



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

**DOKTORA  
TEZİ**

**NANOKRİSTAL TEKNOLOJİSİ İLE  
AĞIZDA DAĞILAN TABLETLERİN  
GELİŞTİRİLMESİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**EMİNE TAŞHAN**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ARALIK 2017**



**NANOKRİSTAL TEKNOLOJİSİ İLE AĞIZDA DAĞILAN TABLETLERİN  
GELİŞTİRİLMESİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Emine TAŞHAN**

**DOKTORA TEZİ**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ARALIK 2017**

EMİNE TAŞHAN tarafından hazırlanan “Nanokristal Teknolojisi İle Ağızda Dağılan Tabletlerin Geliştirilmesi ve Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi FARMASÖTİK TEKNOLOJİ Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman ve Başkan:** Prof. Dr. NEVİN ÇELEBİ

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

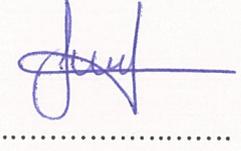
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



**Üye :** Prof. Dr. Sevgi TAKKA

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

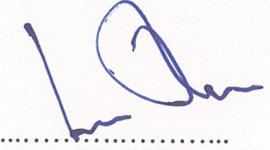
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



**Üye :** Prof. Dr. Levent ÖNER

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

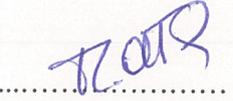
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



**Üye :** Prof. Dr. Tansel ÇOMOĞLU

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



**Üye :** Doç. Dr. Zeynep Şafak TEKSİN

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Tez Savunma Tarihi: 26/12/2017

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirim, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Emine TAŞHAN



26.12.2017

NANOKRİSTAL TEKNOLOJİSİ İLE AĞIZDA DAĞILAN TABLETLERİN  
GELİŞTİRİLMESİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ  
(Doktora Tezi)

Emine TAŞHAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Aralık 2017

ÖZET

Bu tezin amacı şizofreni tedavisi için nanokristal olarak hazırlanan ziprasidon hidroklorür monohidrat (ZHM) içeren ağızda dağılan tablet (ADT) formülasyonlarının geliştirilmesi ve değerlendirilmesidir. ZHM'nin sudaki çözünürlüğünü artırarak oral biyoyararlanımını arttırmak için nanokristal teknolojisi kullanılmıştır. Nanokristaller mikrofluidizasyon yöntemi ile deney tasarımı yapılarak hazırlanmış ve liyofilize edilerek nanokristalleri elde edilmiştir. Deney tasarımı ve istatistiksel analizlere göre Polivinilpirolidon K30 (PVP K30) 1:1 oranında ve Vitamin E TPGS 2:1 oranındaki nanokristal formülasyonları partikül büyüklüğü, zeta potansiyel ve partikül büyüklüğü dağılımı açısından en uygun bulunmuştur. Bu formülasyonlarda karakterizasyon, suda çözünürlük ve çözünme çalışmaları yapılmıştır. Nanokristallerde ZHM'nin partikül büyüklüğü 100-1000 nm, partikül büyüklüğü dağılımı 0,1-0,4 ve zeta potansiyeli 29,33 mV değerinde gözlenmiştir. Karakterizasyon çalışmaları ile ZHM'nin nanokristal hale gelmesiyle çubuk şeklinden küresele doğru geçtiği, kristal yapısının değiştiği ve kullanılan stabilizanlar ile geçimsiz olmadığı gösterilmiştir. Kaba toza göre sudaki çözünürlük, PVP K30 içeren nanokristalde 2,3 kat ve Vit E TPGS içeren nanokristalde 1,84 kat artmıştır. In vitro çözünme çalışmaları %0,5 ve %1 oranlarında sodyum lauril sülfat (SLS) içeren ve SLS içermeyen pH 7.4 fosfat tamponunda, FaSSIF (açlık) ve FeSSIF (tokluk) ortamlarında yapılmıştır. Kaba toz, ticari ürün ve nanokristaller %1 SLS içeren pH 7.4 fosfat tamponunda >%80 çözünme gösterirken SLS içermeyen pH 7.4 fosfat ortamında kaba toz ve ticari ürün <%55 ve nanokristaller >%60 oranında çözünme göstermiştir. Kaba toz, FeSSIF ortamında %26,54 çözünme gösterirken ticari preparat ve nanokristaller >%95 oranında çözülmüştür. FaSSIF ortamında ise kaba toz %12,49 oranında, ticari preparat %40,5 nanokristaller ise %80 oranında çözünme göstermiştir. PVP K30 içeren nanokristalinin sudaki çözünürlüğü daha fazla olduğundan ADT'ler bu formülasyon esas alınarak geliştirilmiştir. ADT'lerin geliştirilmesinde tasarımla kalite yaklaşımı (QbD) ile 3<sup>2</sup> deney tasarımı yapılmıştır. Direkt basım metodu ile basılan ADT'lerde, ZHM miktarı >%90, sertlik 26,1N, friabilite %1,05 ve dağılma süresi yaklaşık 6 sn bulunmuştur. Caco-2 hücre kültürü çalışmalarında da nanokristallerin permeabiliteyi arttırdığı görülmüştür. 25°C±2°C, %60 RN ± %5 koşullarındaki 9 aylık uzun süreli stabilite çalışmalarına göre ADT'lerin stabil kaldığı bulunmuştur. Sonuç olarak nanokristal ADT'lerin ZHM çözünürlüğünün artmasına bağlı olarak in vivo çalışmalar ile desteklenirse biyoyararlanımının artacağı beklenmektedir.

Bilim Kodu : 1020  
Anahtar Kelimeler : Nanokristal, Nanosüspansiyon, Mikrofluidizasyon, Ziprasidon, Ağızda Dağılan Tablet, Tasarımla Kalite, Çözünürlük, Çözünme, Permeabilite  
Sayfa Adedi : 282  
Danışman : Prof. Dr. Fatma Nevin Çelebi

DEVELOPMENT AND EVALUATION OF ORALLY DISPERSIBLE TABLETS  
USING NANOCRYSTAL TECHNOLOGY  
(Ph. D. Thesis)

Emine TAŞHAN

GAZI UNIVERSITY  
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES  
December 2017

ABSTRACT

The aim of the thesis is to develop and evaluate orally dispersible tablets (ODT) containing ziprasidone hydrochloride monohydrate (ZHM) prepared as nanocrystals for treatment of schizophrenia. Nanocrystal technology was used to improve orally bioavailability of ZHM enhancing water solubility. Nanocrystals were prepared through design of experiment (DoE) using microfluidisation method and then lyophilized. Based of DoE and statistical analyses, nanocrystal formulations containing PVP K30 1:1 ratio and Vitamin E TPGS 2:1 ratio were found optimum in terms of particle size (PS), zeta potential (ZP) and polydispersibility index (PDI). Characterisation, water solubility and dissolution studies of nanocrystals were performed using these two formulations. In nanocrystals, PS of ZHM were found 100-1000 nm, PDI was found 0.1-0.4 and ZP value was observed 29.33 mV. Characterisation studies showed that ZHM rod forms crystals turned into round shaped, change in crystal structure and compatible with used stabilizers. Water solubility was increased 2.3 times in PVP K30 containing nanocrystals and 1.84 times in Vitamin E TPGS containing nanocrystals compared with ZHM coarse powder. Dissolutions studies were carried out in pH 7.4 phosphate buffer, pH 7.4. phosphate buffer +0,5% SLS and pH 7,4 phosphate buffer +1% SLS, FaSSIF and FeSSIF media. ZHM coarse powder, commercial product and nanocrystals showed >80% dissolution in pH 7,4 phosphate buffer +1% SLS as well as ZHM coarse powder and commercial product showed <55% and nanocrystals showed >60% dissolution in pH 7.4 phosphate buffer. In FeSSIF media, ZHM coarse powder showed 26,54% dissolution however commercial product and nanocrystals showed >95% dissolution. In FaSSIF media, coarse powder, commercial product and nanocrystals were dissolved 12,49%, 40,5% and 80%, respectively. Due to having more water solubility, PVP K30 containing nanocrystals were used to develop ODTs. For developing of ODTs, 3<sup>2</sup> factorial design was performed using QbD. ODTs which were obtained by direct compression method were resulted >90% ZHM assay, 26,1N hardness, 1,05% friability and 6s disintegrating time. Moreover, Caco-2 cell culture studies demonstrated that nanocrystals enhanced permeability and ODTs were stable during 9 months stored at 25°C±2°C, %60 RH ± %5. In conclusion, nanocrystal ODTs should be supported with in vivo bioavailability studies cause of increasing water solubility of nanocrystal ZHM.

Science Code : 1020  
Key Words : Nanocrystal, Nanosuspension, Microfluidisation, Ziprasidon, Orally Dispersible Tablet, Quality by Design, Dissolution, Solubility, Permeability  
Page Number : 282  
Advisor : Prof. Dr. Fatma Nevin Çelebi

## TEŞEKKÜR

Doktora ders ve tez çalışması dönemimde her zaman yanımda olan, bilgisini, desteğini, ilgisini ve tecrübelerini asla esirgemeyen, hayatım boyunca hem kişilik hem de akademik hayatındaki başarısı ile örnek alacağım değerli danışman hocam Sayın **Prof. Dr. Nevin Çelebi'ye**, doktora tez dönemimde bilgi ve tecrübeleri ile bana destek olan tez izleme değerlendirme komitesindeki değerli hocalarım Sayın **Prof. Dr. Levent Öner'e** ve Sayın **Prof. Dr. Sevgi Takka'ya**, tezin başından sonuna kadar, benimle bilgi ve tecrübesini paylaşan, yardımını ve ilgisini esirgemeyen, deneylerim sırasında da benimle her türlü malzemesini ve ekipmanını paylaşan ve beni hiçbir zaman yalnız hissettirmeyen **Arş. Gör. Dr. Ecz. Alptuğ Eren Karaküçük'e**, doktora dönemim boyunca her zaman bana yardımcı ve ilgili olan **Arş. Gör. Dr. Serdar Tort'a**, '2211-A Yurt İçi Doktora Burs Programı 2013/2' ile burs desteği almamı sağlayan ve sonrasında ise 215S920 numaralı "Nanokristal Teknolojisi ile Ağızda Dağılan Tabletlerin Tasarımla Kalite (QbD) Uygulamaları ile Geliştirilmesi ve Değerlendirilmesi" isimli proje kapsamında destekleyerek doktora tezimin gerçekleşmesini sağlayan **TÜBİTAK'a**, doktora programım boyunca ders aldığım başta Sayın **Prof. Dr. Füsün Acartürk** olmak üzere tüm değerli hocalarıma ve her zaman benimle ilgilenen tüm asistan arkadaşlarıma ve bölüm sekreterimiz **Fatma Çelik'e**, ziprasidon hidroklorür monohidratın temininde **Abdi İbrahim İlaç A.Ş.'ye** doktora çalışma hayatım boyunca bana her zaman destek ve yol gösterici olan, ekibinde yer almaktan gurur duyduğum, kendisinden çok şey öğrendiğim Genel Müdür'üm Sayın **Burak Kutal'a** ve Genel Direktörüm Sayın **Dr. Ecz. Süha Miraç Kaya'ya**, doktora öğrenimime başlamam konusunda destek olan ve dönem boyunca ilgisini ve yardımlarını hiç esirgeyemeyen verdiğim kararlarda her zaman yanımda olan, tecrübe ve bilgisini her zaman benimle paylaşan Sayın **Uzm. Ecz. Sevgi Öksüz'e** doktora dönemim boyunca her zaman beni motive eden, bilgi ve tecrübeleri ile bana destek olan Sayın **Kim. Didem Güner'e**, ilgi ve destekleri ile yanımda olan, motivasyonumu yükselten beni yalnız bırakmayan dostlarım **Elçin Saatçi ve Filiz Gökçe Öztürk'e**, bu uzun ve zorlu dönemim boyunca her zaman bana destekleri olan en iyi şekilde yetişmemi sağlayan yanımda olmalarından güç aldığım **annem, babam ve kardeşlerime** teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

|   | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| ÖZET .....  | iv           |
| ABSTRACT.....   | v            |
| TEŞEKKÜR.....   | vi           |
| İÇİNDEKİLER .....   | vii          |
| ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....   | xiv          |
| ŞEKİLLERİN LİSTESİ .....  | xx           |
| RESİMLERİN LİSTESİ .....  | xxv          |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....  | xxvii        |
| 1. GİRİŞ.....   | 1            |
| 2. GENEL BİLGİLER .....   | 5            |
| 2.1. Şizofreni Tedavi Yaklaşımları.....   | 5            |
| 2.2. Ziprasidonun Şizofreni Tedavisinde Kullanımı.....  | 9            |
| 2.3. Ziprasidonun Hidroklorür Monohidratın (ZHM) Fizikokimyasal Özellikleri....                     | 10           |
| 2.4. Ziprasidonun Hidroklorür Monohidratın (ZHM) Biyoyararlanım ve Farmakokinetik Özellikleri ..... | 11           |
| 2.5. Ziprasidonun Biyofarmasötik Özellikleri Üzerine Çalışmalar .....                               | 13           |
| 2.6. Ağızda Dağılan Tabletler.....  | 16           |
| 2.6.1. Ağızda dağılan tabletlerin tanımı .....  | 16           |
| 2.6.2. Ağızda dağılan tabletlerin özellikleri .....   | 16           |
| 2.6.3. Ağızda dağılan tabletlerin üstünlükleri .....  | 17           |
| 2.6.4. Ağızda dağılan tabletlerin sakıncaları .....   | 18           |
| 2.6.5. Ağızda dağılan tablet formülasyonları için uygun etkin madde seçim kriterleri .....          | 19           |
| 2.6.6. Ağızda dağılan tablet formülasyonlarında kullanılan yardımcı maddeler ve fonksiyonları ..... | 20           |

|  |    |
|--|----|
| 2.6.7. Ağızda dağılan tabletlerin üretim yöntemleri.....   | 22 |
| 2.6.8. Ağızda dağılan tabletlerin kalite kontrolü.....   | 30 |
| 2.7. Nanokristal Teknolojisi.....  | 33 |
| 2.7.1. Nanokristallerin üstünlükleri.....  | 34 |
| 2.7.2. Nanokristal formülasyonlarının hazırlanması.....  | 36 |
| 2.7.3. Nanokristallerin kurutulması ve stabilitesi.....  | 39 |
| 2.8. Tasarımla Kalite (Quality by Design = QbD).....   | 40 |
| 2.8.1. Ağızda dağılan tabletlerde QbD yaklaşımı.....   | 45 |
| 2.8.2. Tasarımla kalite yaklaşımı uygulanarak ağızda dağılan tabletlerin geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar..... | 47 |
| 2.8.3. Nanokristalleri geliştirilmesinde QbD yaklaşımı.....  | 49 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....  | 51 |
| 3.1. Materyal.....   | 51 |
| 3.1.1. Kullanılan sarf malzemeler.....   | 51 |
| 3.1.2. Kullanılan cihazlar.....  | 52 |
| 3.1.3. Kullanılan yazılımlar.....  | 53 |
| 3.2. Yöntem.....   | 53 |
| 3.2.1. Ziprasidon hidroklorür monohidratın (ZHM) fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi.....                   | 53 |
| 3.2.2. Miktar tayini yöntemi ve validasyonu.....   | 54 |
| 3.2.3. Nanokristal formülasyonlarının hazırlanması.....  | 59 |
| 3.2.4. Nanokristallerin formülasyonlarının hazırlanmasında deney tasarımı (DoE).....                               | 62 |
| 3.2.5. Nanokristallerin optimizasyonu ve kurutulması.....  | 65 |
| 3.2.6. Nanosüspansiyonların kısa süreli stabilite testleri.....  | 66 |
| 3.2.7. Nanosüspansiyonların karakterizasyon çalışmaları.....   | 66 |
| 3.2.8. Çözünürlük çalışmaları.....   | 68 |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.2.9. In Vitro çözünme çalışmaları .....   | 69        |
| 3.2.10. Ağızda dağılan tabletlerin doğrudan basım yöntemi ile hazırlanması ve deney tasarımı (DoE) yapılması..... | 71        |
| 3.2.11. ZHM ile ADT formülasyonundaki yardımcı maddelerin geçimlilik çalışması.....                               | 72        |
| 3.2.12. Fiziksel karışım içeren ADT hazırlanması .....  | 72        |
| 3.2.13. Sadece etkin madde içeren ADT hazırlanması .....  | 74        |
| 3.2.14. ADT’lerde yapılan fizikofarmasötik kontroller .....   | 74        |
| 3.2.15. Tasarımla kalite uygulaması (QbD) ve fiziksel karışım ADT formülasyonunun optimizasyonu.....              | 75        |
| 3.2.16. Nanokristal içeren ADT hazırlanması.....  | 76        |
| 3.2.17. Nanokristal içeren ADT’lerde yapılan diğer fizikofarmasötik kontroller.....                               | 77        |
| 3.2.18. ADT’lerde in vitro çözünme çalışmaları.....   | 78        |
| 3.2.19. Caco-2 hücre kültürü çalışmaları .....  | 79        |
| 3.2.20. İn vitro hücre canlılığının (sitotoksosite) incelenmesi .....   | 81        |
| 3.2.21. Caco-2 tek tabaka hücre bütünlüğünün değerlendirilmesi .....  | 82        |
| 3.2.22. Caco-2 hücrelerinden geçiş çalışmaları.....   | 82        |
| 3.2.23. Stabilitate çalışmaları .....   | 84        |
| <b>4. BULGULAR .....</b>  | <b>85</b> |
| 4.1. ZHM’nin Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesine Ait Bulgular.....                                       | 85        |
| 4.1.1. Partikül büyüklüğü ölçümü .....  | 85        |
| 4.1.2. ZHM’nin stabilizan maddelerle (yardımcı maddelerle) geçimlilik çalışmaları.....                            | 85        |
| 4.2. Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyon Bulguları .....  | 87        |
| 4.2.1. UV spektruma ait sonuçlar .....  | 87        |
| 4.2.2. ZHM’nin distile su içerisindeki miktar tayini validasyon bulguları .....                                   | 90        |
| 4.2.3. ZHM’nin metanol içerisinde miktar tayini validasyon bulguları.....   | 92        |

|   |     |
|---|-----|
| 4.2.4. ZHM'nin pH 7.4 fosfat tamponu içerisinde miktar tayini validasyon bulguları.....                     | 95  |
| 4.2.5. ZHM'nin FaSSIF içerisinde miktar tayini validasyon bulguları.....                                    | 98  |
| 4.2.6. ZHM'nin FeSSIF ortamında miktar tayini validasyon bulguları .....                                    | 101 |
| 4.2.7. ZHM'nin HBSS içerisinde miktar tayini validasyon bulguları.....                                      | 104 |
| 4.3. Nanokristallerin Hazırlanması .....  | 109 |
| 4.3.1. ZHM partikül büyüklüğünün ultratüraks ile küçültülmesi.....  | 109 |
| 4.3.2. Stabilizan kullanılmadan ZHM nanosüspansiyonlarının hazırlanması ...                                 | 109 |
| 4.3.3. Yüzey etkin maddelerin stabilizan olarak kullanıldığı nanokristaller .....                           | 112 |
| 4.3.4. Polimerlerin stabilizan olarak kullanıldığı nanokristaller .....                                     | 128 |
| 4.3.5. Nanokristal formülasyonlarının genel değerlendirilmesi .....   | 139 |
| 4.3.6. Nanosüspansiyon formülasyonlarında deney tasarımı (DoE) uygulaması.....                              | 139 |
| 4.3.7. Yüzey etkin madde içeren nanosüspansiyon formülasyonunun istatistiksel açıdan değerlendirilmesi..... | 141 |
| 4.3.8. Polimer içeren nanosüspansiyon formülasyonlarının istatistiksel değerlendirmesi .....                | 158 |
| 4.3.9. Nanokristal formülasyonlarının kurutulması .....   | 169 |
| 4.4. Vitamin E TPGS içeren nanokristallerin karakterizasyonu .....  | 173 |
| 4.4.1. Partikül büyüklüğü (PB), partikül büyüklüğü dağılımı (PDI) ve zeta potansiyel (ZP) bulguları .....   | 173 |
| 4.4.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) bulguları.....  | 177 |
| 4.4.3. Diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) bulguları .....  | 181 |
| 4.4.4. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) bulguları .....                                  | 182 |
| 4.4.5. X-ışını toz kırınımı (XRD) bulguları .....   | 185 |
| 4.5. PVP K30 içeren Nanokristalinin Karakterizasyonu .....  | 191 |
| 4.5.1. Partikül büyüklüğü (PB), partikül büyüklüğü dağılımı (PDI) ve zeta potansiyel (ZP) bulguları .....   | 191 |

|  |     |
|--|-----|
| 4.5.2. Taramalı elektron mikroskopu (SEM) bulguları.....   | 194 |
| 4.5.3. Diferansiyel kalorimetri (DSC) bulguları .....  | 197 |
| 4.5.4. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) bulguları .....   | 198 |
| 4.5.5. X-ışını kırınımı (XRD) bulguları .....  | 201 |
| 4.6. Çözünürlük Çalışmaları .....  | 204 |
| 4.7. İn Vitro Çözünme Çalışmaları.....   | 205 |
| 4.7.1 pH 7.4 fosfat tamponu ortamı kullanılarak yapılan çözünme çalışma sonuçları.....   | 205 |
| 4.7.2. pH 7.4 fosfat tamponu + %0.5 SLS ortamı kullanılarak yapılan çözünme çalışma sonuçları .....                              | 206 |
| 4.7.3. pH 7.4 fosfat tamponu + % 1 SLS ortamı kullanılarak yapılan çözünme çalışma sonuçları .....                               | 207 |
| 4.7.4. FaSSIF ortamında yapılan çözünme çalışma sonuçları.....   | 208 |
| 4.7.5. FeSSIF ortamında yapılan çözünme çalışma sonuçları.....   | 211 |
| 4.8. ADT'lerin Doğrudan Basım Yöntemi ile Hazırlanması .....   | 213 |
| 4.8.1. ADT'lerde kullanılan yardımcı maddeler ile geçimlilik Çalışması .....   | 213 |
| 4.8.2. Deney tasarımı ile hazırlanan fiziksel karışım ADT formülasyonlarda yapılan fizikofarmasötik kontrollerin sonuçları ..... | 216 |
| 4.8.3. Tasarımla kalite uygulaması (QbD) ve fiziksel karışım ADT formülasyonunun optimizasyonu ile ilgili sonuçlar .....         | 217 |
| 4.8.4. Sadece etkin madde (ZHM) içeren ADT formülasyonlarında yapılan fizikofarmasötik kontrollerin sonuçları .....              | 224 |
| 4.8.5. Nanokristal içeren ADT formülasyonlarında yapılan fizikofarmasötik kontrollerin sonuçları.....                            | 224 |
| 4.8.6. ADT'ler yapılan çözünme çalışmalarının sonuçları.....   | 227 |
| 4.9. Hücre Kültürü Çalışmaları ile İlgili Bulgular .....   | 231 |
| 4.9.1. Sitotoksikite sonuçları .....   | 231 |
| 4.9.2. Geçiş çalışmaları sonuçları.....  | 232 |
| 4.9.3. Caco-2 geçiş çalışmaları değerlendirilmesi.....   | 233 |

|   |     |
|---|-----|
| 4.10. Nanokristal içeren ADT'lerin Stabilite Çalışmaları ile ilgili Bulgular.....   | 234 |
| 5. TARTIŞMA .....   | 237 |
| 5.1. ZHM'nin Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi.....  | 238 |
| 5.1.1. Partikül büyüklüğü ölçümü .....  | 238 |
| 5.1.2. ZHM'nin stabilizan maddeler ile geçimlilik Çalışmaları.....  | 238 |
| 5.2. ZHM Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyonu .....   | 239 |
| 5.3. ZHM Nanokristal Formülasyonlarının Hazırlanması .....  | 239 |
| 5.3.1. ZHM partikül büyüklüğünün ultratüraks ile küçültülmesi .....   | 239 |
| 5.3.2. Nanokristallerin hazırlanmasında stabilizanların önemi .....   | 240 |
| 5.3.3. Nanosüspansiyonların hazırlanmasında deney tasarımı, formülasyon optimizasyonu ve nanosüspansiyonların kurutulması ..... | 240 |
| 5.3.4. Nanokristallerin karakterizasyon çalışmaları .....   | 243 |
| 5.4. Nanokristallerin Kısa Süreli Stabilite Testleri .....  | 247 |
| 5.5. Çözünürlük Çalışmaları .....   | 250 |
| 5.6. İn Vitro Çözünme Çalışmaları.....  | 250 |
| 5.7. ADT'lerin Doğrudan Basım Yöntemi ile Hazırlanması .....  | 253 |
| 5.7.1. ZHM ile ADT yardımcı maddelerinin geçimlilik çalışması.....  | 253 |
| 5.7.2. Deney tasarımı ile hazırlanan fiziksel karışım ADT formülasyonlarda yapılan fizikofarmasötik kontrol çalışmaları .....   | 253 |
| 5.7.3. Tasarımla kalite uygulaması (QbD) ve sonuç fiziksel karışım ADT formülasyonunun optimizasyon çalışmaları .....           | 254 |
| 5.7.4. Nanokristal içeren ADT formülasyonlarında yapılan fizikofarmasötik kontrol çalışmaları .....                             | 256 |
| 5.7.5. ADT'ler ile yapılan çözünme çalışmaları .....  | 257 |
| 5.7.6. Nanokristal içeren ADT'lerde stabilite çalışmaları.....  | 258 |
| 5.8. Caco-2 Permeabilite ve Hücre Kültürü Çalışmaları .....   | 259 |
| 6. SONUÇ .....  | 261 |

