin 24 saat süreyle dayanıklı olduğunun bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

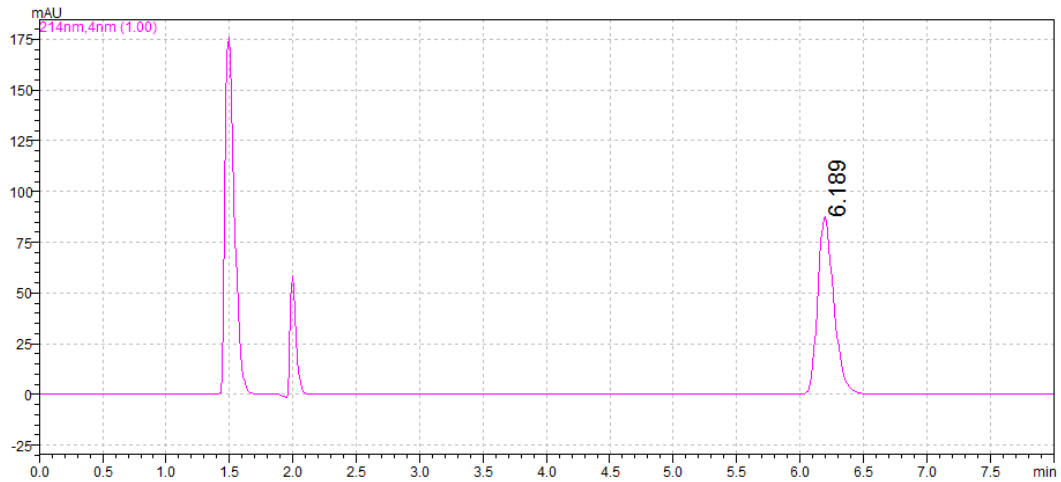
**Tablo 4.5.** Rasajilinin analiz süresinde dayanıklılığını göstermek amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular (n=6).

<b>Konsantrasyon (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>0. saat</b>	<b>12. saat</b>	<b>24. saat</b>	<b>Tayin Edilen Ortalama Konsantrasyon (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>SS</b>	<b>VK (%)</b>
100	98,270	98,271	98,176	98,239	0,153	0,156

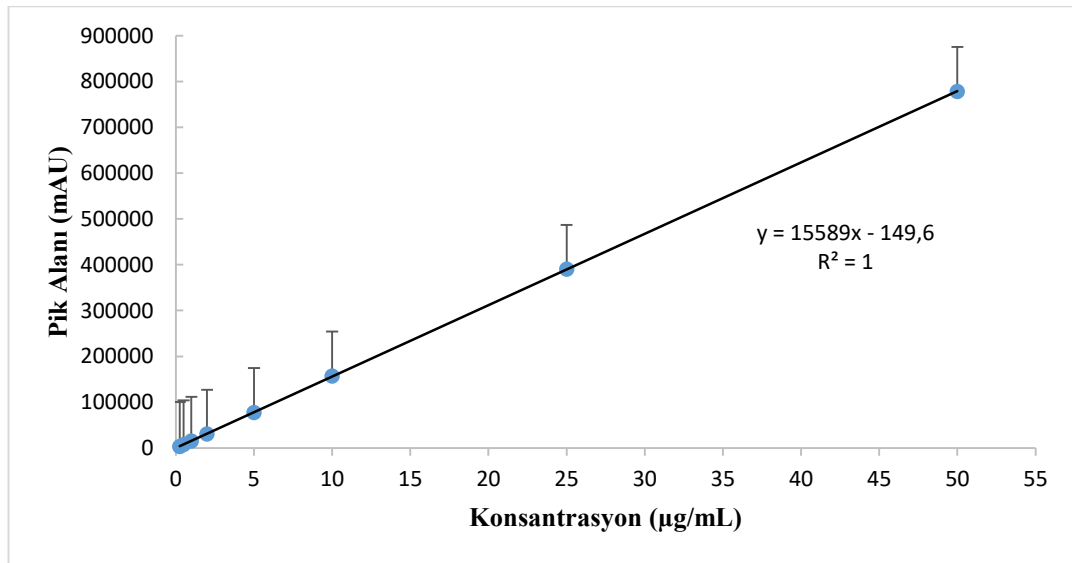
#### 4.1.2. Hücre Kültürü ve Perfüzyon Çalışmaları

- **Kalibrasyon Doğrusu**

**Hücre kültürü çalışmaları:** Bu kapsamda yapılan çalışmalardan elde edilen numunelerdeki rasajilinin miktar tayininde kullanılan kalibrasyon doğrusu ve HPLC kromatogramları Şekil 4.6 - 4.7’de verilmiştir.

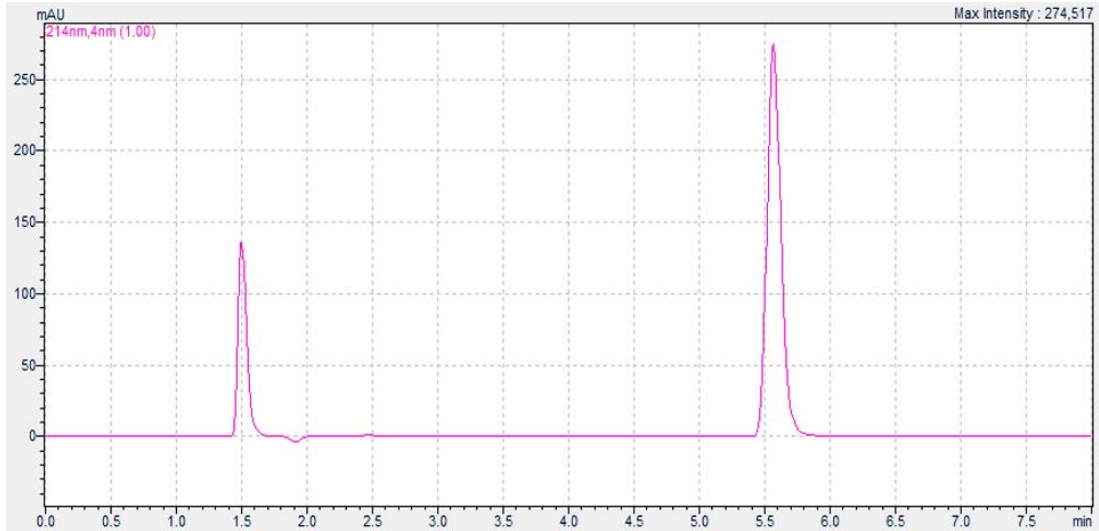


**Şekil 4.6.** Rasajilin (5µg/mL) hücre kültürü ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı (rasajilin alıkonma zamanı: 6.189 dk).

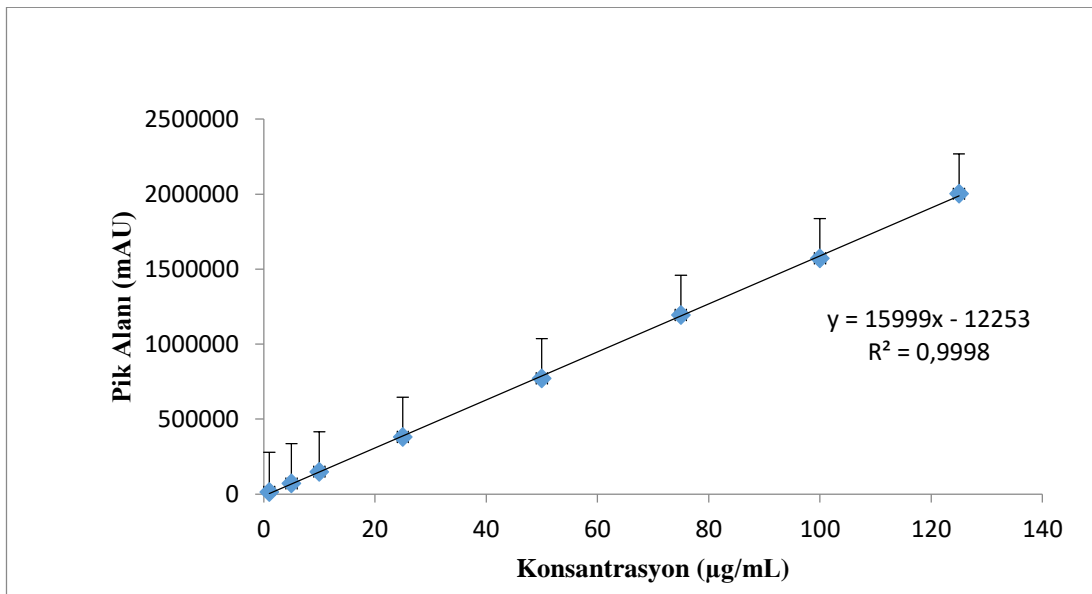


**Şekil 4.7.** Rasajilin hücre kültürü ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemini (ortalama  $\pm$ SS; n=6).

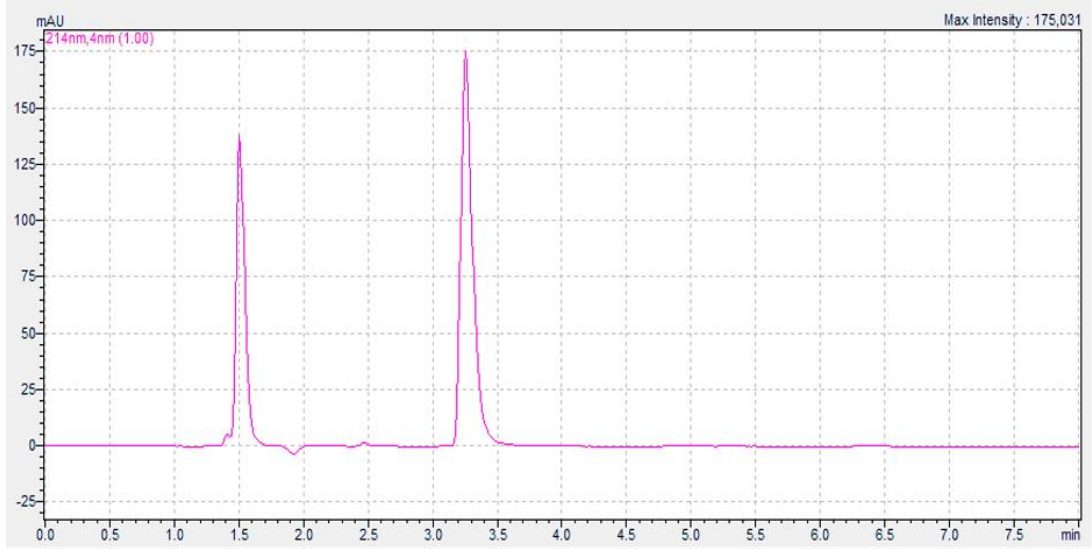
**Bağırsak perfüzyonu çalışmaları:** Bu kapsamda yapılan çalışmalardan elde edilen numunelerdeki rasajilin, metoprolol ve fenol kırmızısının miktar tayininde kullanılan kalibrasyon doğruları ve HPLC kromatogramları Şekil 4.8 - 4.13'de verilmiştir.



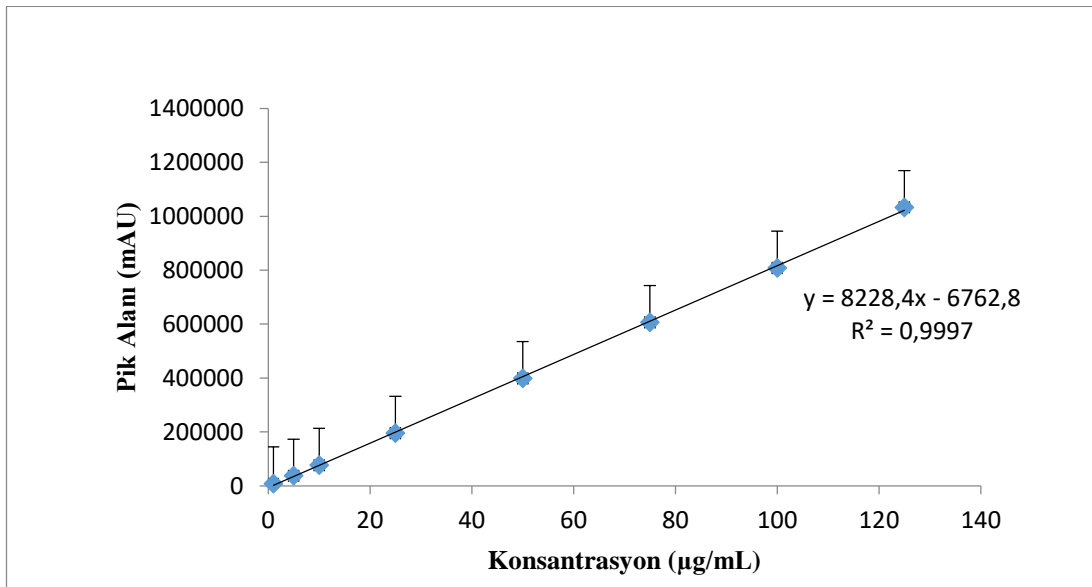
**Şekil 4.8.** Rasajilinin (125 µg/mL) bağırsak perfüzyonu ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı (rasajilinin alıkonma zamanı: 5,58 dk).



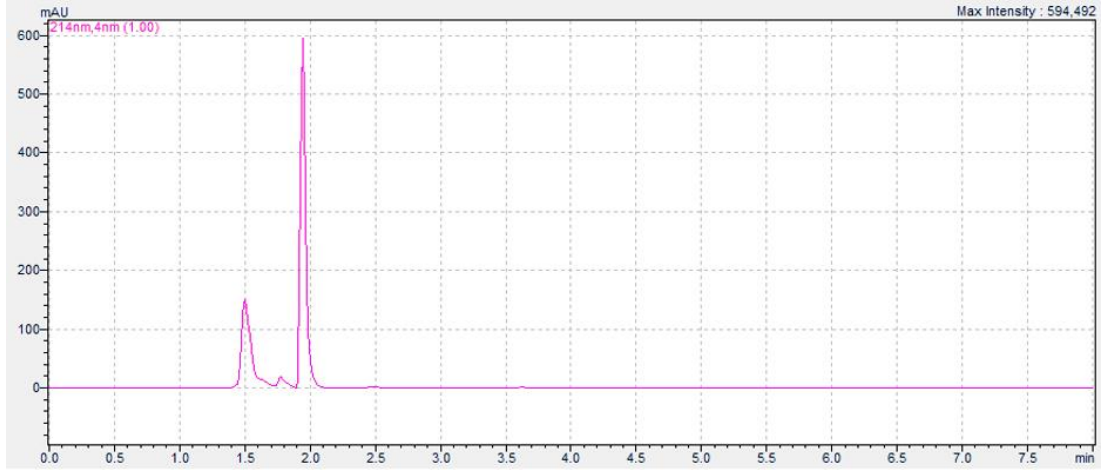
**Şekil 4.9.** Rasajilinin bağırsak perfüzyonu ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemi (ortalama ±SS; n=6).



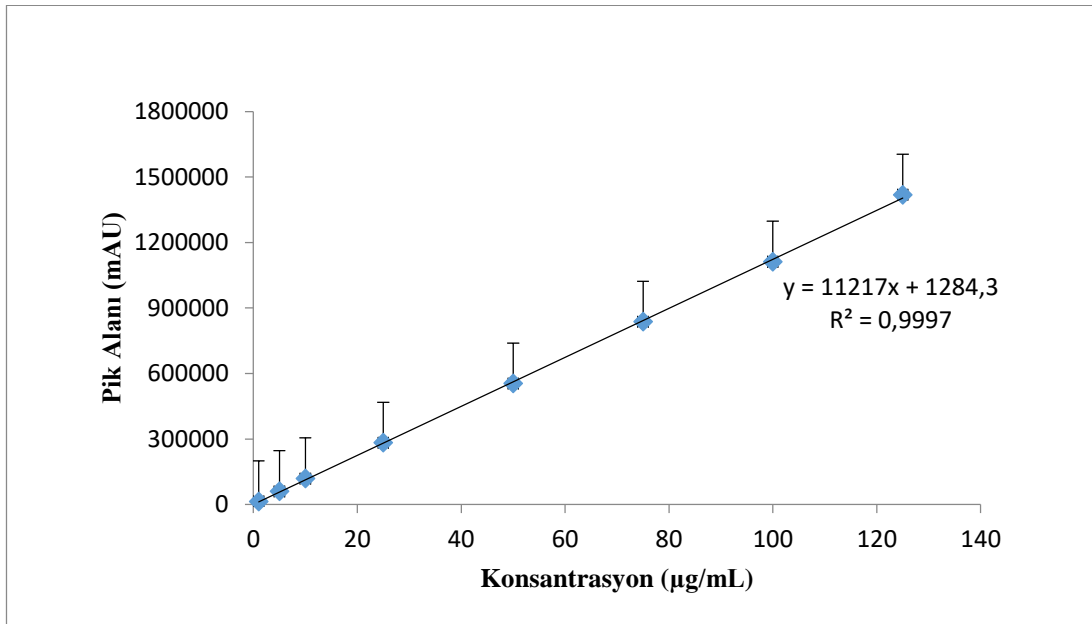
**Şekil 4.10.** Metoprolol tartaratın (125 µg/mL) bağırsak perfüzyonu ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı (metoprolol tartaratın alıkonma alıkonma zamanı: 3,28 dk).



**Şekil 4.11.** Metoprolol tartaratın bağırsak perfüzyonu ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemi (ortalama ±SS; n=6).

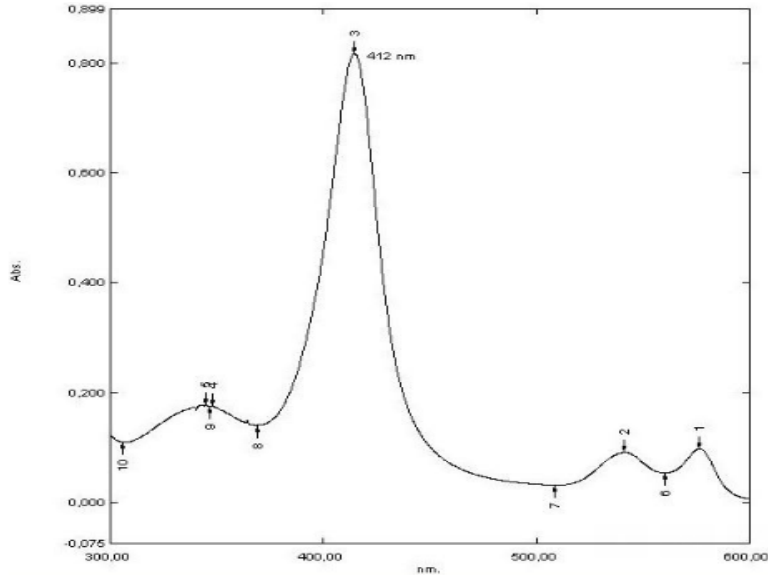


**Şekil 4.12.** Fenol kırmızısının (125 µg/mL) bağırsak perfüzyonu ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı (fenol kırmızısı alıkonma zamanı: 1,97 dk).

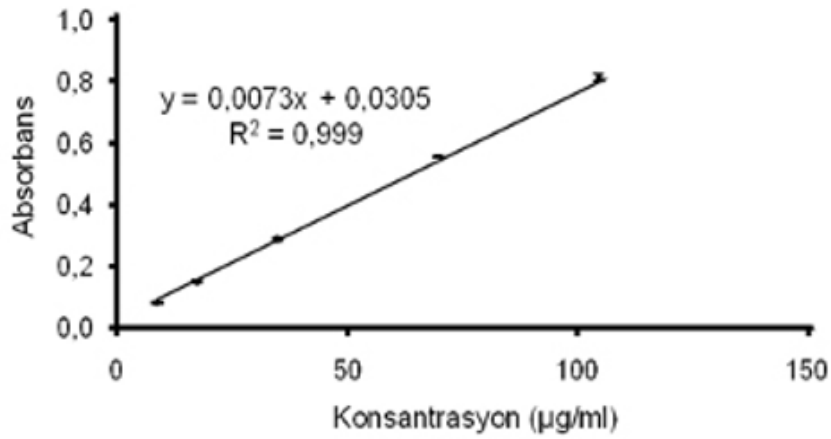


**Şekil 4.13.** Fenol kırmızısının bağırsak perfüzyonu ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemi (ortalama ±SS; n=6).

**Karaciğer perfüzyonu çalışmaları:** Bu kapsamda yapılan çalışmalardan elde edilen numunelerdeki Eritrosit ve Evans mavisinin miktar tayininde kullanılan kalibrasyon doğruları ve UV spektrumları Şekil 4.14 - 4.17'de verilmiştir.

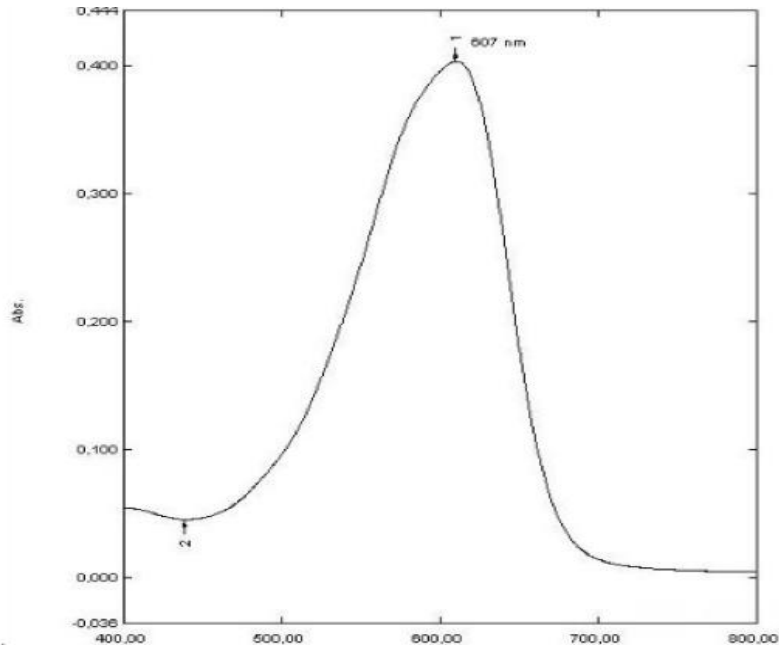


Şekil 4.14. Sıçan eritrositlerin 300-600 nm dalga boyu aralığındaki UV spektrumu.

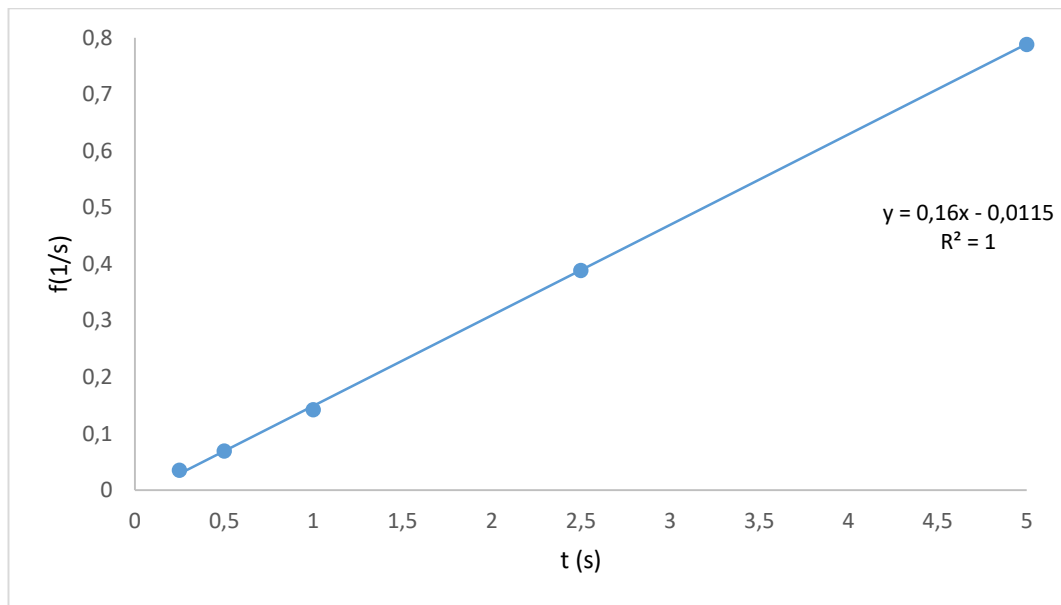


Şekil 4.15. Karaciğer perfüzyonu çalışmalarında kullanılan eritrositlerin tayini amacıyla kullanılan kalibrasyon doğrusu ve denklemi ( $\lambda_{maks}=412$  nm).





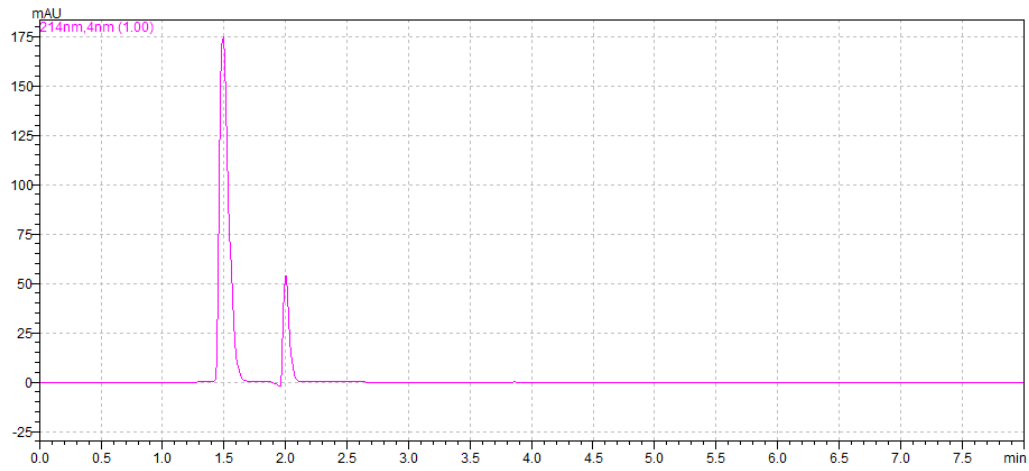
Şekil 4. 16. Evans mavisinin 400-800 nm dalga boyu aralığında UV spektrumu.



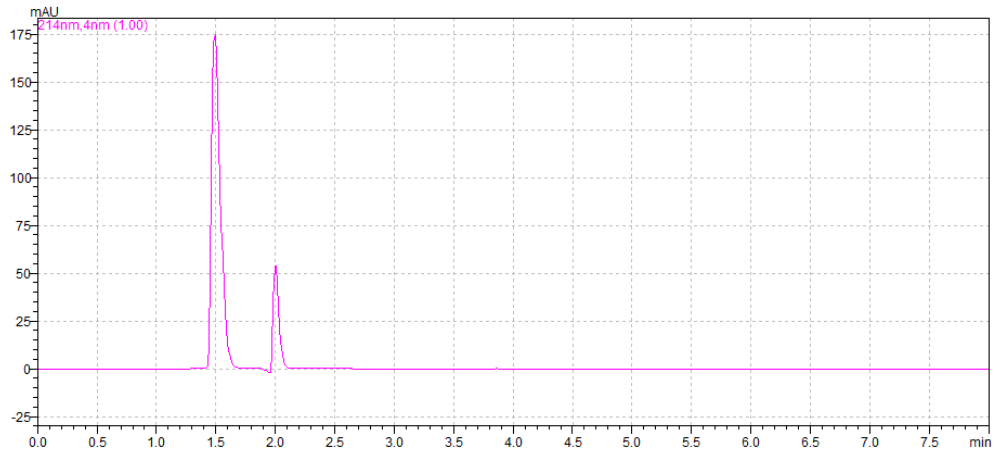
Şekil 4.17. Karaciğer perfüzyonu çalışmalarında kullanılan Evans mavisinin tayini amacıyla kullanılan kalibrasyon doğrusu ve denklemi ( $\lambda_{maks}=607$  nm).

