

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

**AĞIZDA DAĞILAN TABLET FORMÜLASYONLARININ
IN VITRO KARAKTERİZASYONLARI VE
PERMEABİLİTELERİ ÜZERİNE FARKLI YARDIMCI
MADDELERİN VE BASIM TEKNİKLERİNİN ETKİSİ**

Ecz. Özge Didem ULUHAN

**Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ANKARA

2019

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

**AĞIZDA DAĞILAN TABLET FORMÜLASYONLARININ *IN VITRO* KARAKTERİZASYONLARI VE PERMEABİLİTELERİ
ÜZERİNE FARKLI YARDIMCI MADDELERİN VE BASIM
TEKNİKLERİNİN ETKİSİ**

Ecz. Özge Didem ULUHAN

**Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Selma ŞAHİN**

**ANKARA
2019**

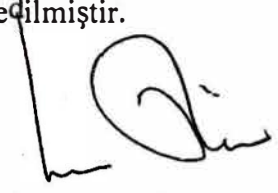
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZDA DAĞILAN TABLET FORMÜLASYONLARININ *IN VITRO*
KARAKTERİZASYONLARI VE PERMEABİLİTELERİ ÜZERİNE FARKLI
YARDIMCI MADDELERİN VE BASIM TEKNİKLERİNİN ETKİSİ

Ecz. Özge Didem ULUHAN

Danışman: Prof. Dr. Selma ŞAHİN

Bu tez çalışması 04.09.2019 tarihinde jürimiz tarafından “Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı”nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Levent ÖNER
Hacettepe Üniversitesi



Tez Danışmanı: Prof. Dr. Selma ŞAHİN
Hacettepe Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Zeynep Şafak TEKSİN
Gazi Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Tuba İNCEÇAYIR
Gazi Üniversitesi



Üye: Dr. Öğr. Üyesi Tuğba GÜLSÜN İNAL
Hacettepe Üniversitesi



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

24 Eylül 2019



Prof. Dr. Diclehan ORHAN

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. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- o Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

26/09/2019


Özge Didem ULUHAN

ⁱ"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 özgün olduğunu, Prof. Dr. Selma ŞAHİN danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesi'ne göre yazıldığımı beyan ederim.



Ecz. Özge Didem ULUHAN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve tez çalışmalarım süresince her konuda destek ve yardımcı olan, daima hoşgörü ile yol gösterici olan, değerli tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Selma ŞAHİN'e,

Tez çalışmamın araştırma ve deneysel kısımlarında akıl danıştığım, Ankara'da olamadığım için yürütemediğim tüm idari ve deneysel süreçlerde desteklerini esirgemeyen ve beni daima motive eden sevgili Dr. Öğr. Üyesi Tuğba GÜLSÜN İNAL'a,

Hücre kültürü çalışmalarım için verdiği desteğin yanı sıra, her türlü konuda yardımcı olan sevgili Dr. Ecz. Yağmur AKDAĞ ÇAYLI'ya; Ankara'da olamadığım zamanlarda deneysel çalışmalarım için gerekli olan ön hazırlıkların yapılması, malzeme tedarikinin sağlanması gibi pek çok süreçte yardım ve destek sağlayan, ayrıca istatistiksel hesaplama konusunda bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren sevgili Ecz. Nihan İZAT'a; UV analizlerim sırasında bilgi ve tecrübeleriyle çalışmalarımın destek olan sevgili Ecz. Naile ÖZTÜRK'e

Tez çalışmalarımın etkin madde olarak kullandığım trimetobenzamit hidroklorürü sağlayan Kurtsan İlaçları A.Ş 'ye; yardımcı maddeleri temin eden İLKO İlaç San. ve Tic. A.Ş'ye,

FT-IR spektroskopisi analizlerim için yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Keriman ÖZADALI SARI'ya ve Ecz. Merve ZENGİN'e,; çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen tüm Hacettepe Üniversitesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'ndaki değerli hocalarıma, tüm diğer arkadaşlarıma,

Ankara'ya geldiğim süre boyunca evini açan, deneysel sürecimi ve tezimi tamamlamama çok büyük katkı sağlayan sevgili arkadaşım Ecz. Dilara IŞIK'a, Ankara'da olamadığım için tezimin jüriye teslim edilmesinde yardımcı olan sevgili arkadaşım Ecz. Funda İPEK'e,

Araştırmamıza proje desteği sağlayan Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Gösterdikleri sonsuz sevgi ve anlayışlarıyla, hayatımın her anında beni destekleyen çok değerli aileme,

En içten teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

ÖZET

Uluhan, Ö.D. Ağızda Dağılan Tablet Formülasyonlarının *In Vitro* Karakterizasyonları ve Permeabiliteleri Üzerine Farklı Yardımcı Maddelerin ve Basım Tekniklerinin Etkisi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2019. Ağızda dağılan tabletler, pediyatrik ve geriyatrik, yutma güçlüğü çeken, nörolojik hastalıkları olan kişilerde konvansiyonel tabletlere göre daha kolay ve güvenle uygulanabilir. İlave su tüketime veya özel uygulama koşuluna ihtiyaç duyulmaksızın, tükürük ile teması sonrası ağızda kısa sürede dağılırlar. Mide bulantısı ve kusma, klinikte yaygın olarak karşılaşılan, kişinin günlük hayatını sınırlayan hastalıklardır. Trimetobenzamit hidroklorür, mide bulantısı ve kusmanın akut tedavisinde yaygın olarak kullanılan antiemetik bir ilaçtır. Bu tez çalışması kapsamında, trimetobenzamit hidroklorürün direkt basım ve dondurarak kurutma teknikleri kullanılarak on sekiz farklı ağızda dağılan tablet formülasyonu geliştirilmiştir. F4, F8, F15 ve F16 hariç tüm formülasyonların üç dakikadan daha kısa süre içerisinde suda ve yapay tükürük ortamında (pH 6,8) dağıldığı görülmüştür. Geliştirilmiş olan formülasyonların konvansiyonel tablet ile benzerliği, benzerlik faktörü hesaplanarak çözünme profillerinin benzer olmadığı; ancak F3, F4, F11, F12, F15, F17 ve F18 formülasyonlarının konvansiyonel tablete göre 45. dakikada daha yüksek çözünme değerlerine ulaştığı görülmüştür. Caco-2 hücre kültürü üzerinde gerçekleştirilmiş olan permeabilite çalışmaları ile, formülasyonda kullanılan yardımcı maddelerin trimetobenzamit hidroklorürün permeabilitesini artırdığı görülmüştür, ancak formülasyonların permeabiliteleri arasında farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Sonuç olarak bu tez çalışması ile, uluslararası ve Türkiye ilaç piyasasında ağızda dağılan tablet preparatı ve literatür çalışması bulunmayan trimetobenzamit hidroklorürün ağızda dağılan tablet formülasyonlarının geliştirilmesi için katkı sağlayacağı düşünülen formülasyonlar önerilmektedir.

Anahtar kelimeler: Trimetobenzamit hidroklorür, Caco-2, süperdağıtıcı, dondurarak kurutma

Bu tez çalışması Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından THD-2018-17646 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ABSTRACT

Uluhan, Ö.D. The Effect of Different Excipients and Compression Techniques on *In Vitro* Characterization and Permeability of Orally Disintegrating Tablet Formulations. Hacettepe University Graduate School of Health Sciences Master Thesis in Biopharmaceutics and Pharmacokinetics Ankara, 2019. Orally disintegrating tablets are easier and safer to administered in pediatric and geriatrics, patients with difficulty in swallowing and neurological diseases compared with conventional tablets. Orally disintegrating tablets easily disintegrate in the mouth after contact with saliva without need of drinking water or specific administration condition. Nausea and vomiting are common diseases in the clinic which limits daily life. Trimethobenzamide hydrochloride is an antiemetic drug which commonly used for acute treatment of nausea and vomiting. In the scope of this study, eighteen orally disintegrating tablet formulations of trimethobenzamide hydrochloride are developed by direct compression and freeze drying methods. All formulations except F4, F8, F15 and F16 disintegrated in distilled water and stimulated saliva (pH 6.8) within three minutes. Similarity between developed formulations and reference tablet was evaluated by calculating similarity factor, and dissolution profiles were not found similar; however dissolution of F3, F4, F11, F12, F15, F17 and F18 formulations were found higher than conventional tablet dissolution at 45 minutes. Permeability studies performed by using Caco-2 cell line proved that excipients used in the formulations increase permeability of trimethobenzamide hydrochloride. However, differences in permeability values of the formulations were not found statistically significant ($p>0.05$). As a result of this study, orally disintegrating formulations which are believed to contribute to the development of orally disintegrating tablet formulations of trimethobenzamide hydrochloride which has not any orally disintegrating tablet preparation on the worldwide market and literatures are proposed.

Keywords: Trimethobenzamide hydrochloride, Caco-2, superdisintegrants, freeze drying

This thesis has been supported by Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit with the project numbered THD-2018-17646.

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	x
ŞEKİLLER	xi
TABLolar	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ağızda Dağılan Tabletler	3
2.1.1. Üstünlükleri	4
2.1.2. Zorlukları	5
2.1.3. ADT'lerde Olması İstenilen Özellikler	6
2.1.4. ADT için Etkin ve Yardımcı Madde Seçerken Dikkat Edilmesi Gereken Özellikler	6
2.1.5. ADT'lerin Geliştirilmesi Sırasında Kullanılan Üretim Teknikleri	7
2.1.6. ADT'lerin Piyasa Preparatları	16
2.2. Bulantı ve Kusma	21
2.2.1. Antiemetik İlaçlar	23
2.3. Trimetobenzamit Hidroklorür (TMB)	27
2.3.1. Fizikokimyasal Özellikleri	27
2.3.2. Tanıma ve Miktar tayini	27
2.3.3. Farmakolojik Özellikleri	28
2.3.4. Farmakokinetik Özellikleri	29
2.3.5. Doz	30
2.3.6. Piyasa Preparatları	30

2.4. Hücre Kültürü Çalışmaları	32
2.4.1. Hücre Kültürü Çalışmalarının Üstünlükleri ve Sakıncaları	33
2.4.2. Hücre Kültürü Modelinin Seçilmesinde Dikkat Edilmesi Gereken Parametreler	34
2.4.3. İntestinal Epitelden İlaç Emilimi	35
2.4.4. Caco-2 Hücreleri	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1. Kullanılan Kimyasal/Biyolojik Maddeler	41
3.2. Kullanılan Aletler ve Cihazlar	42
3.3. Etkin Maddenin Fizikokimyasal Özellikleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	44
3.3.1. TMB'nin FT-IR Spektrumu	44
3.3.2. TMB'nin X-ışını Kırınımı Analizi	44
3.3.3. TMB'nin SEM Analizi	44
3.3.4. TMB'nin DSC Analizi	44
3.3.5. TMB'nin UV Spektrumu	44
3.3.6. TMB'nin Miktar Tayini Yöntemi	44
3.4. Formülasyon Çalışmaları	48
3.4.1. TMB İçeren Ağızda Dağılan Tablet (ADT) Formülasyonlarının Geliştirilmesi	48
3.5. TMB İçeren ADT Formülasyonlarının Toz Karışımları Üzerinde Yapılan Kontroller	49
3.5.1. Akışkanlık ve Yığın Açısı (<i>Angle of Repose</i>)	49
3.5.2. Kütle Dansitesi/Görünür Dansite (<i>Bulk density</i>) ve Sıkıştırılmış Dansite (<i>Tapped Density</i>)	53
3.5.3. Basılabilirlik İndeksi ve Hausner Oranı	53
3.5.4. Nem Tayini	54
3.6. TMB İçeren ADT Formülasyonları Üzerinde Yapılan <i>In Vitro</i> Kontroller	54
3.6.1. Kalınlık ve Çap Tayini	54
3.6.2. Sertlik Tayini	54
3.6.3. İçerik Tekdüzeliliği/Ağırlık Sapması Tayini	54
3.6.4. Kırılgenlik (Friyabilite) Tayini	54
3.6.5. Dağılma Tayini	55

3.6.6. Islanma Süresi ve Su Absorplama Kapasitesi	56
3.6.7. Çözünme Tayini	56
3.6.8. Porozite Tayini	57
3.6.9. SEM Analizi	58
3.7. TMB ile ADT Formülasyonlarında Kullanılan Yardımcı Maddeler	58
Arasındaki Etkileşimin İncelenmesi için Yapılan <i>In Vitro</i> Kontroller	
3.7.1. FT-IR Spektrumu	58
3.7.2. X-ışını Kırınımı Analizi	58
3.7.3. DSC Analizi	58
3.8. Hücre Kültürü Çalışmaları	59
3.8.1. Kullanılan Hücre Hatları	59
3.8.2. Hücre Kültürü Çalışmalarında Kullanılan Ortam	59
3.8.3. Kültür Çalışmaları İçin Hücrelerin Hazırlanması	59
3.8.4. Permeabilite Çalışmaları İçin Hücrelerin Hazırlanması	60
3.8.5. Permeabilite Çalışmaları	60
3.9. İstatistiksel Analiz	61
4. BULGULAR	62
4.1. Etkin Maddenin Fizikokimyasal Özellikleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	62
4.1.1. TMB'nin FT-IR Spektrumu	62
4.1.2. TMB'nin X-ışını Kırınımı Analizi	64
4.1.3. TMB'nin SEM Analizi	64
4.1.4. TMB'nin DSC Analizi	65
4.1.5. TMB'nin UV spektrumu	65
4.1.6. TMB'nin Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyonu	67
4.2. TMB İçeren ADT Formülasyonları Toz Karışımları Üzerinde Yapılan	81
Kontroller	
4.3. TMB İçeren ADT Formülasyonları Üzerinde Yapılan <i>In Vitro</i> Kontroller	83
4.3.1. Kalınlık ve Çap Tayini	83
4.3.2. Sertlik Tayini	84
4.3.3. Ağırlık Sapması Tayini	84
4.3.4. Kırılma Tayini	85
4.3.5. Dağılma Testi	86

4.3.6. Islanma Süresi ve Su Absorplama Kapasitesi	86
4.3.7. Çözünme Çalışmaları	89
4.3.8. Porozite Tayini	94
4.3.9. Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Analizi	96
4.4. TMB ile Yardımcı Maddeler Arasındaki Etkileşimin İncelenmesi için Yapılan <i>In Vitro</i> Kontroller	102
4.4.1. FT-IR Spektrumu	102
4.4.2. X-ışını Kırınımı Analizi	111
4.4.3. Diferansiyel Kalorimetre (DSC) Analizi	111
4.5. Hücre Kültürü Çalışmaları	112
4.5.1. Caco-2 Tek Tabaka Hücre Bütünlüğünün Değerlendirilmesi	112
4.5.2. Permeabilite Çalışmaları	112
5. TARTIŞMA	114
5.1. TMB'nin Analitik Yöntem Validasyonunun Değerlendirilmesi	114
5.2. TMB'nin Fizikokimyasal Özellikleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	116
5.3. Yardımcı Maddelerin Seçimi	116
5.4. Geliştirilen ADT'lere ait Toz Karışımları Üzerinde Yapılan Kontroller	121
5.5. Geliştirilen ADT'ler Üzerinde Yapılan <i>In Vitro</i> Kontroller	125
5.6. TMB ile Yardımcı Maddeler Arasındaki Etkileşimin İncelenmesi	136
5.7. Hücre Kültürü Çalışmaları	139
5.7.1. Caco-2 Hücrelerinin Hücre Bütünlüğünün Değerlendirilmesi	139
5.7.2. Permeabilite Çalışmaları	140
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	142
7. KAYNAKLAR	145
8. EKLER	
EK-1: Tez Çalışması Orijinallik Raporu	
EK-2: Dijital Makbuz	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER ve KISALTMALAR

5-HT₃	5-hidroksitriptamin (Serotonin) reseptörü
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ADT	Ağızda dağılan tablet
BCS	Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (<i>Biopharmaceutic Classification System</i>)
D₂	Dopaminerjik reseptör
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetre
EMA	Avrupa İlaç Ajansı (<i>European Medicines Agency</i>)
EP	Avrupa Farmakopesi (<i>European Pharmacopeia</i>)
FBS	Fetal bovin serum
FDA	Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (<i>United States Food and Drug Administration</i>)
FT--IR	Fourier Transform Infrared Spektrofotometre
H₁	Histaminerjik reseptör
HBSS	Hank's dengeli tuz çözeltisi (<i>Hank's Balanced Salt Solution</i>)
HEPES	Hidroksietil piperazin etan sülfonik asit
HPMC	Hidroksipropil metil selüloz
ICH	Uluslararası Harmonizasyon Komitesi (<i>International Conference on Harmonisation</i>)
KUB	Kemoreseptör uyarı bölgesi (<i>chemoreceptor trigger zone</i>)
LOD	Teşhis sınırı (<i>Limit of Detection</i>)
LOQ	Tayin alt sınırı (<i>Limit of Quantitation</i>)
M₁	Muskarinik reseptör
MCC	Mikrokristal selüloz
MDR	Çoklu ilaç rezistansı (<i>Multidrug resistance</i>)
MRP1	MDR-ilişkili protein (<i>MDR-associated protein</i>)
NK₁	Nörokinin reseptörü (P maddesi)
P-g	P- glikoprotein
PEG	Polietilen glikol

RC	Rejenere selüloz membran filtre (<i>regenerated cellulose</i>)
RME	Reseptör-aracılı endositoz sistemi (<i>receptor-mediated endocytosis</i>)
SEM	Taramalı elektron mikroskopu
SH	Standart hata
SKT	Son kullanma tarihi
SS	Standart sapma
TEER	Transepitel Elektrik Rezistans
TMB	Trimetobenzamit hidroklorür
USP	Amerikan Farmakopesi (<i>United State Pharmacopeia</i>)
UV	Ultraviyole spektroskopisi
\bar{X}	Ortalama

ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
2.1	Kafurun süblimasyonu ile poröz yapıda elde edilmiş ADT'ler	10
2.2	Düşük ve yüksek erime derecesine sahip şeker alkollerini kullanarak faz geçiş tekniği ile elde edilmiş ADT'ler	11
2.3	Beynin bulantı ve kusma ile ilişkili bölümlerinin şematik gösterimi	22
2.4	Kusma merkezi ve KUB uyarılarının şematik gösterimi	22
2.5	TMB'nin kimyasal yapısı	27
2.6	TMB'nin metabolizasyon yolağı ve başlıca TMB metabolitleri	30
2.7	İnce bağırsaktan ilaç absorpsiyon yolları a) Membran içinden pasif geçiş (transselüler transport) b) Taşıyıcı aracılı geçiş c) Hücreler arası pasif geçiş (paraselüler transport) d) Taşıyıcı aracılı dışa atım (<i>Efflux</i>) sistemi e) Reseptör aracılı endositoz	36
2.8	Caco-2 hücre kültürünün şematik olarak gösterimi	38
3.1	Direkt basım tekniği ile tablet üretiminin şematik olarak gösterimi	48
3.2	Dondurarak kurutma tekniği ile tablet üretiminin şematik olarak gösterimi	49
4.1	TMB'nin FT-IR spektrumu	63
4.2	TMB'ye ait X-ışını difraktogramı	64
4.3	TMB'ye ait SEM mikrografları a) x 2000; b) x 5000	64
4.4	TMB'ye ait DSC termogramı	65
4.5	TMB'nin (10 µg/mL) sudaki (a) ve HBSS'deki (b) UV spektrumu	66
4.6	TMB'nin distile sudaki kalibrasyon doğrusu ve denklemi	67
4.7	Formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin UV spektrumları (Ortam: Distile su, $\lambda= 200-800$ nm)	70
4.8	TMB'nin HBSS'deki kalibrasyon doğrusu ve denklemi	74
4.9	Formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin UV spektrumları (Ortam: HBSS, $\lambda= 200-800$ nm).	77

4.10	Geliştirilen tüm ADT formülasyonlarına ait kalınlık analizi sonuçları	83
4.11	Geliştirilen tüm ADT formülasyonlarına ait çap analizi sonuçları	83
4.12	Geliştirilen tüm ADT formülasyonlarına ait sertlik analizi sonuçları	84
4.13	Geliştirilen ADT formülasyonlarına ait ağırlık sapması analizi sonuçları	85
4.14	Geliştirilen ADT formülasyonlarına ait kırılma analizi sonuçları	85
4.15	Geliştirilen ADT formülasyonlarına ait dağılma analizi sonuçları	86
4.16	Geliştirilen ADT formülasyonlarına ait ıslanma süresi analizi sonuçları	87
4.17	Geliştirilen ADT formülasyonlarına ait su absorplama kapasitesi analizi sonuçları	87
4.18	Geliştirilmiş ADT'ler ve referans ürüne ait çözünme profilleri	90
4.19	%40 süperdağıtıcı (Ludiflash [®] , Parateck [®] , Granfiller-D [®]) ve %6 - %12 Ac-Di-Sol [®] içeren ADT'ler ve referans ürüne ait çözünme profilleri	92
4.20	%42,5 süperdağıtıcı (Ludiflash [®] , Parateck [®] , Granfiller-D [®]) ve %6 - %12 Ac-Di-Sol [®] içeren ADT'ler ve referans ürüne ait çözünme profilleri	92
4.21	%5 - %7,5 sıradan dağıtıcı (Sodyum nişasta glikolat) ve %6 - %12 Ac-Di-Sol [®] içeren ADT'ler ve referans ürüne ait çözünme profili	93
4.22	%2 - %4 jelatin içeren dondurarak kurulmuş ADT'ler ve referans ürüne ait çözünme profili	93
4.23	Her gruptan seçilmiş olan olan ADT'lere ait porozite (%) değerleri	94
4.24	F2'ye ait por büyüklüğü dağılımı histogramı	95
4.25	F5'e ait por büyüklüğü dağılımı histogramı	95
4.26	F10'a ait por büyüklüğü dağılımı histogramı	95
4.27	F13'e ait por büyüklüğü dağılımı histogramı	96
4.28	F17'ye ait por büyüklüğü dağılımı histogramı	96

4.29	F2'ye ait SEM mikrografları a) x 2000; b) x 5000	97
4.30	F5'e ait SEM mikrografları a) x 2000; b) x 5000	98
4.31	F10'a ait SEM mikrografları a) x 2000; b) x 5000	99
4.32	F13'e ait SEM mikrografları a) x 2000; b) x 5000	100
4.33	F17'ye ait SEM mikrografları a) x 2000; b) x 5000	101
4.34	TMB'ye ait FT-IR spektrumu	102
4.35	Ludiflash®'a ait FT-IR spektrumu	102
4.36	Parteck®'e ait FT-IR spektrumu	103
4.37	Granfiller-D®'ye ait FT-IR spektrumu	103
4.38	Sodyum nişasta glikolata ait FT-IR spektrumu	103
4.39	Ac-Di-Sol®'a ait FT-IR spektrumu	104
4.40	Lactopress®'e ait FT-IR spektrumu	104
4.41	Pearlitol 200 SD®'ye ait FT-IR spektrumu	104
4.42	Sodyum stearil fumarata ait FT-IR spektrumu	105
4.43	Aerosil®'e ait FT-IR spektrumu	105
4.44	Asesülfam potasyuma ait FT-IR spektrumu	105
4.45	Portakal aromasına ait FT-IR spektrumu	106
4.46	Jelatine ait FT-IR spektrumu	106
4.47	Sodyum aljinata ait FT-IR spektrumu	106
4.48	PEG 4000'e ait FT-IR spektrumu	107
4.49	Pluronic F68'e ait FT-IR spektrumu	107
4.50	HPMC'ye ait FT-IR spektrumu	107
4.51	Simetikona ait FT-IR spektrumu	108
4.52	Ludiflash® içeren ADT'lere (F1, F2, F3 ve F4) ait FT-IR spektrumları	108
4.53	Parteck® içeren ADT'lere (F5, F6, F7 ve F8) ait FT-IR	109

	spektrumları	
4.54	Granfiller-D [®] içeren ADT'lere (F9, F10, F11 ve F12) ait FT-IR spektrumları	109
4.55	Sodyum nişasta glikolat içeren ADT'lere (F13, F14, F15 ve F16) ait FT-IR spektrumları	110
4.56	Dondurarak kurutma tekniği ile elde edilmiş ADT'lere (F17 ve F18) ait FT-IR spektrumları	110
4.57	TMB ve her gruptan seçilmiş olan ADT'lere ait X-ışını kristalogramları.	111
4.58	Her gruptan seçilmiş olan ADT'lere ait DSC termogramları	111
4.59	TMB ve geliştirilen tüm ADT'lere ait Caco-2 hücrelerden permeabilite çalışmaları sonucunda elde edilen görünür permeabilite katsayıları (P_{app} , (cm/s))	113

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1 ADT'lerin üretilmesinde kullanılan konvansiyonel ve patentli teknikler	7
2.2 Uluslararası piyasada yer alan ADT preparatlarına örnekler	17
2.3 Türkiye piyasasında yer alan ADT preparatları	19
2.4 Türkiye piyasasında yer alan TMB içeren preparatlar	31
2.5 Uluslararası piyasada TMB içeren preparatlara örnekler	32
2.6 Hücre kültürü modelleri	35
3.1 TMB içeren ADT formülasyonlarının içerik ve miktarları	51
3.2 Çözünme testi koşulları	57
4.1 TMB miktar tayini yöntem-1 için gün içi ve günler arası doğruluk sonuçları	68
4.2 TMB miktar tayini yöntem-1 için gün içi ve günler arası kesinlik sonuçları	69
4.3 TMB'nin miktar tayini yöntem-1 için stabilite test sonuçları	73
4.4 TMB miktar tayini yöntem-2 için gün içi ve günler arası doğruluk sonuçları	75
4.5 TMB miktar tayini yöntem-2 için gün içi ve günler arası kesinlik sonuçları	76
4.6 TMB miktar tayini yöntem-2 için stabilite analiz sonuçları	80
4.7 ADT formülasyonlarına ait toz karışımlarının analiz sonuçları	82
4.8 ADT formülasyonlarına ait <i>in vitro</i> analiz sonuçları-1	88
4.9 ADT formülasyonlarına ait <i>in vitro</i> analiz sonuçları-2	89
4.10 ADT formülasyonları ve referans ürün arasında benzerlik faktörü (f_2) sonuçları.	91
4.11 Her gruptan seçilmiş olan ADT'lere ait porozite (%) değerleri	94

4.12	TMB ve geliştirilen tüm ADT'lere ait Caco-2 hücrelerden permeabilite çalışmaları sonucunda elde edilen görünür permeabilite katsayıları (P_{app} , (cm/s))	112
-------------	---	-----

1.GİRİŞ

Mide bulantısı ve kusma klinikte oldukça yaygın olarak karşılaşılan, kişiye huzursuzluk hissi veren ve kişinin günlük hayatına devam etmesini sınırlayan hastalıklardır. Uzun yıllardır devam eden çalışmalara rağmen, bulantı ve kusmanın fizyolojisi henüz tam olarak belirlenememiştir. Mevcut araştırmaların sonuçları, bulantı ve kusmanın gelişmesinde pek çok fizyolojik uyarının etkisinin olduğunu göstermektedir. Genel olarak bakıldığında ciddi olmayan hastalıklar gibi görülse de, bulantı ve kusma ilaç tedavilerinin yan etkisi, zehirlenme, ameliyat sonrası gelişen komplikasyon gibi zamanında müdahale edilmediği durumlarda ciddi sağlık problemleri doğurabilecek pek çok hastalığın habercisi niteliğindedir. Bulantı ve kusma, hastalığın altında yatan etkene bağlı olarak akut veya kronik antiemetik tedavisi ile iyileştirilebilir. Kanser tedavilerinde en yaygın karşılaşılan yan etkilerden biri olan bulantı ve kusma için genellikle kanser tedavisi devam ettiği sürece kronik olarak antiemetik tedavisi uygulanmaktadır. Bunun yanı sıra, zehirlenme, enfeksiyon, taşıt tutması, migren gibi fizyolojik koşullardaki kısa süreli değişikliğe bağlı olarak ortaya çıkan bulantı ve kusma için ise primer hastalığın tedavisine ilave olarak akut antiemetik tedavisi önerilmektedir.

Ağızda dağılan tabletler, konvansiyonel tabletlerin taşımış olduğu üstünlüklerin yanı sıra kolay uygulanabilir, uygulama için ilave sıvı tüketimine veya ilave uygulama koşuluna ihtiyaç duyulmaz, sıvı dozaj formlarına göre dozlamının doğru yapılmasına olanak sağlar ve her yaş grubuna uygulanabilir. Ağızda dağılan tabletlerin en önemli üstünlüklerinden birisi de dozlamının doğru yapılıp yapılmadığından şüphe etmeksizin, pediatrik ve geriyatrik hastalarda, bilinç kaybı olan, yutma gücünü çeken hastalarda uygulanabilir olmalarıdır. Hastaların diğer dozaj formlarını kullanamadığı bu gibi durumlarda, bulantı ve kusma tedavisinde ağızda dağılan tabletlerin kullanılması hastaların tedaviye olan uyuncunu artıracığı için konvansiyonel tabletlere göre daha çok tercih edilebilmektedir. Akut tedavinin yeterli olduğu zehirlenme, taşıt tutması gibi nedenlerden kaynaklanan bulantı ve kusmalarda, hastanın midesindeki irritasyonu artıracak ilave su içilmesine gerek olmaması ve hızlı etki başlangıcının sağlanması için ağızda dağılan tabletler tercih edilmektedir.

Trimetobenzamit hidroklorür, klinikte bulantı ve kusmanın tedavisinde yaygın olarak kullanılan antiemetik bir ilaçtır. Piyasada kapsül, damla, intramusküler ampül ve supozitivar dozaj formlarında bulunmaktadır. Çalışma öncesi yapılan araştırmalar ve literatür taramalarında, trimetobenzamit hidroklorün Türkiye’de ve uluslararası alanda herhangi ağızda dağılan tablet dozaj formunda piyasa preparatına veya bilimsel çalışmasına rastlanılmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, klinikte yaygın olarak kullanılan ve daha çok bulantı ve kusmanın akut tedavisinde kullanılan trimetobenzamit hidroklorürün, bulantı ve kusma tedavisinin kolaylaştırılması, hastaların tedaviye olan uyuncunun artırılması ile yaşam kalitesinin artırılması için, henüz çalışması ve piyasa preparatı bulunmayan, hazırlaması kolay, maliyeti düşük ağızda dağılan tablet dozaj formunda formülasyonlarının geliştirilmesi, formülasyonların *in vitro* analizleri ile hücre kültürü çalışmalarına ait sonuçların incelenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağızda Dağılan Tabletler

Ağız yoluyla ilaç uygulaması, en güvenilir, en rahat, en ekonomik; aynı zamanda hasta uyuncunun en yüksek olduğu ilaç uygulama şeklidir. Tablet ve kapsül gibi katı dozaj şekilleri hastalar tarafından en çok tercih edilen dozaj şekilleri olmasına rağmen yaşlı ve pediyatrik hastalarda yutma zorluğu ve boğazda takılma gibi zorlukları bulunmaktadır(1)). Sastry ve ark. yutma bozukluğu, ağrının eşlik ettiği disfaji ve yutma güçlüğü'nün toplumun önemli bir kısmında görüldüğünü bildirmiştir. Son yıllarda, hasta uyuncu üzerindeki dikkat çekici etkisi ve özellikle yutma güçlüğü çeken hastalara faydaları nedeniyle ağızda dağılan tablet (ADT) formülasyonlarının geliştirilmesinde yoğun bir artış olmuştur (2)).

Avrupa Farmakopesi (*European Pharmacopeia, EP*) ADT'leri "ağıza yerleştirilen ve yutmadan önce ağızda hızlıca dağılan kaplanmamış tabletler" olarak tanımlamaktadır, ve ADT'lere distile suda dağılma testi (EP 2.9.1) uygulandığında tabletlerin 3 dakika içinde dağılması gerektiğini belirtmiştir (3). Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (*United States Food and Drug Administration, FDA*) ise ADT'leri dil üzerine yerleştirildiğinde hızlıca, genellikle birkaç saniye içinde dağılan, etkin madde içeren katı dozaj formları olarak tanımlamaktadır (4). ADT'ler farklı kaynaklara göre hızlı dağılan (*fast dispersible, fast disintegrating, rapidly disintegrating*), hızlı çözünen (*fast dissolving*), orodispers (*orodispersible*) tabletler olarak da adlandırılmaktadırlar (5-9).

ADT'lerin pediyatrik, geriyatrik, yatağa bağlı, huzursuz hastalar için sorunlar ortaya çıkaran konvansiyonel katı dozaj formlarına (tablet ve kapsüllere) göre daha iyi çözünmüş/dağılmış sulu karışımlar oluşturması amaçlanmıştır. Tükürükle etkileşen ağızda dağılan tabletler öncelikle hızlıca dağılır ve hasta tarafından kolayca yutulabilen bir süspansiyon haline gelir. Süspansiyon içinde dağılmış olan etkin madde; pregastrik yoldan, ve/veya gastrointestinal epitelden daha hızlı emilerek istenilen etki kısa bir süre içerisinde elde edilmiş olur. ADT'ler; disfajisi olan ve psikiyatrik hastaların yanı sıra inme, tiroid hastalıkları, Parkinson hastalığı ve multiple skleroz ve serebral palsi gibi diğer nörolojik hastalıkları olan kişiler tarafından da sıklıkla tercih edilmektedir (10). Ayrıca taşıt tutması, tekrarlayan mide

bulantısı olan hastalar da çok miktarda su yutmakta zorlandıkları için, bu tabletleri tercih etmektedir (11).

2.1.1. Üstünlükleri

Hastaların yaklaşık olarak %50'si tablet ve kapsüllerin yutulmasında güçlük çektiği için tedaviye devam edememekte ve böylece tedavi uyumsuzluğu, etkisiz tedavi oranı artmaktadır. Bu durum özellikle pediyatrik ve geriyatrik hastalarda, kolay uygulanabilir dozaj formlarını tercih eden hastalarda suda dağılan, süspande edilebilen veya ağızda hızlıca dağılan dozaj formları gibi katı dozaj formlarına olan talebi artırmıştır. Günümüz teknolojisi ile ilacın yutulması için suya ihtiyacın duyulmadığı ADT'lerin geliştirilmesi, ilacın etkisinden ödün vermeksizin hastaların bu ihtiyacının karşılanmasını sağlamıştır (12, 13). Bu açıdan, yaşlı, felçli veya yatağa bağımlı, böbrek yetmezliği bulunan, pediyatrik, geriyatrik veya psikiyatrik hastalar gibi yutmayı reddeden hastalara ilaç uygulamasında ADT'lerin yeri oldukça önemlidir (14). Bu hastalıkların yanı sıra, ADT'ler suya erişimin kolay olmadığı durumlarda da kullanımı en uygun dozaj şeklidir. Bu şekilde hastanın tedaviye olan uyuncunda artış sağlamaktadır (11).

ADT'ler ağıza yerleştirildikten kısa bir süre sonra tükürükte hızlıca dağılır. Bazı ilaçlar için, ADT'nin tükürükte hızlı çözünmesi ve ilaç içeren tükürüğün pre-gastrik yolda emiliminin gerçekleşmesi ile ilacın ilk geçiş etkisine bağlı olarak karaciğerde metabolizasyonu önlenmiş olur. Böylelikle, geliştirilen ürünlerde ve yapılan çalışmalarda ADT'lerde ilacın hızlı emilimi ve hızlı etki başlangıcına bağlı olarak, biyoyararlanımında da diğer konvansiyonel tablet dozaj formlarına göre artış sağladığı gözlemlenmiştir (13, 15, 16). İlacın biyoyararlanımındaki bu artış, ilacın aynı etkiyi göstermesi için klinikte daha düşük doz uygulamasına ve böylelikle oluşabilecek yan etkilerin de azalmasına olanak sağlamaktadır. (16, 17).

Konvansiyonel tablet uygulaması sırasında yaşanabilen ilacın boğaza takılması gibi fiziksel tıkanmalara bağlı boğulma riski ADT'lerde daha düşüktür, bu nedenle ilacın güvenli kullanımında artış sağlamaktadır (11).

Kötü, acı tada sahip olan etkin maddeleri içeren ilaçlar, hastaların tedavi rejimine olan bağlılığını, buna bağlı olarak da ilacın etkililiğini azaltır. İlacın acı tadını maskelemek için kullanılan tat maskeleyme tekniği, ADT'lerin ilaç uyuncundaki artışında büyük rol oynamaktadır (18).

ADT'lerin elde edilen ürünün kalitesi açısından da diğer dozaj formlarına bazı üstünlükleri mevcuttur. Kullanılan üretim tekniğine bağlı olarak, daha sert, fiziksel dayanıklılığı daha fazla, neme karşı daha dayanıklı tabletler elde edilebilmektedir ((18, 19).

ADT'lerin endüstriyel açıdan üretimi göz önüne alındığında konvansiyonel üretim ekipmanları ile üretilebilir olması, konvansiyonel yöntemlerle üretilmiş olan tabletlerin paketleme için özel bir malzemeye gerek duyulmaması ADT'leri uygun maliyetli olma özelliği kazandırmaktadır (11).

Ayrıca, ADT'lerin geliştirilip üretilmesi, ilaç piyasasındaki ürün çeşitliliğini artırmakta, ayrıcalıklı ürün tanıtımı ve patent süresi açısından ilaç endüstrisine ticari fırsatlar yaratmaktadır (20).

2.1.2. Zorlukları

ADT formülasyonlarının geliştirilmesi ve üretilmesinde esas zorluklar; ilacın fizikokimyasal özellikleri, ilaç molekülünün tadı, ilacın çevresel koşullara olan hassasiyeti ve maliyeti gibi birçok faktöre bağlıdır (2).

ADT'lerin hızlı dağılması ve kolay yutulabilir olmasının sağlanması için poröz veya yumuşak bir yapıya sahip olması gerekmektedir. Ancak bu yapı ADT'leri daha kırılabilir hale getirir. Bu durum ise, tabletlerin dayanıklılığının sağlanmasını zorlaştırır ve dayanıklılığın artırılması için soyularak çıkarılan blister kullanılması gibi ilave maliyet gerektiren üretim harcamalarına neden olur (2, 10, 21).

Ayrıca ADT'lerin ağızda kolay dağılabilmesi için tablet boyutları konvansiyonel tabletlerden daha küçüktür, sonuç olarak ADT'ler için uygulanabilir olan ilaç miktarı kısıtlanmaktadır. Uygulanabilen ilaç miktarı için kesin bir limit tanımlanmamış olmakla birlikte, her bir tablet için %50 (a/a), tercihen %20 (a/a) veya daha altında ilaç miktarı önerilmektedir (2, 10).

Tüm bunlara ek olarak, ADT'lerin higroskopik yapısı nedeniyle normal sıcaklık ve nem koşullarında fiziksel bütünlüğünü korumak da oldukça zordur. Bu nedenle, nemden uzakta ve özel paketleme sistemi ile saklanmaları gerekmektedir (21, 22).

Klinik açıdan, eş zamanlı olarak antikolinergik ilaç kullanan hastalarda veya ağız kuruluğu yaşayan hastalarda tükürük miktarı azaldığı için ADT'lerin kullanımı uygun olmayabilir (23).

2.1.3. ADT'lerde Olması İstenilen Özellikler

ADT'leri yutmak için ilave su tüketimine ihtiyaç duyulmadığı için, ağızda kısa bir süre içerisinde dağılabilir şekilde formüle edilmiş olmalı ve yutulduktan sonra da ağızda herhangi bir kalıntı bırakmamalıdır (24).

Hasta uyuncu açısından ADT'lerin kullanım sonrası ağızda hoş bir tat bırakacak, özellikle acı tada sahip etkin maddeler için tat maskeleyici sağlayacak şekilde formüle edilmiş olmaları gerekmektedir (25, 26).

Üretim sırasındaki uygulamalara ve üretim sonrası kullanım için uygun dayanıklılıkta olmaları gerekmektedir. Ayrıca nem ve sıcaklık gibi çevresel etmenlere karşı duyarlı olmamalıdır (25).

Endüstriyel açıdan düşünüldüğünde, ADT'ler konvansiyonel üretim ve paketlenme teknikleri ile üretilebilir olmalı ve üretim için gerekli maliyet düşük olmalıdır (11, 27).

Bu özelliklerin yanı sıra, ADT'lerin, ilaç emiliminin post-gastrik yolda gerçekleştiği konvansiyonel piyasa preparatlarına biyoeşdeğer olması beklenmektedir. Ancak mekanizması gereği, ADT'lerde içerdiği etkin maddenin fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak pregastrik yol boyunca farklı seviyelerde ilaç emilimi görülebilir ve bu durum ADT'nin farmakokinetik profili ve biyoyararlanımı üzerinde etkili olabilir. Kandaki yüksek ilaç düzeyi ve sistemik maruziyet sonucu ortaya çıkan ADT'lerin farmakokinetik profilindeki farklılık, ADT'lerin pregastrik emilimine bağlı olarak ilk geçiş etkisine uğramamasına bağlanmaktadır, bu durum da ADT'lerin güvenilirlik ve etkililiği üzerine etki etmektedir (2, 25, 28).

2.1.4. ADT için Etkin ve Yardımcı Madde Seçerken Dikkat Edilmesi Gereken Özellikler

ADT formülasyonlarında kullanılan etkin ve yardımcı maddelerin, ilacın ADT'den salımını hızlandıracak ve daha hızlı çözünmesini sağlayacak özelliklere sahip olması gerekmektedir (11). Bu nedenle, ADT olarak kullanımı tasarlanan etkin madde;

- Acı tada sahip olmamalıdır
- Suda ve tükürükte iyi dağılabilir/çözülebilir olmalıdır
- Yarılanma ömrü kısa olmamalıdır, dolayısıyla ilaç uygulama sıklığı az olmalıdır

- Molekül ağırlığı düşük olmalıdır
- Etkin madde dozu 500 mg'ı geçmemelidir (2, 11, 16, 29).
Yardımcı maddeler ise;
- Dağılma ve çözünmeyi artırmak için suda çözünürlükleri iyi olmalıdır
- Etkin madde ve diğer yardımcı maddeler ile geçimli olmalı, istenilen tablet bütünlüğü ve dayanıklılığı üzerinde olumsuz etkisi olmamalıdır
- Acı tada sahip olmamalıdır, tat maskeleyici ile geçimli olmalıdır
- Dağıldıktan sonra ağızda kötü bir his bırakmaması için partikül büyüklüğü küçük olmalıdır. Ancak çok küçük partiküllü yardımcı maddelerin kullanılması, ADT'lere zayıf akışkanlık, yüksek faz ayrımı, neme duyarlılık, düşük porozite gibi istenilmeyen özellikler kazandıracağı için kullanılan yardımcı maddenin optimum partikül büyüklüğünü sağlamak hasta memnuniyeti, ilaç etkililiği ve ürün stabilitesi açısından önemlidir
- Üretimde kullanılacak olan teknik ile uyumlu olmalıdır (2, 14, 24, 30).

2.1.5. ADT'lerin Geliştirilmesi Sırasında Kullanılan Üretim Teknikleri

ADT'lerin üretiminde kullanılan teknikler, literatürde genellikle konvansiyonel teknikler ve patentli teknikler olmak üzere iki başlık altında toplanmaktadır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. ADT'lerin üretilmesinde kullanılan konvansiyonel ve patentli teknikler.

Konvansiyonel teknikler	Patentli teknikler
- Dondurarak kurutma (<i>Lyophilization</i>)	- Zydis [®] teknolojisi
- Tablet şekillendirme (<i>Tablet moulding</i>)	- Quicksolv [®] teknolojisi
- Püskürterek kurutma (<i>Spray drying</i>)	- Lyoc [®] teknolojisi
- Kütle ekstrüzyon (<i>Mass-extrusion</i>)	- Orasolv [®] teknolojisi
- Eritme granülasyon (<i>Melt granulation</i>)	- Durasolv [®] teknolojisi
- Kristal lif yöntemi (<i>Cotton-candy process</i>)	- Flashtab [®] teknolojisi
- Süblimasyon (<i>Sublimation</i>)	- Wowtab [®] teknolojisi
- Faz geçiş yöntemi (<i>Phase-transition process</i>)	- Zipler [®] teknolojisi
- Direkt basım tekniği (<i>Direct compression</i>)	- Flashdose [®] teknolojisi
	- Oraquick [®] teknolojisi

Konvansiyonel Teknikler

- Dondurarak kurutma (*Lyophilization*)

Dondurarak kurutma tekniği, ürünün dondurulduktan sonra içerisinde bulunan suyun süblimleşme ile uzaklaştırılması sonucunda ADT elde edilmesi işlemi olup ADT'lerin geliştirilmesinde kullanılan ilk tekniklerden biridir (12). Bu teknikte, etkin madde bir taşıyıcı/polimerin sulu çözeltisi içerisinde çözülür veya disperse edilir. Daha sonra elde edilen bu çözelti blisterler içerisinde her bir tablet için istenilen ağırlığa göre doldurulur. Sulu çözelti/dispersiyonu içeren blisterler sıvı azot altında veya dondurucuda dondurulduktan sonra liyofilizatörde kurutulur. Kurutma sonrası blisterler alüminyum folyo veya parafilm ile kapatılarak, paketlenir (31).

Bu teknikle hazırlanan ADT'ler, diğer katı dozaj formlarına göre daha hızlı çözünmelerini sağlayan daha poröz bir yapıya sahiptir (24, 31). Bu yöntem Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (*Biopharmaceutics Classification System*, BCS) Sınıf II sınıfında yer alan düşük çözünürlük, yüksek geçirgenlik özelliğine sahip etkin maddelerin (çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını artırmak için kullanılmaktadır (14). Yapılan bir araştırmada, nimesulid içeren ve dondurarak kurutma tekniği ile hazırlanan ADT'lerin, düşük çözünürlük ve düşük biyoyararlanım özelliğine sahip etkin maddenin in vitro çözünme hızını ve in vivo emilimini artırığı gözlemlenmiştir (32). Ayrıca bu teknik ısıya duyarlı etkin maddelerin ADT'lerinin elde edilmesi için uygun bir yöntemdir (28).

Ancak dondurarak kurutma tekniği ile elde edilmiş olan ADT'lerin dayanıklılığı düşüktür ve bu teknik için yüksek maliyetli üretim ekipmanlarının kullanılması gerekmektedir (32).

- Tablet şekillendirme (*Tablet moulding*)

Tablet şekillendirme tekniğinde, toz karışımı sulu-alkollü bir çözücü ile ıslatılır ve konvansiyonel tabletlerin basılması için gerekenden daha düşük basınç altında tablet halinde şekillendirilir. Daha sonra ıslatılmış ve şekillendirilmiş olan toz karışımı içindeki çözücü kurutma yöntemi ile uçurulur (32). Bu teknik ile elde edilmiş olan tabletler diğer basılmış tabletlere göre daha az sıkıştırıldığı için poröz bir yapıya sahiptir. Bu yapı tabletlere hızlı dağılma ve kolay çözünme özelliği kazandırmaktadır (31). Genellikle suda çözünür şekerlerden oluşmuş matriksler kullanıldığı için ağızda güzel bir tat bırakmaktadırlar (32). Dondurarak kurutma

teknikğine göre tablet şekillendirme tekniği endüstriyel açıdan daha uygulanabilir bir tekniktir (14).

Bu teknik ile üretilmiş olan ADT'ler, yaklaşık olarak 30 saniye içerisinde dağılmakla birlikte düşük fiziksel dayanıklılığa ve yüksek kırılğan yapıya sahiptir. Bu nedenle, kullanım veya blisterden çıkarma sırasında tabletler kırılabilir (14, 32).

- **Püskürterek kurutma (*Spray drying*)**

Bu teknik ile, destek matriks ve diğer yardımcı maddeleri içeren sulu çözeltinin püskürterek kurutulmasıyla yüksek poröziteye sahip ince toz karışımı elde edilir. Daha sonra elde edilen bu toz karışımına etkin madde ilave edilerek tablet şeklinde basılır. Bu teknik ile elde edilmiş olan ADT'ler, sulu ortamda yaklaşık olarak 20 saniye içerisinde dağılır (33). Püskürterek kurutma tekniğinin dezavantajı özel ekipman kullanımını gerektirmesine bağlı olarak artan maliyetidir (34). Ayrıca, bu teknik ile üretim sırasında kurutulmuş partiküller arasında kalan hava ve su molekülleri, tabletlerde çatlama ve yarıkların oluşmasına neden olabilir (35).

- **Kütle ekstrüzyon (*Mass-extrusion*)**

Bu teknik ile, etkin madde ve diğer yardımcı maddeleri içeren karışım, suda çözünür polietilen glikol ve metanol içeren çözücü karışımı ile yumuşatılır. Daha sonra bu yumuşak kütle şırınga veya kalıptan geçirilerek, silindirik bir kütle haline getirilir. Son olarak da tablet şekline getirmek için parçalara bölünür. (26, 31).

- **Eritme granülasyon (*Melt granulation*)**

Eritme granülasyon tekniği, farmasötik tozların eriyebilir bağlayıcı ile granülasyonunun yapılmasıdır. Konvansiyonel granülasyon tekniklerine göre bu tekniğin üstünlüğü, suya veya organik çözücülere ihtiyaç duyulmamasıdır. Bu teknikte kurutma basamağı olmadığı için harcanan süre ve enerji yaş granülasyon tekniğine göre daha azdır (31, 36). Bu teknik suda çözünürlüğü düşük olan etkin maddelerin çözünme hızını artırmak için de uygun bir tekniktir (36).

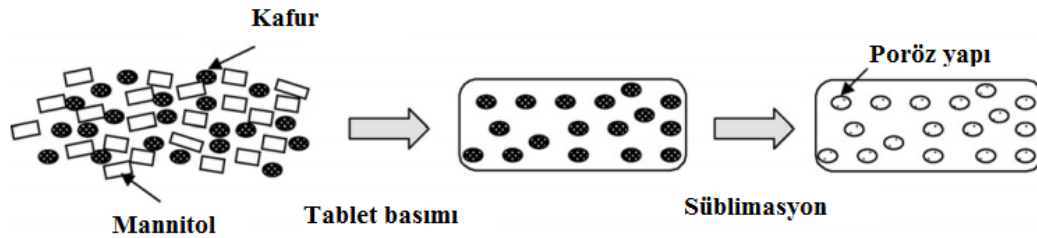
Bu teknik ile dayanıklı ADT elde edilebilmek için, formülasyonda Süperpolistat, Polietilen glikol-6-stearat gibi hidrofilik yapıda bağlayıcılar kullanılmalıdır. Bu bağlayıcılar tabletlerin fiziksel dayanıklılığını artırır ve ağızda dağıldıktan sonra hiçbir kalıntı bırakmayacak şekilde eridikleri için tabletlerin hızlıca dağılmasına yardımcı olur (17).

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

Kristal lif yöntemi, polisakkarit matriks yapısının hızlı eritme ve dönme yöntemi ile ipliksi kristal yapıya dönüştürülmesi işlemi içerir. Matriks formu akışkanlığı ve basılabilirliği artırmak için kısmen yeniden kristalize edilir. Daha sonra bu ipliksi matriks öğütülür ve etkin madde ve yardımcı maddeler ile karıştırılır ve en son basılarak ADT'ler elde edilir (26, 36). Bu teknik yüksek doz ilaçlar için kullanılabilir ve bu teknikle hazırlanan ADT'lerin mekanik dayanıklılığı oldukça iyidir. Ancak üretim sürecinin yüksek ısı altında gerçekleşmesi bu tekniğin kullanımını kısıtlamaktadır (32).

- **Süblimasyon (*Sublimation*)**

Süblimasyon tekniğinde; üre, üretan, kafur gibi uçucu yardımcı maddeler formülasyonda kullanılarak elde edilen karışım tabletler halinde basılır. Daha sonra bu uçucu bileşenler süblimasyonla basılmış olan tablettten uzaklaştırılır ve uçucu bileşenlerin tablette bulunduğu bölgelerde yüksek poröz yapıların oluşması sağlanır (Şekil 2.1). Yüksek poroziteye sahip bu tabletler tükürükte yaklaşık 15 saniye içerisinde çözünür (17, 30, 32, 33).

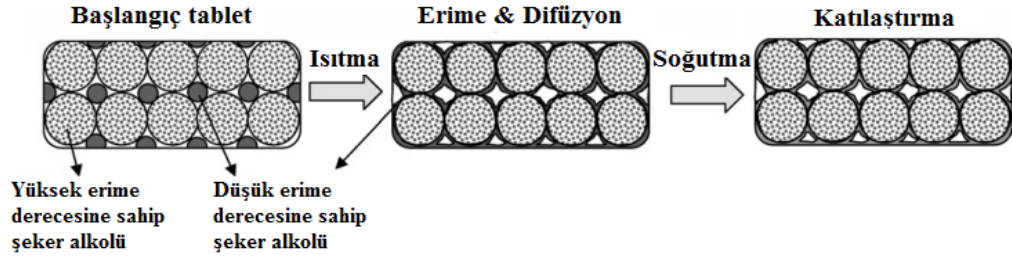


Şekil 2.1. Kafurun süblimasyonu ile poröz yapıda elde edilmiş ADT'ler (30).

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

Faz geçiş tekniğinde, düşük ve yüksek erime derecesine sahip iki farklı şeker alkolü (eritritol, ksilitol, trehaloz ve mannitol gibi) içeren toz karışımlarının basılması sonucunda tabletler elde edilir. Elde edilen bu tabletler şeker alkollerinin erime derecelerine yakın bir sıcaklıkta bir süre ısıtıldıktan sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakılır. Isıtma işlemiyle, tabletlerin por büyüklüğü artar. Şeker alkolünün ısıtılarak eritilmesi, tablet içerisinde geçişi ve tekrar dondurulması toz partikülleri arasında bağlanma yüzeyini artırır, böylelikle tablet sertliği de artar (Şekil 2.2). Isıtma ile artan tablet sertliğinin, şeker alkollerinin kristal yapısına bağlı olarak değil;

şeker alkolündeki faz geçişi sonucu partiküller arası bağların kuvvetlenmesi veya bağlanma yüzeyindeki artışından kaynaklandığı düşünülmektedir (30, 31).



Şekil 2.2. Düşük ve yüksek erime derecesine sahip şeker alkollerini kullanarak faz geçiş tekniği ile elde edilmiş ADT'ler (30).

- Direkt basım tekniği (*Direct compression*)

Direkt basım tekniği, en kolay ve maliyeti en düşük üretim tekniğidir. Konvansiyonel üretim ekipmanları, yaygın kullanılan yardımcı maddeler ve sınırlı sayıda üretim basamağı ile üretim yapılabilmesi bu tekniğin en önemli üstünlüklerindedir (17, 28). Ayrıca bu teknik ısıya ve neme hassas etkin maddeler için de uygun bir tekniktir (31).

Direkt basım tekniğinde iki prensip mevcuttur. Birinci prensip, formülasyona uygun konsantrasyonda süperdağıtıcı eklenerek tabletlerin hızlı dağılmasını sağlamaya dayanmaktadır. İkinci prensip ise, formülasyonda suda çözünürlüğü yüksek ve hoş tada sahip olan şeker bazlı yardımcı maddelerin kullanılarak tat maskeleyme özelliğinin kazandırılmasıdır (17, 24). Her iki prensip ilerleyen sayfalarda detaylı olarak anlatılmıştır.

Süperdağıtıcıların kullanılması:

Direkt basım tekniği ile hazırlanan birçok ADT'de, süperdağıtıcıların ilavesi dağılma hızına etki ederek, çözünmeyi artırır. Formülasyonda suda çözünebilen, efervesan ajanlar gibi diğer yardımcı maddelerin kullanılması dağılma işlemini daha da hızlandırır (17, 31, 32).

ADT'lerde kullanılan süperdağıtıcıların etki mekanizmaları aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir.

- **Şişme yoluyla:** Bu mekanizmaya sahip süperdağıtıcılar (nişasta gibi) su ile temas sonrası şişerek dağılmaya etki ederler. Şişme sonrası tablet içindeki diğer yardımcı maddelerin birbirine olan adezyonu azalır ve tablet dağılmaya başlar

(37, 38). Kroskarmelloz sodyum, sodyum nişasta glikolat, aljinik asit şişme yoluyla etki eden dağıtıcılara örnektir (32).

- **Porozite ve kapiler etki (wicking):** Şişme yoluyla etki etmeyen süperdağıtıcıların, porozite ve kapiler etki yoluyla tablet dağılmasına etki ettikleri düşünülmektedir (38). Tabletlerin sulu ortama bırakılmasıyla, ortamdaki su tablet içerisine nüfuz eder ve tablet içerisindeki hava molekülleri ile suyun yer değiştirmesi sonucunda moleküller arası bağların zayıflamasına ve tabletin daha küçük parçalar halinde dağılmasına olanak sağlamaktadır. Krospovidon kapiler etki ile dağılan dağıtıcılara örnek olarak verilebilir (32).
- **Dağılan partiküller/partiküllerin itme kuvvetiyle etki:** Bu mekanizma şişme yoluyla etki etmeyen süperdağıtıcılarda görülür. Partiküller arası elektriksel itme kuvveti tabletin dağılmasına yardımcı olur ve bu dağılma için su gereklidir (38).
- **Deformasyonla etki:** Tabletlerin basılması sırasında dağıtıcı yardımcı maddeler deforme olurlar ve bu maddeler suyla temas edince eski formlarına (boyut gibi) geri döner. Bu şekilde tabletlerin dağılmasına yardımcı olur (32). Nişasta deformasyonla etki eden dağıtıcılara bir örnektir (37).

Şeker bazlı yardımcı maddelerin kullanılması:

ADT'lerin direkt basım tekniği ile üretilmesindeki bir diğer yaklaşım da formülasyonda mannitol, sorbitol, nişasta hidrolizat, dekstroz gibi şeker bazlı yardımcı maddelerin kullanılmasıdır. Bu yardımcı maddelerin hem suda çözünürlüğü yüksektir hem de tatlı olmaları sayesinde tat maskeleyici özelliği de sağlar (17).

Patentli Teknolojiler

- Zydis® teknolojisi

Zydis® teknolojisi jelatin matriks içerisindeki ilacın dondurarak kurutulmasıyla ADT elde edilmesini sağlayan patentli üretim teknolojilerinden biridir (39). Bu teknoloji ile elde edilmiş olan ADT'lerin tablet ağırlığı düşüktür ve elde edilen tabletler kırılmandır, bu yüzden bu tabletleri kullanan hastalara tabletleri blisterden iterek çıkarmak yerine, blisteri soyarak çıkarmaları önerilmektedir (36). Zydis® teknolojisi ile elde edilmiş ADT'lerdeki su içeriği mikrobiyal üreme için oldukça düşüktür, bu nedenle bu tabletler kendi kendini koruyan (*self-preserving*) tabletler olarak da bilinir (33).

Zydis® teknolojisi ile üretimi tercih edilen ilaçlar suda çözünmeyen, düşük dozlu, kimyasal olarak kararlı, partikül büyüklüğü küçük ve tatsız ilaçlardır. Bu teknoloji sırasında en çok tercih edilen matriksler jelatin ve mannitoldür. En iyi fiziksel yapı ise, suda çözünür polimer ve kristalize şeker alkolü veya aminoasit kullanılmasıyla elde edilmiştir. Polimerler dayanıklılık ve elastikiyet kazandırırken, kristalize içerik sertlik ve belirgin bir yapı kazandırmaktadır (26).

Zydis® teknolojisinin bazı sakıncaları da bulunmaktadır. Öncelikle konvansiyonel üretim tekniklerine göre daha pahalıdır. Bu teknoloji ile üretilmiş olan ADT'ler kırılgandır. Tabletlerin yüksek sıcaklık ve nem koşullarında kararlılıkları da oldukça düşüktür. Bu teknikle, %65'ten daha nemli ortamlarda bozulmaya oldukça eğilimli tabletler elde edilmektedir (36).