KAYNAKLAR ..... 263

ÖZGEÇMİŞ ..... 281



## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

| <b>Çizelge</b>   | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| Çizelge 2.1. Şizofreni tedavisinde kullanılan antipsikotik ilaçlar .....                                   | 6            |
| Çizelge 2.2. Şizofreni tedavisinde sıklıkla kullanılan antipsikotik ilaçlarda görülen yan etkiler .....    | 7            |
| Çizelge 2.3. Ticari olarak bulunan ağızda dağılan tabletler, etkin maddeler ve farmakolojik grupları ..... | 20           |
| Çizelge 2.4. ADT'lerde tercih edilen süper dağıtıcılar ve bileşimleri .....                                | 21           |
| Çizelge 2.5. ADT'ler için patentli formülasyon teknolojileri.....  | 29           |
| Çizelge 2.6. Mevcut durum ile istenilen QbD durumu arasındaki karşılaştırma.....                           | 42           |
| Çizelge 2.7. ADT geliştirilmesinde formülasyon bileşenleri ile kritik kalite özellikleri .....             | 46           |
| Çizelge 2.8. Bir jenerik bir ağızda dağılan tablet dozaj formu için TPP ve QTPP .....                      | 47           |
| Çizelge 3.1. Nanokristallerin eldesinde deney tasarımı- rastgele deney düzeni.....                         | 64           |
| Çizelge 3.2. İn vitro çözünme çalışma koşulları.....   | 70           |
| Çizelge 3.3. Fiziksel karışım içeren ADT'lerin hazırlanmasında deney tasarımı.....                         | 72           |
| Çizelge 3.4. Fiziksel karışım toz ile hazırlanan ADT formülasyonları.....                                  | 74           |
| Çizelge 3.5. Sadece etkin madde içeren ADT formülasyonları.....  | 74           |
| Çizelge 3.6. 20 mg ziprasidon içeren ADT'nin TPQP'si .....   | 76           |
| Çizelge 3.7. Liyofilize nanokristal içeren ADT formülasyonu.....   | 77           |
| Çizelge 3.8. ADT'ler yapılan in vitro çözünme çalışma koşulları .....                                      | 79           |
| Çizelge 4.1. ZHM'nin distile su içerisindeki doğruluk ve geri elde sonuçları .....                         | 90           |
| Çizelge 4.2. ZHM'nin distile su içerisindeki deney içi kesinlik sonuçları.....                             | 90           |
| Çizelge 4.3. ZHM'nin distile su içerisinde deneyler arası kesinlik sonuçları .....                         | 91           |
| Çizelge 4.4. ZHM'nin metanol içerisinde doğruluk ve geri elde sonuçları.....                               | 93           |
| Çizelge 4.5. ZHM'nin metanol içerisinde deney içi kesinlik sonuçları.....                                  | 93           |
| Çizelge 4.6. ZHM'nin metanol ortamında deneyler arası kesinlik sonuçları .....                             | 94           |

| <b>Çizelge</b>   | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| Çizelge 4.7. ZHM'nin pH 7.4 fosfat tamponu içerisinde doğruluk ve geri elde sonuçları .....                                    | 95           |
| Çizelge 4.8. ZHM'nin pH 7.4 fosfat tamponu içerisinde deney içi kesinlik sonuçları .....                                       | 96           |
| Çizelge 4.9. ZHM'nin pH 7.4 fosfat tamponu içerisinde deneyler arası kesinlik sonuçları .....                                  | 97           |
| Çizelge 4.10. ZHM'nin FaSSIF ortamında doğruluk ve geri elde sonuçları .....   | 99           |
| Çizelge 4.11. ZHM'nin FaSSIF ortamında deney içi kesinlik sonuçları .....  | 99           |
| Çizelge 4.12. ZHM'nin FaSSIF ortamında deneyler arası kesinlik sonuçları .....   | 100          |
| Çizelge 4.13. ZHM'nin FeSSIF ortamındaki doğruluk ve geri elde sonuçları .....   | 101          |
| Çizelge 4.14. ZHM'nin FeSSIF ortamındaki deney içi kesinlik sonuçları .....  | 102          |
| Çizelge 4.15. ZHM'nin FeSSIF ortamındaki deneyler arası kesinlik sonuçları .....   | 103          |
| Çizelge 4.16. ZHM'nin HBSS ortamındaki doğruluk ve geri elde sonuçları .....   | 105          |
| Çizelge 4.17. ZHM'nin HBSS ortamındaki deney içi kesinlik sonuçları .....  | 105          |
| Çizelge 4.18. ZHM'nin HBSS ortamındaki deneyler arası kesinlik sonuçları .....   | 106          |
| Çizelge 4.19. ZHM partiküllerinin ultraturaks ile farklı hız ve zamanlarda küçültülmesi.....                                   | 109          |
| Çizelge 4.20. Stabilizan içermeyen ortamda ZHM'nin partikül büyüklüğünün küçültülmesi ve kısa süreli fiziksel stabilitesi..... | 111          |
| Çizelge 4.21. ZHM: Tween 80 1:2 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa fiziksel süreli stabilite sonuçları .....             | 113          |
| Çizelge 4.22. ZHM: Tween 80 1:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....             | 114          |
| Çizelge 4.23. ZHM: Tween 80 2:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....             | 115          |
| Çizelge 4.24. ZHM: Tween 80 4:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....             | 116          |
| Çizelge 4.25. ZHM: Tween 80 8:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....             | 117          |
| Çizelge 4.26. ZHM: Poloksamer 188 1:2 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....       | 118          |

| <b>Çizelge</b>   | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| Çizelge 4.27. ZHM: Poloksamer 188 1:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları ..... | 119          |
| Çizelge 4.28. ZHM: Poloksamer 188 2:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları ..... | 120          |
| Çizelge 4.29. ZHM: Poloksamer 188 4:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilitesi.....          | 121          |
| Çizelge 4.30. ZHM: Poloksamer 8:1 nanosüspansiyonunun karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları ..... | 122          |
| Çizelge 4.31. ZHM: Vitamin E TPGS 1:2 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları ..... | 123          |
| Çizelge 4.32. ZHM: Vitamin E TPGS 1:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları ..... | 124          |
| Çizelge 4.33. ZHM: Vitamin E TPGS 2:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları ..... | 125          |
| Çizelge 4.34. ZHM: Vitamin E TPGS 4:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları ..... | 126          |
| Çizelge 4.35. ZHM: Vitamin E TPGS 8:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları ..... | 127          |
| Çizelge 4.36. ZHM: HPMC 1: 2 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....          | 129          |
| Çizelge 4.37. ZHM: HPMC 1:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....           | 130          |
| Çizelge 4.38. ZHM: HPMC 2:1 formülasyonunun karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....           | 131          |
| Çizelge 4.39. ZHM: HPMC 4:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....           | 132          |
| Çizelge 4.40. ZHM: HPMC 8:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....           | 133          |
| Çizelge 4.41. ZHM: PVP K30 1:2 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....        | 134          |
| Çizelge 4.42. ZHM: PVP K30 1:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....        | 135          |
| Çizelge 4.43. ZHM: PVP K30 2:1 naosüspansiyonunun karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....     | 136          |

| <b>Çizelge</b>  | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| Çizelge 4.44. ZHM: PVP K30 4:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....   | 137          |
| Çizelge 4.45. ZHM: PVP K30 8:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları .....   | 138          |
| Çizelge 4.46. Deney tasarımı ile yapılan deneylerin bağımlı değişken sonuçları....  | 140          |
| Çizelge 4.47. Yüzey etkin madde ile hazırlanan nanokristaller için tanımlayıcı istatistikler değerlendirmeler.....  | 142          |
| Çizelge 4.48. Yüzey etkin madde ile hazırlanan nanokristallerde geçiş sayıları arasındaki fark analizi - Tek Yönlü ANOVA sonuçları .....                      | 142          |
| Çizelge 4.49. Yüzey etkin madde içeren nanokristallerin geçiş sayıları açısından varyansların homojenliği test sonuçları – Levene testi.....                  | 143          |
| Çizelge 4.50. Yüzey etkin madde ile hazırlanan nanokristallerde geçiş sayıları çoklu karşılaştırmaları – Tamhane testi .....                                  | 143          |
| Çizelge 4.51. Yüzey etkin madde ve farklı oranları kullanılarak 30 geçiş sayısında hazırlanan nanokristallerde tanımlayıcı istatistiksel değerlendirmeleri... | 145          |
| Çizelge 4.52. Partikül büyüklüğü açısından stabilizan tip ve oranı etkileşimi .....   | 146          |
| Çizelge 4.53. Yüzey etkin madde ve oranlarının partikül büyüklüğü üzerine olan ana etkileri .....   | 148          |
| Çizelge 4.54. Yüzey etkin maddelerin partikül büyüklüğü üzerine etkisi – Yüzey etkin madde tipi çoklu karşılaştırmalar (Tukey HSD).....                       | 149          |
| Çizelge 4.55. Yüzey etkin maddelerin partikül büyüklüğü üzerine etkisi – ZHM: Stabilizan çoklu karşılaştırmaları (Tukey HSD).....                             | 150          |
| Çizelge 4.56. Partikül büyüklüğü dağılımı açısından stabilizan tip ve oranı etkileşimi  | 151          |
| Çizelge 4.57. Yüzey etkin madde ve oranlarının partikül büyüklüğü dağılımı üzerine olan ana etkileri .....  | 153          |
| Çizelge 4.58. Yüzey etkin maddelerin partikül büyüklüğü dağılımı üzerine etkisi – Yüzey etkin madde tipi çoklu karşılaştırmalar (Tukey HSD).....              | 153          |
| Çizelge 4.59. Yüzey etkin maddelerin partikül büyüklüğü dağılımı üzerine etkisi – ZHM: Stabilizan çoklu karşılaştırmaları (Tukey HSD).....                    | 154          |
| Çizelge 4.60. Yüzey etkin maddeler ile hazırlanan nanokristaller için tanımlayıcı istatistiksel değerlendirmeler - Zeta potansiyel .....                      | 155          |

| <b>Çizelge</b>   | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| Çizelge 4.61. Yüzey etkin madde ve oranlarının zeta potansiyeli üzerine olan etkileşim tablosu .....   | 155          |
| Çizelge 4.62. Polimerler ile hazırlanan nanokristaller için tanımlayıcı istatistiksel değerlendirme.....                                     | 158          |
| Çizelge 4.63. Polimer ile hazırlanan nanosüspansiyonlarda geçiş sayıları açısından varyansların homojenliği test sonuçları-Levene testi..... | 159          |
| Çizelge 4.64. Polimer ile hazırlanan nanokristallerin geçiş sayıları arasındaki fark analizi - Tek Yönlü ANOVA sonuçları .....               | 159          |
| Çizelge 4.65. Polimer ile hazırlanan nanokristallerde geçiş sayıları çoklu karşılaştırmaları – Tek yönlü ANOVA testi .....                   | 159          |
| Çizelge 4.66. Farklı polimer ve farklı oranları kullanılarak 20 geçiş sayısında hazırlanan nanokristallerde tanımlayıcı istatistikler .....  | 161          |
| Çizelge 4.67. Partikül büyüklüğü açısından stabilizan tip ve oranı etkileşimi .....  | 162          |
| Çizelge 4.68. Polimerlerin partikül büyüklüğü üzerine etkisi –ZHM: Stabilizan çoklu karşılaştırmaları (Tukey HSD).....                       | 163          |
| Çizelge 4.69. Partikül büyüklüğü dağılımı açısından stabilizan tip ve oranı etkileşimi   | 164          |
| Çizelge 4.70. Polimerlerin partikül büyüklüğü dağılımı üzerine etkisi –ZHM: Stabilizan çoklu karşılaştırmaları (20 geçiş) (Tukey HSD) .....  | 166          |
| Çizelge 4.71. Polimerler ile hazırlanan nanokristaller için tanımlayıcı istatistikler - Zeta potansiyel .....                                | 167          |
| Çizelge 4.72. Polimer tipi ve oranlarının zeta potansiyeli üzerine olan etkileşim tablosu .....  | 167          |
| Çizelge 4.73. Liyofilizasyon öncesi 30 geçiş sayısında hazırlanan ZHM: Tween 80 (2:1) nanokristali karakterizasyonu.....                     | 170          |
| Çizelge 4.74. Liyofilizasyonda kullanılan mannitol oranları .....  | 170          |
| Çizelge 4.75. Tween 80 ile hazırlanan nanokristal formülasyonlarında liyofilizasyon sonrası karakterizasyon çalışmaları .....                | 171          |
| Çizelge 4.76. Liyofilizasyon öncesi 30 geçiş sayısında hazırlanan ZHM:Vit E TPGS 2:1 nanokristalinin karakterizasyonu .....                  | 171          |
| Çizelge 4.77. Liyofilizasyonda kullanılan mannitol oranları .....  | 171          |
| Çizelge 4.78. Vit E TPGS ile hazırlanan nanokristal formülasyonlarında liyofilizasyon sonrası karakterizasyon çalışmaları .....              | 172          |

| <b>Çizelge</b>  | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| Çizelge 4.79. Liyofilizasyon öncesi 20 geçiş sayısında hazırlanan ZHM: PVP K30 1:1 oranındaki nanokristalinin karakterizasyonu .....      | 172          |
| Çizelge 4.80. Liyofilizasyonda kullanılan mannitol oranları .....   | 172          |
| Çizelge 4.81. PVP K30 içeren nanokristalinin liyofilizasyon sonrası karakterizasyonu  | 173          |
| Çizelge 4.82. Vit E TPGS– Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonun liyofilizasyondan önce ve sonra PB, PDI ve ZP değerleri..... | 174          |
| Çizelge 4.83. PVP K30 – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonun liyofilizasyondan önce ve sonra PB, PDI ve ZP değerleri.....   | 191          |
| Çizelge 4.84. ZHM ‘nin distile sudaki çözünürlük sonuçları .....  | 205          |
| Çizelge 4.85. DoE uygulaması ile Tasarlanan Fiziksel Karışım ADT’lerin Fizikofarmasötik Kontrollerinin Sonuçları .....                    | 216          |
| Çizelge 4.86. ADT’lerde friabilite, sertlik ve dağılma süresine ilişkin tanımlayıcı istatistikler.....                                    | 217          |
| Çizelge 4.87. Bağımsız değişkenlerin ANOVA analiz sonuçları .....   | 218          |
| Çizelge 4.88. Sadece ZHM içeren ADT’lerin sertlik, friabilite ve dağılma süreleri sonuçları.....  | 224          |
| Çizelge 4.89. Nanokristal içeren ADT’lerin sertlik, friabilite, ağırlık, çap-kalınlık ve dağılma sürelerinin sonuçları .....              | 225          |
| Çizelge 4.90. Nanokristal ADT’lerin gözeneklilik sonuçları.....   | 226          |
| Çizelge 4.91. Nanokristal ADT’lerin ıslanma süresi ve su absorpsiyon oranı sonuçları .....  | 226          |
| Çizelge 4.92. Nanokristal ADT’lerin miktar tayini sonuçları.....  | 227          |
| Çizelge 4.93. Caco-2 hücrelerinden geçiş çalışma sonuçları .....  | 232          |
| Çizelge 4.94. Stabilite sonuçları.....  | 234          |

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

| Şekil   | Sayfa |
|---|-------|
| Şekil 2.1. Ziprasidon hidroklorür monohidratın kimyasal formülü .....   | 11    |
| Şekil 2.2. Nanokristal hazırlama yöntemleri.....  | 36    |
| Şekil 2.3. Tasarımla kalite konsepti .....  | 43    |
| Şekil 2.4. CMA, QTPP ve CQA arasındaki ilişki.....  | 45    |
| Şekil 3.1. Nanokristallerin hazırlanması .....  | 61    |
| Şekil 3.2. ADT'lerin üretim akış şeması .....   | 73    |
| Şekil 3.3. Nanokristal içeren ADT'lerin hazırlanması .....  | 77    |
| Şekil 4.1. ZHM, Vit E TPGS ve fiziksel karışımlarını gösteren DSC termogramı .....  | 85    |
| Şekil 4.2. ZHM ve Poloksamer 188 ve fiziksel karışımlarını gösteren DSC termogramı .....  | 86    |
| Şekil 4.3. ZHM ve Mannitol ve fiziksel karışımlarını gösteren DSC termogramı .....  | 86    |
| Şekil 4.4. ZHM ve HPMC ve fiziksel karışımlarını gösteren DSC termogramları.....  | 87    |
| Şekil 4.5. ZHM ve PVP K30 ve fiziksel karışımlarını gösteren DSC termogramı .....   | 87    |
| Şekil 4.6. ZHM'nin Distile su (a), metanol (b) ortamlarında tespit edilen maksimum absorbans değerleri.....                         | 88    |
| Şekil 4.7. ZHM'nin FaSSIF (a), FeSSIF (b) ve pH 7.4 fosfat tamponu (c) ortamlarında tespit edilen maksimum absorbans değerleri..... | 89    |
| Şekil 4.8. Distile su ortamının UV spektrumu.....   | 91    |
| Şekil 4.9. ZHM'nin distile su ortamında kalibrasyon doğrusu.....  | 92    |
| Şekil 4.10. Metanol ortamının UV spektrumu.....   | 94    |
| Şekil 4.11 ZHM'nin metanol ortamında kalibrasyon doğrusu .....  | 95    |
| Şekil 4.12. pH 7.4 fosfat tamponu ortamının UV spektrumu .....  | 97    |
| Şekil 4.13 ZHM'nin pH 7.4 fosfat tamponu ortamında kalibrasyon doğrusu.....   | 98    |
| Şekil 4.14. ZHM'nin FaSSIF ortamında deneyler arası kesinlik sonuçları .....  | 100   |
| Şekil 4.15. ZHM'nin FaSSIF ortamında kalibrasyon doğrusu.....   | 101   |
| Şekil 4.16. Kör FeSSIF ortamının UV spektrumu .....   | 103   |

| <b>Şekil</b>  | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| Şekil 4.17. ZHM'nin FeSSIF ortamında kalibrasyon doğrusu .....  | 104          |
| Şekil 4.18. a- HBSS ortamının kromatogramı, b- 1 µg/mL konsantrasyonda ZHM içeren HBSS ortamındaki HPLC kromatogramı.....   | 107          |
| Şekil 4.19. ZHM'nin HBSS ortamındaki kalibrasyon doğrusu .....  | 108          |
| Şekil 4.20. ZHM'nin HBSS ortamındaki 72 saatlik stabilite test sonuçları .....  | 108          |
| Şekil 4.21. Partikül büyüklüğü dağılımı açısından stabilizan tipi ve oranı etkileşim grafiği  | 147          |
| Şekil 4.22. Partikül büyüklüğü dağılımı açısından stabilizan tipi ve oranı etkileşim grafiği.....   | 152          |
| Şekil 4.23. Zeta potansiyel değerleri açısından stabilizan tipi ve oranı etkileşim grafiği.....   | 156          |
| Şekil 4.24. Partikül büyüklüğü açısından stabilizan tipi ve oranı etkileşim grafiği .....   | 162          |
| Şekil 4.25. Partikül büyüklüğü dağılımı açısından stabilizan tipi ve oranı etkileşim grafiği.....   | 165          |
| Şekil 4.26. Zeta potansiyel değeri açısından stabilizan tipi ve oranı etkileşim grafiği .....   | 168          |
| Şekil 4.27. Vit E TPGS hazırlanan formülasyonun fiziksel karışım başlangıç partikül büyüklüğü.....  | 175          |
| Şekil 4.28. ZHM: Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan liyofilizasyon sonrası sonuç formülasyon PB ve PDI değerleri.....  | 176          |
| Şekil 4.29. ZHM: Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan liyofilizasyon sonrası sonuç formülasyon zeta potansiyel değeri .....  | 177          |
| Şekil 4.30. Vit E TPGS içeren nanokristalininher geçişteki DSC termogramı .....   | 182          |
| Şekil 4.31. Vit E TPGS–Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonların FTIR spektrumları; a- ZHM kaba tozu, b- Mannitol .....   | 183          |
| Şekil 4.32. Vit E TPGS–Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonların FTIR spektrumları; a- Vit E TPGS, b- Fiziksel karışım .....  | 184          |
| Şekil 4.33. Vit E TPGS–Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonların FTIR spektrumları; Liyofilize 30 geçiş .....   | 185          |
| Şekil 4.34. VIT E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonların X-İşini Kirinimi Deseni; a-ZHM Kaba Tozu, b- Mannitol .....  | 186          |
| Şekil 4.35. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile 2:1 oranında hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı deseni; a- Vit E TPGS, b- Vit E TPGS, mannitol ve ZHM fiziksel karışımı..... | 187          |