- **Özgüllük (Specificity)**

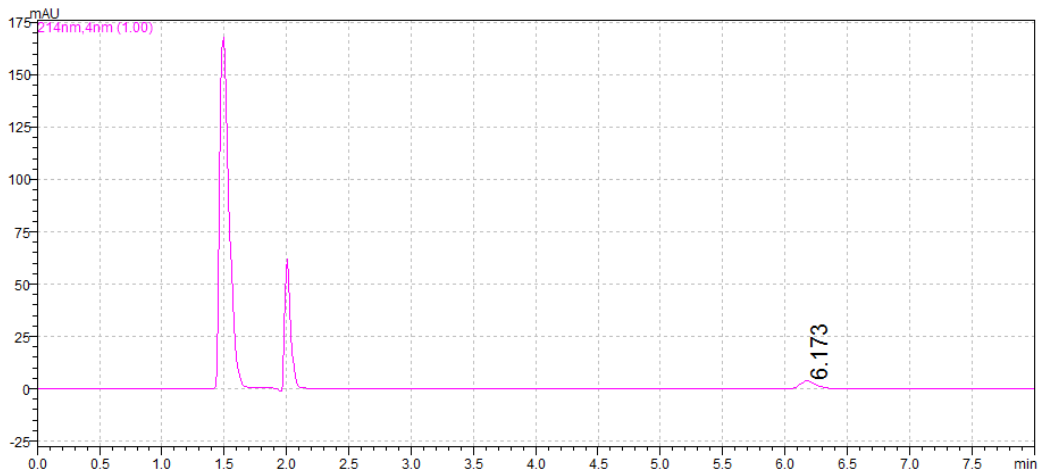
**Hücre kültürü çalışmaları:** Hücre kültürü ortamının etkin madde içermeyen (plasebo ODT-9) ve etkin madde içeren optimum ODT (ODT-9R) formülasyonlarına ait çözeltilerin rasajilin'in maksimum absorbans verdiği 214 nm'de bir pik verip vermediğinin incelemek amacıyla HPLC kromatogramları Bölüm 3.3'de verilen aynı analiz koşullarında elde edilmiş ve rasajilin ile aynı yerde pik vermedikleri gözlenmiştir (Şekil 4.18- 4.20).



**Şekil 4.18.** Hücre kültürü ortamın (25 mM D-glikoz ve 10 mM HEPES içeren HBSS transport ortamı) asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı.

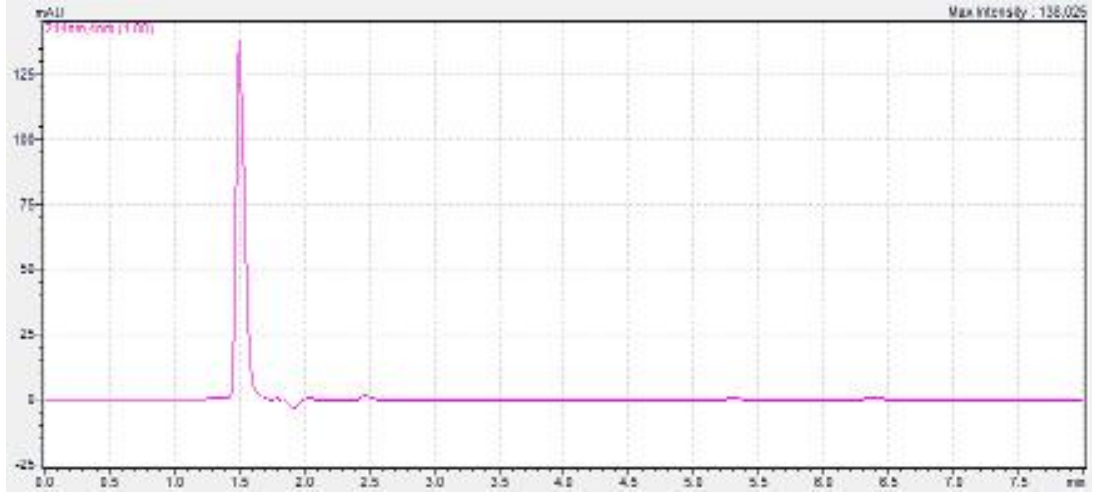


**Şekil 4.19.** Hücre kültürü ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65, h:h) mobil faz sistemindeki placebo ODT-9'a ait HPLC kromatogramı.

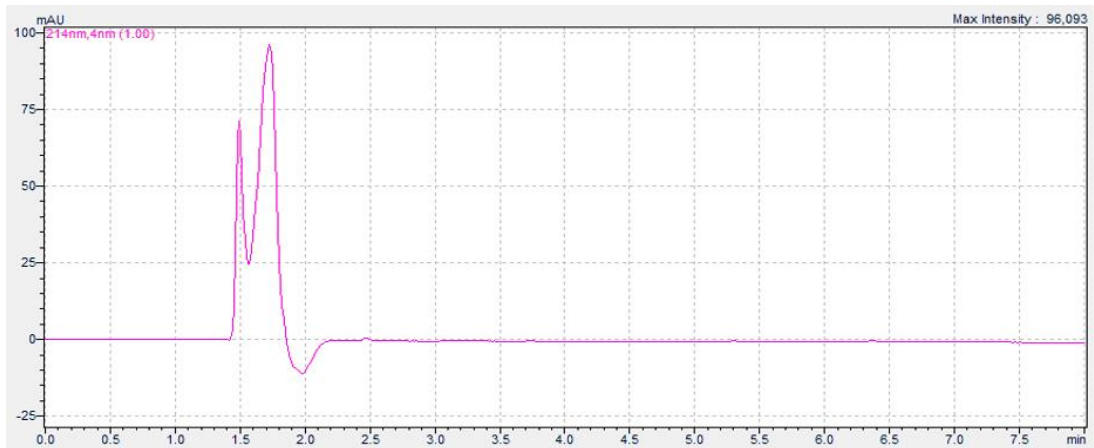


**Şekil 4.20.** Hücre kültürü ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65, h:h) mobil faz sisteminde rasajilin içeren ODT-9R'a ait HPLC kromatogramı.

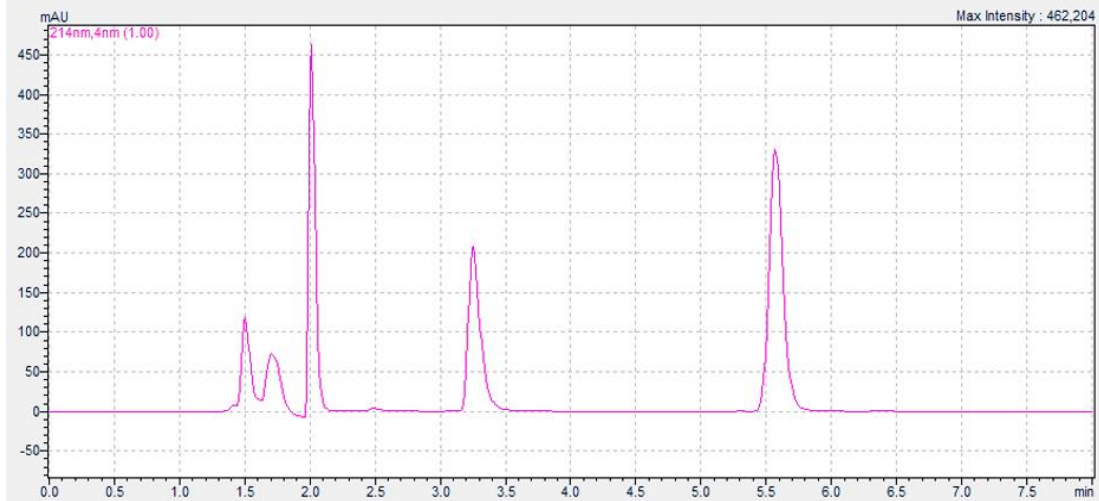
**Bağırsak perfüzyonu çalışmaları:** Bağırsak perfüzyonu çalışmalarında kullanılan ortamın ve referans maddelerin (metoprolol tartarat ve fenol kırmızısı) rasajilin'in maksimum absorban verdiği 214 nm'de bir pik verip vermediğini incelemek amacıyla HPLC kromatogramları Bölüm 3.3'de verilen aynı analiz koşullarında elde edilmiş ve rasajilin ile aynı yerde pik vermedikleri gözlenmiştir (Şekil 4.21- 4.23).



**Şekil 4.21.** Bağırsak perfüzyonu çalışmalarında kullanılan ortamın (MES tamponu, referans maddeler olmadan) asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı.

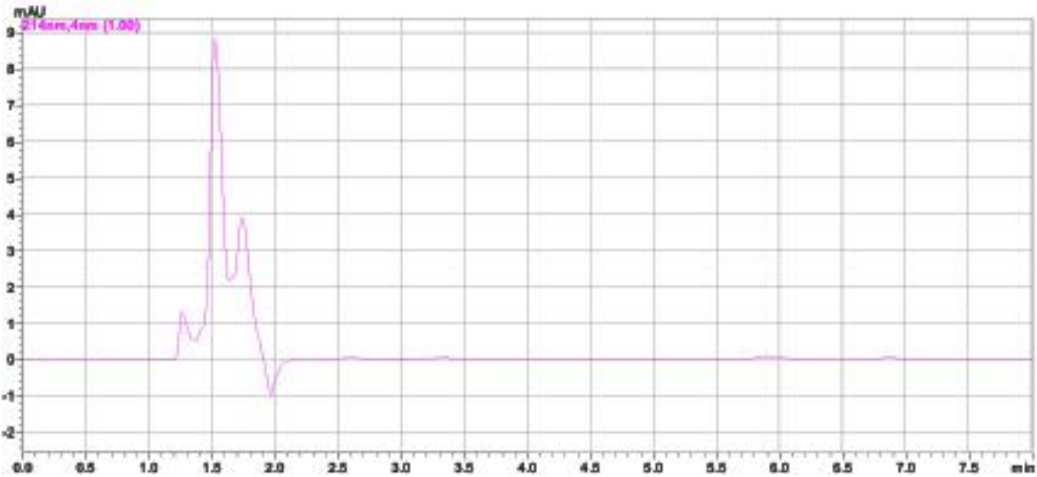


**Şekil 4.22.** Bağırsak perfüzyonu ortamı ve metanol karışımının asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı.

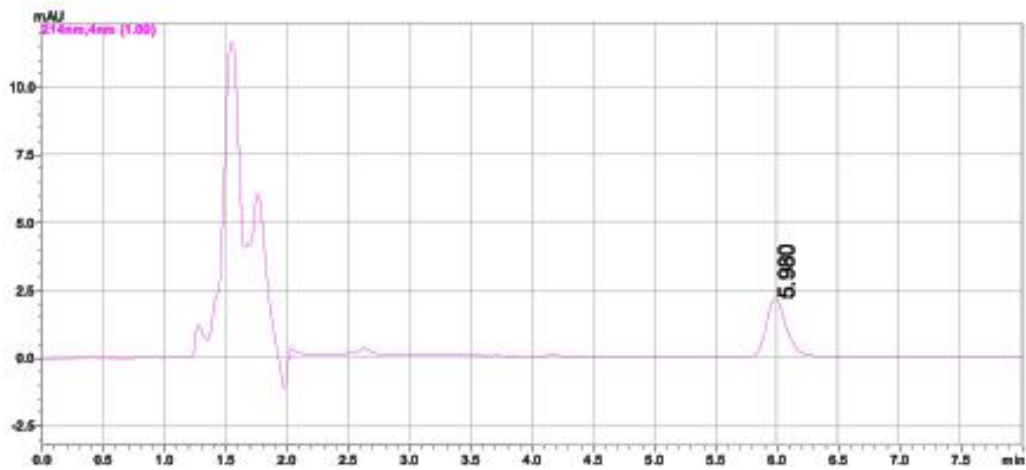


**Şekil 4.23.** Bağırsak perfüzyonu ortamındaki fenol kırmızısı (100 µg/mL ), metoprolol tartarat (125 µg/mL) ve rasajilin (50 µg/mL) asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65: h:h)) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramları (alınma zamanları; fenol kırmızısı:1,97 dk; metoprolol tartarat: 3,28 dk; rasajilin:5,58 dk).

***Karaciğer perfüzyonu çalışmaları:*** Karaciğer perfüzyonu çalışmalarında sadece çözücü ortamının değişmesi ve diğer tüm parametrelerin aynı kalması nedeniyle sadece özgülük tayini yapılmış, elde edilen HPLC kromatogramları (Şekil 4.24 ve Şekil 4.25) ile perfüzyon ortamında bulunan hiçbir bileşenin rasajilinle aynı anda pik vermediği gösterildiği için yöntemin özgül olduğuna karar verilmiştir.



Şekil 4.24 Karaciğer perfüzyon çalışmalarında kullanılan ortamın (Krebs bikarbonat çözeltisi) asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sistemindeki HPLC kromatogramı.



Şekil 4.25. Karaciğer perfüzyon ortamında asetonitril:tampon (pH:6,2) (35:65; h:h) mobil faz sisteminde rasajilinin HPLC kromatogramı.

- Doğrusallık (*Linearity*)

**Hücre kültürü çalışmaları:** Hücre kültürü çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin doğrusallığı tanımlayıcılık (determinasyon) katsayısının 1'e yakınlığına göre değerlendirilmiştir.

Regresyon analizi sonucu determinasyon katsayısı  $R^2= 0,9999$  olarak bulunmuş, konsantrasyon ve absorbans değerleri arasındaki ilişkinin doğrusal olduğu kabul edilmiştir (Şekil 4.7; Tablo 4.6).

**Tablo 4.6.** Hücre kültürü çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin doğrusallık bulguları (n=6).

<b>Doğru Denklemi</b>	$y=15589x+149,6$
<b>Eğimin Standart Hatası</b>	3,4759757
<b>Kesişimin Standart Hatası</b>	26,957853
<b>Determinasyon Katsayısı (<math>R^2</math>)</b>	1,000
<b>Doğrusallık Aralığı (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	0,25-50
<b>Nokta Sayısı</b>	8
<b>LOD (<math>\text{ng/mL}</math>)</b>	176,78
<b>LLOQ (<math>\text{ng/mL}</math>)</b>	535,69

**Perfüzyon çalışmaları:** Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilin, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısının tayininde kullanılan analitik yöntemlerin doğrusallığı tanımlayıcılık (determinasyon) katsayısının 1'e yakınlığına göre değerlendirilmiştir. Regresyon analizi sonucu determinasyon katsayıları  $R^2 > 0,999$  olarak bulunmuş, konsantrasyon ve absorbans değerleri arasındaki ilişkinin doğrusal olduğu kabul edilmiştir (Şekil 4.9, Şekil 4.11, Şekil 4.13; Tablo 4.7).

**Tablo 4.7.** Perfüzyon çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilin, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısının tayininde kullanılan analitik yöntemin doğrusallık bulguları (n=6).

	<b>Rasajilin</b>	<b>Metoprolol Tartarat</b>	<b>Fenol Kırmızısı</b>
<b>Doğru Denklemi</b>	$y=15999x-12253$	$y=8228x-6762,8$	$y=11217x+1284,8$
<b>Eğimin Standart Hatası</b>	28,5011	22,6065	22,419
<b>Kesişimin Standart Hatası</b>	483,93	323,98	492,312
<b>Determinasyon Katsayısı (R<sup>2</sup>)</b>	0,9998	0,9997	0,9997
<b>Doğrusallık Aralığı (µg/mL)</b>	1-125	1-125	1-125
<b>Nokta Sayısı</b>	8	8	8
<b>LOD (ng/mL)</b>	142,11	157,84	149,20
<b>LLOQ (ng/mL)</b>	484,45	538,09	508,62

- **Doğruluk (Accuracy)**

**Hücre kültürü çalışmaları:** Rasajilin'in tayininde kullanılan analitik yöntemin doğruluğunu göstermek amacıyla düşük, orta, yüksek (2, 10, 50 µg/mL) olmak üzere üç farklı konsantrasyon düzeyinde yapılan çalışmalardan (Bölüm 3.3.1) edilen bulgular Tablo 4.8'de verilmiştir. Tüm konsantrasyon değerleri için OBH değerleri %3'ten küçük bulunmuştur.



**Tablo 4.8.** Hücre kültürü çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilinin tayininde kullanılan analitik yönteme ait doğruluk bulguları (n=6).

Eklenen Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ )			Tayin Edilen Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ )			% OBH		
2	10	50	1,952	10,020	49,991	-2,400	0,200	-0,018
2	10	50	1,938	10,061	49,993	-3,100	0,610	-0,014
2	10	50	1,956	10,082	50,010	-2,200	0,820	0,020
2	10	50	1,968	10,040	49,850	-1,600	0,400	-0,300
2	10	50	1,977	10,126	49,934	-1,150	1,260	-0,132
2	10	50	1,976	10,236	49,946	-1,200	2,360	-0,108
<b>Ortalama</b>			1,961	10,094	49,954	-1,942	0,942	-0,092
<b>SS</b>			0,015	0,079	0,059	0,763	0,785	0,118

**Perfüzyon çalışmaları:** Bağırsak perfüzyon çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilin, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısının tayininde kullanılan analitik yöntemlerin doğruluğunu göstermek amacıyla düşük, orta, yüksek (5, 50, 125  $\mu\text{g/mL}$ ) olmak üzere üç farklı konsantrasyon düzeyinde yapılan çalışmalardan (Bölüm 3.3.1) edilen bulgular Tablo 4.9-4.11’da verilmiştir. Tüm konsantrasyon değerleri için OBH değerleri %6’dan küçük bulunmuştur.

**Tablo 4.9.** Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemeye ait doğruluk bulguları (n=6).

Eklenen Konsantrasyon (µg/mL)			Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL)			% OBH		
5	50	125	5,142	49,411	125,177	2,838	-1,179	0,142
5	50	125	5,150	49,598	126,202	2,991	-0,805	0,962
5	50	125	5,149	49,373	126,860	2,980	-1,254	1,488
5	50	125	5,106	48,484	124,691	2,114	-3,032	-0,247
5	50	125	5,225	49,667	124,856	4,509	-0,667	-0,115
5	50	125	5,222	49,388	125,994	4,432	-1,225	0,795
Ortalama			5,166	49,320	125,630	3,311	-1,360	0,504
SS			0,048	0,427	0,855	0,955	0,854	0,684

**Tablo 4.10.** Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki metoprolol tartaratın tayininde kullanılan analitik yöntemeye ait doğruluk bulguları (n=6).

Eklenen Konsantrasyon (µg/mL)			Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL)			% OBH		
5	50	125	5,235	49,246	125,689	4,708	-1,508	0,551
5	50	125	5,312	50,080	127,008	6,236	0,161	1,607
5	50	125	5,236	49,483	127,032	4,717	-1,034	1,626
5	50	125	5,216	48,609	125,678	4,314	-2,783	0,542
5	50	125	5,230	49,271	126,535	4,598	-1,457	1,228
5	50	125	5,227	49,305	125,384	4,530	-1,390	0,307
Ortalama			5,243	49,332	126,221	4,851	-1,335	0,977
SS			0,035	0,473	0,729	0,695	0,946	0,583

**Tablo 4.11.** Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki fenol kırmızısının tayininde kullanılan analitik yöntemle ait doğruluk bulguları (n=6).

Eklenen Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ )			Tayin Edilen Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ )			% OBH		
5	50	125	5,135	49,973	126,058	2,710	-0,054	0,846
5	50	125	5,114	49,754	126,810	2,289	-0,492	1,448
5	50	125	5,102	49,492	127,263	2,030	-1,016	1,810
5	50	125	5,134	49,356	124,209	2,683	-1,288	-0,633
5	50	125	5,151	49,827	124,672	3,025	-0,346	-0,262
5	50	125	5,093	49,210	126,470	1,868	-1,581	1,176
Ortalama			5,122	49,602	125,914	2,434	-0,796	0,731
SS			0,022	0,296	1,217	0,445	0,592	0,973

- **Kesinlik (*Precision*)**

Hücre kültürü ve perfüzyon çalışmalarından elde edilen numunelerin analizi için kullanılan analitik yöntemin kesinliği tekrar edilebilirlik ve tekrar elde edilebilirlik çalışmalarından elde edilen bulgular doğrultusunda değerlendirilmiştir.

- **Tekrar Edilebilirlik (*Repeatability*)**

**Hücre kültürü çalışmaları:** hücre kültürü çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar edilebilirliği Bölüm 3.3.1’de belirtildiği gibi üç farklı konsantrasyon düzeyinde (2, 10 ve 50  $\mu\text{g/mL}$ ) incelenerek elde edilen bulgular Tablo 4.12’de verilmiştir. Çalışılan tüm konsantrasyon düzeyleri için VK değerlerinin %2’den küçük bulunması yöntemin tekrar edilebilirliğini göstermiştir (180).

**Perfüzyon çalışmaları:** Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilin, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısının tayininde kullanılan analitik yöntemlerin tekrar edilebilirliği Bölüm 3.3.1’de belirtildiği gibi üç farklı

konsantrasyon düzeyinde (5, 50, 125 µg/mL) incelenerek elde edilen bulgular Tablo 4.13-4.15’de verilmiştir. Çalışılan konsantrasyon düzeyleri için VK değeri %2’den küçük bulunması yöntemin tekrar edilebilirliğini göstermiştir (180).

**Tablo 4.12.** Hücre kültürü çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar edilebilirlik bulguları (n=6).

<b>Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>Pik Alanı</b>	<b>Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>Ortalama± SS</b>	<b>VK(%)</b>
<b>2</b>	30273	1,952	1,958 ± 0,008	0,426
	30441	1,962		
	30290	1,953		
	30368	1,958		
	30591	1,972		
	30249	1,950		
<b>10</b>	156050	10,020	10,033 ± 0,016	0,157
	156534	10,051		
	156020	10,018		
	156502	10,049		
	156029	10,019		
	156373	10,041		
<b>50</b>	779159	49,991	49,953 ± 0,079	0,159
	779450	50,010		
	779478	50,011		
	779165	49,991		
	777725	49,899		
	776418	49,815		

**Tablo 4.13.** Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar edilebilirlik bulguları (n=6).

<b>Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>Pik Alanı</b>	<b>Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>Ortalama± SS</b>	<b>VK(%)</b>
<b>5</b>	71093	5,209	5,231 ± 0,046	0,888
	70568	5,177		
	71730	5,249		
	72563	5,301		
	70841	5,194		
	71862	5,258		
<b>50</b>	787735	50,002	49,938 ± 0,079	0,158
	785828	49,883		
	786063	49,898		
	787879	50,011		
	784941	49,828		
	787820	50,008		
<b>125</b>	1990870	125,203	125,373 ± 0,300	0,239
	1991321	125,231		
	1998349	125,670		
	2000852	125,827		
	1991124	125,219		
	1989016	125,087		

**Tablo 4.14.** Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki metoprolol tartaratin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar edilebilirlik bulguları (n=6).

<b>Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>Pik Alanı</b>	<b>Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>Ortalama± SS</b>	<b>VK(%)</b>
<b>5</b>	36722	5,285	5,336 ± 0,047	0,886
	37518	5,381		
	37637	5,396		
	36703	5,282		
	37121	5,333		
	37158	5,338		
<b>50</b>	418048	51,627	51,559 ± 0,214	0,415
	416507	51,440		
	414726	51,224		
	418852	51,725		
	417129	51,516		
	419634	51,820		
<b>125</b>	1022541	125,092	125,414 ± 0,425	0,339
	1027050	125,640		
	1026331	125,552		
	1027385	125,680		
	1028480	125,813		
	1019387	124,708		

**Tablo 4.15.** Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki fenol kırmızısının tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar edilebilirlik bulguları (n=6).

Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ )	Pik Alanı	Tayin Edilen Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ortalama $\pm$ SS	VK(%)
5	58281	5,081	5,112 $\pm$ 0,042	0,812
	58627	5,112		
	59218	5,165		
	58878	5,135		
	57906	5,048		
	58810	5,128		
50	561363	49,931	49,821 $\pm$ 0,418	0,838
	567740	50,500		
	553952	49,271		
	556726	49,518		
	560899	49,890		
	560066	49,816		
125	1411476	125,719	125,534 $\pm$ 0,545	0,434
	1398068	124,524		
	1412164	125,780		
	1408016	125,411		
	1410704	125,650		
	1415937	126,117		

- **Tekrar Elde Edilebilirlik (Reproducibility)**

*Hücre kültürü çalışmaları:* hücre kültürü çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar elde edilebilirliği Bölüm 3.3.1’de belirtildiği gibi üç farklı konsantrasyon düzeyinde (2, 10, 50  $\mu\text{g/mL}$ ) incelenerek elde edilen bulgular Tablo 4.16’de verilmiştir. Çalışılan tüm

konsantrasyon düzeyleri için VK değerlerinin %2'den küçük bulunması yöntemin tekrar edilebilirliğini göstermiştir (180).

**Perfüzyon çalışmaları:** Rasajilin, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısının tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar elde edilebilirliği Bölüm 3.3.1'de belirtildiği gibi üç farklı konsantrasyon düzeyinde (5, 50, 125 µg/mL) incelenerek elde edilen bulgular Tablo 4.17-4.19'de verilmiştir. Çalışılan tüm konsantrasyon düzeyleri için VK değerlerinin %2'den küçük bulunması yöntemin tekrar elde edilebilirliğini göstermiştir (180).

**Tablo 4.16.** Hücre kültürü çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar elde edilebilirlik bulguları (n=6).

Konsantrasyon (µg/mL)	Pik Alanı	Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama ± SS	VK(%)
2	30174	1,945	1,960 ± 0,016	0,839
	30056	1,938		
	30341	1,956		
	30532	1,968		
	30666	1,977		
	30660	1,976		
10	156095	10,023	10,095 ± 0,078	0,772
	156698	10,061		
	157019	10,082		
	156370	10,040		
	157704	10,126		
	159423	10,236		
50	779215	49,995	49,955 ± 0,059	0,118
	779184	49,993		
	779461	50,010		
	776965	49,850		
	778276	49,934		
	778466	49,946		



**Tablo 4.17.** Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar elde edilebilirlik bulguları (n=3).

<b>Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>Pik Alanı</b>	<b>Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>Ortalama ± SS</b>	<b>VK(%)</b>
<b>5</b>	73011	5,329	5,384	0,909
	74517	5,423	±	
	74135	5,400	0,049	
<b>50</b>	778266	49,411	49,460	0,243
	781258	49,598	±	
	777663	49,373	0,120	
<b>125</b>	1990458	125,177	126,080	0,673
	2006856	126,202	±	
	2017387	126,860	0,848	

**Tablo 4.18.** Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki metoprolol tartarat tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar elde edilebilirlik bulguları (n=3).

<b>Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>Pik Alanı</b>	<b>Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>Ortalama ± SS</b>	<b>VK(%)</b>
<b>5</b>	37316	5,357	5,302	1,154
	36945	5,312	±	
	36320	5,236	0,061	
<b>50</b>	398451	49,246	49,603	0,867
	405318	50,080	±	
	400403	49,483	0,430	
<b>125</b>	1027459	125,689	126,577	0,607
	1038312	127,008	±	
	1038508	127,032	0,768	

**Tablo 4.19.** Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki fenol kırmızısı tayininde kullanılan analitik yöntemin tekrar elde edilebilirlik bulguları (n=3).

<b>Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>Pik Alanı</b>	<b>Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>Ortalama ± SS</b>	<b>VK(%)</b>
<b>5</b>	56889	4,957	4,969	1,046
	57653	5,025	±	
	56508	4,923	0,052	
<b>50</b>	561830	49,973	49,740	0,484
	559376	49,754	±	
	556435	49,492	0,241	
<b>125</b>	1415272	126,058	126,710	0,481
	1423716	126,810	±	
	1428794	127,263	0,609	

- **Duyarlılık (*Sensitivity*)**

Hücre kültürü çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin LOD değeri 176,78 ng/mL ve LLOQ değeri ise 535,69 ng/mL olarak bulunmuştur (Tablo 4.6)

Bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numunelerdeki rasajilinin tayininde kullanılan analitik yöntemin LOD değeri 142,11 ng/mL ve LLOQ değeri ise 484,45 ng/mL olarak, metoprolol tartarat için LOD değeri 157,84 ng/mL ve LLOQ değeri ise 538,09 olarak, fenol kırmızısı için LOD değeri 149,20 ve LLOQ değeri ise 508,62 olarak bulunmuştur (Tablo 4.7).