- Quicksolv® teknolojisi

Quicksolv® teknolojisi, ilaç içeren matriksin sulu çözeltisinin veya dispersiyonunun dondurulması ve daha sonra yüksek oranda alkol kullanarak matriks içeriğindeki suyun kurutularak uzaklaştırılmasıyla poröz yapıda ADT'lerin elde edilmesinde kullanılan patentli üretim teknolojisidir (40). Bu teknoloji kullanılarak, üretim sırasında tabletlerin kırılma ve çatlamalarının önlenmesi veya azaltılması, ayrıca tabletlerde porozite tekdüzeliğinin ve kullanım için yeterli dayanıklılığın kazandırılması amaçlanmaktadır (39). Bunların yanı sıra bu teknoloji, ekstraksiyon çözücüsünde çözünmeyen ilaçların ADT'lerinin üretimi için de uygundur. Sudaki çözünürlüğü düşük, partikül büyüklüğü küçük ve süspansiyon içinde kararlı kalabilen etkin maddeler için bu teknoloji ile üretim tercih edilmektedir. Bu teknoloji ile üretilmiş olan ADT'lerin dağılma süresi oldukça kısadır ve ağızda hoş bir his bırakır (14).

- Lyoc® teknolojisi

Lyoc® teknolojisi, blisterlere doldurulmuş olan su/yağ emülsiyonunun dondurularak kurutulması ile ADT elde edilmesinde kullanılan patentli üretim teknolojisidir (40). Bu teknoloji ile üretilmiş olan ADT'ler yüksek doz ilaç içerebilir ancak bu teknoloji ile üretilen tabletlerin mekanik dayanıklılığı düşüktür (14). Üretim sırasında partiküllerin olası çökmesi ile homojenliğin bozulmasını önlemek için, dondurulacak olan karışımın vizkozitesini artırmak gerekmektedir. Bu amaçla,

formülasyonda çözünmemiş inert doldurucu (mannitol gibi) kullanılır. Kullanılan doldurucunun çok yüksek oranda kullanılması, kurutulmuş katı dozaj formunun porozitesini azaltacağı için bu durumda tabletin dağılma hızı da azalır (39).

- **Orasolv® teknolojisi**

Orasolv® teknolojisi, efervesan dağıtıcı içeren tabletlerin düşük basınç altında direkt basımı ile ADT elde edilmesinde kullanılan patentli üretim teknolojisidir. Bu teknoloji aynı zamanda tat maskeleyme teknolojisidir (33). Orasolv® teknolojisi ile üretilmiş olan tabletler görünüş olarak konvansiyonel tabletlere benzeseler de, konvansiyonel tabletlere göre daha düşük basınçta basıldıkları için daha yumuşak ve daha kırılımandır. Bu nedenle bu tabletler için özel paketleme sistemi geliştirilmiştir (40).

- **Durasolv® teknolojisi**

Durasolv® teknolojisi, tabletlerin direkt basımı ile ADT elde edilmesinde kullanılan patentli üretim teknolojisidir. Orasolv® teknolojisine benzer bir şekilde üretim yapılır, ancak farkı tabletlerin daha yüksek basınç altında basılması ve buna bağlı olarak mekanik olarak daha dayanıklı tabletlerin elde edilmesidir (36). Bu teknoloji ile üretilmiş olan ADT formülasyonlarında genellikle doldurucu ve kaydırıcı kullanılır ve konvansiyonel üretim ekipmanları ile üretim yapılabilir. Aynı zamanda elde edilen tabletler daha dayanıklı olduğu için geleneksel paketleme sistemleri bu yöntemde kullanılabilir. Düşük maliyetli bir üretim teknolojisidir (12, 26). Bu üretim teknolojisi tabletler yüksek basınç altında basıldığı için yüksek dozlu ilaçların üretimi için uygun bir teknoloji değildir (36).

- **Flashtab® teknolojisi**

Flashtab® teknolojisinde etkin madde, midede hızlı salımın sağlanması için polimer ile kaplanarak tat maskeleyme özelliğine sahip mikro boyutta granüler yapı elde edilir. Bu teknoloji ile üretimi yapılacak ADT'lerin formülasyonlarında tabletlerin hızlı dağılmasını sağlamak için yaş veya kuru granülasyonla granül haline getirilmiş efervesan özellikli dağıtıcı ve şişmeyi sağlayan yardımcı maddeler de kullanılır.

Bu teknoloji, mikrogranül yapıdaki etkin madde ile yardımcı maddelerin karıştırılarak direkt basım yöntemi ile ADT'lerin elde edilmesi prensibine dayanır (26).

- **Wowtab® teknolojisi**

Wowtab® teknolojisinde, WoW “susuz (without water)” anlamına gelmektedir. Bu teknoloji, düşük ve yüksek şekil alabilir sakkaritler ile elde edilmiş olan granülleri içeren tabletlerin basılması ile ADT elde edilmesinde kullanılan patentli üretim teknolojisidir. Sakkaritlerin şekillendirilebilirliği, içeriğin basılabilirlik kapasitesi ile ilişkilidir. Düşük şekillendirilebilir sakkaritlerin basılabilirlikleri düşüktür, çözünme hızları yüksektir. Bu durum yüksek şekillendirilebilir sakkaritlerde ise tam tersidir (12). Etkin madde düşük şekillendirilebilir sakkarit ile karıştırılır ve yüksek şekillendirilebilir sakkarit ile granüle edilir, daha sonra direkt basım tekniği ile basılır. Bu teknoloji ile üretilmiş olan tabletler daha dayanıklıdır ve 15 saniye veya daha kısa bir sürede hızlıca dağılır. Ayrıca konvansiyonel granülasyon ve tablet basım yöntemlerinin ve paketleme sistemlerinin kullanılabilir olması bu teknolojinin üstünlükleri olarak sıralanabilir (26).

- **Ziplot® teknolojisi**

Ziplot® teknolojisi, suda çözünmeyen veya kaplanmış mikropartiküller halinde bulunan etkin maddeler için kullanılan patentli üretim teknolojisidir. Bu teknoloji ile, formülasyonda uygun miktarda suda çözünmeyen inorganik yardımcı maddelerin bir veya daha fazla dağıtıcı ajan ile kombine kullanılarak düşük basınç altında basılmış olan, mekanik dayanıklılığı gelişmiş ve optimum dağılma süresine sahip ADT'ler elde edilir. Ayrıca bu teknoloji ile üretilen ADT'ler yüksek doz ilaçlara ve kaplanmış ilaç partiküllerine uygulanabilir ve herhangi özel paketleme sistemine gerek duyulmaz (32, 40).

- **Flashdose® teknolojisi**

Flashdose® teknolojisi, sürekli dönme gücü ile kristal lif benzeri yapıya sahip ADT elde etmek için kullanılan patentli üretim teknolojisidir. Elde edilen kristal lif etkin madde içerir ve direkt basım ile tablet haline dönüştürülür. Elde edilen ADT'ler

geniş yüzey alanına sahip oldukları için dile yerleştirildiklerinde çok kısa sürece dağılarak çözünürler (36, 39).

Bu teknoloji ile hazırlanan tabletler çok kırılğan, yumuşak ve neme duyarlı bir yapıya sahiptir ve özel paketleme sistemine gereksinim vardır. Ayrıca neme ve ısıya hassas etkin maddeler için uygun bir teknik değildir (26, 27).

- **Oraquick® teknolojisi**

Oraquick® teknolojisi, etkin maddenin mikroküre matriks içerisine yerleştirilmesi işlemini kapsayan patentli tat maskeleye teknolojisidir. Bu teknolojide, şeker (sükroz, mannitol gibi) ve protein (albümin veya jelatin) yapıdaki yardımcı maddeler uygun bir çözücü içerisinde çözülür. Çözücü matriks püskürterek kurutma yöntemi ile kurutulur, yüksek poroziteye sahip granüller elde edilir. Elde edilen bu granüller etkin madde ve diğer yardımcı maddeler ile karıştırılarak düşük basınç altında direkt basım yöntemi ile basılarak tabletler elde edilir. Bu teknoloji, üretim sırasında düşük sıcaklık kullanıldığı için ısıya duyarlı etkin maddeler için uygun bir üretim teknolojisidir (26, 40).

Oraquick® teknolojisi ile tabletler tat maskeleye özelliği bozulmaksızın yeterli mekanik dayanıklılığa sahip olacak sertlikte basılabilir. Bu teknoloji ile, saniyeler içerisinde çözünen ve ağızda güzel bir tat bırakan ADT'ler üretilmesi mümkün olmaktadır (36).

2.1.6. ADT'lerin Piyasa Preparatları

Uluslararası piyasada bulunan ADT'lere örnekler Tablo 2.2'de, Türkiye piyasasında yer alan ADT preparatları Tablo 2.3'te verilmiştir.

Tablo 2.2. Uluslararası piyasada yer alan ADT preparatlarına örnekler.

Etkin madde	Preparat adı	Endikasyon	Firma	Bulunduğu Ülke
Alprazolam	Niravam®	Anksiyete	Azur	Amerika Birleşik Devletleri (ABD)
Aripiprazol	Abilify®	Şizofreni	Otsuka	Avusturya Fransa
Desloratadin	Aerius	Alerjik rinit	Merck Sharp & Dohme	Almanya Norveç
Donepezil hidroklorür	Aricept®	Alzheimer tipi demans	Pfizer	Avusturya İsviçre
Essitalopram	Ciprax MELTZ®	Depresyon	Lundbeck Canada Inc.	Almanya İngiltere
Feksofenadin hidroklorür	Allegra	Alerjik rinit	Sanofi Aventis	Japonya
Fentermin	Suprenza™	Obezite	Citius	ABD
İbuprofen	Nurofen Meltlets	Ağrı	Crookes Healthcare Ltd.	İngiltere
Klozapin	FazaClo	Şizofreni	Azur	ABD
Lamotrijin	Lamictal ODT	Bipolar bozukluk	GlaxoSmithKline	ABD
Lansoprazol	Prevacid SoluTab	Ülser	Takeda	Fransa İngiltere
Loperamid	Diarrhoea Relief Instant-melts	Diyare	Galpharm Healthcare Ltd	İngiltere
Loratadin	Alavert	Alerjik rinit	Wyeth	ABD
	Claritin RediTabs		Bayer	Avusturya İngiltere

Tablo 2.2 (Devam). Uluslararası piyasada yer alan ADT preparatlarına örnekler.

Etkin madde	Preparat adı	Endikasyon	Firma	Bulunduğu Ülke
Lorazepam	Lorazepam- neuraxpharm	Anksiyete	Neuraxpharm	Almanya
Memantin hidroklorür	Valios	Alzheimer	Dr. Reddy's Laboratories Ltd.	İngiltere
Mirtazapin	Remeron Smelt	Major depresif bozukluk	N.V. Organon	Letonya İrlanda
Olanzapin	Zyprexa Velotab	Şizofreni	Eli Lilly Nederland B.V	Almanya İsviçre Sırbistan
Ondansetron	Zofran ODT	Kemoterapiye bağlı bulantı ve kusma	GlaxoSmithKline	Kanada İsveç İtalya
Piroksikam	Feldene melt®	Romatoid artrit	Pfizer	İsviçre
Risperidon	Risperdal M- Tab	Şizofreni, bipolar bozukluk	Janssen-Cilag	Belçika Danimarka Hırvatistan
Rizatriptan	Maxalt-MLT	Migren	Merck Sharp & Dohme	Almanya Fransa
Selejilin	Zelapar	Parkinson	Cephalon UK Limited	İngiltere
Sertralin	Zoloft ODT	Depresyon Obsesif kompulsif bozukluk	Pfizer	Arjantin
Sildenafil	Viagra	Erektile disfonksiyon	Pfizer	Almanya
Tiyokolşikozit	Maxthio	Ağrılı kas spazmı	Deva	Türkiye
Vardenafil	Staxyn	Erektile disfonksiyon	Bayer	Kanada
Zolmitriptan	Zomig-ZMT	Migren	AstraZeneca	Kanada

Tablo 2.3. Türkiye piyasasında yer alan ADT preparatları.

Etkin madde	Preparat adı	Firma	Endikasyon
Amlodipin besilat	Norvasc ADT	Pfizer	Hipertansiyon
Amoksisilin ve Klavulanik asit	Amoksilav Quicktab ADT	Sandoz	Alt ve üst solunum yolu enfeksiyonu
Aripiprazol	Abizol Easytab ADT	Nobel	Şizofreni
	Arifay ADT	Sanofi	
	Fixment ADT	Opto	
	Ripazol ADT	Generica	
Betahistin hidroklorür	Vasoserc ADT	Abdi İbrahim	Menier sendromu
Deksketoprofen	Darkin ADT	Sanovel	Ağrı
Desloratadin	Aerius Reditabs ADT	Merck Sharp Dohme	Alerjik rinit
Donepezil hidroklorür	Alzancer Easytab	Nobel	Alzheimer tipi demans
	Aricept Evess ADT	Pfizer	
	Doenza ODT ADT	Sanovel	
	Dozyl Easy ADT	Abdi İbrahim	
Essitalopram	Estalora ADT	Polpharma	Depresyon
Flurbiprofen	Maxaljin Distab ADT	Abdi İbrahim	Romatoid artrit
Lorazepam	Ativan Expidet	Pfizer	Anksiyete
Memantin hidroklorür	Cissor Easytab ADT	Tripharma	Alzheimer
	Cogito ADT	Santa Farma	
	Demax Easytab ADT	Abdi İbrahim	
	Melanda Rapid ADT	Ali Raif	
Mirtazapin	Velorin OD	Teva	Major depresif bozukluk
	Zestat	Abdi İbrahim	
Olanzapin	As-Pineks ADT	Apotex	Şizofreni
	Ofans ODT ADT	Vitalis	

Tablo 2.3 (Devam). Türkiye piyasasında yer alan ADT preparatları.

Etkin madde	Preparat adı	Firma	Endikasyon
Olanzapin	Oloxinn ADT	Generica	Şizofreni
	Olfrex Easytab ADT	Nobel	
	Ozaprin Rapid ADT	Ali Raif	
	Rexapin Easytab ADT	Abdi İbrahim	
	Zophix	Sanofi	
	Zyprexa Velotab	Lily	
Ondansetron	Onzyd ADT	Platin Kimya	Kemoterapiye bağlı bulantı ve kusma
	Santis ADT	Kaya Beşeri	
	Zofran Zydis	Sandoz	
Perindopril arjinin tuzu	Coversyl OD ADT	Les Laboratories-Servier	Hipertansiyon
Pramipeksol	Pidrex ADT	Sanovel	Parkinson
Sapropterin Hidroklorür	Diterin ADT	Tripharma	Fenilketonüri ve hiperfenilalaninemi
	Kuvan	BioMarin	
Sefiksim	Innocef ADT	Vitalis	Kulak burun boğaz enfeksiyonu
Sildenafil	Viagra	Pfizer	Eretil disfonksiyon
Risperidon	Risperdal Quicklet ADT	Johnson and Johnson	Şizofreni
Rizatriptan	Maxalt Rapidisc	Merck Sharp Dohme	Migren
Tiyokolşikosid	Maxthio ODT ADT	Deva	Ağrılı kas spazmı
Vardenafil	Levitra ADT	Bayer Shering Pharma	Eretil disfonksiyon
Zolmitriptan	Zomig Rapimelt	AstraZeneca	Migren

2.2. Bulantı ve Kusma

Bulantı, sıklıkla kusmayı tetikleyen huzursuzluk hissi olarak bilinmektedir (41). Bulantıya klinikte kusma ile birlikte yaygın olarak karşılaşılmaktadır. Ancak her zaman kusma ile de sonuçlanmayabilir (41, 42).

Bulantı ve kusma, pek çok uyararı bulunan, yavaş veya hızlı ortaya çıkabilen, ön belirti veya semptomları değişken olan fizyolojik bir durumdur (43).

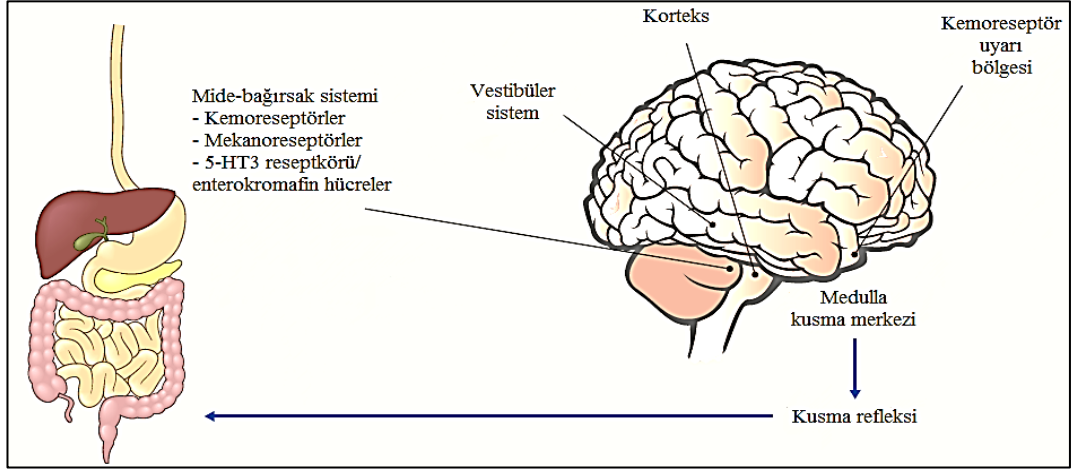
Yıllardır devam eden prelinik çalışmalara rağmen, bulantı ve kusmanın fizyolojisi ve dahil olan biyokimyasal mediyatörleri tanımlamak henüz mümkün olmamıştır. Çalışmalarda yaygın olarak kullanılan laboratuvar hayvanlarının (fare, sıçan ve tavşan gibi) kusma refleksine sahip olmaması nedeniyle bulantı ve kusmanın fizyolojisi henüz tam olarak aydınlatılmamıştır (44).

Bulantı ve kusma hastalıkla ilişkili ve tedaviyle ilişkili olmak üzere kategorize edilebilir. Kanser tedavisi gören hastaların yaklaşık % 40-70'inde ve ayrıca hepatit C, inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi kronik hastalıklarda yaygın olarak görülmektedir. Bulantı ve kusmanın başlangıcı harekete hassasiyet, hamilelik, kemoterapi, gastrik iritasyon veya ameliyat gibi pek çok etkene bağlı olabilir. Anestezi ve ameliyat sonrası çeşitli hastalıkların, mevcut ve gelişmekte olan ilaç tedavilerinin yan etkisi olarak ayrı ayrı veya birlikte ortaya çıkabilir. Bulantı ve kusma aynı zamanda besinlerle birlikte vücuda alınmış toksinlere karşı vücudun savunma mekanizmasının bir parçasıdır. (45-47).

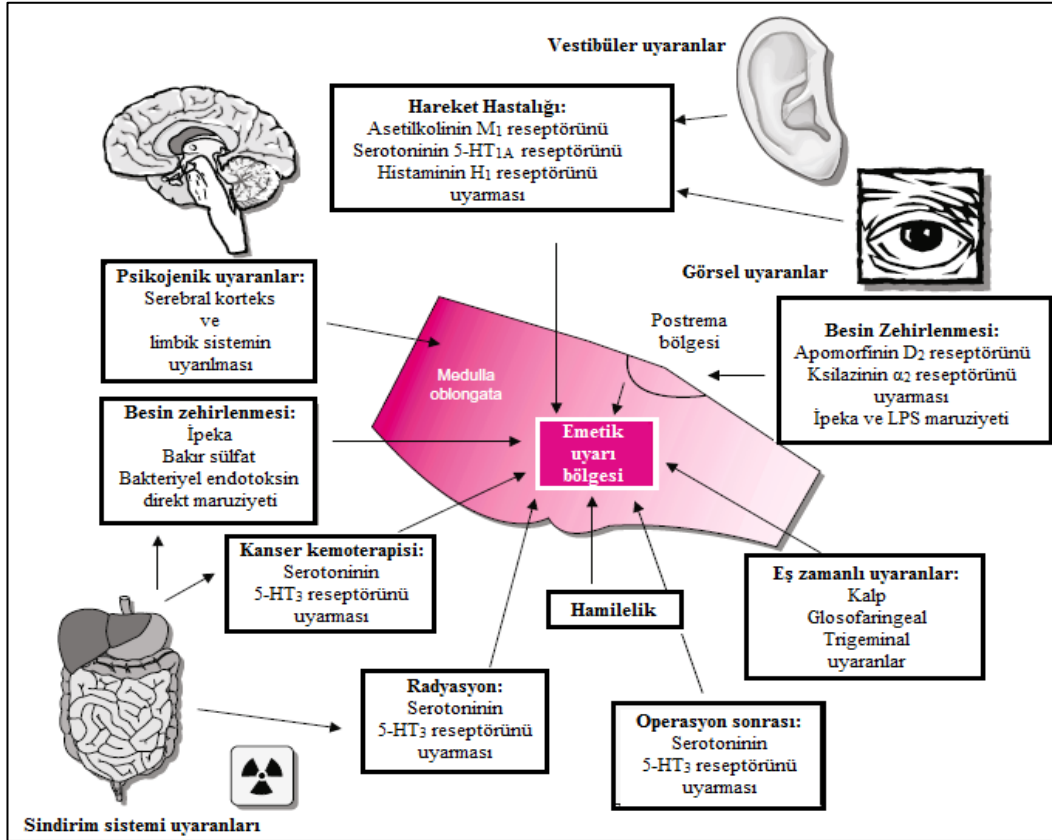
Bulantı ve kusma, vücut sıvılarındaki değişiklikler, aferent lifler aracılığıyla gelen uyarılar, somatik iskelet-kas sisteminin inhibisyonu veya kasılması gibi son aşamada kusma merkezini uyaran pek çok fizyolojik olayın sonucu olarak ortaya çıkar. Kusma merkezi; medullada yer alan, beyin hücrelerinin oluşturduğu ve kusmadan sorumlu motor bölgedir. Bulantı ve kusma uyarıları dört farklı bölgeden köken alarak kusma merkezine ulaşır; kemoreseptör uyarı bölgesi (*chemoreceptor trigger zone*, KUB), korteks, vestibüler sistem ve mide-bağırsak sistemi. Kusma, kusma merkezinden çıkan uyarıların tükürük merkezi, abdominal kaslar, solunum merkezi ve kranial sinirleri uyarması sonrası meydana gelir (48). Şekil 2.3'te beyinin bulantı ve kusma ile ilişkili bölümleri şematik olarak gösterilmiştir.

Vücutta kusma ile ilişkili olduğu düşünülen beş adet reseptör bulunmaktadır. Bunlar muskarinik (M₁), dopaminerjik (D₂), histaminerjik (H₁), 5-hidroksitriptamin

veya serotonin (5-HT₃) ve nörokinin NK₁ (P maddesi)'dir (49). Kusma merkezi ve KUB'nin çeşitli uyarıları Şekil 2.4'te şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Beynin bulantı ve kusma ile ilişkili bölümlerinin şematik gösterimi (49).



Şekil 2.4. Kusma merkezi ve KUB uyarılarının şematik gösterimi (50).

Bulantı ve kusması olan hastanın değerlendirilmesi ve tedavisi için öncelikle emetik mekanizmanın ve bu mekanizmaya dahil olan reseptör ve nörotransmitterlerin

bilinmesi önemlidir. Geliştirilmiş olan antiemetik ilaçlar öncelikli olarak ilgili reseptör bölgelerine etki ederek, ilgili nörotransmitterleri engelleyici mekanizmaya sahiptir (51).

2.2.1. Antiemetik İlaçlar

Bulantı ve kusmayı tetikleyen pek çok faktör göz önüne alındığında, antiemetik ilaçlar etki ettikleri farklı reseptörler ve etki mekanizmalarına göre farklı kategorilere ayrılmaktadır. Bazı antiemetikler, serotonin, histamin, dopamin, muskarinik veya NK₁ reseptörlerinin antagonisti olarak etki ederken, bazıları farklı alternatif mekanizmalarla etki göstermektedir (52). Farklı kategorilerdeki antiemetiklerin etki mekanizmaları aşağıda anlatılmıştır.

- Serotonin antagonistleri (5-HT₃ reseptör antagonistleri)

5-HT₃ reseptörü vagus siniri, beyin ve bağırsakta yer alan serotonin reseptörünün alt tipidir. Serotonin kemoterapi, radyasyon gibi etmenlere bağlı olarak ince bağırsakta üretilmektedir (53). Serotonin antagonisti olarak kullanılan antiemetik ilaçlar, yarışmalı ve seçici olarak 5-HT₃ serotonin alt reseptörüne bağlanırlar (54).

Serotonin antagonistleri daha çok kemoterapi, radyoterapi kaynaklı bulantı, ameliyat sonrası gelişen bulantı ve kusmada kullanılır (55). Tropisetron, ondansetron, granisetron, dolasetron ve palonosetron bu grubun en çok kullanılan ilaçlarıdır (52, 55).

Serotonin antagonistleri benzer etki mekanizmalarına sahip olmalarına rağmen, farklı kimyasal yapı ve farmakolojik özelliklere sahip olmaları nedeniyle ilaca karşı verilen cevap, etki süreleri ve reseptör bağılıkları da farklıdır (54). Dolasetronun yarılanma ömrü 0,13 – 0,24 saat iken, granisetron için bu süre yaklaşık olarak 7-8 saattir. Ondansetronun yarılanma ömrü sağlıklı yetişkin bireylerde 3,4 saat iken bu süre yaşlılarda 4,5 saate kadar çıkabilmektedir (54). Palonosetronun yüksek reseptör bağılılığı sebebiyle diğer serotonin antagonisti ilaçların yarılanma ömürleri (4-9 saat) ile karşılaştırıldığında yarılanma ömrü çok daha uzundur (yaklaşık 40 saatten fazla)(52).

Serotonin antagonistleri iyi tolere edilebilirler ve diğer antiemetiklere kıyasla yan etkileri daha azdır. En yaygın yan etkisi yine bulantı ve kusmayı tetikleyen

kabızlıktır. Diğer yan etkileri ise; baş ağrısı, baş dönmesi, sersemlik, QT uzaması ve kardiyak aritmidir (52-54).

- Dopamin antagonistleri (D₂ reseptör antagonistleri)

Dopamin antagonistlerinin postrema bölgesinde yer alan KUB'deki dopaminerjik D₂ reseptörleri inhibe ederek antiemetik etki gösterdikleri düşünülmektedir (52, 56). Dopamin antagonistleri daha çok ilaca ve kandaki toksinlere bağlı gelişen bulantı ve kusmaların tedavisinde kullanılır (49). Fenotiyazinler (prometazin, proklorperazin, klorpromazin), benzamitler (metoklopramit, domperidon) ve bütirofenonlar (haloperidol, droperidol) yaygın olarak kullanılan dopamin antagonisti ilaçlardır (56, 57).

Fenotiyazinler dünya genelinde en yaygın kullanılan antiemetik ilaçlardır. Yapılarında bulunan trisiklik nükleustaki radikal grup sayesinde antiemetik etkiye sahiptirler. Direkt D₂ reseptör engelleyici etkilerinin yanı sıra orta derecede antihistaminik ve antikolinergik etkileri de mevcuttur. Bu etkileri sayesinde aynı zamanda sedatif ve trankilizan olarak da kullanılırlar (57). Fenotiyazinlerin oral yolla uygulanan preparatları piyasada mevcuttur ve ameliyata bağlı bulantı ve kusmayı önlemek için ameliyat öncesi 4-8 mg dozda kullanılmaları önerilmektedir (52). Fenotiyazinler, nöroleptik malign sendrom ve okülerjik kriz gibi ekstrapiramidal etkilere ve distonik reaksiyonlara neden olabilirler. Bu yan etkilerinden dolayı kullanımları kısıtlanmaktadır, özellikle Parkinson hastalarında kullanımından kaçınılmalıdır (49, 53).

Bütirofenonlar arasında en yaygın kullanılan antiemetik ilaç droperidoldür. Fenotiyazinler ile aynı etki mekanizmasına sahiptir ve ameliyata bağlı bulantı ve kusmaya karşı profilaktik olarak kullanılır (52). Bu grubun bir diğer ilacı haloperidolün etkisi droperidole göre çabuk başlar ancak etkisi daha kısa sürelidir (58). Her iki ilaç da yaygın olarak palyatif tedavide kullanılır (49). Haloperidol ve droperidol tekrarlayan yüksek dozlarda özellikle genç yetişkin ve yaşlı kişilerde ekstrapiramidal yan etkiler, anksiyete, huzursuzluk, hipotansiyon ve ameliyat sonrası sedasyon gibi yan etkilere neden olabilir. Bu yan etkiler, özellikle ekstrapiramidal yan etkiler, fenotiyazinlerde görülen yan etkilere göre daha şiddetli olarak ortaya çıkar (57).

Metoklopramit, kolinomimetik etkisi aracılığıyla mide hareketliliğini artırarak KUB'deki dopaminerjik reseptörleri inhibe eden benzamit türevi bir antiemetiktir (52). Bu nedenle gastrik staza bağlı olarak gelişen bulantı ve kusma tedavisinde kullanılır (59). Yapılan birçok çalışma, metoklopramitin ameliyat sonrası bulantı ve kusmalara karşı etkisinin diğer antiemetiklere göre daha düşük olduğunu göstermektedir (52). Ekstrapiramidal yan etkisi doza ve tedavi süresine bağlı olarak artış göstermektedir (53).

Domperidon ise diğer antiemetiklere göre kan-beyin bariyerini daha az geçtiği için ekstrapiramidal yan etkisi daha düşük olmasına rağmen, ameliyat sonrası gelişen bulantı ve kusma tedavisindeki etkililiği şüphelidir (47).

- **Histamin antagonistleri (H₁ reseptör antagonistleri)**

H₁ reseptör antagonistleri, vestibüler sistemde yer alan histamin reseptörlerini inhibe ederek etki gösterirler. Bu grupta yer alan hemen hemen tüm ilaçlar aynı zamanda zayıf antikolinergik etki göstererek vestibüler sistemde yer alan muskarinik M₁ reseptörlerini de inhibe ederler (52). En yaygın kullanılan histamin antagonistleri difenhidramin, dimenhidrinat, hidrosizin, meklizin ve siklizindir (52, 57).

Antihistaminikler vertigo ve hareket hastalığının tedavisinde etkilidir. Esas olarak kusma merkezi ve vestibüler sistem üzerine etki ederler, buna karşın KUB'ye etkileri azdır (57). Tek başlarına kullanıldıklarında genellikle zayıf antiemetik etkiye sahiptirler (52).

Siklizin yarışmalı H₁ reseptör antagonistidir, aynı zamanda antimuskarinik etkiye de sahiptir. Başlıca yan etkisi taşikardi ve disforidir, yavaş intravenöz enjeksiyonla uygulanarak bu yan etkiler azaltılabilir (49).

Hidrosizin, antihistaminik, antikolinergik ve bronkodilatör etkilere sahip olması nedeniyle vertigo, hareket hastalığı ve ameliyata bağlı bulantı ve kusmaların tedavisinde kullanılan anksiyolitik bir antiemetiktir (57)

Antihistaminiklerin başlıca yan etkileri sedasyon, ağız kuruluğu, bulanık görme, üriner retansiyon ve uzamış anestezi etkisidir (57).

- **Antikolinergikler (Antimuskarinikler)**

Antikolinergikler en eski antiemetik ilaçlardır. Serebral korteksteki muskarinik (M₃ ve M₅ reseptörleri) ve kolinerjik reseptörleri inhibe ederek etki

gösterirler. Daha çok hareket hastalığına bağlı bulantı ve kusma tedavisinde kullanılırlar (57).

En sık kullanılan antikolinergik ilaç skopolamindir. Skopolamin M_1 ve H_1 reseptörlerini engellediği için ameliyat sonrası gelişen bulantı ve kusmaların tedavisinde etkili olduğu gözlemlenmiştir (58).

Muskarinik reseptörler periferde parasempatik sinir sistemiyle ilişkili organlarda bulunur. Bu nedenle antimuskarinik ilaçların en yaygın yan etkileri ağız kuruluğu ve bulanık görmedir, ancak bu yan etkiler ciddi değildir (47).

- **Nörokinin (NK_1) reseptör antagonistleri (P maddesi antagonistleri)**

P maddesi bağırsak ve merkezi sinir sisteminde bulunan bir nöropeptittir ve NK_1 reseptörüne bağlanarak bulantı ve kusmayı tetikler (59). NK_1 reseptör antagonistleri, KUB'den gelen sinyalleri inhibe ederek veya P maddesinin inhibe ederek antiemetik etki gösterirler (52).

NK_1 reseptör antagonistleri; radyasyon, sisplatin, siklofosfamid, bakır sülfat, ipeka ve morfin gibi sitotoksik maddelerin etkisi sonucu ve kemoterapi kaynaklı ortaya çıkan bulantı ve kusmaya karşı kullanılırlar (49, 59, 60).

En yaygın kullanılan NK_1 reseptör antagonisti aprepitanttır. Ameliyat sonrası bulantı ve kusmanın yirmi dört saat boyunca önlenmesinde ondansetrona göre daha başarılı olduğu gözlemlenmiştir. Pahalı bir ilaç olduğu için genellikle profilaktik olarak değil tedavi amaçla kullanılmaktadır (49).

- **Diğer antiemetikler**

Kortikosteroidlerin antiinflamatuvar ve/veya membran stabilize edici etkilerinden dolayı antiemetik etki gösterdikleri düşünülmektedir. Kemoterapiye bağlı bulantı ve kusma tedavisinde etkili bulunmasından sonra, ameliyat sonrası gelişen bulantı ve kusma tedavisi için de etkililikleri araştırılmaya başlanmıştır (57). Deksmetazon ve diğer kortikosteroidler büyük oranda KUB'nin yer aldığı postrema bölgesinin geçirgenliğini azaltarak ve emetojenik etki gösteren maddelerin kan-beyin bariyerini geçmesine engel olarak etki gösterirler (59).

Nabilon gibi kannabinoidler de sitotoksik ilaçlara bağlı olarak ortaya çıkan sekonder bulantı ve kusmanın tedavisinde kullanılır. Ancak bu ilaçların sadece hastanede veya düzenli takibin yapılması koşuluyla kullanılması önerilmektedir.

Bozulmuş mental durum, konfüzyon ve ataksi bu ilaçlar sonrasında görülen çok yaygın yan etkilerden sadece birkaç tanesidir (49).

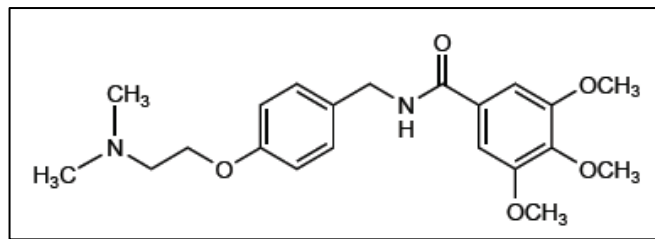
2.3. Trimetobenzamit Hidroklorür (TMB)

Trimetobenzamit Hidroklorür (TMB) ilk olarak 1959 yılında sentezlenmiş olan antiemetik bir ilaçtır. Kimyasal yapısı fenotiyazinlerden çok, dimetilaminoetoksi antihistaminiklere daha yakındır (61).

2.3.1. Fizikokimyasal Özellikleri

Kimyasal yapısı Şekil 2.5'te verilmiş olan TMB'nin fizikokimyasal özellikleri aşağıda özetlenmiştir (62-64)

- Kapalı formülü: $C_{21}H_{28}N_2O_5, HCl$
- IUPAC ismi: N-(4-(2-Dimetilaminoetoksi)benzil)-3,4,5-trimetoksibenzamit hidroklorür
- Molekül ağırlığı: 424,9 g/mol
- Organoleptik özellikleri: Hafif fenolik kokuya sahip beyaz kristalize toz.
- Çözünürlük: 2k suda, 59 k alkolde, 67 k kloroformda, 720 k eterde çözünür; benzende çözünmez.
- Erime derecesi: 187-190°C
- Disosiasyon Sabiti: $pK_a = 8,27 \pm 0,03$
- LogP: 2,29



Şekil 2.5. TMB'nin kimyasal yapısı (64).

2.3.2. Tanıma ve Miktar tayini

TMB'nin tanıma analizi Infrared (IR) ve Ultraviyole (UV) absorpsiyon, ince tabaka kağıt kromatografisi ve klorür testi ile gerçekleştirilebilir (65).

Miktar tayini ise, potansiyometrik analiz ile gerçekleştirilebildiği gibi, Amerikan Farmakopesi (*United State Pharmacopeia, USP*) TMB Kapsül

(*Trimethobenzamide Hydrochloride Capsules*) ve TMB Enjeksiyon (*Trimethobenzamide Hydrochloride Injection*) monograflarında belirtildiği gibi spektrofotometrik yöntemlerle de gerçekleştirilebilir (65-67).

2.3.3. Farmakolojik Özellikleri

Hayvanlar üzerinde yapılmış çalışmalara göre TMB'nin etki mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Ancak medulla oblongatada yer alan, emetik uyarıların kusma merkezine iletiildiği KUB'ye etki ettiği düşünülmektedir. Köpeklerde yapılan bir çalışmada TMB ile önceden tedavi edilen köpeklerde, intragastrik yoldan verilen bakır sülfata bağlı olarak gelişen kusmayı etkilemediği, apomorfine karşı gelişen emetik cevabı inhibe ettiği görülmüştür (68).

TMB'nin antiemetik etkisi dopamin ve serotonin reseptörlerini antagonize etmesiyle meydana gelir. İlaçlar, radyasyon tedavisi, enfeksiyon ve hareket hastalığına bağlı olarak ortaya çıkan bulantı ve kusmanın önlenmesi ve tedavisinde TMB yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca gastroenterite bağlı bulantı ve ameliyat sonrası gelişen bulantı ve kusmanın tedavisinde de sıklıkla kullanılır (69). Yapılan klinik bir çalışmada TMB'nin migrene karşı, atak tekrarı ve yan etki görülmeden, oldukça etkili olduğu gösterilmiştir (70).

TMB'nin diğer antiemetiklere (metoklopramit ve proklorperazin) göre dopamin reseptörlerine olan afinitesi daha düşüktür (71). Bu nedenle Amerika'da Parkinson Hastalığı tedavisinde önerilen tek antiemetik ilaçtır. 182 parkinson hastası üzerinde gerçekleştirilmiş kontrollü bir klinik çalışmada TMB apomorfine ile birlikte uygulanmış ve apomorfine tedavisinin ilk 8 haftasında bulantı ve kusmayı azalttığı görülmüştür (72, 73).

Bazı araştırmalar TMB'nin hamilelikte mide bulantısı ve kusma için kullanımını önerirken, bazı araştırmalar fetüs üzerindeki zararlı etkileri nedeniyle hamilelikte kullanımını önermemektedir. FDA'da ise TMB ile ilişkili doğum defektleri ve düşük riski için hamileler üzerinde yapılmış çalışmaların yeterli olmadığı belirtilmektedir (69, 74). Erol ve ark. tarafından on adet hamile sıçan üzerinde gerçekleştirilen kontrollü hayvan deneyi verilerine göre TMB'nin büyüme geriliği, beyin ve bağırsakların geliştiği dönemde nörolojik hasarlar ve karaciğer hasarına yol açtığı görülmüştür (69).

Fazlıoğulları ve ark. tarafından antiemetiklerin toksisitesi ve teratojenitesi üzerine gerçekleştirilen bir hayvan deneyi çalışmasında, tüm antiemetiklerin doza bağlı olarak büyüme ve gelişme parametrelerini önemli ölçüde etkilediği görülmüş ve elde edilen veriler doğrultusunda TMB diğer antiemetiklere göre daha toksik ve teratojenik olduğu bulunmuştur (75). Bu çalışmalardan yola çıkarak TMB'nin hamile kadınlarda kullanımı öncesinde risk-yarar değerlendirilmesi yapılması gerekmektedir.

İlk olarak akut distonik reaksiyonlar halinde ortaya çıkan ekstrapiramidal semptomlar TMB kullanımı sırasında yan etki olarak görülebilir. Distonik reaksiyonlar özellikle baş ve boyun bölgesinde kas spazmı halinde ortaya çıkabilir. Semptomların sıklığına göre gerekirse doz aralığının artırılmasıyla TMB'nin günlük alım dozu azaltılmalıdır (68).

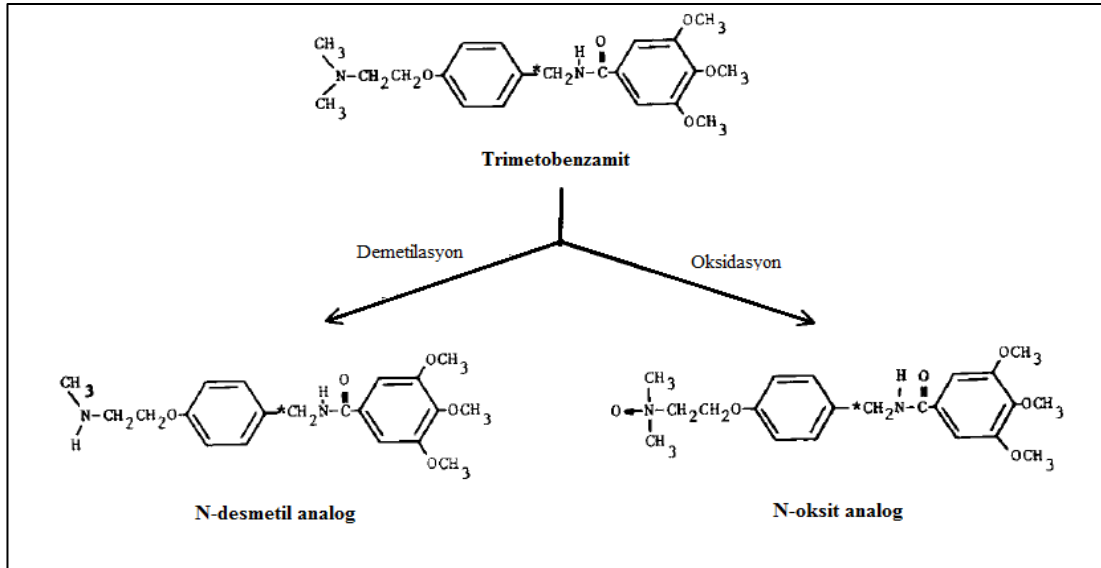
Klinik çalışmalardan elde edilen verilere göre TMB kullanımına bağlı olarak ortaya çıkabilecek diğer yan etkiler aşağıda verilmiştir.

- Sinir sistemi hastalıkları: Parkinson benzeri semptomlar, koma, konvülsiyon, opistotonus, sersemlik, yorgunluk, baş ağrısı
- Psikiyatrik hastalıklar: Disoryantasyon, depresyon
- Göz hastalıkları: Bulanık görme
- Hematolojik hastalıklar: Kan diskrazisi
- Hepatobiliyer hastalıklar: Sarılık
- İmmün sistem hastalıkları: Hipersensitivite, anjiyoödem ve alerjik cilt reaksiyonları
- Gastrointestinal hastalıklar: Diyare
- İskelet kas sistemi hastalıkları: Kas krampları (68).

2.3.4. Farmakokinetik Özellikleri

Kapsül formundaki TMB'nin, çözelti formuna karşı bağlı biyoyararlanımı %100'dür (76). TMB'nin farmakokinetik verileri, sağlıklı yetişkinler üzerinde 300 mg oral kapsül veya 200 mg (100 mg/mL) intramusküler enjeksiyon uygulaması ile elde edilmiştir. Maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşması için gerekli süre (t_{max}) intramusküler enjeksiyonla uygulamada 30 dakika, oral yolla uygulamada 45 dakika olarak elde edilmiştir. Her iki uygulama yoluyla elde edilen plazma konsantrasyon-zaman grafiğinin benzer olduğu görülmüştür (68).

TMB'nin eliminasyon yarılanma ömrü 7-9 saattir. (68). TMB'nin biyotransformasyonu karaciğerde gerçekleşir (69). Esas metabolizasyon yolu oksidasyon ve demetilasyonla TMB N-oksit ve N-desmetil metabolitlerinin elde edilmesidir (Şekil 2.6). Uygulama sonrası 48-72 saat içerisinde TMB dozunun %30-50'si değişmemiş olarak idrarla vücuttan atılır (68).



Şekil 2.6. TMB'nin metabolizasyon yolu ve başlıca TMB metabolitleri (63).

2.3.5. Doz

TMB oral yolla 250-300 mg, intramusküler enjeksiyon veya rektal yolla 200 mg dozda günde 3-4 kez uygulanır. 15 kg'nin üzerindeki çocuklarda günde 3-4 kez oral veya rektal yolla 100-200 mg verilebilir. 15 kg'nin altındaki çocuklarda ise rektal yolla günde 3-4 kez 100 mg verilmesi önerilmektedir (64). Tedaviye en düşük dozda başlanması, ilaca karşı verilmiş olan terapötik cevap ve toleransa göre gerekli olması halinde doz ayarlamasının yapılması önerilmektedir (68).

2.3.6. Piyasa Preparatları

Türkiye piyasasında yer alan TMB preparatları Tablo 2.4'te, uluslararası piyasada bulunan TMB preparatlarına örnekler Tablo 2.5'te verilmiştir.

Tablo 2.4. Türkiye piyasasında yer alan TMB içeren preparatlar.

Preparat adı	Dozaj Şekli	Dozu	Pazar durumu	Firma adı
Ametik	Damla	50 mg/0,5 mL	Pazarda	Kurtsan İlaçları A.Ş.
Anti-Vomit	Ampül	200 mg/2 mL	Pazarda değil	Deva Holding A.Ş.
	Draje	200 mg		
	Film tablet	200 mg		
	Pediyatrik Suppozituar	100 mg		
Emedur	Film tablet	200 mg	Pazarda	Sanofi Sağlık Ürünleri Ltd. Şti.
	IM Enjeksiyonluk çözelti	200 mg/2 mL		
	Supozituar	100 mg/20 mg		
	Supozituar	200 mg/40 mg	Pazarda değil	Sanofi Sağlık Ürünleri Ltd. Şti.
Vomet	Ampül	200 mg/2 mL	Pazarda	İbrahim Ethem
	Draje	200 mg	Pazarda değil	Ulagay İlaç San. Türk A.Ş.
	Supozituar	100 mg		
	Supozituar	200 mg		
Vomitin	Ampül	100 mg/2 mL	Pazarda değil	Akdeniz İlaç San. ve Tic. A.Ş.
	Ampül	200 mg/2 mL		
Voselmit	IM Enjeksiyon için solüsyon içeren ampül	200 mg/2 mL	Pazarda değil	OSEL İlaç San. ve Tic. A.Ş.

Tablo 2.5. Uluslararası piyasada TMB içeren preparatlara örnekler.

Preparat adı	Dozaj Şekli	Dozu	Firma adı
Tigan®	Kapsül	300 mg	King Pharmaceuticals LLC Pfizer Laboratories Div Pfizer Inc. Remedy Repack
TMB	Kapsül	300 mg	Lupin Inc. Sun Pharmaceuticals Industries Inc.
Tigan®	Supozitivar	200 mg	Monarch Pharmaceuticals, Inc.
TMB	Supozitivar	200 mg	Physicians Total Care, Inc.
Tigan®	Supozitivar	100 mg	Physicians Total Care, Inc. Monarch Pharmaceuticals, Inc.
TMB	Supozitivar	100 mg	Physicians Total Care, Inc.
TMB	Enjeksiyon	200 mg/mL	American Regent
Tigan®	Enjeksiyon	100 mg/mL	Par Sterile Products LLC Rebel Distributors General Injectables & Vaccines, Inc. Physicians Total Care, Inc.
TMB	Enjeksiyon	100 mg/mL	American Regent Inc. Hospira Inc. Smith and Nephew Solopak Div Smith and Nephew
Tigan®	Enjeksiyon	100 mg/20 mL	Monarch Pharmaceuticals, Inc.
Tigan®	Enjeksiyon	100 mg/2 mL	

FDA, 2007 yılında yapmış olduğu duyuru ile TMB içeren supozitivar üreten ilaç firmalarının TMB supozitivar üretimi ve dağıtımını, ilacın etkililiğinin yeterli olmadığı gerekçesi ile durdurması gerektiğini bildirmiştir. Bu durumun FDA tarafından onaylanmış olan TMB içeren kapsül ve enjeksiyon dozaj formları için geçerli olmadığı yine aynı bildiri ile vurgulanmıştır (77).

2.4. Hücre Kültürü Çalışmaları

İlaçların uygulama bölgesinden etki bölgesine ulaşabilmesi için çeşitli fiziksel, metabolik ve eliminasyon engellerini aşması gerekmektedir. Pek çok

durumda bu engeller, ilacın terapötik etkisinin istenilen seviyeye ulaşmasını kısıtlamaktadır. Sonuç olarak ilaçların sistemik farmakolojik etkisini kısıtlayan bu engellerin tanımlanması ve değerlendirilmesi oldukça önemlidir. Hayvan deneylerinin karmaşık yapısı, bu engellerin araştırılması için çeşitli *in vitro/ex vivo* sistemler üzerinde çalışma yapılmasına gereklilik doğurmuştur. Bu amaç doğrultusunda son yıllarda, ilaçların vücut içerisinde taşınması ve metabolizasyonunun araştırılması için hücre kültürü modellerinin kullanılmasında bir artış görülmüştür (78).

Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan bazı terimler ve tanımları aşağıda verilmiştir:

- Birincil kültür (*Primary culture*), organizmadan izole edilen hücre, doku ve organ kültürleridir. Kendisinden alt hücre kültürleri başarılı şekilde elde edilmeye kadar, ilk kültür birincil kültür olarak ifade edilmektedir.
- Hücre hattı (*Cell line*), birincil hücreden elde edilen hücre topluluklarını içeren alt hücre kültürüdür. Hücrelerin yapısına göre sınırlı (*finite*) veya sürekli (*continuous*) yaşam süresine sahip hücre hatları mevcuttur.
- Sürekli hücre kültürleri (*Continuous cell culture*), sınırsız bölünme yeteneğine sahip hücre topluluklarıdır.
- Sınırlı hücre kültürleri (*Finite cell culture*), sınırlı sayıda bölünme yeteneğine sahip hücre topluluklarıdır.
- Pasajlama (*Passage, Subculture*), hücrelerin buldukları kültür kabından diğer bir kültür kabına aktarılması işlemidir (79).

2.4.1. Hücre Kültürü Çalışmalarının Üstünlükleri ve Sakıncaları

Üstünlükleri

Hücre kültürü çalışmaları, *in vivo* fizyolojik ortamı daha iyi taklit eden hücrelerin elde edilmesi ve buna bağlı olarak gerçeğe daha yakın sonuçlar elde edilmesi sayesinde zamanla *in vivo* hayvan deneyi çalışmaları yerine kullanılacak alternatif çalışmalar olarak yaygınlaşmıştır. Bu sayede hayvan deneyleri sırasında karşılaşılan etik problemler en aza indirilebilmektedir (80).

Deneysel koşulların (ilaç konsantrasyonu, pH gibi) kontrol altında tutulabilmesi ile hücre kültürü çalışmaları, ilaçların taşınması ve metabolizasyonunun

incelenmesine, inhibitörlerin ve diğer metabolik faktörlerin etkileri üzerinde çalışmalar yapılmasına olanak sağlamaktadır (78).

Hücre kültürü çalışmaları, maliyetli ve kısıtlı veri sağlayan hayvan deneyi çalışmalarına göre daha düşük maliyetle daha kapsamlı verilerin elde edilmesine olanak sağlamaktadır (80).

Ayrıca, farklılaştırılmış hücre kültürü modelleri (örn. Caco-2 hücre kültürü) ile ilaçların membran geçişleri (aktif ve pasif geçiş) üzerinde çalışılabilir (81).

Sakıncaları

Birincil hücre kültürleri kısa ömürlü oldukları için uzun dönem çalışma ve tekrarlılık gerektiren çalışmalarda nadiren kullanılabilir, bu nedenle birincil hücrelerin hücre hatlarına dönüştürülmesi gerekmektedir (80).

Ayrıca, hücre kültürü çalışmalarının aseptik ortamlarda deneyimli kişiler tarafından yapılması gerekmektedir (82).

Kullanılacak hücre hatlarının, çalışmalardan önce mutlaka yeteri kadar karakterizasyonun yapılması ve *in vivo* ortamın doğal cevabını ve karmaşık fizyolojik yapısını büyük oranda taklit eden hücre hatlarının kullanılması gerekmektedir (80).

Hücre kültürü çalışmaları ile *in vivo* membrandan aktif olarak geçen ilaç miktarı kantitatif olarak tahmin edilememektedir (81).

2.4.2. Hücre Kültürü Modelinin Seçilmesinde Dikkat Edilmesi Gereken Parametreler

Farklı ilaç uygulama yollarına bağlı olarak, ilaç molekülleri dokuya geçerken her bir uygulama yolu için farklı fiziksel bariyer ve biyokimyasal ortam ile karşılaşır. İlacın dokuya geçerken karşılaşılacağı ilk fiziksel bariyer, sıkıca dizilmiş hücrelerden oluşan tek veya çoklu hücre tabakasıdır. Hücre tabakası, hidrofobik bileşenlere ve/veya bazı aktif veya kolaylaştırılmış geçiş mekanizmasına bağlı olarak ilaç moleküllerinin hücre içerisine girişini kısıtlamaktadır.

Hücrenin sahip olduğu özel taşıyıcılar (dipeptit taşıyıcılar, aminoasit taşıyıcılar gibi), dışa atım (*efflux*) sistemleri (P-glikoprotein gibi) ve metabolik engeller (proteaz, sitokrom P450 gibi dokuya özgü substratlar) hücrenin biyokimyasal yapısını oluşturur.

Seçilecek olan hücre kültürü modelinin çalışmaya uygun fiziksel bariyerleri ve biyokimyasal ortamı nicelik ve nitelik olarak temsil ediyor olması gerekmektedir (78).

Farklı ilaç uygulamalarına bağlı olarak kullanılabilir uygun hücre kültürü modellerine örnekler Tablo 2.6’da verilmiştir.

Tablo 2.6. Hücre kültürü modelleri (78).

Doku	Hücre kültürü modeli
Bağırsak	Caco-2 HT-29 T84 IEC hücreleri SV40 T Ölümsüzleştirilmiş hücreler (<i>immortalized cells</i>) Organ kültürü/Birincil hücre kültürü
Nazal	SV40 T Ölümsüzleştirilmiş hücreler Birincil nazal epitel hücreler
Korneal	RCE1 hücreleri Birincil korneal epitel hücreler SV40 T Ölümsüzleştirilmiş hücreler
Bukkal	Birincil bukkal epitel hücreler
Transdermal	HaCat Birincil/Ortak keratinosit hücre kültürü (<i>Co-culture</i>)
Hepatik	Hepatik karsinoma hücre hattı (TONG/HCC) Birincil Hepatosit kültürü Ortak kültür SV40 T Ölümsüzleştirilmiş hücreler
Kan beyin bariyeri	Birincil endotel hücreler SV40 Ölümsüzleştirilmiş hücreler

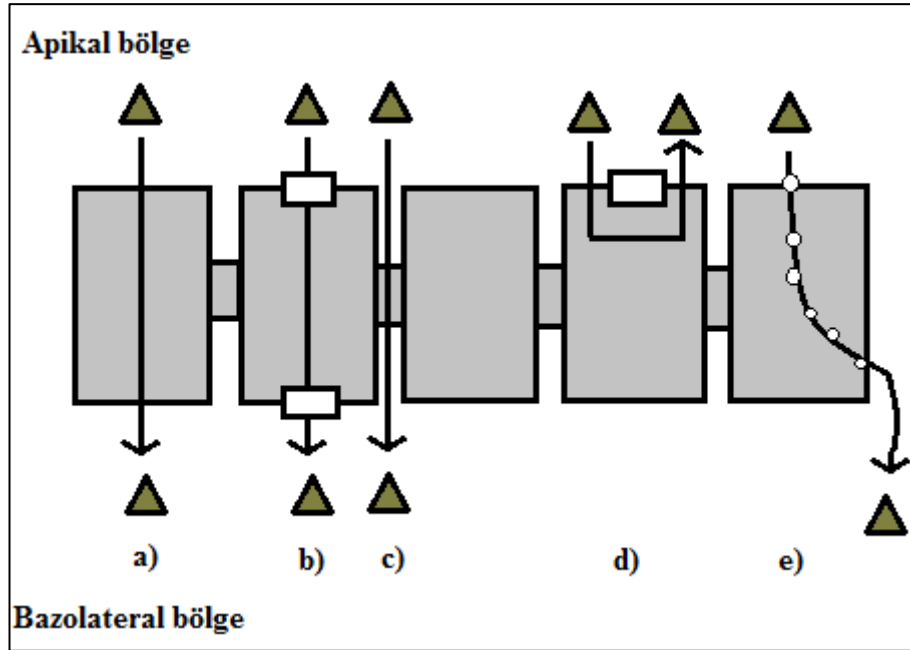
2.4.3. İntestinal Epitelden İlaç Emilimi

Son yıllarda ilaç taşıyıcı sistemler üzerinde oldukça fazla yenilik olmasına rağmen, ağız yoluyla ilaç uygulaması diğer uygulama yolları ile karşılaştırıldığında daha kolay uygulanabilir, düşük maliyetli ve yüksek hasta uyuncuna sahip olduğu

için hala günümüzde en çok kullanılan ilaç uygulama yoludur. Ağız yoluyla alınan ilaçların, terapötik konsantrasyona ulaşabilmesi için yeterli suda çözünürlük ve bağırsak geçirgenliğine sahip olması gerekmektedir (83). Bu nedenle, ilaçların *in vivo* geçirgenliğinin ve emiliminin değerlendirilmesinde intestinal hücreler kullanılarak gerçekleştirilmiş olan hücre kültürü çalışmaları oldukça yaygındır.

Gastrointestinal sistemden ilaç emiliminin yaklaşık olarak %90'ı ince bağırsakta gerçekleşmektedir. İnce bağırsak, iç lümenini kaplamış olan makroskopik kıvrımlar, villi ve mikrovilli adı verilen özel yapılarla yüzey alanını önemli ölçüde genişleterek, ilaç emiliminini artırır (84).

Etkin maddenin intestinal membrandan geçişi, karışık ve dinamik bir süreçtir. Enterosit hücre membranları içerisinde (*transselüler*) veya enterosit hücreler arasındaki sıkı kavşaklardan (*paraselüler*) pasif geçiş gerçekleşmektedir. Bunun yanı sıra, bileşenlerin geçişini sağlayan çeşitli taşıyıcı içe alım (*influx*) ve dışa atım (*efflux*) mekanizmaları mevcuttur (84). İlacın ince bağırsaktan emilimi ve sistemik dolaşıma katılmasında kullanılan farklı yollar Şekil 2.7'de gösterilmiştir.



Şekil 2.7. İnce bağırsaktan ilaç emilim yolları **a)** Membran içinden pasif geçiş (*transselüler* transport) **b)** Taşıyıcı aracılı geçiş **c)** Hücreler arası pasif geçiş (*paraselüler* transport) **d)** Taşıyıcı aracılı dışa atım (*Efflux*) sistemi **e)** Reseptör aracılı endositoz (83, 84).

İntestinal epitelden ilaç emilimi esas olarak konsantrasyon gradyanına bağlı olarak pasif difüzyonla gerçekleşmektedir. İntestinal membranın çift tabakalı fosfolipid yapısı membrana yarı geçirgen özellik kazandırmaktadır. Yağda çözünür (lipofilik) moleküller intestinal hücre membranlarına hızlıca nüfus ederek, membrandan pasif difüzyonla (transsellüler transport) geçebilir. Hidrofilik yapıdaki ve yüklü moleküllerin hücre membranlarına dağılımı zayıftır, bu nedenle bu moleküller hücreler arası pasif difüzyonla (paraselüler transport) membrandan geçebilmektedirler. (85, 86).

Pasif difüzyonun yanı sıra, hidrofilik yapıdaki birçok molekül, besinler, vitaminler ve onların yapısal analogları intestinal epitelde bulunan özelleşmiş taşıyıcılar (karbonhidrat ve aminoasit taşıyıcıları gibi) aracılığıyla emilir (taşıyıcı-aracılı transport). İntestinal epiteldeki bu taşıyıcılar emilimi düşük olan ilaçların emiliminin artırılması ve biyoyararlanımının iyileştirilmesi için önemlidir (86, 87).