| <b>Şekil</b>   | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| Şekil 4.36. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile 2:1 oranında hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı deseni; a-Ultratüraks sonrası liyofilize edilen toz, b- 1 geçiş sonrası liyofilize edilen toz.....              | 188          |
| Şekil 4.37. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile 2:1 oranında hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı deseni; a- 5 geçiş sonrası liyofilize edilen toz, b- 10 geçiş sonrası liyofilize edilen toz .....               | 189          |
| Şekil 4.38. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile 2:1 oranında hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı deseni ; a- 20 geçiş sonrası liyofilize edilen toz, b- 30 geçiş sonrası liyofilize edilen toz .....             | 190          |
| Şekil 4.39. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonun fiziksel karışım başlangıç partikül büyüklüğü .....  | 192          |
| Şekil 4.40. PVP K30-Mannitol İle hazırlanan liyofilizasyon sonrası sonuç formülasyon PB ve PDI değerleri.....  | 193          |
| Şekil 4.41. PVP K30-Mannitol İle hazırlanan liyofilizasyon sonrası sonuç formülasyon ZP değeri .....   | 193          |
| Şekil 4.42. PVP K30 ile hazırlanan ZHM nanokristalinin her geçişteki DSC kromatogramları .....   | 197          |
| Şekil 4.43. PVP K30-Mannitol hazırlanan formülasyonların FTIR spektrumları; ZHM kaba tozu.....   | 198          |
| Şekil 4.44. PVP K30-Mannitol hazırlanan formülasyonların FTIR spektrumları; (a) Mannitol, (b) PVP K30.....   | 199          |
| Şekil 4.45. PVP K30-Mannitol hazırlanan formülasyonların FTIR spektrumları; a- Fiziksel karışım, b-20 geçiş sonrası liyofilize toz.....  | 200          |
| Şekil 4.46. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı desenleri; a- ZHM kaba tozu, b- Mannitol, c-PVP K30 .....  | 201          |
| Şekil 4.47. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı desenleri; a-Fiziksel karışımı, b-Ultratüraks sonrası liyofilize edilen toz, c- 1 geçiş sonrası liyofilize edilen toz .....                    | 202          |
| Şekil 4.48. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı desenleri; a- 5 geçiş sonrası liyofilize edilen toz, b- 10 geçiş sonrası liyofilize edilen toz, c- 20 geçiş sonrası liyofilize edilen toz..... | 203          |
| Şekil 4.49. PVP K30-Mannitol İle hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı desenleri; 30 geçiş sonrası liyofilize edilen toz.....   | 204          |
| Şekil 4.50. ZHM kaba toz, fiziksel karışım ve nanokristallerin sudaki doygun çözünürlük değerleri .....  | 205          |

| <b>Şekil</b>  | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| Şekil 4.51. ZHM kaba tozu, fiziksel karışımları ve nanokristal formülasyonlarının pH 7.4 fosfat tamponu ortamındaki çözünme profilleri.....             | 206          |
| Şekil 4.52. ZHM kaba tozu, fiziksel karışımlar ve nanokristal formülasyonlarının pH 7.4 fosfat tamponu + %0.5 SLS ortamındaki çözünme profilleri.....   | 207          |
| Şekil 4.53. ZHM kaba tozu, fiziksel karışımlar ve nanokristal formülasyonlarının pH 7.4 fosfat tamponu + %1 SLS ortamındaki çözünme profilleri.....     | 208          |
| Şekil 4.54. ZHM kaba tozu, fiziksel karışımları ve nanokristal formülasyonlarının FaSSIF ortamındaki çözünme profilleri.....                            | 209          |
| Şekil 4.55. FaSSIF ortamında çözünme profilleri; Referans ürün: Ticari preparat, Test ürünü: PVP K30 içeren nanokristal (f2:24).....                    | 210          |
| Şekil 4.56. FaSSIF ortamında çözünme profilleri; Referans ürün: Ticari preparat, Test ürünü: Vitamin E TPGS içeren nanokristal (f2:28).....             | 210          |
| Şekil 4.57. FaSSIF ortamında çözünme profilleri; Referans ürün: PVP K30 içeren nanokristal, Test ürünü: Vitamin E TPGS içeren nanokristal (f2:56).....  | 210          |
| Şekil 4.58. ZHM kaba tozu, fiziksel karışımlar ve nanokristal formülasyonlarının FeSSIF ortamındaki çözünme profilleri.....                             | 211          |
| Şekil 4.59. FeSSIF ortamında çözünme profilleri; Referans ürün: Ticari ürün, Test ürünü: Vitamin E TPGS içeren nanokristal (f2:63).....                 | 212          |
| Şekil 4.60. FeSSIF ortamında çözünme profilleri; Referans ürün: Ticari ürün, Test ürünü: PVP K30 içeren nanokristal (f2:58).....                        | 212          |
| Şekil 4.61. FeSSIF ortamında çözünme profilleri; Referans ürün: PVP K30 içeren nanokristal, Test ürünü: Vitamin E TPGS içeren nanokristal (f2: 65)..... | 213          |
| Şekil 4.62. ZHM, PVP K30 ve fiziksel karışımın DSC termogramı.....  | 213          |
| Şekil 4.63. ZHM, Avicel ve fiziksel karışımın DSC termogramı.....   | 214          |
| Şekil 4.64. ZHM, Mannitol ve fiziksel karışımın DSC termogramı.....   | 214          |
| Şekil 4.65. ZHM, Mg Stearat ve fiziksel karışımın DSC termogramı.....   | 215          |
| Şekil 4.66. ZHM, Ac-Di-Sol ve fiziksel karışımın DSC termogramı.....  | 215          |
| Şekil 4.67. Dağıtıcı ve kaydırıcı oranına göre sertlik değerlerini gösteren yüzey grafiği....   | 219          |
| Şekil 4.68. Dağıtıcı ve kaydırıcı oranına göre sertlik değerlerini gösteren kontur grafiği....  | 219          |
| Şekil 4.69. Dağıtıcı ve kaydırıcı oranına göre friabilite değerlerini gösteren yüzey grafiği.   | 220          |
| Şekil 4.70. Dağıtıcı ve kaydırıcı oranına göre friabilite değerlerini gösteren kontur grafiği   | 220          |

| <b>Şekil</b>  | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| Şekil 4.71. Dağıtıcı ve kaydırıcı oranına göre dağılıma süresini gösteren yüzey grafiği .....                                     | 221          |
| Şekil 4.72. Dağıtıcı ve kaydırıcı oranına göre dağılıma süresini gösteren kontur grafiği.....                                     | 221          |
| Şekil 4.73. ADT'ler ve ticari ürünün pH 7.4 fosfat ortamındaki çözünme profilleri .....   | 227          |
| Şekil 4.74. Fiziksel karışım ADT (test) ile ticari ürün (referans) çözünme profilleri .....                                       | 228          |
| Şekil 4.75. Sadece ZHM içeren ADT (test) ile ticari ürün (referans) çözünme profilleri ....                                       | 228          |
| Şekil 4.76. Nanokristal ZHM içeren ADT (test) ile ticari ürün (referans) çözünme profilleri .....                                 | 229          |
| Şekil 4.77. ADT'ler ve ticari ürünü içeren pH 7.4 fosfat ortamı +%1 SLS ortamındaki çözünme profilleri.....                       | 229          |
| Şekil 4.78. Fiziksel karışım ZHM içeren ADT (test) ile ticari ürün (referans) çözünme profilleri .....                            | 230          |
| Şekil 4.79. Sadece ZHM içeren ADT (test) ile ticari ürün (referans) çözünme profilleri  | 230          |
| Şekil 4.80. Nanokristal ZHM içeren ADT (test) ile ticari ürün (referans) çözünme profilleri .....                                 | 231          |
| Şekil 4.81. Sitotoksisite sonuçları .....   | 231          |
| Şekil 4.82. Caco-2 hücrelerinden ZHM miktarının kümülatif geçiş grafiği.....  | 233          |
| Şekil 4.83. ZHM kaba toz, nanokristal toz, nanokristal adt ve fiziksel karışım ADT formülasyonlarının permeabilite değerleri..... | 233          |
| Şekil 4.84. Nanokristal ADT'nin kimyasal stabilite çalışmaları (25±2°C, %60RN±%5)..   | 234          |
| Şekil 4.85. Nanokristal ADT'nin kimyasal stabilite çalışmaları (40°C±2°C,%75RN±%5).   | 235          |

## RESİMLERİN LİSTESİ

| <b>Resim</b>   | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| Resim 3.1. Microfluidics LV1 .....   | 62           |
| Resim 3.2. Kapsül içerisindeki formülasyonların çözünme çalışmaları.....   | 71           |
| Resim 3.3. Boş insert görüntüsü .....  | 81           |
| Resim 3.4. Caco-2 hücrelerini içeren insert görüntüsü.....   | 81           |
| Resim 3.5. 96 kuyucuklu plakada MTT deneyi.....  | 82           |
| Resim 3.6. Kuyucuklu plakada geçiş çalışmaları .....   | 83           |
| Resim 4.1. ZHM kaba tozu SEM görüntüleri: (a) mag. 2000x, (b) mag. 7.000x.....   | 178          |
| Resim 4.2. Vit E TPGS–Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonun liyofilize fiziksel karışım SEM görüntüleri: (a) mag.1100x, (b) mag.5000x .....             | 178          |
| Resim 4.3. Vit E TPGS–Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonun ultratüraks sonrası liyofilize fiziksel karışım SEM görüntüsü, mag. 5000x .....             | 179          |
| Resim 4.4. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonun 1 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüsü (a) mag. 10000x (b) mag. 5000x .....         | 179          |
| Resim 4.5. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan liyofilize toz formülasyonunun SEM görüntüsü (a) 5 geçiş, mag. 15.000x (b) 10 geçiş, mag. 10.000x ..... | 180          |
| Resim 4.6. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonun 20 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüsü, mag. 10000x .....                          | 180          |
| Resim 4.7. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonun 30 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüleri: (a) mag. 9000x, (b) mag. 15578x .....    | 181          |
| Resim 4.8. ZHM kaba tozu SEM görüntüleri: (a) mag. 2000x, (b) mag. 7000x.....  | 194          |
| Resim 4.9. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan liyofilize fiziksel karışım SEM görüntüleri: mag. 1000x .....   | 194          |
| Resim 4.10. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların 5 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüleri: (a) mag. 10000x, (b) mag. 15.000x.....                  | 195          |
| Resim 4.11. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların 10 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüleri: (a) mag. 15.000x, (b) mag. 21.000x.....                | 195          |

| <b>Resim</b>  | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| Resim 4.12. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların 20 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüleri: (a) mag. 10.000x, (b) mag. 17.000x..... | 196          |
| Resim 4.13. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların 20 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüleri: (c) mag. 18.000x .....                  | 196          |
| Resim 4.14. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların 30 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüleri: (a) mag. 9000x, (b) mag. 14000x.....    | 197          |
| Resim 4.15. Optimize edilen ADT formülasyonları: %5 dağıtıcı, %1 kaydırıcı.....   | 222          |
| Resim 4.16. Optimize edilen ADT formülasyonları: (a) % 15 dağıtıcı, %1 kaydırıcı, (b) %14,97 dağıtıcı, %0,902 kaydırıcı.....                          | 223          |
| Resim 4.17. Nanokristal içeren ADT'lerin görünümü .....   | 225          |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu tez çalışması kapsamında kullanılan simgeler ve kısaltmalar açıklamaları ile birlikte aşağıda verilmektedir.

| <b>Kısaltmalar</b> | <b>Açıklamalar</b>                                  |
|--------------------|---|
| ADT                | Ağızda dağılan tablet                               |
| BS                 | Bağıl sapma   |
| BCS                | Biyofarmasötik sınıflandırma sistemi                |
| CQA                | Kritik kalite özelliği                              |
| DoE                | Deney tasarımı                                      |
| FaSSIF             | Açlık durumunu taklit eden bağırsak ortamı          |
| FeSSIF             | Tokluk durumunu taklit eden bağırsak ortamı         |
| FTIR               | Fourier Transform Infrared                          |
| GA                 | Güven aralığı                                       |
| HPMC               | Hidroksi propil metil selüloz                       |
| PB                 | Partikül boyutu                                     |
| PDI                | Polidispersite indeksi                              |
| PVP K30            | Polivinilpirolidon K30                              |
| QbD                | Tasarımla kalite                                    |
| QTPP               | Kaliteli hedef ürün profili                         |
| SH                 | Standart hata                                       |
| SLS                | Sodyum lauril sülfat                                |
| SS                 | Standart sapma                                      |
| Vit E TPGS         | $\alpha$ -Tokoferil polietilen glikol 1000 süksinat |
| XRD                | X-ışını toz kırınımı                                |
| ZHM                | Ziprasidon hidroklorür monohidrat                   |
| ZP                 | Zeta potansiyel                                     |

| <b>Simgeler</b> | <b>Açıklamalar</b> |
|-----------------|--------------------|
| dk              | Dakika             |
| mL              | Mililitre          |
| nm              | Nanometre          |
| $\mu$ g         | Mikrogram          |



## 1. GİRİŞ

Şizofreni genel popülasyonun yaklaşık %1'ini etkileyen, çok ciddi morbidite ve mortalitesi olan, kişinin düşüncesini, hareketlerini, duygularını ifade şeklini, gerçeği algılamasını çarpıtan ve kişinin diğerleriyle ilişkilerini bozan kronik ciddi bir beyinsel rahatsızlıktır. Hastalığın etiyo-patalojisi henüz daha aydınlatılmamış olmasında rağmen, patojenezinde mitokondriyal bozukluk, oksidatif ve nitrosatif stresin ilişkili olduğu varsayılmaktadır. Her yaşta insanda görülebilir, erkek ve kadınları eşit oranda etkileyebilir ve özellikle 20'li yaşlarda ortaya çıktığı bildirilmektedir. Şizofreni hastalarının gerçekte ilişkilerini kaybettikleri zaman oluşan ani kişilik ve davranış değişikliklerine psikotik epizod adı verilir. Toplumda şizofreni hastaları tehlikeli, beklenmeyen davranışlarda bulunabilen kişiler olarak algılanmakta ve bu durum şizofreni hastalarının aileleri tarafından sosyal mesafe konulmasına ve istenmeyen oldukça üzücü sorunlara yol açabilmektedir.

Şizofreni için güncel tedavi yaklaşımları antipsikotik ilaçlar ile psikotik epizodların oluşma riskini azaltmak, belirtileri hafifletmek ve nüksetme (tekrarlama) riskini azaltma yönündedir. İlaçlar, delüzyonlar, halüsinasyonlar ve düşünme problemleri gibi semptomları hafifletmeye yardım eder. Fakat, şizofrenik hastaların yaklaşık %40'ında ilaçla tedaviye uyum sağlamama problemi görülmektedir. Düzenli antipsikotik ilaç kullanımı psikotik epizodların nüksetmesini önlerken, ilaca bağlı özellikle beyinde ciddi yan etkilerin oluşmasına sebep olmaktadır. İlaçla tedavinin bırakılması ile de epizodların daha çabuk nüksetmesi söz konusudur. Tedavide ikinci jenerasyon ve birinci jenerasyon antipsikotik ilaçlar kullanılmaktadır. Son on yılda tedavide kullanıma sunulan ikinci jenerasyon antipsikotik ilaçlar birinci jenerasyon grubu ilaçlara göre daha etkili olup daha az yan etkiler göstermektedir. İkinci jenerasyon ilaçlarda nörolojik yan etkilerden ekstrapiramidal yan etkiler ve tardif diskinezi daha az görülmektedir. Şizofreni tedavisinde ikinci jenerasyon ilaçlar hem yan etkilerin azalması hem de depresyon benzeri semptomlar başta olmak üzere daha geniş spektrumdaki semptomlar üzerine tedavi sağlamaları açısından önem kazanmıştır.

Tedavide kullanılan dozaj formları ağırlıklı olarak tabletler ve enjeksiyonluk çözeltilerdir. Hasta uyuncunu arttırmak ve ilacın yan etkilerini azaltarak etkinliğini arttırmak üzere nanoteknolojiye dayalı yeni formülasyonların geliştirilmesi de son zamanlarda önem kazanmıştır. Bu amaçla nanokapsüller, nanokristaller geliştirilmeye çalışılmıştır.

Nanotaşıyıcıların yapıları, partikül büyüklükleri, şekilleri, yüzey özellikleri mukozal bariyerden ilaçların taşınmasında etkilidir ve etkin maddenin hücresel tutulumunu (uptake), intraselüler dağılımını, sitotoksitesini, immunojenitesini ve biyodağılımını etkiler.

Nano ilaç yapıları arasında nanokristaller (nanosüspansiyonların kurutulmuş hali/toz hali) ticarileşme potansiyelinden dolayı son yıllarda oldukça popüler hale gelen nanosistemlerdir. Partikül büyüklüğü 100-1000 nm arasında değişen nanokristallerin ölçek büyütme uygun olması, stabilizan madde olarak minimum miktarda yüzey etkin madde ve/veya polimer içermesi, sistemin başka bir yardımcı maddeye gerek olmaksızın ilaç etkin maddesinin kendisinden oluşması, kolay hazırlanması, etkin maddelerin doygun çözünürlüklerini arttırması ve birçok farklı uygulama yoluna uygun olması nedeniyle ilgi görmektedir. 1990'lı yılların başında keşfedilen ve çalışmalara başlanılan nanokristal sistemleri 2000 yılında ticarileştirilmeye başlanmıştır. Nanometre düzeyinde elde edilen ilaç partiküllerinin yüzey alanında meydana gelen artış Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS) Sınıf II ve Sınıf IV grubundaki sudaki çözünürlüğü düşük ilaç etkin maddelerinin doygun çözünürlüğünde artış sağlar. Bu sayede çözünme ve biyoyararlanımında artış görülebilir.

Şizofreni ve ilişkili psikozların tedavisinde yeni ve ekstrapiramidal yan etkisi diğer psikotiklere kıyasla daha az olan, BCS'ye göre Sınıf II grubunda yer alan ziprasidon hidroklorür monohidrat etkin maddesinin nanoteknolojiye dayalı (nanokristal/nanokristal teknolojisi) ağızda dağılan tablet formülasyonlarının geliştirilmesi ve değerlendirilmesini kapsayan bu tezin amaçları;

- Çözünürlüğü ve çözünmesinin çok düşük olması nedeniyle biyoyararlanımı oldukça düşük olan ve tokluk durumunda biyoyararlanımı artan ziprasidon etkin maddesinin bu sorunlarını gidermek için mikrofluidizasyon teknolojisi ile nanokristallerinin elde edilmesi ve karakterizasyonunu incelemek,
- Deney tasarımı ve istatistiksel analizler ile belirlenen en uygun nanokristal formülasyonunun suda çözünürlük ve in vitro açlık/tokluk durumlarını taklit eden biyoyumlu ortamlarda (FaSSIF ve FeSSIF) ticari ürün ile karşılaştırmalı çözünürlük ve in vitro çözünme çalışmalarını gerçekleştirmek,
- Tasarımla kalite (QbD) yaklaşımı ile Nanokristal formülasyonu kullanarak direkt basım metodu ile ağızda dağılan tablet (ADT) formülasyonlarını geliştirmek,

- Caco-2 hücreleri kullanarak intestinal permeabilite çalışmalarının yaparak intestinal permeabilitesinin saptamaktır.

Tez kapsamında ziprasidon etkin maddesinin mikrofluidizasyon metodu ile nanokristalleri ilk kez elde edilmiştir. Elde edilen nanokristaller ile ziprasidon içeren ağızda dağılan tablet formülasyonlarının direkt basım yöntemi kullanılarak geliştirilmesi de piyasada ziprasidon içeren tablet formülasyonunun olmaması ve ilk kez gerçekleştirilmiş olması açısından önem taşımaktadır. Tasarımla kalite yaklaşımı açısından deney tasarımı, hem nanokristallerin geliştirilmesinde hem de ağızda dağılan tabletlerin geliştirilmesinde uygulanmıştır. Bu sayede formülasyona gerçek etki eden faktörler, bu faktörlerin birbiri ile olan etkileşimleri, deneysel olarak hazırlanmayan ara formülasyonların sonuçlarını da ortaya koyabilmektedir. BCS Sınıf II bir etkin madde olan ziprasidonun nanokristallerinin elde edilmesi çözünürlük, çözünme ve dolayısıyla biyoyararlanımının artırılması söz konusudur. Bu etkin maddenin antipsikotik olmasından dolayı ADT şeklinin hazırlanarak etki süresini kısaltması, hasta uyuncunu artırması açısından da önem arz etmektedir. Tasarımla kalite yaklaşımı ile de daha ekonomik ve ticarileşmesi kısa sürebilecek ürün geliştirilmesine zemin hazırlanması, nanoteknolojiye dayalı bir dozaj şekli geliştirilmesi ile tedavide etkinliğin artmasının beklenmesi, düşük dozla daha etkili tedavi sağlanması konularında tez özgün değer taşımaktadır ve literatüre birçok yönden katkı sağlayabilecek nitelikte olduğu düşünülmektedir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Şizofreni Tedavi Yaklaşımları

Şizofreni, kişide gerçeklerle olan ilişkilerin büyük ölçüde azalması, düşünce, duygu ve davranışlarda önemli bozulmaların ortaya çıkması gibi belirtiler gösteren hayat boyu süren çok ciddi bir ruh hastalığı olup mortalite ve morbiditesi son zamanlarda artmıştır (Durgam ve diğerleri, 2016; Gabilondo, Alonso-Moran, Nuno-Solinis, Orueta ve Iruin, 2017). İlk olarak Demence Precoce tanımı ile adlandırılan şizofreni 1871'de Hecker'in Hecker'in "hebefreni", 1874'te Kahlbum'un "katatoni" kavramları ile zenginleşerek, 1896'da Kraepelin'in paranoid ve basit tip eklemeleri ile Dementia praecox adı altında büyük bir hastalık grubu olarak anılmaya başlanmıştır. 1911'de ise Eugen Bleuler'in zihin bölünmesi veya yarılanması tanımlaması günümüzde kullandığımız biçimi ile şizofreni haline dönüşmüştür (Öztürk, 1994). Dünya popülasyonunun yaklaşık %1'ini etkileyen şizofreni hastalığı her yaşta görülebilmektedir (Bobes, Canas, Rejas ve Mackell, 2004; Brinholi ve diğerleri, 2016). Kadınlarda ve erkeklerde görülme sıklığı açısından belirgin fark saptanmamıştır. Ancak östrojen hormonundan dolayı kadınlarda erkeklere göre ortaya çıkma yaşı daha geçtir yani 60 yaş sonrası kadınlarda erkeklere göre daha fazla görülmektedir. (Jablensky, 1997; Hafner ve Heiden, 1997; Jones ve Cannon, 1998). Şizofrenide en yaygın görülen risk faktörleri ise hamilelik, doğum, cinsiyet, yaş, enfeksiyon, genetik faktörler, immün sistem, otoimmün hastalıklar ve stimülan maddelerin kullanılmasıdır (Alaçam ve diğerleri, 2016).

Şizofreni ancak doğru tedavi ile kontrol altına alınabilir (Arıhan 1998). Şizofreni tedavisinde psikolojik terapi ile birlikte medikal tedavi yapılmaktadır ve oldukça maliyetlidir (Poluri, Mulpur, Puttugunta ve Govada; 2013). Medikal tedavide birinci jenerasyon ve ikinci jenerasyon olarak adlandırılan antipsikotik ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçlar şizofreni ile ilişkili psikozların pozitif sendromlarını (örneğin; halüsinasyon, delüzyon, düşünce bozukluğu) düzeltme konusunda kabul görmüştür. Şizofreni tedavisinde kullanılan antipsikotik ilaçların, yarılanma ömürleri ve önerilen günlük kullanım dozları Çizelge 2.1'de verilmektedir (McIntyre ve diğerleri, 2004).