- **Dayanıklılık (Stability)**

Hücre kültürü ortamında rasajilinin analiz süresince dayanıklılığını göstermek amacıyla 24 saat süreyle 37°C’de yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular Tablo 4.20’de verilmiştir. Bu süre sonunda tayin edilen rasajilin VK’sının %2’den küçük olması rasajilinin 24 saat süreyle dayanıklı olduğunun bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir (180).

Bağırsak perfüzyonu ortamında rasajilin, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısının analiz süresince dayanıklılığını göstermek amacıyla 24 saat süreyle 37°C’de yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular Tablo 4.21-4.23’de verilmiştir. Bu süre sonunda tayin edilen tüm maddelerin VK’sının %2’den küçük olması 24 saat süreyle dayanıklı olduklarının bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir (180).

**Tablo 4.20.** Hücre kültürü ortamındaki rasajilinin analiz süresince dayanıklılığını göstermek amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular (n=3).

<b>Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>0. saat</b>	<b>12. saat</b>	<b>24. saat</b>	<b>Tayin Edilen Ortalama Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>SS</b>	<b>VK (%)</b>
<b>2</b>	1,938	1,930	1,926	1,931	0,006	0,305
<b>10</b>	10,061	10,033	10,009	10,034	0,026	0,262
<b>50</b>	49,993	49,681	49,626	49,766	0,198	0,397

**Tablo 4.21.** Bağırsak perfüzyonu ortamındaki rasajilinin analiz süresince dayanıklılığını göstermek amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular (n=3)

<b>Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>0. saat</b>	<b>12. saat</b>	<b>24. saat</b>	<b>Tayin Edilen Ortalama Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>SS</b>	<b>VK(%)</b>
<b>5</b>	5,086	5,112	5,122	5,107	0,019	0,369
<b>50</b>	50,279	50,540	50,826	50,548	0,274	0,542
<b>125</b>	125,537	126,395	126,718	126,217	0,611	0,484

**Tablo 4.22.** Bağırsak perfüzyonu ortamındaki metoprolol tartaratın analiz süresince dayanıklılığını göstermek amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular (n=3)

<b>Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>0. saat</b>	<b>12. saat</b>	<b>24. saat</b>	<b>Tayin Edilen Ortalama Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>SS</b>	<b>VK(%)</b>
<b>5</b>	5,361	5,215	5,181	5,253	0,096	1,821
<b>50</b>	49,765	48,579	50,132	49,492	0,812	1,640
<b>125</b>	123,690	125,274	124,618	124,527	0,796	0,639

**Tablo 4.23.** Bağırsak perfüzyonu ortamındaki fenol kırmızısının analiz süresince dayanıklılığını göstermek amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular (n=3)

<b>Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>0. saat</b>	<b>12. saat</b>	<b>24. saat</b>	<b>Tayin Edilen Ortalama Konsantrasyon (µg/mL)</b>	<b>SS</b>	<b>VK(%)</b>
<b>5</b>	5,029	4,971	5,100	5,033	0,065	1,284
<b>50</b>	48,766	49,792	49,662	49,407	0,558	1,130
<b>125</b>	126,806	126,632	125,741	126,393	0,571	0,452

## 4.2. Formülasyon Çalışmaları

### 4.2.1. Tozların Fiziksel Özelliklerinin Tayini

Hazırlanan toz karışımlarının (plasebo ODT ve rasajilin ODT) fiziksel özelliklerini tayin etmek amacıyla akış zamanı ve yığın açısı, görünür/vuruş hacmi ve dansitesi, Hausner oranı ve basılabilirlik indisi, nem içeriği Bölüm 3.4.3’de belirtildiği gibi tayin edilmiş, elde edilen bulgular Tablo 4.24’de verilmiştir.

**Tablo 4.24.** ODT formülasyonlarına ait tozlarının fiziksel özellikleri (n=3, Ortalama±SS).

Yapılan Kontroller	Görünür Hacim (mL)	Vuruş Hacmi (mL)	Görünür Dansite (g/mL)	Vuruş Dansitesi (g/mL)	Nem (%)	Yığın Açısı (°)	Hausner Oranı	Bastlabilirlik İndisi (%)
ODT 1	101,67±2,08	90,00±0,00	0,49±0,01	0,56±0,00	3,07±0,01	23,42±1,22	1,13±0,02	11,45±1,80
ODT 2	100,67±1,15	89,67±0,58	0,50±0,01	0,56±0,00	2,60±0,01	32,49±0,14	1,12±0,01	10,9±0,88
ODT 3	97,33±0,58	86,67±0,58	0,51±0,00	0,58±0,00	2,81±0,01	30,59±1,62	1,12±0,01	10,96±0,56
ODT 4	95,33±0,58	85,33±0,58	0,52±0,00	0,59±0,00	2,72±0,01	31,97±0,21	1,12±0,01	10,49±0,99
ODT 5	112,67±1,15	101,67±0,58	0,44±0,01	0,49±0,00	3,09±0,02	28,50±0,51	1,11±0,01	9,76±0,80
ODT 6	123,67±0,58	111,00±1,73	0,40±0,00	0,45±0,01	3,66±0,01	29,40±0,60	1,11±0,01	10,24±1,24
ODT 7	110,33±1,53	98,33±1,53	0,45±0,01	0,51±0,01	3,63±0,01	31,24±1,05	1,12±0,02	10,89±0,15
ODT 8	110,67±0,58	97,00±1,73	0,45±0,00	0,52±0,01	3,59±0,01	32,6±0,59	1,14±0,02	12,35±1,39
ODT 9	112,00±1,73	99,00±1,00	0,45±0,01	0,51±0,01	4,06±0,01	24,50±0,71	1,13±0,01	11,6±0,74
ODT 10	117,67±1,53	103,67±1,53	0,42±0,01	0,48±0,01	4,53±0,01	25,70±1,16	1,14±0,00	11,90±0,16
ODT 11	109,00±1,73	95,67±0,58	0,46±0,01	0,52±0,00	3,76±0,01	23,90±0,36	1,14±0,01	12,22±0,87
ODT 12	108,33±2,08	95,00±1,00	0,46±0,01	0,53±0,01	3,77±0,01	22,50±2,17	1,14±0,01	12,30±0,85
ODT 13	125,00±0,00	108,00±1,00	0,40±0,00	0,46±0,01	4,19±0,01	27,70±0,76	1,16±0,01	13,6±0,8
ODT 14	112,67±2,31	98,67±2,31	0,44±0,01	0,51±0,01	3,40±0,00	25,0±1,53	1,14±0,00	12,43±0,26
ODT 15	112,00±1,73	98,33±1,53	0,45±0,01	0,51±0,01	3,97±0,01	23,50±1,13	1,14±0,01	12,20±0,46
ODT 16	112,00±1,73	97,67±2,08	0,45±0,01	0,51±0,01	3,86±0,01	24,2±1,05	1,15±0,01	12,80±0,64
ODT 17	109,00±1,00	94,00±1,00	0,46±0,00	0,53±0,01	3,73±0,00	26,80±0,58	1,16±0,01	13,76±0,86

#### 4.2.2. Ağızda Dağılan Tabletlerde Yapılan Kontrol Testleri

- **Plasebo ODT'lerde Yapılan Kontrol Testleri**

Plasebo ODT'lerin kalite özelliklerini tayin etmek amacıyla çap, kalınlık, sertlik, ufalanma-aşınma, ıslanma zamanı- su absorpsiyon oranı ve dağılma zamanı Bölüm 3.4.4'de belirtildiği gibi yapılarak elde edilen bulgular Tablo 4.25 ve Şekil 4.26-4.31'de verilmiştir.

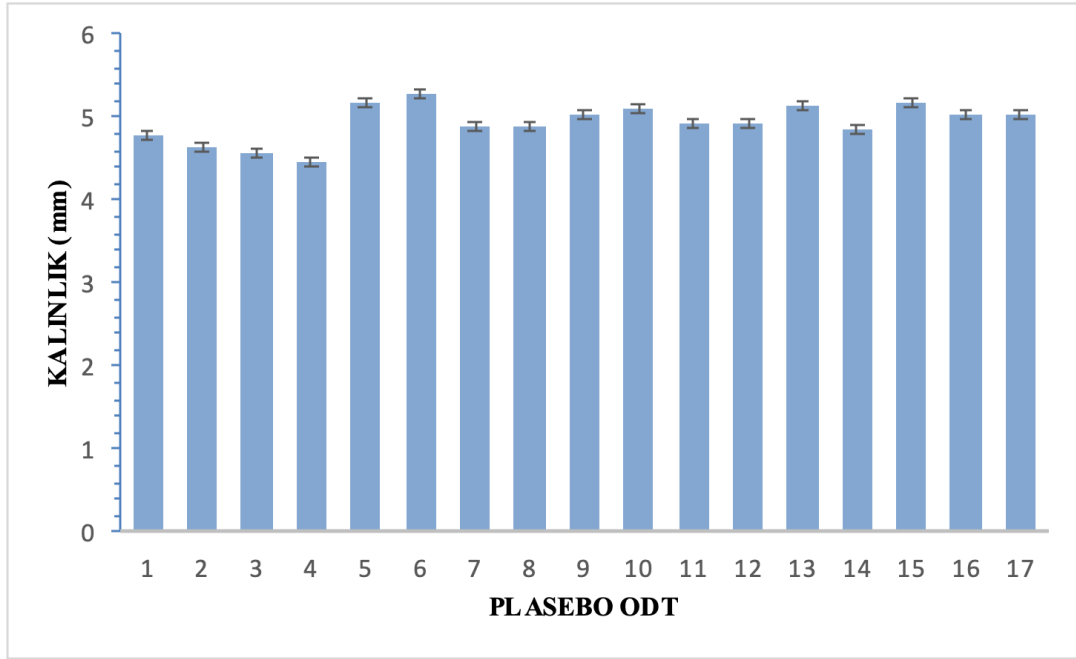
**Tablo 4.25.** Plasebo ODT’lerde yapılan kalite kontrol testlerine ait bulgular (Ortalama± SS).

Yapılan Kontroller	Kalınlık (mm) (n=10)	Çap (mm) (n=10)	Sertlik (N) (n=10)	Dağılma Süresi (sn) (n=6)	Islanma Süresi (sn) (n=3)	Su Absoplama Kapasitesi (%) (n=3)	Kırılgenlık (%)
ODT 1	4,77± 0,08	7,75± 0,04	41,48± 1,96	25,34± 7,66	44,7± 7,62	216,75± 4,91	0,59
ODT 2	4,65± 0,12	7,75± 0,03	36,02± 2,84	19,83± 0,68	24,4± 3,94	181,29± 9,68	0,78
ODT 3	4,55± 0,05	7,79± 0,05	35,79± 5,97	22,22± 0,63	38,24± 0,76	157,82± 8,67	0,78
ODT 4	4,46± 0,06	7,76± 0,06	40,13± 7,97	26,96± 1,24	34,96± 5,40	225,52± 3,92	0,61
ODT 5	5,17± 0,09	7,77± 0,06	34,61± 4,36	11,72± 1,51	17,91± 1,14	203,49± 5,51	1,12
ODT 6	5,29± 0,04	7,75± 0,04	37,55± 3,07	14,66± 1,40	15,01± 0,82	221,91± 4,65	1,02
ODT 7	4,90± 0,04	7,74± 0,01	24,10± 2,65	17,35± 1,94	27,43± 4,69	214,02± 3,20	0,57
ODT 8	4,89± 0,08	7,72± 0,02	22,34± 4,05	19,02± 1,65	28,80± 1,42	224,86± 15,28	0,60
ODT 9	5,03± 0,01	7,73± 0,01	24,09± 1,24	10,56± 0,96	16,55± 1,15	232,93± 9,29	0,66
ODT 10	5,11± 0,01	7,73± 0,01	25,08± 1,28	10,97± 0,68	15,10± 0,70	251,83± 15,03	0,57
ODT 11	4,93± 0,01	7,72± 0,01	26,25± 2,43	13,53± 0,41	20,81± 2,17	245,18± 5,85	0,57
ODT 12	4,94± 0,02	7,70± 0,01	23,4± 1,50	15,20± 0,73	22,36± 1,56	214,20± 3,80	0,72
ODT 13	5,13± 0,01	7,70± 0,01	24,94± 1,08	17,27± 0,79	19,63± 1,07	218,57± 4,79	0,75
ODT 14	4,85± 0,01	7,71± 0,01	23,71± 1,04	19,06± 0,86	22,45± 2,07	196,52± 7,12	0,79
ODT 15	5,18± 0,01	7,72± 0,01	18,30± 0,92	10,14± 0,78	17,98± 1,18	214,16± 6,10	1,13
ODT 16	5,02± 0,03	7,71± 0,01	21,86± 1,71	13,71± 0,12	20,28± 1,57	213,69± 11,36	0,77
ODT 17	5,02± 0,01	7,71± 0,01	21,08± 1,29	15,56± 0,12	26,96± 1,06	242,89± 7,71	1,00

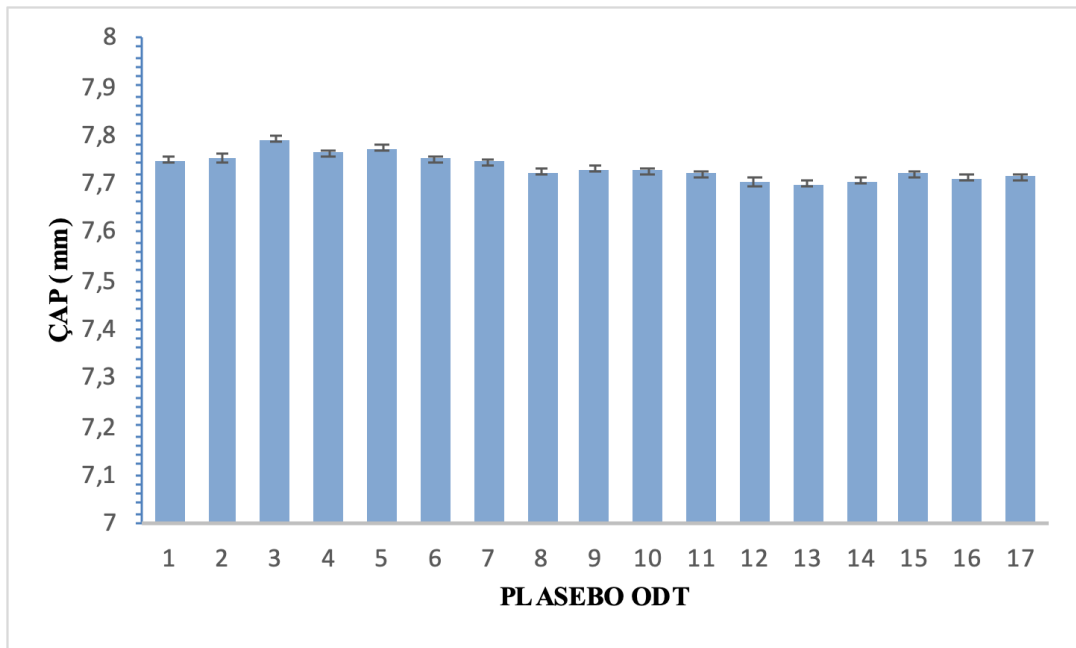
- **Çap ve Kalınlık ve Sertlik Tayini**

Plasebo ODT tabletlerinin çap, kalınlık ve sertlik ölçümlerine ait sonuçlar Tablo 4.25 ve Şekil 4.26-4.28’de verilmiştir. Farklı ODT’lerde çap ve kalınlık değerleri oldukça benzer bulunmuş, sertlik değerleri 18,3-41,5 N arasında değişmiştir.

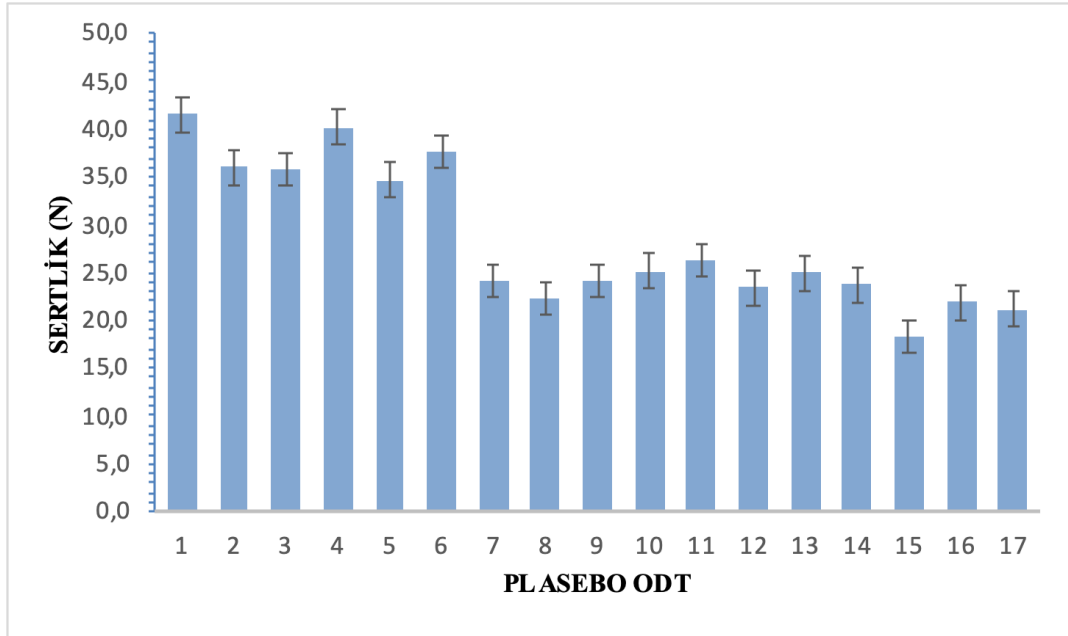




Şekil 4.26. Plasebo ODT'lere ait kalınlık ölçüm sonuçları (ortalama  $\pm$ SS; n=10).



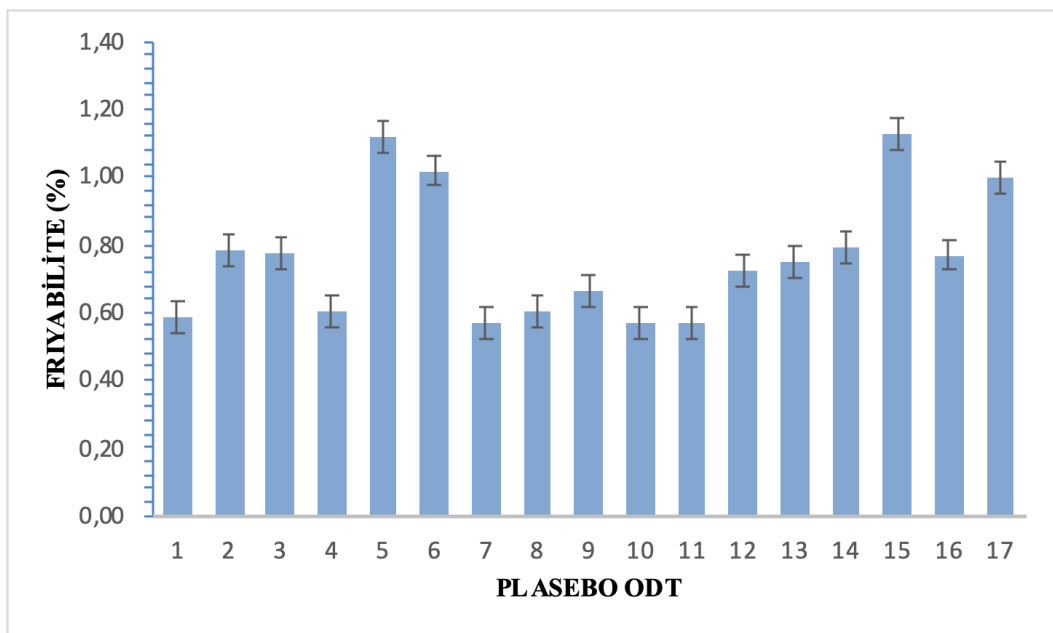
Şekil 4.27. Plasebo ODT'lere ait çap ölçüm sonuçları (ortalama  $\pm$ SS; n=10).



**Şekil 4.28.** Plasebo ODT'lere ait sertlik analiz sonuçları (ortalama  $\pm$ SS; n=10).

- *Ufalanma- Aşınma-Kırılgenlık (Friability) Tayini*

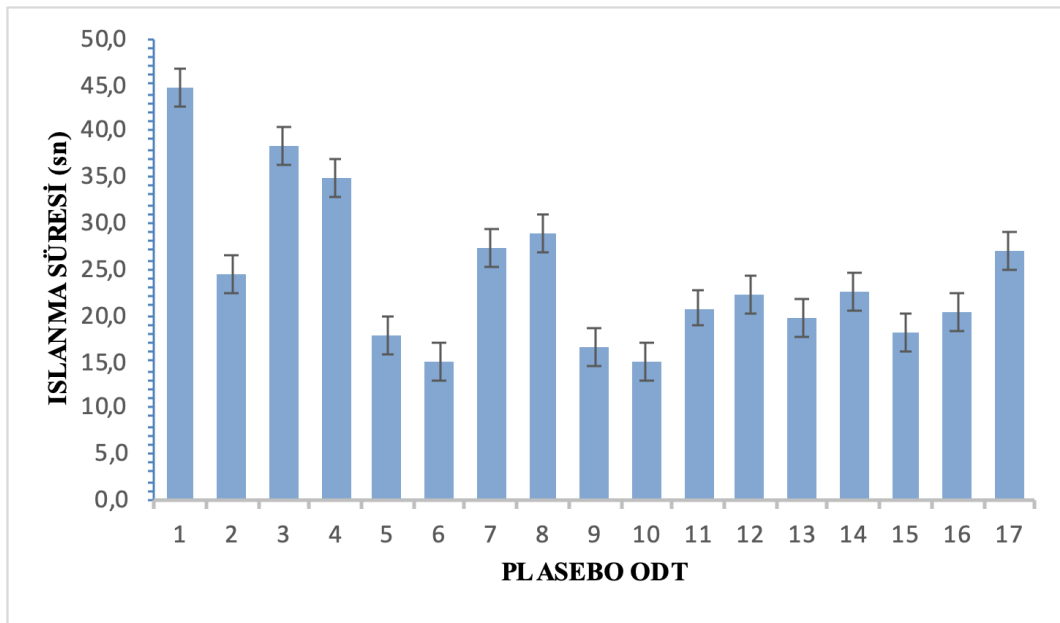
Plasebo ODT'lerin ufalanma- aşınma-kırılgenlık ölçümlerine ait sonuçlar Tablo 4.25 ve Şekil 4.29'da verilmiştir. ODT5, ODT6, ODT15 ve ODT17 tabletlerinde %1'den fazla aşınma olduğu için kırılgenlık testini geçememişlerdir.



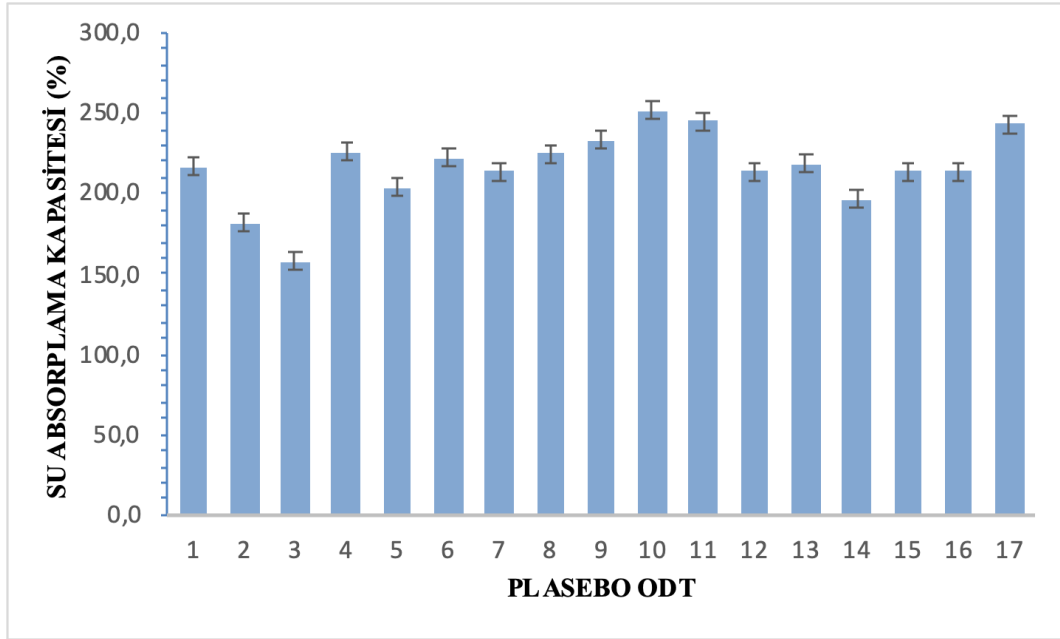
**Şekil 4.29.** Plasebo ODT'lere ait friabilite analiz sonuçları (ortalama  $\pm$ SS)

- *Islanma Zamanı ve Su Absorpsiyon Oranı (R)*

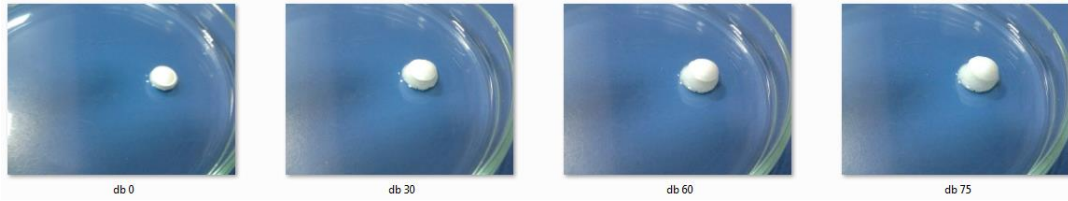
Plasebo ODT'lerin ıslanma zamanı ve su absorpsiyon oranlarına ait bulgular Tablo 4.25, ve Şekil 4.30- Şekil 4.31'de verilmiştir. Bir ODT'nin zamana bağlı olarak (0-75sn) ıslanmasını ve su absorplamasını gösteren görseller Şekil 4.32'de verilmiştir. Plasebo ODT'lerin ıslanma süreleri 15,01 sn ile 44,7 sn arasında, su absorplama kapasiteleri % 157,82-251,8 arasında değişmiştir.