Biyoteknolojik araştırmaların yaygınlaşmasına bağlı olarak, büyük moleküllü ilaçların sayısında artış söz konusudur. Büyük moleküllü ilaçların emilimi fizikokimyasal özellikleri nedeniyle genellikle düşüktür. Bu nedenle bu ilaçların emiliminin artırılması için taşıyıcı aracılı geçiş sistemleri üzerinde pek çok çalışma yapılmış ancak istenilen başarı henüz elde edilememiştir. Taşıyıcı aracılı geçiş sistemine alternatif olarak, büyük moleküllü ilaçların membran geçişinin artırılması için reseptör-aracılı endositoz sistemi (*receptor-mediated endocytosis*, RME) üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Taşıyıcı aracılığı geçişte, taşıyıcı-molekül bağlanması enerji bağımlı bir mekanizma iken, RME'de moleküller reseptöre bağlandıktan sonra vezikül içerisinde taşınır. RME, oldukça spesifik hücresel biyolojik bir süreçtir ve ilaç taşıma kapasitesi reseptör kapasitesine bağlı olarak kısıtlıdır (88).

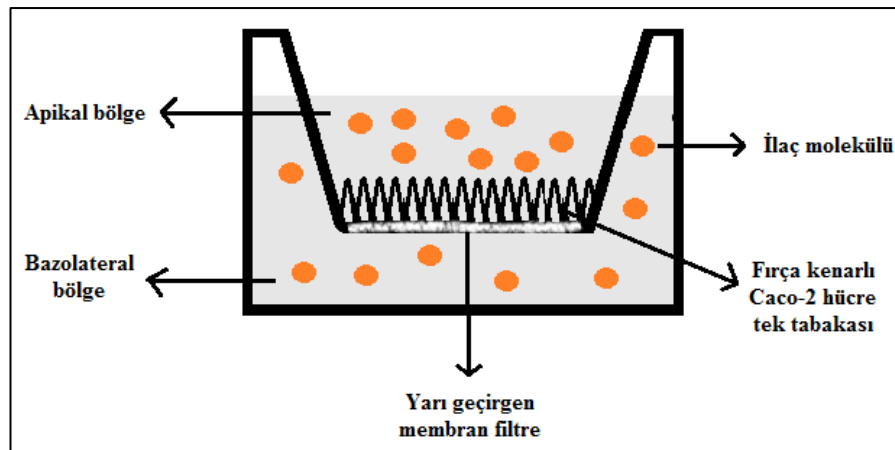
İlaç moleküllerinin emilimini kısıtlayan, moleküllerin fizikokimyasal özelliklerinin (molekül büyüklüğü, yükü, çözünürlüğü, lipofilitesi gibi) yanı sıra intestinal membranın apikal yüzeyinde bulunan ve membrana polarize özellik kazandıran P-glikoprotein (P-gp) gibi bazı taşıyıcı proteinler de mevcuttur. Hücrelerin artmış *efflux* sistemi sebebiyle, herhangi bir sitotoksik ajana karşı direnç gelişmesinde çoklu ilaç rezistansı (*Multidrug resistance*, MDR) önemli bir rol oynamaktadır. MDR yapısal ve fonksiyonel olarak ilaç moleküllerinden bağımsız

olarak farklı özelliklerdeki ilaç moleküllerini taşıyabilir. P-glikoprotein, MDR-ilişkili protein (*MDR-associated protein*, MRP1), akciğer rezistans protein (*lung resistance protein*, LRP) gibi ilaçların dışa atımını sağlayan pompalar (*efflux pumps*) MDR'nin gelişmesine neden olur. Bu pompalar kanser ilaçları, kalsiyum kanal blokörleri, immünosupresan ilaçlar gibi pek çok ilacı kapsayan geniş bir substrat spesifitesine sahip olup bu ilaçların emilimini kısıtlamaktadır (87, 89-91).

2.4.4. Caco-2 Hücreleri

İnsan kolorektal adenokarsinoma hücrelerinden elde edilen Caco-2 hücreleri, ilaç geliştirme çalışmalarının erken fazında intestinal ilaç geçirgenliğinin ölçülmesi için yaygın olarak kullanılan hücre kültürü modelidir. Pasif hücre içi geçiş, hücreler arası geçiş, taşıyıcı aracılı geçiş ve transitoz gibi enterosit transepitel ilaç geçişi çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (92, 93).

Caco-2 hücreleri (yarı-geçirgen membranlar üzerine ekildikten yaklaşık 21-28 gün sonra, apikal ve bazolateral bölgeleri içeren, fırçası yapıdaki mikrovillileri, sıkı kavşakları, P-g ve çeşitli *efflux* pompa ve enzimlerine sahip tek katmanlı polarize tabaka formunu alır (Şekil 2.8) (93). Caco-2 hücrelerinin fırçası yapıya sahip olması, hücrelere ince bağırsağın yapısını taklit edebilme özelliği kazandırdığı için Caco-2 hücrelerinin farklılaşmış *in vitro* enterosit hücreleri olarak kullanılan ilk model olmasını sağlamıştır (78).



Şekil 2.8. Caco-2 hücre kültürünün şematik olarak gösterimi (94).

Caco-2 Hücrelerinin Hücre Bütünlüğünün Değerlendirilmesi

Caco-2 hücrelerinin hücre bütünlüğünün değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri Transepitel Elektrik Rezistans (TEER) değerinin ölçülmesidir. TEER değeri, voltmetre cihazının elektrotlarının kullanılan hücre kültürü kuyucuklarının apikal ve bazolateral bölgesine yerleştirilerek, bu bölgelerdeki elektriksel akımın ölçülmesiyle elde edilir ve ohm.cm^2 birimi ile ifade edilir (86).

Sambuy ve ark. TEER değerinin pasaj sayısı, kültür süresi ve membran filtre materyaline bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini gözlemlemiştir (95). Bu etkenlerin dışında kuyucukların yüzey alanı, ekilen hücre sayısı, kültür ortamı koşulları da TEER değerini etkilemektedir (86).

Srinivasan ve ark. pasajlama zamanının Caco-2 hücrelerinin TEER değeri üzerine etkisini incelemiş, erken ve geç pasajlanan Caco-2 hücrelerine ait TEER değerini sırasıyla $475\text{-}700 \text{ ohm.cm}^2$ ve $1100\text{-}1500 \text{ ohm.cm}^2$ aralığında elde etmişlerdir. Geçirimli Elektron Mikroskopisi ile Caco-2 kültürlerinin hücre tabakasını incelediklerinde ise, epitel hücre kalınlığında önemli ölçüde değişim olmaksızın, geç pasajlanan hücrelerde gelişen çoklu hücre tabakasının hücre sıklığını ve/veya hücrelerarası geçiş yolağı uzunluğunu artırarak TEER değerine önemli ölçüde etki ettiğini bildirmiştir. Ayrıca 36. pasaja kadar TEER değerinin arttığını, 36-70 pasajlama aralığında TEER değerinin değişken olduğunu ve 70-100 pasajlama aralığında ise TEER değerinin azaldığını bildirmişlerdir (96).

TEER değeri, Caco-2 hücrelerinin kültür süresine bağlı olarak artmaktadır. Yaklaşık olarak 10-15 günlük kültürde TEER değeri maksimum düzeye ulaşmakla birlikte pek çok araştırmada hücre içindeki transport sistemlerinin gelişebilmesi için 21-24 günlük kültür süresi önerilmektedir (86).

Caco-2 kültür ortamı içeriği hücre tek tabakasının bütünlüğünü ve geçirgenliğini etkilediği için TEER değerini de etkilemektedir. D'Souza ve ark. yüksek ekstraselüler glikoz konsantrasyonu içeren izotonik ortamın Caco-2 hücre tek tabakasının fizyolojik yapısını bozduğunu, ve hücreler arası sıkı kavşakları değiştirerek hücre tek tabakasının akışkanlığını artırdığını, *efflux* geçişin arttığını ve TEER değerinin azaldığını vurgulamıştır (97).

TEER değeri, Caco-2 hücre kültürü ortamında kullanılan membran filtresinin materyaline bağlı olarak da değişir. PC filtre kullanıldığında elde edilen TEER değeri, nitroselüloz filtre kullanıldığında elde edilen TEER değerine göre daha yüksek bulunmuştur (97).

Farklı hücre tipleri için farklı TEER değerleri elde edilebilir. TEER değeri 150-400 ohm.cm² aralığında olan Caco-2 hücre tek tabakaları, moleküllerin geçişini kısıtlamaktadır (96).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal/Biyolojik Maddeler

Madde adı	Marka ve Kaynak
Asesülfam potasyum	Suzhou Hope Technology/Çin
Kolon adenokarsinom (Caco-2) hücreleri	Grenier BioOne/Avusturya
Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (4,5 g/L glikoz, sodyum pirüvat, stabil glutamin içeren)	Biochrom AG/Almanya
Fetal bovin serum (FBS)	Cegrogen/Almanya
Granfiller-D [®]	Daicel/Japonya
Hank's dengeli tuz çözeltisi (<i>Hank's Balanced Salt Solution</i> , HBSS) (0,35 g/L NaHCO ₃ içeren, fenol kırmızısı içermeyen, pH 7,0-7,6)	Biochrom AG/Almanya
Hidroksietil piperazin etan sülfonik asit (HEPES) tampon çözeltisi (1 M)	Biochrom AG/Almanya
Hidroksipropil metil selüloz (HPMC)	Sigma/ABD
Jelatin	Sigma/ABD
Kolloidal silikon dioksit (Aerosil [®])	Evonik/Singapur
Kroskarmelloz sodyum (Ac-Di-Sol [®])	DFE Pharma/Almanya
Laktoz monohidrat (Lactopress [®])	DFE Pharma/Almanya
Ludiflash [®]	BASF AG/Almanya
Mannitol (Pearlitol 200 SD [®])	Roquette Freres/Fransa
Parteck [®]	BASF AG/Almanya
Penisilin/Streptomisin	Biochrom AG/Almanya
<i>Phosphate Buffered Saline</i> (PBS) (pH 7,4, Ca ⁺⁺ ve Mg ⁺⁺ içermeyen)	Biochrom AG/Almanya
Pluronic F68	Sigma/ABD
Polietilen glikol (PEG) 4000	Sigma/ABD
Portakal aroması	Aromsa/Türkiye

Potasyum fosfat monobazik	Sigma/Almanya
Referans ürün (Seri no: 005038, Son Kullanma Tarihi: 02.2020)	Sanofi Aventis/Türkiye
Simetikon	Sigma/ABD
Sodyum aljinat	Sigma/ABD
Sodyum fosfat dibazik	Merck/Almanya
Sodyum klorür	Riedel-de Haen/Almanya
Sodyum nişasta glikolat	Atabay/Türkiye
Sodyum stearil fumarat	JRS Pharma/Almanya
Trimetobenzamit hidroklorür	D.K. Pharmachem/Hindistan
Tripan mavisi (<i>tripan blue</i>)	Sigma/ABD
Tripsin-EDTA çözeltisi (%0,5 - %0,2, PBS içinde, Ca ⁺⁺ , Mg ⁺⁺ içermeyen)	Biochrom AG/Almanya

3.2. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

Alet ve Cihaz Adı	Marka ve Kaynak
96 kuyucuklu steril plaka	Greiner/Avusturya
Biyogüvenlik kabini	Faster BHG 2004, Class 2/İtalya
Civa porozimetresi	
Dağılma tayini cihazı	Pharma test PTB/Almanya
Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC)	DSC Q100 TA Instruments/ABD
Çözünme cihazı	Sotax CH 4123/İsviçre
Enjektör	Isolab Laborgerate/Almanya
Enjektör ucu filtre 0,45 µm, steril, RC	Sartorius/Almanya
Enjektör ucu filtre 0,45 µm, steril, CA	Chrom Tech
Friabilitör	Pharma test PTB/Almanya
FT-IR Spektrofotometresi	Perkin-Elmer Spectrum/ABD
Hassas terazi	Shimadzu AUW220D/Japonya
Hemasiyometre	Marienfild Haemacytometer
	Laboratory Glassware/Almanya
Hücre kültürü insertleri (0,4 µm)	Grenier Bio-one/Almanya
Hücre kültürü kuyucukları	Grenier Bio-one/Almanya

(12 kuyucuklu)	
Hücre kültür kapları (flask, 25 cm ²)	Grenier Bio-one/Almanya
İnverted floresans mikroskop	Leica/Almanya
Karbondioksitli inkübatör	Sanyo/Japonya
Liyofilizatör	Labconco/ABD
Membran filtre, 0,45 µm	Isolab Laborgerate/Almanya
Nem tayin cihazı	Ohaus Corporation/ABD
pH Metre	Sartorius Professional/Almanya
Saf su düzeneği	Simplicity 185 Ultrapure water system, Millipore/ABD
Santrifüj	Nüve/Türkiye
Su banyolu yatay çalkalayıcı	Memmert/Almanya
Tablet basma makinesi	Erweka AR 400 Korsch/Almanya
Tablet sertlik, çap, kalınlık ölçüm cihazı	Pharma test PTB/Almanya
Taramalı elektron mikroskopu (SEM)	Jeol SEM-6400, Japonya
Tartım kabı, alüminyum	Isolab Laborgerate/Almanya
Toz karıştırıcı	Gryphan, Brookmoors Ltd./ İngiltere
UV Küveti	Hellma, 10 mm, tip no:104-QS
UV Spektrofotometresi	UV1700 Shimadzu/Japonya
Voltohm metre	Millicell ERS-2 Epitel/ABD
Volumunometre	Aymes Company/Türkiye
Vorteks	Velp Scientifica/İtalya
X-ışını kırınımı cihazı	D/Max 2200/PC, Rigaku/Japonya

3.3. Etkin Maddenin Fizikokimyasal Özellikleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

3.3.1. TMB'nin FT-IR Spektrumu

TMB'nin (Perkin Elmer, ABD) 600-4000 cm^{-1} dalga boyları arasında FT-IR spektrumu çekilerek değerlendirilmiştir.

3.3.2. TMB'nin X-ışını Kırınımı Analizi

X-ışını kırınımı analizi, Rigaku X-Ray Diffractometer (Japonya) cihazı ile 40 kV ve 30 mA'da, 2θ 0,2°/dk tarama hızında, 2θ 4°-40° arası taranarak gerçekleştirilmiştir (63).

3.3.3. TMB'nin SEM Analizi

Karbon yapıştırıcı ile alüminyum plak üzerine tespit edilen TMB, daha sonra altın ile kaplanmıştır. SEM mikrografları Jeol SEM-6400 (Japonya) cihazı ile 2000 ve 5000 kat büyütme ile görüntülenmiştir.

3.3.4. TMB'nin DSC Analizi

TMB'nin DSC analizi, DSC Q100 (TA Instruments, ABD) model diferansiyel taramalı kalorimetre kullanılarak yapılmıştır. Alüminyum hücre içine yerleştirilen örneğin (5 mg) 10°C/dk hızda 10–250°C sıcaklık aralığında azot atmosferi altında DSC termogramları çekilmiştir. DSC cihazının kalibrasyonu indiyum standardı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.3.5. TMB'nin UV Spektrumu

TMB'nin UV spektrumu, distile su ortamında 200-800 nm dalga boyları arasında alınmış, maksimum absorbansın elde edildiği dalga boyu (λ_{maks}) belirlenmiştir.

3.3.6. TMB'nin Miktar Tayini Yöntemi

TMB'nin miktar tayini UV spektroskopisi kullanılarak yapılmıştır. Çözünme çalışmalarından elde edilen numunelerdeki TMB miktar tayini için Yöntem 1, hücre kültüründe permeabilite çalışmalarından elde edilen numunelerdeki TMB miktar tayini için Yöntem 2 kullanılmıştır.

Miktar Tayini Yöntem 1

Çözünme çalışmalarından elde edilen numunelerdeki TMB'nin miktar tayini distile su ortamında daha önce belirlenmiş olan maksimum dalga boyunda (259 nm) spektrofotometrik olarak yapılmıştır.

Miktar Tayini Yöntem 2

Hücre kültürü permeabilite çalışmalarından elde edilen numunelerdeki TMB'nin miktar tayini hücre kültürü ortamında (25 mM D-glikoz ve 10 mM HEPES içeren HBSS) daha önce belirlenmiş olan maksimum dalga boyunda (259 nm) spektrofotometrik olarak yapılmıştır.

Analitik Yöntemlerin Validasyonu

Kullanılan miktar tayini yöntemlerinin çözünme ve hücre kültürü permeabilite çalışmalarından elde edilen numunelerdeki etkin madde miktarının tayini için uygun yöntemler olduğunu kanıtlamak amacıyla valide edilmiştir (98). Bu amaç doğrultusunda validasyon parametreleri arasından doğrusallık (*linearity*), doğruluk (*accuracy*), kesinlik (*precision*), özgüllük (*specificity*), teşhis sınırı (*Limit of Detection, LOD*), tayin alt sınırı (*Limit of Quantitation, LOQ*) ve dayanıklılık (*stability*) parametreleri incelenmiştir.

Doğrusallık (*Linearity*)

Bir analitik yöntemin doğrusallığı, belirlenen konsantrasyon aralığında konsantrasyon ile absorbans arasındaki ilişkinin doğrusal olup olmadığının değerlendirilmesidir (99).

Miktar tayini yöntemlerinin doğrusallığını kanıtlamak için, 10 mg TMB 100 mL çözünme ortamında çözülerek 100 µg/mL konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden hareketle yapılan seyreltmeler sonucunda 10, 20, 30, 40 ve 50 µg/mL konsantrasyonlarda TMB içeren standart çözeltiler hazırlanarak (n=6) 259 nm'de absorbansları ölçülmüş, kalibrasyon doğru denklemi ve determinasyon katsayısı (R^2) elde edilmiştir. Elde edilen kalibrasyon doğrusunun doğrusallıktan ayrılış önem kontrolü hesaplanmıştır. Ayrıca elde edilen kalibrasyon doğrusunun %95 güven aralığı hesaplanarak ölçülen absorbans değerlerinin güven aralığı içerisinde yer alıp almadığı istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Doğruluk (*Accuracy*)

Bir analitik yöntemin doğruluğu, o yöntem ile elde edilen sonuçların gerçek değerlere olan yakınlığını ifade eder (99).

Miktar tayini yöntemlerinin gün içi doğruluğunu kanıtlamak için aynı gün içinde; günler arası doğruluğunu kanıtlamak için ise üç farklı günde kalibrasyon doğrusu üzerinde düşük, orta ve yüksek olmak üzere üç farklı konsantrasyonda (10, 30, 50 µg/mL) altı farklı TMB çözelti serileri hazırlanarak 259 nm’de absorbansları ölçülmüştür. Elde edilen sonuçların % Bağıl Hata ve Geri Kazanımları Eşitlik 1 ve Eşitlik 2’ye göre hesaplanarak yöntemin doğruluğu gösterilmiştir. Tayin edilen Bağıl Hata (%) % 2’den düşük olmalıdır.

$$\% \text{ Bağıl Hata} = (A - B) / B \times 100 \quad (\text{Eşitlik 1})$$

$$\% \text{ Geri Kazanım} = A / B \times 100 \quad (\text{Eşitlik 2})$$

A: Tayin edilen konsantrasyon

B: Eklenen konsantrasyon

Kesinlik (*Precision*)

Bir analitik yöntemin kesinliği, analiz yöntemi ile elde edilen sonuçların birbirine yakınlığını ifade eder, analiz sonuçları arasındaki tutarlılığın derecesini gösterir (100).

Miktar tayini yöntemlerinin gün içi kesinliğini kanıtlamak için, aynı gün içinde; günler arası doğruluğunu kanıtlamak için ise üç farklı günde kalibrasyon doğrusu üzerinde düşük, orta ve yüksek olmak üzere üç farklı konsantrasyonda (10, 30, 50 µg/mL) altı farklı TMB çözeltisi serileri hazırlanarak 259 nm’de absorbansları ölçülmüştür. Elde edilen sonuçların %Bağıl Standart Sapması Eşitlik 3’e göre hesaplanarak yöntemin kesinliği gösterilmiştir. %Bağıl Standart Sapma %2’den düşük olmalıdır.

$$\% \text{ Bağıl Standart Sapma} = \text{Standart Sapma} \times 100 / \text{Ortalama} \quad (\text{Eşitlik 3})$$

Özgüllük (*Specificity*)

Bir analitik yöntemin özgüllüğü, numune içerisindeki diğer bileşenlerin varlığında yöntemin etkin madde miktar tayini için uygunluğunu ifade eder (98).

Miktar tayini yöntemlerinin etkin maddeye özgüllüğünü göstermek amacıyla, her bir yardımcı maddenin çözünme ortamında stok çözeltisi hazırlanarak maksimum absorbans verdiği dalga boyları tayin edilerek karşılaştırılmıştır.

Teşhis sınırı (LOD) ve Tayin Alt Sınırı (LOQ)

LOD, belirlenmiş olan analitik yöntem koşullarında, çözelti içerisinde analitin teşhis edilebildiği ancak miktar tayinin yapılabilir olmasına gerek olmayan en düşük konsantrasyondur. LOQ ise, doğruluk ve kesinliği uygun bulunmuş olan analitik yöntem koşullarında miktarı ölçülebilen en düşük analit konsantrasyonudur (98). Miktar tayini yönteminin LOD'si ve LOQ'su aşağıda verilmiş olan Eşitlik 4 ve Eşitlik 5 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{LOD} = 3.3 \sigma / S \quad (\text{Eşitlik 4})$$

$$\text{LOQ} = 10 \sigma / S \quad (\text{Eşitlik 5})$$

σ : Regresyon doğrularının aynı konsantrasyonda elde edilen y kesişim değerlerinin standart sapması

S: Kalibrasyon doğrusunun eğimi

Dayanıklılık (Stability)

Numune analizlerinde yaşanabilecek gecikmeler göz önüne alınarak numunelerin beklemeye karşı dayanıklı olduğunu göstermek amacıyla analitik yöntemlerin validasyon çalışması kapsamında kararlılık analizleri de yapılmalıdır (99). Bu amaç doğrultusunda, kalibrasyon doğrusu üzerinde düşük, orta ve yüksek olmak üzere TMB'nin çözünme ortamında üç farklı konsantrasyonda (10, 30, 50 $\mu\text{g/mL}$) altı farklı seri çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin absorbansları hazırlandığı anda, 6., 12. ve 24. saatlerde 259 nm'de ölçülerek, konsantrasyonlardaki değişim incelenmiştir.

toz karışımının akış süresi tayin edilmiştir (101). Daha sonra zemine akan toz karışımının yığın açısı Eşitlik 6'ya göre hesaplanmıştır. Test üç kez tekrar edilmiş olup akış süresi ve yığın açılarının ortalaması hesaplanmıştır.

$$\tan \alpha = h/0,5r$$

(Eşitlik 6)

α : yığın açısı

h: koni yüksekliği

r: koni genişliği

3.5.2. Kütle Dansitesi/Görünür Dansite (*Bulk density*) ve Sıkıştırılmış Dansite (*Tapped Density*)

USP 616 Tozların Kütle Dansitesi ve Sıkıştırılmış Dansite (*Bulk Density and Tapped Density of Powders*) monografına uygun şekilde, volumunometre cihazına (Aymes Company/Türkiye) toz karışımı (50 g) eklenmiştir. Toz karışımının başlangıç hacmi, 10, 500, 1250 ve 2500 vuruş sonrası hacmi ölçülmüş ve kütle dansitesi/görünür dansitesi Eşitlik 7'ye göre, sıkıştırılmış dansitesi ise Eşitlik 8'e göre hesaplanmıştır (102). Test üç kez tekrar edilmiş, sonuçların ortalaması hesaplanmıştır.

$$P_b = M/V_0 \quad (\text{Eşitlik 7})$$

P_b : Kütle dansitesi/görünür dansite (g/mL)

m : toz karışımının kütlesi (g)

V_0 : toz karışımının başlangıç hacmi (mL)

$$\text{Sıkıştırılmış Dansite (g/mL)} = m / V_f \quad (\text{Eşitlik 8})$$

V_f : sıkıştırılmış hacim (mL)

3.5.3. Basılabilirlik İndeksi ve Hausner Oranı

Bölüm 3.5.2'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiş olan deney sonucunda elde edilen toz karışımlarının başlangıç ve 2500 vuruş sonrası hacimleri kullanılarak basılabilirlik indeksi Eşitlik 9'a göre, Hausner oranı Eşitlik 10'a göre hesaplanmıştır (102). Elde edilen sonuçlar USP 1174 Toz Akışı monografında verilmiş olan limitlere göre değerlendirilerek, toz karışımlarının akışkanlıkları karşılaştırılmıştır (101).

$$\text{Basılabilirlik indeksi} = ((V_0 - V_{2500}) \times 100) / V_0 \quad (\text{Eşitlik 9})$$

$$\text{Hausner Oranı} = V_0 / V_{2500} \quad (\text{Eşitlik 10})$$

V_{2500} : toz karışımının sıkıştırılmış son hacmi (mL)

3.5.4. Nem Tayini

Nem tayin cihazında (Ohaus Corporation/ABD) yer alan temiz alüminyum küvete yaklaşık olarak 3 g ADT toz karışımı küvetin yüzeyine eşit dağılacak şekilde eklenmiş, cihazın kapağı kapatıldıktan sonra 105°C’de infrared ısı kaynağı altında 10 dakika boyunca kurutulmuştur. Analiz sonunda elde edilen nem miktarı % cinsinden ölçülmüştür.

3.6. TMB İçeren ADT Formülasyonları Üzerinde Yapılan *In Vitro* Kontroller

3.6.1. Kalınlık ve Çap Tayini

Rastgele seçilmiş olan 20 tabletin çap ve kalınlıkları tablet sertlik, çap ve kalınlık ölçüm cihazı (Pharma test PTB/Almanya) kullanılarak tayin edilmiştir. Elde edilen değerler milimetre (mm) cinsinde ortalama \pm Standart Sapma (SS) olarak ifade edilmiştir.

3.6.2. Sertlik Tayini

Rastgele seçilmiş olan 10 tabletin sertliği tablet sertlik, çap ve kalınlık ölçüm cihazı (Pharma test PTB/Almanya) kullanılarak tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Newton (N) cinsinde ortalama \pm Standart Sapma (SS) olarak ifade edilmiştir.

3.6.3. İçerik Tekdüzeliliği/Ağırlık Sapması Tayini

EP 9.0 2.9.5. Tek-Dozluk Preparatların Kütle Tekdüzeliliği (*Uniformity of Mass of Single-Dose Preparations*) monografında belirtildiği şekilde, geliştirilmiş olan ADT’lerin tablet ağırlığı 250 mg’dan fazla olduğu için “Ağırlık Sapması” tayin edilmiştir (103). Rastgele seçilmiş olan 20 tablet tek tek tartılmış, elde edilen ağırlıkların ortalama ve ortalama \pm %5 limitleri hesaplanmıştır. EP 9.0’a göre 2’den fazla tabletin ağırlığı, bu limitlerin dışında olmamalı; ayrıca hiçbir tabletin ağırlığı %5 sapma değerinin 2 katından fazla olmamalıdır.

3.6.4. Kırılabilirlik (Friabilite) Tayini

EP 9.0 2.9.7 Kaplanmamış Tabletlerin Kırılabilirliği (*Friability of Uncoated Tablets*) monografında yer alan prosedürlere uygun olarak, kalibre terazi ve friabilitör cihazı (Pharma test PTB/Almanya) kullanılarak tabletlerin mekanik

dayanıklılıkları ölçülmüştür (104). Geliştirilmiş olan ADT formülasyonlarında ortalama tablet ağırlığı 650 mg'dan az olduğu için, rastgele seçilmiş olan 20 tablet darası alınmış temiz bir tartım kabında tartılmış, tartım sonucu ilk ağırlık (W_0 ; g) kaydedilmiştir. Daha sonra tabletler Pharma test PTB friyabilitör cihazında 100 kez döndürülmüş (25 devir/dk olacak şekilde 4 dk boyunca) ve aynı tartım kabında tekrar tartılarak son ağırlık (W_1 ; g) kaydedilmiştir. İlk ve son tartım arasında değişim Eşitlik 11'e göre hesaplanmıştır. EP 9.0'a göre elde edilen ağırlık değişimi %1'den az olmalı ve hiçbir tablet test süresince kırılmamalıdır.

$$\% \text{ Kırılma} = ((W_0 - W_1) \times 100) / W_0 \quad (\text{Eşitlik 11})$$

3.6.5. Dağılma Tayini

Dağılma testi, EP 9.0 2.9.1. Tablet ve Kapsüllerin Dağılması (*Disintegration of tablets and capsules*) monografında belirtilen prosedürlere uygun olarak gerçekleştirilmiştir. EP 9.0'a göre dağılma cihazının (Pharma test PTB/Almanya) her bir bölmesine birer tablet yerleştirilmiş, tabletlerin $37 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de distile su ve yapay tükürük ortamı içerisinde dağılma süreleri belirlenmiştir (105).

Yapay tükürük ortamı olarak sodyum klorür (8 g/L), potasyum fosfat monobazik (0,19 g/L), sodyum fosfat dibazik (2,38 g/L) kullanılarak hazırlanmış olan pH 6,8 fosfat tamponu kullanılmıştır (106). Tüm maddeler çözündürüldükten sonra fosforik asit kullanılarak pH 6,8'e ayarlanmıştır. Tampon hazırlandıktan sonra 0,45 µm por çapına sahip rejenere selüloz (*regenerated cellulose, RC*) membran filtreden (Isolab®) süzülerek safsızlıklarından arındırılmıştır. Daha sonra rastgele seçilmiş olan altı tabletin distile su ve yapay tükürük ortamında dağılma süreleri belirlenmiştir.

Ağızda dağılan tabletler için EP 9.0'da önerilen dağılma süresi maksimum üç dakikadır. Testin tamamlanabilmesi için tüm tabletlerin dağılmış olması gerekmektedir. 1 veya 2 tabletin 3 dakika içinde tamamen dağılmadığı durumlarda, EP 9.0'da belirtildiği şekilde, test 12 tablet kullanılarak tekrarlanmalı ve toplam 18 tabletin en az 16'sı tamamen dağılmış olmalıdır.

3.6.6. Islanma Süresi ve Su Absorplama Kapasitesi

10 cm çapındaki kâğıt mendil 10 cm çapındaki petri kabına yerleştirilmiş, distile su veya yapay tükürük ortamı (pH 6,8) ile tamamen ıslatılmıştır. Daha sonra rastgele seçilmiş olan tabletler tek tek mendil üzerinde bekletilerek tamamen ıslanma süreleri belirlenmiştir. Islanma süresi saniye (s) cinsinden belirtilmiştir. Deney her bir formülasyon için rastgele seçilmiş altışar tablet üzerinden ayrı ayrı petri kabı ve kâğıt mendiller kullanılarak tekrarlanmıştır.

Islanma öncesi ve sonrası tabletlerin ağırlıkları ölçülmüş, su absorplama kapasitesi Eşitlik 12'ye göre hesaplanmıştır.

$$R = 100 (W_a - W_b) / W_b \quad (\text{Eşitlik 12})$$

R: su absorplama kapasitesi

W_a : ıslanmış tablet ağırlığı (mg)

W_b : ıslanmadan önceki (kuru) tablet ağırlığı (mg)

3.6.7. Çözünme Tayini

Çözünme çalışmaları, USP TMB Kapsülleri (*Trimethobenzamide Hydrochloride Capsules*) monografında belirtildiği gibi distile su ortamında ve Tablo 3.2'de belirtilen koşullarda rastgele seçilmiş olan altı tablet üzerinden çözünme cihazı (Sotax CH 4123/İsviçre) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (67). Her bir tablete ait çözünme cihazı haznesinden önceden belirlenmiş olan zaman aralıklarında 5'er mL örnekler alınmış, yerine 5'er mL distile su ilave edilmiştir. Alınan örnekler 0,45 µm enjektör filtresinden süzöldükten sonra valide edilmiş miktar tayini yöntemi kullanılarak absorbansları ölçülmüştür.

Ayrıca referans ürün olarak seçilmiş olan piyasada bulunan TMB içeren konvansiyonel tablet için de altı numunede aynı koşullarda çözünme analizi gerçekleştirilmiştir. Tez kapsamında geliştirilmiş olan formülasyonların ve konvansiyonel tabletin çözünme sonuçları arasındaki benzerlik, benzerlik faktörü (f_2) Eşitlik 13'e göre hesaplanarak, elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır.

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left(1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (Rt - Tt)^2 \right)^{-0,5} \times 100 \right\} \quad (\text{Eşitlik 13})$$

f_2 : Benzerlik faktörü

R_t : Referans formülün t anında çözünme %'si

T_t : Test formülün t anında çözünme %'si

N: Çözünme sırasında numune alma zamanlarının sayısı

Benzerlik faktörünün sayısal değerinin 50-100 aralığında olması çözünme profillerinin benzer olduğunu göstermektedir (107, 108).

Tablo 3.2. Çözünme testi koşulları (67).

Parametre	Değerler
Çözünme ortamı	Distile su
Çözünme ortamı hacmi (mL)	900 mL
Çözünme ortamı sıcaklığı (°C)	37 ± 0,5°C
Aparat	Pedal (US Aparat II)
Dönme hızı (rpm)	50 rpm
Örnek alma zamanları (dk)	1, 3, 4, 5, 10, 15, 30, 45
Miktar tayini yöntemi, λ_{maks}	UV spektrofotometresi, 259 nm

Son olarak, çözünme analizi sonrası elde edilen çözeltilerin sink koşulunu sağlayıp sağlamadıkları incelenmiştir. Sink koşulun sağlanması için, çözünme testi için kullanılan çözünme ortamı hacminin, etkin maddenin doymuş çözeltilisini elde etmek için gereken çözünme ortamı hacminin en az üç katından daha fazla olması gerekmektedir (109).

3.6.8. Porozite Tayini

Tablet porozitesi, distile suyun tablete penetrasyon derecesini ve dolayısı ile de tabletin dağılma süresini etkilediği için, her bir formülasyon grubunda en iyi sonuçlar veren formülasyonda (F2, F5, F10, F13 ve F17) rastgele seçilmiş bir tablette porozite ölçümü ve por büyüklüğü dağılımı tayini Quantachrome Corporation, Poremaster 60 Civa Porozimetresi kullanılarak düşük basınçta (50 psi'a kadar) hizmet alımı ile Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarı tarafından yapılmıştır.

3.6.9. SEM Analizi

Her bir formülasyon grubunda en iyi sonuçlar veren formülasyondan (F2, F5, F10, F13 ve F17) rastgele seçilmiş birer tabletin SEM analizi, hizmet alımı ile Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarı tarafından gerçekleştirilmiştir. Her bir ADT'ye ait mikrograflar 2000 ve 5000 kat büyütme ile görüntülenmiştir.

3.7. TMB ile ADT Formülasyonlarında Kullanılan Yardımcı Maddeler Arasındaki Etkileşimin İncelenmesi için Yapılan *In Vitro* Kontroller

3.7.1. FT-IR Spektrumu

Formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelere ait tozlar, ve her bir formülasyondan rastgele seçilmiş ve toz haline getirilmiş birer tablet cihazın haznesine yerleştirilmiş, Perkin Elmer, ABD spektrofotometresinde 600-4000 cm^{-1} dalga boyları arasında FT-IR spektrumları elde edilmiştir.

3.7.2. X-ışını Kırınımı Analizi

Her bir formülasyon grubunda en iyi sonuçlar veren formülasyonda (F2, F5, F10, F13 ve F17) rastgele seçilmiş birer tablette analiz gerçekleştirilmiştir. X-ışını kırınımı analizi, Rigaku X-Ray Diffractometer (Japonya) cihazı ile 40 kV ve 30 mA'da, 2θ 0,2°/dk tarama hızında, 2θ 4°-40° arası taranarak gerçekleştirilmiştir (63).

3.7.3. DSC Analizi

Her bir formülasyon grubunda en iyi sonuçlar veren formülasyonda (F2, F5, F10, F13 ve F17) rastgele seçilmiş birer tablette ADT'lerin DSC analiz gerçekleştirilmiştir. Analiz, DSC Q100 (TA Instruments, ABD) model diferansiyel taramalı kalorimetresi kullanılarak yapılmıştır. Her bir tablet toz haline getirilmiş, elde edilen toz karışımlarından yaklaşık 5 mg'lık örnek alüminyum hücreler içine yerleştirilmiştir. Sıcaklık 10°C/dk hızla artırılarak, 10°C'den 250°C'ye çıkarılmış ve azot atmosferi altında DSC termogramları çekilmiştir. DSC cihazının kalibrasyonu indiyum standardı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.8. Hücre Kültürü Çalışmaları

3.8.1. Kullanılan Hücre Hatları

Etkin maddenin permeabilitesi üzerine formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin etkisi olup olmadığını tayin etmek amacıyla yapılan hücre kültürü çalışmaları bağırsak epitel hücrelerini taklit eden Caco-2 (pasaj sayısı: 24-30) hücre hattı kullanılarak laminar akış kabini içerisinde gerçekleştirilmiştir.

3.8.2. Hücre Kültürü Çalışmalarında Kullanılan Ortam

Caco-2 hücreleri için %10 (h/h) FBS, 2 mM L-glutamin ve 50 ünite/mL penisilin, 50 µg/mL streptomisin içerecek şekilde hazırlanan DMEM ortamı (*complete medium*, tam kültür ortamı) kullanılmıştır.

3.8.3. Kültür Çalışmaları İçin Hücrelerin Hazırlanması

Caco-2 Hücrelerinin Ekilmesi ve Çoğaltılması

Kullanım öncesinde -180 °C azot tankında muhafaza edilen Caco-2 hücreleri (pasaj sayısı: 24-30) 37°C'lik su banyosunda çözündürülmüştür. Taze olarak hazırlanan kültür ortamı (%10 FBS, 50 ünite/mL penisilin ve 50 µg/mL streptomisin içeren DMEM) bir tüpe aktarılmıştır. Çözülen Caco-2 hücreleri bu tüpe eklenerek 1000 rpm'de 3 dk süreyle santrifüj edildikten sonra dibe çöken hücreler taze kültür ortamında resüspande edilmiş ve 25 cm² T-flask'lara aktarılmıştır. Hücreler floresan mikroskop altında incelenerek 37°C'de nemli hava %5 CO₂ koşullarındaki inkübatöre alınmıştır ve pasajlama aşamasına kadar her iki günde bir kültür ortamı yenilenmiştir.

Pasajlama

Hücreler yoğunlukları %80-90 oranına ulaştığında pasajlanmıştır. Bu işlemde öncelikle flask içindeki kültür ortamı uzaklaştırılmış ve pH 7,4 PBS ile iki kez yıkanmıştır. Flaskların yüzeyine tutunan hücreleri kaldırmak amacıyla üzerlerine % 0,025 tripsin-EDTA çözeltisi eklenmiş ve 5 dk süreyle inkübatörde tutulmuştur. İnkübatörden alınan hücre süspansiyonu içinde kültür ortamı eklenmiş tüpe aktarılmış, böylece tripsin aktivitesi sonlandırılmıştır. 2000 rpm'de 3 dk santrifüj işlemine tabi tutulan hücrelerin üzerindeki süpernat atılarak taze ortamda hücreler süspande edilmiştir. Hücre süspansiyonu 1:2 oranında pasajlanarak yeni flasklarda inkübatörde çoğaltılmıştır. Uygun pasaj sayısındaki (26-40) hücreler tripan mavisi

dışlama yöntemi ile sayıldıktan sonra 12 kuyucuklu (0,4 µm) insertlere 100000 hücre/kuyucuk olacak şekilde ekilmiştir.

3.8.4. Permeabilite Çalışmaları İçin Hücrelerin Hazırlanması

Caco-2 Hücrelerinin İnsertlere Aktarılması

Caco-2 hücre süspansiyonları 12 kuyucuklu (0,4 µm) insertlere tripan mavisi ile sayım yapıldıktan sonra apikalde 100000 hücre/kuyucuk olacak şekilde (500 µL hücre süspansiyonu) ekilmiştir, bazolateral tarafa ise sadece büyüme ortamı (1 mL) eklenmiştir. Plaklar 37°C'de %5 CO₂ içeren nemli ortamda inkübe edilerek her iki günde bir kültür ortamı yenilenmiştir. 21 gün sonunda Caco-2 hücrelerinin TEER değerleri Millicell-ERS-2 Epitel voltohmmetre/ABD ile ölçülmüştür ve TEER değerleri 400 ohm.cm² üzerinde olan hücreler permeabilite deneylerinde kullanılmıştır.

3.8.5. Permeabilite Çalışmaları

Tabletler ezilerek 9,56 mg TMB içerecek şekilde 23,9 mg toz tartılarak transport tamponu ile etkin madde konsantrasyonu 20 µM olacak şekilde seyreltilmiştir. Permeabilite deneylerinde kullanılmak üzere 25 mM D-glikoz ve 10 mM HEPES içeren HBSS transport ortamı olarak hazırlanmıştır ve plaklardaki kültür ortamı ile değiştirilmiştir. Öncelikle hücreler 37°C'de %5 CO₂ içeren nemli havada 30 dk boyunca ön inkübasyon işlemine tabi tutulmuşlardır. İnkübasyonun ardından ortam tamamen uzaklaştırılmıştır ve transport ortamı içerisinde hazırlanan TMB ve ADT stok çözeltileri hazırlanmıştır. Apikal kompartmanın toplam hacmi 500 µL olacak şekilde uygun hacimdeki çözeltiler uygulanmıştır. Bazolateral kompartmana ise 1000 µL boş transport ortamı eklenmiştir. 37°C ve 50-60 rpm koşullarındaki 2 saatlik inkübasyonun ardından bazolateral kompartmanlardan 200 µL örnek alınmıştır. Alınan örnekler UV ile tayin edilene kadar -20°C'de saklanmıştır. Eşitlik 14 kullanılarak görünür permeabilite katsayısı (P_{app} , cm/s) hesaplanmıştır:

$$P_{app} = dC/dt \cdot 1/(AC_0) \quad (\text{Eşitlik 14})$$

dC/dt = Transport hızı (µg/s)

A = İnsertlerin yüzey alanı (*cell monolayer*) (1,13 cm²)

C_0 = Etkin maddenin apikal bölgedeki başlangıç konsantrasyonu (µg/mL)

3.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler GraphPad Prism 8.2.0 programı kullanılarak yapılmıştır. Geliştirilmiş olan ADT formülasyonları arasında farklılık olup olmadığının belirlenmesi için, formülasyonlar üzerinde gerçekleştirilen *in vitro* analizlere ait sonuçlar direkt basın tekniği ile elde edilmiş formülasyonlar Kruskal Wallis testi, dondurarak kurutulma tekniği ile elde edilmiş formülasyonlar Mann-Whitney U testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Güven aralığı % 95 olarak kabul edilmiştir. Gruplar arasındaki farklılığın önemliliği elde edilen p değerinin α ($=0,05$) yanılma düzeyinden büyük ($p>\alpha$, istatistiksel olarak anlamsız) veya küçük ($p<\alpha$ istatistiksel olarak anlamlı) olmasına göre değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

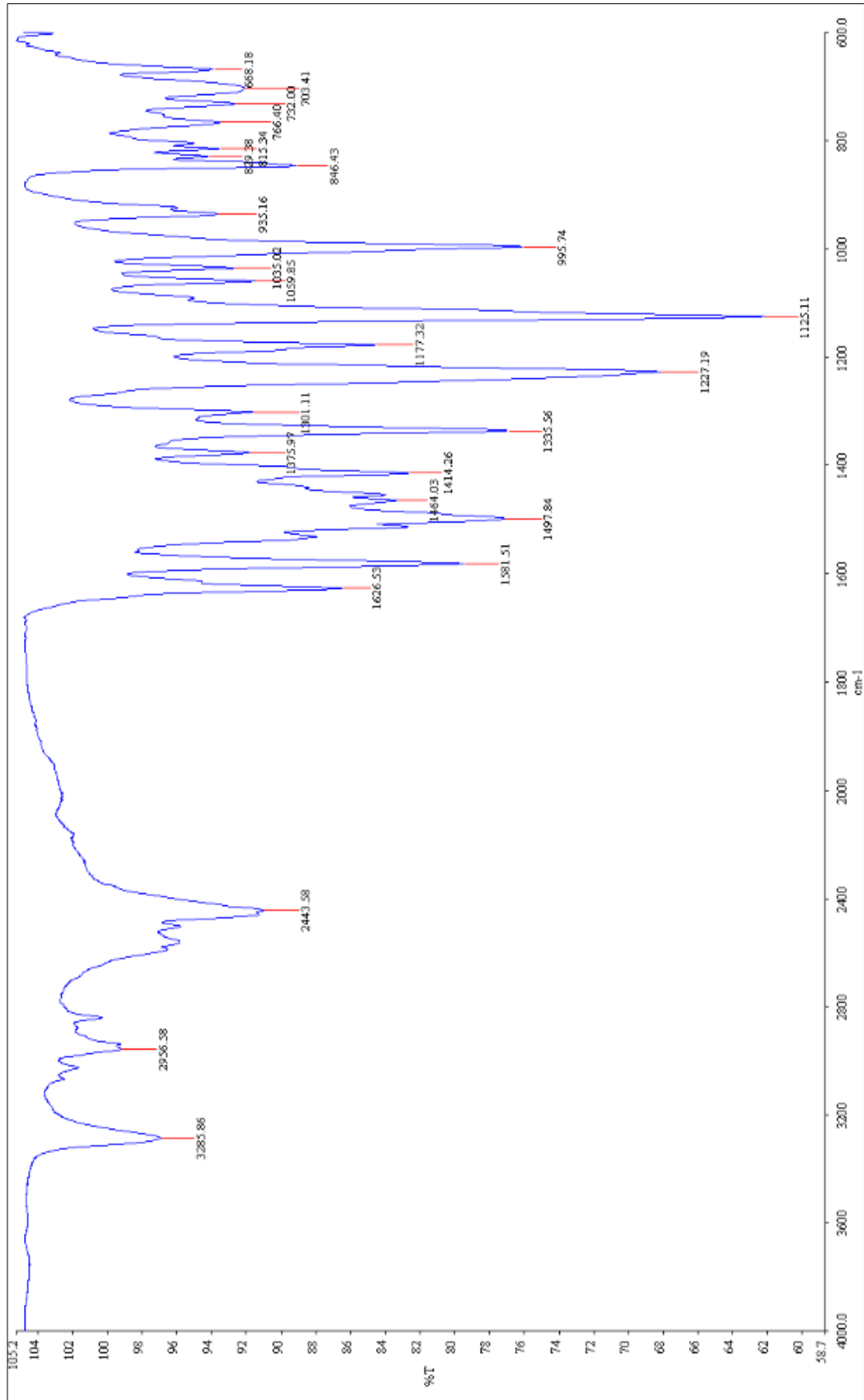
4.1. Etkin Maddenin Fizikokimyasal Özellikleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

4.1.1. TMB'nin FT-IR Spektrumu

TMB'nin FT-IR spektrumu Bölüm 3.3.1'de belirtildiği şekilde çekilmiştir ve elde edilen spektrum Şekil 4.1'de verilmiştir.

Elde edilen ana pikler λ (cm^{-1})

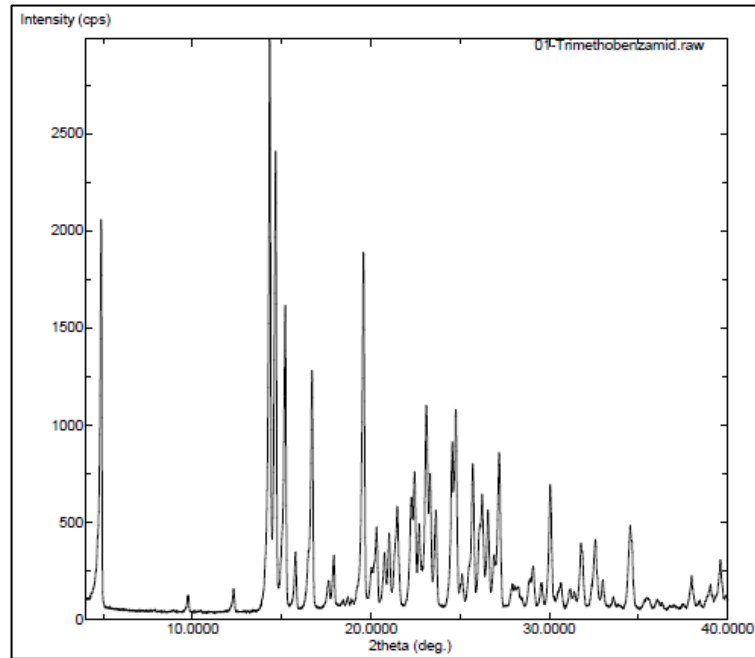
3285.86	Alifatik N-H gerilme bandı
2443.58	Tersiyer amin gerilme bandı
1626.53	Aromatik C=O-N gerilme bandı
1581.51	Aromatik C=C gerilme bandı
1464.03	Aromatik C-C bandı
846.43	Fenil halkasına bağlı 2 komşu hidrojen olup elde edilen spektrum TMB'nin kimyasal yapısı ve literatür ile uyumludur (63).



Şekil 4.1. TMB'nin FT-IR spektrumu.

4.1.2. TMB'nin X-ışını Kırınımı Analizi

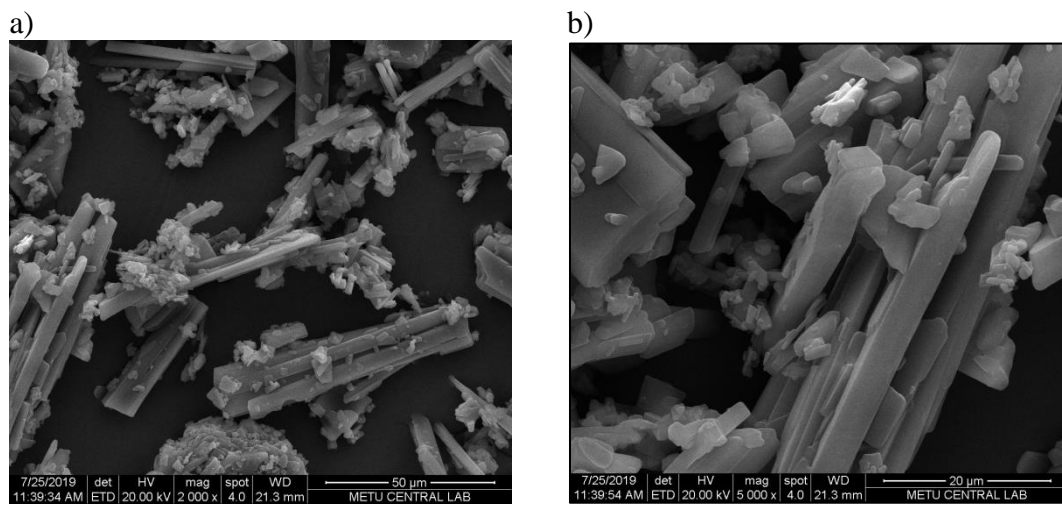
TMB'nin X-ışını kırınımı analizi Bölüm 3.3.2'de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiş ve elde edilen difraktogram Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. TMB'ye ait X-ışını difraktogramı.

4.1.3. TMB'nin SEM Analizi

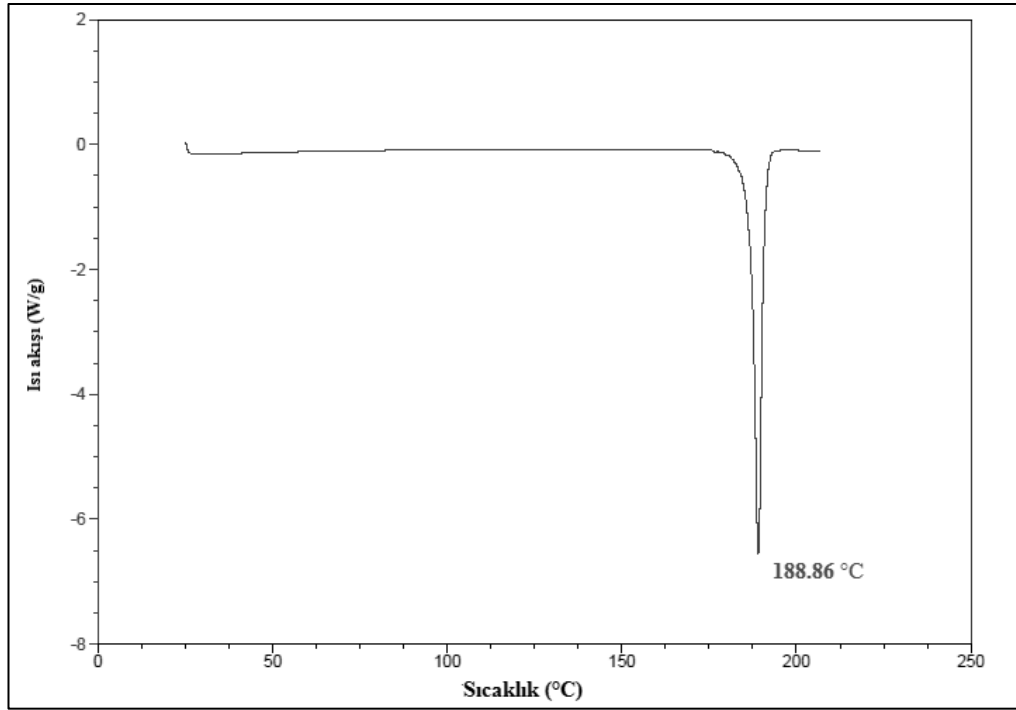
TMB'nin SEM analizi Bölüm 3.3.3'de belirtildiği şekilde gerçekleştirilerek elde edilen mikrograflar Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. TMB'ye ait SEM mikrografları a) x 2000; b) x 5000.

4.1.4. TMB'nin DSC Analizi

TMB'nin DSC analizi Bölüm 3.3.4'te belirtildiği şekilde gerçekleştirilerek elde edilen termogram Şekil 4.4'te verilmiştir. Termograma göre TMB'ye ait endotermik erimenin 185°C'de başladığı ve 188,86°C'de endotermik bir pik verdiği görülmektedir. Elde edilen bu sonuç literatürde verilen değerlerle uyumludur (63).

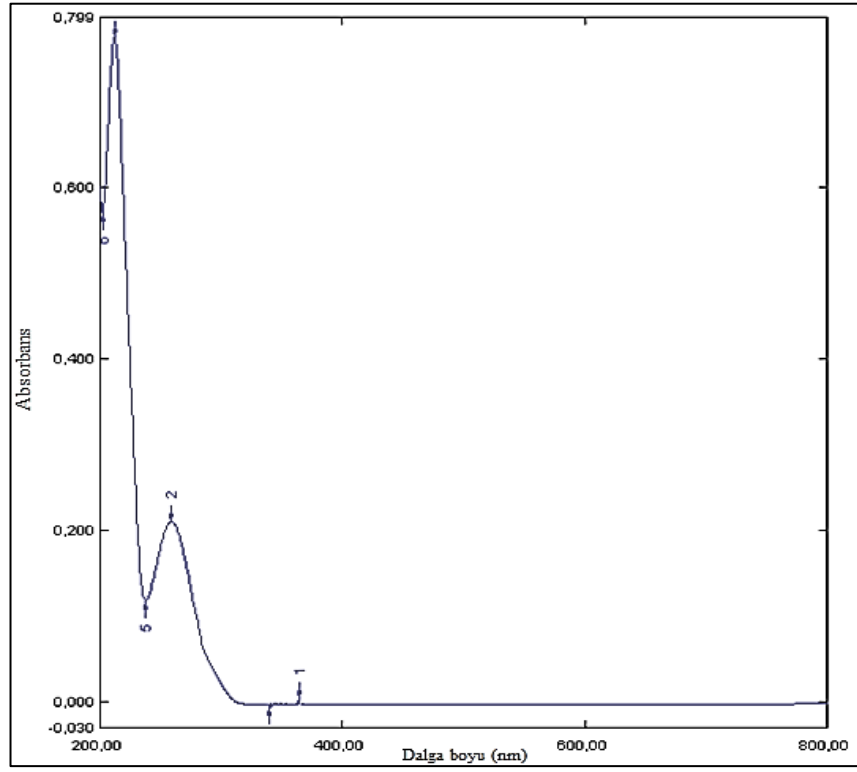


Şekil 4.4. TMB'ye ait DSC termogramı.

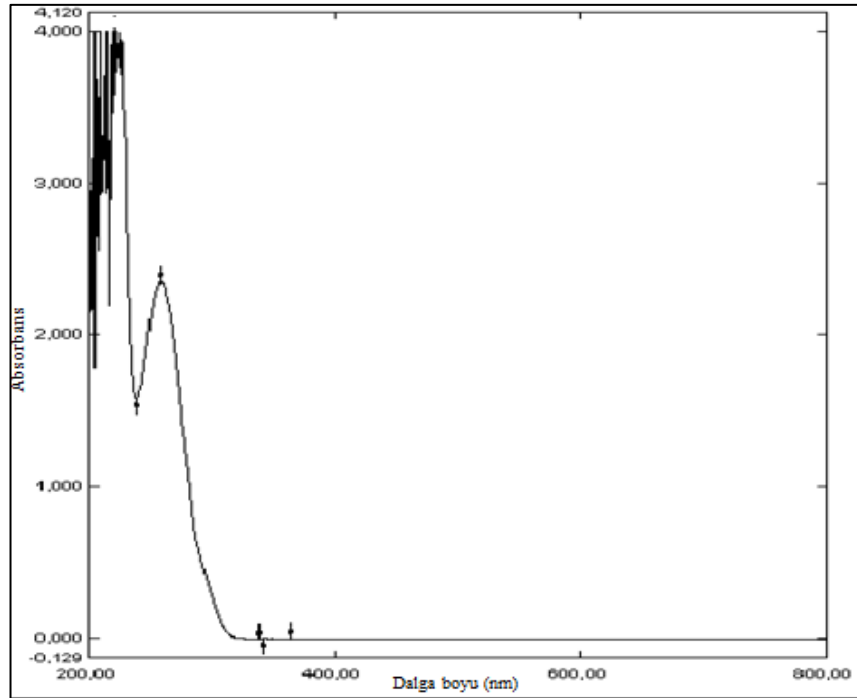
4.1.5. TMB'nin UV spektrumu

TMB'nin distile sudaki ve HBSS'deki çözeltisinin (10 µg/mL) UV spektrumu çekildiğinde maksimum absorbanın ölçüldüğü dalga boyu 259 nm olarak bulunmuştur (Şekil 4.5). Distile suda elde edilen UV spektrumu literatürle uyumlu bulunmuştur (63).

a)



b)



Şekil 4.5. TMB'nin (10 µg/mL) distile sudaki (a) ve HBSS'deki (b) UV spektrumu.

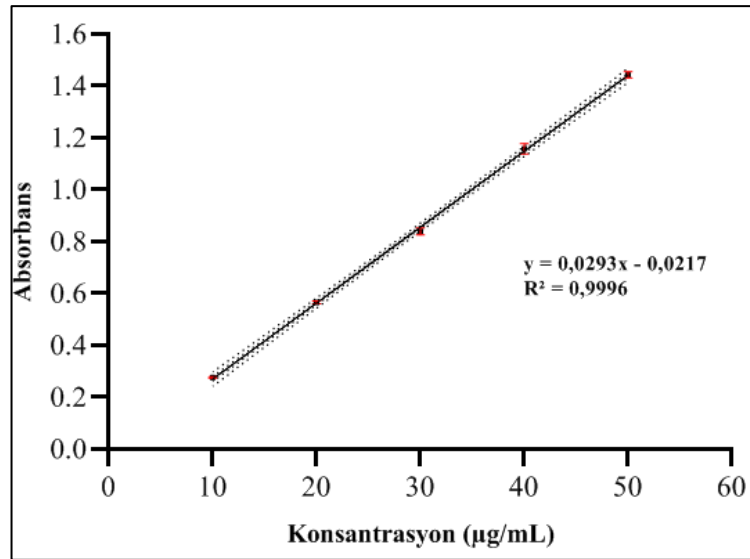
4.1.6. TMB'nin Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyonu

Tez çalışmaları kapsamında elde edilen numunelerdeki TMB miktarını tayin etmek amacıyla Bölüm 3.3.6'da belirtildiği üzere iki farklı yöntem kullanılmıştır. Bunlardan Yöntem 1 çözünme çalışmalarından elde edilen numunelerdeki TMB miktar tayini için; Yöntem 2 ise Caco-2 hücrelerinden etkin madde ve geliştirilen ADT formülasyonlarının permeabilitesini incelemek amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen numunelerdeki TMB miktar tayini için kullanılmıştır. Her bir yöntem için gerçekleştirilen validasyon çalışmalarına ait bulgular aşağıda ayrı ayrı verilmiştir.