Çizelge 2.1. Şizofreni tedavisinde kullanılan antipsikotik ilaçlar

| Antipsikotik ilaç                        | Önerilen doz aralığı<br>(mg/gün) | Yarılanma ömrü<br>(saat) | Ticari isim      | Kullanım<br>koşulu |
|--|----------------------------------|--------------------------|------------------|--------------------|
| <b>Birinci jenerasyon etkin maddeler</b> |                                  |                          |                  |                    |
| <i>Fenotiyazinler</i>                    |                                  |                          |                  |                    |
| Klorpromazin                             | 300-1000                         | 6                        | Largactil Tablet | Aç/Tok             |
| Flufenazin                               | 5-20                             | 33                       | Dapotum          | Aç/Tok             |
| Mezoridazin                              | 150-400                          | 36                       | Lidanil Draje    | Tok                |
| Perfenazin                               | 16-64                            | 10                       | Decentan         | Aç/Tok             |
| Tioridazin                               | 300-800                          | 24                       | Melleril         | Aç/Tok             |
| Trifloperazin                            | 15-50                            | 24                       | Telazin          | Aç/Tok             |
| <i>Bütirofenon</i>                       |                                  |                          |                  |                    |
| Haloperidol                              | 5-20                             | 21                       | Norodol Tablet   | Aç/Tok             |
| <i>Diğerleri</i>                         |                                  |                          |                  |                    |
| Loksapin                                 | 30-100                           | 4                        | Loksitan         | Tok                |
| Molindon                                 | 30-100                           | 24                       | Moban            | Aç/Tok             |
| Tiyotiksen                               | 15-50                            | 34                       | Navan            | Aç/Tok             |
| <b>İkinci jenerasyon etkin maddeler</b>  |                                  |                          |                  |                    |
| Aripiprazol                              | 10-30                            | 75                       | Abilify          | Aç/Tok             |
| Klozapin                                 | 150-600                          | 12                       | Leponex          | Aç/Tok             |
| Olanzapin                                | 10-30                            | 33                       | Zyprexa          | Aç/Tok             |
| Ketiapin                                 | 300-800                          | 6                        | Seroquel         | Aç/Tok             |
| Risperidon                               | 2-8                              | 24                       | Risperdal Tablet | Aç/Tok             |
| Ziprasidon                               | 120-200                          | 7                        | Zeldox Kapsül    | Tok                |

Antipsikotik ilaçlar kimyasal yapıları ve reseptör duyarlılığı ile sınıflandırılabilir. Birinci jenerasyon antipsikotikler özellikle dopaminerjik reseptörlere antagonist etki gösterirken ikinci jenerasyon antipsikotikler dopamin reseptörlerine daha az ilgi göstererek serotonerjik reseptörlerden 5-HT<sub>2A</sub>'ya daha yüksek ilgi gösterirler (Brinholi ve diğerleri, 2016). Tüm antipsikotik ilaçlar dopamin antagonistidir ve çoğu alfa adrenerjik, muskarinik ve histaminik reseptörleri de etkileyebilmekte ve bunlara bağlı yan etkiler göstermektedir. (Dear ve Bateman, 2015) Fenotiyazin gruplarının birçoğu ise ayrıca antikolinerjik ve antihistaminik etkilere sahiptir. İkinci jenerasyon ilaçlar dopamin antagonisti olmalarının yanısıra serotonin ve diğer santral sinir sistemi üzerine etkileri olduğundan ekstrapiramidal etkilerin oluşma riski bu ilaçlarda daha azdır (Burns, 2001; Coplan, Gugger ve Tasleem, 2013). Antipsikotik ilaçların kullanımında geri dönüşümsüz ekstrapiramidal yan etkiler, tardif diskinezi, prolaktin yükselmesi, ağırlık artışı, glukoz ve lipit abnormaliteleri, QTc uzaması, sedasyon, hipotansiyon ve antikolinerjik yan etkiler (ağız kuruluğu, konstipasyon, taşikardi, görme bozuklukları, iştah artışı, libido azalması ve sık idrara çıkma) görülmektedir. Çizelge 2.2 'de sıklıkla kullanılan antipsikotik ilaçlara göre yan etkilerin görülme sıklığı verilmektedir (Tandon R, 1998, McIntyre ve diğerleri, 2004; Chou ve diğerleri, 2016; Dang ve diğerleri, 2015). Bu yan etkiler terapötik dozlarda ortaya çıkmaktadır.

Çizelge 2.2. Şizofreni tedavisinde sıklıkla kullanılan antipsikotik ilaçlarda görülen yan etkiler

| İlaç adı       | Ekstrapiramidal yan etkiler/<br>Tardif diskinezi | Prolaktin yükselmesi | Ağırlık artışı | Glukoz abnormalitesi | Lipit abnormalitesi | QTc**** uzaması | Sedasyon | Hipotansiyon | Antikolinerjik yan etkiler |
|----------------|--|----------------------|----------------|----------------------|---------------------|-----------------|----------|--------------|----------------------------|
| Tiyoridazin    | 1  | 2                    | 1              | 1                    | 1                   | 3               | 2        | 2            | 2                          |
| Perfenazin     | 2  | 2                    | 1              | 1                    | 1                   | 0               | 1        | 1            | 0                          |
| Haloperidol    | 3  | 3                    | 1              | 0                    | 0                   | 0               | 2        | 0            | 0                          |
| Klozapin*      | 0  | 0                    | 3              | 3                    | 3                   | 0               | 3        | 3            | 3                          |
| Risperidon     | 1  | 3                    | 2              | 2                    | 2                   | 1               | 1        | 1            | 0                          |
| Olanzapin      | 0  | 0                    | 3              | 3                    | 3                   | 0               | 1        | 1            | 2                          |
| Ketiapin**     | 0  | 0                    | 2              | 2                    | 2                   | 0               | 2        | 2            | 0                          |
| Ziprasidon     | 0  | 1                    | 0              | 0                    | 0                   | 2               | 0        | 0            | 0                          |
| Aripiprazol*** | 0  | 0                    | 0              | 0                    | 0                   | 0               | 1        | 1            | 0                          |

Çizelge 2.2'ye göre rakamların anlamı aşağıdaki gibidir:

0= terapötik dozda risk yoktur veya çok nadir görülebilir. 1= Terapötik dozda görülen orta veya nadir görülebilir. 2= Terapötik dozda bazen yan etki görülebilir. 3= terapötik dozda sıklıkla yan etki görülebilir.

\*Klozapin ayrıca agranülostitozis oluşmasına, nöbetlerin görülmesine ve miyokarditise neden olur.

\*\*Ketiapin kullanımında katarakt gelişmesi ile ilgili uyarı vardır.

\*\*\*Aripiprazol mide bulantısı ve baş ağrısına da neden olur.

\*\*\*\* Q dalgı başlangıcından T dalgı sonuna kadar geçen süredir. Ventriküler depolarizasyon ve repolarizasyon için geçen süreyi belirtir. QT aralığı ile kalp atım hızı yavaşladıkça uzar.

Çizelge 2.2'de belirtilen yan etkilere ek olarak yapılan bir çalışma sonucu ikinci jenerasyon ilaçlardan özellikle risperidon, ketiapin ve olanzapinde karaciğer enzimlerinde ve serum bilirubin düzeylerinde yükselme görülebilmektedir. İkinci jenerasyon antipsikotikler ile tedavi edilen hastaların %50'sinde karaciğer enzimlerinde asemptomatik bir yükselme görülmüştür. Buna rağmen ziprasidon ve aripiprazol kullanımı ile ilişkili herhangi ciddi karaciğer bozukluğu şimdiye kadar rapor edilmemiştir (Atasoy ve diğerleri, 2007). Olanzapin, aripiprazol ve risperidonun model antipsikotik ilaçlar olarak alındığı bir çalışmada ise, hastalarda kardiyometabolik riskin arttığı, lipit ve glukoz metabolizmasının bozulduğu görülmüştür (Zhai ve diğerleri, 2017).

Şizofreni kronik bir hastalık olduğundan, tedavi isteğe bağlı 3 faza ayrılabilir. Bunlar akut faz, stabil olma fazı ve hastalığın stabil fazıdır. Akut fazda hastaların acil tedavi almaları

gerekir, enjeksiyonluk formdaki ilaçlar hastanede uygulanır. Kullanılan ikinci jenerasyon antipsikotikler de intravenöz formlar kadar etkilidir ve akut fazda endikedir. Stabilizasyon fazında hastaların semptomatik izlenmesi ve akut epizod sonrası durumunun takip edilmesi gerekir. Stabil fazda semptomlar ve organizasyon bozukluğu daha azalmıştır, bu durumda uzun süreli psikososyal ve rehabilitasyon stratejileri uygulanabilir. Hastalar her 3 ayda bir takip edilmektedir (Addington ve diğerleri, 2005). Tedavide uzun etkili enjekte edilebilir antipsikotik ilaçların kullanımı günlük dozu karşılayabildiğinden şizofreni tedavi kılavuzlarına göre oral uygulamanın hasta uyuncunu azaltabilmesinden dolayı klinisyenler tarafından bu dozaj formları tercih edilmektedir (Wu, Cheng, Feng ve Chen, 2016). Risperidonun uzun etkili enjeksiyonluk formu ilk kullanılan ikinci jenerasyon enjeksiyonluk ilaçlardandır. Daha sonra birinci jenerasyon ilaçların ekstrapiramidal yan etkilerinden dolayı enjeksiyonluk ikinci jenerasyon ilaçlar geliştirilmiştir (Wu, Lin ve Feng, 2012; Fell ve diğerleri, 2005).

Antipsikotik ilaçların oral yolla kullanımında biyoyararlanımını iyileştirmek için tok iken veya yiyeceklerle birlikte alınması önerilmektedir (Jeffrey, Glue, Alderman ve Wilner, 2007). Şizofreni hastaları ilaçların yan etkilerinden dolayı tedavilerine devam etmemekte ve uyunç problemi göstermektedirler (Kozlowski 2016; Harvey ve Rosenthal, 2016). Bu açıdan oral yolla ilaç kullanımını ve hasta uyuncunu sağlamak ve ilacın yararlı etkisini arttırmak amacıyla çeşitli nanoteknolojik yaklaşımları içeren çalışmalar yapılmıştır. Lipit bazlı ilaç veriliş sistemleri, kendi kendine nanoemülsifiye olan ilaç veriliş sistemleri, nanokristal içeren katı dozaj formları bunlar arasındadır (Thombre, Shah, Sagawa ve Caldwell, 2012; Dening, Rao, Thomas ve Prestige, 2016). Nanoteknoloji uygulaması şizofreni tedavisinde ilacın oral biyoyararlanımını arttırması açısından önem taşımaktadır (Merisko-Liversidge ve Liversidge, 2008; Thombre ve diğerleri, 2012).

Partikül büyüklükleri 10-1000 nm arasında değişen ve terapötik ajan içeren nanopartiküler sistemler, sudaki çözünürlüğü düşük olan ilaçların doygun çözünürlüğünü ve stabilitesini artırır ve partiküllerin nanoboyuta indirgenmesi ile ilaç etkin maddelerinin açıklık ve tokluk ortamlarında biyoyararlanım farkını azaltırlar (Merisko-Liversidge ve Liversidge, 2008).

Şizofreni tedavisi için tez kapsamında etkin madde olarak suda düşük çözünürlüğe sahip ikinci jenerasyon antipsikotikler grubuna dahil ziprasidon etkin maddesinin ticari olarak sert jelatin kapsül dozaj formunda bulunan ziprasidon hidroklorür monohidrat tuzu seçilmiştir.

Ziprasidon, şizofreni tedavisinde yüksek terapötik etkinlik ve tolerabilite profili gösteren benzothiazol piperazin türevi yeni bir antipsikotiktir (Vogel ve diğerleri, 2009; Deveci ve Danaci, 2001). 2001 yılında Amerika Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanan ziprasidon, Zeldox® ticari ismiyle ilk defa Pfizer firması tarafından sert jelatin kapsül formunda ilaç pazarına sunulmuştur. Tez kapsamında ziprasidon hidroklorür monohidratın partikül boyutunun nano boyuta düşürülmesiyle (nanokristalizasyon), çözünürlük, çözünmesinin artması, yiyecek ve içeceklerden emiliminin etkilenmemesi ve buna bağlı açlık ortamdaki biyoyararlanımının artmasının beklenmesi ile birlikte nanokristal içeren ağızda dağılan tablet formülasyonunun geliştirilerek şizofreni tedavisinde yeni bir dozaj formu olarak üstünlük sağlayacağı düşünülmektedir.

## 2.2. Ziprasidonun Şizofreni Tedavisinde Kullanımı

Ziprasidon ikinci jenerasyon anipsikotik ilaç grubuna dahil olarak şizofreni tedavisinde 40-160 mg doz aralığında kullanılmaktadır (Mullins ve diğerleri, 2006). Etki mekanizması aşağıda verilmektedir:

Ziprasidon dopamin tip 2 (D2) reseptörlerine karşı yüksek, ve serotonin tip 2A (5-HT2A) reseptörlerine karşı ise daha yüksek bir afiniteye sahiptir. Ziprasidon ayrıca serotonin 5-HT2C, 5-HT1D ve 5-HT1A reseptörleri ile de etkileşir. Bu reseptörlere afinitesi D2 reseptörlerine olan afinitesine eşit veya daha fazladır (Harvey ve diğerleri, 2004). Ziprasidonun nöronal serotonin ve noradrenalin taşıyıcıları için orta dereceli bir afinitesi vardır. Ziprasidon histamin H(1)ve alfa1 reseptörlerine orta dereceli bir afinite gösterir. Ziprasidonun muskarinik M(1) reseptörleri için afinitesi ihmal edilebilir derecededir. Ziprasidonun hem serotonin tip 2A (5-HT2A) hem de dopamin tip 2 (D2) reseptörler için antagonist olduğu gösterilmiştir. Antipsikotik etkinin kısmen bu antagonist aktivitelerin kombinasyonu yolu ile olduğu ileri sürülmektedir. Ziprasidon ayrıca 5-HT2C ve 5-HT1D reseptörlerinde güçlü bir antagonist, 5-HT1A reseptörlerinde güçlü bir agonisttir ve norepinefrin ve serotoninin nöronal geri alınımını inhibe etmektedir (Fell ve diğerleri, 2005; Yoon, Noh, Choi ve Baik S, 2010; Prakash, Kamel, Anderson ve Howard, 1997). Ziprasidonun bu etki mekanizmasından dolayı diğer özellikle birinci jenerasyon antipsikotiklere göre yan etki profili daha azdır. Ekstrapiramidal yan etkiler çok az olmasından dolayı tercih edilmektedir, ziprasidon şizofreni hastalığının pozitif semptomlarında haloperidol kadar etkili olduğu yapılan klinik çalışmalarda gözlenmiştir.

Ayrıca iyi tolere edilebilir ve hızlı antipsikotik etkiye sahiptir. (Coplan ve diğerleri, 2013; Kudla, Lambert, Domin, Kasper ve Naber, 2007; Stip, Zhornitsky, Potwin ve Tourjman; 2010).

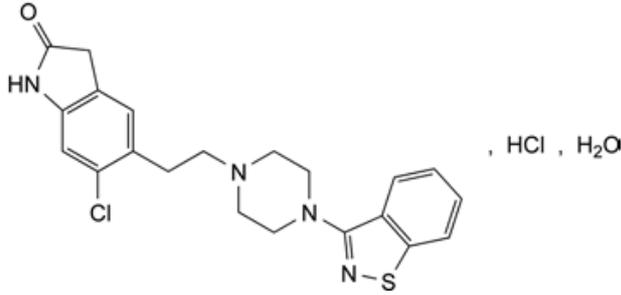
Yapılan çalışmalar sonucu birinci jenerasyon antipsikotiklere göre ziprasidonun şizofreni hastalığındaki kognitif (bilişsel) bozukluklara yani hafıza ile ilgili işlevlere daha iyi geldiği görülmüştür (Harvey ve diğerleri, 2004; Harvey, Pappadopulos, Lombardo ve Kremer, 2009).

Ziprasidon ve klozapin ile tedavi gören hastalarda yapılan bir klinik çalışmada ziprasidonun daha iyi metabolik profil gösterdiği ve benzer etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Prolaktin, böbrek ve karaciğer fonksiyonu, hematoloji ve kardiyovasküler parametreler üzerinde zararlı etkisi bulunmamıştır. Ziprasidonun ağırlık, glukoz metabolizması, toplam kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit gibi metabolik profile olumlu etkisi klozapine kıyasla tedavide değerini arttırmıştır (Sacchetti ve diğerleri, 2009). Başka bir çalışma ise ketiapin, aripiprazol ve ziprasidonun metabolik etkilerinin karşılaştırılması üzerine yapılmış ve ağırlık artışı ve lipit metabolizmasına olan olumsuz etkilerin ziprasidonda daha az görüldüğü tespit edilmiştir (Iglesias ve diğerleri, 2014).

Sonuç olarak ziprasidonun tedavideki klinik etkinliğinin yüksek ve yan etki profilinin özellikle geri dönüşümsüz olan ekstrapiramidal yan etkisinin çok düşük olması ve hastalar tarafından iyi tolere edilebilmesi ve kısa sürede etki göstermesi tedavide olumlu tercih sebebi olmakla birlikte düşük çözünürlüğüne ve yiyeceklerden etkilenmesine bağlı düşük biyoyararlanımının olmasından dolayı da tedavi etkinliğini arttırmak için konvansiyonel dozaj şekilleri yerine yeni teknolojilerin kullanımının şizofreni tedavisindeki yararını arttıracak alternatif bir yol olarak düşünülmektedir (Patil ve diğerleri, 2012 ve Thombre ve diğerleri, 2012).

### **2.3. Ziprasidon Hidroklorür Monohidratın (ZHM) Fizikokimyasal Özellikleri**

Ziprasidon hidroklorür monohidratın kimyasal ismi '5-[2-[4-(1,2-benzisothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)ethyl]-6-chloro-1,3-dihydro-2H-indol-2-one-hydrochloride monohydrate' olup molekül ağırlığı 467.4 g/mol'dur. Beyaz veya hafif pembemsi bir tozdur (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Ziprasidon hidroklorür monohidratın kimyasal formülü

Ziprasidon ve ZHM tuzu pratik olarak suda çözünmezler, metanolde ve metilen klorürde çok az çözünürler (Avr. Farm.). Çözünürlük ve permeabilite özelliği incelendiğinde BCS'ye göre Sınıf II olarak sınıflandırıldığı görülmektedir (Zakowiecki ve diğerleri, 2015; Patil, Korachagaon, Shiralashetti ve Marapur, 2012). Yani ZHM suda çok düşük çözünürlüğe ve yüksek permeabiliteye sahiptir (Abrahamsson ve Lennernäs, 2009). Ziprasidonun ve tuzunun suda çözünürlüğünün çok düşük olması dolayısıyla oral biyoyararlanımı da oldukça düşüktür yani oral emilimde sudaki çözünürlük hız kısıtlayıcı bir basamaktır (Kul, Gumustas, Uslu ve Ozkan, 2010). Ziprasidonun suda çözünürlüğü 0,5 µg/mL olup ziprasidon hidroklorür tuzunun suda çözünürlüğü 210 µg/mL ve monohidrat tuzunun suda çözünürlüğü ise 0,075 mg/mL'dir (Zakowiecki ve diğerleri, 2015; Al-Habet, 1998). Bazik (pKa ≈6) ve oldukça lipofilik (clogP= 3.6) yapıdadır (Thombre, Herbig ve Alderman, 2011; Thombre ve diğerleri, 2015). LopP değeri 2,9 ile 5,2 arasında olan ilaçların insanda permeabilite değerlerinin  $10^{-5} - 10^{-4}$  arasında olması beklenmektedir (Paixao, Gouveia ve Morais, 2010). Yapılan bir çalışmada ziprasidonun görünür permeabilitesi 12,3 cm/sn, LogP değeri ise 3.71 olarak bulunmuştur (Yee, 1997).

#### 2.4. Ziprasidonun Hidroklorür Monohidratın (ZHM) Biyoyararlanım ve Farmakokinetik Özellikleri

Ziprasidon oral ve intramusküler yoldan kullanılmaktadır. Ziprasidonun intramusküler uygulamadan oral uygulamaya geçişte etkili ve iyi tolere edildiği bulunmuştur (Brook, Swift ve Harrigan, 1997). Ziprasidonun çözünmesi, etkin madde partikülleri safra tuzlarının miselleri arasında dağıldığında artmaktadır. Sonuç olarak ziprasidonun oral yoldan kullanılması ile açlık durumundaki emilimi, safra konsantrasyonu bağlı olarak düşük olduğundan çok zayıftır ve değişkendir (Jeffrey ve diğerleri, 2007). Dolayısıyla

biyoyararlanımı yiyecekler ile birlikte alındığında iki katına çıkmaktadır (Stimmel, Gutierrez ve Lee, 2002; ve Thombre ve diğerleri, 2012).

Ziprasidonun tedavi dozu günde iki kez 20 mg dozda başlayıp günlük doz 160-200 mg'a kadar çıkabilmektedir (Thombre ve diğerleri, 2015). Oral biyoyararlanımı yiyeceklerle birlikte alınlığında 20 mg dozda %60'dır ve yarılanma ömrü 6-8 saattir (Miceli ve diğerleri, 2000). Açlık ve tokluk durumlarında eğri altında kalan alan (AUC) değerleri oldukça farklılık göstermektedir. Tokluk durumunda AUC değeri yüksek iken yarılanma ömrü açlık durumuna göre daha kısa rapor edilmiştir. Yemeklerden 2 saat sonra ziprasidon verildikten sonra da benzer bulgular gözlenmiştir (Stip ve diğerleri, 2011).

Miceli ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada tokluk durumunda 20 mg, 40 mg ve 80 mg dozlarda ziprasidon verilmesi ile AUC değerleri açlık durumundan oldukça yüksek bulunmuştur ve aynı araştırmacılar başka bir çalışmada tek doz 40 mg ziprasidonu ise açlık ve tokluk (yüksek yağlı yemek ve orta yağlı yemek olarak) durumlarında yani üç farklı doygunluk durumunda vermişlerdir. Sonuç olarak iki farklı tokluk durumunda serum konsantrasyonları benzer çıkarken açlık durumu arasında oldukça farklılıklar gözlenmiş ve açlık durumundaki serum konsantrasyonu düşük bulunmuştur (Miceli ve diğerleri, 2007).

Ziprasidon başlıca mikrozomal enzim sitokrom P450 (CYP) 3A ve sitozolik enzim aldehit oksidaz ile metabolize olur. %5'den daha azı metabolize olmamış halde idrar ile atılır (Vogel ve diğerleri, 2009; Kul ve diğerleri, 2010). Metabolitlerinin klinik olarak etkisi yoktur ve karaciğer ve böbrek yetmezliğinde klirensi çok az etkilenmektedir (Caley ve Cooper, 2002). Ziprasidonun %99'u plazma proteinlerinden başlıca albumin ve alfa1-asit glikoproteinine bağlanır. İntravenöz uygulanması ile 1.1 L/kg dağılım hacmine sahiptir. 40-80 mg doz aralığında günde iki kez tokluk durumunda uygulandığında lineer farmakokinetik profil göstermektedir. İntravenöz uygulandığında ortalama sistemik klirensi 5 mLdk/kg'dır. Yetişkin ve yaşlılar arasındaki farmakokinetiği açısından klinik olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (NDA 20-825 Approval Letter and Labeling; 4-28).

İlaç pazarında ziprasidon hidroklorür monohidrat içeren Pfizer firmasına ait Türkiye'de, Amerika'da ve Avrupa'da ruhsatlı ürün olan Zeldox sert jelatin kapsül ve enjeksiyonluk çözelti formunda bulunmaktadır.