**Şekil 4.30.** Plasebo ODT'lere ait ıslanma süreleri analiz sonuçları (ortalama  $\pm$ SS; n=3).



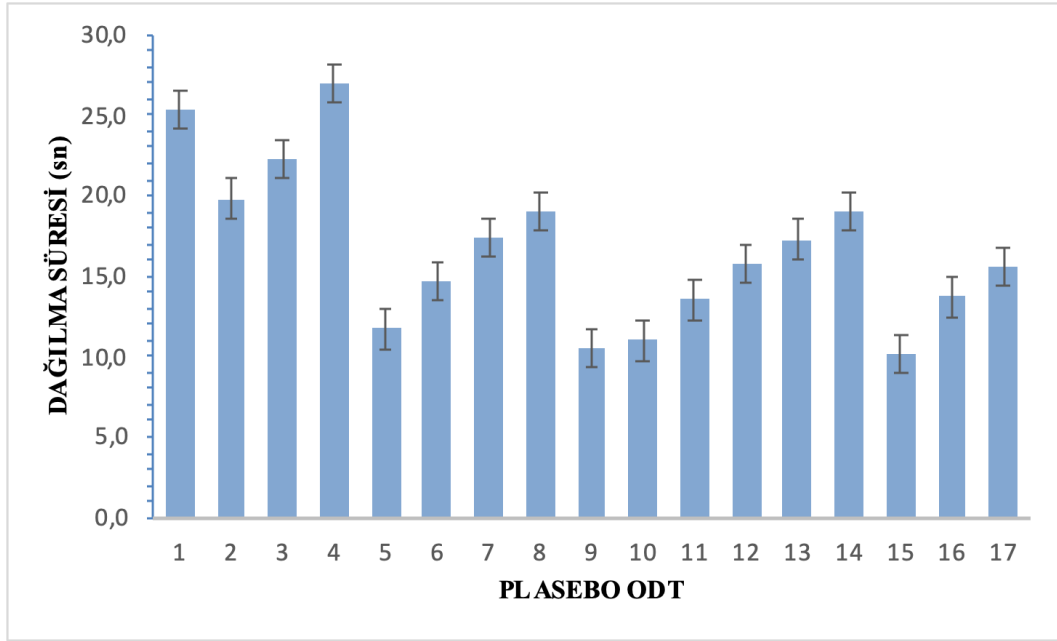
**Şekil 4.31.** Plasebo ODT'lere ait su absorplama kapasitesi analiz sonuçları (ortalama  $\pm$ SS; n=3)



**Şekil 4.32.** Plasebo ODT'nin zamana bağlı olarak (0-75sn) ıslanma ve su absorpsiyonunu gösteren görseller.

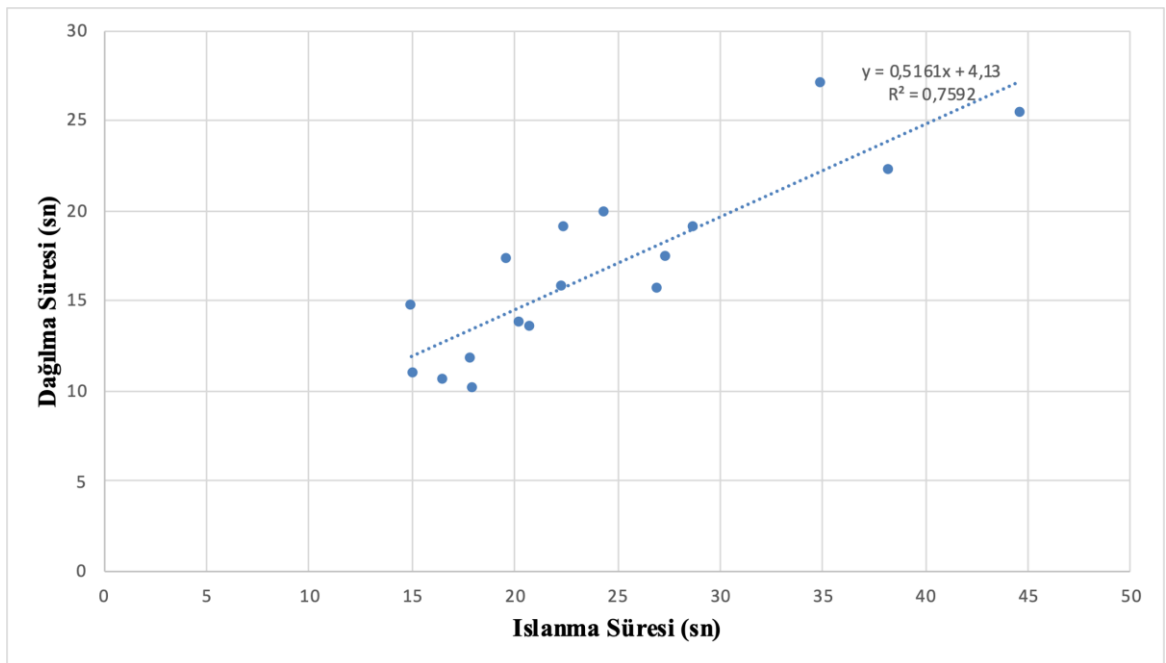
- ***Dağılma Süresi Tayini***

Plasebo ODT'lerin dağılma zamanına ait bulgular Tablo 4.25, ve Şekil 4.33'de verilmiştir. Tüm ODT'le 30 saniyeden daha kısa bir süre içerisinde dağılmıştır.



Şekil 4.33. Plasebo ODT'lerin dağılma zamanına ait sonuçlar (ortalama  $\pm$ SS; n=6)

Geliştirilen ODT'lerin dağılma ve ıslanma zamanları arasındaki korelasyon Şekil 4.34'de verilmiştir. Islanma süresi arttıkça dağılma zamanının da arttığı gözlenmiştir.



Şekil 4.34. Geliştirilen ODT'lerin dağılma zamanı ve ıslanma zamanı arasındaki ilişki.

- **Optimum Formülasyonda Gerçekleştirilen Çalışmalar**

Plasebo ODT toz karışımlarının fiziksel özellikleri ve Plasebo ODT'lerin kalite kontrol testlerinden elde edilen sonuçlar doğrultusunda, optimum formülasyon olarak seçilen ODT-9, rasajilin ilave edilerek hazırlanmıştır (ODT-9R). ODT-9R toz karışımının fiziksel özellikleri (akış zamanı, yığın açısı, görünür/vuruş hacmi, görünür/vuruş dansitesi, nem içeriği) ve ODT-9R tabletin kalite kontrol testleri (çap, kalınlık, sertlik, friabilite, dağılma, ıslanma zamanı ve su absorpsiyon oranı) Bölüm 3.4'de belirtildiği gibi yapılmıştır. İlave olarak hem ODT-9 hem de ODT-9R için FT-IR analizleri gerçekleştirilmiştir. İçerik tekdüzeliği ve çözünme hızı çalışmaları sadece ODT-9R için gerçekleştirilmiştir.

Plasebo ve rasajilin içeren ODT formülasyonlarına ait toz kontrolleri ve tabletlerin kalite kontrol analizlerine ait bulgular Tablo 4.26'de verilmiştir. Optimum formülasyona rasajilin eklendiğinde tozlarda ve tabletlerde yapılan analiz sonuçları benzer bulunmuştur. İki formülasyon arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

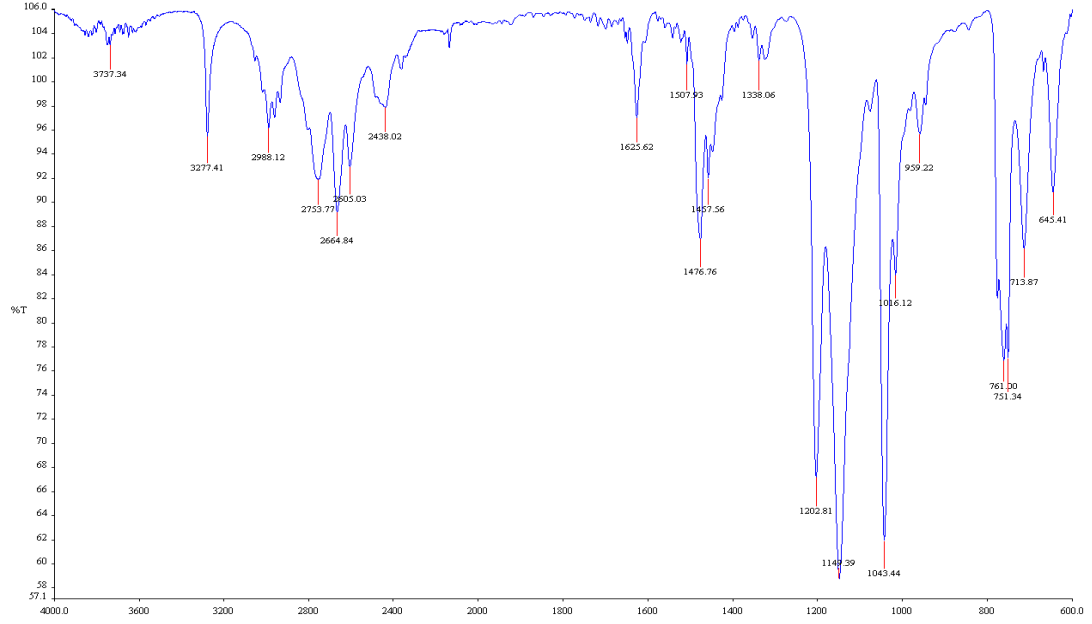
**Tablo 4.26.** ODT-9 ve ODT-9R'nin toz kontrolleri ve tablet kontrolleri

Formülasyonlar	ODT-9 (plasebo ODT)		ODT-9R (rasajilinli ODT)	
<b>Toz Kontrolleri</b>				
	Ortalama	SS	Ortalama	SS
Görünür Hacim (mL) (n=3)	112	1,73	113	1,73
Vuruş Hacmi (mL) (n=3)	99	1,00	99	1,16
Görünür Dansite (g/mL) (n=3)	0,45	0,01	0,44	0,01
Vuruş Dansitesi (g/mL) (n=3)	0,51	0,01	0,51	0,01
Nem (%)	4,06	0,00	4,00	0,00
Yığın Açısı (°) (n=6)	24,5	0,707	22,0	0,62
Hausner Oranı (n=6)	1,13	0,01	1,15	0,01
Basılabilirlik İndisi (%) (n=6)	11,60	0,74	12,68	0,31
<b>Tablet Kontrolleri</b>				
	Ortalama	SS	Ortalama	SS
Kalınlık (mm) (n=10)	5,03	0,01	5,17	0,01
Çap (mm) (n=10)	7,73	0,01	7,72	0,01
Sertlik (N) (n=10)	24,09	1,24	22,4	2,08
Dağılma Süresi (n=6)	10,56	0,96	10,67	1,04
Islanma Süresi (s) (n=6)	16,56	1,15	17,01	1,88
Su Absorplama Kapasitesi (%) (n=6)	232,93	2,29	266,67	1,84
Friyabilite (%)	0,66	0,00	0,93	0,00
Ağırlık Sapması (n=20)	210,29	1,14	210,06	0,65
İçerik tek düzeliği (%) (n=10)	-	-	101,7	4,8

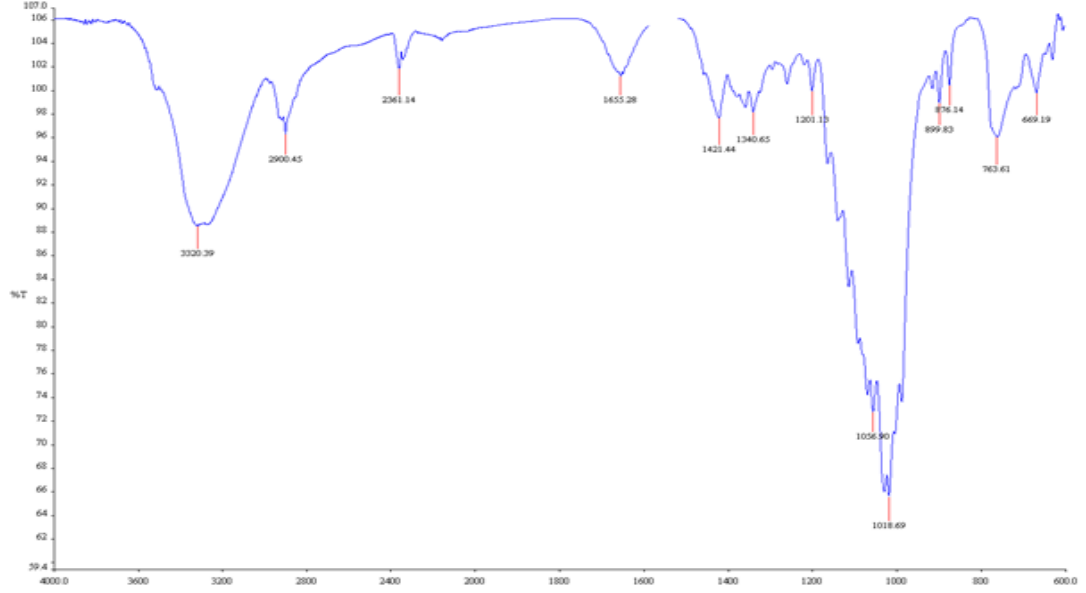
- **Fourier-transform İnfrared Spektroskopisi (FT-IR)**

Rasajilin mesilat, plasebo (ODT-9) ve rasajilin içeren ODT (ODT-9R)'ın IR spektralleri Şekil 4.35- Şekil 4.37'da verilmiştir. Rasajilin FT-IR spektrumun

literatürle uyumlu olduğu bulunmuştur (181). Eksipiyaların varlığında rasajilinin FT-IR spektrumunun plasebo ODT'ye oldukça benzer olduğu gösterilmiştir.

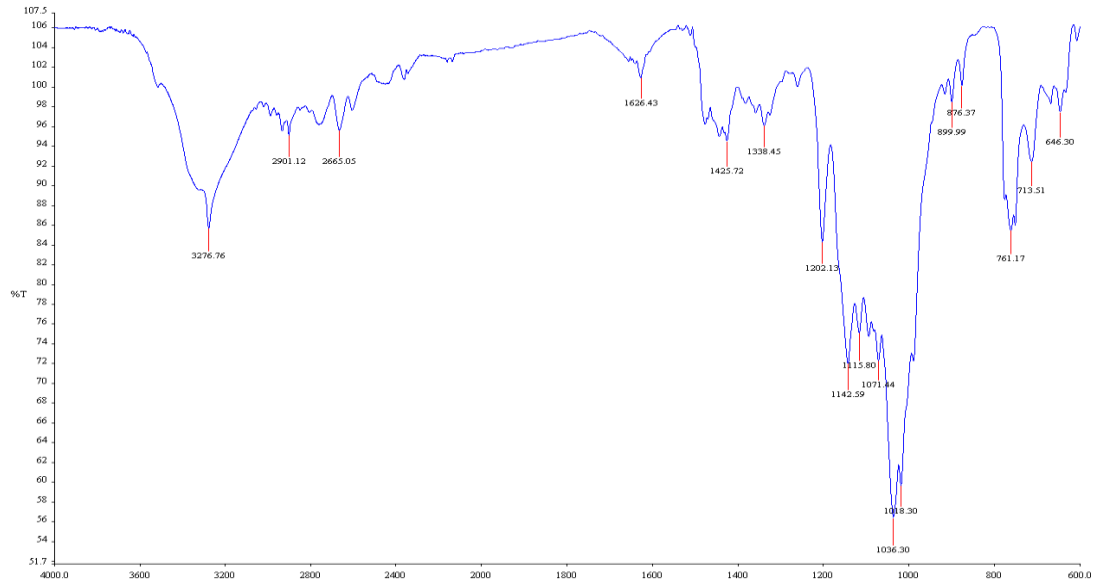


Şekil 4.35. Rasajilin mesilata ait FT-IR spektrumu.



Şekil 4.36. Plasebo ODT-9'a ait FT-IR spektrumu.





**Şekil 4.37.** Rasajilin içeren ODT-9R'a ait FT-IR spektrumu.

- **İçerik Tekdüzeligi**

Rasajilin içeren ODT (ODT-9R)'nin içerik tekdüzeligi Bölüm 3.4.4'te belirtildiği gibi yapılarak analiz sonucu Tablo 4.26'de verilmiştir. Hesaplamalar sonucunda içerik tekdüzeligi %101,7 olarak bulunmuştur.

- **Çözünme Hızı Tayini**

Rasajilin içeren optimum ODT (ODT-9R)'nin çözünme hızı çalışmaları üç farklı ortamda (distile su, 0,1N HCl, pH 6,8 fosfat tamponu) gerçekleştirilerek elde edilen bulgular Tablo 4.27-Tablo 4.29'de, çözünme hızı profilleri Şekil 4.38'de verilmiştir. Tüm ortamlarda ilk 5 dakikada rasajilin yaklaşık %100'ü çözülmüştür.

**Tablo 4.27.** Distile su ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı çalışmasına ait bulgular.

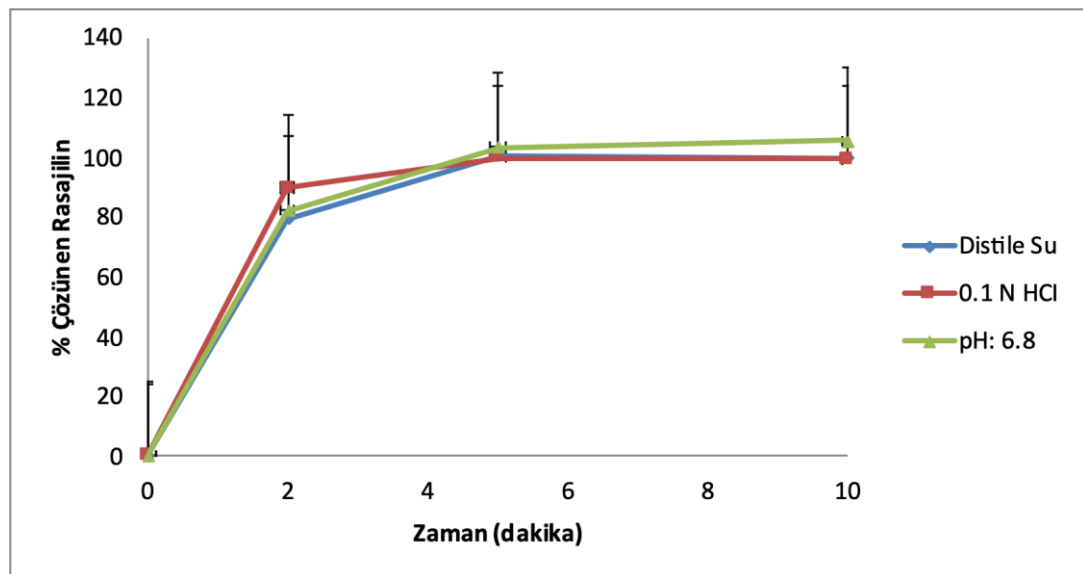
	% Çözünen (Distile Su)				
	(500 mL, 50 rpm, Aparat 2-pedal)				
	2 dk	5dk	10dk	15dk	20dk
<b>1</b>	62,1	98,9	99,8	106,8	105,6
<b>2</b>	106,3	103,6	101,4	103,4	104,6
<b>3</b>	85,8	102,3	105,2	97,3	104,0
<b>4</b>	63,7	88,2	84,7	88,06	84,01
<b>5</b>	70,6	95,7	100,7	99,6	113,1
<b>6</b>	88,7	115,5	108,9	113,1	110,5
<b>Ortalama</b>	79,5	100,7	100,1	101,5	101,3
<b>SS</b>	17,2	9,1	8,3	8,4	9,2
<b>RSD</b>	21,6	9,06	8,26	8,29	9,08

**Tablo 4.28.** 0,1N HCl ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı çalışmasına ait bulgular.

	% Çözünen (0,1 N HCl)				
	(500 mL, 50 rpm, Aparat 2-pedal)				
	2 dk	5dk	10dk	15dk	20dk
<b>1</b>	67,3	97,1	100,3	100,7	99,3
<b>2</b>	83,5	95,8	95,1	94,7	96,0
<b>3</b>	96,3	100,9	100,7	98,5	99,7
<b>4</b>	88,7	95,9	93,7	90,7	93,2
<b>5</b>	107,4	108,3	106,5	109,9	113,4
<b>6</b>	95,9	101,9	101,0	100,5	101,5
<b>Ortalama</b>	89,8	100,0	99,5	99,2	100,5
<b>SS</b>	13,7	4,8	4,6	6,5	7,0
<b>RSD</b>	15,21	4,82	4,64	6,57	6,93

**Tablo 4.29.** pH 6,8 fosfat tamponu ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı çalışmasına ait bulgular.

	% Çözünen (pH 6,8 Fosfat Tamponu) (500 mL, 50 rpm, Aparat 2-pedal)				
	2 dk	5dk	10dk	15dk	20dk
<b>1</b>	61,5	97,5	102,5	100,8	102,7
<b>2</b>	103,4	121,8	123,7	124,5	122,0
<b>3</b>	68,6	100,1	102,5	104,3	105,2
<b>4</b>	89,8	103,3	102,3	103,4	105,8
<b>5</b>	95,5	110,3	113,5	112,4	114,8
<b>6</b>	76,0	88,8	88,7	90,2	91,3
<b>Ortalama</b>	82,5	103,6	105,5	105,9	107,0
<b>SS</b>	16,3	11,4	11,9	11,6	10,5
<b>RSD</b>	19,80	10,96	11,23	10,94	9,85



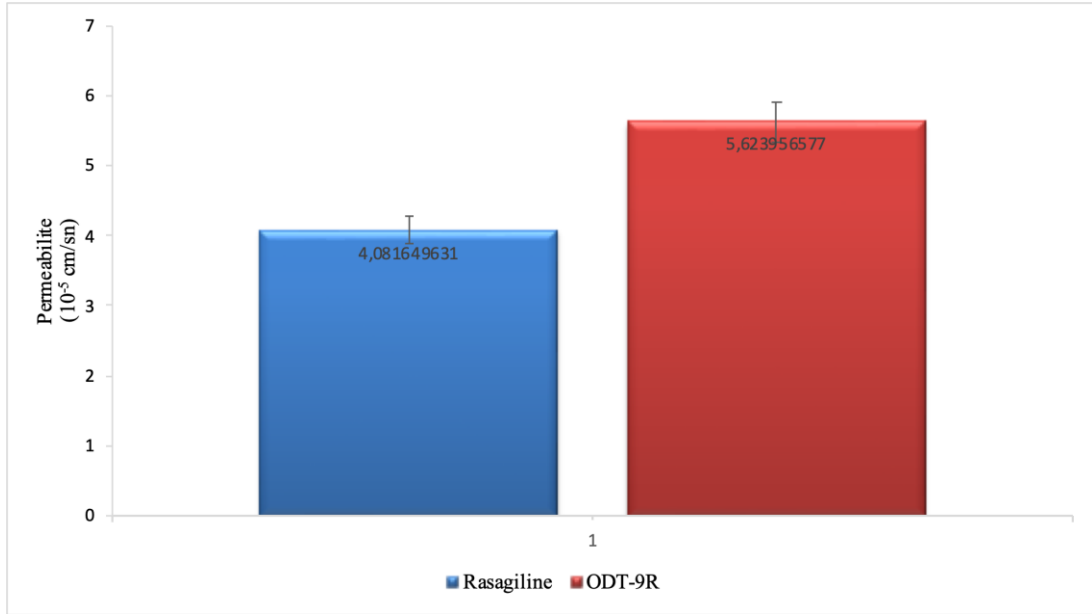
**Şekil 4.38.** ODT-9R formülasyonunun üç farklı ortamdaki çözünme hızı profilleri (ortalama  $\pm$  SS; n=6).

### 4.3. Hücre Kültürü Çalışmaları

Rasajilin ve rasajilin içeren ODT-9R formülasyonunun Caco-2 hücre hattında apikal kompartmandan bazolateral kompartmanına doğru permeabilitesi Bölüm 3.5’de belirtildiği gibi yapılarak elde edilen bulgular Tablo 4.30 ve Şekli 4.39’de verilmiştir. Rasajilin’in permeabilitesi ODT formülasyonunda yer alan eksipyanların varlığında istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır ( $p<0,05$ ).

**Tablo 4.30.** Rasajilin ve rasajilin içeren ağızda dağılan tablet formülasyonunun (ODT-9R) Caco-2 hücre hattında apikalden bazolaterale doğru permeabilite bulguları.

	<b>Papp (cm/sn) (x10<sup>-5</sup>)</b>	
	<b>Rasajilin</b>	<b>ODT-9R</b>
<b>1</b>	4,204	5,796
<b>2</b>	3,607	5,145
<b>3</b>	4,514	4,842
<b>4</b>	4,709	5,401
<b>5</b>	3,782	5,466
<b>6</b>	3,674	7,094
<b>Ortalama</b>	4,082	5,624
<b>SS</b>	0,464	0,788



**Şekil 4.39.** Rasajilin ve rasajilin içeren ağızda dağılan tablet formülasyonunun (ODT-9R) Caco-2 hücre hattında apikalden bazolaterale doğru permeabilite bulguları (ortalama  $\pm$ SS; n=6)

#### 4.4. Organ Perfüzyonu Çalışmaları

##### 4.4.1. *In situ* Üçlü Bağırsak Perfüzyonu Çalışmaları

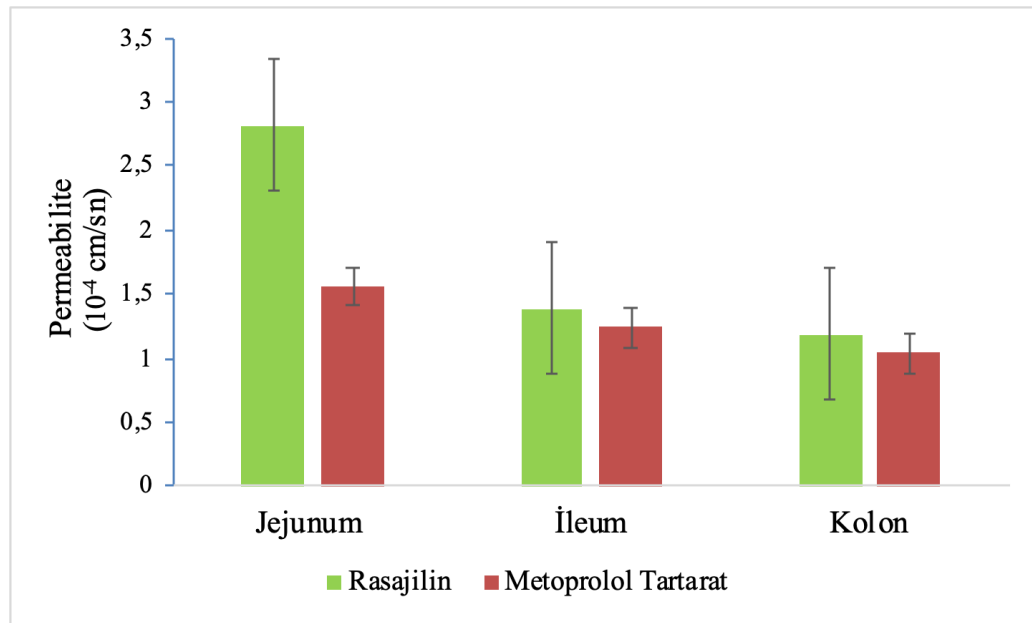
Rasajilin, rasajilin içeren ağızda dağılan tablet formülasyonu ve metoprolol tartaratin (yüksek permeabilite ajanı) farklı bağırsak segmentlerinden (jejunum, ileum, kolon) permeabilitesi Bölüm 3.6.1’de belirtildiği gibi yapılmış, elde edilen bulgular Tablo 4.31 ve Şekil 4.40-Şekil 4.43’de verilmiştir. Rasajilin ile metoprolol tartaratin permeabilite değerleri arasında (Şekil 4.40) istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ). Bunun aksine ODT-9R ile metoprolol tartaratin permeabilite değerleri (Şekil 4.41) arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark elde edilmiştir ( $p<0,05$ ).

Rasajilinin permeabilite değerleri jejunum, ileum ve kolon için sırasıyla  $2,81 \times 10^{-4}$  cm/sn,  $1,39 \times 10^{-4}$  cm/sn ve  $1,19 \times 10^{-4}$  cm/sn olarak hesaplanmıştır. Tablet formülasyonu içinde ise bu değerler sırasıyla  $3,73 \times 10^{-4}$  cm/sn,  $5,89 \times 10^{-4}$  cm/sn ve

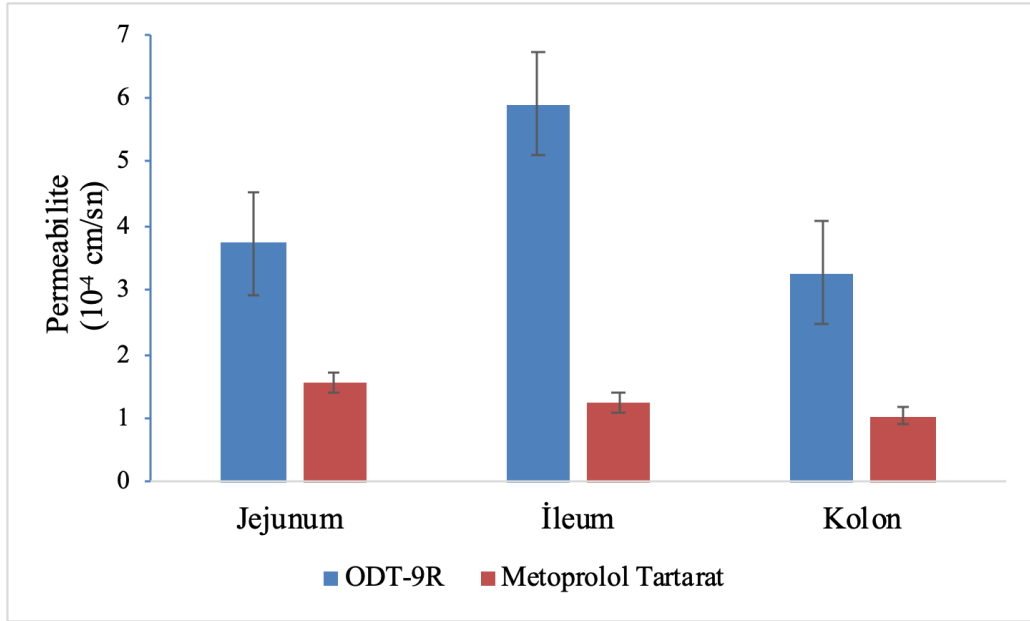
$3,27 \times 10^{-4}$  cm/sn olarak artış göstermiştir. Yani geliştirilen tablet formülasyonu ile rasajilin permealitesinde ciddi bir artış sağlanmıştır.