Miktar Tayini Yöntemi 1

Doğrusallık

Stok çözeltilerden hareketle gerekli seyreltmeler yapılarak hazırlanan çözelti serileri kullanılarak etkin maddenin maksimum absorban gösterdiği dalga boyunda artan konsantrasyona karşı absorban grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğrusu çizilmiştir. TMB'nin distile sudaki kalibrasyon doğrusu ve denklemi Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. TMB'nin distile sudaki kalibrasyon doğrusu ve denklemi ($\lambda_{maks}=259$ nm) (ortalama \pm SH; n=6).

Bölüm 3.3.6'da belirtildiği gibi stok çözeltilerden hareketle hazırlanan standart çözeltilerin absorbanları tayin edilerek konsantrasyonlar ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorban değerleri değerlendirilerek doğru denklemi ve determinasyon katsayısı (R^2) hesaplanmıştır. Elde edilen kalibrasyon doğrusunun determinasyon katsayısının 1'e yakın bulunması ($R^2=0,9996$) çalışılan

10-50 µg/mL konsantrasyon aralığında absorbans ile konsantrasyonlar arasındaki ilişkinin doğrusal olduğunu göstermiştir. Doğrusallıktan ayrılış önem kontrolü ile eğimin sıfırdan farklı olduğu gösterilmiştir ($p < 0,05$). Ayrıca, kalibrasyon doğru denklemine ait %95 güven aralığı belirlenmiş ve ölçülen absorbans değerlerinin güven aralığı içerisinde yer aldığı görülmüştür (Şekil 4.6).

Doğruluk (Accuracy)

Yöntem 1'in gün içi ve günler arası doğruluğunu göstermek amacıyla yapılan çalışmalar Bölüm 3.3.6'da belirtildiği gibi gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.1'de verilmiştir. Gün içi ve günler arası doğruluk çalışmalarında her bir konsantrasyon için tayin edilen bağıl hata (%) değerleri %2'den düşük bulunmuştur.

Tablo 4.1. TMB miktar tayini yöntem-1 için gün içi ve günler arası doğruluk sonuçları ($\bar{X} \pm SS^*$; n=6).

	Eklenen Konsantrasyon (µg/mL)	Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL)	% Geri Kazanım	% Bağıl Hata
Gün içi	10	10,08 ± 0,04	100,84 ± 0,34	0,84
	30	30,43 ± 0,24	101,42 ± 0,81	1,42
	50	50,44 ± 0,23	100,87 ± 0,46	0,87
Günler arası	10	10,09 ± 0,05	100,92 ± 0,35	0,92
	30	30,19 ± 0,62	100,65 ± 0,25	0,65
	50	50,47 ± 0,43	100,94 ± 0,32	0,94

* \bar{X} : Ortalama, SS: Standart sapma

Keskinlik (Precision)

Yöntem 1'in gün içi ve günler arası keskinliğini göstermek amacıyla yapılan çalışmalar Bölüm 3.3.6'da belirtildiği gibi gerçekleştirilerek elde edilen sonuçlar Tablo 4.2'de verilmiştir. Gün içi ve günler arası keskinlik çalışmalarında her bir konsantrasyon için tayin edilen bağıl standart sapma %2'den düşük bulunmuştur.

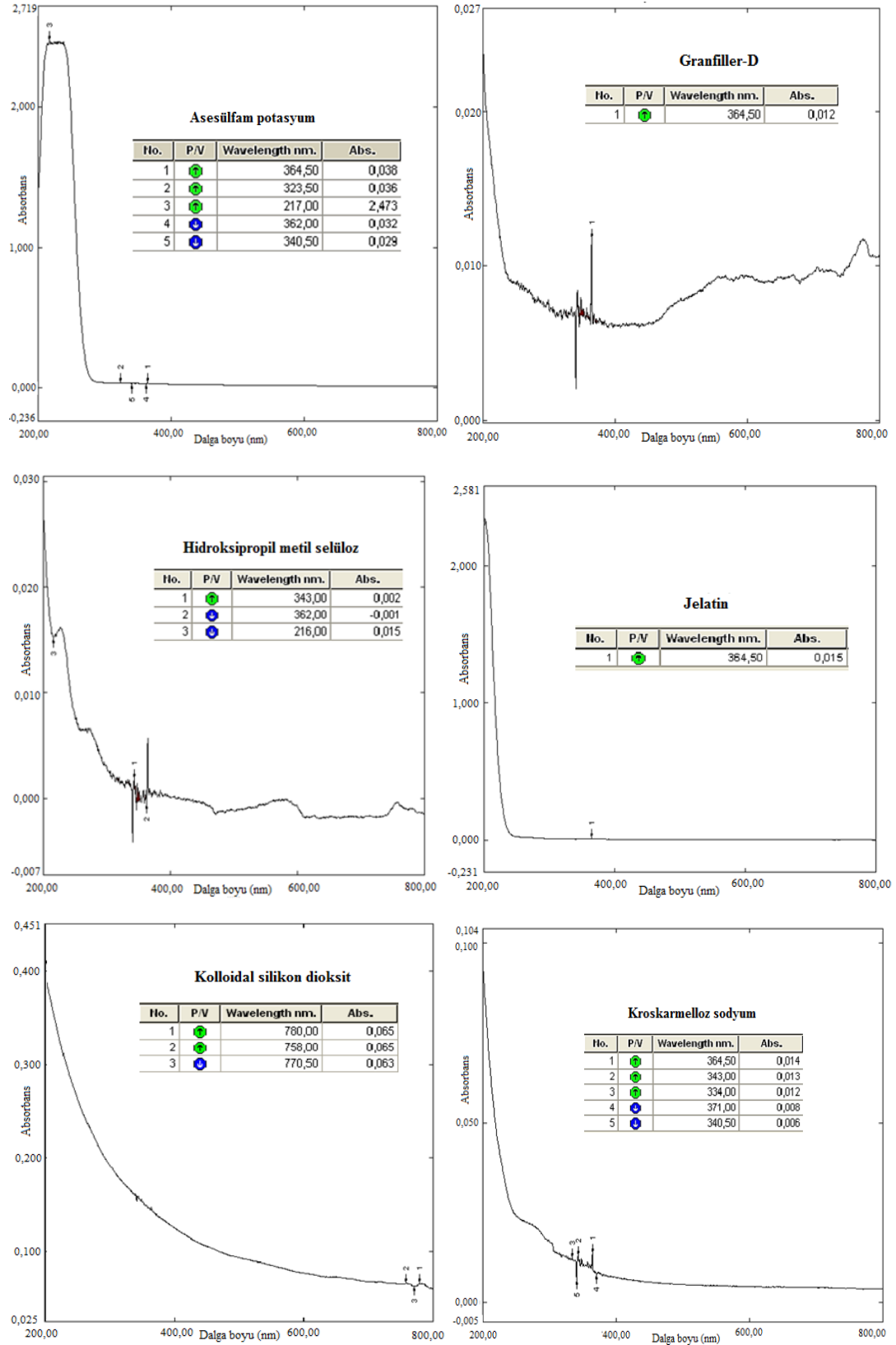
Tablo 4.2. TMB miktar tayini yöntem-1 için gün içi ve günler arası kesinlik sonuçları ($\bar{X} \pm SS^*$; n=6).

	Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Tayin Edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Bağıl Standart Sapma (%)
Gün içi	10	10,15 \pm 0,11	1,04
	30	31,00 \pm 0,34	1,09
	50	50,98 \pm 0,31	0,61
Günler arası	10	10,80 \pm 0,12	1,11
	30	30,52 \pm 0,42	1,37
	50	50,60 \pm 0,45	0,88

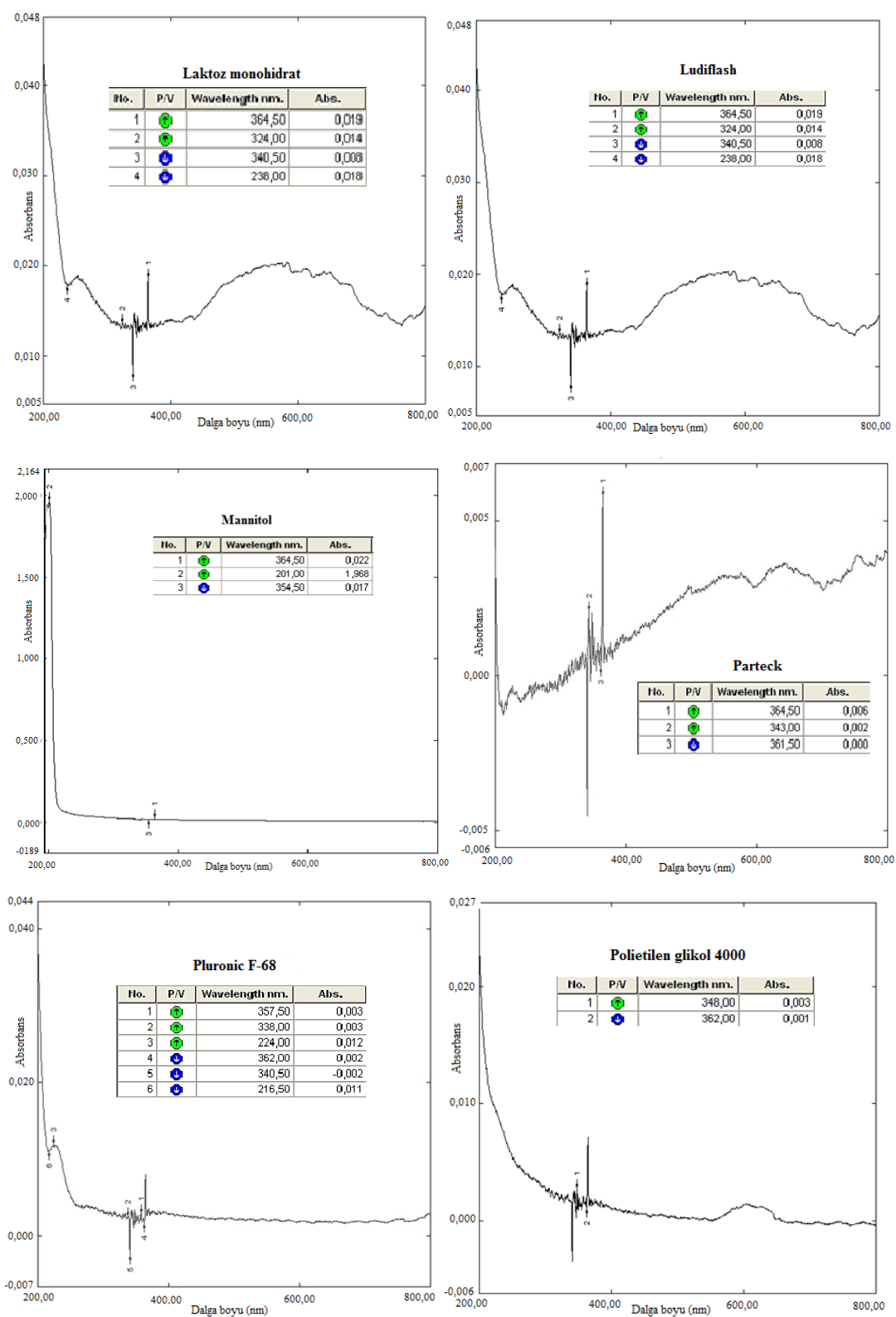
* \bar{X} : Ortalama, SS: Standart sapma

Özgüllük (*Specificity*)

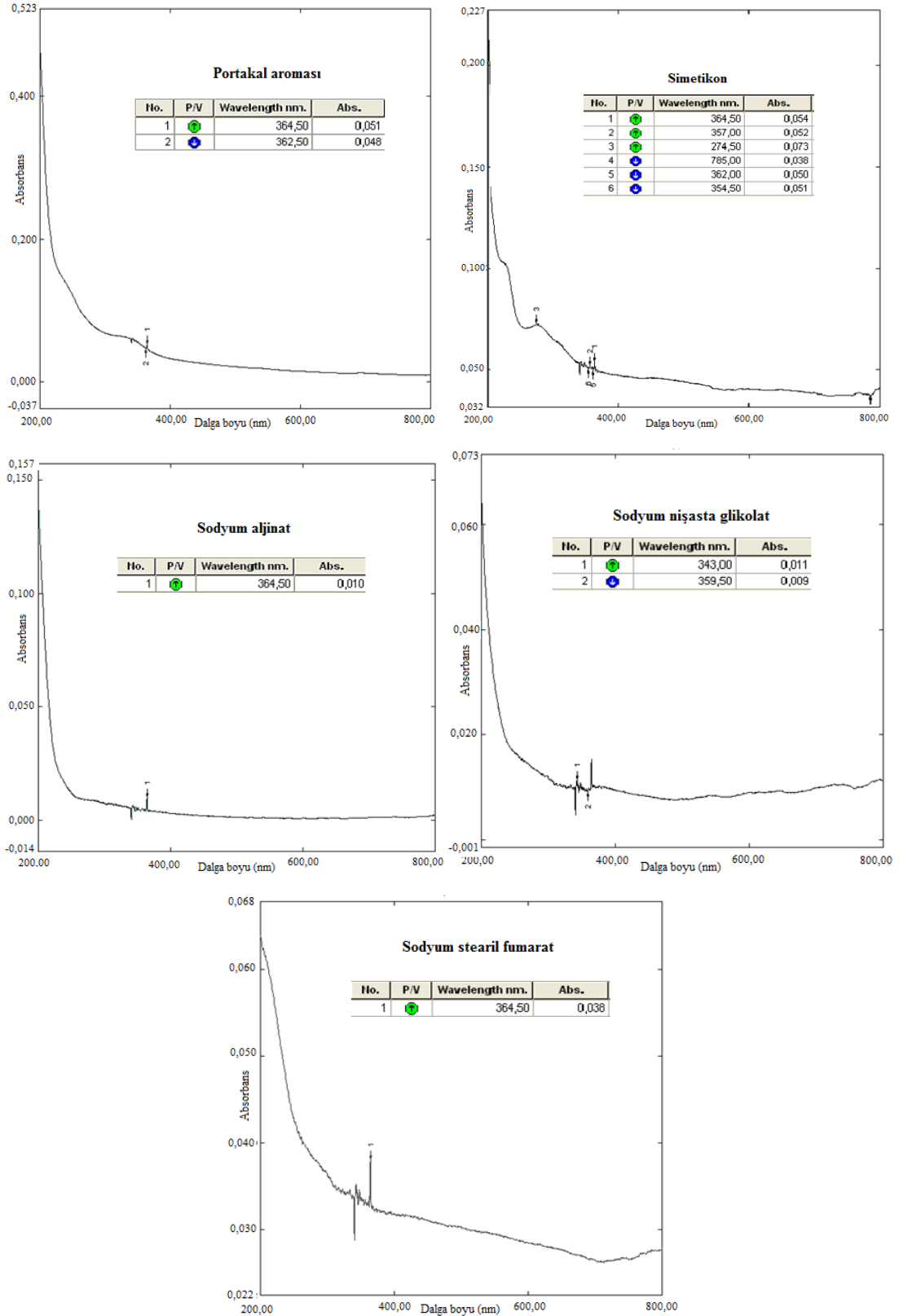
Yöntem 1'in özgüllüğünü göstermek amacıyla yapılan çalışmalarda ADT formülasyonlarında kullanılan her bir yardımcı maddenin distile sudaki stok çözeltisinin 200-800 nm dalga boyu aralığında UV spektrumları çekilmiş, ve TMB'nin maksimum absorbanstığı dalga boyunda ($\lambda_{\text{maks}}=259$ nm) pik vererek girişim yapmadıkları gözlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin UV spektrumları (Ortam: Distile su, $\lambda=200-800$ nm).



Şekil 4.7 (Devam). Formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin UV spektrumları (Ortam: Distile su, $\lambda = 200-800$ nm).



Şekil 4.7 (Devam). Formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin UV spektrumları (Ortam: Distile su, $\lambda = 200-800$ nm).

Teşhis Sınır (*LOD*) ve Tayin Alt Sınırı (*LOQ*)

Yöntem 1 için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,769 µg/mL ve 2,333 µg/mL olarak bulunmuştur.

Dayanıklılık (*Stability*)

Numune analizlerinde yaşanabilecek gecikmeler göz önüne alınarak numunelerin beklemeye karşı dayanıklı olduğunu göstermek amacıyla Bölüm 3.3.6'da belirtildiği şekilde dayanıklılık (stabilite) çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.3'te verilmiştir. Çalışılan tüm konsantrasyonlarda bağıl standart sapma değerleri %2'den düşük bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar, TMB analiz edildiği süre boyunca dayanıklı olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.3. TMB'nin miktar tayini yöntem-1 için stabilite test sonuçları ($(\bar{X} \pm SS)^*$; n=6).

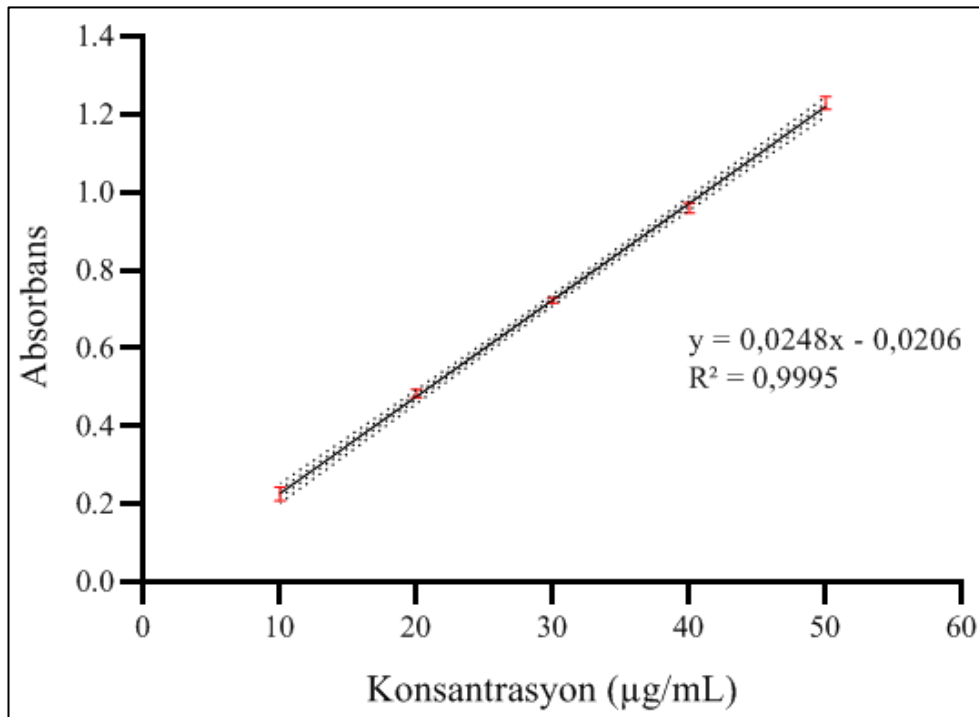
Eklenen Konsantrasyon (µg/mL)	Zaman (saat)	Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL)	Bağıl Standart Sapma (%)
10	0	11,21 ± 0,15	1,28
	6	11,07 ± 0,13	
	12	10,98 ± 0,18	
	24	10,88 ± 0,13	
30	0	30,45 ± 0,23	0,70
	6	30,27 ± 0,12	
	12	30,18 ± 0,14	
	24	29,94 ± 0,22	
50	0	50,55 ± 0,45	0,89
	6	50,23 ± 0,27	
	12	50,02 ± 0,22	
	24	49,49 ± 0,13	

* \bar{X} : Ortalama, SS: Standart sapma

Miktar Tayini Yöntem 2

Doğrusallık (*Linearity*)

Stok çözeltilerden hareketle gerekli seyreltmeler yapılarak hazırlanan çözelti serileri kullanılarak etkin maddenin maksimum absorptans gösterdiği dalga boyunda artan konsantrasyona karşı absorptans grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğrusu çizilmiştir. TMB'nin HBSS'deki kalibrasyon doğrusu ve denklemi Şekil 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.8. TMB'nin HBSS'deki kalibrasyon doğrusu ve denklemi ($\lambda_{\max}=259$ nm) (ortalama \pm SH; n=6).

Bölüm 3.3.6'da belirtildiği gibi stok çözeltilerden hareketle hazırlanan standart çözeltilerin absorbansları tayin edilerek konsantrasyonlar ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorptans değerleri değerlendirilerek doğru denklemi ve determinasyon katsayısı (R^2) hesaplanmıştır. Elde edilen kalibrasyon doğrusunun determinasyon katsayısının 1'e yakın bulunması ($R^2=0,9995$) çalışılan 10-50 µg/mL konsantrasyon aralığında absorptans ile konsantrasyonlar arasındaki ilişkinin doğrusal olduğunu göstermiştir. Doğrusallıktan ayrılış önem kontrolü ile eğimin sıfırdan farklı olduğu gösterilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca, kalibrasyon doğru

denklemine ait %95 güven aralığı belirlenmiş ve ölçülen absorbans değerlerinin güven aralığı içerisinde yer aldığı görülmüştür (Şekil 4.8).

Doğruluk (Accuracy)

Yöntem 2'in gün içi ve günler arası doğruluğunu göstermek amacıyla yapılan çalışmalar Bölüm 3.3.6'da belirtildiği gibi gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.4'te verilmiştir. Gün içi ve günler arası doğruluk çalışmalarında her bir konsantrasyon için tayin edilen bağıl hata (%) değerleri %2'den düşük bulunmuştur.

Tablo 4.4. TMB miktar tayini yöntem-2 için gün içi ve günler arası doğruluk sonuçları ($\bar{X} \pm SS^*$; n=6).

	Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Tayin Edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	%Geri Kazanım	%Bağıl Hata
Gün içi	10	10,11 \pm 0,06	101,12 \pm 0,61	1,12
	30	30,19 \pm 0,09	100,62 \pm 0,31	0,62
	50	50,25 \pm 0,16	100,51 \pm 0,33	0,51
Günler arası	10	10,10 \pm 0,08	101,05 \pm 0,41	1,05
	30	30,28 \pm 0,36	100,94 \pm 0,53	0,94
	50	50,62 \pm 0,32	101,23 \pm 0,60	1,23

* \bar{X} : Ortalama, SS: Standart sapma

Keskinlik (Precision)

Yöntem 2'nin gün içi ve günler arası keskinliğini göstermek amacıyla yapılan çalışmalar Bölüm 3.3.6'da belirtildiği gibi yapılarak elde edilen sonuçlar Tablo 4.5'te verilmiştir. Gün içi ve günler arası keskinlik çalışmalarında her bir konsantrasyon için tayin edilen bağıl standart sapma %2'den düşük bulunmuştur.

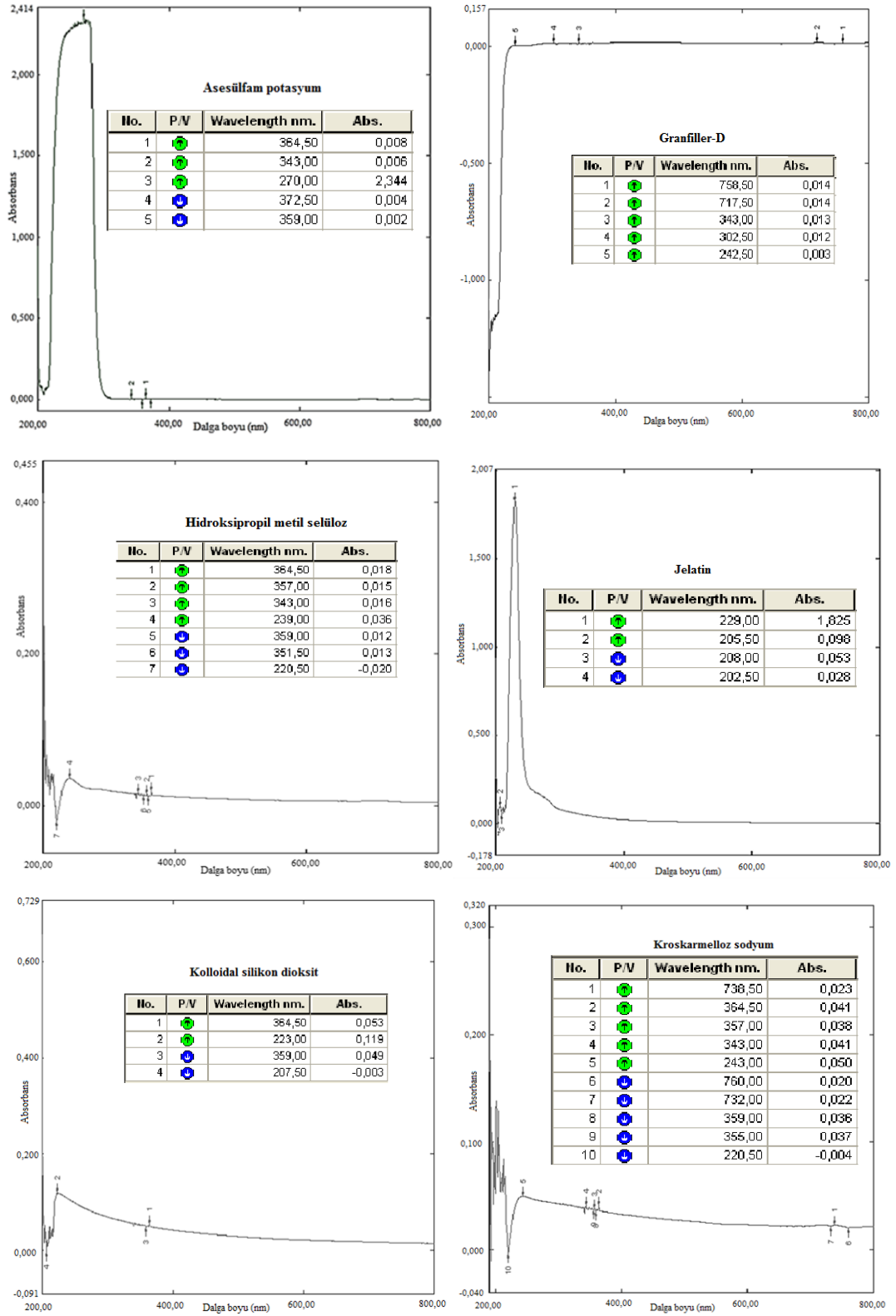
Tablo 4.5. TMB miktar tayini yöntem-2 için gün içi ve günler arası kesinlik sonuçları ($\bar{X} \pm SS^*$; n=6).

	Eklene Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Tayin Edilen Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$) ($\bar{X} \pm SS$)*	Bağıl Standart Sapma (%)
Gün içi	10	10,25 \pm 0,14	1,38
	30	30,00 \pm 0,27	0,89
	50	50,40 \pm 0,65	1,29
Günler arası	10	10,38 \pm 0,14	1,36
	30	30,28 \pm 0,36	1,18
	50	50,62 \pm 0,61	1,20

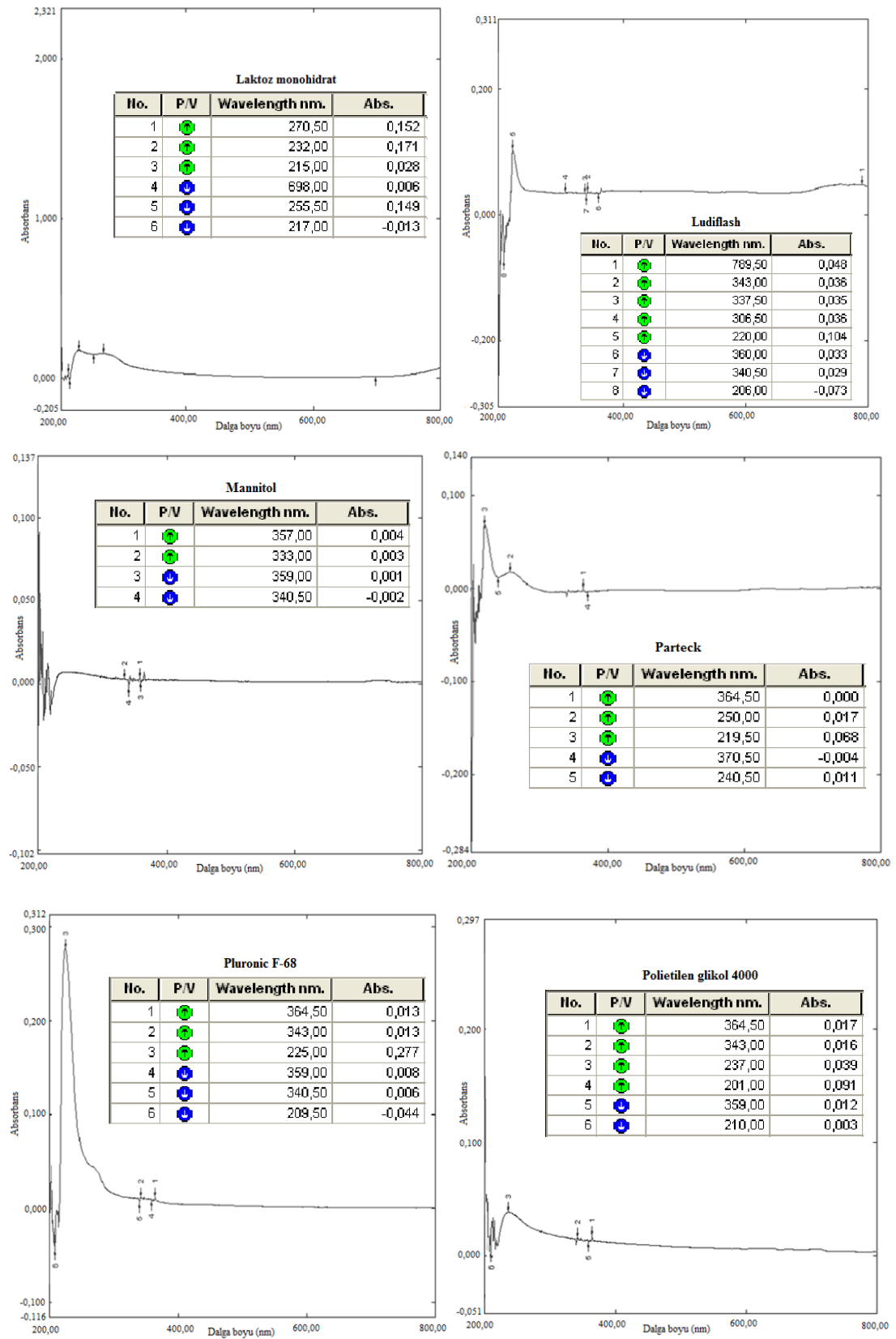
* \bar{X} : Ortalama, SS: Standart sapma

Özgüllük (*Specificity*)

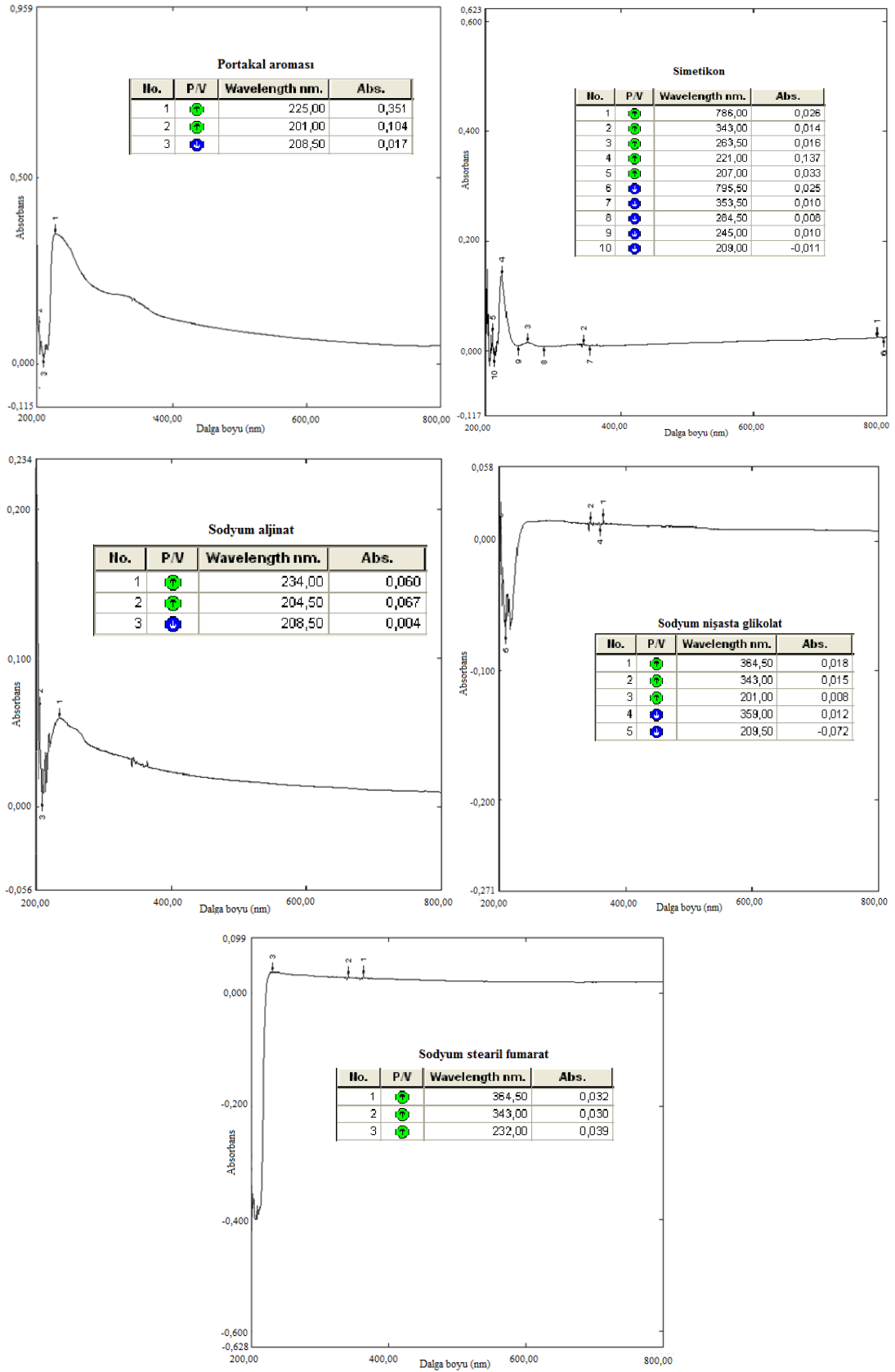
Yöntem 2'nin özgüllüğünü göstermek amacıyla yapılan çalışmalarda ADT formülasyonlarında kullanılan her bir yardımcı maddenin HBSS'deki stok çözeltisinin 200-800 nm dalga boyu aralığında UV spektrumları çekilmiş, ve TMB'nin maksimum absorbanstığı dalga boyunda ($\lambda_{\text{maks}}=259$ nm) pik vererek girişim yapmadıkları gözlenmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin UV spektrumları (Ortam: HBSS, $\lambda = 200-800$ nm).



Şekil 4.9 (Devam). Formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin UV spektrumları (Ortam: HBSS, $\lambda = 200-800$ nm).



Şekil 4.9 (Devam). Formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin UV spektrumları (Ortam: HBSS, $\lambda=200-800$ nm).

Teşhis Sınırı (*LOD*) ve Tayin Alt Sınırı (*LOQ*)

Yöntem 2 için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 1,466 µg/mL ve 4,444 µg/mL olarak bulunmuştur.

Dayanıklılık (*Stability*)

Numune analizlerinde yaşanabilecek gecikmeler göz önüne alınarak numunelerin beklemeye karşı dayanıklı olduğunu göstermek amacıyla Bölüm 3.3.6'da anlatıldığı gibi dayanıklılık (stabilite) çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.6'da verilmiştir. Çalışılan tüm konsantrasyonlarda bağıl standart sapma değerleri %2'den düşük bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar, TMB analiz edildiği süre boyunca dayanıklı olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.6. TMB miktar tayini yöntem-2 için stabilite analiz sonuçları ($\bar{X} \pm SS$)*; n=6).

Eklenen Konsantrasyon (µg/mL)	Zaman (saat)	Tayin Edilen Konsantrasyon (µg/mL)	%Bağıl Standart Sapma
10	0	10,51 ± 0,45	0,60
	6	10,51 ± 0,46	
	12	10,61 ± 0,40	
	24	10,64 ± 0,40	
30	0	30,00 ± 0,27	0,91
	6	30,17 ± 0,28	
	12	30,65 ± 0,47	
	24	30,26 ± 0,21	
50	0	50,40 ± 0,65	1,01
	6	50,59 ± 0,69	
	12	51,37 ± 0,44	
	24	51,38 ± 0,46	

* \bar{X} : Ortalama, SS: Standart sapma

4.2. TMB İçeren ADT Formülasyonları Toz Karışımıları zerinde Yapılan Kontroller

Direkt basım yöntemi ile basılmış olan ADT formülasyonlarına ait toz karışımalarında yapılan analizler Bölüm 3.5'te belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiş, elde edilen analiz sonuçları Tablo 4.7'de özetlenmiştir.

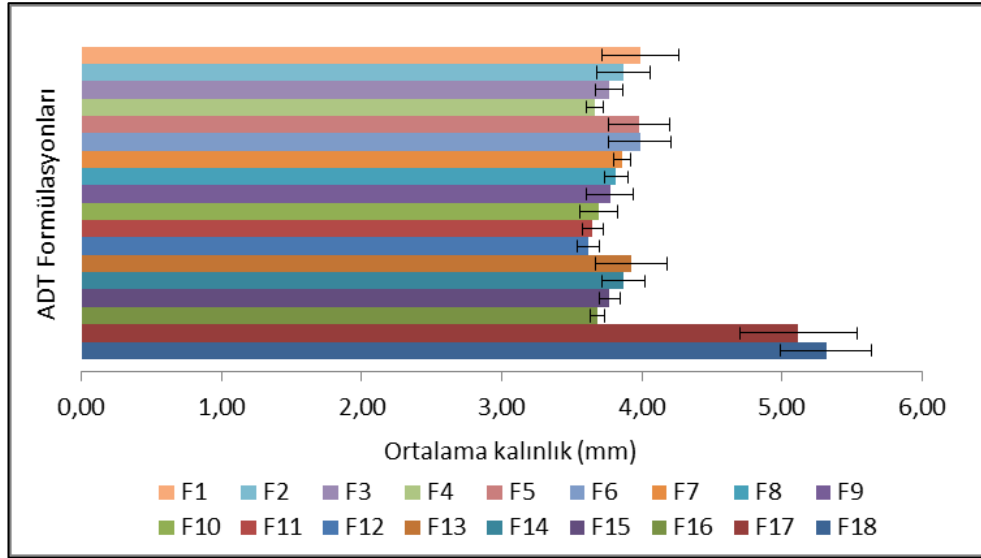
Tablo 4.7. ADT formülasyonlarına ait toz karışımlarının analiz sonuçları ($\bar{X} \pm SS$; n=3).

Formülasyon	Yığın açısı (°)	Basılabilirlik İndeksi (%)	Hausner Oranı	Nem içeriği (%)	Kütle Dansitesi (P_b) (g/mL)	Sıkıştırılmış Dansite (g/mL)
F1	12,84 ± 1,44	19,13 ± 3,84	1,24 ± 0,06	1,17 ± 0,05	0,55 ± 0,03	0,68 ± 0,01
F2	12,89 ± 1,47	23,58 ± 5,46	1,31 ± 0,10	2,23 ± 0,03	0,46 ± 0,03	0,61 ± 0,00
F3	13,55 ± 1,99	27,84 ± 1,86	1,39 ± 0,04	1,23 ± 0,05	0,43 ± 0,01	0,59 ± 0,01
F4	12,96 ± 1,48	29,84 ± 1,92	1,43 ± 0,04	1,47 ± 0,09	0,42 ± 0,01	0,59 ± 0,01
F5	14,24 ± 0,65	19,61 ± 2,57	1,24 ± 0,04	1,70 ± 0,06	0,49 ± 0,02	0,61 ± 0,01
F6	14,20 ± 1,97	23,55 ± 0,76	1,31 ± 0,01	3,37 ± 0,10	0,46 ± 0,00	0,61 ± 0,01
F7	12,96 ± 1,74	27,22 ± 1,06	1,37 ± 0,02	1,40 ± 0,03	0,45 ± 0,01	0,62 ± 0,01
F8	11,61 ± 0,88	28,30 ± 1,15	1,39 ± 0,02	1,43 ± 0,05	0,45 ± 0,00	0,63 ± 0,01
F9	15,36 ± 1,32	22,40 ± 1,97	1,29 ± 0,03	2,80 ± 0,05	0,40 ± 0,01	0,51 ± 0,03
F10	13,40 ± 0,83	23,68 ± 5,70	1,32 ± 0,10	3,37 ± 0,03	0,41 ± 0,03	0,54 ± 0,00
F11	14,45 ± 0,91	28,42 ± 3,12	1,40 ± 0,06	2,47 ± 0,10	0,40 ± 0,02	0,56 ± 0,01
F12	15,87 ± 1,31	28,94 ± 2,62	1,41 ± 0,05	2,53 ± 0,06	0,40 ± 0,01	0,56 ± 0,01
F13	13,75 ± 0,88	16,52 ± 1,07	1,20 ± 0,02	2,30 ± 0,08	0,51 ± 0,01	0,61 ± 0,01
F14	13,17 ± 0,87	29,85 ± 1,14	1,43 ± 0,02	2,43 ± 0,04	0,45 ± 0,01	0,64 ± 0,01
F15	14,13 ± 1,20	28,45 ± 1,27	1,40 ± 0,02	1,63 ± 0,05	0,46 ± 0,01	0,65 ± 0,00
F16	11,34 ± 0,65	25,99 ± 1,38	1,35 ± 0,03	1,97 ± 0,05	0,48 ± 0,01	0,65 ± 0,02

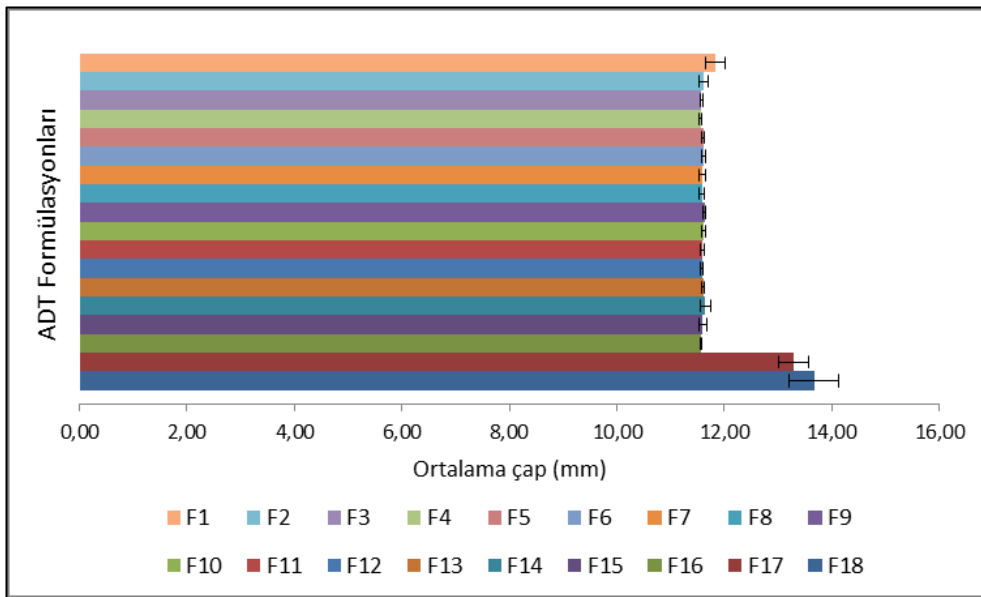
4.3. TMB İçeren ADT Formülasyonları Üzerinde Yapılan *In Vitro* Kontroller

4.3.1. Kalınlık ve Çap Tayini

Geliştirilmiş olan tüm ADT formülasyonlarının kalınlık ve çap tayinleri Bölüm 3.6.1’de belirtildiği şekilde gerçekleştirilerek elde edilen sonuçlar Şekil 4.10 ve Şekil 4.11 ve Tablo 4.8’de verilmiştir.



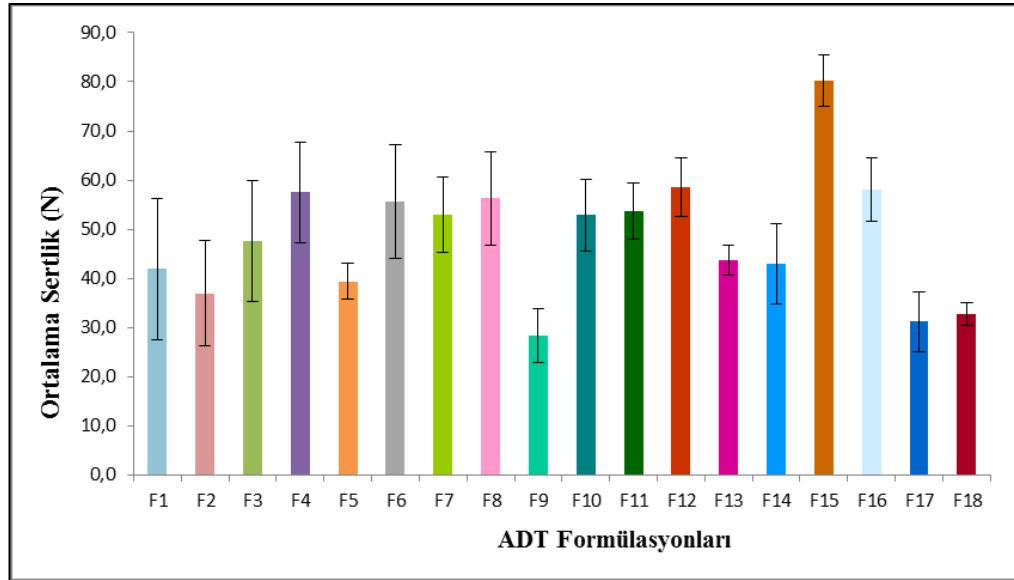
Şekil 4.10. Geliştirilen tüm ADT formülasyonlarına ait kalınlık analizi sonuçları ($\bar{X} \pm SS$; n=20).



Şekil 4.11. Geliştirilen tüm ADT formülasyonlarına ait çap analizi sonuçları ($\bar{X} \pm SS$; n=20).

4.3.2. Sertlik Tayini

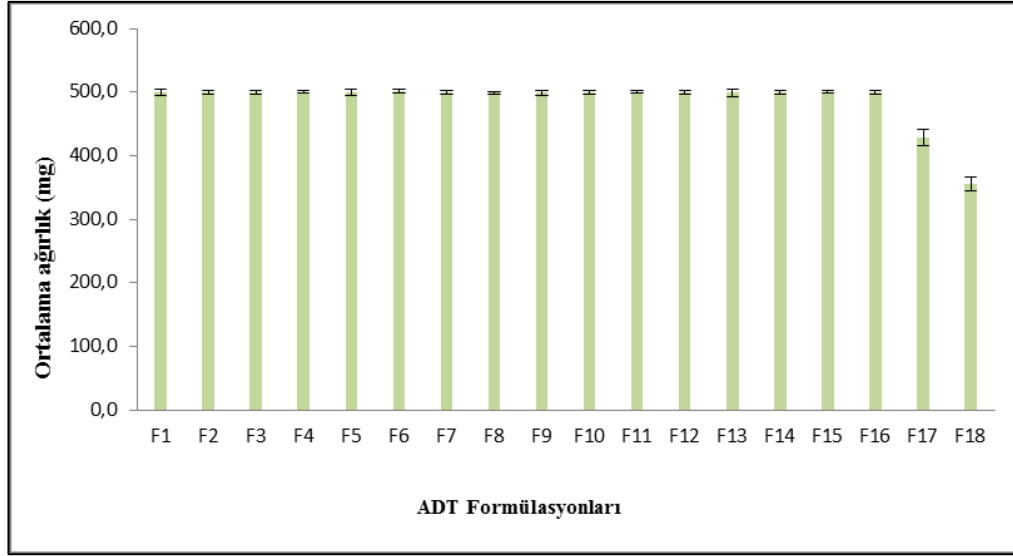
Geliştirilmiş olan tüm ADT formülasyonlarının sertlik tayini Bölüm 3.6.2’de belirtildiği şekilde gerçekleştirilerek elde edilen analiz sonuçları Şekil 4.12 ve Tablo 4.8’de verilmiştir. Geliştirilen ADT formülasyonlarının sertlikleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$).



Şekil 4.12. Geliştirilen tüm ADT formülasyonlarına ait sertlik analizi sonuçları ($\bar{X} \pm SS$; $n=10$).

4.3.3. Ağırlık Sapması Tayini

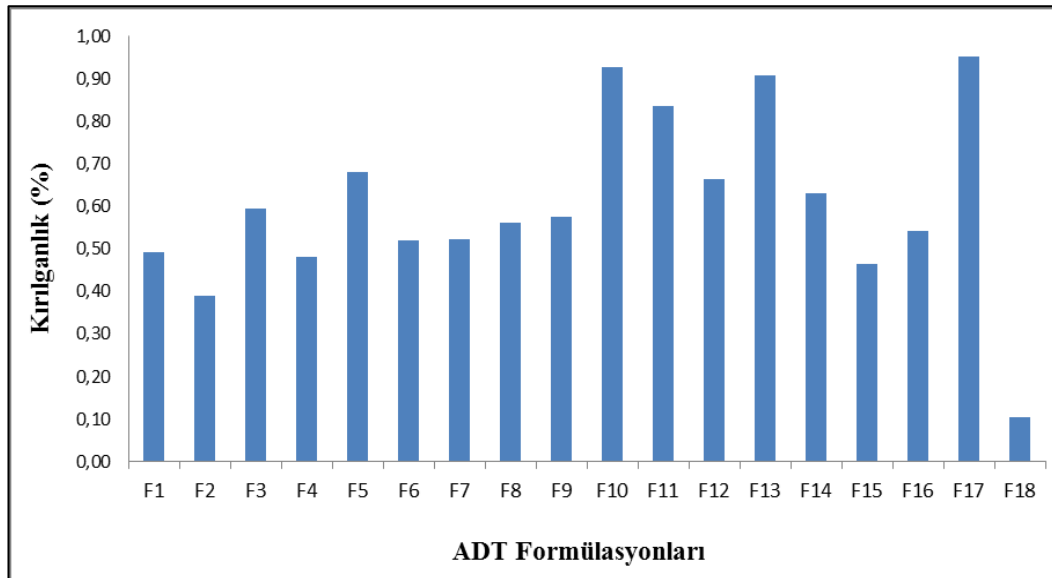
Geliştirilmiş olan tüm ADT formülasyonlarına ait her bir tabletin tablet ağırlığı ortalama 500 mg (EP 9.0 2.9.5’e göre $500 \text{ mg} \pm \%5$) olarak belirlenmiştir. Formülasyonlara ait ağırlık sapması tayini Bölüm 3.6.3’te belirtildiği şekilde gerçekleştirilerek elde edilen analiz sonuçları Şekil 4.13 ve Tablo 4.8’de verilmiştir.



Şekil 4.13. Geliştirilen ADT formülasyonlarına ait ağırlık sapması analizi sonuçları ($\bar{X} \pm SS$; n=20).

4.3.4. Kırılgenlik Tayini

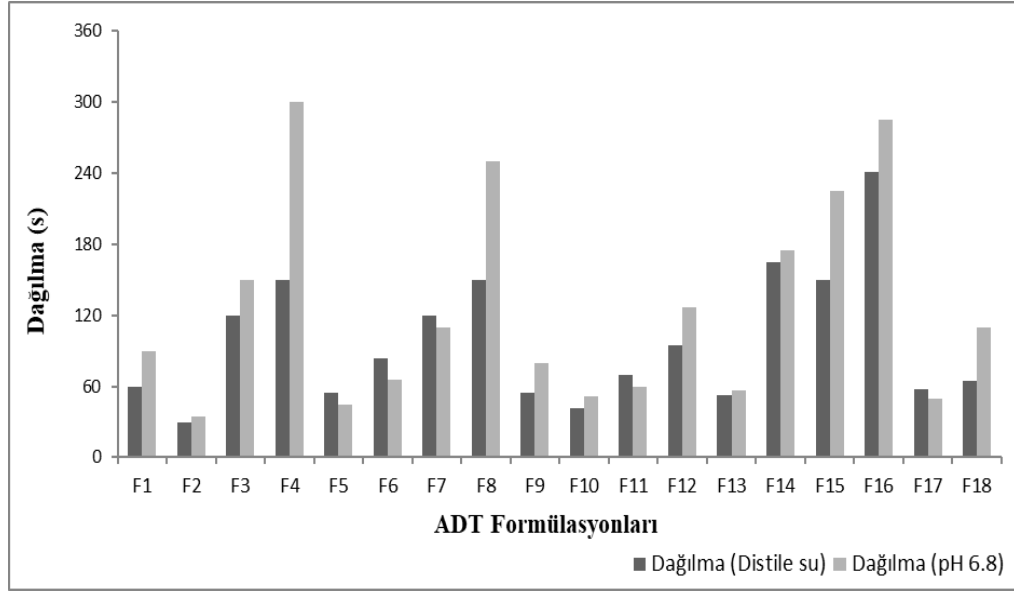
Geliştirilmiş olan tüm ADT formülasyonlarının kırılgenlik tayini Bölüm 3.6.4'te belirtildiği şekilde gerçekleştirilerek elde edilen analiz sonuçları Şekil 4.14 ve Tablo 4.8'de verilmiştir. Tüm formülasyonlarda kırılgenlik analizi sonuçları %1'in altında ölçülmüştür.



Şekil 4.14. Geliştirilen ADT formülasyonlarına ait kırılgenlik analizi sonuçları (n=20).

4.3.5. Dağılma Testi

Geliştirilmiş olan tüm ADT formülasyonlarının dağılma testi Bölüm 3.6.5'te belirtildiği şekilde hem distile su hem de yapay tükürük ortamında gerçekleştirilerek elde edilen analiz sonuçları Şekil 4.15 ve Tablo 4.9'da verilmiştir.

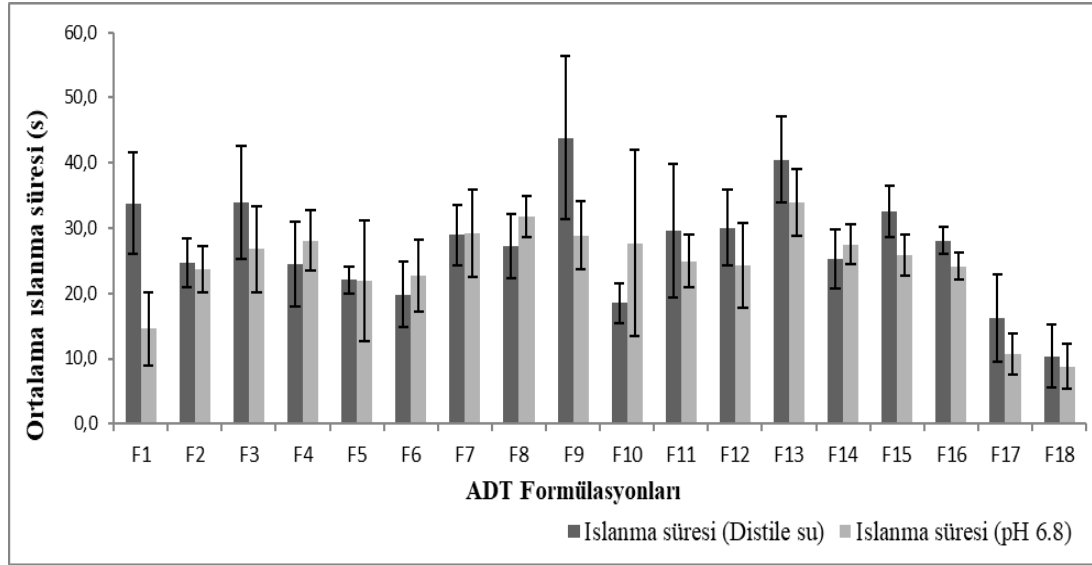


Şekil 4.15. Geliştirilen ADT formülasyonlarına ait dağılma analizi sonuçları (n=6).

ADT formülasyonlarının dağılma süreleri incelendiğinde F4, F8 ve F15 formülasyonlarının yapay tükürük ortamında (pH 6,8), F16 formülasyonunun ise hem distile su ve hem de yapay tükürük ortamında (pH 6,8) 3 dakikadan daha uzun sürede dağıldığı gözlenmiştir. Diğer tüm ADT'ler EP 9.0'da belirtildiği gibi her iki ortamda da 3 dakikadan daha kısa sürede dağılmıştır.

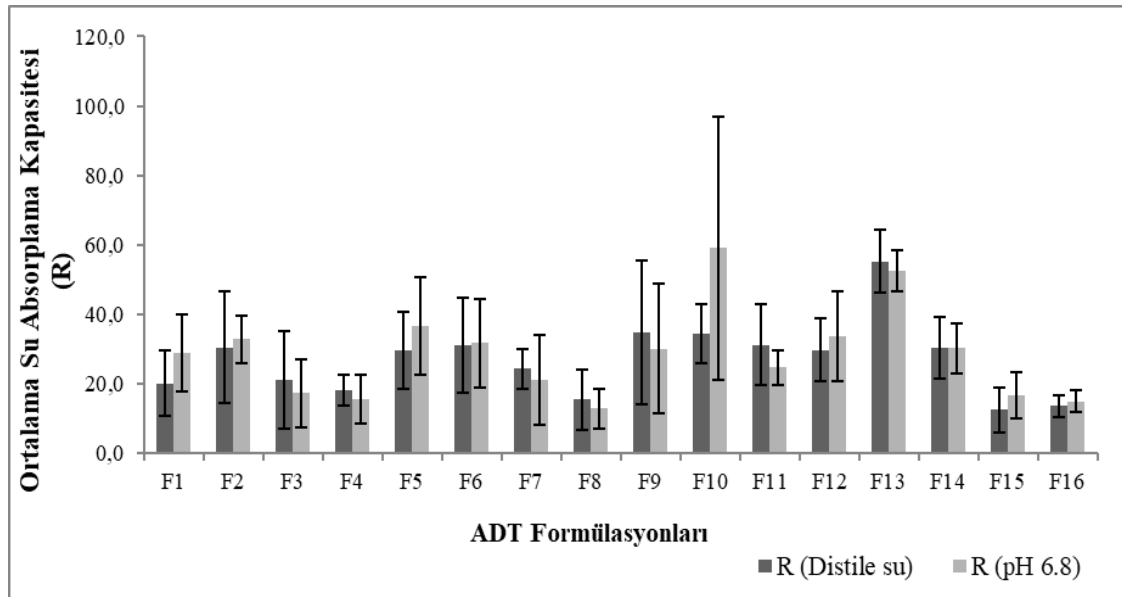
4.3.6. Islanma Süresi ve Su Absorplama Kapasitesi

Geliştirilmiş olan ADT formülasyonlarının ıslanma süreleri ve su absorplama kapasiteleri (R) Bölüm 3.6.6'da belirtildiği şekilde tayin edilerek elde edilen analiz sonuçları Şekil 4.16, Şekil 4.17 ve Tablo 4.9'da verilmiştir. Dondurarak kurutma yöntemiyle hazırlanan F17 ve F18 ADT formülasyonları için ıslanma süresi tayini sonrası tabletler tamamen dağıldığı için son ağırlıkları ölçülemedi, bu nedenle su absorplama kapasiteleri (R) tayin edilememiştir.