## 2.5. Ziprasidonun Biyofarmasötik Özellikleri ile İlgili Yapılmış Çalışmalar

Ziprasidonun çözünürlüğünü ve çözünmesini arttırmaya, açlık tokluk varyasyonunu azaltmaya yönelik bir takım çalışmalar yapılmıştır. Dening ve arkadaşları ziprasidon içeren lipit bazlı ilaç taşıyıcı sistemler geliştirerek açlık ve tokluk durumundaki absorpsiyon farkını azaltmayı hedeflemişlerdir. Bu amaçla kendi kendine nanoemülsifiye olan ilaç taşıyıcı sistemler, katı kendi kendine nanoemülsifiye olan ilaç taşıyıcı sistemler ve silika-lipit hibrid mikropartiküller geliştirilmiş ve incelenmiştir (Dening, Rao, Thomas ve Prestige, 2016). Bu üç sistemin performansı in vitro lipoliz modeli kullanan simüle bağırsak koşullarında ham ziprasidon ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Ziprasidon tokluk koşullarında ilaç çözünürlüğü açlık durumuna göre 2,4 kat artış gösterirken tüm lipit bazlı geliştirilen ilaç taşıyıcı sistemler açlık koşullarında kaba toz etkin maddeye kıyasla 18 ile 43 kat artış göstermiştir ve bu üç lipit bazlı sistem tokluk ve açlık koşulunda ilaç çözünmesi açısından anlamlı farklılık göstermemiştir (Dening ve diğerleri, 2016).

Ziprasidonun çözünmesini arttırmaya yönelik serbest bazının yüksek enerjili top bilyalar veya kriyojenik bilyalar ile öğütülmesi ile amorf ziprasidon elde edilmiş ve geliştirilen farklı formülasyonlardaki katı oral dozaj formları sert jelatin kapsüller halinde hazırlanmıştır. Ticari ürünü olan Zeldox® ile birlikte karşılaştırmalı çözünme çalışmaları USP palet yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Zeldox®'a göre kriyobilya ve top bilyalar ile öğütülen ziprasidonun çözünmesi 30'ncü dakikadan sonra oldukça artmıştır. Kriyomil ile öğütülerek hazırlanan formülasyonlar diğerlerine kıyasla daha yüksek çözünme göstermiştir (Zakowiecki ve diğerleri, 2015).

Ziprasidonun çözünmesini arttırmak için yüksek hidrofilik taşıyıcılar ile (hidroksipropilmetilselüloz, siklodekstrinler gibi) birlikte öğütme tekniği ile katı dispersiyonları hazırlanmıştır. Katı dispersiyonların etkin madde yükleme oranı %34 ile %97 arasında değişmekte iken öğütülmemiş etkin madde ile hazırlanan katı dispersiyonun ilaç yükleme miktarı %28 bulunmuştur. Öğütme etkin maddenin kristal yapısının azalarak amorf yapıya geçmesini ve partiküllerinin küçülmesini sağlayarak çözünmesini arttırmıştır. Hidroksipropilmetil selüloz ile hazırlanan katı dispersiyonlar diğerlerine göre daha fazla çözünme göstermiştir (Patil ve diğerleri, 2012).

Ziprasidonun oral ve parenteral yol dışında transdermal ve nazal uygulama şeklinde yapıldığı çalışmalar da mevcuttur. Ziprasidonun oral biyoyararlanımının düşük olmasından dolayı deriden emilimini arttırmak için fiziksel penetrasyon arttırıcı ajanlar ile transdermal ilaç taşıyıcı sistemleri geliştirilmiştir. Ziprasidon içeren jeller distile su, etanol, Carbopol®, trietanolamin ve tulsu yağı ile farklı oranlarda geliştirilmiş ve deriden emilim sonrası plazma konsantrasyonlarına bakılmıştır, tulsu yağını en fazla oranda içeren formülasyon en yüksek kan plazma konsantrasyonu göstermiştir (Rani, Saroha ve Nanda, 2012).

Ziprasidonun lipofilik yapısından dolayı nazal yoldan beyine hedeflemeyi amaçlayan mikroemülsiyonları da Rajput ve arkadaşları, 2013 tarafından çalışılmış ve selüloz asetat membran kullanarak in vitro difüzyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak mikroemülsiyon sisteminin nazal yolla uygulanması ile presistemik absorpsiyonu azaltacağı ve uygulama bölgesindeki absorpsiyonu arttırarak hızlı etki göstereceği düşünülmüştür (Rajput, Prakash, Motilal ve Prakash C., 2013).

Ziprasidonun sudaki çözünürlüğünü arttırmak için osmotik pompa kapsül sistemi geliştirilmiştir. Selüloz asetat membranların osmotik pompa kapsülleri zayıf çözünen ilaç olan ziprasidon hidroklorürün salımı için faz inversiyon tekniği ile hazırlanmıştır. PEG-400'ün en yüksek oranda kullanıldığı formülasyonda ise kümülatif ilaç salımı en yüksek gözlenmiştir (Chauhan, Naruka ve Kamble, 2011).

Süper dağıtıcıların (sodyum nişasta glikolat, krospovidon, prejelatinize nişasta vb.) kullanıldığı ve direkt basım, yaş granülasyon yöntemleriyle ziprasidon içeren konvansiyonel ağızda dağılan tabletlerinin ve sakız formülasyonlarının geliştirildiği çalışmalar mevcuttur (Prasanthi, Manikiran ve Rao, 2010, 2011; Prasanthi ve Rama, 2010). Ayrıca ağızda çözünebilir film halinde formülasyonları da suda çözünebilir polimerler kullanılarak geliştirilmiştir. Oral filmler 50 saniyenin altında ağızda dağılabilmektedir (Poluri ve diğerleri, 2013).

Bir başka çalışma da ziprasidonun mide-bağırsak ilaç salım performansını geliştirmek için penetre olan polimer bağlı boncuklarının tasarlanması üzerinde yapılmıştır. Boncukların midede uzun süreli salım yaptığı görülmüştür (Bera, Boddupalli ve Nayak, 2015).

Ziprasidon hidroklorür monohidrat ile katı nanokristal dispersiyonlar püskürterek kurutma tekniği ile hazırlanmış ve açlık durumundaki oral biyoyararlanımı köpeklerde ve insanlarda incelenmiştir. İki farklı mide ortamında membran permeasyon çalışmaları yapılmıştır. Nanokristallerin açlık durumunda piyasa preparatına (Zeldox<sup>®</sup>) göre absorpsiyonunun arttığı ve in vitro membran permeasyon çalışmasında, açlık ve tokluk ortamlarında nanokristal katı dispersiyonların kristal ilaca göre daha fazla geçiş yaptığı ve ilaç geri kazanımlarının daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Thombre ve diğerleri, 2012). Aynı araştırmacılar ayrıca ziprasidonun üç farklı teknik kullanarak çözünebilir formülasyonlarını hazırlamışlar ve in vitro ve in vivo karakterizasyonunu incelemişlerdir. Bu formülasyonlar; ziprasidon ve siklodekstrin içeren amorf inklüzyon kompleksleri, kristal ziprasidon serbest bazının nanokristalleri ve hipromellöz asetat süksinat ile püskürtülerek kurutma yöntemiyle kaplanan yüksek hızda öğütülmüş (jet-milled) ziprasidondur. Membran permeasyon çalışmasında öğütülmüş ziprasidon içeren kaplı kristaller, kristal ziprasidon HCl'e göre 1.5 kat yüksek geçiş göstermiştir. Üç formülasyon beagle cinsi köpeklere uygulanmış ve farmakokinetik parametreleri Zeldox<sup>®</sup> kapsüller ile açlık ve tokluk ortamlarında kıyaslanmıştır. Amorf kompleks ve nanokristal formülasyonu açlık durumunda absorpsiyonda artış göstermiştir. Bu durum ziprasidonun çözünürlüğünün artışına bağlı yiyeceklerden etkilenmesinin azalması şeklinde yorumlanmıştır (Thombre ve diğerleri, 2012).

Ziprasidonun suda düşük çözünürlüğünün zayıf biyoyararlanıma neden olmasından dolayı sudaki çözünürlüğünü arttırmayı amaçlayan bir çalışmada, araştırmacılar hidroksipropil beta siklodekstrin ve sülfobutiller beta siklodekstrin ile inklüzyon kompleksi oluşturarak ADT hazırlamışlardır. Öncelikle bu siklodekstrin inklüzyon kompleksleri FTIR, DSC ve doymun çözünürlük açısından karakterize edilmiştir, daha sonra ise sentetik süper dağıtıcılardan sodyum nişasta glikolat ve krospovidonun kullanıldığı 20 mg ziprasidon içeren direkt basım metodu ile basılan ADT'lerin sertlik, friabilite, kalınlık, ağırlık, ilaç salımı ve dağılma süreleri değerlendirilmiştir. Ziprasidon ile sülfobutil eter beta siklodekstrin oranının 1:3 olduğu komplekste sudaki çözünürlük en fazla arttığından ADT'ler için bu formülasyon seçilmiştir. ADT'ler de etkin madde çözünmesi 20 dakika sonra %98,25 olarak gözlenmiştir, bu sonucun in vivo çalışmalar ile desteklenmesi gereği önerisi getirilmiştir (Jadhav ve Erande, 2016).

## 2.6. Ağızda Dağılan Tabletler

### 2.6.1. Ağızda dağılan tabletlerin tanımı

Hızlı çözünen tabletler ve hızlı dağılan tabletler olarak isimlendirilen ağızda dağılan tabletler (ADT) suya veya çiğnemeye ihtiyaç duyulmaksızın ağız boşluğunda dağılan veya çözünen katı ilaç şekilleridir.

Amerikan İlaç ve Gıda İdaresi (FDA) İlaç Değerlendirme ve Araştırma Merkezi (CDER)'in tanımına göre ağızda dağılan tabletler, etkin madde içeren ve dil üzerine yerleştirildiğinde saniyeler içinde dağılan katı dozaj şekilleridir. Avrupa Farmakopesi'nde ise 'Orodisperse' olarak tanımlanan ağızda dağılan tabletler, ağız boşluğuna yerleştirildiğinde yutmadan önce 3 dakikadan daha kısa bir sürede hızlıca dağılabilen tabletler olarak tanımlanmaktadır.

Standart tabletlere, çiğneme tabletlerine ve sıvı ilaç şekillerine göre kullanım kolaylığı sağlayan, özellikle yatalak hastalar, mide bulantısı ve yutma güçlüğü çeken hastalar, yaşlılar, zihinsel engelliler ve çocuklar için geliştirilmiş; parkinson hastalığı, alzheimer hastalığı, psikozis, şizofreni, kardiyovasküler hastalıklarda ve ağrı, ateş, alerji gibi rahatsızlıklarda kullanımı tercih edilen dozaj şekilleridir (Jain ve Naruka, 2009; Slavkova ve Breitskreutz, 2015).

Ağızda dağılan/çözünen tablet teknolojisinin son yıllarda ilaç endüstrisinde göstermiş olduğu başarıdan dolayı günümüzde bu konuda yapılan çalışmalar oldukça artmıştır. Ağızda dağılan/çözünen tabletler klasik tabletlerin ve sıvı dozaj şekillerinin üstünlüklerini içermesinin yanında su gerekmesizin kullanılabilmesiyle yatalak, yaşlı, şizofren ve çocuk hastalarda ilk tercih sebebi olmaktadır (Slavkova ve Breitskreutz 2015; Siddiqui, Garg ve Sharma, 2010).

### 2.6.2. Ağızda dağılan tabletlerin özellikleri

- Ağızda birkaç saniye içinde dağılmalı veya çözünmeli ve yutma için suya gereksinim duyulmamalıdır (Fu, Yang, Jeong, Kimura ve Park, 2004)

- Oral kullanım sonrası ağızda çok az kalıntı bırakmalı veya hiç kalıntı bırakmamalıdır. Tablet ağızda dağılırken mümkün olduğunca küçük partiküller haline gelmesi istenir.
- Tadı kabul edilebilir olmalı ve ağızda hoş bir his bırakmalıdır (Garud, Derlei Valavi, Shaikh ve Derle N, 2014).
- Üretim, ambalajlama, taşıma ve kullanım esnasında kırılmaması için yeterli sertlikte olmalıdır. Sertliğin artırılması dağılma süresinde gecikmeye neden olabileceğinden bu iki parametre arasında denge sağlanmalıdır (Tuncay, 2010).
- Nem, sıcaklık gibi çevresel koşullara dayanıklı olmalıdır (Kumar, Gupta ve Sharma, 2012).
- Klasik üretim ve ambalajlama teknikleri ile üretilmeli ve maliyeti uygun olmalıdır (Fu ve diğerleri, 2004).

### 2.6.3. Ağızda dağılan tabletlerin üstünlükleri

Ağızda dağılan tabletlerin diğer katı oral dozaj şekillerine kıyasla birçok üstünlükleri bulunmaktadır.

- Ağızda dağılan tabletler kullanıcı dostu olarak tasarlanmıştır, özellikle yaşlı ve çocuklardan oluşan veya oral ilaç alımında güçlük çeken hasta popülasyonunda kolay ilaç alımına olanak sağlarlar. (Ölmez ve Vural, 2009). Böylelikle yutma veya çiğneme zorlukları ortadan kalkmıştır.
- Hasta uyuncunu arttırmak için geliştirilen dozaj şekillerinden efervesan tabletlerin ve kuru toz süspansiyonların uygulamadan önce hazırlanma gerekliliği vardır, sakız veya çiğneme tabletleri ise yaşlı hastaların genellikle büyük parçaları çiğneyememeleri nedeniyle sakıncalıdır ve ağızda uzun süre kaldıklarından acı tat bırakan ilaçlar için bazen hoş olmayabilir (Ölmez, Vural, Şahin, Ertuğrul ve Çapan, 2010). Ağızda dağılan tabletler tükürükle temas ettiğinde hemen dağılacak ya da çözünecek şekilde tasarlandığı için tabletin çiğnenmesi ya da bütün tabletin yutulması için su içilmesi gerekmez.
- Birçok etkin maddenin kötü/ acı tadını en iyi maskeleyen yöntemlerinden biri ağızda dağılan tablet formunda hazırlanmasıdır (Nishiyama, Ogata ve Ozeki, 2016). Çünkü ağızda dağılan tabletler hazırlanırken tat maskeleyen ajanları ve tatlandırıcılar kullanılmakta ve ağızda hoş bir tat bırakmaktadır.

- Çoğu hasta tablet ve sert jelatin kapsülleri yutma da zorlanmakta ve bunun sonucu olarak ilaçlarını tarif edildiği şekilde almamaktadır. Tümör, nöromusküler hastalıklar, metabolik hastalıklar, enfeksiyöz hastalıklar, iatrojenik nedenler, anatomik bozukluklar, otoimmün hastalıklar, stres, anksiyete gibi nedenlerle görülebilen yutma zorluğunun (disfaji) bütün yaş gruplarında yaygın olarak görüldüğü, genel popülasyonun %35'inin etkilendiği bildirilmiştir (Koch 1993).
- Tabletlerin hızla dağılması, hızlı çözünme ve çabuk absorpsiyona bağlı olarak konvansiyonel tabletlere bağlı olarak asıl amacın biyoyararlanımı artırmak olduğu belirtilmektedir (Clarke ve diğerleri, 2003; Ventura, Giannone, Musumeci, Pignatello, ve Puglisi, 2007). Tabletlerin ağızda dağılması ile hızlı çözünen etkin maddelerin mide öncesi (ağız, yutak, yemek borusu) absorpsiyona uğrayabileceği bildirilmiştir (Golden ve Honigfeld, 2008).
- Oral mukozal absorpsiyon karaciğer ilk geçiş etkisini önler ve hepatik metabolizmaya uğrayan ilaçlar için önemli bir üstünlük sağlar (Clarke ve diğerleri, 2003; Lew 2005).
- Psikiyatride tedaviye uyunç göstermeme ve özellikle şizofreni hastalarının konvansiyonel tableti dil altında gizleyerek ilacı yutmamaları sıklıkla karşılaşılan bir durumdur. Ağızda hızla dağılan tablet teknolojisi ile psikiyatride hastanın rahatı ve yaşam kalitesi artırılabilir (Sivannarayana, Prameela ve Saikishore, 2013). Tedaviye uyunç göstermeme ve etkin olmayan tedavi ile sonuçlanan bu problemten popülasyonun % 50'sinin etkilendiğinin tahmin edildiği bildirilmiştir (Rahman, Siddiqui ve Khan, 2013).
- Ağızda dağılan/çözünen tabletler katı ilaç şekillerinin stabilite, doğru dozlama ve kolay üretim gibi üstünlükleri sağlamaktadır (Habib, Khankari ve Hontz, 2000).
- Ağızda dağılan tablet formülasyonları endüstriyel alanda aynı zamanda ürün farklılığı, patent süresini uzatma gibi üstünlükler de sunar (Ölmez ve Vural, 2009).

#### **2.6.4. Ağızda dağılan tabletlerin sakıncaları**

- Sıcaklık ve neme karşı hassastırlar (Thakur ve Narwal, 2012).
- Tercihen 50 mg'dan daha düşük dozlamalar için uygundur (Kumaresan, 2008).
- Kısa yarılanma ömrü ve sık dozlama gerektiren etkin maddeler için uygun bir şekil değildir (Reddy ve Gosh, 2002).

- Ağızda dağılan tabletler porözitesi fazla olan ve çok düşük basınçta basılan tabletler oldukları için kırılındıkları, bu nedenle özel ambalaja gereksinim duyarlar (Makino, Yamada ve Kikuta, 1993).
- Ağızda dağılan tabletlerin üretiminde kullanılan liyofilizasyon ve vakum yoluyla kurutma işlemlerinde özel aletler gerekebildiğinden veya patentli teknolojiler kullanıldığından yüksek maliyete neden olabilir (Thakur ve Narwal, 2012).

### **2.6.5. Ağızda dağılan tablet formülasyonları için uygun etkin madde seçim kriterleri**

Ağızda dağılan tablet formülasyonlarında yer alacak etkin maddelerin taşınması gereken özellikler aşağıda verilmektedir (Siddiqui ve diğerleri, 2010; Velmurugan ve Vinushitha, 2010):

- Yüksek basılabilirliğe sahip olması
- Oral mukozaya permeasyon yeteneğinin olmaması
- Oral kavite pH'sında kısmi olarak iyonize olmamış halde bulunması
- Üst gastrointestinal epitelyuma difüze ve dağılması
- Küçük veya orta moleküler ağırlığa sahip olması
- Tercihen 50 mg ve altındaki dozlarda uygulanabilir olması
- Kısa yarılanma ömrü ve sık dozlamasının olmaması
- Acı veya kabul edilmeyen bir tat ve kokuda olmaması

Ağızda dağılan ilaç şekillerinin kullanımının en uygun olduğu ilaç grupları ise antipsikotikler, antidepresanlar, kardiyovasküler ajanlar, analjezikler, antiastmatikler, antidiyabetikler, antialerjikler, antiinflamatuvar ilaçlar, erektil disfonksiyon ilaçları, antiepileptikler, anksiyolitikler, sedatifler hipnotikler, diüretikler, antiparkinson ve antibakteriyel ilaçlardır (Yapar 2014; Kusumi ve diğerleri, 2012; Tuncay, 2010, Comoglu , Dogan , Comoglu ve, Basci, 2011).

Çizelge 2.3'de ticari olarak bulunan ağızda dağılan tabletler, etkin maddeleri ve farmakolojik grupları verilmektedir (Fu ve diğerleri, 2004; Srivastava, Verma, Chandra ve Srivastava S, 2014; Habib ve diğerleri, 2000).

Çizelge 2.3. Ticari olarak bulunan ağızda dağılan tabletler, etkin maddeler ve farmakolojik grupları

| <b>Etkin Madde</b>  | <b>Kullanım Alanı</b>                          | <b>Ticari Adı</b>       | <b>Firma adı</b>                       | <b>Ruhsat Tarihi</b> |
|---------------------|--|-------------------------|--|----------------------|
| Rizatriptan benzoat | Migren   | Maxalt-MLT®             | Merck Co., Inc.                        | 2007                 |
| Zolmitriptan        | Migren   | Zomig-ZMT-Rapimelt®     | AstraZeneca                            | 2012                 |
| Loratadin           | Allerji  | Claritin RediTabs®      | Bayer Healthcare LLC                   | 2002                 |
| Loratadin           | Allerji  | Children's Dimetapp® ND | Wyeth Consumer Healthcare              | 2002                 |
| Ondansetron         | Antiemetik                                     | Zofran® ADT             | GlaxoSmithKline                        | 1999                 |
| Piroksikam          | Osteoartrit, rometoartrit, ankilozan spondilit | Feldene Melt®           | Pfizer Limited                         | 2015                 |
| İbuprofen           | Antienflamatuvar                               | Nurofen® Flastab        | Reckitt Benckiser Healthcare Int. Ltd. | 2009                 |
| Olanzapin           | Psikotik hastalıklar                           | Zyprexa Velotab®        | Eli Lilly and Company                  | 2000                 |
| Risperidon          | Şizofreni                                      | Risperdal® M-Tab        | Janssen Pharmaceuticals, Inc.          | 1993                 |
| Selejilin           | Parkinson hastalığı                            | Zelapar™                | Valeant Pharmaceutical Int.            | 2006                 |
| Mirtazapin          | Depresyon                                      | Remeron® SolTab®        | Organon USA Inc.                       | 2001                 |
| Fluoksetin          | Depresyon                                      | Fluoxetine ADT          | APIL                                   | 2006                 |
| Tramadol HCl        | Ağrı   | Ralivia FlashDose®      | Hendricks Regional Health              | 2004                 |
| Asetaminofen Kafein | Ağrı   | Excedrin® QuickTabs     | Bristol-Mayers Squibb Company          | 2003                 |
| Zolpidem tartarat   | Uyku hastalıkları                              | Zolpidem ADT            | PAR Pharmaceutical                     | 2016                 |
| Famotidin           | Ülser  | Pepcid® ADT             | Merck Co., Inc.                        | 1998                 |
| Hiyosiyamin sülfat  | Ülser  | NuLev®                  | Alaven Pharmaceutical LLC              | 2008                 |
| Klonazepam          | Sedasyon                                       | Klonopin® Wafers        | Roche                                  | 2013                 |
| Loperamid HCl       | Diyare   | Imodium Instant Melts   | McNeil Products Limited                | 2008                 |
| Donepezil HCl       | Alzheimer hastalığı                            | Aricept® ADT            | Eisai Inc.                             | 2004                 |

### 2.6.6. Ağızda dağılan tablet formülasyonlarında kullanılan yardımcı maddeler ve fonksiyonları

Ağızda dağılan tabletlerde kullanılan yardımcı maddeler süper dağıtıcılar, dolgu maddeleri, granülasyon ajanları ve lubrikanlar olabilir (Sharma, Philip ve Pathak, 2008; Zhao ve

Augsburger, 2005). Tablet bileşiminde özellikle süper dağıtıcı özelliğindeki maddelerin rolü dağılma süresi açısından çok önemlidir (Çizelge 2.4) (Pahwa, Piplani, Sharma, Kaushik ve Nanda, 2010).