**Tablo 4.31.** Metoprolol tartarat, rasajilin ve rasajilin içeren tablet formülasyonunun farklı bağırsak segmentlerinden permealite değerleri (ortalama  $\pm$  SS; n=6).

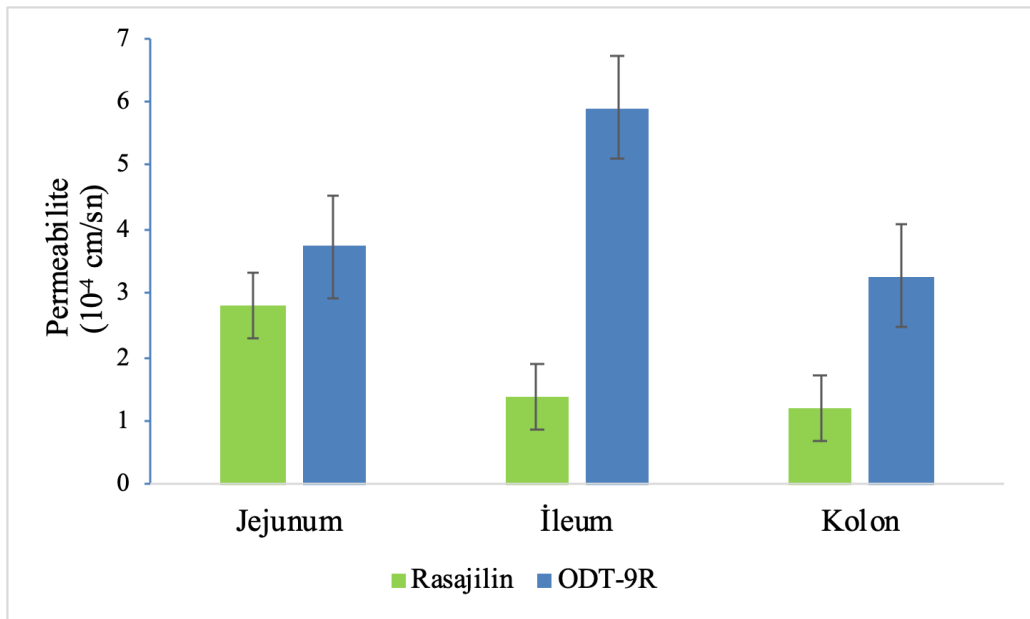
Bağırsak Segmenti	$P_{eff}$ (cm/sn)		
	Metoprolol Tartarat	Rasajilin	ODT-9R
Jejunum	$1,56 \times 10^{-4} \pm 1,63 \times 10^{-5}$	$2,81 \times 10^{-4} \pm 3,01 \times 10^{-5}$	$3,73 \times 10^{-4} \pm 4,93 \times 10^{-5}$
İleum	$1,24 \times 10^{-4} \pm 1,37 \times 10^{-5}$	$1,39 \times 10^{-4} \pm 1,48 \times 10^{-5}$	$5,89 \times 10^{-4} \pm 11,46 \times 10^{-5}$
Kolon	$1,19 \times 10^{-4} \pm 0,97 \times 10^{-5}$	$1,19 \times 10^{-4} \pm 1,14 \times 10^{-5}$	$3,27 \times 10^{-4} \pm 2,50 \times 10^{-5}$



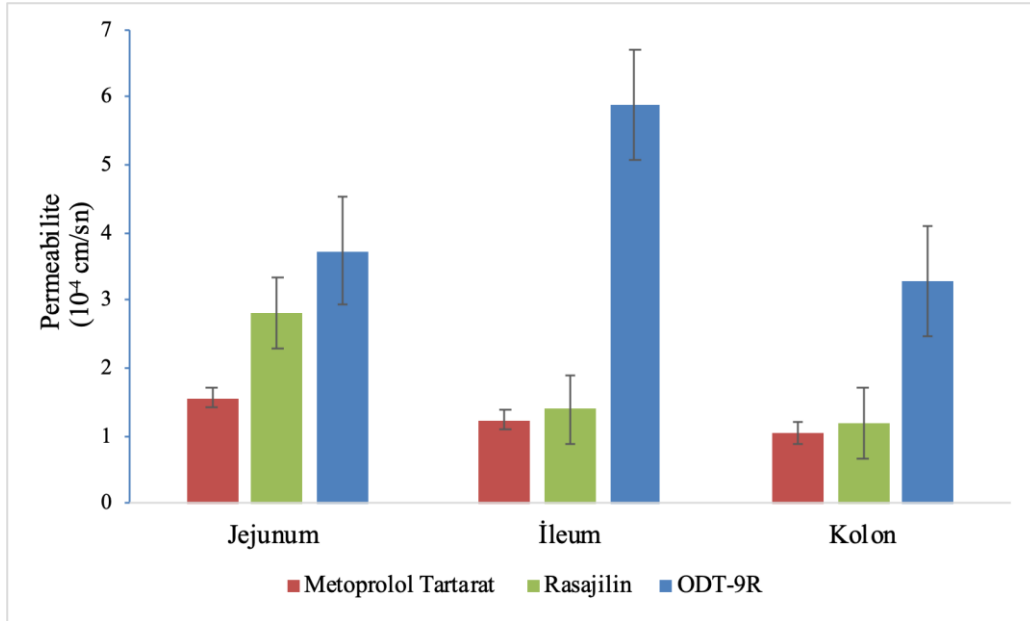
**Şekil 4.40.** Rasajilin ve metoprolol tartaratin farklı bağırsak segmentlerindeki (ileum, jejunum ve kolon) permealitesi (ortalama  $\pm$  SS; n=6).



**Şekil 4.41.** Metoprolol tartarat ve rasajilin içeren ODT-9R'ın farklı bağırsak segmentlerindeki (ileum, jejunum ve kolon) permeabilitesi (ortalama±SS; n=6).



**Şekil 4.42.** Rasajilin ve rasajilin içeren ODT-9R'ın farklı bağırsak segmentlerindeki (ileum, jejunum ve kolon) permeabilitesi (ortalama±SS; n=6).



**Şekil 4.43.** Metoprolol tartarat, rasajilin ve rasajilin içeren ODT-9R'ın farklı bağırsak segmentlerindeki (ileum, jejunum ve kolon) permeabilitesi (ortalama±SS; n=6).

Rasajilin ve rasajilin ODT (ODT-9R) ile yapılan bağırsak perfüzyonu deneylerinde her bir segment için hesaplanan net su akışı değerleri Tablo 4.32'de verilmiştir.

**Tablo 4.32.** Rasajilin ve rasajilin içeren ODT-9R için net su akış değerleri ( $\mu\text{L}/\text{dk}/\text{cm}$ , n=6).

	Net Su Akış Değeri $\times 10^{-5}$			
	Rasajilin		ODT-9R	
	Ortalama	SS	Ortalama	SS
<b>Jejunum</b>	7,79	1,97	-39,1	18,1
<b>İleum</b>	2,22	5,03	8,9	0,802
<b>Kolon</b>	1,29	14,8	18,2	4,04



#### 4.4.2. *In Situ* Karaciğer Perfüzyonu Çalışmaları

Rasajilin ve referans maddelerin (eritrosit ve Evans mavisi) ayrı ayrı bolus dozda portal vene enjeksiyonu sonrası tayin edilen farmakokinetik parametreler Tablo 4.33 ve Tablo 4.34’de, hepatik dilüsyon profilleri Şekil 4.44-Şekil 4.46’da verilmiştir.

Eritrosit (vasküler hacim referansı) ve Evans mavisi (ekstraselüler hacim referans ajanı) ile karşılaştırıldığında, rasajilin karaciğerde daha geniş bir alana dağılmış, hepatik ekstraksiyonu  $0,404 \pm 0,060$ , hepatik klerensi ise  $0,101 \pm 0,015$  mL/sn olarak tayin edilmiştir.

**Tablo 4.33.** Eritrosit ve Evans Mavisinin hepatik portal vene bolus dozda enjeksiyonundan sonra tayin edilen farmakokinetik parametreler (ortalama  $\pm$  SS; n=3-4).

	<b>Eritrosit</b>	<b>Evans Mavisi</b>
<b>Tmaks (sn)*</b>	5,25	5,25
<b>MTT (sn)</b>	$6,275 \pm 1,574$	$10,479 \pm 1,717$
<b>VH (mL)</b>	$1,569 \pm 0,393$	$2,620 \pm 0,429$
<b>VH (mL/g)</b>	$0,1593 \pm 0,0364$	$0,2608 \pm 0,0733$
<b>VT (mL)**</b>	$7,7312 \pm 1,1426$	
<b>VT (mL/g)</b>	$0,773 \pm 0,1143$	
<b>Vint (mL)***</b>	0.691	
<b>Vint (mL/g)</b>	0.0691	
<b>Vintra***</b>	5.112	
<b>Vintra (ml/g)****</b>	0,5112	

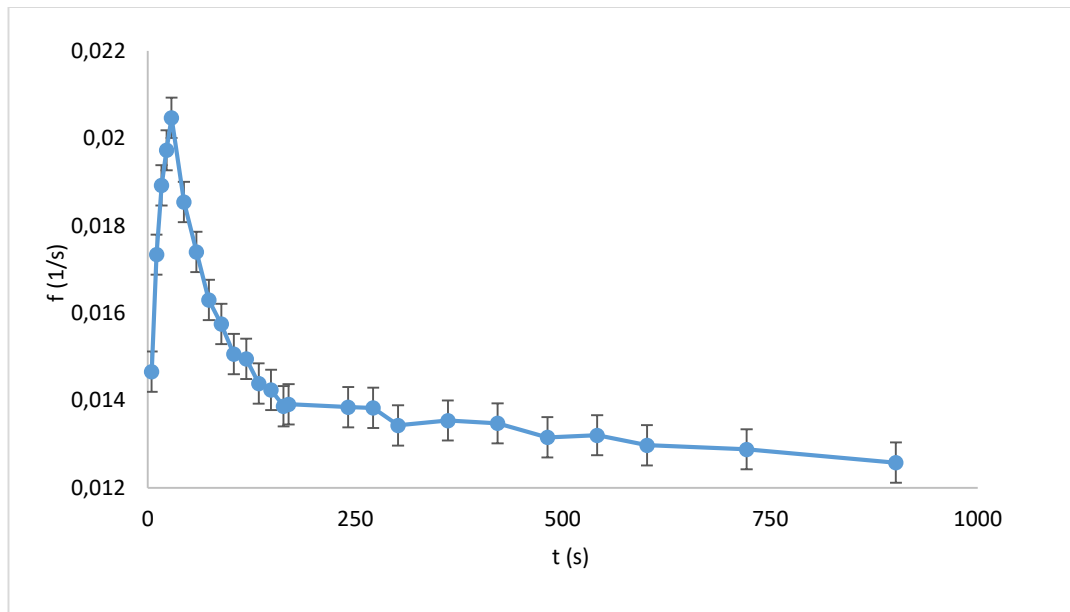
\*Median;\*\*Kurutma yöntemiyle tayin edilmiştir

\*\*\* Vint: interstisyel hacim ( $=V_{EB}-V_{RBC}$ ); \*\*\*\*Vintra: İntraselüler hacim ( $= V_{total}-V_{EB}$ )

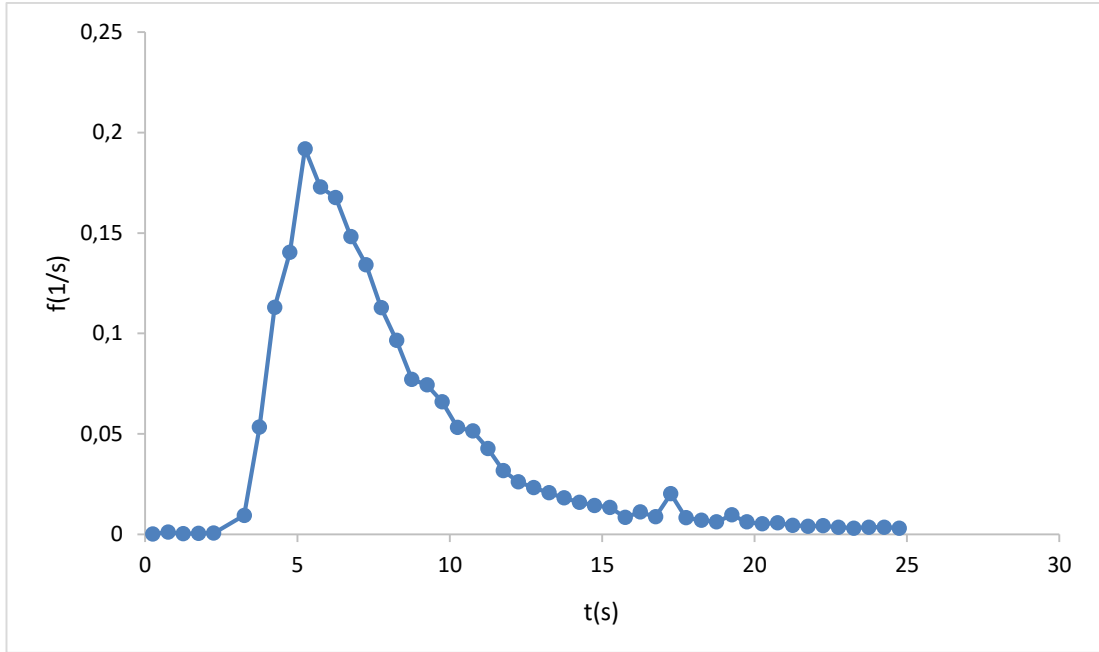
**Tablo 4.34.** Rasajilinin hepatik portal vene bolus dozda enjeksiyonundan sonra tayin edilen farmakokinetik parametreler (ortalama  $\pm$  SS; n=6)

	<b>Rasajilin</b>
<b>fmaks(1/sn)</b>	$0,9532 \times 10^{-3} \pm 0,2072 \times 10^{-3}$
<b>Tmaks (sn)*</b>	28,5
<b>MTT (sn)</b>	$430,833 \pm 7,715$
<b>E</b>	$0,404 \pm 0,060$
<b>CL<sub>H</sub> (mL/sn)</b>	$0,101 \pm 0,015$

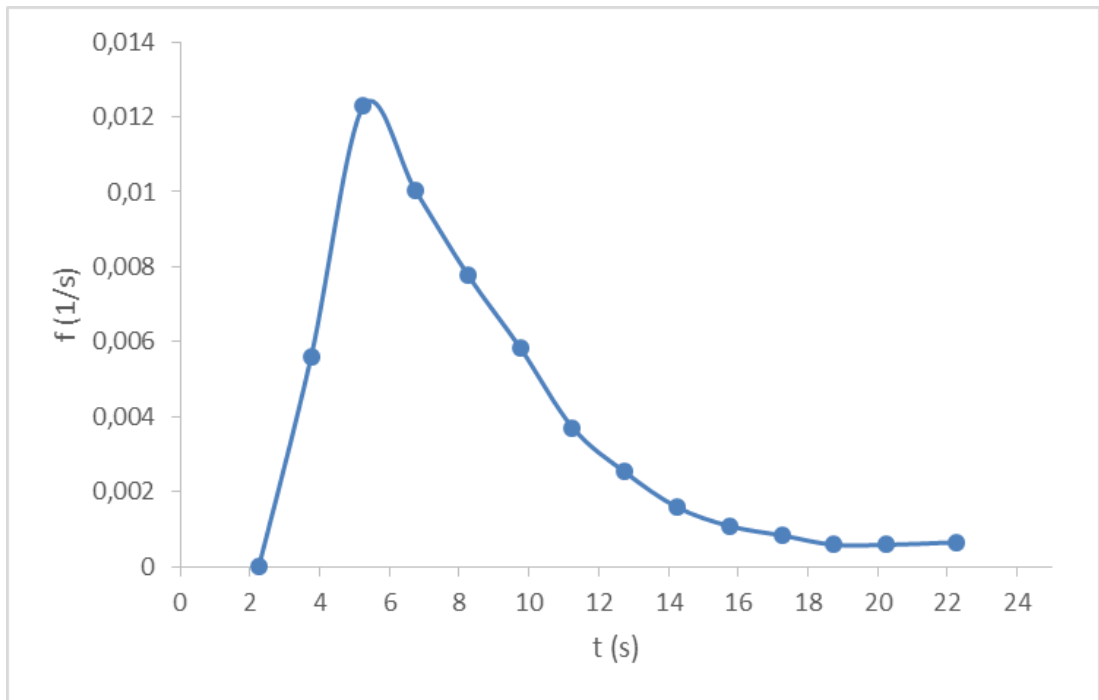
\*Median



**Şekil 4.44.** Rasajilinin portal venden bolus enjeksiyonu sonrası hepatik dilüsyon profili (ortalama  $\pm$  SS; n=6).



**Şekil 4.45.** Eritrositlerin portal venden bolus enjeksiyonu sonrası hepatic dilüsyon profili.



**Şekil 4.46.** Evans mavisinin portal venden bolus enjeksiyonu sonrası hepatic dilüsyon profili.

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Analitik Yöntem ve Validasyonu

Analizi yapılacak olan maddenin biyolojik bir ortamdan (plazma, idrar gibi) veya sentetik bir ortamdan (tampon ortamı) tayin edilmesine bağlı olarak biyoanalitik veya analitik yöntem olarak adlandırılır. Bir analitik yöntemin validasyonu, analitik işlemlerin istenilen kullanım amacına uygunluğunu gösteren parametrelerin tamamını kapsar ve uygulanan yöntemin özelliklerine göre hangi tip validasyon parametrelerinin kullanılacağı belirlenir.

Bu tez çalışmaları kapsamında Parkinson tedavisinde kullanılan rasajilin mesilatın deneysel çalışmalardan elde edilen numunelerden miktar tayini PDA dedektörlü HPLC kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Formülasyon geliştirme çalışmaları kapsamında yapılan çözünme hızı çalışmaları su ve tampon ortamlarında (0.1N HCl ve pH 6.8) gerçekleştirildiği için elde edilen numunelerdeki rasajilin tayininde kullanılan yöntem analitik validasyon kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Hücre kültürü, bağırsak perfüzyonu ve karaciğer perfüzyonu çalışmalarından elde edilen numuneler biyolojik bileşenler içeren bir matristen tayin edildiği için bu çalışmalardan elde edilen numunelerin analizinde kullanılan yöntem biyoanalitik validasyon kriterlerine göre değerlendirilmiştir.

Kullanılan analitik ve biyoanalitik yöntemlerin validasyonu ICH Harmonised Tripartite; Guideline Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1) kılavuzu doğrultusunda yapılmıştır. Analitik ve biyoanalitik yöntemlerin validasyonu için özgüllük, doğrusallık, doğruluk, kesinlik (tekrar edilebilirlik, tekrar elde edilebilirlik), duyarlılık, saptanabilirlik sınırı ve tayin edilebilirlik sınırı, dayanıklılık (etkin maddenin saptanması ve tayini aşamasında) ölçütleri incelenmiştir. Tüm validasyon parametrelerinin ICH Q2(R1) kılavuz kriterlerine uygun olduğu bulunmuştur. Validasyon çalışmalarından elde edilen bulgular kullanılan HPLC yöntemlerinin tekrarlanabilir özellikte ve güvenilirlikte olduğunun bir göstergesi olarak alınmıştır (180, 182).

## 5.2. Formülasyon Çalışmaları

### 5.2.1. Tablet Basım Yönteminin Seçilmesi

ODT formülasyonlarının geliştirilmesi amacıyla direkt basım, dondurarak kurutma, tablet şekillendirme, püskürterek kurutma, süblimasyon, kütle ekstrüzyon, eritme granülasyon, faz geçiş, üç boyutlu baskılama gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır (25). Bu tez çalışmasında daha az ekipmana gereksinim duyulması, işlem basamağının az olması ve düşük maliyetli olması nedenleriyle plasebo ve rasagilin içeren ODT'lerin hazırlanmasında direkt basım yöntemi tercih edilmiştir. Bu amaç doğrultusunda, formülasyonların geliştirilmesi için direkt basıma uygun yardımcı maddeler (eksipiyanlar) seçilmiştir.

### 5.2.2. Yardımcı Maddelerin Seçimi

**Dağıtıcı/süperdağıtıcılar:** Dağıtıcılar/süperdağıtıcılar, farmakope kriterlerine uygun dağılma süresine sahip ODT'lerin geliştirilmesinde oldukça önemli yardımcı maddelerdir. Bu tez çalışması kapsamında prejelatinize nişasta, Krospovidone (Polyplasdone™ XL, Polyplasdone™ XL-10), sodyum nişasta glikolat (Primojel®) ve kroskarmelloz sodyum (Ac-Di-Sol®) dağıtıcı ajanlar olarak seçilmiştir. Bu dağıtıcı/süperdağıtıcı ajanlar tek başına veya ikili, üçlü kombinasyonlar halinde ODT formülasyonlarının hazırlanmasında kullanılmıştır.

Mısır, patates ya da pirinç nişastasından elde edilen prejelatinize nişasta bağlayıcı (direkt basım için %5-20, yaş granülasyon için %5-10), seyreltici (sert jelatin kapsüllerde %5-75) ve dağıtıcı (%5-10) ajan olarak formülasyonlara eklenmektedir (183). Bu tez çalışmasında prejelatinize nişasta dağıtıcı ajan olarak yaklaşık %10 oranında ODT formülasyonlarında kullanılmıştır.

N-vinil-2-pirolidon'un çapraz bağlı homopolimeri olan sentetik ve noniyonik Polyplasdone™ (Krospovidon), suda çözünmez ancak hızla şişer. Polyplasdone™ Krospovidon'un partikülleri granüler ve porlu yapıda olup partikül büyüklüğüne göre

farklı tipleri (XL, XL-10) mevcuttur. Polyplasdone™ XL (tip A)'nın partikül büyüklüğü (110 -140 mikron) Polyplasdone™ XL-10 (tip B)'den daha büyüktür (25-40 mikron) (184). Büyük partiküllerin küçük partiküllere göre daha hızlı dağılma sağladığı bildirilmiştir. Direkt basım ya da yaş/kuru granülasyon yöntemleriyle hazırlanan tabletlerde 2-5% oranında kullanılmaktadırlar (183). Bu çalışmada Polyplasdone™ XL %2-15 oranlarında, Polyplasdone™ XL-10 yaklaşık %5 oranında kullanılmıştır.

Primojel® (sodyum nişasta glikolat) direkt basım ya da yaş granülasyonla hazırlanan tabletlerde sıklıkla kullanılan bir dağıtıcıdır (185). Optimum kullanım konsantrasyonu %4 olup genelde %2-8 oranlarında kullanılır. Primojel® ağırlığının 20 katından daha fazla su absorplar, hızlı su absorpsiyonunu takiben aşırı şişme neticesinde tabletlerin dağılmasını sağlar (183, 186). Bu çalışmada Primojel® yaklaşık %5 oranında kullanılmıştır.

Ac-Di-Sol® (Kroskarmelloz sodyum) çapraz bağlı karboksimetilselüloz olup farmasötik formülasyonlarda süperdağıtıcı olarak kullanılır. Ac-Di-Sol® mükemmel su alma ve hızlı şişme özellikleri sayesinde %1-2 konsantrasyonda hızlı dağılma ve çözünme sağlar (187). İstenildiğinde bu oran artırılabilir (188, 189). Bu çalışmada Ac-Di-Sol® yaklaşık %2,5-9,5 oranında kullanılmıştır.

**Seyreltici/doldurucu:** Tabletlerin hedeflenmiş toplam tablet ağırlığına ulaşabilmeleri için, seyreltici/doldurucu yardımcı maddeler formülasyonlarda kullanılmaktadır. ODT formülasyonlarının geliştirilmesinde direkt basıma uygun seyreltici-doldurucu ajanlar olarak püskürterek kurutulmuş laktoz ve mannitol kullanılmıştır. Püskürterek kurutulmuş laktoz, direkt basım için özel olarak geliştirilmiş bir laktoz monohidrat tipi olup büyük oranda  $\alpha$ - laktoz monohidrat içerir. Diğer laktoz tiplerine göre akışkanlığı daha iyidir ve daha hızlı dağılır (190, 191). Bu çalışmada laktoz yaklaşık olarak %28,5-52 oranında kullanılmıştır. Mannitol tablet formülasyonlarında seyreltici (%10-90) olarak kullanılır. Higroskopik olmadığı için neme hassas etkin maddelerle kullanılabilir. Direkt basımla hazırlanan tabletlerde kullanılmak üzere granüler ya da püskürterek kurutulmuş formları

mevcuttur (183). Bu çalışmada mannitol yaklaşık olarak %23,5-38 oranında kullanılmıştır.

Avicel pH 102 (mikrokristalin selüloz, ortalama partikül büyüklüğü 100 mikron) hem direkt basım hem de yaş granülasyonla hazırlanan oral tablet formülasyonlarında seyreltici/bağlayıcı (%20-90) ve dağıtıcı (%5-15) ajan olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada Avicel pH 102 yaklaşık olarak %19-52 oranında kullanılmıştır. Mısır nişastası oral katı dozaj şekillerinde seyreltici/bağlayıcı ve dağıtıcı ajan olarak kullanılan bir maddedir (183). Bu çalışmada mısır nişastası yaklaşık olarak %5-9,5 oranında kullanılmıştır.

**Kaydırıcı ve Glidan:** Direkt basım tekniği ile hazırlanan tabletlerin basımını kolaylaştırmak amacıyla kaydırıcılar kullanılmaktadır. Kaydırıcılar tablet ile tablet basım makinesi yüzeyi arasındaki sürtünmeyi azaltarak, tabletin zımbadan daha kolay ayrılmasını sağlayarak tabletin fiziksel bütünlüğüne zarar verilmesini önler (192). ODT formülasyonlarının geliştirilmesinde tablet ve kapsüllerde kaydırıcı olarak kullanılan stearik asit seçilmiştir. Bu çalışmada stearik asit yaklaşık olarak %1 oranında kullanılmıştır.

Formülasyonlarda kullanılan glidanlar toz karışımlarının akışkanlığını artırarak daha homojen karışmasını sağlar (193). Aerosil (kolloidal silikon dioksit) tablet formülasyonlarında akışkanlığın artırılması amacıyla %1'e kadar kullanıldığında partiküller arası çekim gücünün azaldığı, böylelikle tozun akış hızının arttığı belirtilmiştir (194). Kolloidal silikon dioksitin %0,1-0,5 konsantrasyon aralığında kullanılması önerilmekle birlikte %0,5'ten daha yüksek konsantrasyonda kullanıldığında akışkanlığı artırıcı aktivitesinin değişmediği belirtilmiştir (193). Bu çalışmada aerosil yaklaşık olarak %1,5 oranında kullanılmıştır. Talk oral katı dozaj şekillerinde %1-10 oranlarında glidan ve kaydırıcı ajan olarak kullanılmaktadır (183). Bu çalışmada talk yaklaşık olarak %1-2 oranında kullanılmıştır.

**Tatlandırıcı:** Aspartam ticari ODT preparatlarında (MAXALT-MLT<sup>®</sup>, Carinex<sup>®</sup> Redi Tabs<sup>®</sup>, Ultram<sup>®</sup>, Alavert<sup>®</sup>, REMERONSol TAB<sup>®</sup> and Children's

Benadryl®) yaygın olarak kullanılan tat maskeleyici bir ajandır (195). Bu nedenle geliştirilen ODT formülasyonlarında aspartam tatlandırıcı ajan olarak eklenmiştir. Bu çalışmada aspartam yaklaşık olarak %0,1 oranında kullanılmıştır.

### 5.2.3. ODT Toz Karışımlarının Fiziksel Özelliklerinin Değerlendirilmesi

ODT toz karışımlarının fiziksel özellikleri yığın açısı, görünür/vuruş hacmi ve dansitesi, basılabilirlik indisi, Hausner oranı ve nem içeriği incelenerek değerlendirilmiştir.