Şekil 4.16. Geliştirilen ADT formülasyonlarına ait ıslanma süresi analizi sonuçları ($\bar{X} \pm SS$; n=6).

Geliştirilen ADT formülasyonlarının distile su ve yapay tükürük ortamlarındaki (pH 6,8) ıslanma süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).



Şekil 4.17. Geliştirilen ADT formülasyonlarına ait su absorplama kapasitesi analizi sonuçları ($\bar{X} \pm SS$; n=6).

Geliştirilen ADT formülasyonlarının distile su ve yapay tükürük ortamlarındaki (pH 6,8) su absorplama kapasiteleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Tablo 4.8 ADT formülasyonlarına ait *in vitro* analiz sonuçları-1.

	Kalınlık (mm) (n=20) ($\bar{X} \pm SS$)	Çap (mm) (n=20) ($\bar{X} \pm SS$)	Sertlik (N) (n=10) ($\bar{X} \pm SS$)	Ağırlık Sapması (mg) (n=20) ($\bar{X} \pm \% 5$)	Kırılgenlik (%) (n=20)
F1	3,99 ± 0,27	11,82 ± 0,18	41,95 ± 14,41	474,1 – 524,0	0,49
F2	3,87 ± 0,19	11,62 ± 0,09	37,01 ± 10,62	475,2 – 525,2	0,39
F3	3,77 ± 0,09	11,57 ± 0,02	47,52 ± 12,28	474,9 – 524,9	0,59
F4	3,67 ± 0,06	11,56 ± 0,03	57,49 ± 10,19	475,3 – 525,3	0,48
F5	3,98 ± 0,22	11,60 ± 0,02	39,37 ± 3,63	474,5 – 524,5	0,70
F6	3,99 ± 0,23	11,61 ± 0,04	55,66 ± 11,52	476,3 – 526,5	0,52
F7	3,86 ± 0,06	11,59 ± 0,06	52,91 ± 7,73	474,6 – 524,6	0,52
F8	3,82 ± 0,08	11,58 ± 0,05	56,26 ± 9,50	474,3 – 524,3	0,56
F9	3,78 ± 0,17	11,63 ± 0,03	28,36 ± 5,53	474,4 - 524,4	0,58
F10	3,70 ± 0,14	11,62 ± 0,04	52,90 ± 7,31	474,1 – 524,1	0,93
F11	3,65 ± 0,08	11,59 ± 0,04	53,74 ± 5,72	475,2 – 525,2	0,84
F12	3,62 ± 0,08	11,58 ± 0,02	58,59 ± 5,92	474,6 - 524,6	0,66
F13	3,92 ± 0,25	11,60 ± 0,02	43,67 ± 3,12	473,7 – 523,5	0,91
F14	3,87 ± 0,16	11,65 ± 0,09	43,02 ± 8,13	474,2 – 524,2	0,63
F15	3,77 ± 0,07	11,60 ± 0,07	80,26 ± 5,28	475,0 - 525,0	0,46
F16	3,68 ± 0,05	11,57 ± 0,01	58,10 ± 6,55	474,6 – 524,6	0,54
F17	5,12 ± 0,42	13,29 ± 0,28	31,19 ± 6,18	406,4 – 449,2	0,95
F18	5,32 ± 0,33	13,67 ± 0,47	33,75 ± 2,26	337,3 – 372,9	0,10

\bar{X} : Ortalama, SS: Standart sapma

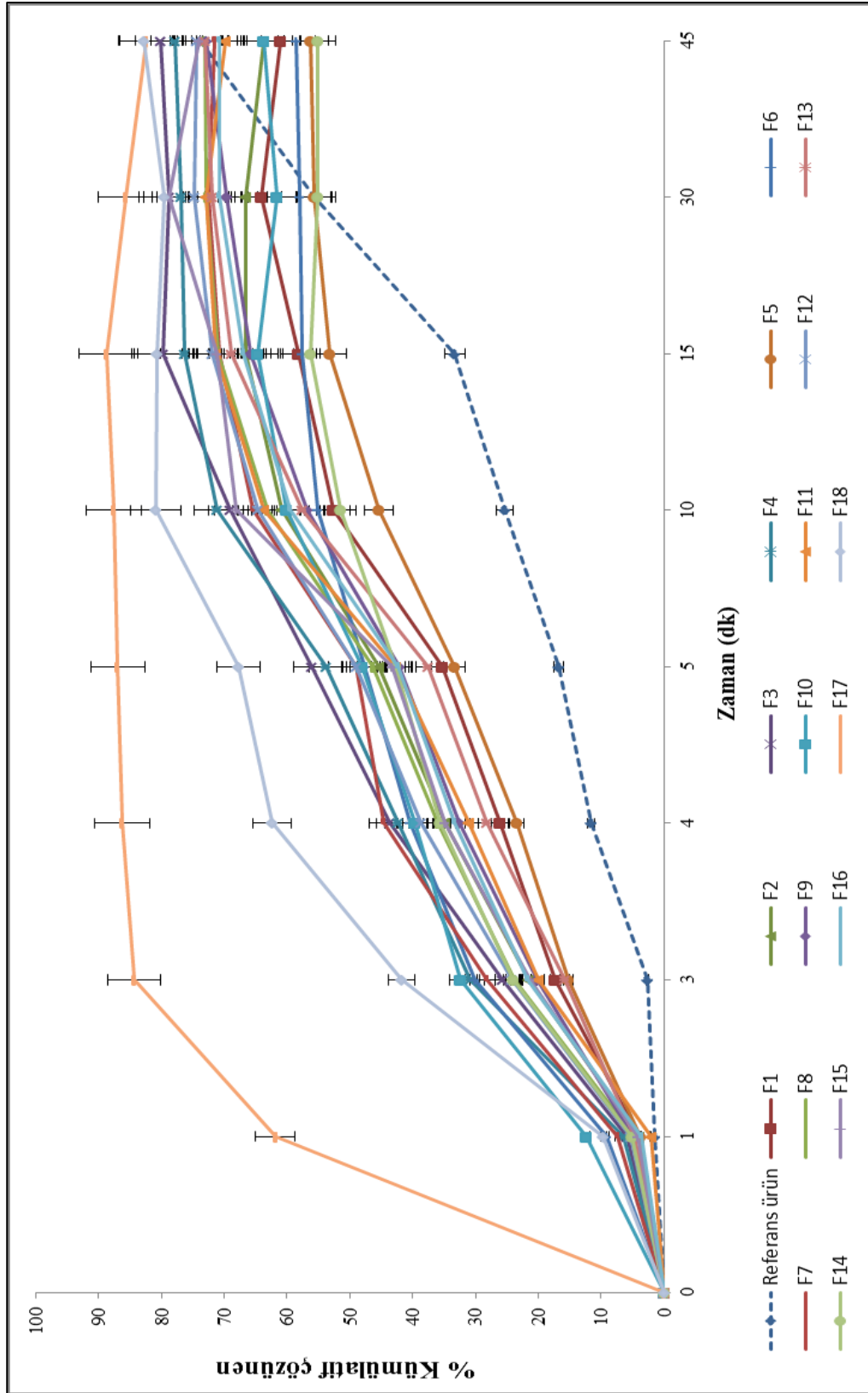
Tablo 4.9. ADT formülasyonlarına ait *in vitro* analiz sonuçları-2 (n=6).

	Islanma süresi (Distile su) (s) ($\bar{X} \pm SS$)	Islanma süresi (pH 6.8) (s) ($\bar{X} \pm SS$)	Su absorplama kapasitesi (R) (Distile su) ($\bar{X} \pm SS$)	Su absorplama kapasitesi (R) (pH 6.8) ($\bar{X} \pm SS$)	Dağılma Süresi (Distile su) (s)	Dağılma Süresi (pH 6.8) (s)
F1	33,77 ± 7,78	14,58 ± 5,61	20,13 ± 9,58	28,83 ± 11,25	60	90
F2	24,67 ± 3,78	23,67 ± 3,50	30,38 ± 16,13	32,74 ± 6,98	30	35
F3	33,93 ± 8,58	26,75 ± 6,65	21,16 ± 13,98	17,25 ± 9,88	120	150
F4	24,42 ± 6,47	28,09 ± 4,63	18,10 ± 4,56	15,59 ± 6,98	150	300
F5	22,04 ± 2,12	21,94 ± 9,27	29,55 ± 11,22	36,59 ± 14,13	55	45
F6	19,83 ± 5,00	22,67 ± 5,50	31,10 ± 13,79	31,62 ± 12,93	84	66
F7	28,92 ± 4,60	29,20 ± 6,71	24,21 ± 5,64	21,16 ± 12,98	120	110
F8	27,21 ± 4,87	31,74 ± 3,15	15,33 ± 8,65	12,85 ± 5,75	150	250
F9	43,84 ± 12,56	28,88 ± 5,16	34,74 ± 20,53	30,00 ± 18,70	55	80
F10	18,50 ± 3,08	27,67 ± 14,26	34,30 ± 8,40	59,05 ± 37,97	42	52
F11	29,59 ± 10,27	24,96 ± 3,95	31,19 ± 11,74	24,61 ± 5,06	70	60
F12	30,05 ± 5,86	24,24 ± 6,52	29,73 ± 8,93	33,58 ± 13,07	95	127
F13	40,52 ± 6,54	33,92 ± 5,10	55,19 ± 9,06	52,60 ± 5,99	53	57
F14	25,33 ± 4,55	27,50 ± 3,02	30,33 ± 8,75	30,17 ± 7,10	165	175
F15	32,54 ± 3,92	25,81 ± 3,11	12,39 ± 6,39	16,58 ± 6,77	150	225
F16	28,11 ± 2,11	24,10 ± 2,07	13,50 ± 3,16	14,94 ± 3,06	241	285
F17	16,26 ± 6,73	10,65 ± 3,16	TE*	TE*	58	50
F18	10,40 ± 4,82	8,75 ± 3,43	TE*	TE*	65	110

\bar{X} : Ortalama, SS: Standart sapma, *TE: Tayin edilememiştir.

4.3.7. Çözünme Çalışmaları

Referans ürün ve geliştirilmiş olan tüm ADT formülasyonlarının çözünme çalışmaları Bölüm 3.6.7’de belirtilen koşullarda gerçekleştirilerek elde edilen sonuçlar Şekil 4.18-4.22’de verilmiştir.

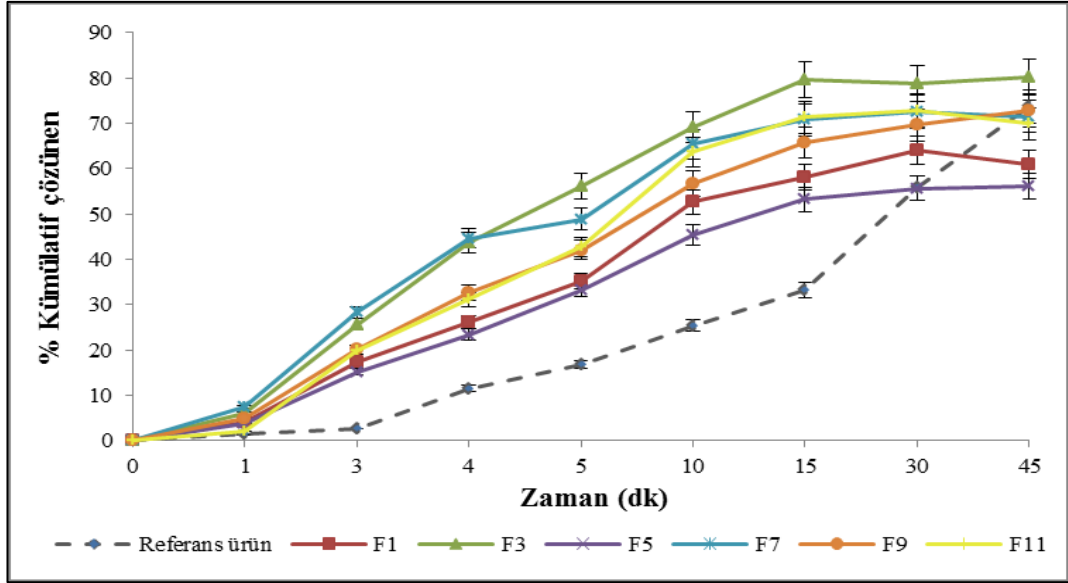


Şekil 4.18. Geliştirilmiş ADT'ler ve referans ürüne ait çözünme profilleri ($\bar{X} \pm SH$; n=6).

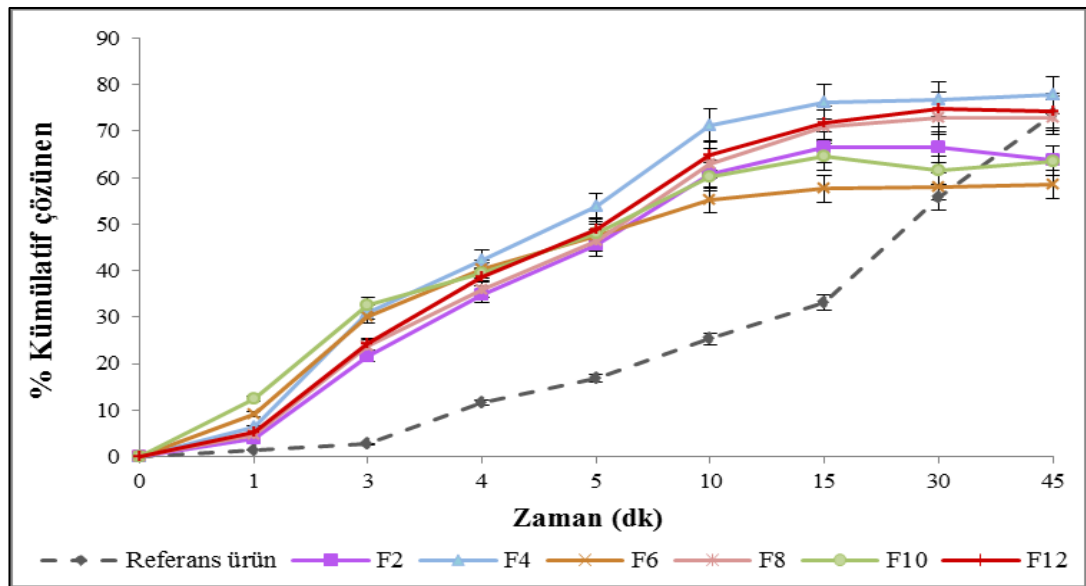
Tüm formülasyonlarda ilk 15 dakikada çözünen TMB miktarı %85'ten az olduğu için çözünme profilleri benzerliğini incelemek amacıyla benzerlik faktörü (f_2) hesaplanarak elde edilen Tablo 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.10. ADT formülasyonları ve referans ürün arasında benzerlik faktörü (f_2) sonuçları.

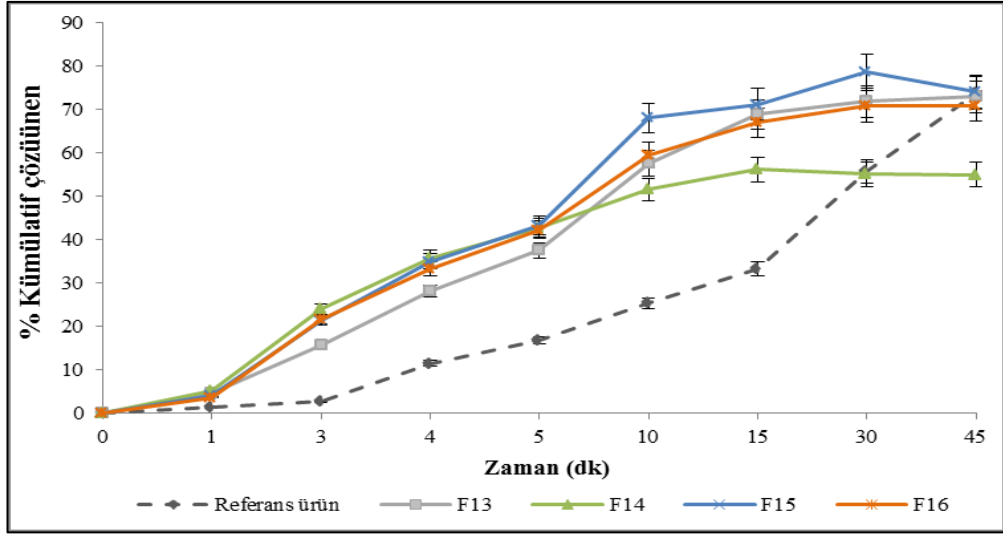
Formülasyon	f_2 değeri
F1	39,3
F2	32,8
F3	26,2
F4	26,4
F5	43,3
F6	32,9
F7	28,8
F8	30,9
F9	34,7
F10	30,9
F11	31,9
F12	29,7
F13	35,0
F14	35,9
F15	30,0
F16	33,5
F17	11,6
F18	20,6



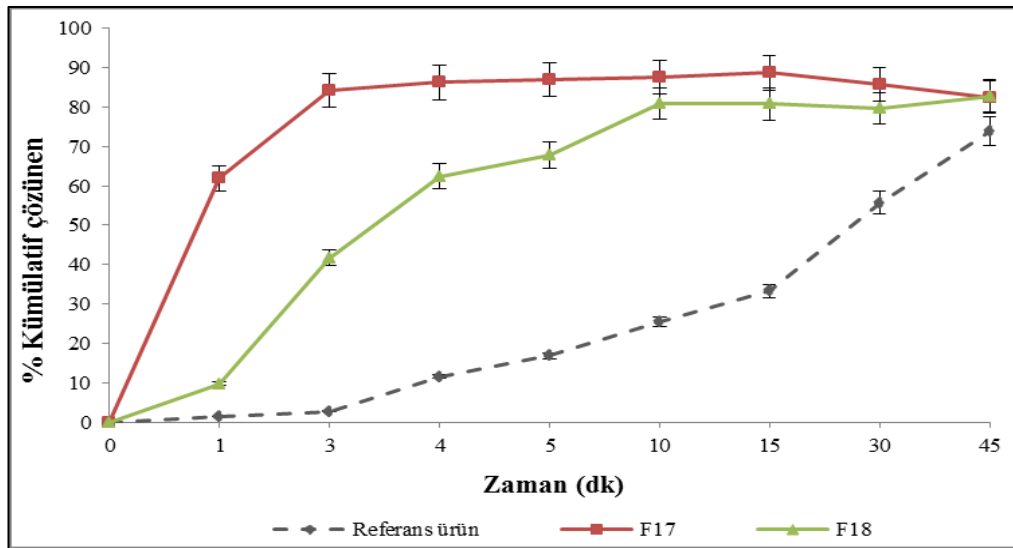
Şekil 4.19. %40 süperdağıtıcı (Ludiflash®, Parateck®, Granfiller-D®) ve %6 - %12 Ac-Di-Sol® içeren ADT'ler ve referans ürüne ait çözünme profilleri ($\bar{X} \pm SH$; n=6).



Şekil 4.20. %42,5 süperdağıtıcı (Ludiflash®, Parateck®, Granfiller-D®) ve %6 - %12 Ac-Di-Sol® içeren ADT'ler ve referans ürüne ait çözünme profilleri ($\bar{X} \pm SH$; n=6).



Şekil 4.21. %5 - %7,5 sıradan dağıtıcı (Sodyum nişasta glikolat) ve %6 - %12 Ac-Di-Sol® içeren ADT'ler ve referans ürüne ait çözünme profili ($\bar{X} \pm SH$; n=6).



Şekil 4.22. %2 - %4 jelatin içeren dondurarak kurulmuş ADT'ler ve referans ürüne ait çözünme profili ($\bar{X} \pm SH$; n=6).

Her bir örnek zamanı için ADT formülasyonları ve piyasada bulunan konvansiyonel tableten % kümülatif çözünme TMB miktarları Kruskal Wallis Testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve bütün formülasyonlar ile referans ürüne ait % kümülatif çözünme TMB miktarları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Ayrıca benzerlik testi sonuçları değerlendirildiğinde referans ürün ile geliştirilen tüm ADT formülasyonlarının benzer olmadığı görülmüştür.

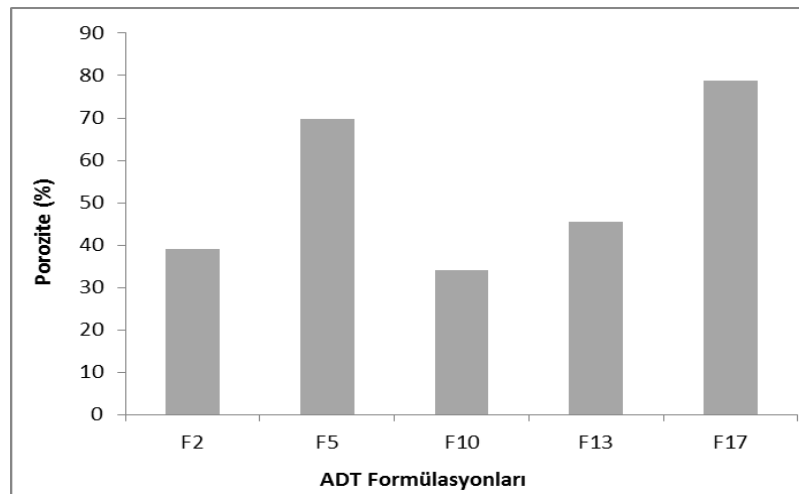
Çözünme testi sırasında elde edilen çözeltilerin sink koşulu sağlayıp sağlamadığı incelenmiştir. Distile suda çözünürlüğü 2k olarak bildirilmiş olan TMB'nin 200 mg içeren doymuş çözeltisinin elde edilmesi için gerekli distile su hacmi 0,4 mL olarak hesaplanmaktadır. Çözünme testi için kullanılan distile su hacminin (900 mL), sink koşulun sağlanması için gerekli olan 1,2 mL'den çok daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durumda çözünme testi sırasında elde edilen çözeltilerin sink koşulunu sağladığı ve çözünme testi süresince çözünme ortamında bulunan TMB konsantrasyonunun her bir ADT formülasyonu için 45. dakika sonunda elde edilen % çözünen değerini etkilemediği görülmüştür.

4.3.8. Porozite Tayini

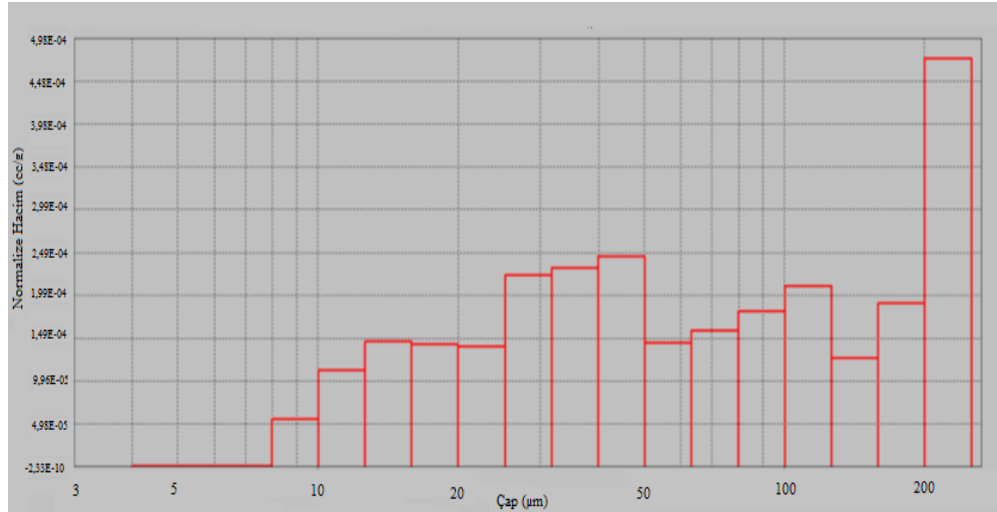
Her gruptan seçilmiş olan ADT'lerin (F2, F5, F10, F13, F17) poroziteleri Bölüm 3.6.8'de gerçekleştirilecek elde edilen porozite (%) sonuçları Tablo 4.11'de, por büyüklüğü dağılım sonuçları ise Şekil 4.23-4.28'de verilmiştir.

Tablo 4.11. Her gruptan seçilmiş olan ADT'lere ait porozite (%) değerleri.

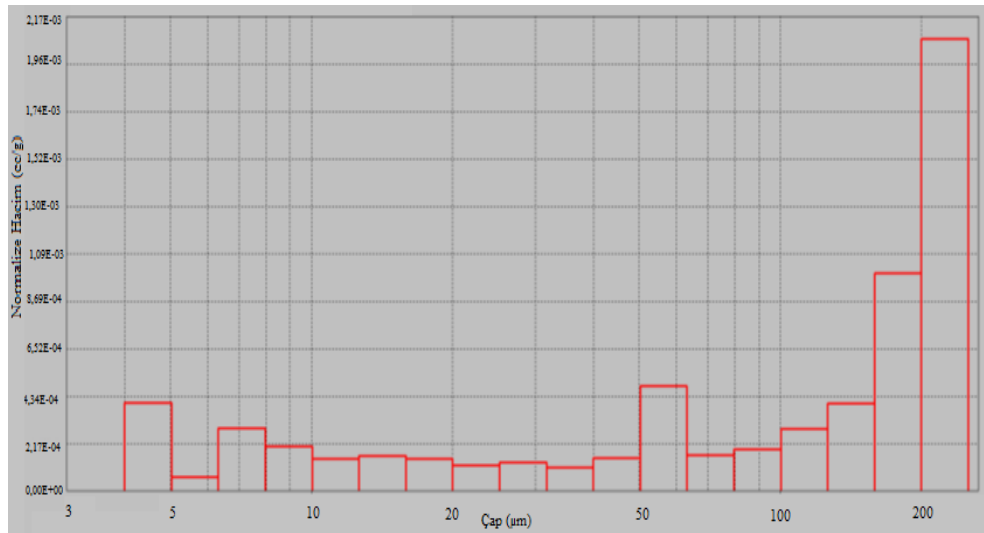
Formülasyon	Porozite (%)
F2	38,97
F5	69,71
F10	34,15
F13	45,62
F17	78,71



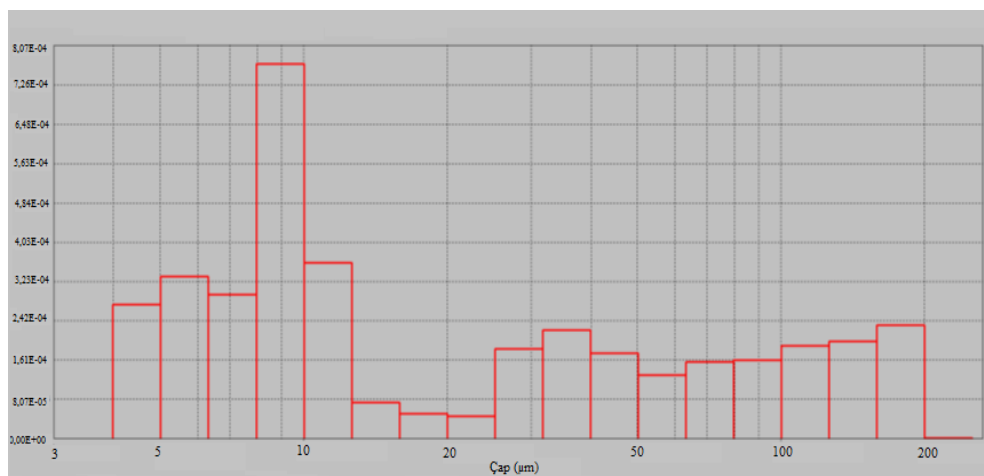
Şekil 4.23. Her gruptan seçilmiş olan ADT'lere ait porozite (%) değerleri.



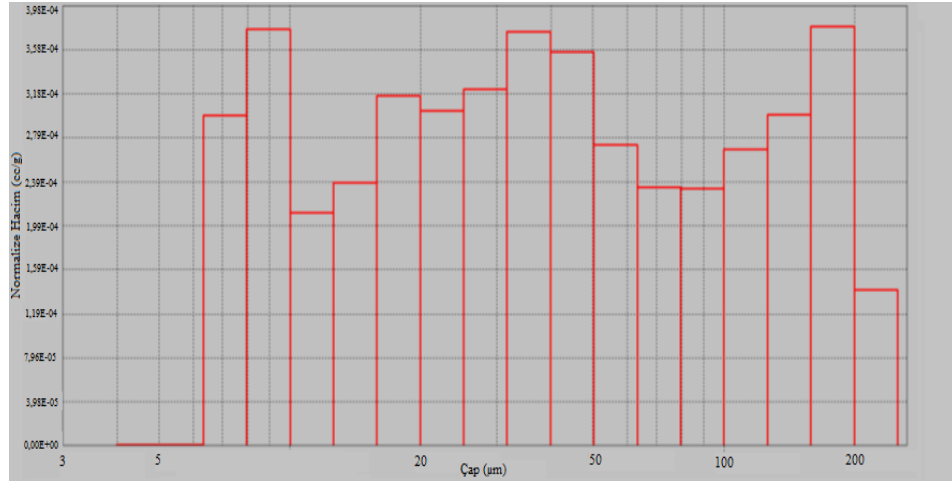
Şekil 4.24. F2'ye ait por büyüklüğü dağılımı histogramı.



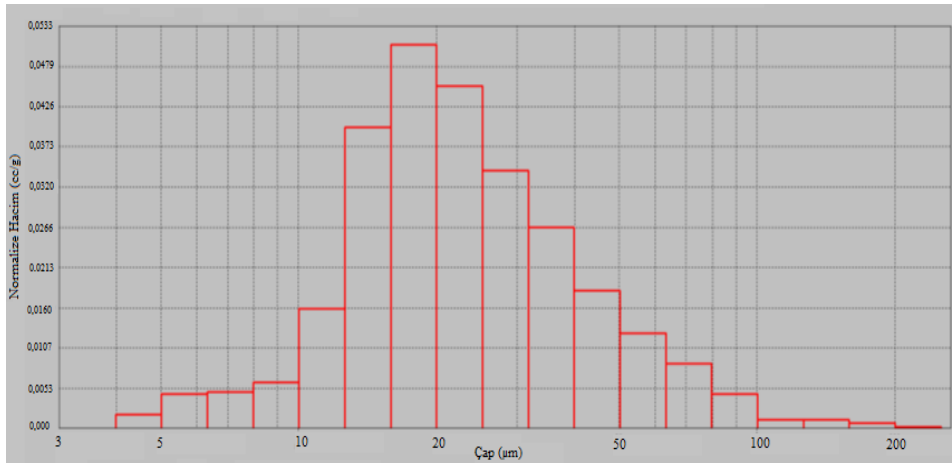
Şekil 4.25. F5'e ait por büyüklüğü dağılımı histogramı.



Şekil 4.26. F10'a ait por büyüklüğü dağılımı histogramı.



Şekil 4.27. F13'e ait por büyüklüğü dağılımı histogramı.



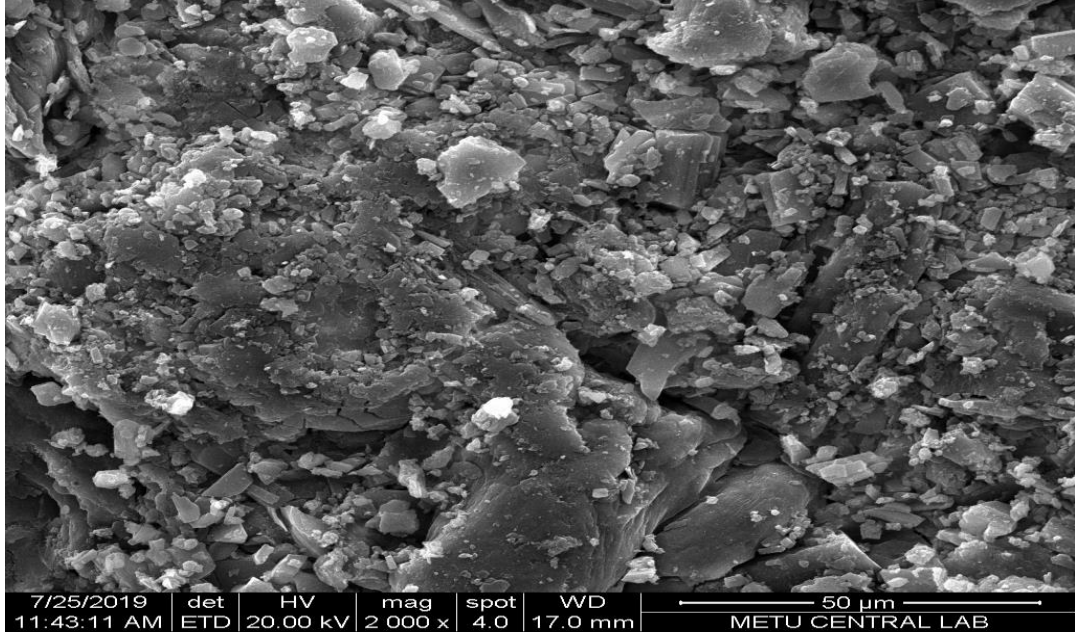
Şekil 4.28. F17'ye ait por büyüklüğü dağılımı histogramı.

Elde edilen histogramlara göre, direkt basım tekniği ile elde edilmiş formülasyonlar arasında F2 ve F10 formülasyonlarının porlarının daha homojen; F5 formülasyonunun kısmen daha az homojen ve F13 formülasyonunun homojen olmadığı görülmüştür. Dondurarak kurutma tekniği ile elde edilmiş olan F17 formülasyonun ise por çapı ve hacmi daha dar bir dağılım aralığında yoğunlaştığı için por dağılımının oldukça homojen olduğu görülmüştür.

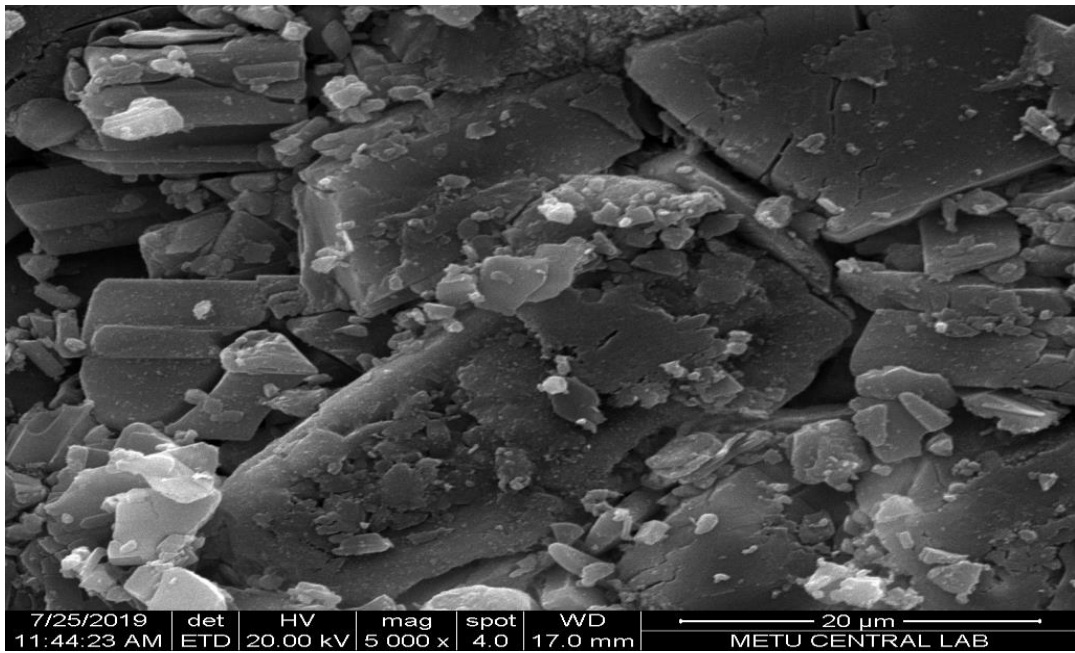
4.3.9. Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Analizi

Her bir gruptan seçilmiş olan ADT'lerin ait SEM analizi Bölüm 3.6.9'da belirtildiği şekilde gerçekleştirilerek, elde edilen mikrograflar (x2000 ve x5000 kat büyütme) elde edilen mikrograflar Şekil 4.29-4.33'te verilmiştir.

a) x 2000;

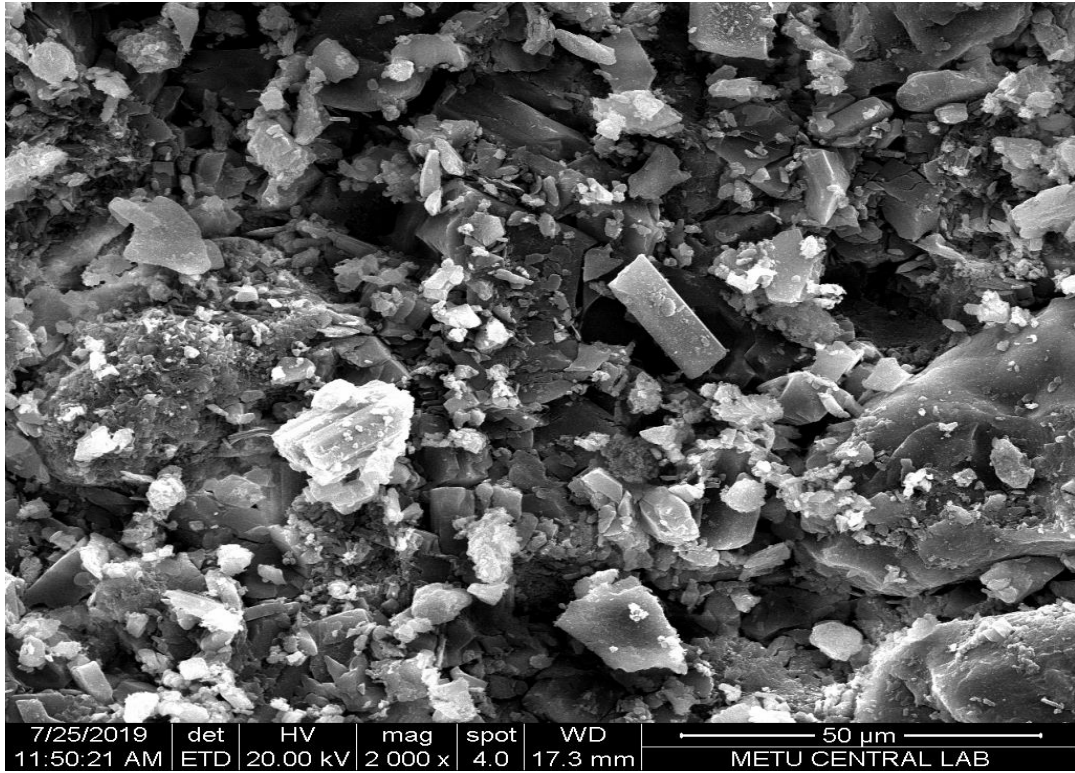


b) x 5000;

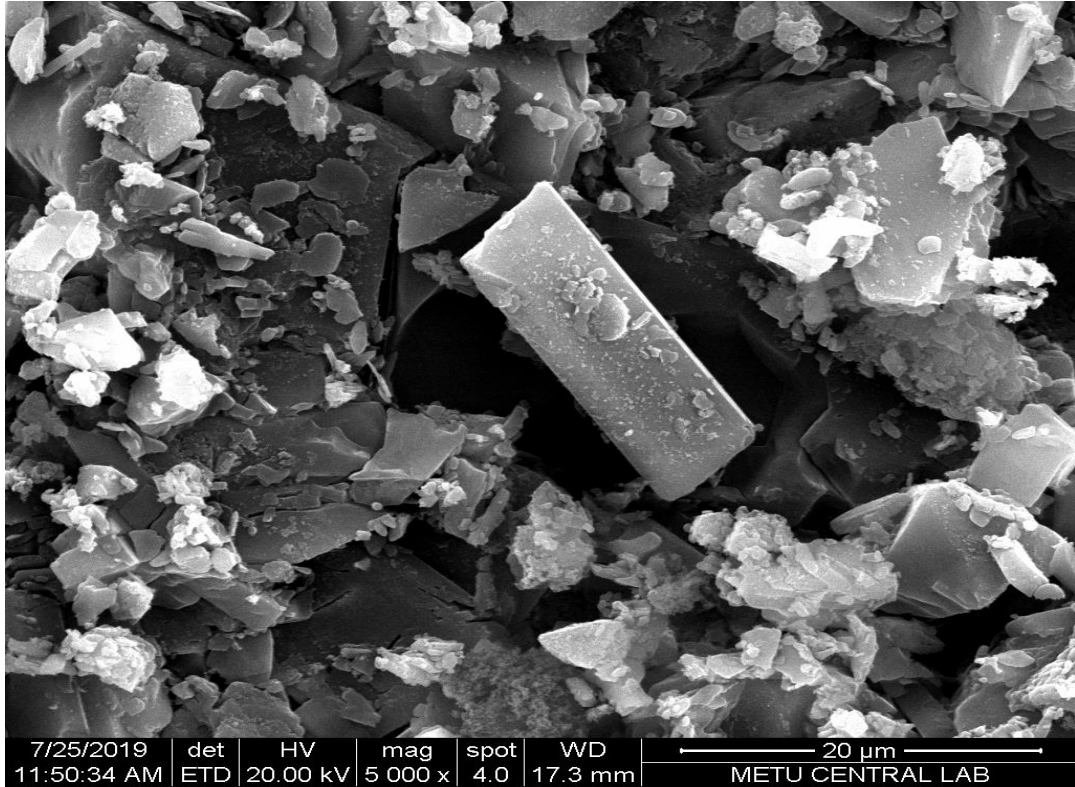


Şekil 4.29. F2'ye ait SEM mikrografları a) x 2000; b) x 5000.

a) x 2000;

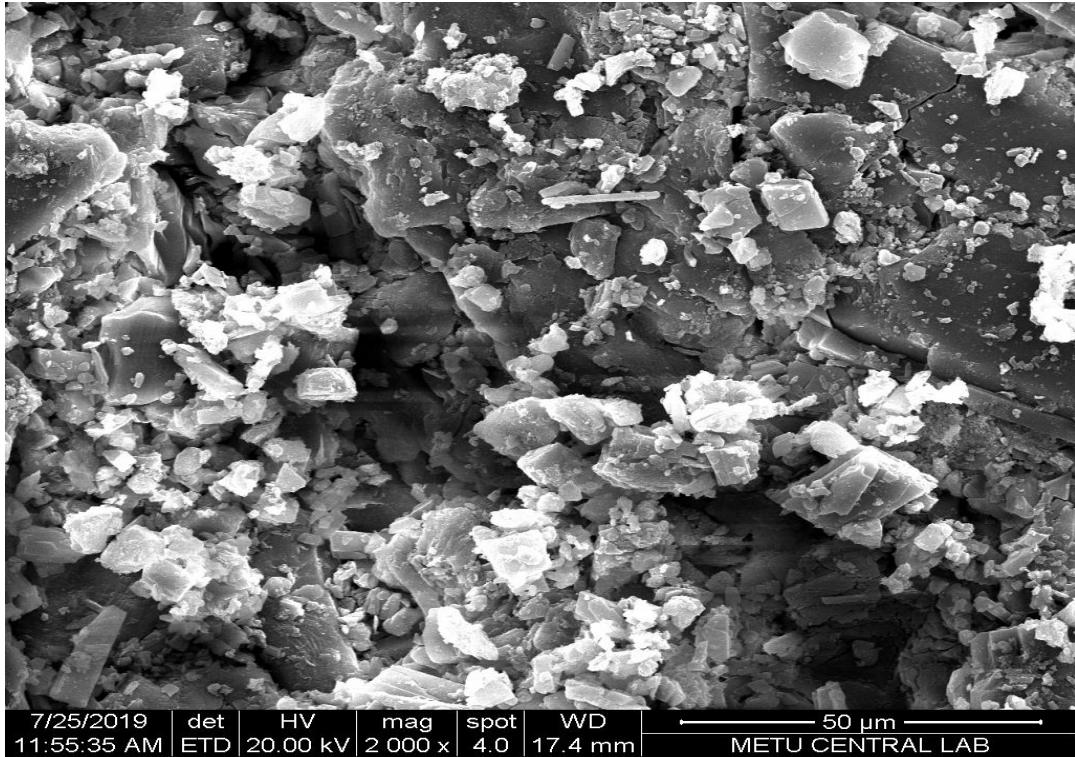


b) x 5000;

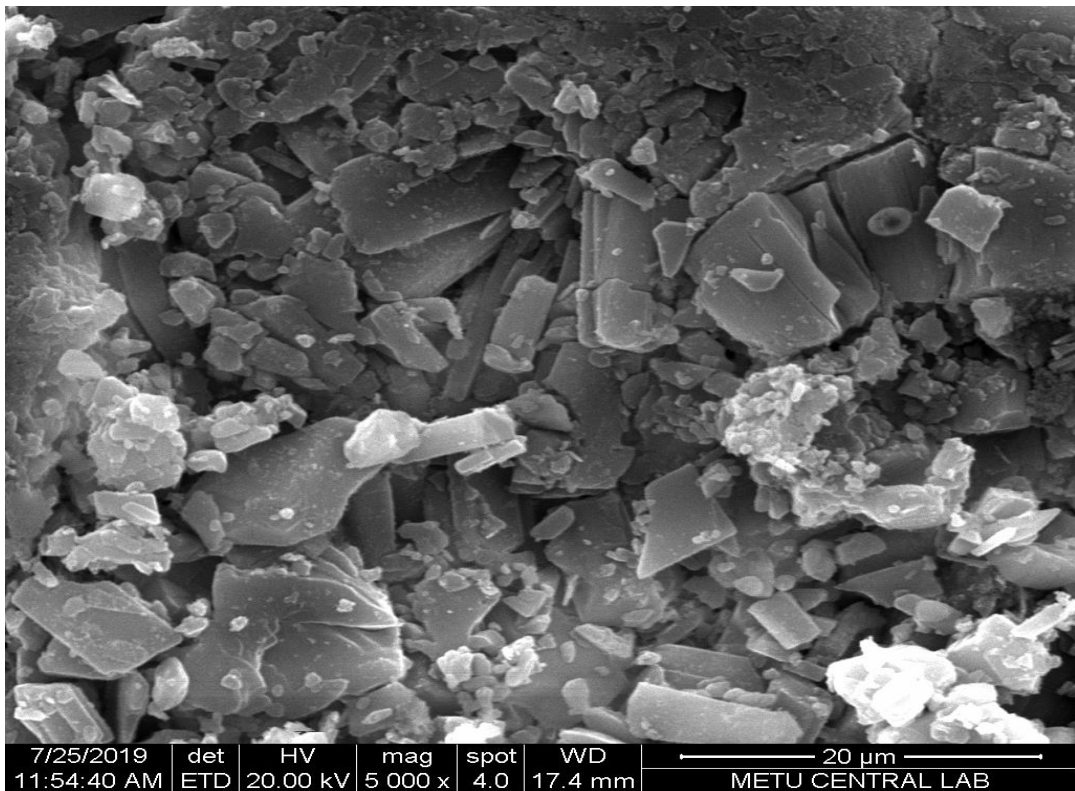


Şekil 4.30. F5'e ait SEM mikrografları a) x 2000; b) x 5000.

a) x 2000;

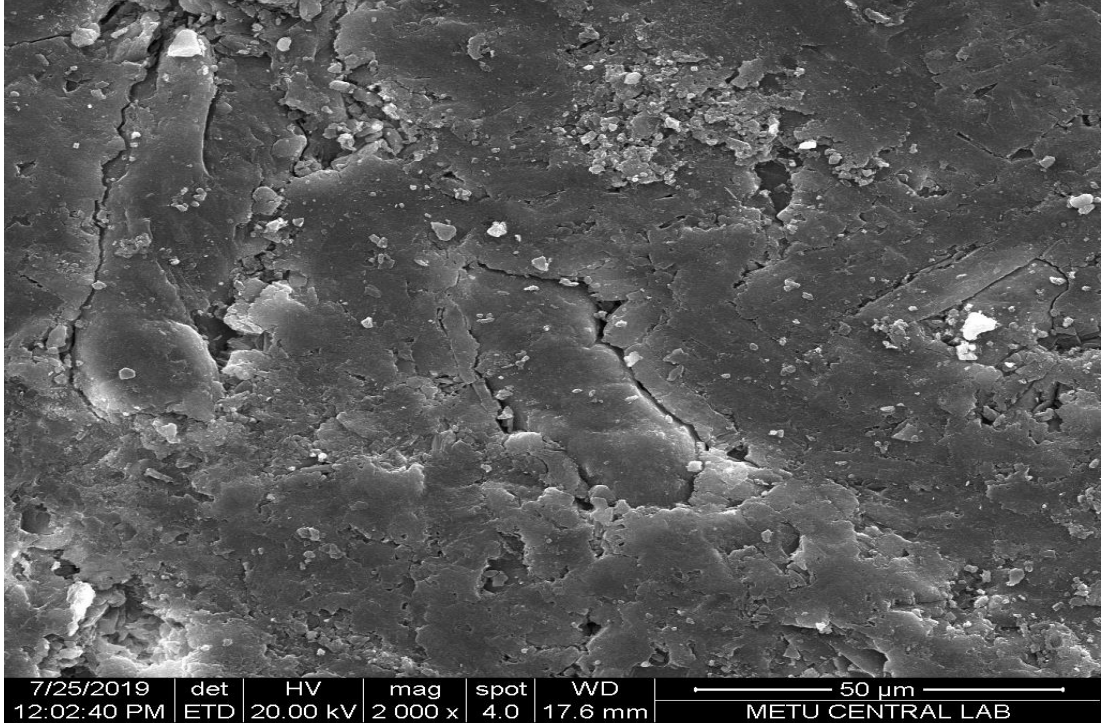


b) x 5000;

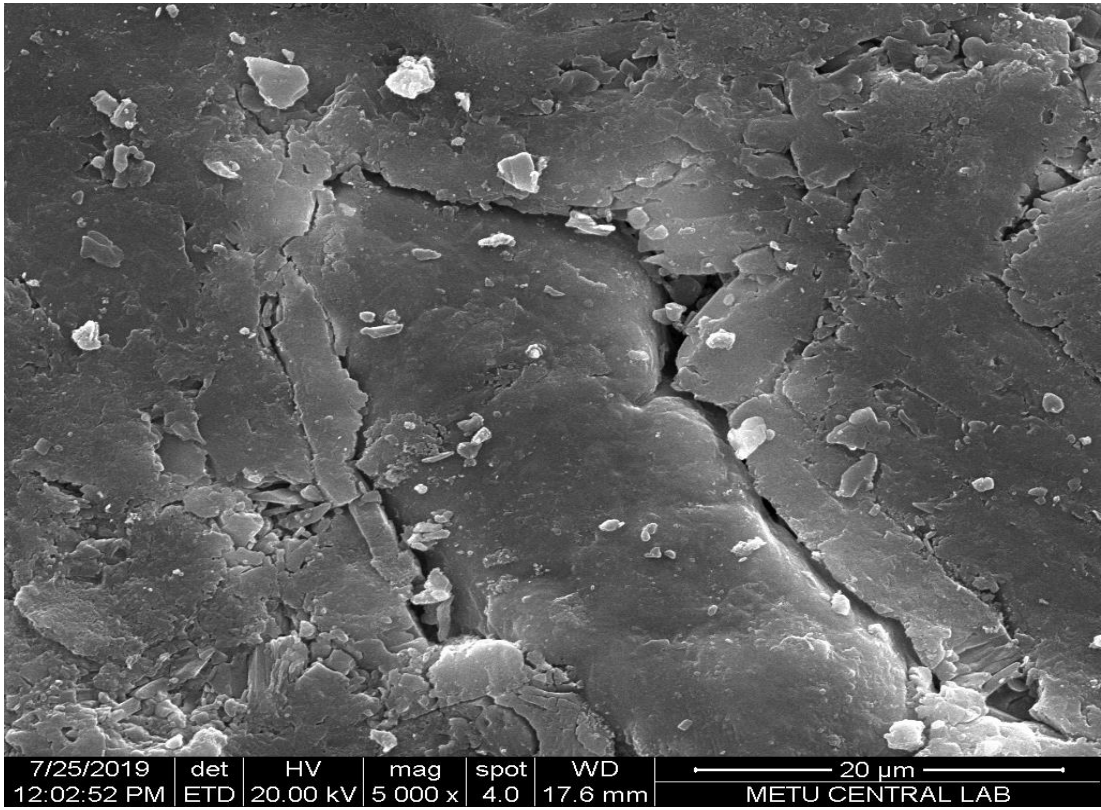


Şekil 4.31. F10'a ait SEM mikrografları a) x 2000; b) x 5000.

a) x 2000;

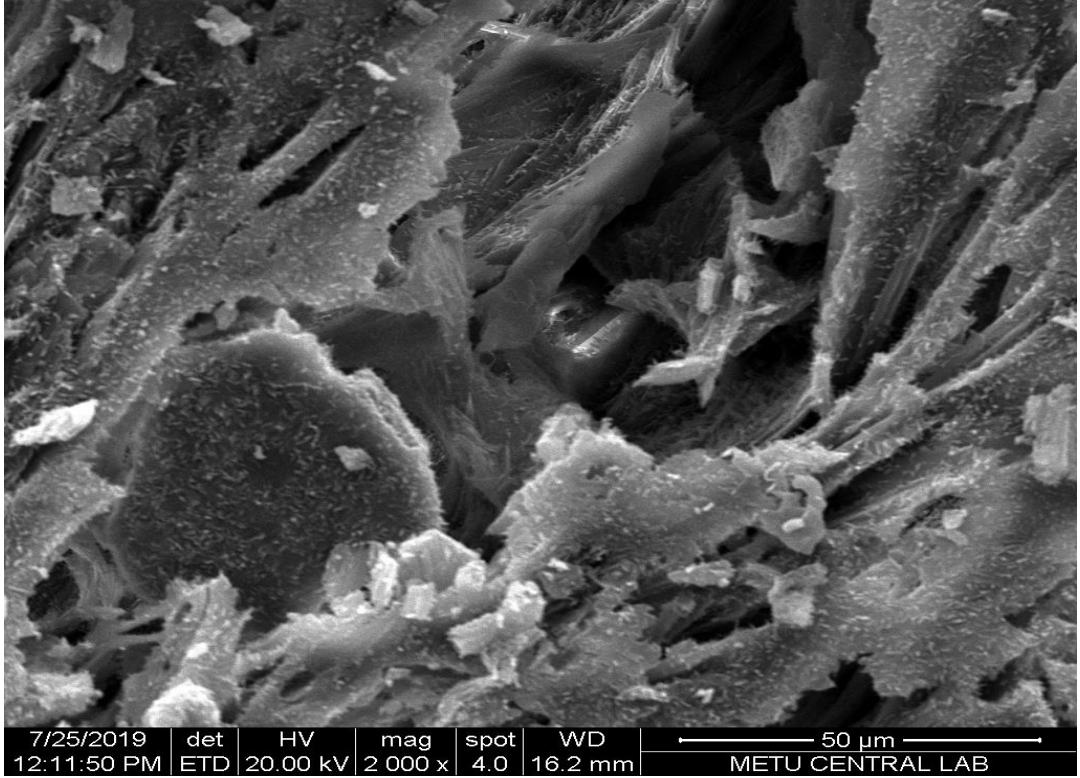


b) x 5000;

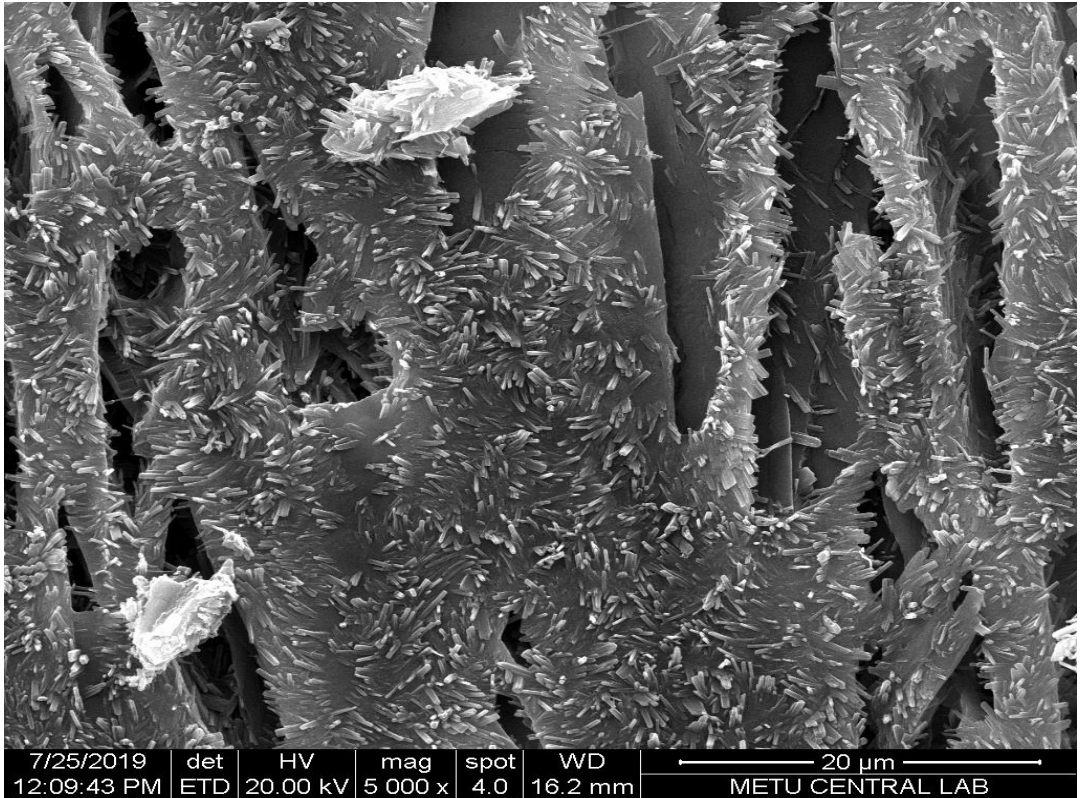


Şekil 4.32. F13'e ait SEM mikrografları a) x 2000; b) x 5000.

a) x 2000;



c) x 5000;

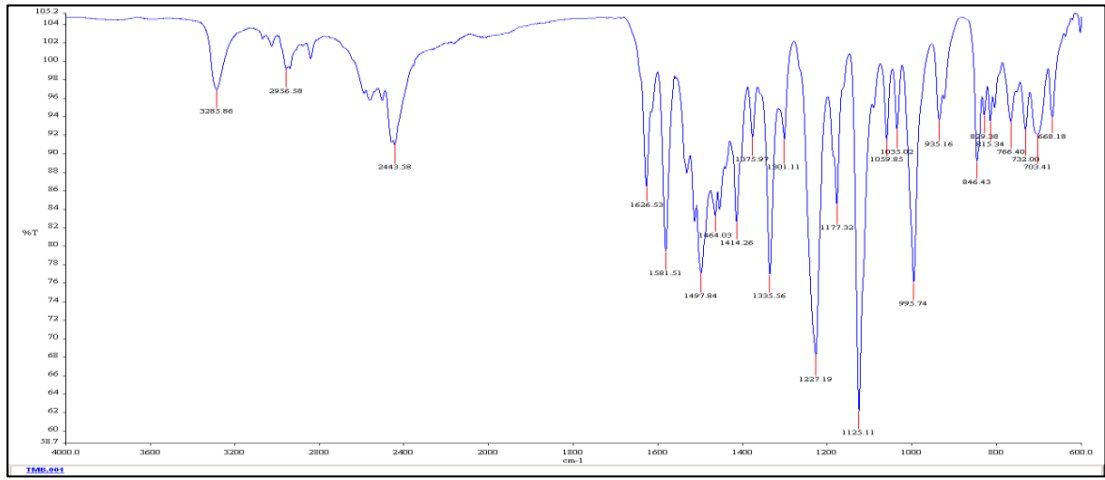


Şekil 4.33. F17'ye ait SEM mikrografları a) x 2000; b) x 5000.