Çizelge 2.4. ADT’lerde tercih edilen süper dağıtıcılar ve bileşimleri

| <b>Ticari İsim</b>  | <b>Bileşim</b>   |
|---|--|
| Kollidon CL <sup>®</sup><br>Crosspovidon M <sup>®</sup><br>Polyplasdone <sup>®</sup>  | Krospovidon (Polivinilpolipirolidon)   |
| Ac-Di-Sol <sup>®</sup><br>Crosscarmellose <sup>®</sup><br>Nymce ZSX <sup>®</sup><br>Primellose Solutab <sup>®</sup><br>Vivasol L-HPC <sup>®</sup> | Kroskarmelloz sodyum<br>(Çapraz bağlı sodyum karboksimetilselüloz)                               |
| Explotab <sup>®</sup><br>Primojel <sup>®</sup><br>Explotab V17 <sup>®</sup><br>Explotab CLV <sup>®</sup>  | Sodyum nişasta glikolat  |
| L-HPC   | Hidroksipropilmetil selüloz  |
| Satialgine <sup>®</sup>   | Çapraz bağlı aljinik asit  |
| Ludiflash <sup>®</sup>  | %90 mannitol, %5 krospovidon, %5 kolloat SR 30 D’nin (povinil asetat) birlikte işlenmiş karışımı |
| F-MELT  | Karbonhidratlar, dağıtıcılar ve inorganik maddelerin birlikte işlenmiş karışımları               |
| Modifiye kitozan ile silikon dioksit  | Kitozan ve silikanın birlikte çöktürülmesi ile elde edilir.                                      |
| Pharmaburst <sup>®</sup>  | Mannitol, sorbitol, krospovidon, silikon dioksit karışımı  |
| Ludipress <sup>®</sup>  | %93 laktöz monohidrat, %2.5 kollidon CL, %3.5 kollidon 30-SF (krospovidon)                       |

Süper dağıtıcıların etki mekanizmaları aşağıda açıklanmaktadır:

### Deformasyon mekanizması

Basım sırasında dağıtıcılar deformasyona uğrayabilir fakat sulu ortamda tekrar kendi görünümünü kazanırlar. Böylelikle dağıtıcı partikülleri başlangıç boyutu şişer ve tablet matriksinin kırılması meydana gelir (Bhowmik, Chiranjib ve Chandira, 2009).

### Şişme mekanizması

Yüksek poroziteye sahip tabletler yeterli şişme kuvvetine sahip olmamaları nedeni ile zayıf dağılma özelliği gösterebilirler. Düşük poroziteye sahip tabletlerde dağıtıcının şişmesi tabletin kırılmasına sebep olabilir (Badgular ve Mundada, 2011).

### Emme mekanizması

Tablet sulu ortamla temas halinde olduğunda, suyun penetrasyonundan dolayı etkin madde partikülleri arasındaki zayıf bağlanma kuvveti olabilir. Böylece tablet küçük partiküller halinde kırılır (Sammour, Hammad, Megrab ve Zidan, 2006).

### Porozite ve kapiler etki (wicking) mekanizması

Sulu ortam içerisinde, su tabletin içine penetre olurken elektriksel bir kuvvet meydana gelebilir. Birbirine yapışabilen ilaç partiküllerinin birbirini itmesinden dolayı da tablet küçük partiküllere parçalanır (Sammour ve diğerleri, 2006).

## **2.6.7. Ağızda dağılan tabletlerin üretim yöntemleri**

Ağızda dağılan/çözünen tabletler farklı üretim teknolojileri kullanılarak hazırlanmaktadır. Her bir teknoloji farklı üstünlük ve sakıncalara sahiptir. Konvansiyonel aletler kullanarak doğrudan basım yöntemi ile ağızda dağılan/çözünen tablet hazırlama teknolojisi düşük maliyetinden dolayı en çok tercih edilen ve kullanılan yöntemdir.

Ağızda dağılan/ çözünen tabletlerin üretim teknolojileri farklıdır ve bu teknolojiler sonuç üründe mekanik dayanıklılık, stabilite, ağızdaki his, tat, dağılma hızı, yutulabilme, tükürük çözeltisinden absorpsiyon hızı ve biyoyararlanım açısından farklılık gösterebilir.

Ağızda dağılan tabletlerin hazırlanma yöntemleri konvansiyonel teknolojiler ve markalı teknolojiler olarak iki sınıfa ayrılmaktadır.

### Konvansiyonel teknolojiler

#### *Dondurarak kurutma (liyofilizasyon)*

Dondurarak kurutma yöntemi etkin maddeyi ve yardımcı maddeyi içeren çözeltiden/süspansiyondan çözücünün uçurulmasıyla elde edilen bir yöntemdir. Dondurarak kurutma yönteminde ürün stabilitesini etkileyen termal reaksiyonları engellemek için düşük sıcaklık kullanılmaktadır (Tashan ve diğerleri, 2017; Velmurugan ve Vinushitha 2010). Yani ısıya duyarlı etkin maddeler içinde oldukça uygundur.

Liyofilizasyon tekniği ile hızlı çözünen ve çok hafif poröz yapıda tabletler hazırlanabilmektedir (Lai ve diğerleri, 2014). Dondurularak kurutulmuş tablet dil üzerine yerleştirildiğinde neredeyse anında çözülür. Diğer yöntemlere göre en önemli üstünlüğü bu yöntemle hazırlanan tabletlerin dağılma süresinin çok kısa olmasıdır (<5 sn) ve ağızda hoş bir his bırakmasıdır (Tashan ve diğerleri, 2017; Velmurugan ve Vinushitha 2010). Üretimi maliyetli olmakla birlikte bu yöntemle üretilen tabletler yüksek nem ve sıcaklıkta düşük fiziksel dirence sahiptir. Liyofilizasyon tekniği ile etkin madde içeren çözelti, süspansiyon veya emülsiyonların kullanılması mümkündür (Stange, Führling, Gieseler, 2013). Üstünlüklerinin yanında dondurarak kurutma yöntemi pahalı ve zaman alıcı bir yöntem olmakla birlikte elde edilen tabletler çok kırılabilir yapıya sahiptir ve bu tabletlerin çevresel koşullara karşı stabiliteyi çok düşüktür (Dobetti, 2001).

#### *Kalıpla şekil verme yöntemi*

Kalıpla şekillendirilen tabletlerin hazırlanmasında suda çözünen maddeler kullanılır. Çözünürlüğü düşük olan bir maddenin çözünmesini arttırmak için toz karışımı çok ince bir elekten geçirilir ve bir çözücü ile (genellikle etanol veya distile su) ıslatılır. Daha sonra karışım klasik tabletlere uygulanan basınçtan daha düşük basınç altında tabletler halinde şekillendirilir. Bu işleme sıkıştırılarak kalıpla şekil verme adı verilir. Daha sonra ise havan ile kurutularak çözücü uzaklaştırılır. Klasik tabletlere göre daha düşük basınç altında basıldıklarından daha poröz yapıdadır. Kalıpla şekillendirilmiş ilaç şekilleri doğrudan etkin

madde çözeltilisinden veya süspansiyonundan çevre basıncı altında çözücünün buharlaştırılması yolu ile de hazırlanabilir (Dobetti, 2001).

Isı ile kalıpla şekil verme yöntemi için ise, disperse olmuş etkin maddeyi içeren erimiş haldeki bir karışım hazırlanır. Bu işlemde bağlayıcı olarak agar çözeltisi ve kalıplama için ise blisterler kullanılır. Etkin madde agar ve şeker içeren süspansiyon blisterlere dökülür, oda sıcaklığında agar çözeltisi katılarak jele dönüştükten sonra yaklaşık 30°C’de vakum altında kurutulur. Dondurarak kurutma olmaksızın vakumla buharlaştırma yöntemi ile yapılan kalıplama işleminde ise etkin madde ile yardımcı maddelerin karışımı kalıplara dökülür. Matriks katılana kadar dondurulur ve çökmenin gerçekleştiği sıcaklık ile donma sıcaklığı arasındaki bir sıcaklıkta vakumla kurutulur. Sonuç olarak kısmen çökmüş bir matriks elde edilir. Dondurarak kurutma işlemine göre bu yöntem, daha sağlam bir matriks oluşumunu ve daha dayanıklı tabletler elde edilmesini sağlar. Yine de bu sertlik yeterli değildir, üretim, taşıma ve kullanım esnasında tablet aşınabilir veya kırılabilir. Dondurarak kurutma yöntemi ile karşılaştırıldığında kalıpla şekillendirilmiş tabletlerin üretimi daha kolay olmasına rağmen dağılma süreleri dondurarak kurutma ile elde edilen tabletlere göre daha uzundur (Dobetti, 2001; Badgular ve Mundada, 2011).

### *Basım yöntemi*

Ağızda dağılan tabletlerin üretiminde klasik tablet makinelerinin kullanılabilmesi üretim kolaylığı ve maliyeti açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle uygun yardımcı maddelerin seçimi, düşük basınç uygulaması, granülasyon (yaş ve kuru) yapılması ile ağızda dağılan tabletlerin basılması mümkündür. Bu yöntemler yaş granülasyon, kuru granülasyon, püskürterek kurutma ve erime granülasyonu gibi farklı granülasyon yöntemleri, özel yardımcı maddelerin seçimi ve düşük basınç altında tabletlerin basılması ve yumuşak tablete basım sonrasında çeşitli uygulamalar yapılarak tablet sertliğinin artırılması şeklindedir (Jeong, Takaish, Fu ve Park, 2008; Fu ve diğerleri, 2004).

### *Granülasyon yöntemi*

Yaş granülasyon ve kuru granülasyon olmak üzere ağızda dağılan tabletler iki yöntemle hazırlanabilir.

### Yaş granülasyon

Yapılan bir çalışmada mannitol, ksilitol, sorbitol, maltilol, eritriol, laktitol gibi polialkoller ile birlikte %1-30 sitrik asit ve etkin maddenin kuru karışımı hazırlanmış ve bu karışım polimerlerin (polietilenglikoller, etilselüloz) sulu çözeltisi ile yaş granülasyon işlemine tabi tutulmuştur. Böylece yüksek derecede poröz ve dağılma süresi 3-30 saniye olan ağızda dağılan tabletler elde edilmiştir (Bonadeo, Ciccarello ve Pagano, 2000, U.S. Patent No. 6,149,938). Bir başka çalışmada ise yaş granülasyon metodu ile kontrollü salım sağlayan ilaç etkin maddesi ile iyon değiştirici reçinelerin kompleks oluşturmasına dayanan ağızda dağılan tabletler elde edilmiştir. Acı tadı ve ilacın yan etkilerini maskeleyen için yaş granülasyon ile etkin madde öncelikle hidroksipropil beta siklodektrin gibi siklodektrin ve tatlandırıcılar ile kompleks oluşturularak ağızda dağılan yardımcı maddeler ile formüle edilerek basılması söz konusudur (Fini, Bergamente, Ceschel, Ronchi ve Moraes, 2008).

### Kuru granülasyon

Yapılan bir çalışmada kuru granülasyon metodu ile düşük dansiteli alkali metal tuzları (kalsiyum karbonat, kalsiyum hidroksit, magnezyum karbonat vb.) ve suda çözünebilir karbonhidratlar (maltoz, maltilol, sorbitol, mannitol, glukoz, sükroz, ksilitol) kullanarak ağızda hoş bir tat bırakan ve hızlı dağılan tabletler geliştirilmiştir (Eoga ve Valia, 1999).

### Püskürterek kurutma

Püskürterek kurutma yöntemi çözücünün uzaklaştırılması işlemi için hızlı ve ekonomik bir yöntem olup, yüksek derecede poröz ve ince granüller elde edilmektedir. Etkin madde, bağlama ajanları, efervesan ve dağıtıcı ajanlarını içeren karışımın püskürtülerek kurutulması ile basılması esasına dayanır. Çalışmalarda püskürtülerek kurutulmuş kompozit partiküllerin doğrudan basım ile hazırlandığı görülmektedir (Tanimura, Tahara ve Takeuchi, 2015).

### Erime Granülasyonu

Yaş granülasyon metodu ile hidrofilik bağlayıcılar kullanarak (PEG-6-stearat, Superpolystate®) mekanik dayanıklılığı daha fazla olan ve yaklaşık 40 saniyede dağılabilen ağızda dağılan tabletler elde edilebilmektedir (Abdelbary G. vd, 2004). Superpolystate® erime noktası 33-37°C olan mumsu hidrofilik bir maddedir, tabletin fiziksel dayanıklılığını

artırmasına rağmen hızla dağılmasını sağlamaktadır. Erime granülasyonu metodunda granüller 40-44°C’de ve yüksek hızdaki bir karıştırıcı içerisinde hazırlanmıştır. Toz karışımına eklenen Superpolystate® yüksek sıcaklıkta eritilerek granülasyonun meydana gelmesi sağlanmıştır. Bu yöntemle yaklaşık 40 saniyede dağılan ağızda dağılan tabletler elde edilmiştir (Abdelbary ve diğerleri, 2004).

### *Doğrudan Basım Metodu*

Özel üretim ekipmanları gerektirmeyen ve yaygın olarak kullanılan yardımcı maddeler kullanılabilirdiğinden basit ve az maliyet gerektiren bir metottur. Bu yöntem ile hızlı dağılmayı ve yeterli fiziksel direnci sağlayabilecek uygun yardımcı maddelerin seçilmesi ile ağızda dağılan tabletler geliştirmek mümkündür. Formülasyondaki suda çözünmeyen yardımcı madde miktarının azaltılması ile dağılma süresi artar. Eğer etkin madde tüm formülasyonun küçük bir kısmını oluşturuyorsa suda çözünen maddelerin kullanılması ve dağıtıcıların miktarları ile dağılma süresi ayarlanabilir. Granülasyon metotlarına göre daha kısa süre ve enerji gerektirmektedir. Isıya ve neme duyarlı etkin maddeler için de uygun bir metottur. En önemli sakıncası ise etkin maddenin segregasyona uğramasıdır (Prajapati ve Ratnakar, 2009).

### Markalı teknolojiler

Ağızda dağılan tabletlerin üretiminde markalı teknolojiler bulunmaktadır (Çizelge 2.5). Bu teknolojiler kısaca aşağıda açıklanmıştır.

### *Durasolv teknolojisi*

CIMA Lab. tarafından patentlenen bir teknolojidir. Bu teknoloji ile geliştirilen ADT’nin mekanik dayanıklılığı oldukça yüksek ve sertlik değerleri 15-100 N arasındadır. Blisterler içerisinde ambalajlamaya olanak sağlayan bir ağızda dağılan tablet formülasyonudur. Formülasyon basım sırasında çok yüksek basınca tabi olduğundan çok yüksek etkin madde dozları için uygun değildir (Badgujar ve Mundada, 2011).

### *Cotton Candy teknolojisi*

Bu teknoloji ile pamuk şekerine benzer kristal yapıda floş yapıda ürünler elde edilir. Polisakkarit veya sakkaritlerden oluşan bir matriksin eritilerek döndürülmesi ile oluşan şeker floşununun etkin madde ve yardımcı maddeler ile karıştırılıp ağızda dağılan tablet olarak basılması esasına dayanır. Yüksek dozdaki etkin maddelere uygulanabilir olmakla birlikte işlem sırasında yüksek sıcaklık olması işlemin uygulanabilirliğini kısıtlayabilir (Allen, Wang ve Devis, 1998; Acosta, Tabare ve Ouali, 1998).

### *Zydis teknolojisi*

Patentli ilk ticari üründür. Liyofilizasyon tekniğinin kullanıldığı bir ADT hazırlama teknolojisidir. Hazırlanan tablet dil üzerine yerleştirildiğinde tükürükte çözünür veya disperse olur. Genellikle jelatin içeren bir matriksteki ilacın liyofilizasyonu ile hazırlanır. Elde edilen ADT oldukça kırılgan ve düşük ağırlıktadır ve özel ambalajlama gerektirir. Etkin madde partikül büyüklüğü 50-200 µm arasında olmalıdır. Suda çözünen etkin maddelerin dozu 60 mg ile sınırlıdır. Zydis teknolojisi ile üretilen ADT'ler neme hassas olup % 65'in üzerindeki nemde bozulabilir (Seager, 1998; Tuncay, 2010).

### *OraSolv teknolojisi*

OraSolv teknolojisinde efervesan özellikteki maddeler kullanılmaktadır ve ADT ağıza yerleştirildiğinde çiğnemeye ihtiyaç olmadan hızla dağılır. Tablet dağıldığında ilaç mikropartikülleri salınır ve yutulur. Tam çözünme ve sistemik absorpsiyon gastrointestinal kanalda gerçekleşir. Formülasyon ağızda tükürükle temas ettiğinde karbondioksit çıkararak hasta için ağızda hoş tat bırakır, daha fazla tükürük salgılanmasını uyarır ve bu da dağılmaya yardımcı olur (Wehling, Scheuhle ve Madamala, 1993).

Bu teknolojide etkin madde uygun polimer (etil selüloz, metil selüloz, akrilat, metakrilik asit rezinleri gibi) dispersiyonuna mannitol ve magnezyum oksit gibi diğer yardımcı maddeler ile birlikte eklenerek mikropartiküller hazırlanır. Mannitol ve magnezyum oksit polimerik kaplamada etkin madde salımına yardım için formülasyona eklenir. Kurutma işlemlerinin ardından oluşan mikropartiküller, efervesan maddeler ve diğer yardımcı maddeler (tatlandırıcı, renk maddeleri, kaydırıcılar) ile karıştırılır ve 1-2 kp sertlikte tabletler

basılır. Efervesan maddeler tablet ağırlığının % 20-25'ini oluşturur. 1000 mg ve üzeri etkin maddeler için uygundur (Tuncay, 2010). Elde edilen tabletler kırılğan olup in vivo dağılma zamanları 1 dakikanın altındadır. Tabletler çok yumuşak olduğundan özel tasarlanmış blisterler kullanılır (Sastry, Nyshadham ve Fix, 200).

#### *Wowtab teknolojisi*

Bu teknolojiye şeker ve şeker benzeri yardımcı maddeler kullanılır. Wowtab susuz verilecek tablet anlamına gelir. Burada iki farklı tipte sakkarit yeterli sertlik ve çözünmesinde tablet elde etmek için birleştirilir. Maltoz, mannitol, sorbitol ve oligosakkaritler gibi yüksek kalıplanabilirliğe sahip iyi bağlanma özelliğinde sakkaritler ile laktoz, glukoz, ksilitol gibi düşük kalıplanabilirlik ve hızlı çözünme özelliğine sahip sakkaritler kullanılır. Bu sayede çok iyi sertliğe sahip ve suya ihtiyaç duymaksızın ağızda hızla dağılabilen tabletler elde edilir. Zydys ve Orasolv teknolojilerine kıyasla daha stabil tabletler elde edilir (Cirri, Valleri, Mura, Maestrelli ve Ballerini, 2005).

#### *Oraquick teknolojisi*

Patentli tat maskeleye yönelik bir teknolojidir. Herhangi bir solvan kullanılmaksızın daha hızlı ve etkili üretime olanak sağlayan bir tat maskeleye işlemidir. İşlem sırasında düşük ısı kullanıldığından ısıya duyarlı etkin maddeler için uygundur (Seager, 1998).

#### *Nanokristal teknolojisi*

Çeşitli nanokristal elde etmeye yönelik teknolojiler kullanarak partikül büyüklüğü <1 mikronun altındaki etkin maddenin ağızda dağılan tablet formülasyonu geliştirilmesi esasına dayanır. Etkin maddenin nanokristal kolloidal dispersiyonlarının (nanokristal) suda çözünen bileşenler ile blisterlere doldurulup liyofilize edilmesi veya nanokristalinin liyofilize edildikten sonra doğrudan basım özelliklerine sahip yardımcı maddeler ile formüle edilerek tablet basılması ile ağızda dağılan tabletler elde edilir (Lai ve diğerleri, 2011).

#### *Shearform teknolojisi*

Burada bir Shearform matriks yani floş hazırlanır. Bir şeker taşıyıcı ile hazırlanan besleme stoğu ısı işlemi altında gerçekleşir. Bu işlemde, şeker eş zamanlı olarak merkezi kuvvete ve

kütlenin artan sıcaklığa maruz kalmasına neden olan sıcaklık değişimine tabi olur. Bu nedenle ilgili kütlenin hareketine olanak sağlayan bir iç akış koşulu oluşturulur. Bunu, floşu merkezi kuvvetin altına fırlatan dönme başlığından çıkması izler. Böyle üretilen floş, tek düze bir akış sağlamak için kesilmiş ve yeniden kristalize olmuştur, bu şekilde karışımı kolaylaşır. Daha sonra, yeniden kristalize olan matriks etkin madde ve diğer yardımcı maddeler karıştırılır ve son olarak tablet haline basılarak getirilir. Etkin madde ve diğer yardımcı maddeler yeniden kristalizasyondan önce floş ile karıştırılabilir. Bu işlem ile üretilen tabletler oldukça poröz yapıda olup ağızda çok hoş bir iz bırakarak tükürükte hızlıca çözünürler (Kaushik, Duraje ve Saini, 2004).

### *Frosta teknolojisi*

Bu teknolojinin ana konsepti yüksek porozitede dayanıklı tabletlerin düşük basınç altında oldukça plastik granüllerin basılmasıdır. Oldukça plastik granüller üç bileşen sınıfından oluşur. Bunlar; poröz ve plastik bir materyal, su penetrasyon artırıcı ve bir bağlayıcıdır. İşlem, su penetrasyon artırıcısı ile poröz plastik materyalin karıştırılması ve bunu takiben bağlayıcı ile granülasyondan oluşur. Teknoloji hemen hemen tüm etkin maddeler için uygulanabilir. Oldukça yüksek plastik granül yaklaşımı mükemmel sertlikte ve hızlı dağılma süresine sahip (tabletlerin büyüklüğüne bağlı olarak birkaç saniye ile 30 saniye arasında) hızla dağılan tabletler üretilir (Fu ve diğerleri, 2004).

Çizelge 2.5. ADT'ler için markalı formülasyon teknolojileri

| <b>Markalı teknoloji</b> | <b>Firma</b>               | <b>Ticari Ürün</b>                                 |
|--------------------------|----------------------------|--|
| AdvaTab™                 | Eurand                     | AdvaTab Cetrizine, AdvatAB paracetamol             |
| Durasolv                 | Clima Labs inc.            | Nulev, Zomig ZMT                                   |
| Flashtab                 | Prographarm                | Nurofen®, Flashtab®                                |
| Lyoc™                    | Cephalon-France, Inc.      | Sermion®, Paralyoc®, Seglor®                       |
| Orasolv                  | Cima Labs Inc.             | Remeron Soltab, Tempra First Tabs                  |
| Quicksolv                | Janssen Pharmaceutica      | Risperdal Quicklet™, Propulsid®                    |
| Oraquick                 | KV Pharmaceutical Co. Inc. | Hyoscyamine Sulfate ADT                            |
| Wowtab                   | Pfizer/Yamanouchi Pharma   | Benadryl Allergy, Sinus Fastmelt                   |
| Zydis                    | Catalent                   | Ativan®, Claritin, Imodium, Feldene melt, Zyprexa® |

### 2.6.8. Ağızda dağılan tabletlerin kalite kontrolü

Ağızda dağılan tabletlerde friabilite, porözite, sertlik, ıslanma ve absorpsiyon kapasitesi ve in vitro dağılma zamanı testleri yapılır.

#### Friabilite

Doğru tartılmış tabletler friabilitöre yerleştirilerek 25 rpm/dk hızında 4 dakika döndürülür ve ufalanma ve aşınmayı belirlemek için tekrar tartılır. Tabletlerdeki friabilitenin %1'in altında olması beklenir (Avr. Farm).

#### Sertlik

Sertlik veya kırılma kuvveti, diametrik bir basınç uygulandığında tabletin kırılması için gerekli olan kuvveti ifade eder. ADT'ler taşıma koşullarına dayanıklı olmalı ve kısa sürede dağılması istenildiğinden uygun bir sertlik değerinde olmalıdır. Sertliğin 3-5 kg (>30 N) olması istenir (Koseki, Watanebe, Utoguchi, Atsumoto, 1999).