Yığın açısı bir toz karışımındaki sürtünme ya da kohezyon kuvvetlerinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan bir parametre olup farmakopede belirtilen kontrol parametrelerini (içerik tekdüzeliği ve ağırlık değişimi) doğrudan etkilediği için toz karışımların akış özelliklerini belirlemek amacıyla kullanılır. Amerikan Farmakopesi 30 (196) ve Avrupa Farmakopesi 10.0 (17)'a göre , bir toz karışımının akış özellikleri yığın açısına göre mükemmel (*Excellent*, 25–30°), iyi (*Good*, 31–35°), uygun-yardım gerekmez (*Fair-aid not needed*, 36–40°), geçebilir-durabilir (*Passable-may hang up*, 41–45°), zayıf -çalkalamalı, titreşimli (*Poor-must agitate, vibrate* 46–55°), çok zayıf (*Very poor* 56–65°), ve çok çok zayıf (*Very, very poor*, >66°) olarak sınıflandırılmaktadır. Geliştirilen ODT toz karışımlarının akış özellikleri tayin edilen yığın açılara göre mükemmel ya da iyi akış özellikleri gösterirken (Tablo 4.24), rasajilin içeren ODT toz karışımı (ODT-9R) mükemmel akış özelliği göstermiştir (Tablo 4.26). ODT toz karışımları için tayin edilen yığın açısı değerleri basılabilirlik indisi ve Hausner oranıyla da uyumlu (Tablo 4.24 ve Tablo 4.26) olup bu sonuçlar ODT toz karışımlarının direkt basım yöntemine uygun olduğunu göstermiştir.

Görünür/ vuruş hacim ve yoğunluklarının ölçülmesiyle değerlendirilen tozların reolojik özellikleri hazırlama, basım ve saklama gibi özelliklerine etki etmektedir (197). Görünür yoğunluk tozun ağırlığının sıkıştırılmamış toz hacmine oranı olarak hesaplanırken, vuruş yoğunluğu toz karışımının hacmi değişmeye kadar vuruş yapılmasından sonra elde edilen hacme oranı olarak hesaplanmaktadır. Tüm ODT toz



karışımları için benzer görünür ve vuruş hacim değerleri elde edilmiştir. Aynı toz ağırlığı değerleri kullanılarak görünür ve vuruş yoğunlukları tayin edildiği için vuruş yoğunluğu görünür yoğunluktan biraz daha yüksek bulunmuştur (Tablo 4.24).

Tozların görünür ve vuruş hacimleri kullanılarak tayin edilen basılabilirlik indisi ve Hausner oranı, tozların akış özelliklerini tayin etmede kullanılan basit, hızlı ve popüler yöntemlerdir. İlave olarak basılabilirlik indisi tozların yüzey alanı, nem içeriği ve kohezif özelliklerinin dolaylı bir ölçütü olarak önerilmiştir (196). Hausner oranı partiküllerarası sürtünmenin ölçüsüdür. Basılabilirlik indisi ya da Hausner oranı azaldıkça tozların akış özellikleri daha iyidir. Bu çalışmada, plasebo ODT'lerin ve rasajilin içeren ODT'nin basılabilirlik indisi ve Hausner oranları sırasıyla %9,8-13,8 ve %1,11-1,16 değerleri arasında bulunmuştur (Tablo 4.24 ve Tablo 4.26). Bu değerler, tüm ODT toz karışımlarının Amerikan Farmakopesinde basılabilirlik indisi ve Hausner oranına göre verilen akışkanlık skalasında mükemmel ya da iyi akış özelliklerini karşılamaktadır. Bu sonuçlar yığın açısı değerlerinden elde edilen sonuçlarla oldukça iyi bir uyum içerisindedir.

Bir toz karışımının nem içeriği, partiküller arasında kohezyon oluşturarak akış özelliklerini olumsuz etkileyebilen önemli bir faktördür. Bu nedenle homojen ve iyi kalitede bir tablet üretebilmek için toz karışımının nem içeriğinin basımdan önce ölçülmesi önemlidir. Tüm ODT toz karışımlarının nem içeriği %5'den daha düşük olarak bulunmuştur (Tablo 4.24). Tozların akış özellikleriyle ilgili tüm parametreler (ör. yığın açısı, basılabilirlik indisi ve Hausner oranı), toz karışımlarının nem içeriğinin akış özelliklerini olumsuz yönde etkilemediğinin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

ODT toz karışımlarının fiziksel özelliklerinin değerlendirilmesi kapsamında yapılan tüm çalışmalardan edilen sonuçlar toz karışımlarının mükemmel/iyi akış ve iyi sıkıştırılabilirlik özellikleriyle direkt basıma uygun olduğunu göstermiştir.

#### **5.2.4. Ağızda Dağılan Tabletlerde Yapılan Karakterizasyon Çalışmalarının Değerlendirilmesi**

Direkt basım yöntemiyle hazırlanan ağızda dağılan tabletlerin karakterizasyonu amacıyla çap, kalınlık, sertlik, friyabilite, dağılma zamanı, ıslanma zamanı ve su absorpsiyon kapasitesi incelenmiştir.

**Çap ve kalınlık testi:** Tablet kalınlığı, toz karışımının partikül büyüklüğü ve dağılımı, mühreye dolumu ve sıkıştırılabilirliği gibi faktörler tarafından etkilenmektedir. Geliştirilen ODT'lerin kalınlığı 4.46 ( $\pm 0,06$ ) - 5.29 ( $\pm 0,04$ ) mm ve çapları da 7.70 ( $\pm 0,01$ ) - 7.77 ( $\pm 0,06$ ) mm arasındadır (Tablo 4.25, Şekil 4.26, Şekil 4.27). Bu değerler arasındaki düşük sapmalar tablet basımının tekrarlanabilirliğinin bir göstergesi olarak alınmıştır.

**Sertlik ve ufalanma-aşınma testi:** Tabletlerin mekanik gücünü değerlendirmek amacıyla kullanılan iki önemli kontrol parametresi tablet sertliği ve friyabilitesidir. Bu parametreler ambalajlama ve nakliye işlemleri sırasında tabletlerin aşınmaya karşı fiziksel direncinin bir ölçüsü olarak kullanılır ve aynı zamanda hasta tarafından kabul edilebilirliği etkiler. ODT'lerin optimum mekanik mukavemetinin 30-80 N arasında (198) ideal olarak 25 N civarında olması gerektiği belirtilmiştir (199).

Ufalanma-aşınma (friabilite) tabletlerin sertliği ile ters orantılı olup tablet sertliği arttıkça friyabilite azalmaktadır. Friyabilite testini geçebilmek için tek bir test sonucundaki maksimum ağırlık kaybının 1%'den az olması gerekmektedir (200). Bu tez çalışması kapsamında geliştirilen ODT'lerin sertliği 18-41,5 N arasında olup önerilen sertlik değerlerine benzerdir (Tablo 4.25, Şekil 4.28). Friyabilite testi sonucuna göre dört ODT formülasyonu (ODT 5, ODT 6, ODT 15 and ODT 17) friyabilite testini geçememiştir (Tablo 4.25, Şekil 4.29). Aynı oranlarda prejelatinize nişasta ve Polyplasdone™ XL ancak farklı oranlarda püskürterek kurutulmuş laktoz ve Avicel pH102 içeren ODT 5 ve ODT 6'nın sertlik değerleri sırasıyla 34,6 N ve 37,6 N olmakla birlikte friyabilite değerleri  $>1\%$  olarak tayin edilmiştir. Diğer taraftan aynı

oranlarda püskürterek kurutulmuş laktoz ve Avicel pH102 içeren ancak farklı dağıtıcılar içeren ODT 15 (Poliplasdon™ XL ve Ac-Di-Sol) ve ODT 17 (Ac-Di-Sol)'nin sertlik değerleri sırasıyla 18,3 N ve 21 N ve friyabilite değerleri >% 1 olarak tayin edilmiştir.

**Dağılma testi:** Avrupa Farmakopesi 10.0'da yer alan Ağızda Dağılan Tabletler (*Orodispersible Tablets*) monografına göre ODT'lerin 3 dakikadan daha kısa süre içerisinde dağılması gerektiği belirtilmiştir (12). Bu tez kapsamında geliştirilen ODT'lerin dağılma testi distile su ortamında yapılmış ve tüm ODT'lerin dağılma süresi 30 saniyeden daha düşük bulunmuştur (Tablo 4.25). Farklı oranlarda kullanılan seyreltici-doldurucular incelendiğinde ODT-2 (Laktoz: 109,3mg- Avicel pH 102 50mg)'nin dağılma süresi 19,83 ( $\pm 0,68$ ) sn iken laktoz oranı düşürülüp Avicel pH 102 ile aynı oranda kullanılarak hazırlanan ODT-5 (Laktoz: 80,3mg- Avicel pH 102 79mg)'in dağılma süresi 11,72 ( $\pm 1,51$ ) sn olarak iyileştirilmiştir, ancak ODT-5 ufalanma-aşınma testini geçememiştir. Benzer şekilde daha yüksek oranda Avicel pH 102 kullanılan ODT-6 (Laktoz: 50mg- Avicel pH 102: 109,3mg)'da dağılma süresi ODT-2'den daha kısa olmakla birlikte ODT-2'ye göre daha kısa süre elde edilmiş fakat ufalanma aşınma testini geçememiştir. Bu bulgular doğrultusunda Avicel pH 102 oranının artmasıyla dağılma süresinin arttığı ancak ufalanma-aşınmaya daha hassas oldukları tespit edilmiştir.

Tek bir süperdağıtıcı kullanılarak hazırlanan ODT-2 (Polyplasdone™XL), ODT-3, (Ac-Di-Sol) ve ODT-4 (Primojel) formülasyonlarının distile su ortamında dağılma süreleri sırasıyla 19,83 ( $\pm 0,68$ ), 22,22 ( $\pm 0,63$ ) ve 26,96 ( $\pm 1,24$ ) sn olarak tayin edilmiş en kısa dağılma süresi Polyplasdone™ XL ile sağlanmıştır. Polyplasdone™ XL'i Polyplasdone™XL-10 ile karşılaştırmak amacıyla hazırlanan ODT-7 (Polyplasdone™ XL ve ODT-8 (Polyplasdone™ XL-10)'in dağılma süreleri sırasıyla 17,35 ( $\pm 1,94$ ) ve 19,02 ( $\pm 1,65$ ) sn olarak tespit edilmiştir. Daha büyük partikül büyüklüğüne sahip Polyplasdone™ XL (110 -140 mikron) kullanıldığında elde edilen ODT'lerin dağılma süresi daha küçük partiküllü Polyplasdone™ XL-10 (25-40 mikron) kullanılan ODT'ye göre daha kısadır.

En iyi dağılma süresi elde edilen süperdağıtıcı Polyplasdone™ XL'in farklı oranları kullanılarak hazırlanan ODT-7 (10mg), ODT-9 (20mg) ve ODT-10 (30mg) formülasyonlarının dağılma süreleri sırasıyla 17,35 ( $\pm 1,94$ ), 10,56 ( $\pm 0,96$ ) ve 10,97 ( $\pm 0,68$ ) sn olarak tayin edilmiştir. En kısa dağılma süresi 20 mg Polyplasdone™ XL'in kullanıldığı ODT-9 (20mg) formülasyonu ile elde edilmiştir.

Süperdağıtıcı Polyplasdone™ XL ile Ac-Di-Sol'ün farklı kombinasyonlarını içeren ODT formülasyonları (ODT-11, ODT-15, ODT-16) ve sadece Ac-Di-Sol içeren formülasyonlar (ODT-17) hazırlanmıştır. ODT-15 ve ODT-17'nin dağılma süreleri sırasıyla 10,14 ( $\pm 0,78$ ) ve 15,56 ( $\pm 0,12$ ) sn olmakla birlikte ODT-15 ve ODT-17 ufanma-aşınma testini geçememiştir. ODT-11 ve ODT-16'in dağılma süreleri ise oldukça benzerdir (ODT-11: 13,53  $\pm$  0,41 sn, ODT-16: 13,71  $\pm$  0,12 sn).

Farklı oranlarda farklı seyreltici doldurucu kullanılarak hazırlanan ODT-5, ODT-6 ve ODT-13, ODT-14 formülasyonları değerlendirildiğinde laktozla hazırlanan ODT-5 ve ODT-6 'nın dağılma süreleri farmakope kriterini sağlamakla birlikte ufanma-aşınma testini geçememiştir. Buna karşın mannitol içeren ODT-13 ve ODT-14 formülasyonlarının dağılma süreleri sırasıyla 17,27 ( $\pm 0,79$ ) ve 19,06 ( $\pm 0,86$ ) sn, ufanma-aşınması  $<0,1\%$ 'dir.

**Islanma süresi ve su absorplama kapasitesi:** Islanma süresi ağızda dağılan tabletlerin ağız içerisinde dağılma kolaylığının bir göstergesi olup formülasyonda kullanılan yardımcı maddelerin hidrofilik veya hidrofobik özellikte olmasına ve dağıtıcı ajanların dağılma mekanizmasına bağlı olarak değişmektedir. Jain ve ark. (201) sodyum nişasta glikolat içeren formülasyonların ıslanma ve dağılma sürelerinin kroskarmelloz sodyum ve krosprovidon içeren formülasyonlara göre daha uzun, su absorplama kapasitesinin ise daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (201). Sodyum nişasta glikolat şişme mekanizması ile dağılırken, kroskarmelloz sodyum çapraz bağlı sodyum karboksimetil selüloz yapısı nedeniyle kapiler hareket ve herhangi bir jelleşme olmadan şişme mekanizması ile dağılır (202).

Bu tez çalışmasında Krosppovidone (Polyplasdone™ XL, Polyplasdone™ XL-10), sodyum nişasta glikolat (Primojel®) ve kroskarmelloz sodyum (Ac-Di-Sol®) kullanılarak hazırlanan ODT formülasyonların ıslanma süreleri 15,01- 44,7 sn aralığında değişmiştir (Tablo 4.25, Şekil 4.30). Geliştirilen ODT'lerin ıslanma süreleri ile dağılma süreleri arasında kabul edilebilir düzeyde bir korelasyon olduğu ( $R^2 > 0,76$ ), ıslanma süresi arttıkça dağılma süresinin de uzadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.34). Geliştirilen ODT'lerin su absorplama kapasiteleri % 157,82 - 251,83 aralığında olup en yüksek su absorplama kapasitesinin Polyplasdone™ XL içeren formülasyonlarda olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.25, Şekil 4.31). Çok az şişen Polyplasdone™ XL basımdan sonra orijinal büyüklüğüne döner ve kapiller etki ile dağılma sağlar (Tablo 2.1).

#### ***5.2.5. Optimum Formülasyonda Gerçekleştirilen Çalışmalar***

FT-IR spektroskopisi, analizi gerçekleştirilen kimyasal madde tarafından absorbe edilen titreşimsel veya rotasyonel kızılötesi ışınların şiddetini ölçerek absorplanan enerjiyi bantlar halinde spektruma dönüştüren ve maddenin kimyasal yapısı ve içerdiği fonksiyonel gruplar hakkında bilgi veren spektroskopik bir yöntemdir. Rasajilin mesilat, Plasebo (ODT-9) ve rasajilin içeren ODT (ODT-9R)'nin IR spektraları (Şekil 4.35- Şekil 4.37) değerlendirildiğinde, rasajilin FT-IR spektrumunun literatürle uyumlu olduğu (181) tespit edilmiştir. Eksipyanların varlığında elde edilen ODT-9R'a ait FT-IR spektrumunun plasebo ODT (ODT-9) ile oldukça benzer olduğu görülmüştür. Formülasyonda yüksek oranda bulunan laktozun literatürdeki FT-IR spektrumuyla karşılaştırıldığında, FT-IR spektrumlarının benzer olması ODT-9R'daki rasajilin laktozla kaplanmış olduğunun göstergesi olarak alınmıştır.

Plasebo ODT toz karışımlarının fiziksel özellikleri ve Plasebo ODT'lerin karakterizasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlar doğrultusunda, dağıtıcı olarak prejelatinize nişasta ve Polyplasdone™ XL içeren ODT-9 formülasyonu (Tablo 3.3) optimum formülasyon olarak belirlenmiştir. Rasajilin içeren ODT, Plasebo ODT-9 formülasyonuna 1 mg rasajilin ilave edilerek hazırlanmıştır (ODT-9R). ODT-9R toz

karışımının fiziksel özellikleri (akış zamanı, yığın açısı, görünür/vuruş hacmi, görünür/vuruş dansitesi, nem içeriği) ve ODT-9R tabletin karakterizasyon testlerinden (çap, kalınlık, sertlik, friabilite, dağılma, ıslanma zamanı ve su absorpsiyon oranı) elde edilen bulgular Tablo 4.26'da plasebo ODT-9 ile karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Optimum formülasyona (ODT-9) 1 mg rasajilin eklendiğinde (ODT-9R) tozlarda ve tabletlerde yapılan analiz sonuçları benzer olup istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Rasajilin içeren ODT toz karışımı (ODT-9R)'nın yığın açısı ( $22^{\circ}\text{C}$ ), basılabilirlik indisi (12,68) ve Hausner oranı (1,15) değerlendirildiğinde mükemmel akış özelliği gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 4.26). Rasajilin içeren optimum ODT (ODT-9R)'nin sertlik değeri 22,4 N ve friabilitesi  $<1\%$  olarak tayin edilmiştir (Tablo 4.26). Bu değerler optimum formülasyonun yeterli mekanik dirence sahip olduğunun göstergesi olarak alınmıştır. Süperdağıtıcı olarak Polyplasdone XL (20 mg) içeren optimum ODT'nin dağılma süresi 10,67 ( $\pm 1,04$ ) sn olup Avrupa Farmakopesinde belirtilen kriteri ( $< 3$  dakika) sağlamaktadır. Optimum formülasyonun ıslanma süresi 17,01 sn ve su absorpsiyon kapasitesi  $\%266,7$  olarak tayin edilmiştir (Tablo 4.26).

Avrupa Farmakopesi 10.0 (17) ve Amerikan Farmakopesi 30'da (196) dozaj şekillerinin tek düzeligi etkin maddenin dozu ve oranına göre ağırlık değişimi (*Weight Variation*) ya da içerik tekdüzeliği (*Content Uniformity*) testleriyle tayin edilmektedir. Etkin maddenin dozu  $>25$  mg ve oranı  $\%25$  olduğunda ağırlık değişimi, aksi takdirde ( $<25$  mg ya da  $\%25$ ) içerik tekdüzeliği tayin edilir. İçerik tekdüzeliği testinde dozaj birimlerinde bulunan etkin madde miktarının belirlenen limitler içerisinde olup olmadığının tayin edilmesi esasına dayanmaktadır. Optimum ODT formülasyonundaki (ODT-9R) rasajilin dozu 1 mg ( $<25$  mg) olduğu için içerik tekdüzeliği testi uygulanmıştır ve sonuçlar Avrupa Farmakopesi kriterlerine (tüm tabletlerin içeriği  $\%85-115$  sınırları içerisinde olmalıdır) göre değerlendirilmiştir. ODT-9R'daki rasajilin içeriğinin ( $\%101,7$ )  $\%85-115$  sınırları içerisinde olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar rasajilin içeren toz karışımının hazırlama ve tablet basımı sırasında homojenitesini koruduğunun bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

Bir tıbbi ürünün geliştirilmesi sırasında ilacın biyoyararlanımını etkileyebilecek formülasyon faktörlerini belirlemek amacıyla çözünme hızı çalışmaları yapılmaktadır. Geliştirilecek ürünün içeriği ve üretim yöntemi belirlendikten sonra ölçek büyütmede ve üretilen seriler arasındaki tutarlılığı göstermek amacıyla bir kalite kontrol testi olarak yapılmaktadır. Çözünme hızı ürünün kalitesini test etmek ya da biyoeşdeğerliğin yerini alan çıkarımlar yapmak amacıyla gerçekleştirilmektedir. Ürünün kalitesini test etmek amacıyla yapılan çözünme hızı çalışmaları biyoyararlanım/biyoeşdeğerlik çalışmaları ve klinik çalışmalarda kullanılan test ürün serileri hakkında kalite kontrol spesifikasyonlarına destekleyici bilgi edinmek, üretimdeki sürekliliği/tutarlılığı kanıtlamak için kalite kontrol aracı olarak kullanmak ve biyoyararlanım/biyoeşdeğerlik çalışmaları ve klinik çalışmalarda kullanılan referans ürün hakkında bilgi edinmek amacıyla yapılan çalışmaları kapsamaktadır. Biyoeşdeğerliğin yerini alan çıkarımlar yapmak amacıyla yapılan çözünme hızı çalışmaları ise bir etkin maddenin farklı formülasyonları ve referans ürün arasındaki benzerliği göstermek (örneğin, varyasyonlar, geliştirme sırasında veya eşdeğer tıbbi ürünlerde formülasyon değişiklikleri sırasında biyomuafiyet elde etmek gibi) ve *in vivo* çalışmada kullanılacak uygun test ve referans serilerin seçilmesinde ürünlerin seri-seri tutarlılığını incelemek için yapılan çalışmaları kapsamaktadır (203).

Rasajilin içeren optimum ODT (ODT-9R)'nin çözünme hızı çalışmaları üç farklı ortamda (distile su, 0,1 N HCl, pH 6.8 fosfat tamponu) 6 tekrarlı olarak (500 mL, 50 rpm, Aparat-2 (pedal)) sink koşullar altında gerçekleştirilmiştir. Her üç ortamda da 15 dakikada çözünen değerler  $> \%85$  olarak bulunmuş, (Tablo 4.27-4.29; Şekil 4.38) EMA (EMA, European Medicines Agency, *Guideline on the Investigation of Bioequivalence*, London, 20 January 2010) (203) ve FDA (*Guidance for Industry Bioequivalence Guidance*, 8 Kasım 2006) (204) kılavuzları doğrultusunda ODT-9R'ın çözünme hızı çok hızlı çözüdür (*Very rapidly dissolving*) olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar özellikle hızlı etki beklenen durumlarda ODT formülasyonlarının daha kısa sürede etki edeceğinin göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

Rasajilin içeren ticari bir ODT preparatı bulunmamaktadır. Bu tez çalışmaları başladığında literatürde rasajilin içeren bir ODT preparatı mevcut olmamakla birlikte tez çalışmaları devam ederken ağızdan absorplanan ve/veya ağızda dağılan film ve tablet formülasyonları yayınlanmıştır (115, 117, 118, 205).

Bukka ve ark. (205) rasajilin mesilatın ağızdan emilimi için karbopol ve sodyum aljinat içeren mukoadezif bukkal film formülasyonları geliştirmişlerdir. Franz diffüzyon hücreleri kullanılarak yapılan *in vitro* permeasyon çalışmalarında rasajilin mesilatın (5 mg/mL) domuz bukkal mukozasından permeasyonunun 24 saat içinde %72 olduğu gösterilmiştir. Hazırlanan bukkal filmlerden salınan rasajilin mesilatın üç saat sonunda %83-101 civarında olduğu, polimer miktarları arttıkça salınan miktarın azaldığı belirtilmiştir (205). Tez çalışmaları kapsamında geliştirilen optimum formülasyon farmasötik şekli itibariyle (direkt basımla hazırlanan ODT) söz konusu çalışmada geliştirilen mukoadezif bukkal film formülasyonundan farklıdır.

Anusha ve ark. (115) tarafından parkinson tedavisinde kullanılan ticari ürüne farmasötik eşdeğer olarak geliştirilen hızlı dağılan (*rapidly disintegrating*) rasajilin mesilat tabletleri, mannitol (seyreltici), povidon (dağıtıcı; %2), nişasta-1500 (bağlayıcı) ve stearik asit (lubrikan) kullanılarak yaş granülasyon yöntemiyle hazırlanmıştır. Geliştirilen formülasyonlarda toz kontrolleri (yığın açısı, yoğunluk, basılabilirlik indisi, Hausner oranı) ve tablet kontrolleri (sertlik, friyabilite, dağılma, çözünme hızı gibi) yapılarak optimum bir formül belirlenmiştir. Optimum formülün dağılma zamanının 4,3 dk olduğu ve 45 dakika sonunda kümülatif salınan miktarın %99,8 olduğu ve bu değerlerin ticari preparattan daha iyi olduğu belirtilmiştir. Geliştirilen formüller hızlı dağılan (*rapidly disintegrating*) tabletler olarak tanımlanmasına rağmen farmakopelerde ODT'ler için önerilen dağılma zamanını (< 3 dakika) sağlamamaktadır (115). Tez çalışması kapsamında geliştirilen optimum ODT'nin hem dağılma süresi (10,67 sn) hem de çözünme hızı (5 dakikada çözünen >%100) açısından söz konusu çalışmada sunulan formülasyona üstünlük sağlamaktadır.



Çomoğlu ve ark. (118) tarafından tadı Eudragit EPO kullanılarak maskelenmiş rasajilin ODT formülasyonları Krosopovidon, Ac-Di-Sol and Parateck® kullanılarak direkt basım yöntemiyle hazırlanmıştır. Çalışmada dağılma zamanıyla ilgili bir bilgi bulunmamakla birlikte hazırlanan ODT'lerin ıslanma zamanlarının 9- 33 saniye arasında olduğu ve ağızda dağılan tabletler için talep edilen <3 dakika süreyi sağladığı belirtilmiştir. Ayrıca geliştirilen ODT'lerin FDA'da hızlı çözünen tabletler için talep edilen 30 dk içerisinde %85'den fazla çözünmelidir kriterini sağladığı, *in vivo* çalışmada ODT grubunda rasajilinin beyin konsantrasyonunun daha yüksek olduğu ve MAO-B enzim aktivitesinin daha düşük olduğu belirtilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda konvansiyonel tedavide ortaya çıkan düşük biyoyararlanım sorunlarının üstesinden gelmek için rasajilin ODT'lerin alternatif bir çözüm olabileceği önerilmiştir (118). Tez çalışmaları kapsamında geliştirilen ODT'de direkt basımla hazırlanmış olup, kullanılan yardımcı maddeler açısından farklılık göstermektedir. Optimum formülasyon (ODT-9R) laktoz, Avicel pH 102, aspartam, steraik asit, talk, Aerosil, mısır nişastası, prejelatinize nişasta, Polyplasdone™ XL içerirken literatürdeki mevcut çalışmada Avicel pH 101, Eudragit EPO, granüle şeker, magnezyum stearat, mannitol, Cabosil, Ac-Di-Sol, Parateck®ODT kullanılarak formülasyon çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca söz konusu çalışmada 15 dk'da çözünen değerler (pH 6,8 ortamında %54-89) bizim geliştirdiğimiz ODT-9R formülasyonundan (her üç ortamda %99,5-105,5) daha düşüktür.

Güneş ve ark. (117) rasajilin içeren mukoadezif ağızda dağılan film (*mucoadhesive orodispersible film*) formülasyonlarını polietilen oksit kullanarak solvent döküm yöntemiyle hazırlamıştır. Geliştirilen formülasyonlar görünüş, ağırlık homojenliği, kalınlık, yüzey pH'sı, ilaç içeriği, şişme oranı, gerilme direnci, mukoadezyon, *in vitro* ilaç salım çalışmaları ve stabilite gibi parametreler incelenerek değerlendirilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen bulgular doğrultusunda rasajilin uygulaması için ağızda dağılan filmlerin etkili ve uygulanabilir bir yaklaşım olduğu ve parkinson tedavisi için mevcut oral salım sistemlerine yeni bir alternatif olabileceği belirtilmiştir (117). Tez çalışmaları kapsamında geliştirilen optimum formülasyon farmasötik şekli itibariyle (direkt basımla hazırlanan ODT) söz konusu mukoadezif bukkal film formülasyonundan farklıdır.