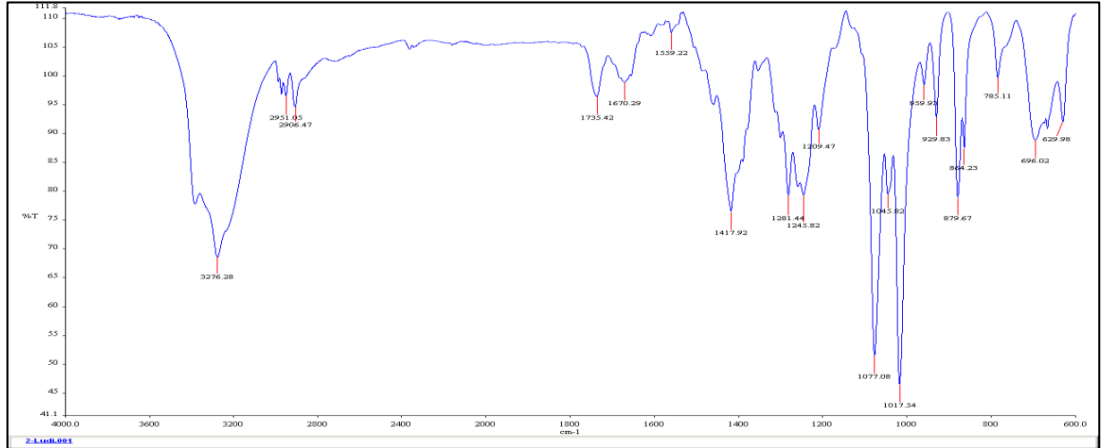
4.4. TMB ile Yardımcı Maddeler Arasındaki Etkileşimin İncelenmesi için Yapılan *In Vitro* Kontroller

4.4.1. FT-IR Spektrumu

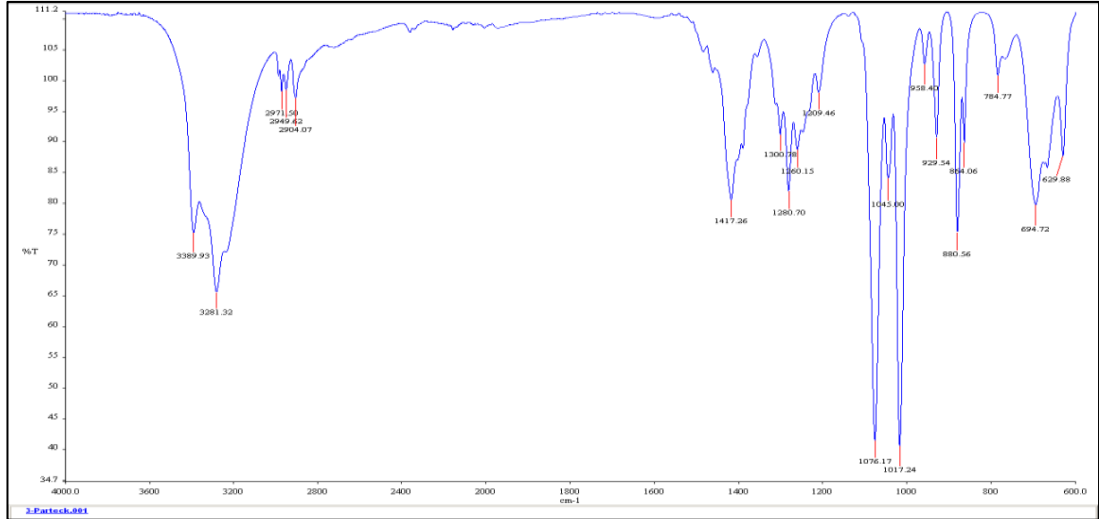
Formülasyonlarda kullanılan tüm yardımcı maddeler ile TMB'nin etkileşimini incelemek için hem yardımcı maddelerin hem de ADT formülasyonlarının FT-IR spektrumları Bölüm 3.7.1'de belirtildiği şekilde çekilerek elde edilen sonuçlar Şekil 4.34-4.56'da verilmiştir.



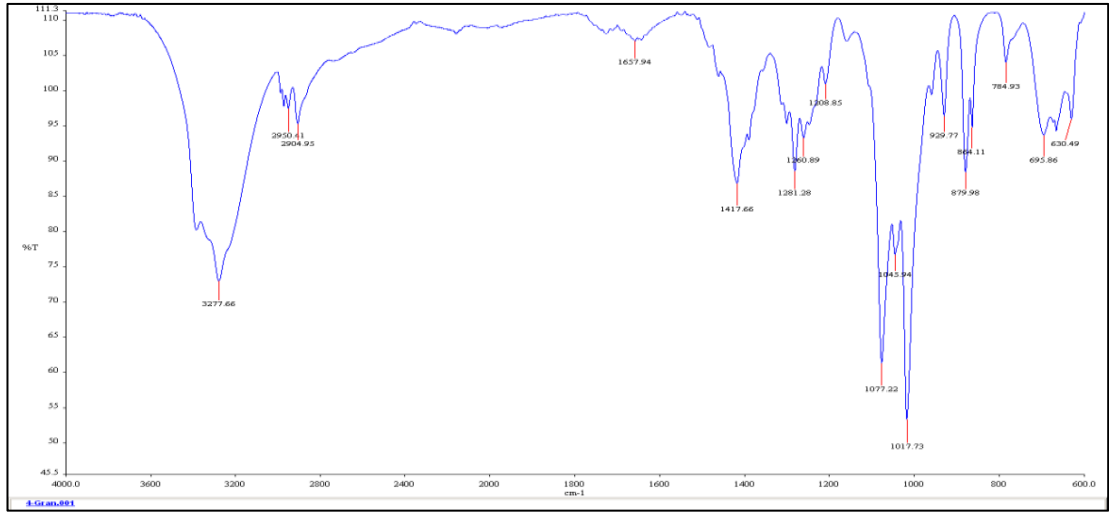
Şekil 4.34. TMB'ye ait FT-IR spektrumu.



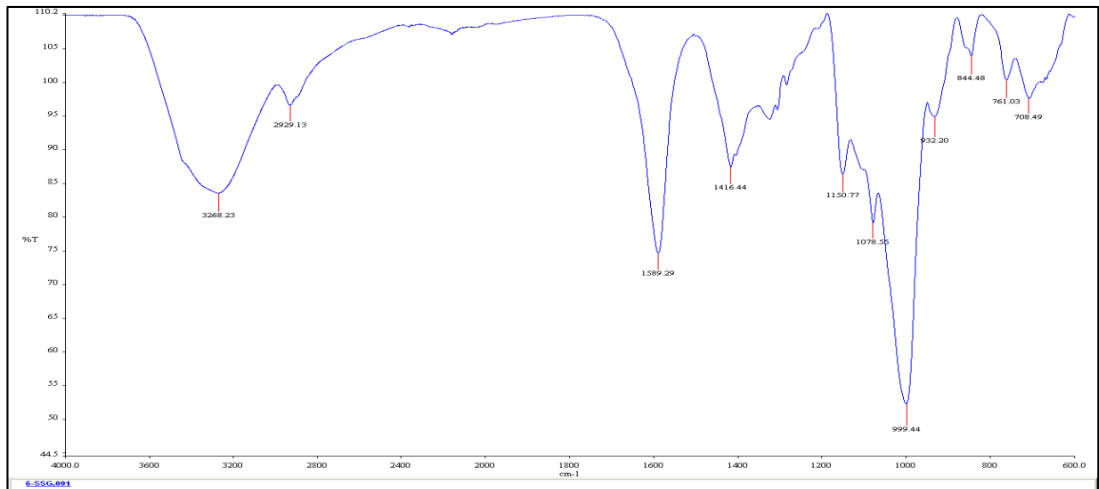
Şekil 4.35. Ludiflash®'a ait FT-IR spektrumu.



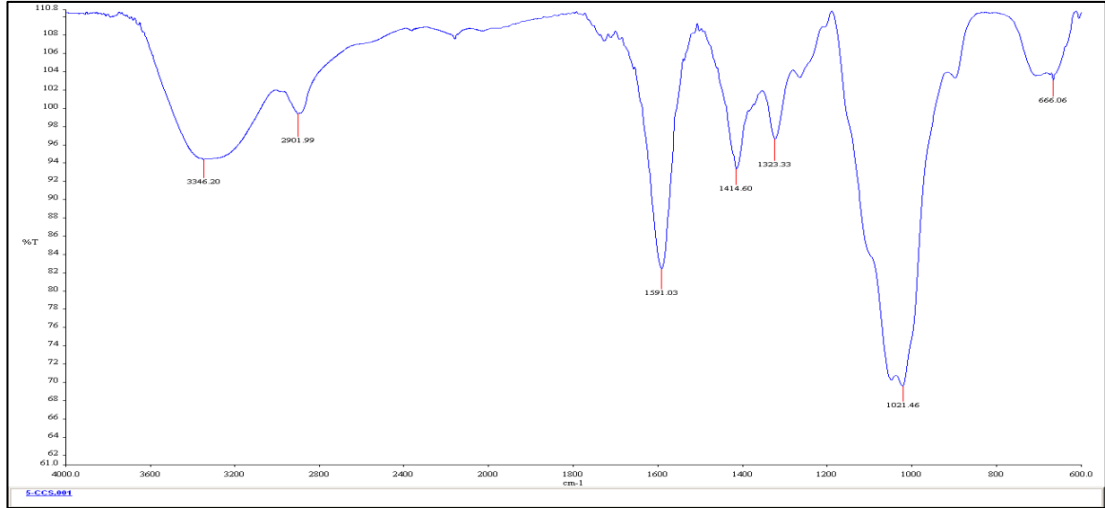
Şekil 4.36. Parteck®'e ait FT-IR spektrumu.



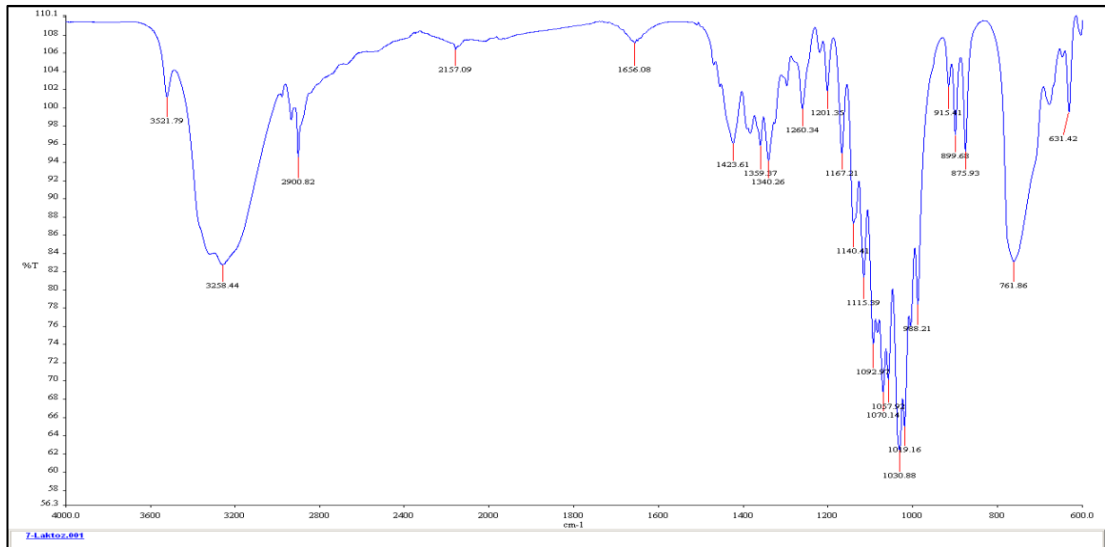
Şekil 4.37. Granfiller-D®'ye ait FT-IR spektrumu.



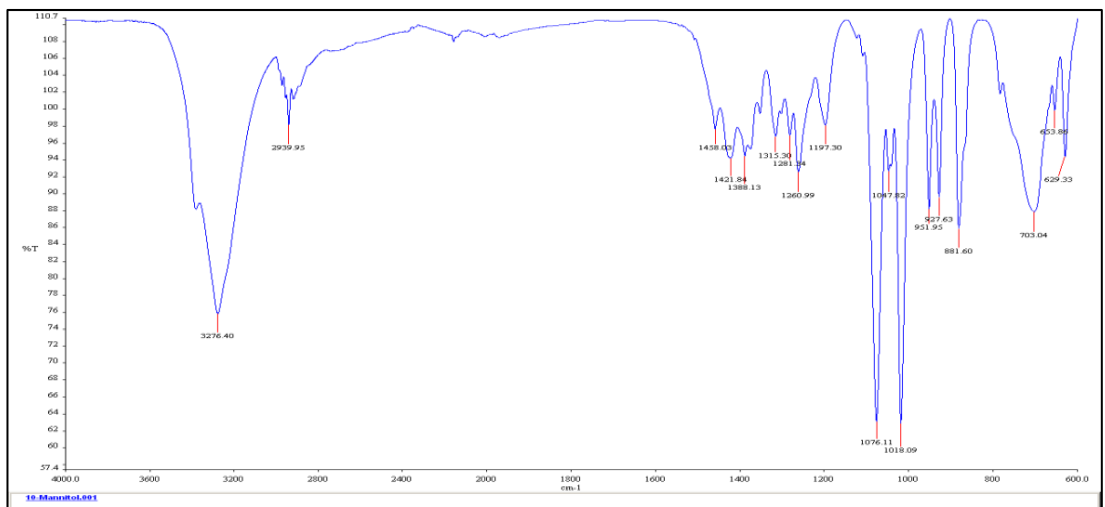
Şekil 4.38. Sodyum nişasta glikolata ait FT-IR spektrumu.



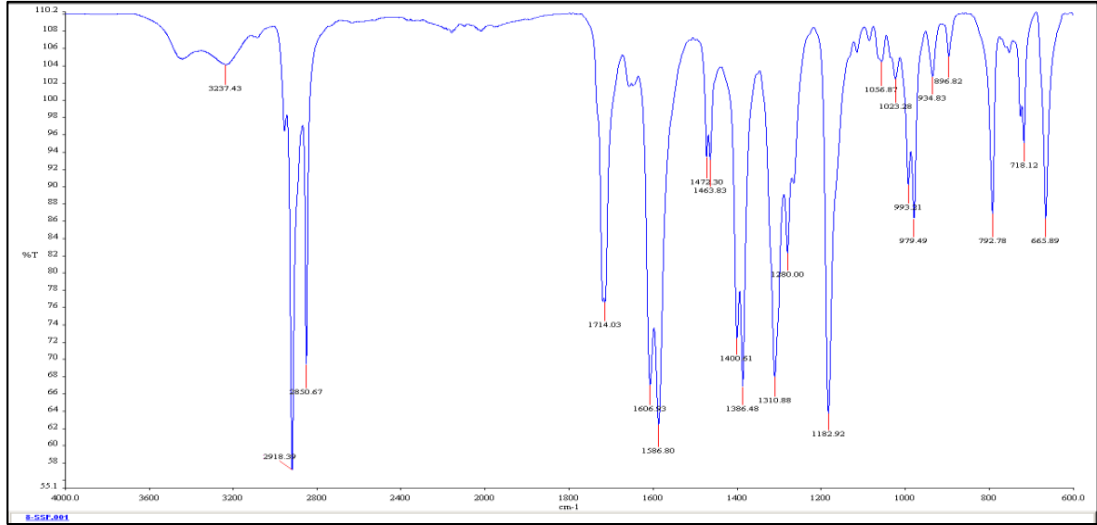
Şekil 4.39. Ac-Di-Sol® e ait FT-IR spektrumu.



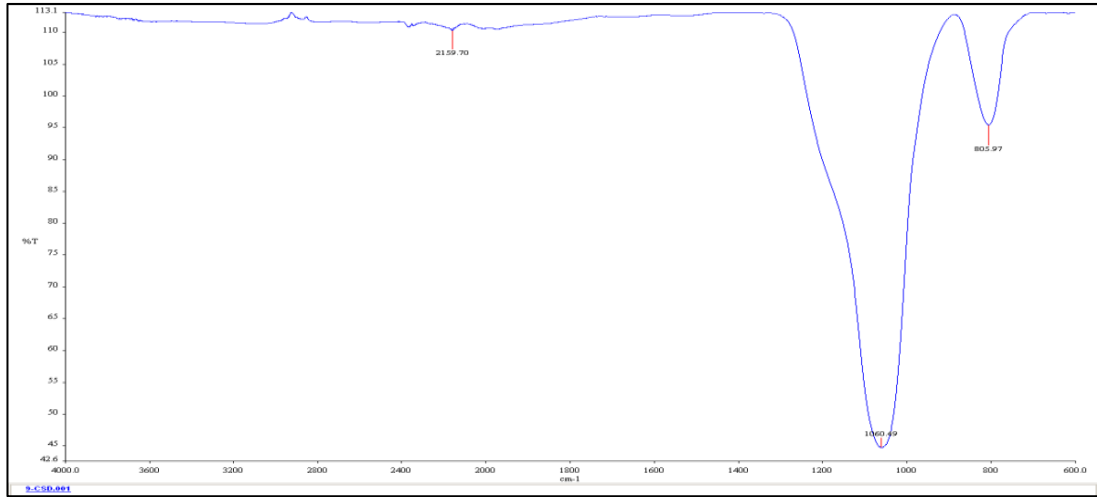
Şekil 4.40. Lactopress® e ait FT-IR spektrumu.



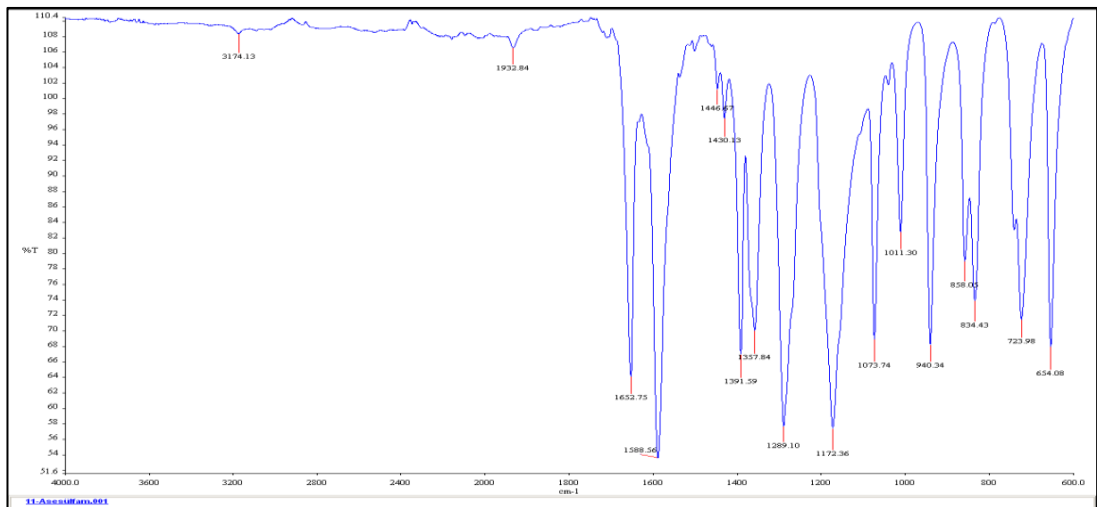
Şekil 4.41. Pearlitol 200 SD® ye ait FT-IR spektrumu.



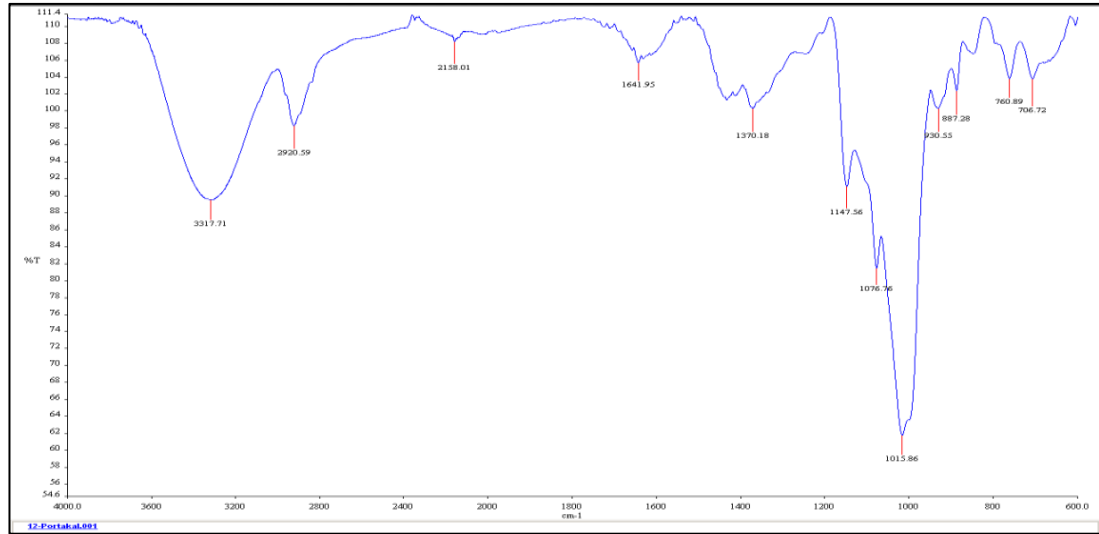
Şekil 4.42. Sodyum stearil fumarata ait FT-IR spektrumu.



Şekil 4.43. Aerosil®'e ait FT-IR spektrumu.



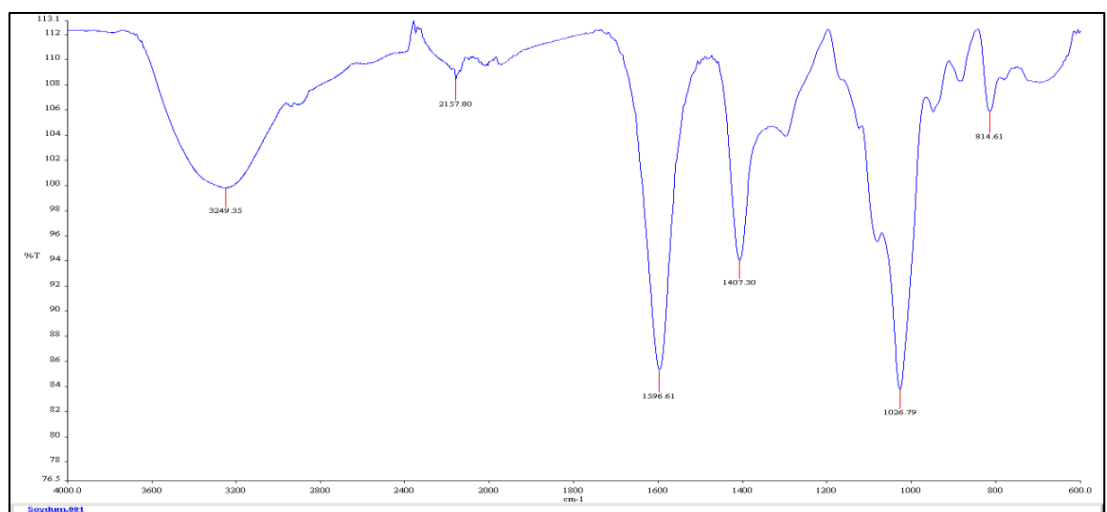
Şekil 4.44. Aseşülfam potasyuma ait FT-IR spektrumu.



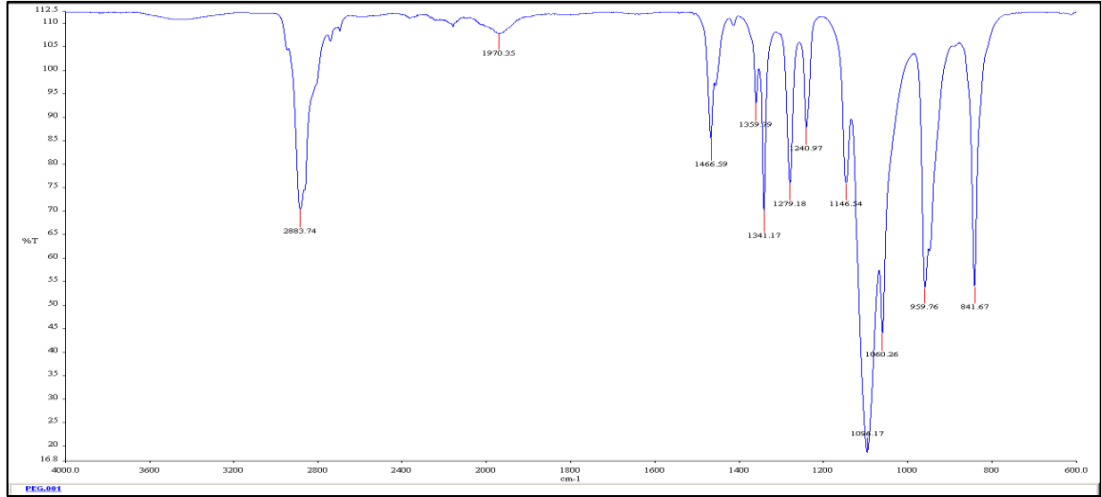
Şekil 4.45. Portakal aromasına ait FT-IR spektrumu.



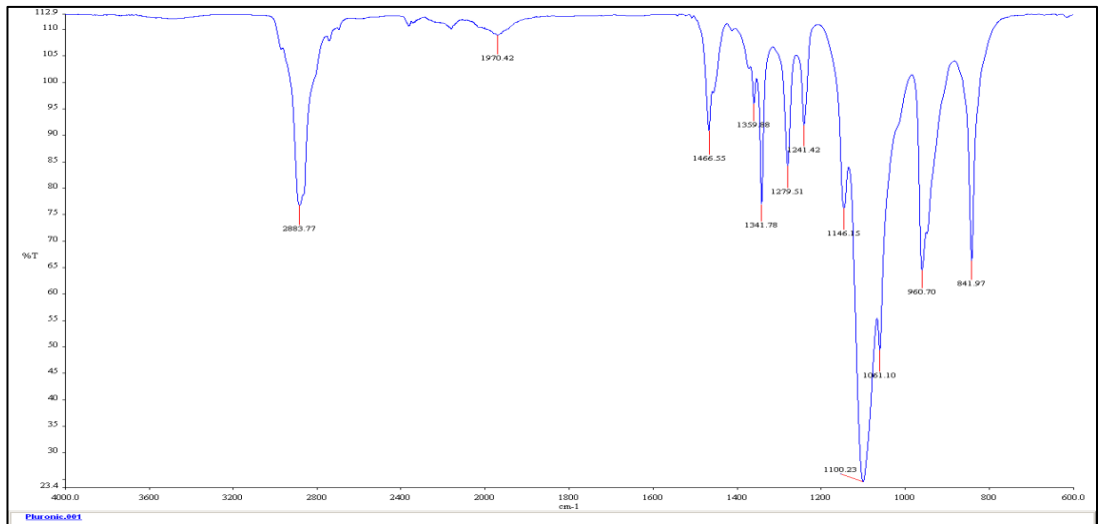
Şekil 4.46. Jelatine ait FT-IR spektrumu.



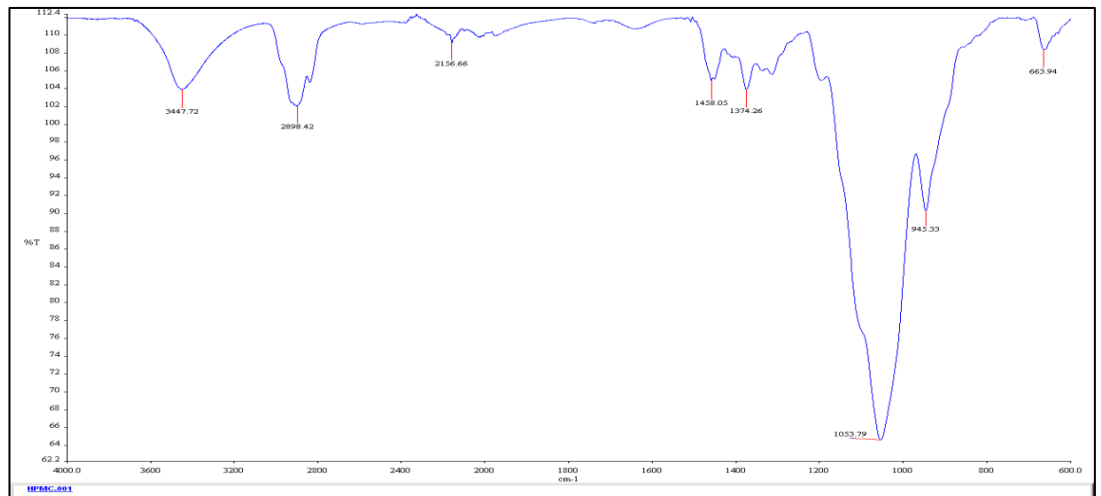
Şekil 4.47. Sodyum aljinata ait FT-IR spektrumu.



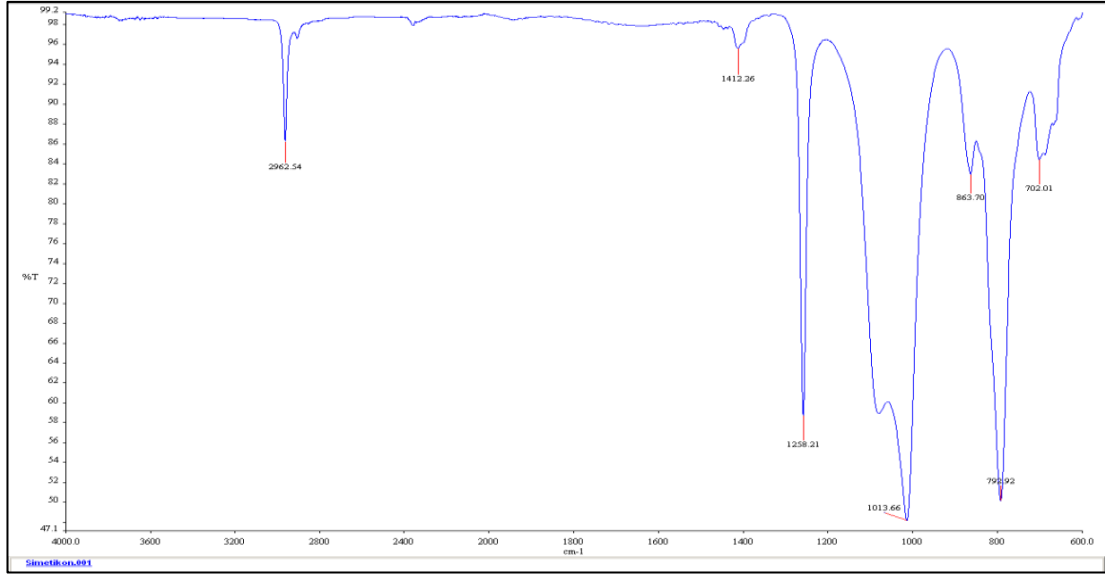
Şekil 4.48. PEG 4000'e ait FT-IR spektrumu.



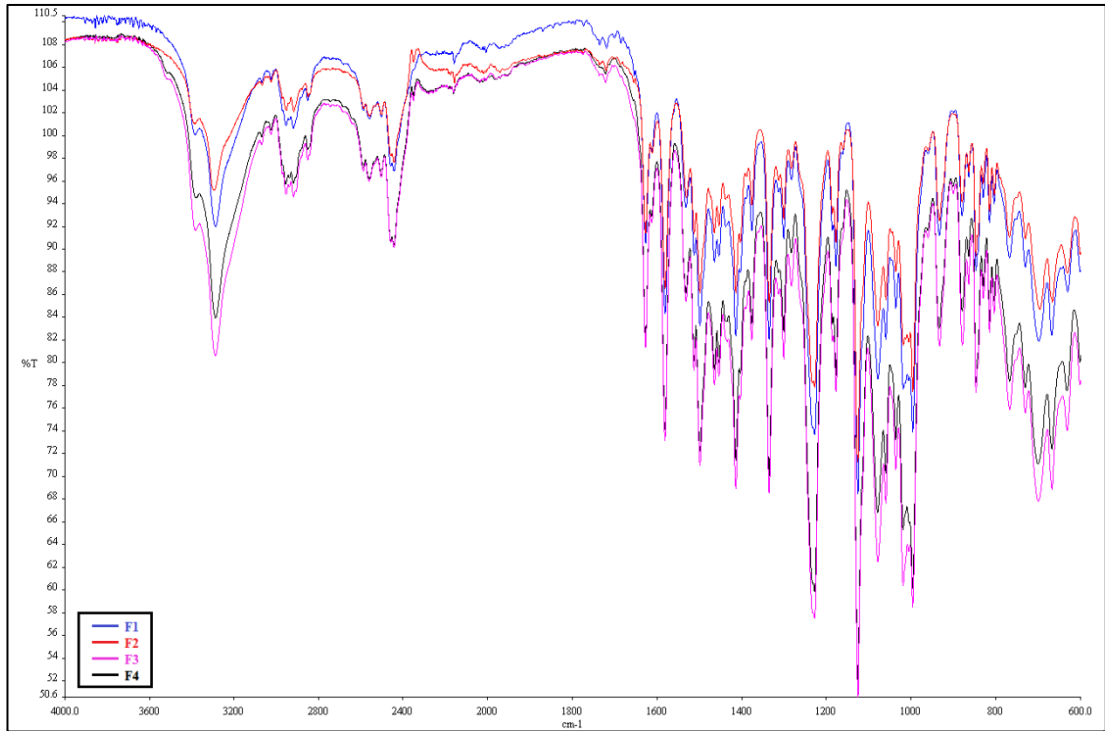
Şekil 4.49. Pluronic F68'e ait FT-IR spektrumu.



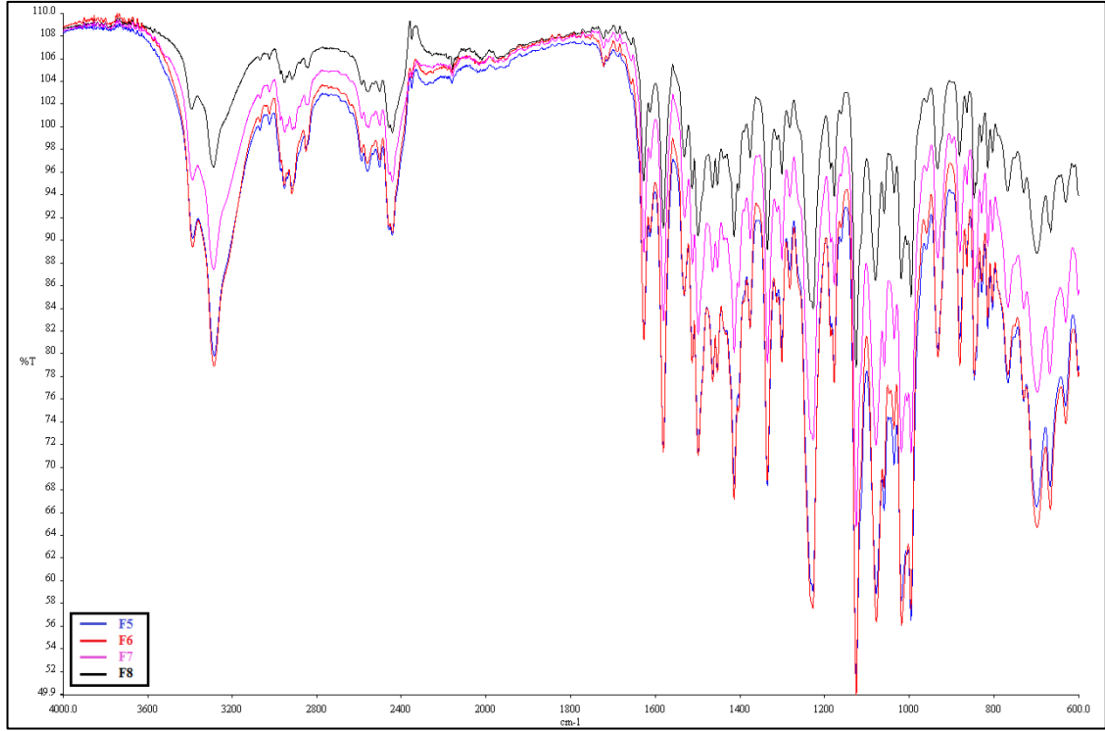
Şekil 4.50. HPMC'ye ait FT-IR spektrumu.



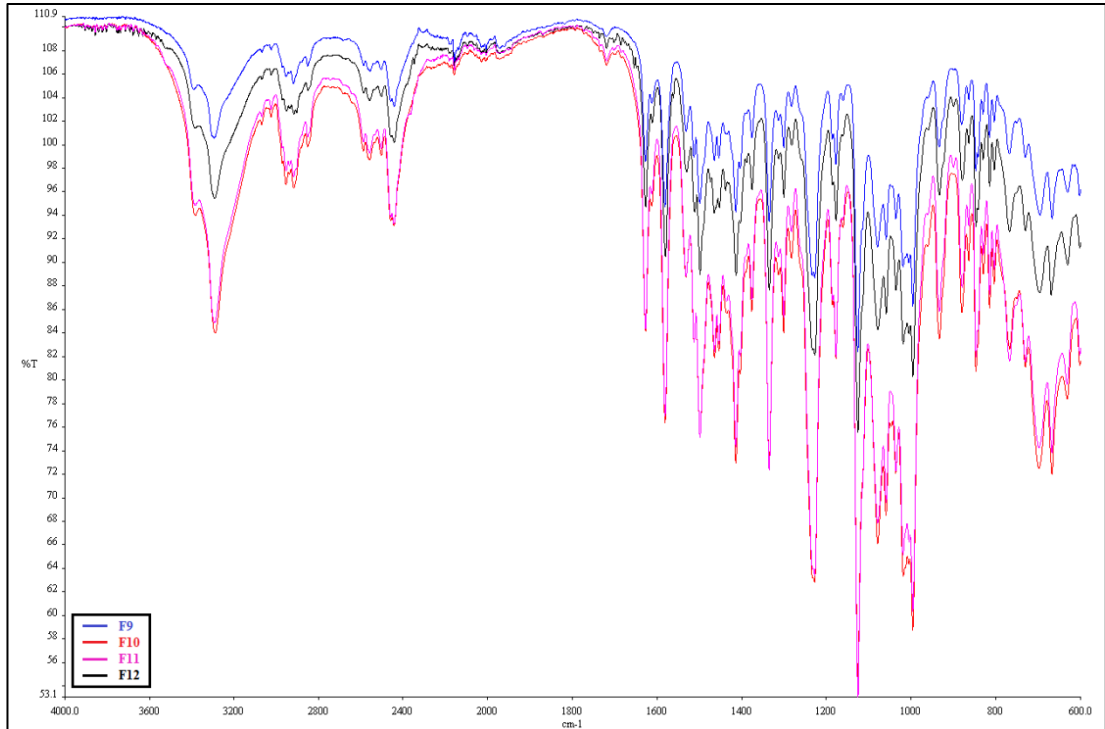
Şekil 4.51. Simetikona ait FT-IR spektrumu.



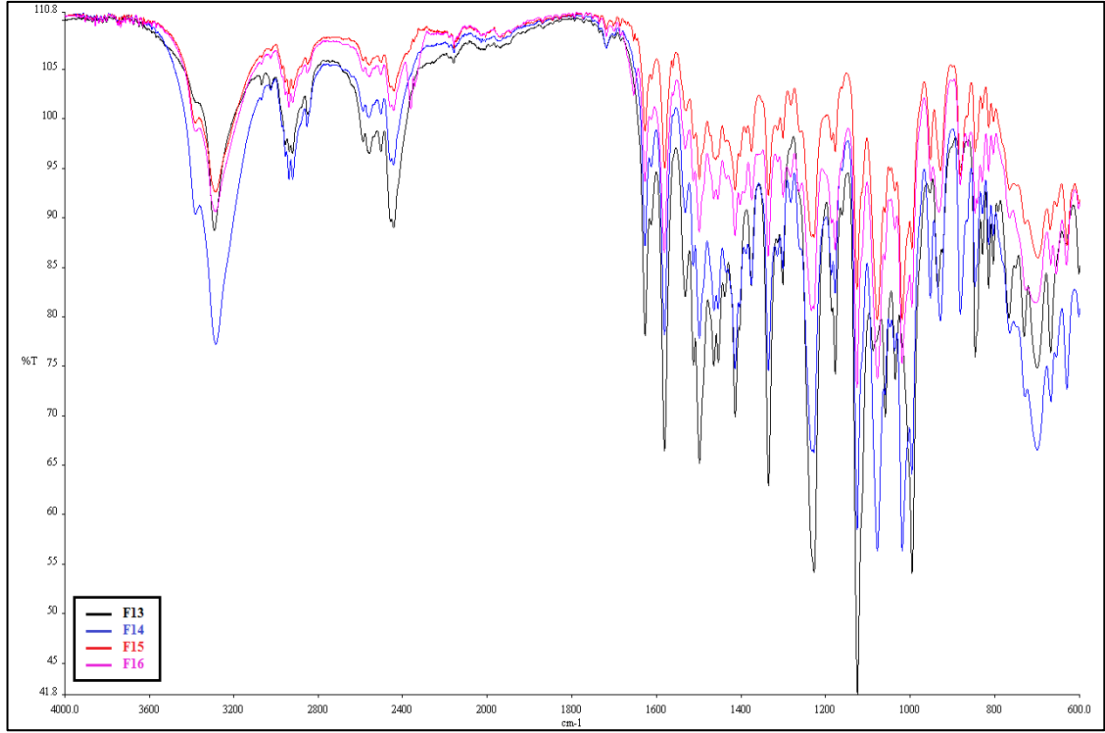
Şekil 4.52. Ludiflash® içeren ADT'lere (F1, F2, F3 ve F4) ait FT-IR spektrumları.



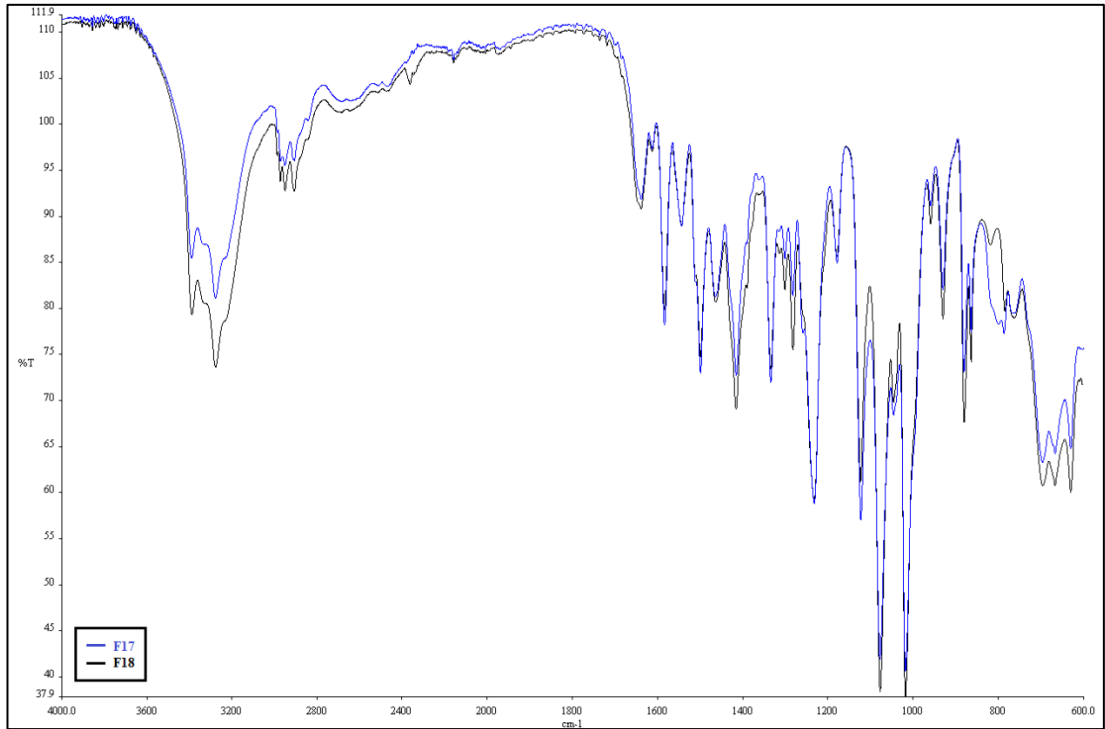
Şekil 4.53. Parateck[®] içeren ADT'lere (F5, F6, F7 ve F8) ait FT-IR spektrumları.



Şekil 4.54. Granfiller-D[®] içeren ADT'lere (F9, F10, F11 ve F12) ait FT-IR spektrumları.



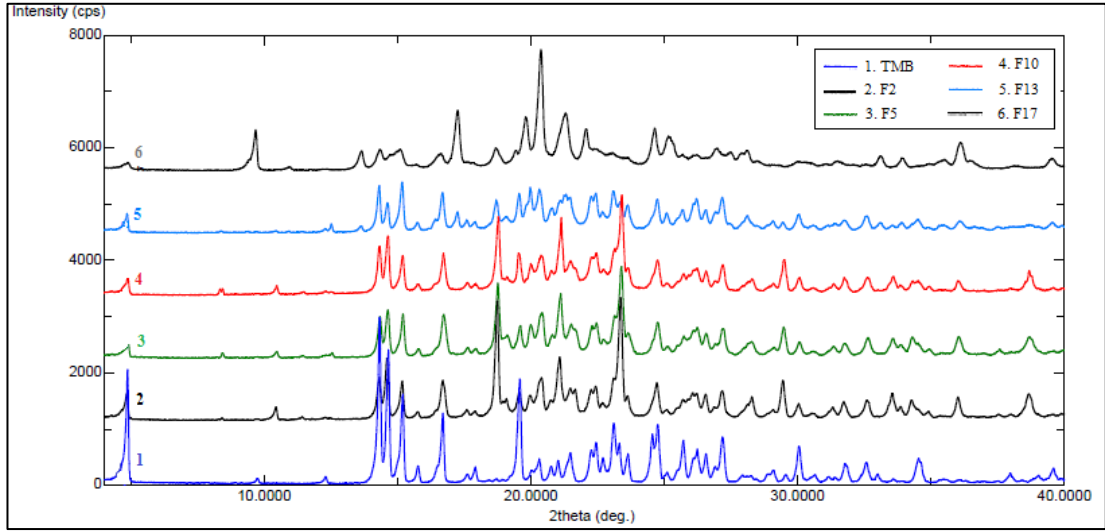
Şekil 4.55. Sodyum nişasta glikolat içeren ADT'lere (F13, F14, F15 ve F16) ait FT-IR spektrumları.



Şekil 4.56. Dondurarak kurutma tekniği ile elde edilmiş ADT'lere (F17 ve F18) ait FT-IR spektrumları.

4.4.2. X-ışını Kırınımı Analizi

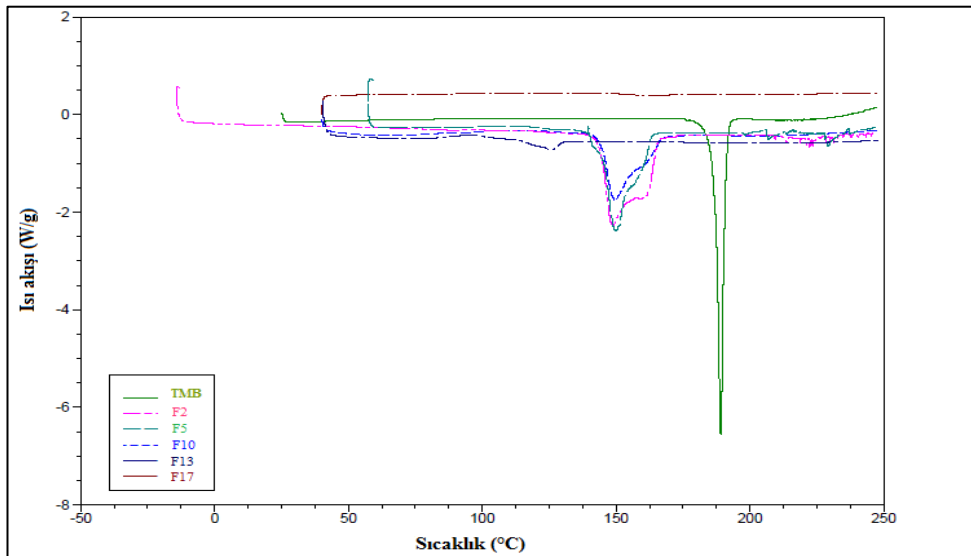
Her gruptan seçilmiş olan ADT formülasyonlara ait X-ışını kırınımı analizleri Bölüm 3.7.2’de açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiş olup elde edilen kristalogramlar Şekil 4.57’de verilmiştir.



Şekil 4.57. TMB ve her gruptan seçilmiş olan ADT’lere ait X-ışını kristalogramları.

4.4.3. Diferansiyel Kalorimetre (DSC) Analizi

Her gruptan seçilmiş olan ADT’lerin DSC analizleri Bölüm 3.7.3’te belirtildiği şekilde gerçekleştirilerek elde edilen termogramlar Şekil 4.58’de verilmiştir.



Şekil 4.58. Her gruptan seçilmiş olan ADT’lere ait DSC termogramları.

4.5. Hücre Kültürü Çalışmaları

4.5.1. Caco-2 Tek Tabaka Hücre Bütünlüğünün Değerlendirilmesi

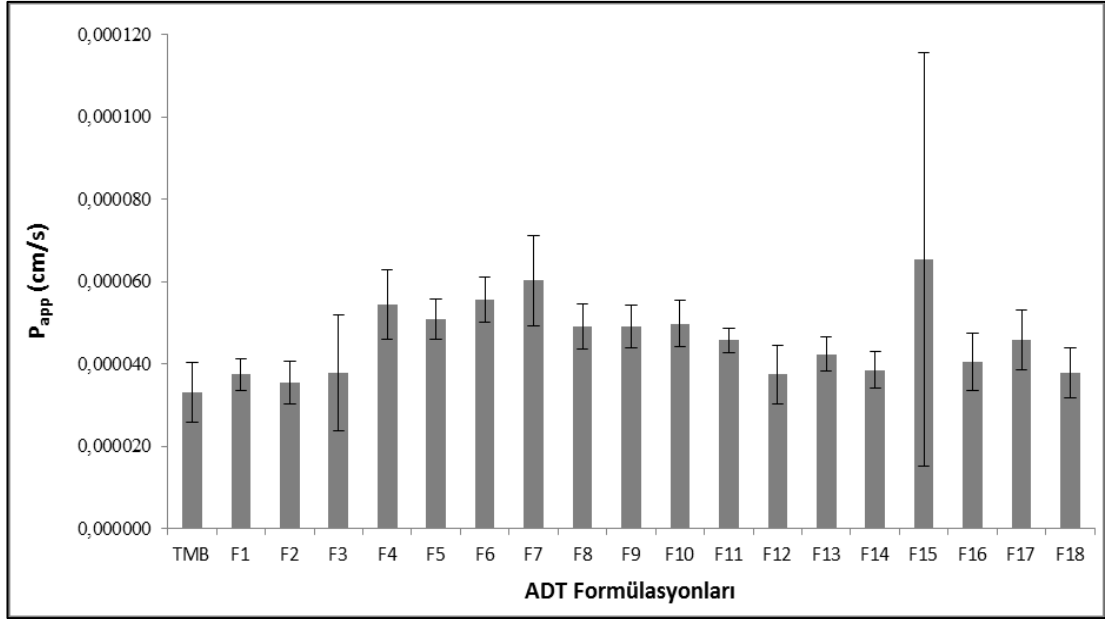
Caco-2 hücre hattının bütünlüğü Bölüm 3.8.4'te belirtildiği gibi TEER değerleri ölçülerek değerlendirilerek TEER değerleri 400 ohm.cm² üzerinde olan hücreler permeabilite deneylerinde kullanılmıştır.

4.5.2. Permeabilite Çalışmaları

Geliştirilmiş olan tüm ADT'lerin Caco-2 hücrelerinden permeabilite çalışmaları Bölüm 3.8.5'te belirtildiği gibi gerçekleştirilerek elde edilen sonuçlar Tablo 4.12 ve Şekil 4.59'da verilmiştir.

Tablo 4.12. TMB ve geliştirilen tüm ADT'lere ait Caco-2 hücrelerden permeabilite çalışmaları sonucunda elde edilen görünür permeabilite katsayıları (P_{app} , (cm/s)) ($\bar{X} \pm SS$, n=4).

Formülasyon	P_{app} , (cm/s)
TMB	3,3 (\pm 0,07) x 10 ⁻⁶
F1	3,7 (\pm 0,04) x 10 ⁻⁶
F2	3,5 (\pm 0,05) x 10 ⁻⁶
F3	3,8 (\pm 0,14) x 10 ⁻⁶
F4	5,4 (\pm 0,08) x 10 ⁻⁶
F5	5,1 (\pm 0,05) x 10 ⁻⁶
F6	5,6 (\pm 0,05) x 10 ⁻⁶
F7	6,0 (\pm 0,11) x 10 ⁻⁶
F8	4,9 (\pm 0,06) x 10 ⁻⁶
F9	4,9 (\pm 0,05) x 10 ⁻⁶
F10	5,0 (\pm 0,06) x 10 ⁻⁶
F11	4,6 (\pm 0,03) x 10 ⁻⁶
F12	3,7 (\pm 0,07) x 10 ⁻⁶
F13	4,2 (\pm 0,04) x 10 ⁻⁶
F14	3,9 (\pm 0,04) x 10 ⁻⁶
F15	6,5 (\pm 0,50) x 10 ⁻⁶
F16	4,0 (\pm 0,07) x 10 ⁻⁶
F17	4,6 (\pm 0,07) x 10 ⁻⁶
F18	3,8 (\pm 0,06) x 10 ⁻⁶



Şekil 4.59. TMB ve geliştirilen tüm ADT'lere ait Caco-2 hücrelerden permeabilite çalışmaları sonucunda elde edilen görünür permeabilite katsayıları (P_{app} , (cm/s)) ($\bar{X} \pm SS$, n=4).

TMB ve geliştirilen tüm ADT formülasyonlarında yapılan permeabilite çalışmaları formülasyonlarda bulunan TMB'nin Caco-2 hücrelerinden permeabilitesinin etkin maddenin permeabilitesinden daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Ancak ADT formülasyonlarının permeabilite katsayıları arasındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

5. TARTIŞMA

5.1. TMB'nin Analitik Yöntem Validasyonunun Değerlendirilmesi

Bu tez kapsamında gerçekleştirilen TMB'nin çözünme ve hücre kültürü permeabilite çalışmalarından elde edilen numuneler distile su (çözünme çalışmaları) veya sentetik bir çözücü (HBSS; hücre kültürü permeabilite çalışmaları) içerisinde olduğu için, TMB'nin bu çalışmalardan elde edilen numulardan tayininde kullanılan yöntemler analitik yöntem kabul kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Geliştirilen analitik yöntemler Uluslararası Harmonizasyon Komitesi (*International Conference on Harmonisation, ICH*) tarafından düzenlenmiş, Avrupa İlaç Ajansı (*European Medicines Agency, EMA*) tarafından yayımlanmış olan ICH Q2(R1) CPMP/ICH/381/95 kılavuzuna göre valide edilmiştir.

Etkin maddenin miktar tayini amacıyla USP TMB Kapsül ve TMB Enjeksiyon monograflarında yer alan UV spektroskopisi yöntemi kullanılmıştır (66, 67). Tez kapsamında gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen numunelerin analizinde Yöntem 1 ve Yöntem 2 olmak üzere iki ayrı yöntem kullanılmıştır. Bunlardan Yöntem 1, ağızda dağılan tablet formülasyonlarının distile su ortamında gerçekleştirilen çözünme çalışmalarına ait numunelerdeki TMB'nin miktar tayini için, Yöntem 2 ise hücre kültürü permeabilite çalışmalarından elde edilen numunelerdeki TMB'nin miktar tayini için kullanılmıştır. Her iki yönteme ait validasyon bulguları aşağıda kısaca tartışılmıştır.

Her iki yöntem için kalibrasyon doğrusu kapsamında kullanılan konsantrasyonlar (10-50 µg/mL) ile elde edilen absorbans değerleri arasındaki determinasyon katsayısının 1'e yakın olması (Yöntem 1: $R^2=0,9996$; $p<0,05$; y -intersept=-0,0217; eğim=0,0293; Yöntem 2: $R^2=0,9995$; $p<0,05$; y -intersept=-0,0206; eğim=0,0248), eğimin sıfırdan farklı olması ($p<0,05$) ve ölçülen absorbans değerlerinin kalibrasyon doğru denkleminde ait %95 güven aralığı içerisinde yer alması analitik yöntemlerin doğrusallığının kanıtı olarak alınmıştır (Yöntem 1: Bkz. Şekil 4.6; Yöntem 2: Bkz. Şekil 4.8).

Analitik yöntemlerin doğruluğunu göstermek için gün içi ve günler arası doğruluk çalışmaları yapılmış, elde edilen sonuçların % bağıl hata ve geri

kazanımları hesaplanmıştır. Gün içi ve günler arası analizlerde geri kazanım değerlerinin yüksek olması (Yöntem 1 için sırasıyla %100,84 - 101,42 ve %100,65 - 100,94; Yöntem 2 için %100,51 - 101,12 ve %100,94 - 101,23), ve % bağıl hata değerlerinin gün içi ve günler arası analizlerde % 2'den düşük olması her iki yöntemin de doğruluğunun göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Yöntemin kesinliğini göstermek için gün içi ve günler arası doğruluk çalışmaları yapılarak % bağıl standart sapması hesaplanmıştır. Her iki yöntem için gün içi ve günler arası analizlerde tayin edilen %Bağıl standart sapma değerlerinin %2'den düşük bulunması yöntemlerin kesinliğini göstermiştir.

Yöntem 1'in TMB'ye özgüllüğünü göstermek amacıyla, formülasyonlarda kullanılan her bir yardımcı maddenin distile sudaki çözeltisi hazırlanarak, Yöntem 2'de ise HBSS'deki çözeltisi hazırlanarak TMB maksimum absorbands verdiği dalga boyunda (259 nm) absorbands vererek girişim yapıp yapmadıkları değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular yardımcı maddelerin TBM ile aynı yerde absorbands vermediğini göstermiş, böylece her iki yöntemin TMB'ye özgüllüğü gösterilmiştir.

Yöntem 1 ve Yöntem 2'nin validasyonu kapsamında ölçülen en düşük konsantrasyonların (Yöntem 1: 9,993 µg/mL; Yöntem 2: 7,229 µg/mL), LOD (Yöntem 1: 0,769 µg/mL, Yöntem 2: 1,466 µg/mL) ve LOQ Yöntem 1: 2,333 µg/mL, Yöntem 2: 4,444 µg/mL) değerlerinden çok daha yüksek olması her iki yöntemde validasyon çalışması kapsamında kullanılan çözeltilerdeki TMB konsantrasyonunun teşhis ve tayininde güvenle kullanılabileceğini göstermiştir.

Numune analizlerinde yaşanabilecek gecikmeler göz önüne alınarak numunelerin beklemeye karşı dayanıklı olduğunu göstermek amacıyla analitik yöntemlerin validasyon çalışması kapsamında stabilite çalışmaları da yapılmıştır. Stabilite çalışmaları için, 10, 30 ve 50 µg/mL konsantrasyonlarında altı farklı seri halinde distile suda ve HBSS'de hazırlanmış olan TMB çözeltilerinin absorbandsları hazırlandığı anda, 6., 12. ve 24. saatlerde 259 nm'de ölçülerek, konsantrasyonlardaki değişim incelenmiştir. Elde edilen sonuçların, % bağıl standart sapması tüm analizlerde %2'den düşük bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar TMB'nin analiz süresi boyunca distile su ve HBSS içinde dayanıklı olduğunu göstermektedir.

Validasyon çalışmalarından elde edilen bulgular çözünme çalışmalarında Yöntem 1'in, hücre kültürü permeabilite çalışmalarında Yöntem 2'nin güvenle

kullanılabileceğini göstermektedir. Ayrıca tüm validasyon parametreleri istatistiksel olarak değerlendirilerek FDA kabul kriterlerine uygun olduğu bulunmuştur.