#### Porozite tayini

ADT'lerin hızlı dağılma ve çözünmeye sahip olması istendiğinden tablet içine suyun absorbe olabilmesi için uygun porozitede olması istenir. Civa porozimetresi kullanılarak tablete suyun penetrasyon derecesi ölçülerek porozite ölçümü yapılabilir. Diğer yöntem ise gaz piknometresi ile tablet basım kütlelerinin gerçek yoğunluğunun ( $\rho$  gerçek ) bulunup, ölçülen ağırlık (m) ve hacminden (V) yararlanarak aşağıdaki eşitlik ile porozitenin ölçülmesine dayanır (Schiermeier ve Schmidt, 2002).

$$C = 1 - (m / (\rho_{\text{gerçek}} * V))$$

#### Islanma süresi ve absorpsiyon kapasitesi

Tabletlerin dağılma sürelerini tespit etmek için kullanılan bir yöntemdir. Petri kabına dairesel kesilmiş kağıt yerleştirilerek tablet kağıdın üzerine konulur. Oda sıcaklığında 6 mL distile su üzerine konularak suyun tabletin üzerinde kapladığı süre ıslanma süresidir.

Absorpsiyon kapasitesi için ise ADT kuru olarak tartılır ( $W_{ilk}$ ) ve tamamen ıslandıktan sonra tekrar tartılır ( $W_{son}$ ) ve aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanır (Bi ve diğerleri, 1996).

Su absorpsiyon kapasitesi:  $100 (W_{son}-W_{ilk})/W_{ilk}$

### Çözünme testleri

Çözünme testleri konvansiyonel tabletlerde olduğu gibi ADT'ler de benzer şekilde gerçekleştirilmektedir. Farmakope monograflarında veya FDA tarafından listelenen çözünme koşullarında testler gerçekleştirilir. Genel olarak USP 2 (palet) aparatı ve 50 rpm karıştırma hızı ADT'ler için uygun aparat olarak önerilmektedir. Çözünme profilleri çıkarılarak yüzde çözünen ilaç miktarı hesaplanır (Hirani, Rathod ve Vadalia, 2009).

### Etkin madde miktar tayini

Tüm farmasötik şekillerin kalite kontrol parametresidir. ADT'lerde etkin maddenin tayinine yönelik olarak geliştirilmiş analitik yöntem ile miktar tayini gerçekleştirilir.

### Dağılma testleri

ADT'lerin dağılma testleri çeşitli yöntemler ile yapılmaktadır. Bu yöntemler aşağıda kısaca açıklanmaktadır.

#### *Farmakopelerde yer alan dağılma testi*

Avrupa ve Amerikan farmakopesinde tanımlanan dağılma testidir.  $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 1000 mL distile su veya ortam içerisinde yapılır. Aletin her bir bölmesine bir tablet atılır ve distile suyun bulunduğu beher içine alet daldırılır. Tabletın tamamının dağıldığı süre tespit edilir.

#### *Modifiye dağılma testi*

Amerikan Farmakopesi aparat 2 ile çözünme test aleti ile aynıdır. Dağılma ortamı  $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 1000 mL distile sudur. Tablet bir daldırıcı içine konularak kap tabanından 6-8.5 cm yukarıya ve kabın ortasına gelecek şekilde asılır. Tabletın tamamen dağıldığı ve daldırıcı eleğinden geçtiği süre hesaplanır.

### *Texture analiz yöntemi*

Dağılmanın başlangıç ve bitiş zamanını belirlemek için Texture aleti (Stable Micro Systems, UK) kullanılır. Bir milin (probe) altına yapıştırılan tablet 0.4 mL su içeren beher veya petri kutusuna daldırılır. Sabit bir basınç uygulayarak tablet beherin tabanına doğru sıkıştırılır ve penetrasyon aralığı ölçülür. Tablet dağıldığı zaman sıkışma aralığı artmaktadır. Alet tarafından oluşturulan zaman – aralık grafiğinden dağılmanın başlangıç ve bitiş zamanı belirlenir (Fu ve diğerleri, 2004).

### *Kamera yöntemi*

Bilgisayara bağlı bir kamera yardımıyla ölçülür. Kameranın çektiği resimler bilgisayarda depolanır. Dağılma aleti, çelikten yapılmış dağılma kabı ve bunun hemen dışında termostatl su içeren dış kap olmak üzere iki parçadan oluşmaktadır. Dağılma süresi boyunca arka arkaya çekilen fotoğraflar bilgisayarda değerlendirilerek sistem tarafından farklı zamanlardaki yüzey alanı hesaplanır. Zamanın fonksiyonu olarak tabletin yüzey alanındaki aşınmaya bağlı olarak grafikler çizilir. Bu grafikler kullanılarak dağılma zamanı hesaplanır (Fu ve diğerleri, 2004).

### *Dönen mil yöntemi*

Dönen mil, dilin tablet üzerinde oluşturduğu mekanik stresi taklit eder. Tablet paslanmaz çelik tel kafes üzerine yerleştirilir ve hafifçe test ortamına daldırılır. Tablete mekanik stres oluşturmak için dönen bir mil kullanılır. Kritik parametre dönme hızı ve mekanik streştir. Tablet dağıldığı süre tespit edilir (Narazaki, Harada, Takami, Kato ve Ohwaki, 2004)

### *Elek yöntemi*

10 mesh'lik elek ve cam silindir kullanılır. Elek altta 2 mL dağılma ortamı kalacak şekilde cam silindir içine yerleştirilir. Alet içine 1 mL ortamdan ilave edilir. Alet içinde 37°C'de sabit sıcaklıkta su bulunan çalkalayıcı su banyosuna yerleştirilir. Alet 150 rpm'de dönmeye başlayınca dağılma ortamı içine daldırılmış elek üstüne tablet yerleştirilir. Tüm tablet parçalarının elekten geçtiği süre hesaplanarak dağılma süresi tespit edilir (Late, Yu ve Banga, 2009).

## 2.7. Nanokristal Teknolojisi

Tez çalışmasında ağızda dağılan tabletlerin nanokristal teknolojisine dayalı olarak üretilmesi amaçlandığı için nanokristal teknolojisinden bu bölümde bahsedilecektir.

Nanokristal teknolojisi sudaki çözünürlüğü düşük olan etkin maddelerin düşük oral biyoyararlanım problemlerinin üstesinden gelmek için geliştirilen bir teknolojidir (Müller, Möschwitzer ve Bushrab, 2006a).

İlaç nanokristalleri 1990'lı yılların başlarında şimdiki adı Elan firma tarafından keşfedilmiş, ilk nanosistem patent başvurusu o yıllarda yapılmıştır (Müller ve Keck, 2012). Nanokristaller etkin maddelerin çözünürlük sorunlarını ortadan kaldırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. RTP Kanada (şu an SkyPharma Kanada) ve DDS Drug Delivery Services GmbH firmaları nanokristal teknolojisinin geliştirilmesine öncülük etmişlerdir (Müller ve Keck, 2012). Nanokristallerin ticarileşen ilk ürünü Rapimune®, Wyeth firmasının sirolimus etkin maddesi içeren oral yoldan kullanılan bir üründür. 2000 yılında buluş yayımlanmıştır. 2003 yılında Emend® Merck firması ve 2004 yılında Tricor®, Abbott firması tarafından nanokristal teknolojilerinden ıslak öğütme tekniği ile üretilip ticarileşen ürünler olmuştur. Emend® nanokristal halde aprepinant içeren bir kapsül olup antiemetik olarak kullanılmakta ve Tricor® ise nanokristal halde fenofibrat içeren tablet olup hiperkolestrolemi tedavisinde kullanılmaktadır.

Doygun çözünürlüğü ifade eden eşitliklerden olan Ostwald-Freundlich eşitliği partikül büyüklüğünün küçülmesinin çözünürlüğü artırması esasına dayanır. Bu eşitliğe göre maddenin doymuş çözünürlüğü partikülün yarı çapına bağlıdır. (Maulidin, Müller ve Keck, 2009a). Büyük kristallerin aksine nanokristaller daha yüksek kıvrıklığa (curvature) sahiptir ve bu Ostwald-Freundlich eşitliğine göre daha yüksek çözünme baskısı ve daha yüksek doymuş çözünürlük sağlar (Dolenc, Kristl, Baumgartner ve Planinsek, 2009; Müller ve Böhm, 2000; Scholz ve Keck, 2015). Kaba toz partiküllerinin nano boyutlara getirilmesi, Noyes-Whitney ve Kelvin eşitliklerine göre doymuşluk çözünürlüğünü ( $C_s$ ) ve buna bağlı olarak çözünmeyi ( $dc/dt$ ) artırır (Junghans ve Müller, 2008). Bu durum biyoyararlanımın artmasına neden olur (Jacobs, Kayser ve Müller, 2000; Zhai, Lademann, Keck ve Müller, 2014).

İlaç nanokristalleri nanometre boyutunda kristallerdir. Amorf ilaç nanopartikülleri ise nanokristal olarak adlandırılmaz, buna rağmen nanokristaller kristalin amorf fazını ifade etmektedir. Farmasötik alanda nanopartiküller 1-1000 nm arasındaki boyutlara sahiptir. İngiliz Standartları Enstitüsü nanopartikül/nanopartiküler, “bir veya daha çok çapı nano ölçekte bulunan partikül” olarak ve nano ölçeği “sahip olunan bir veya daha çok çapı 100 nm veya daha altı” olarak ve mikrokristalleri ise ortalama yarı çapı yaklaşık 2-5 mikrometre aralığında olan ve yaklaşık 0.1–20 mikrometre partikül büyüklüğüne sahip olan ilaç partikülleri olarak tanımlamıştır (Jungshanns ve Müller, 2008; Müller ve diğerleri, 2006a). Nanokristallere ilişkin ilk patentte sürfaktan veya polimer ile stabilize edilen 10-1000 nm arası saf ilaç etkin maddeleri olarak tanımlanmış olup 1000 nm’den daha küçük kolloidal parçacıklar olarak da tanımlanmışlardır (Müller ve vd., 1999; Junyaprasert ve Morakul, 2015).

İlaç nanokristalleri %100 etkin maddeden oluşan ve genellikle sürfaktan veya polimerik stabilizanlar ile stabilize edilmiş yapılardır (Müller, Gohla ve Keck, 2011). Ayrıca, ilk patentte yer alan nanokristal tanımı 2000 nm ve altındaki ilaç kristalleri olarak ifade edilmiştir (Hoey, Puriit ve Rayde, 2006; Liversidge ve Jenksins, 2006).

İlaç nanokristalleri sulu çözeltiler veya susuz ortamlarda disperse halde bulunurlar, disperse edilmiş hali nanosüspansiyon olarak da tanımlanır (Junghanns ve Müller, 2008). İlaç stabilizan oranı 1:20’den 20:1’e kadar değişebilmekte ve minimum miktarda stabilizan %1-2 a/a oranında olabilmektedir (Scholz ve Keck, 2015; Dolenc ve diğerleri, 2009).

Nanokristaller için temel etkin madde özellikleri; partikül büyüklüğü ve partikül büyüklüğü dağılımı, zeta potansiyel, kristal hal, çözünme ve doymun çözünürlük olarak sayılabilir (Müller vd., 2001).

### **2.7.1. Nanokristallerin üstünlükleri**

Nanokristallerin formülasyon geliştirilmesi açısından bir takım üstünlükleri bulunmaktadır. Nanokristaller özellikle BCS’de düşük çözünürlüğe sahip olan Sınıf II ve Sınıf IV kategorisindeki ilaçlarda absorpsiyonunda hız kısıtlayıcı basamak olan çözünme hızlarını arttırarak üstünlük sağlarlar. Ayrıca yeni geliştirilen ilaç moleküllerinin %40’ı düşük suda çözünürlüğe sahiptir. Nanokristallerin bu özellikleri ürün geliştirme çalışmalarının kısa

sürede patent alınmasını ve ticarileşmesi sürecinin kolaylaşmasını sağlar (Gau ve diğerleri, 2012; Shegokar ve Müller, 2010; Rabinow, 2005; Patravale, Date ve Kulkarni, 2004 ve vd., 2004; Rabinow ve diğerleri 2007; Merisko Liversidge ve Liversidge 2008; Dolenc ve diğerleri, 2009; Jacobs ve Müller, 2002).

Nanokristallerin üstünlükleri aşağıda maddeler halinde verilmektedir (Shegokar ve Müller, 2010; Ahuja ve diğerleri, 2015; Rabinow, 2005; Patravale, Date ve Kulkarni, 2004 ve vd., 2004; Rabinow ve diğerleri 2007; Merisko Liversidge ve Liversidge 2008; Dolenc ve diğerleri, 2009; Jacobs ve Müller, 2002; Gau ve diğerleri, 2012; George ve Gosh, 2013; Rege, Yu, Huseyin ve Poli, 2001; Eerdenbrugh ve vd., 2008a; Malakar ve vd., 2012; Cooper, 2010; Gülsün ve vd., 2011):

- Etkin maddelerin doygunluk çözünürlüğünde ve çözünmesinde artış sağlarlar.
- Etkin maddenin absorpsiyonunu ve yüzey membranlarına tutunmasını artırır.
- Kullanılan stabilizanlar sayesinde permeabilitede artış sağlayabilir.
- Düşük dozda biyoyararlanım ve doz orantısallığı sağlar.
- Dozlama sıklığının azalmasına ve düşük dozlarda etki göstermesine bağlı hasta uyuncunu artırır.
- Çeşitli uygulama yollarında (oral, dermal, oküler, pulmoner, intrevenöz) ve dozaj şekillerinde kullanılabilir.
- İlacın açlık/tokluk değişkenliğini azaltır.
- Üretimi tekrarlanabilir, hızlı ve formülasyon geliştirilmesi kolaydır.
- Yüksek ilaç yükleme kapasitesine sahiplerdir.
- Lipozomlar, polimer nanopartiküller ve lipit nanopartiküller üretiminde kullanılan organik çözücülerin ve yardımcı çözücülerin nanokristal teknolojisinde kullanılmaması daha az toksik olmalarını ve stabilitelelerinin artmasını sağlar
- Denekler arası biyoyararlanım değişkenliklerini azaltır.
- Dozaj şeklinin kimyasal ve fiziksel stabilitesini artırır.
- Lipozom, polimer nanopartiküller, yağlı nanopartiküller ve yardımcı çözücü içeren formülasyonlara kıyasla daha az toksiktir.

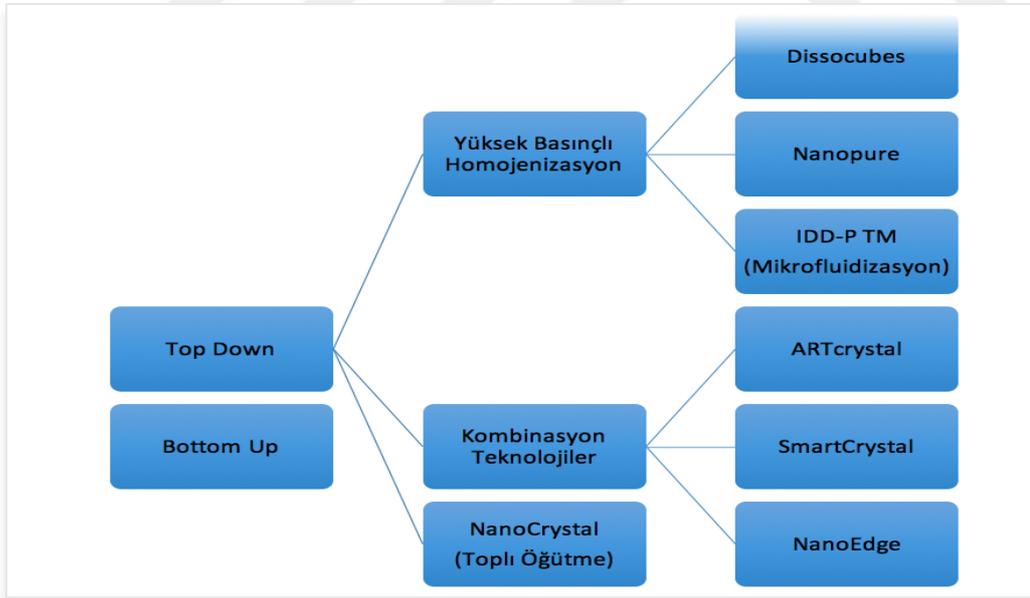
Nanokristallerin eldesinde olası problemler ise aşağıdaki gibi sayılabilir (Chan ve Kwok, 2011; Shegokar ve Müller, 2010; Patravale, Date ve Kulkarni, 2004 ve vd., 2004; Rabinow ve diğerleri 2007; Merisko Liversidge ve Liversidge 2008; George ve Gosh, 2013; Rege,

Yu, Huseyin ve Poli, 2001; Eerdenbrugh ve vd., 2008a; Malakar ve vd., 2012; Cooper, 2010; Gülsün ve vd., 2011):

- Tüm etkin maddelere uygun değildir (yalnız BCS II ve IV).
- Sıvı formda stabilitesinin sağlanması zor olabilmektedir.
- Katı hale getirilmesi sırasında partikül büyümesi olabilmektedir.
- Nanokristal elde edilmesinde kullanılan yüksek basınç veya ısı polimorfik dönüşümlere neden olabilir.

### 2.7.2. Nanokristal formülasyonlarının hazırlanması

İlaç nanokristal formülasyonlarının üretimi genel olarak top-down ve bottom-up teknolojileri olarak sınıflandırılabilir (Şekil 2.2) (Eerdenbrugh, 2008; Krause ve Müller, 2001; Müller, Gohla ve Keck, 2011). Top-down yönteminde öğütme ve yüksek basınç homojenizasyon teknikleri ve bottom-up yönteminde çöktürme tekniği kullanılmaktadır (Moeschwitzer, 2010; Katteboinaa, Chandrasekhar ve Balaji, 2009).



Şekil 2.2. Nanokristal hazırlama yöntemleri

#### Bottom-up Teknolojisi

Bottom up teknolojisi klasik çöktürme işkemine dayanır. Temel prensibi, etkin madde su ile karışabilen bir çözücü içerisinde çözünür, sonrasında bu çözeltinin etkin maddenin

çözünmediği bir ortama dökülmesi ile etkin madde partikülleri stabilizan varlığında çöktüğünde nanokristalleri elde edilir. (Junghanns ve Müller, 2008). Bottom-up yönteminin tek üstünlüğü basit ve düşük maliyetli olmasıdır. Buna rağmen ölçek büyütme uygun olmaması, etkin maddeyi çözebilen bir çözücüye ihtiyaç duyulması, çöken partiküllerin mikrometre boyutlarına tekrar büyüme riskinden dolayı stabilizasyonunun zor olması ve tekrarlanabilir olmaması bu yöntemin sakıncaları olabilir. (Katteboinaa ve diğerleri, 2009; Möschwitzer, 2013). Endüstriyel alanda bu teknoloji kullanılarak geliştirilmiş herhangi bir ürün bulunmamaktadır.

### Top-down Teknolojisi

Bottom-up teknolojisinden sonra geliştirilen yöntem top-down teknolojisidir. Mikrometre boyutlarındaki büyük kristallerden boyutlarının küçültülmesi ile nano hale getirme işlemidir. Mikrometre boyutundan nanometre boyutuna gelen ilaç kristallerinin yüzey alanı/hacim oranı artacağından çözünürlük ve çözünmedeki artış biyoyararlanımında da artış sağlayacaktır. (Elaine, Meriko-Liversidge ve Liversidge,2008; Thombre ve diğerleri., 2012). Top-down teknolojisi, ıslak öğütme ve yüksek basınç homojenizasyon teknikleri olarak sınıflandırılmaktadır.

### *Islak öğütme tekniği*

Islak öğütme yöntemi farmasötik endüstride yüksek basınç homojenizasyon tekniği ile birlikte en çok kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntemde genellikle su olan dispersiyon ortamı, etkin madde ve stabilizan bir öğütme kazanına yüklendikten sonra öğütme toplarının hareketi ve yüksek kayma ve öğütme enerjisiyle ilaç partikülleri küçültülür (Katteboinaa ve diğerleri, 2009). Bu yöntemin patentlenen ismi NanoCrystals® olarak bilinmektedir. Sirolimus içeren Rapamune®, Wyeth firması tarafından geliştirilen ilk NanoCrystals ile üretilen ticari ürün iken aprepiant içeren Emend®, Merck firması tarafından geliştirilen ikinci nanokristal formunda ticarileşmiş üründür. Elde edilen nanokristallerin fizikokimyasal özellikleri, öğütme toplarının tipine, sayısına, büyüklüğüne, öğütme makinesinin tipine, hızına, öğütme süresine ve sıcaklığına bağlıdır. Bu amaçla seramik, paslanmaz çelik, porselen, cam, akik, zirkonyum oksit veya reçine kaplı polisitiren boncuklar kullanılabilir. Öğütme zamanı olarak 30-120 dakika iyi kalitede bir nanokristal

için uygun bir aralıktır. (Möschwitzer, 2013; Gülsün, Gürsoy ve Öner, 2009; Keck ve Müller, 2006).

Öğütme yönteminin en önemli özellikleri aşağıdaki kısaca belirtilmiştir (Merisko-Liversidge ve Liversidge, 2008):

- Sudaki çözünürlüğü <10 mg/mL olan bütün etkin maddeler için uygundur.
- Yüksek ilaç yükleme kapasitesine sahiptir.
- İlaç : stabilizan oranı ağırlık bazında 10:1 veya %30 ilaç ile ≤% 3 stabilizan konsantrasyonu şeklinde olabilir.
- Oral, pulmoner, intravenöz, subkütan, intramusküler ve oftalmik uygulama yolları için uygundur.
- Tablet, kapsül ve steril ürünler gibi yaygın kullanılan dozaj şekillerine kolaylıkla getirilebilir.

#### *Yüksek basınç homojenizasyon tekniği*

Yüksek basınç homojenizasyon tekniği, homojenizasyon prensibi/homojenizatör tipine göre iki farklı sınıfta açıklanabilir (Keck ve Müller, 2006).

#### *Mikrofluidizasyon teknolojisi ile nanokristal üretimi*

Mikrofluidizasyon teknolojisi ile yüksek basınç homojenizasyon yönteminde Z veya Y tipi kazanlar kullanılarak jet akış homojenizatörler ile gerçekleştirilir. SkyePharma Canada Inc. Insoluble Drug Delivery-Particles (IDD-P™ Technology) firması bu teknolojiyi kullanmaktadır. 1700 bara varan basınç altında sıvı akışının cidarda çarpışması ile küçük partiküller elde edilir. Partikül çarpışması, kayma kuvvetleri ve kavitasyon kuvvetleri partiküllerin küçülmesine neden olur. Çarpışma kazanı Z ve Y tipi olmak üzere iki çeşittir. Z-tipi kazanda, süspansiyonun, partikül çarpışmasına ve kayma gerilimine yol açacak şekilde birkaç kez akış yönü değiştirilir. Y-tipi kazanda, süspansiyon akışı, iki akış yönüne ayrılarak cidardan çarpışma sağlanır (Keck ve Müller, 2006). Mikrofluidizasyon teknolojisinde istenilen partikül büyüklüğünde nanokristal elde etmek için yüksek sayıda (50-100 kez gibi) geçiş gereklidir (Junghanns ve Müller, 2008; Keck ve Müller, 2006).