### 5.3. Permeabilite Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Amidon ve arkadaşları tarafından geliştirilen Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (*Biopharmaceutics Classification System*; BCS) ilaç etkin maddelerini çözünürlük ve permeabilitesine göre dört sınıfa ayırmaktadır. BCS Sınıf I 'de yer alan etkin maddeler yüksek çözünürlük ve yüksek permeabilite, Sınıf II'de yer alan ilaçlar düşük çözünürlük ve yüksek permeabilite, Sınıf III'de yer alan ilaçlar yüksek çözünürlük ve düşük permeabilite, Sınıf IV'de yer alan ilaçlar düşük çözünürlük ve düşük permeabilite özelliğine sahiptir (206). Wu ve Benet tarafından BCS'e alternatif olarak geliştirilen Biyofarmasötik İlaç Dispozisyon Sınıflandırma Sistemi'nde (*Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System*, BDDCS), permeabilite yerine metabolizasyonun kullanılması önerilmiştir. Buna göre BDDCS Sınıf I 'de yer alan etkin maddeler yüksek çözünürlük ve yüksek metabolizasyon, Sınıf II'de yer alan ilaçlar düşük çözünürlük ve yüksek metabolizasyon, Sınıf III'de yer alan ilaçlar yüksek çözünürlük ve düşük metabolizasyon, Sınıf IV'de yer alan ilaçlar düşük çözünürlük ve düşük metabolizasyon özelliğine sahiptir (207). Rasajilin BCS Sınıf III (yüksek çözünürlük/düşük permeabilite) bir ilaç olarak sınıflandırılırken (103, 123) BDDCS'e göre Sınıf I (yüksek çözünürlük/yüksek metabolizasyon) bir ilaç olarak sınıflandırılmıştır (124).

İlaç etkin maddelerinin permeabilitesini tayin etmek amacıyla farklı yöntemler (kütle-denge çalışmaları, mutlak biyoyararlanım çalışmaları, insanlarda *in vivo* bağırsak perfüzyonu çalışmaları, uygun hayvan modeli (ör. sıçan) kullanarak *in vivo* ya da *in situ* bağırsak perfüzyonu çalışmaları, insan ya da hayvan bağırsak dokuları kullanarak *in vitro* permeasyon çalışmaları, tek tabakalı epitel hücre kültüründen permeasyon çalışmaları) kullanılmaktadır. Bu tez kapsamında rasajilinin permeabilitesi tek tabakalı epitel hücre kültüründen (Caco-2 hücreleri) permeasyon ve sıçanlarda *in situ* bağırsak perfüzyonu yöntemleri kullanılarak tayin edilmiştir.

**Caco-2 hücre hattından permeasyon çalışmaları:** Rasajilin ve rasajilin içeren ODT-9R formülasyonunun Caco-2 hücre hattında apikalden bazolateral'e doğru permeabilitesi sırayısıyla  $4,082 \times 10^{-5}$  ve  $5,624 \times 10^{-5}$  olarak bulunmuştur (Tablo

4.30, Şekil 4.39). Permeabilite değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olması ( $p<0,05$ ) formülasyonda kullanılan ekspiyanların rasajilinin permeabilitesini artırdığının bir göstergesi olarak alınmıştır. *In vitro* permeabilite değerindeki bu artışın, *in vivo* koşullarda sistemik dolaşıma geçen rasajilin miktarında bir artış sağlaması ve *in vivo* biyoyararlanımını da olumlu yönde etkilemesi beklenebilir. Literatürde rasajilinin Caco-2 hücrelerinden permeabilitesini araştıran bir çalışma bulunamamıştır.

Literatürde etkin maddelerin permeabilite katsayıları ile absorpsiyonlarını ilişkilendiren çalışmalar mevcuttur. Permeabilite katsayısı  $0,4 \times 10^{-6}$  cm/sn değerinin altında olan moleküllerin oral absorpsiyonlarının çok zayıf,  $7 \times 10^{-6}$  cm/sn değerinin üstünde olan moleküllerin ise oral absorpsiyonlarının çok iyi olduğu belirtilmektedir (208). Ayrıca, Caco-2 hücrelerinden permeabilitelerine göre etkin maddeler zayıf (0–20%; Papp  $< 1 \times 10^{-6}$  cm/sn), orta (20–70%; Papp  $1-10 \times 10^{-6}$  cm/sn) ve iyi (70–100%; Papp  $> 10 \times 10^{-6}$  cm/sn) derecede absorplanan maddeler olarak sınıflandırılmıştır (209). Tez kapsamında yapılan çalışmadan elde edilen permeabilite değerleri doğrultusunda rasajilin iyi derecede absorplanan bir madde olarak sınıflandırılabilir. Rasajilinin oral uygulamadan sonra iyi absorbe edildiği belirtilmiştir (210) ve tez kapsamında yapılan Caco-2 çalışmalarından elde edilen permeabilite değerleri bunu destekler niteliktedir.

**Bağırsak perfüzyon çalışmaları:** Rasajilin ve rasajilin içeren ODT-9R'ın üç farklı bağırsak segmentinden (jejunum, ileum ve kolon) permeabilitesi üçlü sıçan bağırsak yöntemi kullanılarak tayin edilmiş ve elde edilen değerler yüksek permeabilite ajanı olan metoprolol tartaratın permeabilite değerleri ile kıyaslanmıştır. Hem rasajilin hem de metoprololün permeabilitesi jejunumdan kolona doğru (jejunum>ileum>kolon) azalmıştır. Rasajilin ve metoprololün permeabilite değerleri arasında istatistiksel açıdan bir fark olmaması ve de rasajilinin permeabilite değerlerinin az da olsa metoprololden yüksek olması nedeniyle rasajilinin intetestinal permeabilitesi yüksek olarak değerlendirilmiştir. (Tablo 4.31, Şekil 4.40). Rasajilin ve ODT-9R'daki rasajilinin permeabilitesi kıyaslandığında tüm segmentlerde rasajilin permeabilitesi hem anlamlı derecede artmış ( $p<0,05$ ) hem de metoprolol'ün permeabilitesinden anlamlı derecede yüksek ( $p<0,05$ ) bulunmuştur (Tablo 4.31, Şekil

4.42). ODT-9R'daki rasajilin permeabilitesi en yüksek ileumda ( $5,89 \times 10^{-4}$  cm/sn) en düşük kolonda ( $3,27 \times 10^{-4}$  cm/sn) bulunmuştur (Şekil 4.41).

Literatürde rasajilinin permeabilitesini bağırsak perfüzyonu çalışmasıyla inceleyen bir çalışma bulunamamıştır. Ancak rasajilinin intestinal absorpsiyonu üzerine P-glikoprotein etkisini *everted gut sac* yöntemiyle inceleyen bir çalışma mevcuttur. Bu çalışmada flavanonların (hesperetin, naringenin) ve P-gp inhibitörlerinin (verapamil, ritonavir ve kinidin) rasajilinin absorpsiyonun artırdığı ancak bu artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı bulunmuştur. Elde edilen bulgular doğrultusunda rasajilinin sıçan bağırsağından absorpsiyonu üzerine P-gp'nin önemli bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir (112).

Caco-2 hücrelerinden ve üçlü bağırsak perfüzyonu çalışmalarından elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde rasajilinin intestinal absorpsiyonun iyi olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak rasajilinin karaciğerde yüksek oranda metabolize olması nedeniyle biyoyararlanımı düşüktür (%36). BCS sistemine göre rasajilinin sınıf III yani düşük permeabilite gösterdiği bilinmektedir. Ancak bizim bulduğumuz sonuçlarla karşılaştırıldığında permeabilitesinin söylenildiğinin aksine yüksek olduğu gözlenmiştir. Literatürde BCS sınıfı belirlenirken hangi yöntemin kullanılarak rasajilinin permeabilitesinin tayin edildiği belirtilmemiştir. Kullanılan yöntem göre permeabilite değerinde ortaya çıkabilecek bir farklılık rasajilinin BCS sınıfını (Sınıf I / Sınıf III) etkileyecektir. Literatürde benzer bir çalışma olmadığından elde ettiğimiz sonuçlarla tam bir karşılaştırma yapmak mümkün olmamıştır.

#### 5.4. Hepatik Dispozisyon Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Rasajilinin sıçanlardaki hepatik dispozisyonu (dağılma ve eliminasyonu) tek geçişli *in situ* karaciğer perfüzyonu tekniğiyle ilk kez bu tez çalışmaları kapsamında incelenmiştir.

Referans maddeler (Ertirosit: vasküler hacim referans ajanı; Evans mavisi: ekstraselüler hacim referans ajanı) ve liyofilizasyon tekniğiyle tayin edilen dağılma

hacimleri (vasküler hacim: 0,16 mL/g, ekstravasküler hacim: 0,26 mL/g, total hacim: 0,773 mL/g; Tablo 4.33) literatür verileriyle oldukça iyi bir uyum içerisinde (211, 212).

Rasajilinin hepatik dağılma profilleri eritrosit ve Evans mavisiiyle karşılaştırıldığında karaciğerde daha geniş bir alana dağıldığı tespit edilmiştir. Rasajilinin sıçanlarda hepatik ekstraksiyonu 0,404 olup orta derecede (ekstraksiyon oranı 0,3-0,7) ekstraksiyona uğradığı bulunmuştur. Hepatik klerensi 0,101 mL/sn olarak tayin edilmiştir. Literatürde rasajilinin hepatik dispoziyonunu sıçan karaciğer perfüzyonu yöntemi kullanılarak inceleyen bir çalışma olmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.

## 6. SONUÇLAR

Tez kapsamında, Parkinson tedavisinde kullanılan ve monoamin oksidaz B (MAO-B) inhibitörü olan rasajilini içeren ağızda dağılan tablet formülasyonu geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla;

- 17 adet rasajilin içermeyen plasebo ODT formülasyonu geliştirilerek direkt basım yöntemi ile hazırlanmıştır.
- ODT formülasyonların toz kontrolleri ve tablet karakterizasyon çalışmaları farmakopeler ve literatürden yararlanılarak uygun şekilde yapılmıştır.
- Toz ve tablet karakterizasyon çalışmalarından elde edilen bulgular doğrultusunda optimum formülasyon olarak ODT-9 formülasyonu seçilmiştir.
- Deneysel çalışmalardan elde edilen numunelerdeki rasajilin miktarı valide edilmiş bir HPLC yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir.
- Rasajilin içeren (1mg) optimum formülasyonda (ODT-9R) toz kontrolleri yapıldıktan sonra direkt basım yöntemiyle basılarak tabletlerde karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.
  - Rasajilin, plasebo ODT-9 ve rasajilin ODT (ODT-9R)'de FT-IR analizleri yapılarak rasajilin ODT eksipiyanlarıyla geçimli olduğu tespit edilmiştir.
  - Plasebo ODT ile rasajilin içeren optimum formülasyonun (ODT-9R) ilavesiyle toz ve tablet kontrollerinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
  - Rasajilin ODT'nin ıslanma süresi 17 sn, su absorplama kapasitesi %266 olarak tayin edilmiştir.
  - Rasajilin ODT'nin dağılma süresi 10,7 sn, ve üç farklı ortamda (distile su, 0,1N HCl, pH 6,8 fosfat tamponu) gerçekleştirilen çözünme hızı çalışmalarında 5 dk'da çözünen yaklaşık %100 olarak tayin edilmiştir.

- Rasajilin ODT'nin içerik tek düzeliği %101,7 olarak tayin edilmiş ve ODT'erin rasajilini belirtilen miktarda içerdiği gösterilmiştir.
- ODT eksipiyanları varlığında rasajilinin Caco-2 hücre hattından permeabilitesi anlamlı derecede artmış ( $p<0,05$ ), permeabilite bulguları doğrultusunda absorpsiyonu iyi olarak değerlendirilmiştir.
- ODT eksipiyanları varlığında rasajilinin jejunum, ileum ve kolondan permabilitesi anlamlı derecede atmıştır ( $p<0,05$ ). Rasajilin ve Rasajilin ODT'nin permeabilitesinin metoprolol benzer ya da daha yüksek olması nedeniyle intestinal permeabilitesi yüksek olarak değerlendirilmiştir.
- Rasajilinin sıçan karaciğerindeki hepatik dispoziyonu *in situ* karaciğer perfüzyonu çalışmalarıyla ilk kez bu tez çalışmaları kapsamında incelenmiş, hepatik ekstraksiyon 0,404 ve hepatik klerensi 0,101 ml/sn olarak tayin edilmiştir.

Tez çalışmalarından elde edilen bulgular doğrultusunda hedeflenen amaca uygun bir rasajilin ODT formülasyonu geliştirilmiştir. Rasajilinin pregastrik absorpsiyonu olup olmadığı uygun bir bukkal hücre hattı ya da bukkal mukazadan permeasyonu Franz diffüzyon çalışmalarıyla incelenebilir. Ayrıca geliştirilen ODT'nin rasajilinin biyoyararlanımına etkisi/katkısı *in vivo* hayvan deneyleri yapılarak incelenebilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Leegwater-Kim J, Bortan E. The role of rasagiline in the treatment of Parkinson's disease. *Clin Interv Aging*. 2010;5:149-56.
2. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, Volkmann J, et al. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3(1):1-21.
3. Chopade P, Chopade N, Zhao Z, Mitragotri S, Liao R, Chandran Suja V. Alzheimer's and Parkinson's disease therapies in the clinic. *Bioeng Transl Med*. 2023;8(1):e10367.
4. Mandel S, Weinreb O, Amit T, Youdim MB. Mechanism of neuroprotective action of the anti-Parkinson drug rasagiline and its derivatives. *Brain Res Brain Res Rev*. 2005;48(2):379-87.
5. Meloun M, Ferenčíková Z, Vrána A. Thermodynamic dissociation constants of rasagiline by the nonlinear regression and factor analysis of multiwavelength spectrophotometric pH titration data. *J Chem Eng Data*. 2010;55(8):2707-13.
6. Seeberger LC, Hauser RA. Optimizing bioavailability in the treatment of Parkinson's disease. *Neuropharmacol*. 2007;53(7):791-800.
7. Youdim MB, Bar Am O, Yogev-Falach M, Weinreb O, Maruyama W, Naoi M, et al. Rasagiline: neurodegeneration, neuroprotection, and mitochondrial permeability transition. *J Neurosci Res*. 2005;79(1-2):172-9.
8. Murakami H, Shiraishi T, Umehara T, Omoto S, Iguchi Y. Recent advances in drug therapy for parkinson's disease. *Intern Med*. 2023;62(1):33-42.
9. Müller T. Safinamide: An add-on treatment for managing Parkinson's disease. *Clin Pharmacol*. 2018:31-41.
10. H. Lieberman LL, J. B. Schwartz. *Pharmaceutical dosage forms: tablets*. Marcel Dekker. Inc, New York, 1990.
11. Gautam D, Talwan MP. Formulation aspects and manufacturing technology—a review on fast disintegrating tablets. 2023;22(01):1265-1288.
12. United nations, department of economic and social affairs, population division (2019). *World Population Ageing 2019: Highlights (ST/ESA/SER.A/430)*
13. Sunada H, Bi Y. Preparation, evaluation and optimization of rapidly disintegrating tablets. *Powder Technol*. 2002;122(2-3):188-98.
14. Encouraging children to swallow tablets or capsules [Internet]. 2019 [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: [https://bpac.org.nz/Supplement/2014/September/docs/pillswallowing\\_article.pdf](https://bpac.org.nz/Supplement/2014/September/docs/pillswallowing_article.pdf).
15. Khaikhura S, Singh B, Joshi D, Semwal N. Orally disintegrating tablet: A review. *World J Biol Pharm and Health Sci*. 2022;11(3):018-25.
16. Yapar EA. Orally disintegrating tablets: an overview. *J Appl Pharm Sci*. 2014;4(02):118-25.
17. *European Pharmacopoeia*, 10th ed.; Council of Europ: Strasbourg, France, 2021.



18. Food and Drug Administration Guidance for Industry Orally Disintegrating Tablets. December 2008.
19. Rangasamy M. Oral disintegrating tablets: a future compaction. *Drug Invent Today*. 2009;1(1):61-5.
20. Ölmez SS, Vural İ. Advantages and quality control of orally disintegrating tablets. *FABAD J Pharm Sci*. 2009;34(3):167-72.
21. Bashir S, Fitaihi R, Abdelhakim HE. Advances in formulation and manufacturing strategies for the delivery of therapeutic proteins and peptides in orally disintegrating dosage forms. *Eur J Pharm Sci*. 2023:106374.
22. Ölmez SS, Vural İ, Şahin S, Ertuğrul A, Çapan Y. Ağızda dağılan tabletler II: in vitro ve in vivo değerlendirmeleri. *Hacettepe Üniv Eczacılık Fak Derg*. 2010;31(1):59-70.
23. Bi Y, Sunada H, Yonezawa Y, Danjo K, Otsuka A, IIDA K. Preparation and evaluation of a compressed tablet rapidly disintegrating in the oral cavity. *Chem Pharm Bull*. 1996;44(11):2121-7.
24. Nitin T, Jeet SV, Kumar MS. Top O. Novel fast dissolving tablets: a comprehensive review. *Consultant*. 2012;16.
25. Nagar P, Singh K, Chauhan I, Verma M, Yasir M, Khan A, et al. Orally disintegrating tablets: formulation, preparation techniques and evaluation. *J Appl Pharm Sci*. 2011;1(04):35-45.
26. Kuchekar B, Badhan AC, Mahajan H. Mouth dissolving tablets: a novel drug delivery system. *Pharm Times*. 2003;35(1):7-9.
27. Jangid S, Yadav A, Jain DK. Dispersible tablet as a formulation for oral drug delivery system. *J Adv Sci Res*. 2023;14(01):08-14.
28. Abay F, Ugurlu T. Orally disintegrating tablets: a short review. *J Pharm Drug Dev*. 2015;3(3):303.
29. Comoglu T, Dilek Ozyilmaz E. Orally disintegrating tablets and orally disintegrating mini tablets–novel dosage forms for pediatric use. *Pharm Dev Technol*. 2019;24(7):902-14.
30. Manivannan R. Oral disintegrating tablets: a future compaction. *Drug Invent Today*. 2009;1(1):61-5.
31. Pahwa R, Piplani M, Sharma PC, Kaushik D, Nanda S. Orally disintegrating tablets-friendly to pediatrics and geriatrics. *Arch Appl Sci Res*. 2010;2(2):35-48.
32. Bharawaj S, Jain V, Sharma S, Jat R, Jain S. Orally disintegrating tablets: a review. *Drug Invent Today*. 2010;2(1):81-88.
33. Zhang Y, Carlin B. Stable orally disintegrating tablets having low superdisintegrant. *Google Patents*;12/702,846, 2011.
34. Kean EA, Adeleke OA. Orally disintegrating drug carriers for paediatric pharmacotherapy. *Eur J Pharm Sci*. 2023;182:106377.
35. Ölmez SS, Vural İ, Şahin S, Ertuğrul A, Çapan Y. Ağızda dağılan tabletler 1: hazırlama teknolojileri. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 2010;30:205-30.

36. Parkash V, Maan S, Deepika SKY, Hemlata VJ. Fast disintegrating tablets: opportunity in drug delivery system. *J Adv Pharm Technol Res.* 2011;2(4):223.
37. Sagar T, Amol G, Rahul D, Prashant P, Yogesh S. *Int J Pharm Sci.* 2012;4(2):1896.
38. Vishvakarma V, Kaur M, Nagpal M, Arora S. Role of nanotechnology in taste masking: recent updates. *Curr Drug Res Rev.* 2023;15(1):1-14.
39. Sohi H, Sultana Y, Khar RK. Taste masking technologies in oral pharmaceuticals: recent developments and approaches. *Drug Dev Ind Pharm.* 2004;30(5):429-48.
40. Bhalerao K, Gambhire S, Singh S. Taste masking to improve compliance. *Int Res J Pharm Appl Sci.* 2013;3(5):224-37.
41. Kumar NP, Nayyar P, Kumar SP. Superdisintegrants-current approach. *J Drug Deliv Ther.* 2014;4(3):37-44.
42. Pahwa R, Gupta N. Superdisintegrants in the development of orally disintegrating tablets: a review. *Int J Pharm Sci Res.* 2011;2(11):2767.
43. Gandhi L, Akhtar S. Comparative study on effect of natural and synthetic superdisintegrants in the formulation of orodispersible tablets. *J Drug Deliv Ther.* 2019;9(2):507-13.
44. Kumar RS, Kumari A. Superdisintegrant: crucial elements for mouth dissolving tablets. *J Drug Deliv Ther.* 2019;9(2):461-8.
45. Roy D, Bhowmik D, Kumar KS. A comprehensive review on superdisintegrants used in orodispersible tablets. *Indian J Res Pharm Biotechnol.* 2014;2(4):1297-302.
46. Agarwal S, Misra R. A review on: formulation, technological and beneficial aspects of oral dispersible tablets. *Int J Pharm Prof Res.* 2023;14(1):92-9.
47. Sharma SN, Sonawane RS. Role of superdisintegrants in immediate release tablets: a review. *J Pharm Biosci.* 2017;5(1):1-5.
48. Mohanachandran P, Sindhumol P, Kiran T. Superdisintegrants: an overview. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2011;6(1):105-9.
49. Jassem NA. Orodispersible Tablets: A Review on recent trends in drug delivery. *Int J Drug Deliv.* 2022;12(1):432-6.
50. Nagar P, Singh K, Chauhan I, Verma M, Yasir M, Khan A, et al. Orally disintegrating tablets: formulation, preparation techniques and evaluation. *J Appl Pharm Sci.* 2011;4(1):35-45.
51. Wagh MA, Kothawade DP, Salunkhe KS, Chavan NV, Daga VR. Techniques used in orally disintegrating drug delivery system. *Int J Drug Deliv.* 2010;2(2):98-107.
52. Limpongsa E, Tabboon P, Pongjanyakul T, Jaipakdee N. Preparation and evaluation of directly compressible orally disintegrating tablets of cannabidiol formulated using liquisolid technique. *Pharmaceutics.* 2022;14(11):2407.
53. Nayak AK, Manna K. Current developments in orally disintegrating tablet technology. *J Pharm Educ Res.* 2011;2(1):21.
54. Badgujar BP, Mundada AS. The technologies used for developing orally disintegrating tablets: a review. *Acta Pharm.* 2011;61(2):117-39.

55. Acartürk F, Ağabeyoğlu İ, Çelebi N, Değim T, Değim Z, Doğanay T, et al. Modern Farmasötik Teknoloji. Türk Eczacılar Birliği Yayını. 2007(1):257-61.
56. Pandey P, Dahiya M. Oral disintegrating tablets: a review. *Int J Pharm Res Rev.* 2016;5(1):50-62.
57. Yapar EA. Orally disintegrating tablets: an overview. *J Appl Pharm Sci.* 2014;4(2):118-25.
58. Koizumi I. New method of preparing highly porous rapidly saliva soluble tablets by sublimation technique. *Int J Pharm.* 1997;152(1):127-31.
59. Abdelbary G, Prinderre P, Eouani C, Joachim J, Reynier J, Piccerelle P. The preparation of orally disintegrating tablets using a hydrophilic waxy binder. *Int J Pharm.* 2004;278(2):423-33.
60. Kuralla H, Saripilli R, Kolapalli VRM. Preparation and evaluation of drotaverine hydrochloride orally disintegrating tablets using melt granulation. *J Appl Pharm Sci.* 2018;8(10):039-46.
61. Saroha K, Mathur P, Verma S, Syan N, Kumar A. Mouth dissolving tablets: an overview on future compaction in oral formulation technologies. *Der Pharm Sinica.* 2010;1(1):179-87.
62. Fina F, Madla CM, Goyanes A, Zhang J, Gaisford S, Basit AW. Fabricating 3D printed orally disintegrating printlets using selective laser sintering. *Int J Pharm.* 2018;541(1-2):101-7.
63. Allahham N, Fina F, Marcuta C, Kraschew L, Mohr W, Gaisford S, et al. Selective laser sintering 3D printing of orally disintegrating printlets containing ondansetron. *Pharmaceutics.* 2020;12(2):110.
64. Shukla D, Chakraborty S, Singh S, Mishra B. Mouth dissolving tablets I: an overview of formulation technology. *Sci Pharm.* 2009;77(2):309-26.
65. Mahboob MBH, Riaz T, Jamshaid M, Bashir I, Zulfiqar S. Oral films: A comprehensive review. *Int Curr Pharm J.* 2016;5(12):111-7.
66. Pokhriyal A, Tripathi G. Orally disintegrating film: a review. *World J Pharm Res.* 2022;11(3):441-461.
67. Arora P, Sethi VA. Orodispersible tablets: a comprehensive review. *Int J Res Dev Pharm Life Sci.* 2013;2(2):270-84.
68. Vinoth R, Sivakrishnan S, Swamivelmanickam M, Tamilselvan C. A comprehensive review on mouth dissolving tablet. *J Pharm Res Int.* 2021;33(59B):502-13.
69. Rajput RA. Review on orally dispersible tablet. *Int J Res Publ Rev.* 2022;13(10):1149-1153.
70. Wilson C, Washington N, Peach J, Murray G, Kennerley J. The behaviour of a fast-dissolving dosage form (Expidet) followed by  $\gamma$ -scintigraphy. *Int J Pharm.* 1987;40(1-2):119-23.
71. Bandari S, Mittapalli RK, Gannu R. Orodispersible tablets: an overview. *Asian J Pharm.* 2008;2(1):159-168.

72. Aarti J, Sonali J, Ganesh D. Orodispersible tablets: a comprehensive review. *Res J Pharm Technol.* 2014;7(3):368-375.
73. Shangraw R, Mitrevej A, Shah M. A new era of tablet disintegrants. *Pharm Technol.* 1980;4(10):49-57.
74. Chaturvedi A, Verma A. Fast disintegrating tablet technology: newly prospects. *Int J Pharm Sci Res.* 2011;2(12):3046.
75. Thabassum F. Development and evaluation of fast dissolving tablets of angiotensin-II receptor antagonist by sublimation method. *Int J Innov Sci, Eng Technol.* 2022;09(07):159-217.
76. Phadatare SA, Yadav VD, Jadhav PD, Navale SD. A review on oro-dispersible tablets and patented technology. *World J Pharm Res.* 2021;11(2):2525-2533.
77. Gazewood JD, Richards DR, Clebak KT. Parkinson disease: an update. *Am Fam Physician.* 2013;87(4):267-73.
78. Rizek P, Kumar N, Jog MS. An update on the diagnosis and treatment of Parkinson disease. *Can Med Assoc J.* 2016;188(16):1157-65.
79. Aarsland D, Batzu L, Halliday GM, Geurtsen GJ, Ballard C, Ray Chaudhuri K, et al. Parkinson disease-associated cognitive impairment. *Nat Rev Dis Primers.* 2021;7(1):1-21.
80. Smith L, Schapira AH. GBA variants and Parkinson disease: mechanisms and treatments. *Cells.* 2022;11(8):1261-1283.
81. Blandini F. Neuroprotection by rasagiline: a new therapeutic approach to Parkinson's disease? *CNS Drug Rev.* 2005;11(2):183-94.
82. Pathophysiology of Parkinson's disease [Internet]. 2022 [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: [https://en.wikipedia.org/wiki/Pathophysiology\\_of\\_Parkinson%27s\\_disease](https://en.wikipedia.org/wiki/Pathophysiology_of_Parkinson%27s_disease).
83. At the Earliest Sign of Parkinson's Disease, Do This [Internet]. 2022 [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: [https://www.theepochtimes.com/health/at-the-earliest-sign-of-parkinsons-disease-do-this\\_4510514.html?welcomeuser=1](https://www.theepochtimes.com/health/at-the-earliest-sign-of-parkinsons-disease-do-this_4510514.html?welcomeuser=1).
84. Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM-Y, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M.  $\alpha$ -synuclein in lewy bodies. *Nature.* 1997;388(6645):839-40.
85. De Lau LM, Breteler MM. Epidemiology of Parkinson's disease. *The Lancet Neurol.* 2006;5(6):525-35.
86. Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease. *The Lancet.* 2015;386(9996):896-912.
87. Gagne JJ, Power MC. Anti-inflammatory drugs and risk of Parkinson disease: a meta-analysis. *Neurology.* 2010;74(12):995-1002.
88. Elkouzi A, Vedam-Mai V, Eisinger RS, Okun MS. Emerging therapies in Parkinson disease-repurposed drugs and new approaches. *Nat Rev Neurol.* 2019;15(4):204-23.
89. Jenner P. Molecular mechanisms of L-DOPA-induced dyskinesia. *Nat Rev Neurosci.* 2008;9(9):665-77.