5.2. TMB'nin Fizikokimyasal Özellikleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

FT-IR spektroskopisi, analizi gerçekleştirilen kimyasal madde tarafından absorbe edilen kızılötesi (titreşimsel veya rotasyonel) ışınların şiddetini ölçen ve absorplanan bu enerjiyi bantlar halinde spektruma dönüştüren, bu sayede maddenin kimyasal yapısı ve içerdiği fonksiyonel gruplar hakkında bilgi veren spektroskopik bir yöntemdir. TMB'ye ait elde edilmiş olan FT-IR spektrumu incelendiğinde $3285,86 \text{ cm}^{-1}$ 'de alifatik N-H gerilme bandı, $2443,58 \text{ cm}^{-1}$ 'de tersiyer amin gerilme bandı, $1626,53 \text{ cm}^{-1}$ 'de aromatik C=O-N gerilme bandı, $1581,51 \text{ cm}^{-1}$ 'de aromatik C=C gerilme bandı, $1464,03 \text{ cm}^{-1}$ 'de aromatik C-C bandı, $846,43 \text{ cm}^{-1}$ 'de fenil halkasına bağlı iki komşu hidrojen ana pikleri görülmektedir (Bkz. Şekil 4.1). FT-IR spektrumunda safsızlıklara ait herhangi bir pik görülmemiştir. Bu veriler, TMB'nin kimyasal yapısının literatür verileri ile uyumlu olduğunu göstermektedir (63).

TMB'nin X-ışınımı kırınımı analizi ile elde edilen kristalogramda (Bkz. Şekil 4.2) 2θ 10° - 40° arasında maddeye özgü kristal pikler verdiği görülmüştür. TMB'nin kristal yapısı analizi yapılan numunenin morfolojik yapısı, partikül büyüklüğü ve şekli hakkında fikir veren bir analiz yöntemi olan SEM analizi ile elde edilmiş olan mikrograflarda (Bkz. Şekil 4.3) da görülmektedir.

TMB'nin DSC analizi ile elde edilmiş olan termograma göre TMB'ye ait endotermik erimenin 185°C 'de başladığı ve $188,86^\circ\text{C}$ 'de endotermik bir pik verdiği görülmektedir (Bkz. Şekil 4.4). Elde edilen bu sonuç literatür verileri ile uyumludur (63).

TMB'nin distile suda ve permeabilite tayin ortamı olan HBSS'de elde edilen UV analizi sonucunda 259 nm 'de maksimum pik verdiği görülmüştür (Bkz. Şekil 4.5). Elde edilen bu bulgu literatür verileri ile uyumlu bulunmuştur (65). Elde edilen bu veri TMB'nin miktar tayini analizlerinde maksimum dalga boyu olarak kullanılmıştır.

5.3.Yardımcı Maddelerin Seçimi

Tez çalışması kapsamında seçilen yardımcı maddeler üretim metoduna, piyasada mevcut olan preparatlarda kullanımlarına ve literatürde yer alan bilgilere

göre seçilmiş; mevcut çalışmalardan farklı kombinasyonlar oluşturularak literatüre ve kliniğe katkı sağlanmaya çalışılmıştır. Kullanılan yardımcı maddelerin kullanım amaçları aşağıda özetlenmiştir.

Direkt basım tekniği ile elde edilmiş tabletlerde kullanılan yardımcı maddeler:

Süperdağıtıcı/Dağıtıcılar: Süperdağıtıcılar ADT'lerin mekanik direncine olumsuz olarak etki etmeksizin düşük konsantrasyonda, yüksek dağıtıcı etkiye sahip yardımcı maddelerdir. Tez çalışması kapsamında direkt basım tekniği ile elde edilecek olan formülasyonlar için piyasada hazır halde bulunan 3 farklı süperdağıtıcı karışımı; Ludiflash[®] (mannitol, krospovidon, polivinilasetat), Parateck[®] (mannitol, kroskarmelloz sodyum) ve Granfiller-D[®] (mannitol, kroskarmelloz, mikrokristalize selüloz, krospovidon) kullanılmıştır. Sıradan dağıtıcı olarak ise kroskarmelloz sodyum (Ac-Di-Sol[®]) ve sodyum nişasta glikolat kullanılmıştır.

Ludiflash[®] ve Parateck[®] ADT formülasyonlarını geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılan süperdağıtıcılardır. Her ikisi de iyi akış özelliğine sahiptir. Bu süperdağıtıcılarla elde edilmiş olan ADT'lerin basılabilirliklerinin yüksek, kırılabilirliklerinin düşük ve ıslanabilirlik ve dağılma sürelerinin kısa olduğu bildirilmiştir (110). Sıklıkla %10-60 konsantrasyonlarında çalışmalarda kullanılmıştır (111-113). Petrovick tarafından yapılan bir çalışmada ADT'lerin daha hızlı dağılması için Ludiflash[®] konsantrasyonunun %38'den daha yüksek, daha iyi mekanik direncin sağlanması için ise en yüksek %42 konsantrasyonda kullanılması gerektiği bildirilmiştir (114).

Bu nedenle Ludiflash[®] ve Parateck[®] konsantrasyonu %40 ve %42,5 olarak belirlenmiştir. Literatürde Granfiller-D[®] ile yapılmış olan herhangi bir çalışmaya rastlanmadığı için, karşılaştırılabilir olması adına Ludiflash[®] ve Parateck[®] konsantrasyonu ile aynı konsantrasyonda kullanılmıştır.

Sodyum nişasta glikolat ve kroskarmelloz sodyum ADT formülasyonlarında dağılma süresini kısaltmak amacıyla sıklıkla kullanılan dağıtıcılardır. Zhao ve ark. yapmış oldukları çalışma ile sodyum nişasta glikolat, kroskarmelloz sodyum ve krospovidonun tabletlerin dağılma ve çözünmesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Elde ettikleri verilere göre kroskarmelloz sodyum ve sodyum nişasta glikolat içeren tabletler ince partiküller halinde dağılırken, krospovidon içeren tabletlerin daha büyük partiküller halinde dağıldığını bildirmiştir. %5 konsantrasyonda kroskarmelloz

sodyum ve sodyum nişasta glikolat içeren tabletlerin dağılma hızlarının ve çözünmelerinin krospovidon içeren tabletlere göre daha yüksek olduğu görülmüştür (115). Tanuwijaya ve ark. yapmış oldukları çalışma ile kroskarmelloz sodyum ile krospovidonun ADT'ler *in vitro* karakterleri üzerinde etkisini incelemişlerdir ve elde ettikleri analiz sonuçlarına göre kroskarmelloz sodyum içeren ADT'lerin krospovidon içeren ADT'lere göre daha başarılı olduğunu bildirmişlerdir (116).

Sodyum nişasta glikolat kendisine yüksek su absorplama özelliği kazandıran çapraz bağlı karboksimetil selüloz yapılarından oluşmaktadır (117). Formülasyonlarda %2-8 oranında kullanılması önerilmektedir (118). Desai ve ark. yapmış oldukları çalışmada sodyum nişasta glikolatın optimum konsantrasyonun %6 ve %8 olduğunu belirtmiştir (119). Tez çalışması kapsamında sodyum nişasta glikolat konsantrasyonu %5 ve %7,5 olarak belirlenmiştir.

Kroskarmelloz sodyum, çapraz bağlı karboksimetil selülozun sodyum tuzudur. Yüksek hidrofilik yapısından dolayı su ile temasla büyük oranda şişme kapasitesine sahiptir (116). Kroskarmelloz sodyumun formülasyonlarda %0,5-5,0 konsantrasyonda kullanımı önerilmektedir (120). Literatürde mevcut olan çalışmalarda sıklıkla %5-12 konsantrasyonları aralığında çalışıldığı görülmüştür (121-123). Tez çalışması kapsamında kroskarmelloz sodyum (Ac-Di-Sol®) konsantrasyonu %6 ve %12 olarak belirlenmiştir.

Seyreltici/Doldurucu: Tabletlerin hedeflenmiş toplam tablet ağırlığına ulaşabilmeleri için, seyreltici/doldurucu yardımcı maddeler formülasyonlarda kullanılmaktadır. Laktoz monohidrat piyasa preparatlarında sıklıkla kullanılan seyreltici/doldurucudur. Püskürterek kurutulmuş laktoz monohidrat büyük oranda α -laktoz monohidrat içerir ve direkt basım için özel olarak geliştirilmiş bir laktoz monohidrat tipidir (124). Püskürterek kurutulmuş laktozun diğer laktoz tiplerine göre akışkanlığı daha iyidir ve daha hızlı dağılır (125). Laktoz monohidrat konsantrasyonu formülasyonda kullanılan yardımcı maddelerin miktarlarına göre değişiklik göstermektedir. Tez kapsamında geliştirilmiş olan formülasyonlarda, toplam tablet ağırlığına ulaşmak için %6,75-22,5 arasında değişen konsantrasyonlarda Lactopress® kullanılmıştır.

Formülasyonlar arası benzerliği sağlamak için dağıtıcı olarak sodyum nişasta glikolat içeren formülasyonlarda seyreltici/doldurucu olarak mannitol (Pearlitol 200

SD[®]) de kullanılmıştır. Süperdağıtıcılarda bulunan konsantrasyon ile benzer olması için tez çalışması kapsamında direkt basım tabletlerde %35 konsantrasyonunda Pearlitol 200 SD[®] kullanılmıştır.

Kaydırıcı ve Glidan: Direkt basım tekniği ile elde edilecek olan tabletler için formülasyonda kaydırıcıların kullanılması tabletlerin basım sürecini kolaylaştırır. Kaydırıcılar tablet ile tablet basım makinesi yüzeyi arasındaki sürtünmeyi azaltarak, tabletin zımbadan daha kolay ayrılmasını sağlar. Böylelikle basım sırasında tabletin fiziksel bütünlüğüne zarar verilmemiş olur (126). Magnezyum stearat ve sodyum stearil fumarat formülasyonlarda sıklıkla kullanılan kaydırıcılardır. Ludiflash[®] ve Parateck[®] ile kaydırıcı olarak %0,5-2,0 konsantrasyon aralığında sodyum stearil fumarat veya magnezyum stearat kullanılması önerilmektedir. Süperdağıtıcı olarak Ludiflash[®] ve Parateck[®] ve kaydırıcı olarak sodyum stearil fumarat içeren tabletlerin dağılma süresinin, magnezyum stearat içeren tabletlere göre daha kısa olduğu bildirilmiştir (110). Magnezyum stearat ile karşılaştırıldığında, sodyum stearil fumaratın tablet dayanıklılığına ve çözünmesine olumsuz etkisi daha azdır (126). Bu nedenle tez çalışması kapsamında kaydırıcı olarak %1,5 oranında sodyum stearil fumarat kullanılmıştır.

Dozaj formunun hedeflenmiş olan ekin madde dozunu içermesi için, toz karışımlarının homojen karışmış olması, toz akışlarının yeterli düzeyde olması gerekmektedir. Formülasyonlarda kullanılan glidanlar toz karışımlarının akışkanlığını artırarak daha homojen karışmasını sağlar (127). Bu amaç doğrultusunda, koloidal silikon dioksit tablet formülasyonlarında akışkanlığın artırılması için sıklıkla kullanılır. %1'e kadar koloidal silikon dioksit içeren toz karışımlarında partiküller arası çekim gücünün azaldığı, böylelikle tozun akış hızının arttığı görülmüştür (128). Koloidal silikon dioksitin formülasyonlarda glidan %0,1-0,5 konsantrasyon aralığında kullanılması önerilmektedir (129). Ancak %0,5'ten daha yüksek konsantrasyonda kullanıldığında akışkanlığı artırıcı aktivitesinin değişmediği belirtilmiştir (127). Tez çalışması kapsamında elde edilecek olan formülasyonlarda koloidal silikon dioksit (Aerosil[®]) konsantrasyonu %0,5 olarak belirlenmiştir.

Tatlandırıcı/Aroma verici: ADT'lerde hasta uyuncunun artması için tabletlerin ağıza hoş tat vermeli, dağıldıktan sonra ağızda acı tat bırakmamalıdır. Bu

nedenle ADT formülasyonlarında tatlandırıcı/aroma verici yardımcı maddelerin kullanılması önemlidir. Asesülfam potasyum, sükroz, aspartam, sodyum sakkarin tablet formülasyonlarında tatlandırıcı olarak sıklıkla kullanılan yardımcı maddelerdir. Asesülfam potasyum diğer tatlandırıcılarla karşılaştırıldığında daha büyük partiküllü olduğu için akışkanlığı daha iyidir ve aynı oranda tat verebilmesi için çok daha düşük konsantrasyonda kullanılması yeterlidir. %5'ten daha düşük oranda kullanılması önerilmektedir (130). Tez çalışması kapsamında formülasyonlarda %0,5 konsantrasyonda tatlandırıcı olarak asesülfam potasyum kullanılmıştır. Ayrıca %0,5 konsantrasyonda portakal aroması kullanılarak, ağızda hoş bir tat bırakması hedeflenmiştir.

Dondurarak kurutma tekniği ile elde edilmiş tabletlerde kullanılan yardımcı maddeler:

Dondurarak kurutma tekniği ile elde edilen tabletlerin tablet bütünlüğünün korunması, mekanik dayanıklılığının sağlanması için formülasyonda bağlayıcı yardımcı maddelerin kullanılması gerekmektedir. Bu amaç doğrultusunda sıklıkla kullanılan jelatin, aljinatlar, maltodextrin gibi bağlayıcılar ile tabletlere jel matriks form yapısı kazandırılır ve tabletlerin poroziteleri artar (131). 20-50 mg/g konsantrasyonunda kullanıldığında, jelatinin tabletlere yeteri düzeyde sertlik kazandırdığı ve dağılma süresini kısalttığı belirtilmiştir (132). Literatürde mevcut olan çalışmalarda dondurarak kurutulmuş tabletlerdeki jelatin konsantrasyonu genellikle %2-5 arasında değişkenlik göstermektedir (133, 134). Bağlayıcı olarak kullanılacak sodyum aljinat konsantrasyonunun ise %1-3 konsantrasyonunda kullanılması önerilmektedir (135). Tez çalışması kapsamında dondurarak kurutma tekniği ile elde edilmiş olan formülasyonlarda jelatin konsantrasyonu %2 ve %4; sodyum aljinat konsantrasyonu %0,1 olarak belirlenmiştir. Jelatin ve sodyum aljinata ek olarak, hidrokspipilmetil selüloz (HPMC) da formülasyonlarda bağlayıcı olarak %2-5 konsantrasyonda kullanılmaktadır (136). Tez kapsamında dondurarak kurutma tekniği ile elde edilmiş olan tabletlerde %2 oranında HPMC kullanılmıştır.

Formülasyondaki bağlayıcı konsantrasyonu arttıkça artan tablet sertliğine bağlı olarak tabletlerin dağılma süresi de uzamaktadır. Bu nedenle tabletlerin dağılma süresini kısaltmak ve yeterli mekanik direncini sağlamak için

formülasyonlarda seyreltici/doldurucu yardımcı maddelerin kullanılması önerilmektedir (132).

Tez çalışması kapsamında, direkt basım tekniği ile elde edilmiş formülasyonlar ile benzerliğin sağlanması için dondurarak kurutma tekniği ile elde edilmiş olan formülasyonlarda %50,8 ve %52,8 konsantrasyonlarında Pearlitol 200 SD® kullanılmıştır.

Dondurarak kurutma tekniğinde, polietilenglikol, polivinilprolidon gibi hidrofilik biyopolimerlerin kullanılması tabletlerin dağılmasını ve etkin maddenin çözünmesini kolaylaştırır. PEG 4000 bu amaç doğrultusunda sıklıkla kullanılan taşıyıcı matrisler arasında yer almaktadır. PEG 4000 partiküllerin yüzey alanını artırarak, ıslanabilirliğini artırır. Böylelikle tabletlerin daha hızlı dağılmasını ve daha yüksek çözünme değerlerine ulaşmasını sağlar (137). %5'ten daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılan PEG'in dağılma süresini uzattığı bildirilmiştir (138).

Tez çalışması kapsamında PEG konsantrasyonu %1,5 olarak belirlenmiştir.

Poloksamerler, polietilen oksit ve polipropilen oksit içeren üçlü kopolimer yapıdaki hidrofilik yardımcı maddelerdir. Formülasyonlarda jel matris yapı kazandırılması, tablet ıslanabilirliğinin artırılması, dağılmanın hızlandırılması ve çözünmesinin artırılması gibi pek çok farklı amaç için kullanılmaktadır (139, 140). Bu amaçlar doğrultusunda, tez çalışması kapsamında tabletlerin dağılma hızı ve çözünmesinin artırılması amacıyla formülasyonlarda %1,5 konsantrasyonunda Pluronic F68 kullanılmıştır (139).

Dondurarak kurutma tekniği ile tabletlerin elde edilmesi sırasında tablet içeriğinin daha homojen dağılması, mekanik dirençlerinin artırılması için sulu karışımdaki köpürme ve hava kabarcıklarının kalması önlenmelidir. Bu amaç doğrultusunda formülasyonlarda %0,1 konsantrasyonunda simetikon kullanılmıştır.

5.4. Geliştirilen ADT'lere ait Toz Karışımları Üzerinde Yapılan Kontroller

Direkt basım yöntemi ile basılmış olan ADT'lere (F1-F16) ait toz karışımları üzerinde akışkanlık, kütle dansitesi, sıkıştırılmış dansite ve nem tayini analizleri yapılmıştır.

Akışkanlık: Toz karışımlarının akışkanlıklarını değerlendirmek için yığın açısı, basılabilirlik indeksi ve Hausner oranı hesaplanmıştır. Analiz sonucunda

formülasyonlara ait toz karışımlarının yığın açısı $11,34^\circ \pm 0,65^\circ$ - $15,87^\circ \pm 1,31^\circ$ değerleri aralığında elde edilmiş, değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Elde edilen sonuçların USP 1174 Toz Akışı (*Powder Flow*) monografına göre 25° 'den küçük olması tüm formülasyonlara ait toz karışımlarının serbest akış özelliğine sahip olduğunu göstermektedir.

USP 1174'egöre, tozların kabul edilebilir akış özelliğine sahip olması için basılabilirlik indeksinin % 25; Hausner oranının ise 1,34 ve altında değerler olması gerekmektedir. Bu değerlerden daha yüksek değerler toz akışının zayıf özellikte olduğu anlamına gelmektedir (101). Çalışma kapsamında elde edilmiş olan toz karışımlarının basılabilirlik indeksleri $\%16,52 (\pm 1,07)$ - $\%29,85 (\pm 1,14)$ aralığında; Hausner oranları ise 1,20 - 1,43 ($\pm 0,02$) aralığında hesaplanmıştır. Her bir toz karışımı için basılabilirlik indeksi ile Hausner oranının birbiri ile uyumlu değerler olduğu görülmüştür (Bkz. Tablo 4.7).

USP 1174 monografında verilen kriterlere göre F1, F5 ve F13 formülasyonlarına ait toz karışımlarının "uygun"; F2, F6, F9 ve F10 formülasyonlarına ait toz karışımlarının "geçerli"; diğer formülasyonlara ait toz karışımlarının ise "zayıf" akış özelliklerine sahip olduğu görülmüştür. Zayıf akış gösteren formülasyonlar incelendiğinde, süperdağıtıcı içeren formülasyonlar (F1-F12) içerisinde daha yüksek konsantrasyonda Laktoz monohidrat (Lactopress®) içeren formülasyonlara ait toz karışımları olduğu tespit edilmiştir. Fitzpatrick ve ark. kristalize laktozun kohezif özellikte olması sebebiyle kristalize laktoz içeren toz karışımlarında partiküller arası sürtünmeye olan direncinin yüksek olduğunu ve tozların akış özelliğini zayıflattığını vurgulamışlardır (141). Bu bilgi, tez kapsamında geliştirilen bazı formülasyonların zayıf akış özelliği göstermesinin diğer formülasyonlara göre daha yüksek oranda laktoz içermesine bağlı olduğunu göstermektedir.

Ayrıca, dağıtıcı olarak sodyum nişasta glikolat içeren formülasyonlara (F13-F16) ait toz karışımlarının da toz akışının zayıf olduğu görülmüştür. Faqih ve ark. sodyum nişasta glikolat içeren ve içermeyen formülasyonlara ait toz akışları karşılaştırmış ve sodyum nişasta glikolat içeren formülasyonların toz akışını zayıfladığını belirtmiştir (142). Çalışma kapsamında zayıf akış gösteren tozların

formülasyonları incelendiğinde literatürde yer alan veriler ile uyumlu olduğu görülmüştür (Bkz. Tablo 4.7).

Kütle/sıkıştırılmış dansite: Kütle ve sıkıştırılmış dansite değerleri toz karışımlarının reolojik özelliklerini değerlendirmek amacıyla kullanılır. ADT formülasyonlarının geliştirilmesinde hazırlanan toz karışımlarının kütle dansiteleri 0,40 (\pm 0,01) - 0,55 (\pm 0,03) g/mL aralığında; sıkıştırılmış dansiteleri ise 0,51 (\pm 0,03) - 0,68 (\pm 0,01) g/mL aralığında bulunmuştur. Patil ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada kütle dansitesi ve sıkıştırılmış dansite sonuçlarını sırasıyla 0,431-0,529 g/mL ve 0,536-0,675 g/mL olarak bulunmuştur, ve iyi akış özelliğine sahip olan toz karışımlarına ait formülasyonların daha ileri çalışmalar için kullanılabilir olduğunu vurgulamışlardır (143). Bu çalışma kapsamında elde edilen kütle ve sıkıştırılmış dansite sonuçlarının literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür (Bkz. Tablo 4.7).

Nem Tayini: Nem içeriği tozların akışkanlığı üzerine etki etmektedir. Düşük nem içeriği toz karışımında lubrikan etki göstererek tozların akışını iyileştirirken, yüksek nem içeriği kuvvetli sıvı köprülerin (*liquid bridges*) oluşmasına bağlı olarak toz karışımındaki kohezyonu artırır ve akışın bozulmasına yol açar. Bu nedenle toz karışımlarının nem içeriğinin ölçülmesi yüksek kalitede tablet hazırlanması açısından önemlidir. Bu çalışma kapsamında elde edilmiş olan toz karışımlarının nem içeriği değerleri 1,17 (\pm 0,05) - 3,37 (\pm 0,10) aralığında bulunmuştur. Tüm toz karışımlarına ait sonuçlar karşılaştırıldığında, Granfiller-D[®] içeren formülasyonlara (F9-F12) ait toz karışımlarının diğer süperdağıtıcıları içeren formülasyonların (F1-F8) toz karışımlarına göre daha yüksek nem değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Granfiller-D[®]; manitol, kroskarmelloz sodyum, mikrokristal selüloz (MCC) ve krospondon içermektedir. Literatürde MCC ile farklı nem koşullarında gerçekleştirilmiş, nemin MCC'nin fizikokimyasal karakteri üzerine etkisini değerlendirmek üzere yürütülmüş pek çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan birinde; Sun, MCC'nin sahip olduğu selüloz zincirlerinde hidroksil gruplarının sayısının fazla olmasının ve yapısındaki mikrofibrillerin küçük partikül büyüklüğüne bağlı olarak geniş yüzey alanına sahip olmasının MCC'ye higroskopik özellik kazandırdığını vurgulamıştır (144). Ayrıca Granfiller-D[®] içeriğinde yer alan kroskarmelloz sodyum da yüksek higroskopik yapıya sahip bir yardımcı maddedir (145). MCC ve kroskarmelloz sodyumun, Granfiller-D[®] içeren formülasyonlara ait

toz karışımlarının nem içeriğini literatür bulgularıyla uyumlu olarak artırdığı görülmüştür (Bkz. Tablo 4.7).

Dağıtıcı olarak sodyum nişasta glikolat içeren formülasyonlara (F13-F16) ait toz karışımlarının nem içeriği incelendiğinde, %12 konsantrasyonda kroskarmelloz sodyum (Ac-Di-Sol®) içeren formülasyonlara (F13 ve F14) ait toz karışımlarının % 6 konsantrasyonda Ac-Di-Sol® içeren formülasyonlara (F15 ve F16) ait toz karışımlarına göre daha yüksek nem içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Benzer şekilde, süperdağıtıcı olarak Ludiflash® ve Parteck® içeren formülasyonlarda süperdağıtıcı ve Ac-Di-Sol® konsantrasyonu arttıkça formülasyonlara ait toz karışımlarının (F2 ve F6) nem içeriğinin de arttığı görülmüştür. Bu durum, kroskarmelloz sodyumun tozların nem değerini artırdığını düşündürmektedir. Crouter ver ark. tarafından yapılan bir çalışmada formülasyonlarda sıklıkla kullanılan yardımcı maddelerin, toz karışımlarının nem ve akışı üzerine etkisini incelenmiştir. Çalışmadan elde edilen bulgular doğrultusunda nem oranı arttıkça laktoz ve hidroksipropil metil selüloz tozlarının partikül yüzeylerinde yoğunlaşan su miktarına bağlı olarak partiküller arası sıvı köprülerin güçlendiğini ve artan kohezyonla birlikte toz karışımlarının akışının azaldığı bildirilmiştir. Ancak, nem oranı arttıkça aspartam partiküllerinin daha küresel ve daha büyük formlar haline dönüşmesine bağlı olarak, aspartamın toz karışımın akışkanlığını artırdığı belirtilmiştir. Teofilin ve metil metakrilat nişasta kopolimerinde ise, nem oranı ile toz akışının değişkenlik gösterdiğini, düşük nem oranında suyun kaydırıcı etki ile toz akışını artırdığını, yüksek nem oranında ise partiküller arası kohezyonu artırarak toz akışını düşürdüğünü bildirmişlerdir (146). Nem oranının, toz karışımlarının akışını etkilediği bilinmekle birlikte, aralarındaki ilişkinin pozitif veya negatif yönlü olup olmadığı bilinmemektedir. Nem içeriğine bakılmaksızın, içerik tekdüzeliğinin sağlanması, tablet basılabilirliğinin tekrarlanabilir ve tutarlı olması için toz karışımları kolay akıcı olmalıdır. Çalışma kapsamında elde edilmiş olan toz karışımlarına ait nem değerlerinin birbirine yakın olduğu, (Bkz. Tablo 4.7) ve tablet basımı sırasında tozların akışkanlıkları üzerine olumsuz etkisinin büyük olmayacağı düşünülebilir.

Direkt basım tekniği ile elde edilecek olan tabletlere ait formülasyonlarda etkin maddenin tek bir tablette hedeflenen dozda bulunması, kullanılan maddelerin tablet içerisinde homojen şekilde dağılması, istenilen *in vitro* karakterlere sahip

tabletlerin elde edilebilmesi için başlıca kriterlerden birisi toz karışımlarının iyi seviyede akış karakterine sahip olmasıdır. Elde edilen tüm bu bulgular doğrultusunda “uygun” ve “geçerli” akış karakterine sahip, F1, F2, F5, F6, F9, F10 ve F13 formülasyonlarına ait toz karışımlarının direkt basım için uygun olduğu düşünülmektedir.

5.5. Geliştirilen ADT’ler Üzerinde Yapılan *In Vitro* Kontroller

Geliştirilmiş olan ADT’ler üzerinde kalınlık, çap, sertlik, ağırlık sapması, kırılma, dağılma, ıslanma süresi ve su absorplama kapasitesi, çözünme, porozite tayinleri yapılmış, tabletlerin SEM görüntüleri alınmıştır. Elde edilen sonuçlar direkt basım ve dondurarak kurutulmuş tabletler için ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Çap, kalınlık: Bir tabletin çap ve kalınlığı basımda kullanılan mühreye ve zımbaya bağlı olup iyi akış özelliklerine sahip tozlar için değişmesi beklenmez. Direkt basım yöntemi ile elde edilmiş olan tabletlerin (F1-F16) çap ve kalınlık analizleri sonucunda birbiri ile benzer değerler elde edilmiştir. ADT’lerin çap ve kalınlıklarındaki standart sapma değerlerinin düşük olması tablet basımının tekrarlanabilir olduğunun göstergesi olarak alınabilir. Dondurarak kurutma yöntemi ile elde edilmiş tabletlerin (F17 ve F18) çap ve kalınlıkları kendi içlerinde benzer bulunmakla birlikte direkt basım yöntemiyle elde edilen tabletlere göre daha yüksektir. Bu fark ADT’lerin hazırlanmasında kullanılan yöntemlerin farklı olmasına bağlıdır (Bkz. Tablo 4.8). Ayrıca direkt basım yöntemiyle daha homojen görünümlü tabletler elde edilmiştir.

Sertlik: Hazırlanan tabletlerin ambajlama, taşıma ve nakliye sırasında oluşabilecek aşınmaya dayanacak bir mekanik dirence sahip olması gerekir. Ancak ADT’lerin sertliğinin yüksek olması porozitesinin azalması anlamına gelmekte ve tabletin dağılmasına neden olarak olumsuz yönde etki etmektedir (147). Sertlik için farmakopelere kayıtlı herhangi bir limit mevcut olmamakla birlikte, literatüre göre ADT’ler için tavsiye edilen sertlik değerlerinin 3–4 kP (yaklaşık olarak 30-40 N) arasında olmasıdır (148). Tez çalışmasında, direkt basım yöntemi ile elde edilen ADT formülasyonlarına (F1-F16) ait sertlik sonuçları 28,36 (\pm 5,53) 80,26 (\pm 5,28) N aralığında elde edilmiş olup; formülasyonlar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$) (Bkz. Tablo 4.8).

Kroskarmelloz sodyum ve MCC'nin higroskopik yapısı nedeniyle nem çektiği ve tablet sertliğini düşürdüğü literatürde vurgulanmıştır (144, 145). Marais ve ark. %10'dan daha yüksek konsantrasyonda kroskarmelloz sodyum içeren formülasyonların bulunduğu ortamdan nem çekerek tablet sertliğinde düşüşe neden olabileceğini bildirmişlerdir. Bu nedenle %10'dan yüksek konsantrasyonda kroskarmelloz sodyum içeren tabletlerin nemden korunmaları gerekmektedir (149). F9 formülasyonunda yer alan yüksek Ac-Di-Sol® ve Granfiller-D®'in içeriğindeki MCC konsantrasyonuna bağlı olarak sertlik değerindeki düşüşünün literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür. Late ve ark. basım kuvveti arttıkça tablet sertliğinin arttığını dağılma süresinin uzadığını, ve tablet kırılgenliğinin azaldığını belirtmişlerdir (145).

Çalışma kapsamında direkt basım yöntemiyle hazırlanan tabletlerin sertlik değerleri arasındaki farklılıkların formülasyon bileşenleri ve uygulanan basım kuvveti ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Shoukri ve ark.'larının jelatinin dondurarak kurutulmuş ADT'lerin sertliği üzerine etkisini incelediği bir çalışmada, jelatin konsantrasyonun artmasına bağlı olarak, dondurarak kurutma sonrası çapraz bağlanan jelatin lifleri ve zincirler arası H bağları sayısının artması nedeniyle tablet sertliğinde artış olduğu gösterilmiştir (150). Tez çalışmasında, dondurarak kurutma tekniği ile hazırlanan tabletlerin (F17 ve F18) sertliği jelatin konsantrasyonundaki (%2 ve % 4) artışa bağlı olarak artmakla birlikte ($31,19 \pm 6,18$ ve $33,75 \pm 2,26$ N) bu artış istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Kırılgenlik: Direkt basım ve dondurarak kurutma yöntemiyle hazırlanan tüm ADT'lerin kırılgenlik değeri %1'den daha düşük bulunmuştur (Bkz. Tablo 4.8). Elde edilen bu sonuçlar EP 9.0 2.9.7 Kaplanmamış Tabletlerin Kırılgenliği (*Friability of Uncoated Tablets*) monografına uygun olup elde edilen tabletlerin mekanik dayanıklılığının yeterli olduğunu ve tablet bütünlüğünün sağlandığını göstermektedir.

Ağırlık sapması: ADT'lerin toplam tablet ağırlığı 250 mg üzerinde olduğu için EP 9.0 2.9.5. Tek-Dozluk Preparatların Kütle Tekdüzeliliği (*Uniformity of Mass of Single-Dose Preparations*) monografında belirtildiği şekilde, Ağırlık Sapması tayini yapılmıştır. Direkt basım yöntemiyle hazırlanan tüm ADT formülasyonları için

analiz edilen her bir tabletin ağırlığının ortalama \pm %5 limit değerleri arasında olduğu görülmüştür (Bkz. Tablo 4.8). Bu sonuçlar direkt basım yöntemiyle hazırlanan formülasyonlar için elde edilen farklı akış özelliklerinin ADT'lerin ağırlık sapmasını önemli oranda etkilemediğinin göstergesi olarak alınabilir. Ancak dondurarak kurutulmuş olan tabletlerde (F17 ve F18), ortalama \pm %5 limit değerleri sırasıyla 406,4 – 449,2 mg ve 337,3 – 372,9 mg olarak hesaplanmış olup, formülasyonlarda her bir tablet için 500 mg olarak hedeflenmiş olan toplam tablet ağırlığının elde edilemediği görülmüştür. Bu durum, dondurarak kurutma ile üretilen tabletlerin, tekdüze olarak üretilmediğini, içeriğindeki TMB miktarının 200 mg'dan farklı ve tabletler arasında değişken olabileceğini göstermektedir. Bu durum, jel matriksin elde edilmesi sırasında jelatinin fazla jelleşmesine bağlı olarak sulu karışımının homojen karışmaması ve blisterlere gerekli miktarda sulu karışımın aktarılamamış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ek olarak, karıştırma işlemi sırasında meydana gelen köpürmelerin ve sulu karışım içerisinde kalan hava kabarcıklarının blisterlere gerekli miktarda sulu karışımın aktarılmasına engel olduğu düşünülmektedir.

Dağılma: EP 9.0 Ağızda Dağılan Tabletler (*Orodispersible tablets*) monografına göre ADT'lerin 3 dakikadan kısa süre içerisinde dağılması beklenmektedir. Tez çalışmasında geliştirilen ADT'lerin dağılma analizleri distile su ve yapay tükürük ortamı (pH 6,8) olmak üzere iki farklı ortamda gerçekleştirilmiştir. Distile su ortamında elde edilen sonuçlara göre direkt basımla hazırlanan ADT'lerden (F1-F16) sadece F16 numaralı formülasyonun 3 dakika içerisinde dağılmadığı, diğer tüm formülasyonların 3 dakika içerisinde dağıldığı görülmüştür. Yapay tükürük ortamında (pH 6,8) yapılan dağılma analizinde ise F4, F8, F15 ve F16 numaralı formülasyonların 3 dakika içerisinde dağılmadığı, diğer tüm formülasyonların 3 dakika içerisinde dağıldığı tespit edilmiş olup sonuçlar EP 9.0 kriterlerine göre uygun bulunmuştur. Dondurularak kurutulmuş tabletlerin (F17 ve F18) ise distile su ve yapay tükürük ortamında (pH 6,8) 3 dakika içerisinde dağıldığı görülmüştür (Bkz. Tablo 4.9).

%12 konsantrasyonunda Ac-Di-Sol[®] içeren direkt basım formülasyonları (F1, F2, F5, F6, F9 ve F10) için süperdağıtıcı konsantrasyonunun %40'tan %42,5'e yükseltilmesi ile Ludiflash[®] ve Granfiller-D[®] içeren formülasyonların suda ve yapay

tükürük ortamında (pH 6,8) dağılma sürelerinin kısaldığı, Parateck® içeren formülasyonlarda ise dağılma süresinin kısmen uzadığı ancak yine de 3 dakikanın içerisinde dağıldığı görülmüştür. %6 konsantrasyonunda Ac-Di-Sol® içeren direkt basım formülasyonları (F3, F4, F7, F8, F11 ve F12) için ise, süperdağıtıcı konsantrasyonunun %40'tan %42,5'e yükseltilmesi ile tüm formülasyonlar için tabletlerin distile suda ve yapay tükürük ortamında (pH 6,8) dağılma süresinin uzadığı görülmüştür. Tüm formülasyonlarda Ac-Di-Sol® konsantrasyonunun %6'dan %12'ye yükseltilmesi ile tabletlerin distile suda ve yapay tükürük ortamında (pH 6,8) ortamında dağılma süresinin kısaldığı görülmüştür. Battu ve ark. ve Setty ve ark. yapmış olduğu çalışmalarda Ac-Di-Sol® konsantrasyonu arttıkça tabletlerin dağılma süresinin kısaldığı bildirilmiştir (151, 152). Tez çalışması kapsamında elde edilen dağılma sonuçlarının literatür verileri ile uyumlu olduğu gösterilmiştir.

Dağıtıcı olarak farklı konsantrasyonlarda (%5 ve % 7,5) sodyum nişasta glikolat içeren direkt basım formülasyonlarında (F13-F16) sodyum nişasta glikolat konsantrasyonu arttıkça distile suda ve yapay tükürük ortamında (pH 6,8) dağılma süresinin arttığı görülmüştür (Bkz. Tablo 4.9). Setty ve ark. sodyum nişasta glikolatın tabletlerin dağılması üzerine etkisini incelemiş ve artan konsantrasyonun tabletlerin dağılma süresine olumsuz etki ettiği bildirilmiştir. Bu durum, konsantrasyon artışı ile sodyum nişasta glikolat partiküllerinin viskoz jel tabaka oluşturması ile dağılma ortamının partiküller arasına geçişini azaltmasına bağlı olarak dağılmanın gecikmesi ile açıklanmıştır (152). Sodyum nişasta glikolat içeren formülasyonlar arasında F13'ün dağılma süresinin, formülasyon içeriğinde yüksek konsantrasyonda bulunan Ac-Di-Sol®'e bağlı olarak diğer formülasyonların (F14-F16) dağılma süresine göre daha kısa olduğu görülmüştür. Yüksek Ac-Di-Sol® konsantrasyonu dağılma süresini kısaltmıştır. Ek olarak, F13'ün kırılma değeri bu grupta yer alan diğer formülasyonlara göre (F14-F16) oldukça yüksek olması (%0,91) dağılma süresinin diğer formülasyonlara göre daha kısa olmasını desteklemektedir.

Dondurarak kurutulmuş olan ADT'lerde (F17 ve F18) formülasyonlardaki jelatin miktarı arttıkça tabletlerin distile suda ve yapay tükürük ortamında (pH 6,8) dağılma süresinin arttığı görülmüştür (Bkz. Tablo 4.9). Shoukri ve ark. artan jelatin konsantrasyonunun tabletlerin dağılma süreleri üzerine olumsuz etkisini olduğunu, dağılma sürelerinin uzadığını, ve uzamış dağılma süresinin jelatinin artan

konsantrasyonlarda tabletlerin parçalanmasını ve suda dağılmasını azaltacak daha yapışkan jel formuna dönüşmesine bağlı olduğunu vurgulamışlardır (150). Çalışma kapsamında dondurarak kurutma ile elde edilmiş olan tabletlerin dağılma sürelerinin literatür verileri ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Yamamoto ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada tabletlerin ağızda dağılma süresi ile toz karışımlarının kütle dansitesi arasında ters yönlü iyi bir korelasyon olduğunu, ve 60 saniyeden daha kısa sürede dağılan formülasyonlara ait toz karışımlarının kütle dansitesinin 0,5 mg/mL'den daha yüksek olduğunu bildirmiştir (153). Bu tez kapsamında, kütle dansitesi 0,5 mg/mL'e yakın olan F1, F5 ve F13 formülasyonlarının 60 saniyeden daha kısa sürede dağıldığı görülmüş olup elde edilen bu sonuçlar literatür ile uyumludur.

Islanma süresi ve su absorplama kapasitesi: Direkt basım yöntemi ile hazırlanan tabletlerin (F1-F16) distile suda ve yapay tükürük ortamında (pH 6,8) ıslanma süreleri ve su absorplama kapasiteleri ayrı ayrı incelendiğinde değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Islanma süresi, ADT'lerin ağız içerisinde dağılma kolaylığının bir göstergesidir. Formülasyon içerisinde yer alan maddelerin hidrofilik veya hidrofobik yapıya sahip olması ve dağıtıcı olarak kullanılan maddelerin dağılma mekanizması ıslanma süresini değiştirmektedir. Jain ve ark. sodyum nişasta glikolat içeren formülasyonların, kroskarmelloz sodyum ve krospondon içeren formülasyonlara göre tabletlerin ıslanma ve dağılma sürelerinin birbiri ile uyumlu olarak daha uzun, su absorplama kapasitesinin ise daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (154). Sodyum nişasta glikolat şişme mekanizması ile dağılırken, kroskarmelloz sodyum ise kendisine fibröz yapı kazandıran çapraz bağlı sodyum karboksimetil selüloz yapısı nedeniyle kapiler hareket (*wicking*) ve herhangi bir jelleşme olmadan şişme mekanizması ile dağılır (155).

Tez çalışması kapsamında; sodyum nişasta glikolat içeren direkt basım tabletlere ait formülasyonlardan (F13-F16) F15 ve F16'nın, F13 ve F14'e ve süperdağıtıcı içeren diğer formülasyonlara göre su absorplama kapasitesinin daha düşük ve dağılma süresinin ise daha yüksek olduğu görülmüştür (Bkz. Tablo 4.9). Yüksek sodyum nişasta glikolat konsantrasyonu ve düşük Ac-Di-Sol® konsantrasyonu dağılma süresini uzatmış, su absorplama kapasitesini düşürmüştür.

Süperdağıtıcı içeren formülasyonlar (F1-F12) arasında her iki ortamda da dağılma süresi yüksek olan formülasyonların (F3, F4, F7, F8) ıslanma sürelerinin diğer formülasyonlara kıyasla daha uzun olduğu ve su absorplama kapasitelerinin daha düşük olduğu görülmüştür (Bkz. Tablo 4.9). Düşük konsantrasyondaki Ac-Di-Sol® içeren tabletlerin ıslanma süreleri uzun, su absorplama kapasitelerini düşük bulunmuştur.

Dondurarak kurutulmuş olan tabletlerin (F17 ve F18) distile suda ve yapay tükürük ortamında (pH 6,8) ıslanma sürelerinin direkt basımla hazırlanan tabletlerden daha kısa olduğu görülmüştür (Bkz. Tablo 4.9). Artan jelatin konsantrasyonu ile jelatin lifleri arasındaki çapraz bağlar artmaktadır, ve lif ağı daha yaygın ve katı hale dönüşmektedir. Jelatin konsantrasyonundaki artışın tabletlerin ıslanma süresinin uzatması beklenir (150). Tez çalışması kapsamında artan konsantrasyonlarda jelatin içeren dondurarak kurutulmuş tabletlerin ıslanma süresi arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Dondurarak kurutulmuş tabletlerde (F17 ve F18) analiz süresince tabletler tamamen dağıldığı için son ağırlıkları ölçülemedi, su absorplama kapasiteleri tayin edilememiştir.

Porozite: ADT'ler, ağızda dağılmalarının kolaylaştırılması için, genellikle yüksek poroziteye sahip olacak şekilde formüle edilir. Literatürde tabletlerin dağılma süresinin, tablet porozitesi ve sertliği ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (156).

Tabletlerin sahip olduğu poröz yapı, partiküllerin suyla temasını artırarak dağılmasını hızlandıracak olan yüzey alanını artırmaktadır. Tablet porozitesi arttıkça, tabletlerin ıslanma ve dağılma sürelerinin kısılması beklenmektedir (157).

Tez çalışması kapsamında her bir formülasyon grubundan seçilmiş birer formülasyonun (F2, F5, F10, F13 ve F17) porozitesi ölçülmüştür. Direkt basımla hazırlanan tabletlerin (F2, F5, F10 ve F13) porozitesi %34,15 - 69,71 aralığında dağılım gösterirken, bu formülasyonlara ait tabletlerin dağılma sürelerinin birbirine yakın süreler olduğu görülmüştür (Bkz. Tablo 4.9 ve Tablo 4.11). Amelian ve ark. Parteck® içeren formülasyonun porozitesinin, Ludiflash® içeren formülasyona göre oldukça yüksek olmasına rağmen, ıslanma ve dağılma süresinin Parteck® içeren formülasyonda daha uzun olduğunu tespit etmişlerdir (158). Tez çalışması kapsamında; Ludiflash® ve Parteck® içeren formülasyonların (sırasıyla F2 ve F5)

porozitesi karşılaştırıldığında, Pardeck® içeren formülasyonun (F5) porozitesinin daha yüksek, ıslanma süresinin porozite ile uyumlu olarak nispeten daha kısa olduğu görülmüştür. Ancak dağılma süresinin Ludiflash® içeren formülasyona göre daha uzun olduğu gösterilmiştir (Bkz. Tablo 4.9 ve Tablo 4.11). Tez çalışması kapsamında elde edilen bu verilerin literatür verileri ile uyumlu olduğu görülmüştür. Suyun tablet içine nüfuzunu hızlandırarak, tabletlerin dağılmasını kolaylaştırması beklenen poröz yapı, tabletlerin dağılması için tek etken değildir. Dağılma süresinde esas etken formülasyondaki dağıtıcı maddelerdir (158).

Dondurarak kurutma tekniği ile üretilmiş tabletler konvansiyonel yöntemlerle üretilen tabletlere göre daha yüksek poroziteye sahiptir; ancak mekanik dayanıklılıkları düşüktür (159). Tez çalışması kapsamında; dondurarak kurutma tekniği ile elde edilmiş olan F17 formülasyonunun porozitesinin (%78,71) direkt basımla hazırlanan tabletlerin porozitesinden daha yüksek olduğu bulunmuştur (Bkz. Tablo 4.11). Aynı zamanda tablet sertliği direkt basım yöntemi ile elde edilmiş olan diğer tabletlere göre daha düşük bulunmuştur. Elde edilen veriler literatür ile uyumludur.

Tüm bunlara ek olarak tablet basım kuvvetinin de tabletlerin porozitesi üzerine etkisi olduğu bilinmektedir. Yüksek basım kuvveti, partiküller arası boşluğu azaltarak, partiküller arası bağların kuvvetinin artması dolayısıyla tablet dansitesinin artmasına, daha sert ve daha ince tabletler elde edilmesine yol açar. Pabari ve ark. farklı basım kuvvetlerinin tablet kalınlığı ve porozitesi üzerine etkisini inceledikleri bir çalışmada tablet basım kuvveti ile tablet kalınlığı ve porozitesi arasında doğrusal bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (159). Di Martino ve ark. dağıtıcı konsantrasyonunun tablet porozitesi üzerine etkisi olmadığını, porozitenin esas olarak tablet basım kuvveti ile ilişkili olduğunu vurgulamıştır (160). Tez çalışması kapsamında direkt basımla hazırlanan tabletlerin porozite değerleri incelendiğinde, tablet kalınlığı arttıkça, tablet porozitesinin de arttığı görülmüştür (Bkz. Tablo 4.8 ve Tablo 4.11). Bu durum literatür verileri ile uyumlu olarak tablet basım kuvveti ile ilişkilendirilebilir. Bir başka deyişle, tablet basım kuvveti azaldıkça tablet kalınlığı ve porozitenin arttığı gözlenmiştir.

Tez çalışması kapsamında seçilmiş olan formülasyonların 1-200 µm por çapı aralığındaki por büyüklüğü dağılımı da incelenmiştir. Direkt basımla hazırlanan

tabletler arasında, F2 ve F5 formülasyonunun büyük çapta porlar içerdiği gözlenirken, F10 formülasyonunda 10 µm çapındaki porların daha yüksek oranda olduğu, F13 formülasyonun por büyüklüklerinin geniş bir aralıkta (6-200 µm) benzer oranda dağılım gösterdiği (Bkz. Şekil 4.27), dondurarak kurutma tekniği ile hazırlanan ve porozitesi %79 olan F17 formülasyonun por çapı dağılımının daha küçük bir aralıkta (10-50 µm) yoğunlaştığı gözlenmiştir (Bkz. Şekil 4.28). Tabletlerin por hacimlerine bakıldığında ise, F2, F10 ve F13 formülasyonlarında por hacminin $1-3,5 \times 10^{-4}$ (mL/g) aralığında yoğunlaştığı, F5 formülasyonunun $2-10 \times 10^{-4}$ (mL/g) arasında dağıldığı görülmüştür. Dondurarak kurutma tekniği ile hazırlanan F17 formülasyonunun ise direkt basım tekniği ile hazırlanan formülasyonlara göre çok daha yüksek por hacmine (0,005-0,053 mL/g) sahip olduğu görülmüştür. Formülasyonlara ait por hacimleri karşılaştırıldığında, F17 formülasyonunun porozitesinin en yüksek, F5 formülasyonun diğer direkt basım formülasyonlara göre porozitesinin daha yüksek olması ile uyumludur.

Elde edilen bu sonuçlara göre direkt basım tekniği ile elde edilmiş formülasyonlar arasında F2 ve F10 formülasyonlarının porlarının daha homojen; F5 formülasyonunun kısmen daha az homojen ve F13 formülasyonun homojen olmadığı düşünülmektedir. Dondurarak kurutma tekniği ile elde edilmiş olan F17 formülasyonun ise por çapı ve hacmi daha dar bir dağılım aralığında yoğunlaştığı için por dağılımının oldukça homojen olduğu düşünülmektedir. Homojen olmayan por büyüklüğü dağılımının, toz karışımlarının homojen olarak dağılmamasına bağlı olarak tabletin belirli bölgesinde kümelenmesinden veya karışım içerisinde hava moleküllerinin mevcut kalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çözünme: Yeni ilaç geliştirme sürecinde, klinik faz çalışmalarına geçmeden önce, ilacın potansiyel *in vivo* performansını değerlendirmek amacıyla *in vitro* çözünme çalışmaları yaygın olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda *in vitro* çözünme testi, formülasyon için uygun yardımcı maddelerin seçilmesinde de yol göstericidir (161).

Oral yolla kullanılan konvansiyonel tabletler yutulduktan sonra dağılarak gastrointestinal sıvılarla temas eden yüzey alanı artar. Etkin maddenin çözünmesini takiben gastrointestinal kanaldan (büyük oranda ince bağırsaktan) emilerek sistemik dolaşıma geçer. İlaçların bağırsaklardan emilebilmesi için gastrointestinal kanal sıvılarında çözünmesi gerekmektedir.

ADT'ler konvansiyonel tabletlerden farklı olarak, ağızda tükürük ile temas ettikten kısa bir süre sonra dağılacak ve/veya çözünecek şekilde geliştirilmiş dozaj formlarıdır. Bu nedenle emilimleri daha hızlı ve biyoyararlanımları konvansiyonel tabletlere kıyasla daha yüksektir (162).

ADT'ler için, konvansiyonel tabletlere uygulanan *in vitro* çözünme koşulları seçilebilir. Literatürde mevcut olan çalışmalarda, USP Aparat II (pedal)'nin ADT'lerin çözünme çalışması için en uygun aparat; 50 rpm dönme hızının ise en uygun pedal dönme hızı olduğu belirtilmiştir (25, 163). Çözünme aparatı olarak sepet kullanıldığında, sepet içerisinde dağılmakta olan tablet parçalarının kümeleşebileceği, buna bağlı olarak da ortamla yeterince karışmayacağı bildirilmiştir (162).

Kaplama, etkin maddenin polimer içerisine hapsedilmesi gibi tat maskeleme sistemi ile elde edilmiş olan ADT'lerde maskeleme sistemi tabletin kalınlığı, sertliği, dağılması ve çözünmesi gibi *in vitro* analiz sonuçlarını etkilemektedir. Ancak yine de etkili tedavi ve hasta uyuncunun sağlanması için tat maskeleme sistemi ile elde edilen ADT'ler hızlı dağılacak şekilde formüle edilirler. Bu sebeple, USP Aparat II (pedal) ve 50-100 rpm dönme hızında çözünme çalışması yapılmasının uygun olduğu belirtilmiştir (163). Tat maskelemenin pH bağımlı polimerler aracılığıyla sağlandığı ADT'lerde, çözünme ortamının pH'sinin ayarlanması etkin maddenin polimerden salımı ve tabletin çözünmesi için önemli olduğu bildirilmiştir (40).

Tez çalışması kapsamında geliştirilen ADT'lerin *in vitro* çözünme deneyleri için literatür ile uyumlu olarak USP Aparat II (pedal) yöntemi ile 50 rpm pedal dönme hızı kullanılmıştır. Çözünme ortamı olarak USP'de Trimetobenzamit HCl Kapsül için önerilen 900 mL distile su ($37 \pm 0,5^\circ\text{C}$) seçilmiştir. ADT'lere ait çözünme sonuçlarının değerlendirilebilmesi için, aynı koşullar altında referans ürün olarak seçilmiş olan piyasada mevcut konvansiyonel tabletlerin de çözünme analizi gerçekleştirilmiştir.

FDA ve EMA, BCS'ye göre ilaç etkin maddelerini çözünürlük ve permeabilitelerine göre dört gruba ayırmıştır. Sınıf 1 (yüksek çözünürlük, yüksek geçirgenlik), Sınıf 2 (düşük çözünürlük, yüksek geçirgenlik), Sınıf 3 (yüksek çözünürlük, düşük geçirgenlik) ve Sınıf 4 (düşük çözünürlük, düşük geçirgenlik)

olarak sınıflandırılmaktadır. BCS'ye göre, etikette bildirilen miktarın %85 veya daha fazlası üç farklı ortamda (0,1N HCl, pH 4,5 ve pH 6,8) ilk 15 dakika içerisinde çözünüyorsa hızlı salınan dozaj şekli çok hızlı çözünür (*very rapidly dissolving*), ilk 30 dakikada %85 veya daha fazlası çözünüyorsa hızlı çözünür (*rapidly dissolving*) olarak tanımlanmaktadır (107, 108). FDA ve EMA, referans ürün ve test ürününün önerilen çözünme koşullarında, 15 dakika içerisinde % 85 veya daha fazlasının çözüldüğü durumlarda benzerlik faktörü (f_2 değeri) hesaplaması gerekli olmadan çözünme profillerinin benzer olduğunu kabul etmektedir (107, 108).

Tez çalışması kapsamında elde edilen çözünme profilleri incelendiğinde, tüm ADT formülasyonlarında ve konvansiyonel tablette ilk 15 dakika içerisinde çözünen TMB miktarının %85'ten daha az olduğu görülmüştür (Bkz. Şekil 4.18). Bu nedenle ADT'ler ve konvansiyonel tablete ait çözünme profillerinin benzerliğinin incelenmesi için benzerlik faktörü (f_2 değeri) hesaplanmıştır. FDA ve EMA'ya göre, benzerlik faktörünün (f_2 değeri) 50'nin üzerinde olduğu durumlarda, test ve referans ürüne ait çözünme profilleri benzer kabul edilir. Tez çalışması kapsamında tüm formülasyonlar için f_2 değerinin 50'den daha küçük olması nedeniyle geliştirilmiş olan ADT'ler ile konvansiyonel tabletin çözünme profillerinin benzer olmadığı kabul edilmiştir (Bkz. Tablo 4.10). Her bir örnekleme zamanı için ADT formülasyonları ve konvansiyonel tableten salınan % kümülatif TMB miktarı istatistiksel olarak karşılaştırılmış, çözünme değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

%40 konsantrasyonda süperdağıtıcı içeren formülasyonlara (F1, F3, F5, F7, F9 ve F11) ait çözünme profilleri karşılaştırıldığında, 45. dakikada F3 formülasyonunun en yüksek çözünme değerine (%80,2) ulaştığı ve bu değer konvansiyonel tabletin çözünme değerinden (%73,2) daha yüksek olduğu görülmüştür. F7, F9 ve F11'e ait çözünme değerleri (sırasıyla %71,5, %72,9 ve %73,8) konvansiyonel tabletin çözünme değerine oldukça benzerdir. F1 ve F5 ADT formülasyonlarının 45. dakika sonundaki çözünme değerleri (sırasıyla %61,0 ve %56,2) diğer ADT formülasyonlarından ve konvansiyonel tableten daha düşüktür (Bkz. Şekil 4.19).

%42,5 konsantrasyonda süperdağıtıcı içeren formülasyonlara (F2, F4, F6, F8, F10 ve F12) ait çözünme profilleri karşılaştırıldığında 45. dakikada en yüksek

çözünme değerine (%77,7) F4 formülasyonunun ulaştığı ve bu değer konvansiyonel tableten daha yüksek olduğu görülmüştür. F8 ve F12 formülasyonlarının 45. dakika sonundaki çözünme değerleri (sırasıyla %73,0 ve %74,3) konvansiyonel tabletin çözünme değeriyle oldukça benzer bulunmuştur. F2, F6 ve F10 formülasyonlarının 45. dakika sonundaki çözünme değerleri (sırasıyla %63,2, %58,5 ve %63,6) konvansiyonel tableten daha düşük bulunmuştur (Bkz. Şekil 4.20).

Tüm formülasyonların çözünme profilleri karşılaştırıldığında formülasyondaki konsantrasyonu fark etmeksizin Ludiflash® ve %6 Ac-Di-Sol® içeren formülasyonların (F3 ve F4) çözünme değerlerinin en yüksek olduğu görülmüştür. Ludiflash®'in, diğer süperdağıtıcılara kıyasla tabletlerin çözünmesine daha çok etki ettiği gözlenmiştir.

Dağıtıcı olarak sodyum nişasta glikolat içeren formülasyonların (F13, F14, F15 ve F16) çözünme profilleri karşılaştırıldığında, F13, F15 ve F16'nın 45. dakika sonunda çözünme değerlerinin (sırasıyla %73,0, %74,1 ve %70,9) konvansiyonel tabletle benzer olduğu, F14 formülasyonunu ise konvansiyonel tablete kıyasla daha düşük çözünme değerine (%55,0) sahip olduğu görülmüştür (Bkz. Şekil 4.21). Bu sonuçlar, sodyum nişasta glikolatın konsantrasyonunun çözünme üzerine önemli ölçüde etkisinin olmadığını göstermektedir.

Dondurarak kurutma yöntemiyle hazırlanan ADT'lerin daha poröz ve kırılabilir yapıları çözünme hızlarını artırmaktadır. Direkt basım tekniği ile üretilmiş olan ADT'lere göre çözünmesinin daha hızlı ve yüksek olduğu bildirilmiştir (29, 164). Tez çalışması kapsamında da benzer sonuçlar elde edilmiş, dondurarak kurutma tekniği hazırlanan formülasyonların (F17 ve F18) çözünmesinin direkt basım tekniği ile hazırlanan ADT formülasyonlarına (F1-F16) ve konvansiyonel tablete göre daha hızlı, ve daha yüksek çözünme değerlerine ulaştığı (F17 ve F18 için sırasıyla %82,4 ve %82,7) görülmüştür (Bkz. Şekil 4.22). F17 ve F18 formülasyonlarının çözünme değerlerinin benzer olması artan jelatin konsantrasyonunun tabletlerin çözünmesine etkisinin olmadığını göstermektedir.

Geliştirilen tüm ADT'lere ve konvansiyonel tablete ait çözünme profilleri bir bütün olarak incelendiğinde, özellikle ilk 15 dakikada tüm ADT formülasyonlarının distile suda çok daha hızlı ve daha kısa sürede çözünerek konvansiyonel tablete göre

daha kısa sürede daha yüksek çözünme değerlerine ulaştığı görülmektedir (Bkz. Şekil 4.18). Elde edilen bu sonuçlar özellikle hızlı etki beklenen durumlarda ADT formülasyonlarının daha kısa sürede etki edeceğini göstermektedir.

ADT'lerde tabletlerin ağızda dağılmasını takiben etkin maddenin ağızdan emiliminin olduğu koşullarda, kanda maksimum ilaç konsantrasyonuna ulaşılması için gereken süre (t_{maks}) azalır, kandaki maksimum ilaç konsantrasyonu (C_{maks}) artar ve bunlara bağlı olarak kandaki ilaç konsantrasyonu-zaman eğrisi altında kalan alan (AUC) da artar. Sonuç olarak etkin maddenin biyoyararlanımında artış gözlenir. Tez çalışması kapsamında kullanılan etkin madde TMB'nin ağızdan emilimi hakkında bir bilgi mevcut olmadığı için, geliştirilmiş olan ADT'lerin ağızda dağıldıktan sonra etkin maddenin farmakokinetik parametreleri ve biyoyararlanımı üzerindeki etkisi bilinmemektedir.