90. Connolly BS, Lang AE. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. *Am Med Assoc.* 2014;311(16):1670-83.
91. Masood N, Jimenez-Shahed J. Effective management of “OFF” episodes in Parkinson’s disease: emerging treatment strategies and unmet clinical needs. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2023;19:247-66.
92. Pradhan AU, Uwishema O, Onyeaka H, Adanur I, Dost B. A review of stem cell therapy: an emerging treatment for dementia in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Brain Behav.* 2022;12(9):e2740.
93. Fan H-X, Sheng S, Zhang F. New hope for Parkinson's disease treatment: targeting gut microbiota. *CNS Neurosci Ther.* 2022;28(11):1675-88.
94. Nurrahma BA, Tsao S-P, Wu C-H, Yeh T-H, Hsieh P-S, Panunggal B, et al. Probiotic supplementation facilitates recovery of 6-OHDA-induced motor deficit via improving mitochondrial function and energy metabolism. *Front Aging Neurosci.* 2021;13:668775.
95. Tamtaji OR, Taghizadeh M, Kakhaki RD, Kouchaki E, Bahmani F, Borzabadi S, et al. Clinical and metabolic response to probiotic administration in people with Parkinson's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr.* 2019;38(3):1031-5.
96. Savaş A, Akbostancı C. Parkinson hastalığında derin beyin stimülasyonu. *Türk Nöroşirürji Derg.* 2014;24(2):168-72.
97. Vesper J, Klostermann F, Stockhammer F, Funk Th, Brock M. Results of chronic subthalamic nucleus stimulation for Parkinson's disease: a 1-year follow-up study. *Surg Neurol.* 2022;57(5):306-311.
98. Ahlskog JE. Does vigorous exercise have a neuroprotective effect in Parkinson disease? *Neurol.* 2011;77(3):288-94.
99. National Collaborating Centre for Chronic Conditions (UK). *Parkinson's Disease: National Clinical Guideline for Diagnosis and Management in Primary and Secondary Care.* London: Royal College of Physicians (UK); 2006.
100. Goodwin VA, Richards SH, Taylor RS, Taylor AH, Campbell JL. The effectiveness of exercise interventions for people with Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Mov Disord.* 2008;23(5):631-40.
101. Dereli EE, Yaliman A. Comparison of the effects of a physiotherapist-supervised exercise programme and a self-supervised exercise programme on quality of life in patients with Parkinson’s disease. *Clin Rehabil.* 2010;24(4):352-62.
102. Costa J, Lunet N, Santos C, Santos J, Vaz-Carneiro A. Caffeine exposure and the risk of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Alzheimer's Dis.* 2010;20(s1):S221-S38.
103. Li Y, Qi L, Bai H, Liu Y, Fan R, Tu Y, et al. Pharmacokinetics and bioequivalence of rasagiline tablets in chinese healthy subjects under fasting and fed conditions: an open, randomized, single-dose, double-cycle, two-sequence, crossover trial. *Front Pharm.* 2020;11:571747.

104. Vitalis T, Fouquet C, Alvarez C, Seif I, Price D, Gaspar P, et al. Developmental expression of monoamine oxidases A and B in the central and peripheral nervous systems of the mouse. *J Comp Neurol.* 2002;442(4):331-347.
105. Jenner P. Mitochondria, monoamine oxidase B and Parkinson's disease. *Basal Ganglia.* 2012;2(4):S3-S7.
106. Oldfield V, Keating GM, Perry CM. Rasagiline, a review of its use in the management of Parkinson's disease. *Drugs.* 2007;67(12):1725-47.
107. Naoi M, Maruyama W, Inaba-Hasegawa K. Revelation in the neuroprotective functions of rasagiline and selegiline: the induction of distinct genes by different mechanisms. *Expert Review Neurother.* 2013;13(6):671-84.
108. Rasheed MZ, Tabassum H, Parvez S. Mitochondrial permeability transition pore: a promising target for the treatment of Parkinson's disease. *Protoplasma.* 2017;254(1):33-42.
109. Akao Y, Maruyama W, Shimizu S, Yi H, Nakagawa Y, Shamoto-Nagai M, et al. Mitochondrial permeability transition mediates apoptosis induced by N-methyl (R) salsolinol, an endogenous neurotoxin, and is inhibited by Bcl-2 and rasagiline, N-propargyl-1 (R)-aminoindan. *J Neurochem.* 2002;82(4):913-23.
110. Toksoy M, Tırnaksız F. Development of rasagiline mesylate loaded solid lipid nanoparticles in a thermosensitive mucoadhesive gel: formulation design using DoE, in-vitro and ex-vivo characterization. *J Res Pharm.* 2021;25(5):702-714.
111. Mittal D, Md S, Hasan Q, Fazil M, Ali A, Baboota S, et al. Brain targeted nanoparticulate drug delivery system of rasagiline via intranasal route. *Drug Deliv.* 2016;23(1):130-9.
112. Pingili R, Vemulapalli S, Mullapudi SS, Nuthakki S, Pendyala S, Kilaru N. Pharmacokinetic interaction study between flavanones (hesperetin, naringenin) and rasagiline mesylate in wistar rats. *Drug Dev Ind Pharm.* 2016;42(7):1110-7.
113. Łazewska D, Siwek A, Olejarz-Maciej A, Doroz-Płonka A, Wiktorowska-Owczarek A, Józwiak-Bebenista M, et al. Dual Targeting Ligands—Histamine H3 Receptor Ligands with Monoamine Oxidase B Inhibitory Activity—In Vitro and In Vivo Evaluation. *Pharmaceutics.* 2022;14(10):2187-2216.
114. Van Rijswick Y, Quesada M, Van Os S. Bioequivalence between generic rasagiline (as tartrate) and rasagiline (as mesylate). *J Bioequivalence Stud.* 2016;2(1):104-108.
115. Anusha I. Design and evaluation of rapidly disintegrating tablets of rasagiline mesylate. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2012;4(4):76-77.
116. Reddy AM, SrinivasaBabu P, Venu O, Sindhura J, Sri DN, Nagalakshmi B. Formulation development and evaluation of immediate release tablets of rasagiline mesylate. *Indian J Res Pharm Biotechnol.* 2016;4(1):19-21.
117. Güneş M, Turan G, Dönmezer A, Köse FA, Özer KÖ, Karavana SY. Mucoadhesive orodispersible film formulations of rasagiline mesylate for parkinson treatment. *J Facul Pharm Ankara Univ.* 2023;47(1):9-19.

118. Çomoğlu T, İnal Ö, Kargılı A, Pehlivanoğlu B. Formulation, in vitro and in vivo evaluation of taste masked rasagiline orally fast disintegrating tablets (ODTS). *Res Rev Pharm Pharm Sci*. 2017;6(2):27-38.
119. TEVA Pharmaceuticals USA. Highlights of prescribing information [Internet]. 2006 [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2014/021641s016s0171bl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/021641s016s0171bl.pdf).
120. Kunasekaran V, Krishnamoorthy K. Compatibility studies of rasagiline mesylate with selected excipients for an effective solid lipid nanoparticles formulation. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2015;7(1):73-80.
121. Konda RK, Chandu BR, Challa B, Kothapalli CB. Bio-analytical method development and validation of rasagiline by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry detection and its application to pharmacokinetic study. *J Pharm Anal*. 2012;2(5):342-9.
122. Reddy PS, Sudhakar K, Kumar N. Development and validation of a stability-indicating RP-HPLC method for the simultaneous estimation of process related impurities and degradation products of rasagiline mesylate in pharmaceutical formulation. *J Chromatogr Sci*. 2013;51(3):242-9.
123. USA TP. Azilect prescribing information [Internet]. 2018 [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: <https://www.azilect.com/azilect.pdf>.
124. Bocci G, Oprea TI, Benet LZ. State of the art and uses for the biopharmaceutics drug disposition classification system (BDDCS): new additions, revisions, and citation references. *J Am Assoc Pharm Sci*. 2022;24(2):1-17.
125. Youdim MB, Gross A, Finberg JP. Rasagiline [N-propargyl-1R (+)-aminoindan], a selective and potent inhibitor of mitochondrial monoamine oxidase B. *British J Pharm*. 2001;132(2):500-6.
126. Fernandez HH, Chen JJ. Monoamine oxidase-B inhibition in the treatment of Parkinson's disease. *Pharmacother: J Hum Pharm Drug Ther*. 2007;27(12P2):174S-85S.
127. Rabey J, Sagi I, Huberman M, Melamed E, Korczyn A, Giladi N, et al. Rasagiline mesylate, a new MAO-B inhibitor for the treatment of Parkinson's disease: a double-blind study as adjunctive therapy to levodopa. *Clin Neuropharm*. 2000;23(6):324-30.
128. Speiser Z, Levy R, Cohen S. Effects of N-propargyl-1-(R) aminoindan (rasagiline) in models of motor and cognition disorders. *MAO—The Mother of all Amine Oxidases*. 1998;52:287-300.
129. Nayak L, Hencheliffe C. Rasagiline in treatment of Parkinson's disease. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2008;4(1):23-32.
130. Brooks D. Rasagiline (Azilect): new MAO-B inhibitor for Parkinson's disease. *Prescriber*. 2006;17(3):19-25.
131. Chen JJ, Swope DM. Clinical pharmacology of rasagiline: a novel, second-generation propargylamine for the treatment of Parkinson disease. *J Clin Pharm*. 2005;45(8):878-94.

132. Dashtipour K, Lew MF. Rasagiline for the management of Parkinson's disease. *Clin Pract.* 2008;5(2):203-214.
133. Lecht S, Haroutiunian S, Hoffman A, Lazarovici P. Rasagiline—a novel MAO B inhibitor in Parkinson's disease therapy. *Ther Clin Risk Manage.* 2007;3(3):467-474.
134. Annex I summary of product characteristics [Internet]. 2005 [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/azilect-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/azilect-epar-product-information_en.pdf).
135. Stocchi F, Vacca L, Grassini P, Tomino C, Caminiti G, Casali M, ve ark. Overnight switch from rasagiline to safinamide in Parkinson's disease patients with motor fluctuations: a tolerability and safety study. *Eur J Neurol.* 2021;28(1);349-354.
136. Youdim M, Tipton K. Rat striatal monoamine oxidase-B inhibition by l-deprenyl and rasagiline: its relationship to 2-phenylethylamine-induced stereotypy and Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2002;8(4):247-53.
137. Agency EM. ICH M9 guideline on biopharmaceutics classification system-based biowaivers [Internet]. 2020 [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-m9-biopharmaceutics-classification-system-based-biowaivers-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-m9-biopharmaceutics-classification-system-based-biowaivers-step-5_en.pdf).
138. Biopharmaceutics Classification System- Based Biowaivers, M9 Guidance for Industry [Internet]. 2021 [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: <https://www.fda.gov/media/148472/download>.
139. Fogh J, Wright WC, Loveless JD. Absence of HeLa cell contamination in 169 cell lines derived from human tumors. *J Natl Cancer Instit.* 1977;58(2):209-14.
140. Lea T. Caco-2 cell line. The impact of food bioactives on health. 2015:103-11.
141. Sun H, Chow EC, Liu S, Du Y, Pang KS. The Caco-2 cell monolayer: usefulness and limitations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2008;4(4):395-411.
142. Artursson P, Karlsson J. Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1991;175(3):880-5.
143. Cheng K, Li C, Uss AS. Prediction of oral drug absorption in humans—from cultured cell lines and experimental animals. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2008;4(5):581-90.
144. Knipp GT, Ho NF, Barsuhn CL, Borchardt RT. Paracellular diffusion in caco-2 cell monolayers: effect of perturbation on the transport of hydrophilic compounds that vary in charge and size. *J Pharm Sci.* 1997;86(10):1105-10.
145. Tang AS, Chikhale PJ, Shah PK, Borchardt RT. Utilization of a human intestinal epithelial cell culture system (caco-2) for evaluating cytoprotective agents. *Pharm Res.* 1993;10(11):1620-6.
146. Nerurkar MM, Burton PS, Borchardt RT. The use of surfactants to enhance the permeability of peptides through caco-2 cells by inhibition of an apically polarized efflux system. *Pharm Res.* 1996;13(4):528-34.



147. Burton PS, Conradi RA, Ho NF, Hilgers AR, Borchardt RT. How structural features influence the biomembrane permeability of peptides. *J Pharm Sci.* 1996;85(12):1336-40.
148. Burton PS, Goodwin JT, Conradi RA, Ho NF, Hilgers AR. In vitro permeability of peptidomimetic drugs: the role of polarized efflux pathways as additional barriers to absorption. *Adv Drug Deliv Rev.* 1997;23(1-3):143-56.
149. Wachter VJ, Salphati L, Benet LZ. Active secretion and enterocytic drug metabolism barriers to drug absorption. *Adv Drug Deliv Rev.* 1996;20(1):99-112.
150. Weiss M, Kuhlmann O, Hung DY, Roberts MS. Cytoplasmic binding and disposition kinetics of diclofenac in the isolated perfused rat liver. *Br J Pharm.* 2000;130(6):1331-8.
151. Schanker LS, Tocco DJ, Brodie BB, Hogben CAM. Absorption of drugs from the rat small intestine. *J Pharm Exp Ther.* 1958;123(1):81-8.
152. Barr WH. The role of intestinal metabolism in bioavailability. *Drugs Pharm Sci.* 1991;48:149-67.
153. Komiya I, Park J, Kamani A, Ho NF, Higuchi WI. Quantitative mechanistic studies in simultaneous fluid flow and intestinal absorption using steroids as model solutes. *Int J Pharm.* 1980;4(3):249-62.
154. Dahan A, West BT, Amidon GL. Segmental-dependent membrane permeability along the intestine following oral drug administration: evaluation of a triple single-pass intestinal perfusion (TSPIP) approach in the rat. *Eur J Pharm Sci.* 2009;36(2-3):320-9.
155. Elias H, Bengelsdorf H. The structure of the liver of vertebrates. *Cells Tissues Organs.* 1952;14(4):297-337.
156. Abdel-Misih SR, Bloomston M. Liver anatomy. *Surg Clin.* 2010;90(4):643-53.
157. Tortora GJ, Derrickson BH. Principles of anatomy and physiology: John Wiley & Sons; 2018.
158. Elaine N, Marieb K. Human Anatomy & Physiology+ new mastering a&p with Pearson Etext. London, England: Benjamin-Cummings Pub Co; 2012.
159. Shneider BL, Sherman PM. Pediatric Gastrointestinal Disease. Connecticut: PMPH-USA. ISBN 1-55009-364-9; 2008.
160. Tang RS, Savides TJ. Gastrointestinal subepithelial masses. *Endosc Ultrasonograph.* 2016:138-50.
161. Rappaport AM. Microcirculatory units in the mammalian liver. Their arterial and portal components. *Bibl Anat.* 1977;16:116-20.
162. Probst I, Jungermann K. The glucagon-insulin antagonism and glucagon-dexamethasone synergism in the induction of phosphoenolpyruvate carboxykinase in cultured rat hepatocytes. 1983;364(2):1739-1746.
163. LeCluyse EL, Witek RP, Andersen ME, Powers MJ. Organotypic liver culture models: meeting current challenges in toxicity testing. *Crit Rev Toxicol.* 2012;42(6):501-48.

164. Miller LL, Bly C, Watson M, Bale W. The dominant role of the liver in plasma protein synthesis: a direct study of the isolated perfused rat liver with the aid of lysine- $\epsilon$ -C14. *J Exp Med*. 1951;94(5):431.
165. Shah P, Jogani V, Bagchi T, Misra A. Role of caco-2 cell monolayers in prediction of intestinal drug absorption. *Biotechnol Prog*. 2006;22(1):186-98.
166. Guideline IHT. Validation of analytical procedures: text and methodology. Q2 (R1). 2005;1(20):05.
167. FDA F. Guidance for industry: bioanalytical method validation [Internet]. 2001 [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidance-for-Industry.pdf>.
168. Mishra DN, Bindal M, Singh SK, Kumar SGV. Spray dried excipient base: a novel technique for the formulation of orally disintegrating tablets. *Chem Pharm Bull*. 2006;54(1):99-102.
169. Hirani JJ, Rathod DA, Vadalía KR. Orally disintegrating tablets: a review. *Trop J Pharm Res*. 2009;8(2):161-172.
170. Larregieu CA, Benet LZ. Drug discovery and regulatory considerations for improving in silico and in vitro predictions that use caco-2 as a surrogate for human intestinal permeability measurements. *J Am Assoc Pharm Sci*. 2013;15(2):483-97.
171. Hidalgo IJ, Raub TJ, Borchardt RT. Characterization of the human colon carcinoma cell line (caco-2) as a model system for intestinal epithelial permeability. *Gastroenterol*. 1989;96(2):736-49.
172. Wagner D, Spahn-Langguth H, Hanafy A, Koggel A, Langguth P. Intestinal drug efflux: formulation and food effects. *Adv Drug Deliv Rev*. 2001;50(1):13-31.
173. Sutton SC, Rinaldi M, Vukovinsky K. Comparison of the gravimetric, phenol red, and <sup>14</sup>C-PEG-3350 methods to determine water absorption in the rat single-pass intestinal perfusion model. *Am Assoc Pharm Sci*. 2001;3(3):93-7.
174. Curran PF, Solomon A. Ion and water fluxes in the ileum of rats. *J Gen Physiol*. 1957;41(1):143-68.
175. Zakeri-Milani P, Valizadeh H, Tajerzadeh H, Azarmi Y, Islambolchilar Z, Barzegar S, et al. Predicting human intestinal permeability using single-pass intestinal perfusion in rat. *J Pharm Pharm Sci*. 2007;10(3):368-79.
176. Kaynak MS, Buyutuncel E, Cagler H, Sahin S. Determination of regional intestinal permeability of diclofenac and metoprolol using a newly-developed and validated high performance liquid chromatographic method. *Trop J Pharm Res*. 2015;14(1):163-70.
177. Fagerholm U, Johansson M, Lennernäs H. Comparison between permeability coefficients in rat and human jejunum. *Pharm Res*. 1996;13(9):1336-42.
178. Rathore R, Jain JP, Srivastava A, Jachak S, Kumar N. Simultaneous determination of hydrazinocurcumin and phenol red in samples from rat intestinal permeability studies: HPLC method development and validation. *J Pharm Biomed Anal*. 2008;46(2):374-80.

179. Sahin S, Karabey Y, Kaynak M, Hincal A. Potential use of freeze-drying technique for estimation of tissue water content. *Methods Find Exp Clin Pharm.* 2006;28(4):211-6.
180. Agency EM. Guideline on bioanalytical method validation. Committee for Medicinal Products for Human Use. 2011.
181. Wake PS, Kshirsagar M. Compatibility study In-vitro drug release study of solid lipid nanoparticle based transdermal drug delivery system for rasagiline mesylate. *Evaluation.* 2017;10:5.
182. Food and Drug Administration. Bioanalytical method validation. Guidance for Industry. 2001.
183. Rowe RC, Sheskey P, Quinn M. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6<sup>th</sup> ed. Libros Digitales-Pharmaceutical Press; 2009.
184. Polyplasdone TM crospovidone superdisintegrants [Internet]. [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: [https://www.pharmaexcipients.com/wp-content/uploads/attachments/PC\\_11319\\_Polyplasdone\\_Overview.pdf?t=1508413942](https://www.pharmaexcipients.com/wp-content/uploads/attachments/PC_11319_Polyplasdone_Overview.pdf?t=1508413942).
185. Kusuma R, Mani Chandrika VA, Divya V, Bhavani D, Harika MR. Design characterization and evaluation of mouth dissolving tablets of lisinopril using banana as natural disintegrate. *Int J Adv Res Med Pharm Sci.* 2021;6(6):46-52.
186. Primojel [Internet]. [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: <https://dfepharma.com/en/Excipients/Expertise/Oral-Solid-Dose/Superdisintegrants/Primojel>.
187. Kroskarmelloz sodyum [Internet]. [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: <https://www.iff.com/portfolio/markets/pharmaceutical/excipients/products>.
188. Pimple P, Singh P, Prabhu A, Gupta S. Development and optimization of HP- $\beta$ -CD inclusion complex-based fast orally disintegrating tablet of pitavastatin calcium. *J Pharm Innov.* 2022;17(3):993-1010.
189. Hemraj R, Agarwal D. Formulation and evaluation of meclufenamate fast dissolving tablet. *Asian J Pharm Res Dev.* 2022;10(2):138-45.
190. Jivraj M, Martini LG, Thomson CM. An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets. *Pharm Sci Technol Today.* 2000;3(2):58-63.
191. Liew KB, Tan YTF, Peh KK. Taste-masked and affordable donepezil hydrochloride orally disintegrating tablet as promising solution for non-compliance in Alzheimer's disease patients. *Drug Dev Ind Pharm.* 2015;41(4):583-93.
192. Wang J, Wen H, Desai D. Lubrication in tablet formulations. *Eur J Pharm Biopharm.* 2010;75(1):1-15.
193. Chang R-K, Leonzio M, Hussain MA, Hussain M. Effect of colloidal silicon dioxide on flowing and tableting properties of an experimental, crosslinked polyalkylammonium polymer. *Pharm Dev Technol.* 1999;4(2):285-9.
194. Jonat S, Hasenzahl S, Gray A, Schmidt PC. Mechanism of glidants: investigation of the effect of different colloidal silicon dioxide types on powder flow by atomic force and scanning electron microscopy. *J Pharm Sci.* 2004;93(10):2635-44.

195. Cantor SL, Augsburger LL, Hoag SW, Gerhardt A. Pharmaceutical granulation processes, mechanism, and the use of binders. *Pharm Dosage Forms-Tablets*: CRC Press; 2008. p. 277-318.
196. United States Pharmacopeia (USP 30) The United States Pharmacopeial Convention Inc Rockville. 2008.
197. Bulk Density and Tapped Density of Powders, in United States Pharmacopeia and National Formulary USP 41–NF 36. The United States Pharmacopeial Convention, Inc: Rockville 2018:6360-2.
198. Hu L, Gu D, Hu Q, Zhang H, Yang X. A novel approach to formulate and optimize orally disintegrating tablets of bambuterol hydrochloride. *Pharm Anal Acta*. 2013;4(3):216.
199. Ramtoola Z, Pabari R, Kelly J. Method of producing fast dissolving tablets. WO Patent WO/2008/120,181. 2008.
200. Panigrahi R, Behera S. A review on fast dissolving tablets. *WebmedCentral Quality And Patient Safety* 2010;1(9):WMC00809.
201. Jain C, Naruka P. Formulation and evaluation of fast dissolving tablets of valsartan. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2009;1(1):219-26.
202. Singh SK, Mishra DN, Jassal R, Soni P. Fast disintegrating combination tablets of omeprazole and domperidone. *Asian J Pharm Clin Res*. 2009;2(3):74-82.
203. Guideline on the Investigation of Bioequivalence. European Medicines Agency. 2010:1-27.
204. FDA, Guidance for Industry Bioequivalence Guidance. 2006.
205. Bukka R, Prakasam K, Patel CD. Preparation and evaluation of intraoral drug delivery system for rasagiline mesylate. *Int J Pharm Sci Drug Res*. 2010;2:294-301.
206. Amidon GL, Lennernäs H, Shah VP, Crison JR. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm Res*. 1995;12(3):413-20.
207. Wu CY, Benet LZ. Predicting drug disposition via application of BCS: transport/absorption/elimination interplay and development of a biopharmaceutics drug disposition classification system. *Pharm Res*. 2005;22(1):11-23.
208. Khadka P, Ro J, Kim H, Kim I, Kim JT, Kim H, et al. Pharmaceutical particle technologies: an approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability. *Asian J Pharm Sci*. 2014;9(6):304-16.
209. Yee S. In vitro permeability across caco-2 cells (colonic) can predict in vivo (small intestinal) absorption in man—fact or myth. *Pharm Res*. 1997;14(6):763-6.
210. Thébault JJ, Guillaume M, Levy R. Tolerability, safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of rasagiline: a potent, selective, and irreversible monoamine oxidase type B inhibitor. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther*. 2004;24(10):1295-305.
211. Sahin S, Rowland M. Estimation of aqueous distributional spaces in the dual perfused rat liver. *J Physiol*. 2000;528(1):199-207.

212. Karabey Y, Sahin S. Estimation of hepatic distributional volumes using non-labeled reference markers. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 2006;31(4):285-90.

## 8. EKLER

### EK I- Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul İzni



T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 92038575 – 23

#### HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	: 27.02.2018 (SALİ)
TOPLANTI SAYISI	: 2018/02
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 2018/09
KARAR NUMARASI	: 2018/09 – 04
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Prof. Dr. Selma ŞAHİN
HAYVAN DENEYLERİNDE GÖREVLİ ARAŞTIRMACILAR	: Prof. Dr. Selma ŞAHİN, Ecz. Ertan ÖZDEMİR, Dr. Ecz. Tuğba Gülsüm İNAL
DİĞER YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	:
ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI	: 24 Adet Sprague Dawley Sıçan (250-300g)

Üniversitemiz Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Selma ŞAHİN' in araştırma yürütücüsü olduğu 2018/09 kayıt numaralı "*Rasafildin İlacının Ağzıda Dağılımı Tablet Formülasyonlarının Sıçanlardaki İntestinal Permeabilitesinin ve Karaciğerdeki Dispozisyonunun İncelenmesi*" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.


Araştırma yürütücüsü Kurulumuza araştırma projesinin bitiş tarihini bildirmek ve proje sonuç raporunu sunmak ile yükümlüdür.

Prof. Dr. Sena ÇALIŞ  
Etik Kurul Başkanı

**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU GÜNDEMİ - İMZA SİRKÜLERİ**  
**TOPLANTI TARİHİ** : 27.02.2018 (SALI)  
**TOPLANTI SAYISI** : 2018/02  
**TOPLANTI SAATI** : 13.30

Prof. Dr. Sema ÇALIŞ (Başkan)	Prof. Dr. Nüket Örnek BÜKEN (Üye)	Prof. Dr. Merve SARA
Doç. Dr. Meltem TUNCER (Üye)	Doç. Dr. A. Cevdet AKMAN (Üye)	Prof. Dr. Mehmet Ali ONUR (Üye)
Doç. Dr. <del>Özge</del> ESENDAĞLI (Üye)	Doç. Dr. Aytekin AKYOL (Üye)	Doç. Dr. Efsel KONUŞ (Üye)
Doç. Dr. Ayşe ONBAŞILAR (Üye)	Doç. Dr. Mehmet Akber ÇETİNKAYA (Üye)	Yrd. Doç. Dr. Barış Cahide TEL (Üye)
(İZİNLİ) Mevlüt ÖKSÜZOĞLU (Üye)	Serdar ÇAKIROĞLU (Üye)	Avukat Yasemin ÖZSELÇUK (Üye)

## EK II- Turnitin Dijital Makbuz



## Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen:	Ertan Özdemir
Ödev başlığı:	ertan tez
Gönderi Başlığı:	tez
Dosya adı:	ertan_o_zdemir_tez.pdf
Dosya boyutu:	5.73M
Sayfa sayısı:	202
Kelime sayısı:	40,058
Karakter sayısı:	246,341
Gönderim Tarihi:	13-Şub-2023 04:24ÖS (UTC+0300)
Gönderim Numarası:	2013080856

13

13 ŞUB 2023 04:24 ÖS (UTC+0300)

ERTAN ÖZDEMİR

ERTAN TEZ

ERTAN ÖZDEMİR

ERTAN TEZ

ERTAN ÖZDEMİR

ERTAN TEZ

Copyright 2023 Turnitin. Tüm hakları saklıdır.



## EK III- Tez Çalışması Orijinallik Raporu

tez

ORJİNALLİK RAPORU

% <b>29</b>	% <b>28</b>	% <b>12</b>	% <b>12</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<b>acikbilim.yok.gov.tr</b> İnternet Kaynağı	% <b>7</b>
<b>2</b>	<b>openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</b> İnternet Kaynağı	% <b>4</b>
<b>3</b>	<b>www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</b> İnternet Kaynağı	% <b>3</b>
<b>4</b>	<b>link.springer.com</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>5</b>	<b>www.abdiibrahim.com.tr</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>6</b>	<b>titck.gov.tr</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>7</b>	<b>www.wjgnet.com</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>8</b>	<b>tr.tok.wiki</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>9</b>	<b>www.researchgate.net</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>

## 9. ÖZGEÇMİŞ