5.6. TMB ile Yardımcı Maddeler Arasındaki Etkileşimin İncelenmesi

Yeni ilaç geliştirme sürecinde, etkin madde ve formülasyonda kullanılan yardımcı maddelerin arasındaki etkileşimin belirlenmesi; dayanıklılığı, biyoyararlanımı ve üretilebilirliği tutarlı ilaçlar geliştirebilmek için önemli bir basamaktır. Bu amaç doğrultusunda DSC, izotermal mikrokaleorimetre, FT-IR, SEM, X-ışını kırınımı gibi termoanalitik ve spektroskopik analizler yapılmaktadır (165). Tez çalışması kapsamında, TMB ve formülasyonlarda kullanılan diğer yardımcı maddelerin etkileşimini incelemek için, geliştirilmiş olan her bir grup ADT formülasyonları içinden en hızlı dağılan formülasyonlar seçilmiş (F2, F5, F10, F13 ve F17) ve bu formülasyonlar üzerinde DSC, SEM, FT-IR ve X-ışını kırınımı analizleri gerçekleştirilmiştir.

DSC analizi: Tez çalışması kapsamında TMB'nin DSC termogramında literatür ile uyumlu olarak 188,86°C'de endotermik bir pik verdiği görülmektedir (Bkz. Şekil 4.4) (63). Seçilen ADT'ler için elde edilen termogramlar incelendiğinde, süperdağıtıcı içeren formülasyonların (F2, F5 ve F10) birbirine yakın sıcaklıklarda (140-150°C) pik verdiği görülmüştür (Bkz. Şekil 4.58.). Wu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada laktoz monohidratın DSC termogramında yaklaşık 140°C'de dehidrasyona bağlı endotermik pik ve yaklaşık 220°C'de erimeye bağlı endotermik pik verdiği gösterilmiştir. (167). Fitzpatrick ve ark. toz karışımları üzerine farklı sıcaklık ve nem koşullarının etkisini inceledikleri bir çalışmada, ve elde edilen

bulgular doğrultusunda laktoz moleküllerinin kristalizasyonun partiküller arası akışkan bağlantıların oluşmasına yol açtığı, ve toz karışımlarını daha yapışkan hale dönüştürdüğü belirtilmiştir. Laktozun yüksek sıcaklık ve neme maruz bırakılması ile kristalize hale geleceği ve toz karışımının erime derecesini düşüreceği bildirilmiştir (141). Tez çalışması kapsamında yapılan DSC analizlerinde süperdağıtıcı içeren F2, F5 ve F10 formülasyonlarında literatür ile uyumlu olarak 140-150°C’de dehidrasyona bağlı bir endotermik bir pik verdiği görülmekle birlikte (Bkz. Şekil 4.58). TMB’ye ait herhangi keskin bir pik görülememiştir. Bu nedenle, TMB ile laktoz monohidratın yüksek sıcaklıkta etkileştiği düşünülmektedir.

DSC termogramlarında, mevcut olan belirgin etkin madde pikinin formülasyondaki etkin maddenin erimesine bağlı olarak kaybolması, yeni bir endotermik/ekzotermik pikin ortaya çıkması veya mevcut piklerin entalpilerinde değişikliklerin olması karışımdaki maddeler arasında geçimsizliği göstermektedir (165). Tez çalışması kapsamında geliştirilmiş olan dağıtıcı olarak sodyum nişasta glikolat içeren F13 formülasyonuna ait DSC termogramı incelendiğinde, TMB’ye ait pik görülmemiştir (Bkz. Şekil 4.58). Elde edilen termogram, TMB’nin sodyum nişasta glikolat ile etkileşimi olabileceğini düşündürmektedir.

Dondurularak kurutulmuş F17 formülasyonunun DSC termogramı incelendiğinde ise, termogramda herhangi bir maddeye ait pik görülmemiştir (Bkz. Şekil 4.58). Liu ve ark. valdekoksib içeren tabletlerin DSC termogramını etkin maddeye ait herhangi bir pike rastlamamışlardır. Formülasyonda yer alan PEG 4000’in DSC analizi sırasında tamamen eridiği ve etkin maddenin PEG 4000 içerisinde çözüldüğü için herhangi bir pik vermediğini belirtmişlerdir (168). Benzer bir şekilde, Jain ve ark. ibuprofen pikinin DSC termogramında görülmemesinin nedenini ibuprofenin analiz sırasında tamamen erimiş olan PEG 4000 içerisinde çözünmesi ile açıklamışlardır (169). Çalışma kapsamında elde edilmiş olan F17 formülasyonunun DSC termogramında herhangi bir pik görülmemesi, formülasyonda yer alan PEG 4000’in DSC analizi sırasında yüksek ısı nedeniyle tamamen erimesi ve TMB’nin PEG 4000 içerisinde çözüldüğü için herhangi bir pik vermemesi ile açıklanabilir.

Düşük miktarda numune ile çalışılabilmesi, kristal formdan amorf forma dönüşüm, polimorfizmde değişiklik gibi fiziksel etkileşimleri kolay tespit edebilmesi

ve hızlı uygulanabilir bir metot olması DSC analizinin üstünlükleridir. Ancak düşük miktardaki termal değişikliklerin tespiti için uygun değildir. Aynı sıcaklıkta üst üste gelen piklerin ayrımı yapılamaz. Bu nedenle DSC analizi sonucuna bağlı olarak etkileşimi olduğu düşünülen maddelerin termal olmayan metotlarla etkileşimlerinin olup olmadığının incelenmesinin daha sağlıklı sonuçlar vereceği düşünülmektedir (165).

X-ışını kırınımı analizi: Geliştirilmiş olan tabletlerin X-ışını kristalogramları incelendiğinde, TMB'ye ait pikleri içerdiği görülmektedir (Bkz. Şekil 4.57). F2, F5 ve F10 formülasyonlarına ait kristalogramlarda TMB pikleri belirgin olarak görülürken, F13 ve dondurularak kurutulmuş F17 formülasyonlarına ait kristalogramlarda TMB piklerinin formülasyon içeriğindeki diğer maddelere ait pikler ile çakıştığı görülmüştür. ADT'lere ait kristalogramlardaki TMB'ye ait piklerin, TMB kristalogramındaki piklere göre daha düşük şiddette olmasının nedeni analiz edilen numunelerdeki TMB miktarının daha düşük olması ile ilişkilidir. Elde edilen X-ışını kristalogramları, ADT'lerin üretimi sırasında TMB'nin kristal yapısının bozulmadığını göstermektedir.

FT-IR spektroskopisi: Tez çalışması kapsamında her bir gruptan seçilmiş olan ADT formülasyonlarının, formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin FT-IR spektrumları alınmış, elde edilen spektrumlar TMB'ye ait FT-IR spektrumu ile karşılaştırılmıştır. TMB'ye ait karakteristik piklerin, ADT formülasyonlarına ait FT-IR spektrumlarında da mevcut olduğu görülmüştür. ADT'lere ait FT-IR spektrumlarında TMB ve formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddeler dışında başka herhangi bir pike rastlanmamıştır (Bkz. Şekil 4.1 ve Şekil 4.34-56). Elde edilen bu spektrumlar, ADT'lerin üretilmesi sırasında TMB'nin kimyasal yapısının değişmediğini göstermektedir.

SEM analizi: Tez çalışması kapsamında geliştirilmiş olan ADT'ler içerisinde her bir gruptan seçilmiş olan formülasyonların morfolojik yapısının belirlenmesi için SEM görüntüleri alınmıştır. TMB'ye ait mikrografta görülen kristalize yapılara, seçilen tüm formülasyonların SEM görüntülerinde rastlanmıştır (Bkz. Şekil 4.3 ve Şekil 4.29-33). F13 formülasyonunun SEM görüntüsünün, diğer formülasyonlara ait SEM görüntüsüne göre biraz daha sıkı yapıda olduğu görülmüştür. Ek olarak, porozitesi en yüksek olan F17 formülasyonunun daha gözenekli yapıya sahip olduğu SEM

görüntüsü ile gösterilerek sonuçların birbirini desteklediği gözlenmiştir. F2, F5 ve F10 formülasyonlarına ait SEM görüntülerinin benzer olduğu görülmüştür.

5.7. Hücre Kültürü Çalışmaları

Gastrointestinal kanalda ilaçların emilimi büyük oranda ince bağırsaktan gerçekleşir.

İnce bağırsak lümenal yüzeyi villus ve mikrovillus adı verilen fırçamsı yapılarla kaplıdır. İnce bağırsağın emilimi gerçekleştiren hücreleri ve enterositler villus ve mikrovilluslar üzerinde yer alır. Bu yapılar ince bağırsağın yüzey alanını büyük oranda artırır. İnce bağırsak insan vücudu içerisinde yüzey alanı en geniş organdır (174).

Caco-2 hücreleri, yarı geçirgen filtre sistemine ekildikten sonra planlanmış çalışmanın içeriğine göre gerekli koşullar elde edilinceye kadar bekletilir. Bu sürenin sonunda insan ince bağırsağında yer alan sıkı kavşaklara, taşıyıcı protein ve *efflux* pompalarına, villus ve mikrovillusleri andıran fırçamsı yapıya sahip hücre tek tabakası formunu alır. Elde edilen hücre tek tabakası, hücre kültürü ortamını apikal ve bazolateral olmak üzere iki bölgeye ayırır. İlaçların apikal (gastrointestinal lümen) bölgeden bazolateral (kan) bölgeye geçişi incelenir. Caco-2 hücrelerinin sahip olduğu bu yapı, bu hücrelere insan ince bağırsak hücre yapısını taklit edebilme özelliği kazandırır (78, 93).

5.7.1. Caco-2 Hücrelerinin Hücre Bütünlüğünün Değerlendirilmesi

Caco-2 hücre tek tabakasının hücre bütünlüğünün değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri Transepitel Elektrik Rezistans (TEER) değerinin ölçülmesidir (175). Gastrointestinal epitel hücrelerinin bütünlüğü TEER değerinin büyüklüğüne göre sınıflandırılmıştır. 2000 ohm.cm²'nin üzerinde TEER değerine sahip olan epitel hücreler “sıkı”; 50-100 ohm.cm² arasında TEER değerine sahip olan epitel hücreler “gevşek”, 300-400 ohm.cm² arasında TEER değerine sahip olan hücreler ise “orta sıkı” epitel hücreler olarak ifade edilmektedir (96). Tez çalışması kapsamında elde edilmiş olan Caco-2 hücre tek tabakasının hücre bütünlüğünün değerlendirilebilmesi için hücrelerin TEER değerleri ölçülmüş, 400 ohm.cm²'nin altında değerlere sahip olan hücreler çalışmaya dahil edilmemiştir.

5.7.2. Permeabilite Çalışmaları

Çalışma kapsamında geliştirilmiş olan ADT formülasyonlarında kullanılan yardımcı maddelerin TMB'nin permeabilitesi üzerine etkisini incelemek için Caco-2 hücre hatları kullanılarak hücre kültürü çalışmaları yapılmıştır. Permeabilite çalışmalarından elde edilen bulgular tüm ADT formülasyonlarındaki TMB'nin permeabilitesinin, etkin maddenin permeabilitesinden daha yüksek olduğunu (Bkz. Tablo 4.12 ve Şekil 4.59), formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin TMB'nin permeabilitesini anlamlı derecede artırdığını göstermektedir ($p < 0,05$). *In vitro* permeabilitede bu artışın, *in vivo* koşullarda sistemik dolaşıma katılan TMB miktarında da artış sağlaması ve *in vivo* biyoyararlanımı da pozitif yönde etkilemesi beklenmektedir.

Geliştirilmiş olan ADT formülasyonlarının permeabilite katsayıları 3,5-6,5 ($\pm 0,05$) $\times 10^{-6}$ cm/s değerleri arasında elde edilmiştir (Bkz. Tablo 4.12). En yüksek permeabilite katsayısı F15 formülasyonunda elde edilmiştir. ADT formülasyonlarının permeabilite katsayıları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Literatürle TMB'nin permeabilitesinin incelendiği bir çalışma mevcut olmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.

Artursson ve ark. ait *in vitro* permeabilite katsayısı (P_{app}) ile *in vivo* biyoyararlanım arasında iyi bir korelasyon olduğunu göstermiştir (178). Lennernas ve ark. farklı emilim mekanizmalarına (pasif geçiş ve taşıyıcı aracılı geçiş) sahip ilaçların Caco-2 hücre kültürü ve *in vivo* çalışmalardan tayin edilen permeabilite katsayılarını karşılaştırmışlardır. Elde edilen bulgular pasif geçişle emilen lipofilik ilaçların (naproksen, metoprolol gibi) her iki yöntemle tayin edilen permeabilite katsayılarının karşılaştırılabilir olduğunu göstermiştir. Atenolol, terbutalin gibi daha hidrofilik yapıya sahip olan ilaçların emiliminin düştüğü ve bu etkin maddelerin parasellüler yolla emilime uğradıklarını belirtilmiştir. Bu ilaçların Caco-2 hücre kültürü ile elde edilmiş olan permeabilite katsayılarının, *in vivo* permeabilite çalışmaları ile elde edilmiş olan permeabilite katsayılarına göre daha düşük olduğu görülmüştür. Lennernas ve ark. Caco-2 hücre kültürü ile permeabilite çalışmalarının pasif geçiş ile emilen ilaçların *in vivo* emilim ve permeabilitesinin belirlenmesinde daha uygun bir yöntem olduğunu vurgulamıştır. Taşıyıcı aracılı geçiş ile taşınan ilaçların (L-dopa, L-lösin) ise Caco-2 hücre kültürü çalışması ile elde edilmiş olan

permeabilite katsayısının, *in vivo* permeabilite çalışmaları sonucunda elde edilen permeabilite katsayısından daha düşük olduğu görülmüştür. Lennernas ve ark. bu durumu substrat bağımlı taşıyıcıların doygunluğa ulaşması sonucu daha yavaş gerçekleşen membran geçişi ile açıklamıştır (179). Literatürde mevcut olan verilere göre, TMB'nin membran geçiş mekanizması ile ilgili bir bilgi mevcut değildir.

Literatürde permeabilite katsayısı $0,4 \times 10^{-6}$ cm/s değerinin altında olan moleküllerin oral emilimlerinin çok zayıf, 7×10^{-6} cm/s değerinin üstünde olan moleküllerin ise oral emilimlerinin çok iyi olduğu bildirilmiştir (177). Ayrıca, Yee etkin maddeleri Caco-2 hücrelerinden permeabilitelerine göre zayıf (0–20%; $P_{app} < 1 \times 10^{-6}$ cm/s), orta (20–70%; $P_{app} 1-10 \times 10^{-6}$ cm/s) ve iyi (70–100%; $P_{app} > 10 \times 10^{-6}$ cm/s) derecede emilen maddeler olarak sınıflandırmıştır (180). Tez kapsamında yapılan çalışmadan elde edilen permeabilite değerleri doğrultusunda TMB orta derecede emilen bir madde olarak sınıflandırılabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Bu tez çalışmasında, literatürde var olan çalışmalar ve ulaşılabilir patent araştırmalarına dayanarak trimetobenzamit hidroklorürün Türkiye’de ve uluslararası kapsamda ağızda dağılan tablet formülasyonuna veya bu konu ile ilgili yapılmış herhangi bilimsel bir çalışmaya rastlanılmamış olması nedeniyle trimetobenzamit hidroklorürün ağızda dağılan tablet formülasyonlarının geliştirilmesi tez konusu olarak belirlenmiştir.
- Tez kapsamında, tezin içeriği ve çalışma süresince yapılan deneysel analizler açısından, benzer veya daha ileri çalışmalar yapacak olan araştırmalara fikir vermesi, yol göstermesi amacıyla, trimetobenzamit hidroklorür içeren farklı formülasyonlar kullanılarak ve farklı üretim teknikleri ile ağızda dağılan tabletler geliştirilmiş, geliştirilmiş olan tabletler üzerinde farmakopelerde belirtilmiş ve literatürde önerilmiş olan *in vitro* çalışmalarla tabletlerin karakterizasyonları yapılmış, optimum formülasyona ulaşılmaya çalışmıştır.
- Direkt basım yöntemiyle basılmış olan tabletlerde olarak %40 ve %42,5 konsantrasyonlarında süperdağıtıcı olarak Ludiflash[®], Parateck[®] ve Granfiller-D[®] içeren; dağıtıcı olarak ise %12 ve %6 konsantrasyonlarda Ac-Di-Sol[®], %5 ve %7,5 konsantrasyonlarda sodyum nişasta glikolat içeren on altı farklı ağızda dağılan tablet formülasyonu (F1-F16) geliştirilmiştir.
- Dondurarak kuruma yöntemiyle hazırlanan formülasyonlarda %2 ve %4 konsantrasyonlarda jelatin kullanılarak 2 farklı ağızda dağılan tablet formülasyonu (F17 ve F18) geliştirilmiştir.
- Tabletler basılırken kullanılan basım kuvvetinin formülasyonlar arasında farklılık göstermesine bağlı olarak direkt basım yöntemi ile elde edilen tabletlerde sertlik değerleri birbirinden farklı bulunmuştur. Dondurarak kurutma tekniği ile elde edilen tabletlerde ise sertlik değerlerinin, jelatin konsantrasyonu ile orantılı olarak arttığı görülmüştür.
- Geliştirilmiş olan tüm ağızda dağılan tablet formülasyonlarında kırılma değeri %1’in altında bulunmuştur.
- Direkt basım tekniği ile elde edilmiş olan tabletlerin tablet ağırlıkları, ortalama \pm %5 limit değerleri aralığında bulunmuş, tabletlerde ağırlık sapması olmadığı

görülmüştür. Dondurarak kurutma tekniği ile elde edilen tabletlerde ise formülasyonlarda 500 mg olarak hedeflenmiş olan toplam tablet ağırlığının elde edilemediği görülmüştür. Ancak elde edilen tabletlerin tablet ağırlıkları, ortalama \pm %5 limit değerleri aralığında bulunmuştur.

- Dondurarak kurutma tekniği ile elde edilmiş tabletlerin 3 dakikadan daha kısa sürede dağıldığı, direkt basım tekniği ile elde edilmiş formülasyonlardan F16'nın hem distile suda hem yapay tükürük ortamında (pH 6,8); F4, F8, ve F15'in sadece yapay tükürük ortamında (pH 6,8) 3 dakika içerisinde dağılmadığı görülmüştür. Direkt basımla hazırlanan tabletlerde
 - Ac-Di-Sol[®] konsantrasyonunun %6'dan %12'ye yükseltilmesi ile tabletlerin distile suda ve yapay tükürük ortamında (pH 6,8) dağılma süresinin kısaldığı görülmüştür. Ac-Di-Sol[®] konsantrasyonunun %12 olduğu formülasyonlarda süperdağıtıcı konsantrasyonundaki artışının Ludiflash[®] ve Granfiller-D[®] içeren formülasyonların dağılma süresini kısalttığı, ancak Parateck[®] içeren formülasyonların dağılma süresini kısmen uzattığı görülmüştür.
 - Ac-Di-Sol[®] konsantrasyonu %6 olan formülasyonlarda süperdağıtıcı konsantrasyon artışının tabletlerin dağılmasını uzattığı görülmüştür.
 - Süperdağıtıcıların konsantrasyonlarındaki artışın tabletlerin dağılma sürelerini büyük oranda etkilemediği görülmüştür.
 - Sodyum nişasta glikolatın konsantrasyonunun %5'ten % 7,5'a çıkartılmasının tabletlerin dağılmasını geciktirdiği görülmüştür.
- Artan konsantrasyonda sodyum nişasta glikolatın, tabletlerin ıslanma ve dağılma süresini uzattığı, su absorplama kapasitesini düşürdüğü görülmüştür.
- Ac-Di-Sol[®] konsantrasyonundaki artışın tabletlerin ıslanma ve dağılma süresini kısalttığı, su absorplama kapasitesini artırdığı görülmüştür.
- Dondurarak kurutma tekniği ile elde edilmiş tabletlerin porozitesinin, direkt basım tekniği ile elde edilmiş tabletlerden daha yüksek olduğu görülmüştür.
- Geliştirilmiş olan tüm ağızda dağılan tablet formülasyonları ve konvansiyonel tabletlerin çözünme profillerinin benzerlik faktörü tüm formülasyonlar için 50'in altında elde edilmiştir. Geliştirilmiş olan ağızda dağılan tablet formülasyonlarının çözünme profillerinin, konvansiyonel tabletin çözünme profiline benzemediği

ancak F3, F4, F11, F12, F15, F17 ve F18 formülasyonlarının konvansiyonel tablete göre daha yüksek çözünme değerlerine (%) ulaştığı görülmüştür.

- DSC analizi sonuçlarına göre trimetobenzamit hidroklorür ile laktoz monohidrat, sodyum nişasta glikolat ve PEG 4000'in yüksek sıcaklıkta etkileşimi olduğu düşünülmektedir. Termal olmayan yöntemlerle (FT-IR, X-ışınımı kırınımı analizi gibi) etkileşim olup olmadığı araştırılmalıdır.
- Ağızda dağılan tablet formülasyonlarının üretilmesi sırasında trimetobenzamit hidroklorürün kristal ve kimyasal yapısının bozulmadığı görülmüştür.
- Geliştirilmiş olan tüm ağızda dağılan tablet formülasyonlarındaki trimetobenzamit hidroklorür permeabilitesi, trimetobenzamit hidroklorür tozun permeabilitesinden daha yüksek elde edilmiştir. Formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin trimetobenzamit hidroklorürün permeabilitesini artırdığı görülmüştür.
- Caco-2 hücre kültürü ile permeabilite çalışmalarına ek olarak, etkin maddenin ağızdan emiliminin değerlendirilmesi için bukkal hücre kültürü çalışmaları önerilmektedir.
- Optimum formülasyona ulaşabilmek için; diğer *in vitro* analiz sonuçları uygun olan F2 ve F5 formülasyonlarının çözünmesinin iyileştirmesi için; F3 ve F4 formülasyonlarının dağılma süresinin kısaltılması için formülasyon iyileştirme çalışmaları yapılması önerilmektedir. İyileştirilmiş olan formülasyonların uzun dönem ve stres koşulları altında stabilite çalışmaları yapılarak, formülasyonların raf ömrü boyunca kararlı kaldığının gösterilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak, bu tez çalışması kapsamında, Türkiye'de ve dünyada henüz ağızda dağılan tablet formülasyonu bulunmayan trimetobenzamit hidroklorürün ağızda dağılan tablet formülasyonunun geliştirilmesi için ileri formülasyon çalışmalarına fikir sağlayacak olan formülasyonlar elde edilmiştir. Geliştirilmiş olan bu formülasyonlar iyileştirilerek, hastaların daha rahat ve güvenle kullanabileceği, hasta uyuncunu ve tedavi başarısını artıracak ticari amaçlı formülasyon çalışmaları yapılabilir.

KAYNAKLAR

1. Abay FB, Ugurlu T. *Orally disintegrating tablets: A short review*. Journal of Pharmaceutics & Drug Development. 2015; 3(3): 1-8.
2. Yapar, EA. *Orally disintegrating tablets: An overview*. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2014; 4(2): 118-125.
3. *Orodispersible Tablets*, in *European Pharmacopoeia*, C.o. Europe, Editor. 2019, European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM): France. p. 4792.
4. *Guidance for Industry Orally Disintegrating Tablets*. 2008, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER).
5. Guhmann M, Preis M, Gerber F, Pöllinger N, Breitzkreutz J, Weitschies W. *Design, development and in-vitro evaluation of diclofenac taste-masked orodispersible tablet formulations*. Drug Development and Industrial Pharmacy. 2015; 41(4): 540-551.
6. Kilburn LB, Kocak M, Baxter P, Poussaint TY, Paulino AC, McIntyre C, ve ark. *A pediatric brain tumor consortium phase II trial of capecitabine rapidly disintegrating tablets with concomitant radiation therapy in children with newly diagnosed diffuse intrinsic pontine gliomas*. Pediatric Blood & Cancer. 2018; 65(2): 26832-26839.
7. Mishra B, Khan R, Rajoriya M, Kharia A.. *Formulation and evaluation of fast dissolving tablet of glimepiride*. Current Research in Pharmaceutical Sciences. 2016; 06(02) : 50-54.
8. Sharma D, Singh G, Kumar D, Singh M. *Formulation development and evaluation of fast disintegrating tablets of salbutamol sulphate, cetirizine hydrochloride in combined pharmaceutical dosage form: a new era in novel drug delivery for pediatrics and geriatrics*. Journal of Drug Delivery. 2015: 1-10.
9. Yasmin R, Shoaib MH, Qazi F, Nasiri MI, Ali T, Ali H, ve ark. *Formulation development and in-vitro evaluation of fast dispersible, taste masked Aceclofenac compacted pellets*. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 2019; 32(1): 117-123.
10. Badgujar B, A. Mundada. *The technologies used for developing orally disintegrating tablets: A review*. Acta Pharmaceutica. 2011; 61(2): 117-139.
11. Nagar P, Singh K, Chauhan I, Verma M, Yasir M, Khan A, ve ark. *Orally disintegrating tablets: Formulation, preparation techniques and evaluation*. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2011; 1(04): 35-45.
12. Manivannan R. *Oral disintegrating tablets: A future compaction*. Drug Invention Today. 2009; 1(1): 61-65.
13. Panigrahi R, Behera SP, Panda CS. *A review on fast dissolving tablets*. WebmedCentral Pharmaceutical Sciences. 2010; 1(11): 1-15.

14. Parkash V, Maan S, Deepika, Yadav SK, Hemlata, Jogpal V. *Fast disintegrating tablets: Opportunity in drug delivery system*. Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research. 2011; 2(4): 223–235.
15. Yadav G, Kapoor A, Bhargava S. *Fast dissolving tablets recent advantages: A review*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2012; 3(3): 728 -736.
16. Dharwal SJ, Shukla SS, Pandey R, Verma A, Thakur VD, Shrivastava S ve ark. *Orally disintegrating tablets: A complete review on methodology*. Asian Journal of Research in Pharmaceutical Science. 2013; 3(4): 161-169.
17. Gupta A, Mishra AK, Gupta V, Bansal P, Singh R, Singh AK. *Recent trends of fast dissolving tablet-An overview of formulation technology*. International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives. 2010; 1(1): 1-10.
18. Nakamura H, Uchida S, Sugiura T, Namiki N. *The prediction of the palatability of orally disintegrating tablets by an electronic gustatory system*. International Journal of Pharmaceutics. 2015; 493(1-2): 305-312.
19. Sahoo S, Mishra B, Biswal PK, Panda O, Mahapatra SK, Jana GK. *Fast Dissolving Tablet: As a potential drug delivery system*. Drug Invention Today. 2010; 2(2): 130-133.
20. Sastry SV, Nyshadham JR, Fix JA. *Recent technological advances in oral drug delivery—A review*. Pharmaceutical Science & Technology Today. 2000; 3(4): 138-145.
21. Nayak AK, Manna K. *Current developments in orally disintegrating tablet technology*. Journal of Pharmaceutical Education and Research. 2011; 2(1): 21-34.
22. Thakur RR, Rathore DS, Narwal S. *Orally disintegrating preparations: Recent advancement in formulation and technology*. Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2012; 2(3): 87-96.
23. Bharawaj S, Jain V, Sharma S, Jat RC, Jain S. *Orally Disintegrating Tablets: A review*. Drug Invention Today. 2010; 2(1): 81-88.
24. Pahwa R, Piplani M, Sharma PC, Kaushik D, Nanda S. *Orally disintegrating tablets-Friendly to pediatrics and geriatrics*. Archives of Applied Science Research. 2010; 2(2): 35-48.
25. Hirani JJ, Rathod DA, Vadalía KR. *Orally disintegrating tablets: A review*. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2009; 8(2): 161-172.
26. Wagh MA, Dilip KP, Salunkhe KS, Chavan NV, Daga VR. *Techniques used in orally disintegrating drug delivery system*. International Journal of Drug Delivery. 2010; 2(2): 98-107.
27. Siddiqui MN, Garg G, Sharma PK. *Fast dissolving tablets: Preparation, characterization and evaluation: An overview*. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 2010; 4(2): 87-96.

28. Ganesh NS, Deshpande KB. *Orodispersible tablets: An overview of formulation and technology*. International Journal of Pharma and Bio Sciences. 2011; 2(1): 728-729.
29. Roy A. *Orodispersible tablets: A review*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2016; 9(1): 21-23.
30. Jeong SH, Takaishi Y, Fu Y, Park K. *Material properties for making fast dissolving tablets by a compression method*. Journal of Materials Chemistry. 2008; 18(30): 3527-3535.
31. Prateek S, Ramdayak G, Kumar SU, Ashwani C, Ashwini G, Mansi S. *Fast dissolving tablets: A new venture in drug delivery*. American Journal of PharmTech Research. 2012; 2(4): 252-279.
32. Arora P, Sethi VA. *Orodispersible tablets: A comprehensive review*. International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences. 2013; 2(2): 270-84.
33. Kumar GD, Meenakshi B, Chatterjee DP. *Fast mouth dissolving disintegrating tablet and patient counselling points for fast-dissolving/disintegrating tablet-A reviews*. International Journal of Research and Development in Pharmacy & Life Sciences. 2014; 3(3): 1-9.
34. Ré MI. *Formulating drug delivery systems by spray drying*. Drying Technology. 2006; 24(4): 433-446.
35. Zhao R, Sun J, Torley P, Wang D, Niu S. *Measurement of particle diameter of Lactobacillus acidophilus microcapsule by spray drying and analysis on its microstructure*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2008; 24(8): 1349-1354.
36. Prajapati BG, Ratnakar N. *A review on recent patents on fast dissolving drug delivery system*. International Journal of PharmTech Research. 2009; 1(3): 790-798.
37. Shihora H, Panda S. *Superdisintegrants, utility in dosage forms: A quick review*. Journal of Pharmaceutical Science and Bioscientific Research. 2011; 1(3): 148-53.
38. Mohanachandran P, Sindhumol P, Kiran T. *Superdisintegrants: An overview*. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 2011; 6(1): 105-109.
39. Gauri S, Kumar G. *Fast dissolving drug delivery and its technologies*. The Pharma Innovation. 2012; 1(2): 34-39.
40. Shukla D, Chakraborty S, Singh S, Mishra B. *Mouth dissolving tablets I: An overview of formulation technology*. Scientia Pharmaceutica. 2009; 77(2): 309-326.
41. Goineau S, Castagné V. *Comparison of three preclinical models for nausea and vomiting assessment*. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 2016; 82: 45-53.

42. Kenward H, Pelligand L, Bataille KS, Elliott J. *Nausea: Current knowledge of mechanisms, measurement and clinical impact*. The Veterinary Journal. 2015; 203(1): 36-43.
43. Balaban CD, Yates BJ. *What is nausea? A historical analysis of changing views*. Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical. 2017; 202: 5-17.
44. Johnston KD, Lu Z, Rudd JA. *Looking beyond 5-HT₃ receptors: A review of the wider role of serotonin in the pharmacology of nausea and vomiting*. European Journal of Pharmacology. 2014; 722: 13-25.
45. Andrews PL, Horn CC. *Signals for nausea and emesis: Implications for models of upper gastrointestinal diseases*. Autonomic Neuroscience. 2006; 125(1-2): 100-115.
46. Keeley PW. *Nausea and vomiting in people with cancer and other chronic diseases*. BMJ Clinical Evidence. 2009; 01: 1-35.
47. Pleuvry BJ. *Physiology and pharmacology of nausea and vomiting*. Anaesthesia & Intensive Care Medicine. 2006; 7(12): 473-477.
48. Gregory RE, Ettinger DS. *5-HT₃ receptor antagonists for the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting*. Drugs. 1998; 55(2): 173-189.
49. Denholm L, Gallagher G. *Physiology and pharmacology of nausea and vomiting*. Anaesthesia & Intensive Care Medicine. 2018; 19(9): 513-516.
50. Diemunsch P, Grélot L. *Potential of substance P antagonists as antiemetics*. Drugs. 2000; 60(3): 533-546.
51. Baines MJ. *ABC of palliative care. Nausea, vomiting, and intestinal obstruction*. BMJ: British Medical Journal. 1997; 315(7116): 1148-1150.
52. Haft WA, McAfee R. *Antiemetics 14*. Basic Clinical Anesthesia, Springer. 2015; 1: 159-164.
53. Gordon P, LeGrand SB, Walsh D. *Nausea and vomiting in advanced cancer*. European Journal of Pharmacology. 2014; 722: 187-191.
54. Gan TJ. *Selective serotonin 5-HT₃ receptor antagonists for postoperative nausea and vomiting*. CNS Drugs. 2005; 19(3): 225-238.
55. Wolf H. *Preclinical and clinical pharmacology of the 5-HT₃ receptor antagonists*. Scandinavian Journal of Rheumatology. 2000; 29(113): 37-45.
56. Sanger GJ, Andrews PL. *Treatment of nausea and vomiting: Gaps in our knowledge*. Autonomic Neuroscience. 2006; 129(1-2): 3-16.
57. Kovac AL. *Prevention and treatment of postoperative nausea and vomiting*. Drugs. 2000; 59(2): 213-243.
58. Golembiewski J, Chernin E, Chopra T. *Prevention and treatment of postoperative nausea and vomiting*. American Journal of Health-System Pharmacy. 2005; 62(12): 1247-1260.
59. Harris DG. *Nausea and vomiting in advanced cancer*. British Medical Bulletin. 2010; 96(1): 175-185.

60. Davis MP, Walsh D. *Treatment of nausea and vomiting in advanced cancer*. Supportive Care in Cancer. 2000; 8(6): 444-452.
61. Borda I, Jick H. *Hepatitis following the administration of trimethobenzamide hydrochloride*. Archives of Internal Medicine. 1967; 120(3): 371-373.
62. *Trimethobenzamide* [Internet]. 2019 [Erişim Tarihi 23 Ağustos 2019]. Erişim adresi: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00662>.
63. *Trimethobenzamide hydrochloride*, in *Analytical Profiles of Drug Substances*, K. Florey, Editor. 1973, Academic Press, Inc.: New York and London. p. 551-570.
64. *Trimethobenzamide hydrochloride*, in *Martindale The Complete Drug Reference*, S.C. Sweetman, Editor. 2009, Pharmaceutical Press. p. 592.
65. *Trimethobenzamide hydrochloride*, in *United States Pharmacopeia and National Formulary USP 30–NF 25*. 2007, The United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville. p. 3418.
66. *Trimethobenzamide hydrochloride injection*, in *United States Pharmacopeia and National Formulary USP 30–NF 25*. 2007, The United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville. p. 3418.
67. *Trimethobenzamide hydrochloride capsules*, in *United States Pharmacopeia and National Formulary USP 41–NF 36*. 2018, The United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville. p. 4224.
68. *Tigan[®] (trimethobenzamide hydrochloride) Capsules* [Internet]. 2008 [Erişim tarihi: 28 Temmuz 2019]. Erişim adresi: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2008/017530s024lbl.pdf
69. Goksu Erol AY, Gokcimen A, Ozdemir O. *Growth failure, tardive dyskinesia, megacolon development, and hepatic damage in neonatal rats following exposure to trimethobenzamide in utero*. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. 2011; 24(9): 1176-1180.
70. Friedman BW, Hochberg M, Esses D, Bijur PE, Corbo J, Paternoster J ve ark. *A Clinical trial of trimethobenzamide/ diphenhydramine versus sumatriptan for acute migraines: CME*. Headache: The Journal of Head and Face Pain. 2006; 46(6): 934-941.
71. Ahlskog JE. *Trimethobenzamide in elderly patients*. Mayo Clinic Proceedings. 2004; 79(6): 829.
72. Hauser RA, Isaacson S, Clinch T. *Randomized, placebo-controlled trial of trimethobenzamide to control nausea and vomiting during initiation and continued treatment with subcutaneous apomorphine injection*. Parkinsonism & Related Disorders. 2014; 20(11): 1171-1176.
73. Unti E, Ceravolo R, Bonuccelli U. *Apomorphine hydrochloride for the treatment of Parkinson's disease*. Expert Review of Neurotherapeutics. 2015; 15(7): 723-732.

74. *Full Prescribing Information TIGAN® (trimethobenzamide hydrochloride) capsule, for oral use* [Internet]. 2008 [Erişim tarihi: 28 Temmuz 2019]. Erişim adresi: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2008/017531s013lbl.pdf.
75. Fazliogullari Z, Karabulut AK, Uysal II, Dogan NU, Acar H. *Investigation of developmental toxicity and teratogenicity of antiemetics on rat embryos cultured in vitro*. *Anatomia, Histologia, Embryologia*. 2013; 42(4): 239-246.
76. *Tigan® (trimethobenzamide hydrochloride) Capsules/Suppositories/Injectable* [Internet]. 2004 [Erişim tarihi: 23 Ağustos 2019], Erişim adresi: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2005/017530s021,022,023lbl.pdf.
77. *Trimethobenzamide hydrochloride suppositories*. [Internet]. 2007 [Erişim tarihi: 13 Eylül 2019]. Erişim adresi: <https://wayback.archive-it.org/7993/20170112170341/http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/ucm152962.htm>
78. Quaroni A, Hochman J. *Development of intestinal cell culture models for drug transport and metabolism studies*. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1996; 22(1-2): 3-52.
79. Schaffer WI. *Terminology associated with cell, tissue and organ culture, molecular biology and molecular genetics*. In *Vitro Cellular & Developmental Biology*. 1990; 26(1): 97-101.
80. Langerholc T, Maragkoudakis PA, Wollgast J, Gradisnik L, Cencic A. *Novel and established intestinal cell line models—An indispensable tool in food science and nutrition*. *Trends in Food Science & Technology*. 2011; 22: S11-S20.
81. Stenberg P, Luthman K, Artursson P. *Virtual screening of intestinal drug permeability*. *Journal of Controlled Release*. 2000; 65(1-2): 231-243.
82. Ölmez, SS. *Klozapin içeren ağızda dağılan tablet formülasyonu geliştirilmesi, in vitro ve in vivo yöntemlerle değerlendirilmesi* [Doktora tezi]. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 2010.
83. Balimane PV, Chong S, Morrison RA. *Current methodologies used for evaluation of intestinal permeability and absorption*. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 2000; 44(1): 301-312.
84. Balimane PV, Chong S. *Cell culture-based models for intestinal permeability: A critique*. *Drug Discovery Today*. 2005; 10(5): 335-343.
85. Hamman JH, Enslin GM, Kotzé AF. *Oral delivery of peptide drugs*. *BioDrugs*. 2005; 19(3): 165-177.
86. Shah P, Jogani V, Bagchi T, Misra A. *Role of Caco-2 cell monolayers in prediction of intestinal drug absorption*. *Biotechnology Progress*. 2006; 22(1): 186-198.
87. Tsuji A, Tamai I. *Carrier-mediated intestinal transport of drugs*. *Pharmaceutical Research*. 1996; 13(7): 963-977.

88. Swaan PW. *Recent advances in intestinal macromolecular drug delivery via receptor-mediated transport pathways*. *Pharmaceutical Research*. 1998; 15(6): 826-834.
89. Makhey VD, Guo A, Norris DA, Hu P, Yan J, Sinko PJ. *Characterization of the regional intestinal kinetics of drug efflux in rat and human intestine and in Caco-2 cells*. *Pharmaceutical Research*. 1998; 15(8): 1160-1167.
90. 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*. *Pharmaceutical Research*. 1996; 13(4): 528-534.
91. Shapiro AB, Ling V. *Positively cooperative sites for drug transport by P-glycoprotein with distinct drug specificities*. *European Journal of Biochemistry*. 1997; 250(1): 130-137.
92. Sevin E, Dehuck L, Costa FA, Cecchelli R, Dehouck MP, Lundquist S, ve ark. *Accelerated Caco-2 cell permeability model for drug discovery*. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 2013; 68(3): 334-339.
93. Billat PA, Roger E, Faure S, Lagarce F. *Models for drug absorption from the small intestine: Where are we and where are we going?*. *Drug Discovery Today*. 2017; 22(5): 761-775.
94. Awortwe C, Fasinu P, Rosenkranz B. *Application of caco-2 cell line in herb-drug interaction studies: Current approaches and challenges*. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2014; 17: 1-19.
95. Sambuy Y, Angelis ID, Ranaldi G, Scarino ML, Stamatii A. *The caco-2 cell line as a model of the intestinal barrier: Influence of cell and culture-related factors on caco-2 cell functional characteristics*. *Cell Biology and Toxicology*. 2005; 21(1): 1-26.
96. Srinivasan B, Kolli AR, Esch MB, Abaci HE, Shuler ML, Hickman JJ. *TEER measurement techniques for in vitro barrier model systems*. *Journal of Laboratory Automation*. 2015; 20(2): 107-126.
97. Volpe DA. *Variability in caco-2 and MDCK cell-based intestinal permeability assays*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008; 97(2): 712-725.
98. Guideline, I.H.T. *Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1)*. in *International conference on harmonization, Geneva, Switzerland*. 2005.
99. Green JM. *Peer reviewed: A practical guide to analytical method validation*. *Analytical Chemistry*. 1996; 68(9): 305A-309A.
100. Patil ST, Ahirrao RA, Pawar SP. *A short review on method validation*. *Journal of Pharmaceutical and BioSciences*. 2017; 5(4): 30-37.
101. *Powder Flow*, in *United States Pharmacopeia and National Formulary USP 41-NF 36*. 2018, The United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville. p. 7481-7483.

102. *Bulk Density and Tapped Density of Powders*, in *United States Pharmacopeia and National Formulary USP 41–NF 36*. 2018, The United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville. p. 6360-6362.
103. *Uniformity of Mass of Single-Dose Preparations*, in *European Pharmacopoeia*, C.o. Europe, Editor. 2019, European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM): France. p. 311-312.
104. *Friability of Uncoated Tablets*, in *European Pharmacopoeia*, C.o. Europe, Editor. 2019, European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM): France. p. 312-313.
105. *Disintegration of Tablets and Capsules*, in *European Pharmacopoeia*, C.o. Europe, Editor. 2019, European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM): France. p. 299-301.
106. Marques MR, Loebenberg R, Almukainzi M. *Simulated biological fluids with possible application in dissolution testing*. *Dissolution Technologies*. 2011; 18(3): 15-28.
107. *Biopharmaceutics Classification System-Based Biowaivers*. 2018, International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use.
108. *Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System*. 2017, U.S. Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER).
109. Jadhav SD, Butle SR, Patil SD, Jagtap PK. *Validated stability indicating RP-HPLC method for simultaneous determination and in vitro dissolution studies of thiocolchicoside and diclofenac potassium from tablet dosage form*. *Arabian Journal of Chemistry*. 2015; 8(1): 118-128.
110. Saharan VA. *Current advances in drug delivery through fast dissolving/disintegrating dosage forms*. Sharjah: Bentham Science Publishers; 2017. Chapter 6, *Excipients for fast dissolving/disintegrating tablets*; p.175-212.
111. Aksu B, Yegen G, Purisa S, Cevher E, Ozsoy Y. *Optimisation of ondansetron orally disintegrating tablets using artificial neural networks*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2014; 13(9): 1374-1383.
112. Güncan G, Yeğen G, Mesut B, Aksu B, Özsoy Y. *Formulation design of the oral disintegrating tablets including alfuzosin hydrochloride with risk evaluation via quality by design*. *Acta Pharmaceutica Scientia*. 2017; 55(2): 57-76.
113. Roblegg E, Schrank S, Griesbacher M, Radi S, Zimmer A, Khinast J. *Use of the direct compression aid ludiflash® for the preparation of pellets via wet extrusion/spheronization*. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2011; 37(10): 1231-1243.

114. Petrovick, G.F. *Orodispersible tablets containing taste-masked lipid pellets with metformin hydrochloride for use by elderly patients* [PhD thesis]. Düsseldorf: Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf; 2015.
115. Zhao N, Augsburger LL. *Functionality comparison of 3 classes of superdisintegrants in promoting aspirin tablet disintegration and dissolution*. AAPS PharmSciTech. 2005; 6(4): E634-E640.
116. Tanuwijaya J, Karsono. *The effects of crospovidone and croscarmellose sodium as superdisintegrants on the characteristics of piroxicam nanoparticles ODT (orally disintegrating tablet)*. International Journal of PharmTech Research. 2013; 5(4): 1590-1597.
117. Young PM, Edge S, Staniforth JN, Steele F, Price R. *Dynamic vapor sorption properties of sodium starch glycolate disintegrants*. Pharmaceutical Development and Technology. 2005; 10(2): 249-259.
118. *Sodium starch glycolate*, in *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, P.J.S. Raymond C Rowe, Sian C Owen, Editor. 2006, the Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association. p. 701-704.
119. Desai PM, Er PXH, Liew CV, Heng PWS. *Functionality of disintegrants and their mixtures in enabling fast disintegration of tablets by a quality by design approach*. AAPS PharmSciTech. 2014; 15(5): 1093-1104.
120. *Croscarmellose sodium*, in *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, P.J.S. Raymond C Rowe, Sian C Owen, Editor. 2006, the Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association. p. 211-213.
121. Abd El-Bary A, Shalaby SH, El Nabarawi MA, Abouhoussein DMN. *Formulation and evaluation of sertraline HCl sublingual oral disintegrating tablets using factorial design*. Inventi Rapid: Pharm Tech. 2015; 2015(1): 56-63.
122. El Rasoul SA, Shazly GA. *Propafenone HCl fast dissolving tablets containing subliming agent prepared by direct compression method*. Saudi Pharmaceutical Journal. 2017; 25(7): 1086-1092.
123. Kumar A, Saharan VA. *A comparative study of different proportions of superdisintegrants: Formulation and evaluation of orally disintegrating tablets of salbutamol sulphate*. Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences. 2017; 14(1): 40-48.
124. Jivraj M, Martini LG, Thomson CM. *An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets*. Pharmaceutical Science & Technology Today. 2000; 3(2): 58-63.
125. 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 Development and Industrial Pharmacy. 2015; 41(4): 583-593.
126. Wang J, Wen H, Desai D. *Lubrication in tablet formulations*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2010; 75(1): 1-15.

127. Chang RK, Leonzio M, Hussain MU, Hussain MA. *Effect of colloidal silicon dioxide on flowing and tableting properties of an experimental, crosslinked polyalkylammonium polymer*. *Pharmaceutical Development and Technology*. 1999; 4(2): 285-289.
128. Jonat S, Hasenzahi 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*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2004; 93(10): 2635-2644.
129. *Colloidal silicon dioxide*, in *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, P.J.S. Raymond C Rowe, Sian C Owen, Editor. 2006, the Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association. p. 188-191.
130. Mullarney MP, Hancock BC, Carlson GT, Ladipo DD, Langdon BA. *The powder flow and compact mechanical properties of sucrose and three high-intensity sweeteners used in chewable tablets*. *International Journal of Pharmaceutics*. 2003; 257(1-2): 227-236.
131. Ahmed IS, Shamma RN, Shoukri RA. *Development and optimization of lyophilized orally disintegrating tablets using factorial design*. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2013; 18(4): 935-943.
132. Stange U, Führling C, Gieseler H. *Influence of non-water-soluble placebo pellets of different sizes on the characteristics of orally disintegrating tablets manufactured by freeze-drying*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013; 102(6): 1786-1799.
133. AlHusban F, Perrie Y, Mohammed AR. *Formulation and characterisation of lyophilised rapid disintegrating tablets using amino acids as matrix forming agents*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2010; 75(2): 254-262.
134. Chandrasekhar R, Hassan Z, AlHusban F, Smith AM, Mohammed AR. *The role of formulation excipients in the development of lyophilised fast-disintegrating tablets*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2009; 72(1): 119-129.
135. *Sodium alginate*, in *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, P.J.S. Raymond C Rowe, Sian C Owen, Editor. 2006, the Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association. p. 656-658.
136. *Hypromellose*, in *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, P.J.S. Raymond C Rowe, Sian C Owen, Editor. 2006, the Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association. p. 346-349.
137. Saharan V, Kukkar V, Kataria M, Gera M, Choudhury P. *Dissolution enhancement of drugs. Part I: Technologies and effect of carriers*. *International Journal of Health Research*. 2009; 2(2): 107-124.
138. *Polyethylene glycol*, in *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, P.J.S. Raymond C Rowe, Sian C Owen, Editor. 2006, the Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association. p. 545-550.

139. *Poloxamer*, in *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, P.J.S. Raymond C Rowe, Sian C Owen, Editor. 2006, the Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association. p. 535-538.
140. Bahadur P, Li P, Almgren M, Brown W. *Effect of potassium fluoride on the micellar behavior of Pluronic F-68 in aqueous solution*. *Langmuir*. 1992; 8(8): 1903-1907.
141. Fitzpatrick JJ, Barry K, Cerqueira PSM, Iqbal T, O'Neill J, Roos YH. *Effect of composition and storage conditions on the flowability of dairy powders*. *International Dairy Journal*. 2007; 17(4): 383-392.
142. Faqih AMN, Mehrotra A, Hammond SV, Muzzio FJ. *Effect of moisture and magnesium stearate concentration on flow properties of cohesive granular materials*. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007; 336(2): 338-345.
143. Patil MG, Kakade SM, Pathade SG. *Formulation and evaluation of orally disintegrating tablet containing tramadol hydrochloride by mass extrusion technique*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2011; 1(6): 178-181.
144. Sun CC. *Mechanism of moisture induced variations in true density and compaction properties of microcrystalline cellulose*. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008; 346(1-2): 93-101.
145. Late SG, Yu YY, Banga AK. *Effects of disintegration-promoting agent, lubricants and moisture treatment on optimized fast disintegrating tablets*. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009; 365(1-2): 4-11.
146. Crouter A, Briens L. *The effect of moisture on the flowability of pharmaceutical excipients*. *Aaps Pharmscitech*. 2014; 15(1): 65-74.
147. Gaikwad VL, Bhatia MS, Singhvi I. *Effect of polymeric properties on physical characteristics of fast disintegrating ibuprofen tablets: A statistical approach*. *Der Pharmacia Lettre*. 2013; 5: 140-147.
148. Jung SY, Kim DW, Seo YG, Woo JS, Yong CS, Choi HG. *Development of sildenafil-loaded orally disintegrating tablet with new lactate salt*. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2012; 38(5): 635-641.
149. Marais AF, Song M, de Villiers MM. *Effect of compression force, humidity and disintegrant concentration on the disintegration and dissolution of directly compressed furosemide tablets using croscarmellose sodium as disintegrant*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2003; 2(1): 125-135.
150. Shoukri RA, Ahmed IS, Shamma RN. *In vitro and in vivo evaluation of nimesulide lyophilized orally disintegrating tablets*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2009; 73(1): 162-171.
151. Battu SK, Repka MA, Majumdar S, Rao M. *Formulation and evaluation of rapidly disintegrating fenoverine tablets: Effect of superdisintegrants*. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2007; 33(11): 1225-1232.
152. Setty CM, Prasad DVK, Gupta VRM, Sa B. *Development of fast dispersible aceclofenac tablets: Effect of functionality of superdisintegrants*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008; 70(2): 180-185.

153. Yamamoto Y, Fujii M, Watanabe K, Tsukamoto M, Shibata Y, Kondoh M, et al. *Effect of powder characteristics on oral tablet disintegration*. International Journal of Pharmaceutics. 2009; 365(1-2): 116-120.
154. Jain C, Naruka P. *Formulation and evaluation of fast dissolving tablets of valsartan*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2009; 1(1): 219-226.
155. Singh SK, Mishra DN, Jassai R, Soni P. *Fast disintegrating combination tablets of omeprazole and domperidone*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2009; 2(3): 74-82.
156. Kraemer J, Gajendran J, Guillot A, Schichtel J, Tuereli A. *Dissolution testing of orally disintegrating tablets*. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2012; 64(7): 911-918.
157. Gryczke A, Schminke S, Maniruzzaman M, Beck J, Douroumis D. *Development and evaluation of orally disintegrating tablets (ODTs) containing Ibuprofen granules prepared by hot melt extrusion*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2011; 86(2): 275-284.
158. Amelian A, Winnicka K. *Effect of the type of disintegrant on the characteristics of orally disintegrating tablets manufactured using new ready-to-use excipients (Ludiflash[®] or Parteck[®]) by direct compression method*. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2012; 6(31): 2359-67.
159. Pabari RM, Ramtoolsa Z. *Application of face centred central composite design to optimise compression force and tablet diameter for the formulation of mechanically strong and fast disintegrating orodispersible tablets*. International Journal of Pharmaceutics. 2012; 430(1-2): 18-25.
160. Di Martino P, Martelli S, Wehrlé P. *Evaluation of different fast melting disintegrants by means of a central composite design*. Drug Development and Industrial Pharmacy. 2005; 31(1): 109-121.
161. Dressman JB, Amidon GL, Reppas C, Shah VP. *Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: Immediate release dosage forms*. Pharmaceutical Research. 1998; 15(1): 11-22.
162. Nagasamy VD, Kiran HC, Shashikumar S, Karmacharya J, Priya VK, Bhavitha K, Shrestha A. *Orally disintegrating tablets (ODTs)- A comprehensive review*. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2015; 4(08): 382-404.
163. Klancke J. *Dissolution testing of orally disintegrating tablets*. Dissolution Technologies. 2003; 10(2): 6-9.
164. Astha V, Deepak B, Vaminee M. *Orally disintegrating tablet: Boon for market and franchises: A review*. International Journal of Drug Formulations & Research. 2010; 1: 55-64.
165. Chadha R, Bhandari S. *Drug-excipient compatibility screening—Role of thermoanalytical and spectroscopic techniques*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2014; 87: 82-97.

166. Abdel Halim S. *Formulation of new sildenafil citrate-caffeine orally disintegrating tablets: In vitro and in vivo evaluation*. Journal of Pharmaceutical Research and Opinion. 2013; 3(8): 46-63.
167. Wu L, Miao X, Shan Z, Huang Y, Li L, Pan X, ve ark. *Studies on the spray dried lactose as carrier for dry powder inhalation*. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2014; 9(6): 336-341.
168. Liu C, Desai KGH, Liu C. *Enhancement of dissolution rate of valdecoxib using solid dispersions with polyethylene glycol 4000*. Drug Development and Industrial Pharmacy. 2005; 31(1): 1-10.
169. Jain SK, Shukla M, Shrivastava V. *Development and in vitro evaluation of ibuprofen mouth dissolving tablets using solid dispersion technique*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2010; 58(8): 1037-1042.
170. Tița B, Fulias A, Bandur G, Marian E, Tita D. *Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2011; 56(2): 221-227.
171. Ismail AA, van de Voort FR, Sedman J. *Fourier transform infrared spectroscopy: Principles and applications, in techniques and instrumentation in analytical chemistry*. Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, 1997. p. 93-139.
172. Fleisher D, Li C, Zhou Y, Pao LH, Karim A. *Drug, meal and formulation interactions influencing drug absorption after oral administration*. Clinical Pharmacokinetics. 1999; 36(3): 233-254.
173. Hollander D. *Intestinal permeability, leaky gut, and intestinal disorders*. Current Gastroenterology Reports. 1999; 1(5): 410-416.
174. Kararli TT. *Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals*. Biopharmaceutics & Drug Disposition. 1995; 16(5): 351-380.
175. Jose NM, Bunt CR, McDowell A, Chiu JZS, Hussain MA. *A study of Lactobacillus isolates' adherence to and influence on membrane integrity of human Caco-2 cells*. Journal of Dairy Science. 2017; 100(10): 7891-7896.
176. Khadka P, Ro J, Kim H, Kim I, Kim JT, Kim H, ve ark. *Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability*. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2014; 9(6): 304-316.
177. Yazdanian M, Glynn SL, Wright JL, Hawi A. *Correlating partitioning and Caco-2 cell permeability of structurally diverse small molecular weight compounds*. Pharmaceutical Research. 1998; 15(9): 1490-1494.
178. Artursson P, Karlsson J. *Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells*. Biochemical and Biophysical Research Communications., 1991; 175(3): 880-885.

179. Lennernäs H, Palm K, Fagerholm U, Artursson P. *Comparison between active and passive drug transport in human intestinal epithelial (Caco-2) cells in vitro and human jejunum in vivo.* International Journal of Pharmaceutics. 1996; 127(1): 103-107.
180. Yee S. *In vitro permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict in vivo (small intestinal) absorption in man—fact or myth.* Pharmaceutical Research. 1997; 14(6): 763-766.

EK-1

Tez Çalışması Orijinallik Raporu

AĞIZDA DAĞILAN TABLET FORMÜLASYONLARININ IN VITRO KARAKTERİZASYONLARI VE PERMEABİLİTELERİ ÜZERİNE FARKLI YARDIMCI MADDELERİN VE BASIM TEKNİKLERİNİN ETKİSİ

ORIJINALLIK RAPORU

%8

BENZERLİK ENDEKSİ

%5

İNTERNET
KAYNAKLARI

%1

YAYINLAR

%7

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

%2

2

Submitted to TechKnowledge Turkey

Öğrenci Ödevi

%1

3

Submitted to Hacettepe University

Öğrenci Ödevi

%1

4

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

%1

5

Submitted to Marmara University

Öğrenci Ödevi

<%1

6

Submitted to Ankara University

Öğrenci Ödevi

<%1

7

laris.univ-angers.fr

İnternet Kaynağı

<%1

8

Submitted to Saglik Bilimleri Universitesi

EK-2

Dijital Makbuz



Dijital Makbuz

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

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Özge Didem Uluhan
Ödev başlığı: AĞIZDA DAĞILAN TABLET FORMÜ..
Gönderi Başlığı: AĞIZDA DAĞILAN TABLET FORMÜ..
Dosya adı: AĞIZDA DAĞILAN TABLET FORMÜ..
Dosya boyutu: 32.68M
Sayfa sayısı: 168
Kelime sayısı: 28,695
Karakter sayısı: 194,648
Gönderim Tarihi: 24-Eyl-2019 12:38PM (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 1178968331

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AĞIZDA DAĞILAN TABLET FORMÜLASYONLARININ
IN VITRO KARAKTERİZASYONLARI VE
PERMEABİLİTELERİ ÜZERİNE FARKLI YARDIMCI
MADDELERİN VE BASIM TEKNİKLERİNİN ETKİSİ

Ecz. Özge Didem ULUHAN

BiyoFarmasötik ve Farmakokinetik Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA
2019

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Özge Didem ULUHAN
Doğum Tarihi ve Yeri : 09.11.1992, Malatya
İş Adresi : Abdi İbrahim İlaç Sanayi Tic. A.Ş., Maslak-İstanbul
Telefon : 0 506 540 76 61
e-mail : uluhan10@hacettepe.edu.tr

EĞİTİM DURUMU:

Lise (2006-2010) : Lütfi Ege Anadolu Öğretmen Lisesi, Denizli
Üniversite (2010-2015) : Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara
Yüksek Lisans (2016-) : Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji ABD, Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Yüksek Lisans Programı
Yüksek Lisans Tezi : *Ağızda Dağılan Tablet Formülasyonlarının In vitro Karakterizasyonları ve Permeabiliteleri Üzerine Farklı Yardımcı Maddelerin ve Basım Tekniklerinin Etkisi*, (Danışman: Prof. Dr. Selma ŞAHİN)

İŞ DENEYİMİ:

06.2017 – : **Abdi İbrahim İlaç San. Ve Tic. A.Ş.**
Ruhsatlandırma Departmanı, İstanbul
Uluslararası Pazarlar Ruhsatlandırma Proje Lideri
04.2017 – 06.2019 : **Abdi İbrahim İlaç San. Ve Tic. A.Ş.**
Ruhsatlandırma Departmanı, İstanbul
Uluslararası Pazarlar Ruhsatlandırma Uzmanı
10.2015 – 04.2017 : **Drogsan İlaçları San. Ve Tic. A.Ş.**
Ruhsatlandırma Departmanı, Ankara
Ruhsatlandırma Uzmanı

POSTER:

1. Uluhan, O.D., Gulsun T., Sahin, S. *Development and Characterization of Trimethobenzamide Containing Orally Disintegrating Tablets*, 19th International Pharmaceutical Technology Symposium, 17-19 Eylül 2018.