*Piston boşluğu (Piston Gap) homojenizasyon yöntemi ile nanokristal üretimi*

Diğer bir yüksek basınç homojenizasyon tekniği ise piston boşluğu homojenizasyondur. Sulu dispersiyonlarda (Dissocubes<sup>®</sup>, SkyePharma) veya suyu azaltılmış/susuz ortamlarda (Nanopure<sup>®</sup>, Pharmasol) gerçekleştirilebilir.

Dissocubes<sup>®</sup> yöntemi Müller ve arkadaşları tarafından 1995 yılında geliştirilmiştir. Sulu sürfaktan çözeltisi içerisinde disperse olmuş etkin madde geniş delikli silindir içinden geçerken 4000 bara kadar yüksek basınç uygulanır. Süspansiyon çok yüksek hızda (500 m/sn gibi) uygulanan basınca göre homojenizasyon boşluğundan içeri doğru geçirilir (Junghanns ve Müller, 2008; Shegokar ve Müller, 2010). Yüksek kayma kuvvetleri, turbulans akışı ve Bernoulli eşitliğine göre dar aralıktan geçen süspansiyonun dinamik basıncının artıp ve statik basıncının azalmasına bağlı meydana gelen gaz kabarcıklarının patlamasıyla oluşan şok dalgalarının kuvveti, homojenizasyon döngü sayısı partikül büyüklüğünü etkiler (Müller, Jacobs ve Kayser, 2001).

Nanopure<sup>®</sup> teknolojisi ise PharmaSol GmbH firması tarafından geliştirilmiştir. Bu teknolojiye çok düşük buhar basıncı olan dispersiyon ortamı ve tercihen düşük sıcaklıklarda homojenizasyon vardır. Homojenizasyon boşluğundaki kavitasyon çok az veya yoktur. Buna rağmen partikül boyutunda küçülme sağlar. Sulu olmayan dispersiyon ortamlarında da çalışmak mümkündür (Müller ve diğerleri, 2011; Katteboinaa ve diğerleri, 2009).

### **2.7.3. Nanokristallerin kurutulması ve stabilitesi**

Nanokristallerden katı ilaç şekilleri hazırlamak ve nanokristallerin stabilitesini artırmak için, nanokristaller püskürterek kurutma veya liyofilizasyon yöntemleri ile kurutulur. Böylelikle tablet veya kapsül dozaj şekillerinde hazırlanırlar. (Chan ve Kwok, 2011; Wu, Zhang ve Watanabe, 2011). Nanokristallerin kurutulması için, püskürterek kurutma ve liyofilizasyon teknikleri kullanılmaktadır. Katılaştırma aşamasında kriyoprotektan ajan olarak kullanılan çatı oluşturucularına (matris şekillendiricilere) örnek olarak mannitol, sükroz, selüloz ve trehaloz verilebilir (Attari, Bhandari, Jagadish ve Lewis, 2016; Katteboinaa ve diğerleri, 2009; Chan ve Kwok, 2011; Wu ve diğerleri, 2011)

Nanokristallerin stabilitesi ürünün partikül büyüklüğünü ve buna bağlı olarak ilacın etkisini etkileyeceğinden hem kimyasal hem de biyolojik açıdan oldukça önem taşımaktadır. Nanokristallerde kullanılan stabilizan tipi ve miktarı partiküllerin agrege olmalarını, çökmelerini ve kristal büyümesi (Ostwald olgunlaşması) gözlenmesinin önüne geçebildiğinden çok önemlidir.

Nanokristallerin stabilitesi fiziksel ve kimyasal stabilite olarak sınıflandırılır. Partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel ile ilgili olan fiziksel stabilite parametreleri, sedimentasyon/kremalaşma, aglomerasyon, kristal büyümesi ve kristal faz değişikliğine neden olmaktadır. Bu stabilite problemleri polimerler ve/veya yüzey etkin maddeler kullanılarak, elektrostatik stabilizasyon veya nanokristaller üzerinde sterik bariyer oluşturmaları ile ortadan kalkar (Wu ve diğerleri, 2011). Stabilizanlar sadece uzun ve kısa süreli stabiliteyi sağlamak dışında partikül üretiminde nanokristallerin oluşması ve stabilizasyonu için gereklidir (Lee, Choi, Yoo ve Ahn, 2005). Nanokristal formülasyonlarında, ilaç/stabilizan oranları (a/a) 1:3'ten 50:1 kadar veya 1:20'den 20:1'e kadar geniş ölçüde değişebilmektedir (Van Eedenbrugh, Mooter ve Augustijns ve vd., 2008; Dolenc ve diğerleri., 2009)

Stabilizan olarak en çok kullanılan polimerler; hidroksi propil selüloz (HPC), polivinil piroidon (PVP), hidroksimetilselüloz, hidroksi propil metilselüloz (HPMC), povidon, polivinil alkol (PVA) olarak sayılabilir. En çok kullanılan yüzey etkin maddeler ise, sodyum lauril sülfat, Poloksamer 188, vitamin E TPGS, Poloksamer, tween 80, benzetonyum klorür ve lesitin şeklindedir (Karakucuk, Celebi ve Teksin, 2016; Wu ve diğerleri, 2011; Hong ve diğerleri, 2014).

## **2.8. Tasarımla Kalite (Quality by Design = QbD)**

Tez çalışması kapsamında tasarımla kalite uygulamaları değerlendirildiği için bu bölümde tasarımla kalite kısaca açıklanmaktadır.

QbD, ICH Q8 kılavuzunda belirtildiği şekilde tasarımla kalite yaklaşımı önceden tanımlanmış amaçlarla başlayıp, ürün ve sürecin sağlam bilim ve kalite risk yönetimine dayalı olarak anlaşılmasını vurgulayan sistematik bir ilaç geliştirme yaklaşımıdır (Aksu, Yegen, Purisa, Cevher ve Ozsoy, 2014). FDA 2003 yılında tasarımla kalite yaklaşımını

başlatmış ve günümüzde de bu yaklaşım ruhsatlandırma prosedürlerini azaltmak ve ürünün geliştirilmesinden ruhsatlandırma sonrasındaki onay sürecine kadar tüm işlemlerde kalitenin sağlanmasını hedeflemektedir (Charoo, Shamster, Zidan ve Rahman, 2012; Amasya, Badilli, Aksu ve Tarımcı, 2016). QbD veya daha spesifik olarak Deney Tasarımı (Design of Experiment – DoE), işlem koşullarını optimize etmek ve kritik işlem parametrelerinin etkilerini anlamak için çok yönlü bir yaklaşımdır (Kumar ve diğerleri, 2014). QbD ile yapılan ticari üretim işlemine dayanan bilgiler, spesifikasyonların ayarlanmasında ve onay sonrası değişikliklerde esnekliği sağlamada yeterli olur. Önceden belirlenen kalite gerekliliklerini karşılamak için risk bazlı teknikler kullanarak ürün ve işlem tasarımları böylelikle ruhsatlandırma işlemleri maliyeti, varyasyonlarında önüne geçildiğinden azalır (Charoo ve diğerleri, 2012). QbD'nin iki temel bileşeni, kalite risk yönetimi ve bilgi yönetimi kavramlarıdır (Aksu ve diğerleri, 2014). QbD yaklaşımının mevcut üretim teknolojilerine göre farkları bulunmaktadır (Çizelge 2.6).

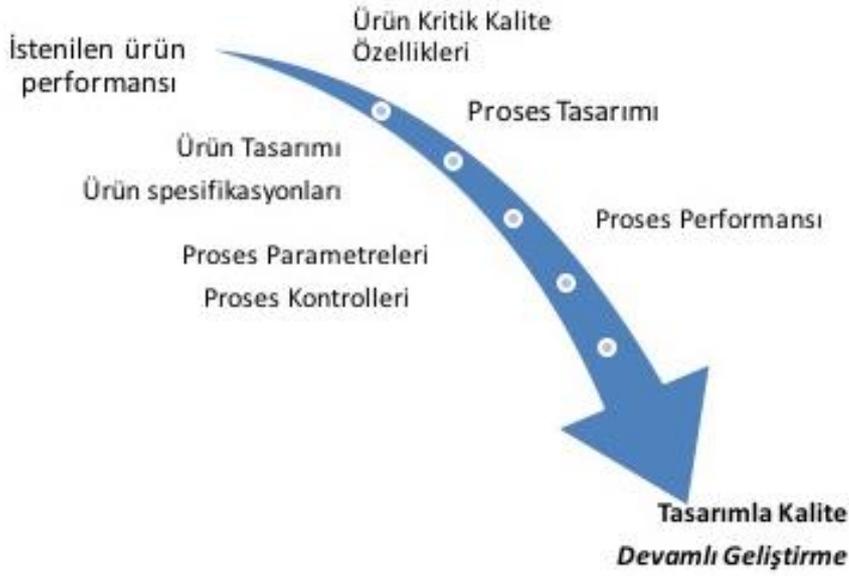
QbD'nin stratejileri aşağıda verilmektedir (ICH Q8; Aksu ve diğerleri, 2014; Khatri, Saini, Gangawat ve Gurubalaji, 2014; Yu ve diğerleri 2007; El-Nabarawi ve diğerleri, 2013):

- Ürün hasta ihtiyaçlarını ve performans gereksinimlerini karşılamak üzere tasarlanmıştır. Hasta güvenliği ve ürün etkililiğine odaklanır.
- Etkin maddenin, yardımcı maddelerin ve işlem parametrelerinin ürünün kalitesine olan etkisi incelenir. Etkin madde, yardımcı maddeler ve işlem hakkında var olan bilgiler toplanır ve risk değerlendirmesi yapılır.
- Hedef ürün kalite profilini karşılamak için kontrol edilmesi gereken bitmiş ürünün kritik kalite özellikleri belirlenir, bu kritik özelliklere sahip bitmiş ürünü üretmek için üretim işlemi tasarlanır. Kritik işlem ve formülasyon değişkenlerinin kaynağı belirlenir ve kontrol edilir.
- Tasarım alanı için önceden elde edilen bilgiler deneylerle birleştirilir.
- Aynı kaliteyi sağlamak için işlem sürekli izlenir ve güncellenir.
- Farmasötik işlem ve metotların bilimsel kavrayışı uygulanır yani dayanıklı ve sağlam metot ve işlem sağlar.
- Ürün tasarımı ve işlem gelişimini kapsar (Şekil 2.3).
- Bilimsel bazlı risk değerlendirme gerçekleştirilir.
- QbD prensipleri inovasyonu ve devamlı ürün gelişimini teşvik eder.

- QbD sürece ilişkin bilgileri artırmasının yanı sıra ürünün daha iyi anlaşılmasına yardımcı olur.

Çizelge 2.6. Mevcut durum ile istenilen QbD durumu arasındaki karşılaştırma (Rathore, 2016; Aksu, 2015; Jayagopal ve Shivashankar, 2017 Basalious ve diğerleri, 2013)

| <b>Parametreler</b>  | <b>Mevcut durum</b>   | <b>İstenilen QbD durumu</b>  |
|----------------------|---|--|
| Farmasötik Gelişim   | Ampirik; tipik olarak tek değişkenli  | Sistemantik; çok değişkenli deneyler   |
| Üretim İşlemi        | Üç serinin validasyonu; tekrar üretilebilirliğe odaklılık   | Tasarım alanı içerisinde ayarlanabilir; tasarım alanı içerisinde devamlı doğrulama; kontrol stratejisine odaklılık.  |
| İşlem Kontrol        | İşlem içi test  | Geri besleme için işlem analitik teknolojiyi kullanır.   |
| Ürün Spesifikasyonu  | Başlıca kalite kontrolün geçmiş seri bulgularına dayanır. Ürün testi ve validasyonu ile garanti edilir. | Genel kalite kontrol stratejisinin bir parçası ürün performansına dayanır. Metod geliştirme aşamasında inşa edilen metodun sağlamlığı ve tekrarlanabilirliği ile kalite oluşturulur. |
| Kontrol Strateji     | Başlıca ara ve son ürün testi ile   | Risk-bazlı; üretime dönük kontroller; gerekçe zamanlı serbest bırakma  |
| Yaşam Döngü Yönetimi | Problemlere açık ve onay sonrası değişiklikler gerekebilir  | Tasarım alanı içerisinde olabilen devamlı geliştirme   |



Şekil 2.3. Tasarımla kalite konsepti

Esasında QbD ilaç geliştirmenin tüm aşamalarını hedefleyen kapsamlı bir yaklaşım olup, tüketiciler için kaliteyi geliştirip maliyetleri azaltmayı amaçlar. Ürün bilgisi ve işlem anlayışı, devamlı geliştirme için işlem ve ürün bilgilerinin gerekliliklerini karşılar.

QbD kavramı kapsamında önemli terimler ve kavramlar aşağıda verilmektedir:

- Bitmiş ürün hedef profili (Target Product Profile, TPP)

TPP, ilacın veriliş yolu, dozu, dozaj şekli, terapötik doz aralığı, farmasötik görünüm ve hedef hasta popülasyonunu dikkate alır. Farmasötik ürünün etiketinde yer alan ana bölümlere göre organize edilir (Khatri ve diğerleri; Yu ve diğerleri, 2007).

- Kalite hedefli bitmiş ürün profili (Quality Target Product Profile, QTPP)

İlacın etiketinde belirtilen yararı gösterebilmesi için sahip olması gereken kalite özellikleridir. QTPP ürün geliştirilmeden önce ürün spesifikasyonlarını belirlemek, formülasyonu ve üretim işlemini tasarlamak ve optimize etmek için kullanılır (Yu ve diğerleri, 2007). QTPP, bitmiş ürün hedef profilini sağlamak için üretim işlemini ve formülasyonunun optimizasyonunda kullanılan verilerdir. Ürünün etkili ve güvenli olmasının garanti edilmesini amaçlar. QTPP kapsamında bitmiş ürünün safsızlığı, stabilitesi,

salım profilleri, partikül büyüklüğü, çözünme, sertliği, tanıma ve miktar tayini gibi ürün spesifikasyon parametreleri vardır. Bunun dışında uygulama yolu, ambalajı da QTPP kantitatif hedefleri arasındadır. Jenerik ürünler için biyoeşdeğerlik de QTPP'nin bir parçasıdır (Charoo ve diğerleri, 2012; Khatri ve diğerleri, 2014).

- Kritik kalite özelliği (Critical Quality Attribute, CQA)

CQA ilk defa 2007 yılında ISPE (International Society of Pharmaceutical Engineering) tarafından tanımlanmıştır. Bu tanıma göre CQA, ürünün kalitesini güvence altına almak için doğrudan veya dolaylı olarak kontrol edilmesi gereken fiziksel, kimyasal, biyolojik ve mikrobiyolojik özelliklerdir. CQA ürünün doğrudan performansını veya performansını belirleyen parametreleri tanımlar. ICH Q8 (R2)'ye göre CQA ise, istenen ürün kalitesi için belirlenen aralıklarda veya değerinde olması gereken fiziksel, kimyasal, biyolojik veya mikrobiyolojik özelliklerdir (Khatri ve diğerleri, 2014).

- Kritik madde özelliği (Critical Material Attribute, CMA)

İstenilen kalitede ürün sağlamak için uygun limit, aralık veya dağılım içerisinde olması gereken işleme giren materyalin fiziksel, kimyasal, biyolojik veya mikrobiyolojik özelliğidir (Sammour, Hammad, Zidan ve Mowafy ve diğerleri, 2011).

- Kritik işlem özelliği (Critical Process Attribute, CPA)

Değişkenliğinin kritik kalite özelliğine (CQA) etkisi olan bir işlem parametresidir. Bu nedenle işlemin istenilen kalitede ürün üretmesini sağlamak için izlenmeli veya kontrol edilmelidir.

- Tasarım alanını belirlemek

Ürün kalitesini garantileyen girdi değişkenlerinin (madde özellikleri) ve işlemparametrelerinin çok boyutlu kombinasyonu ve etkileşimi tasarım alanı olarak tanımlanır.

CMA verileri dikkate alınarak QTPP çerçevesinde üretim işlemi sağlandığında CQA'ya uygun ürün elde edilmesi ve işlem tasarım alanının CQA'ya uygun olarak optimize edilmesi

QbD yaklaşımı uygulayarak mümkündür (Şekil 2.4). Yani ürün kalitesini etkileyen kritik kalite özellikleri ile kritik işlem parametreleri QTPP sağlamada birbirleri ile doğrudan ilişki içerisindedir.



Şekil 2.4. CMA, QTPP ve CQA arasındaki ilişki

QbD yaklaşımının temelini deney tasarımları oluşturmaktadır. Farmasötik ürün gelişimi, geniş alandaki materyal ve işlem özellikleri boyunca maksimum ürün performansı sağlamak için tasarlanır. Bu amaçla yaygın olarak kullanılacak deney tasarımları faktöriyel tasarımdır. Faktöriyel tasarım kullanımının en büyük yararı tüm tahmin edilen etki ve etkileşimlerin diğer faktörlerin etkisi ile bağımlı olduğunu göstermesidir (Basalious, Sebaie ve El-Gazayerly, 2013).

### 2.8.1. Ağızda dağılan tabletlerde QbD yaklaşımı

Ağızda dağılan tablet formülasyonu geliştirmede, tasarımla kalite yaklaşımının uygulanması formülasyon geliştirme aşamasında zaman ve maliyet avantajı sağlayabilir. Stabil ve sağlam olarak önceden tasarlanmış ağızda dağılan tablet geliştirmek için tasarım alanına, QbD elementlerini ve risk yönetimi kullanarak oluşturmak esastır. İşlemin ve formülasyon parametrelerinin ürün özelliklerini nasıl etkilediğini anlamak ve sonrasında ise ürünün final spesifikasyon parametreleri ile ilgili olarak bu parametreleri optimize etmek QbD göstergesidir (Sammour ve diğerleri, 2011).

ADT'lerde kısa dağılma zamanı (<3 dk), düşük sertlik ve ambalajlama ve taşıma koşullarına dayanıklı formülasyon geliştirmek ve işlem parametrelerini optimize etmek gereklidir. QbD uygularken ürün için öncelikle hedef ürün profili (TPP) ve kalite hedefli bitmiş ürün profili (QTPP) belirlenir. TPP bileşenleri ürünün farmakolojik yönleri ele alırken QTPP ilacın

etiketinde yer alan yararını gösterebilmesi için sahip olması gereken kalite özelliklerini ele alır.

QTPP formülasyon ve işlem tasarımı, miktar tayini, içerik tek düzeliği, çözünme ve stabilite gibi kalite özellikleri ile ilgilidir. ADT formülasyon gelişiminde tasarımla kalite yaklaşımı ele alındığında kritik materyal ve işlem parametreleri ürünün kalite risk yönetimini sağlamada rol oynayan kritik kalite özellikleri (CQAs) ve kritik materyal özellikleri (CMAs) ile bağlantılıdır. CQA'lar QTPP ve önceki bilgilere dayanarak oluşturulur (Charoo ve diğerleri, 2012). Risk tanımlama kalitatif olarak, Failure Mode Effects Analysis ve Fault Tree Analysis gibi çeşitli risk yönetimi araçları ile değerlendirilir. Risk yönetimi QbD'de yer alan avantajları ile farmasötik endüstride öncelikli bir işlem haline gelmiştir. Kalite risk yönetimi değerlendirme, kontrol, iletişim, ürün yaşam döngüsü boyunca tıbbi ürünün kalite risklerinin gözden geçirilmesi için sistematik bir işlemdir (ICH Q9, Charoo ve diğerleri, 2012).

ADT'lerde CQA olan dağılma zamanı, sertlik, friabilite ve çözünme gibi özelliklere formülasyon bileşenlerinin tipi ve miktarın ve/veya tablet basım işleminin etkisi QbD açısından deney tasarımı yapılarak incelenebilir. Çizelge 2.7'de ADT geliştirilmesinde olası CQA'lar verilmektedir. (Sammour ve diğerleri, 201; El-Nabarawi, el-Milligi, Khalil ve El-Nabarawy, 2013). Deney tasarımı yapılarak elde edilen veriler ile en uygun formülasyon için optimizasyon yapılabilen ve tasarım alanı belirlenebilmektedir (Rahman ve diğerleri, 2013).

Çizelge 2.7. ADT geliştirilmesinde formülasyon bileşenleri ile kritik kalite özellikleri (El-nabarawi ve diğerleri, 2013)

| <b>Formülasyon bileşenleri</b> | <b>Kritik Kalite Özellikleri (CQAs)</b> |
|--------------------------------|---|
| Dağıtıcı miktarı               | Friabilite                              |
| Dağıtıcı tipi                  | Sertlik                                 |
| Lubrikan miktarı               | Dağılma süresi                          |
| Lubrikan tipi                  | Çözünme                                 |
| Tablet basım kuvveti           |   |
| Granülasyon sıvı tipi          |   |
| Toz karıştırma hızı            |   |
| Granül kaplama tipi            |   |

Günümüzde ADT üretiminde AstraZeneca, Glaxo SmithKline, Merck, Schering-Plough, Eisai, Eli Lilly, Johnson & Johnson ve Organon gibi global ilaç firmaları tasarımla kalite

yaklaşımını uygulamaktadırlar. Jenerik ilaç geliştirilmesinde ADT’lerde TPP ve QTPP belirlenmektedir (Çizelge 2.8).

Çizelge 2.8. Bir jenerik ağızda dağılan tablet dozaj formu için TPP ve QTPP (Charoo, Shamsheer, Zidan ve Rahman, 2012)

| Özellik             | QTPP                  |  | Kritiklik  |
|---------------------|-----------------------|--|--|
|                     | TPP                   | CQA  |  |
| Dozaj form          | Ağızda dağılan tablet | Dağılma süresi (<3 dk), çözünme (en az %85)                              | Tam dispersiyon, ilaç salımı, etkililik ve uygulamada kolaylık sağlar.                     |
| Görünüm             | Kaplanmamış tablet    | Hızlı salım gösteren yuvarlak tabletler                                  | Hasta kabul edilebilirliği ve uygulama açısından önemlidir.                                |
| Yitilik             | (dozu)                | Tanınma (pozitif), miktar tayini ( $\pm$ %5), içerik tekdüzeliği (uygun) | Etkililik  |
| Uygulama yolu       | Oral                  | Lezzetli   | Tedavide hastanın uyuncu   |
| Önerilen endikasyon | (endikasyonu)         | Çözünme ve biyoeşdeğerlik  | Terapötik etkililik sağlama  |
| Safsızlıklar        | -                     | Olmamalı   | Güvenlik safsızlığın toksikolojik çalışmalar göre limitinin kontrol edilmesi ile sağlanır. |

### 2.8.2. Tasarımla kalite yaklaşımı uygulanarak ağızda dağılan tabletlerin geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar

ADT’lerin geliştirilmesinde son zamanlarda artık deney tasarımı uygulanmakta ve formülasyon değişkenleri istenen QTPP için optimize edilebilmektedir. Basalious ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada BCS Sınıf II bir etkin madde olan felodipin ile ağızda dağılan tabletlerin geliştirilmesi ve optimizasyonu yapılmıştır (Basalious ve diğerleri, 2013). Tabletlerin geliştirilmesinde tasarımla kalite yaklaşımı ele alınarak 2<sup>4</sup> tam faktöriyel tasarım uygulanmıştır. Dört formülasyon değişkeni olarak bağlayıcı tipi, ilaç konsantrasyonu, kaplama tipi ve yardımcı madde oranı ele alınmıştır. Yani dört formülasyon parametresinin iki farklı nicel değerinin kritik kalite özellikleri (CQA) olan çözünme ve akış özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. QTPP’yi sağlayan sonuçlar ile formülasyon optimize edilmiştir. Faktöriyel tasarım ile dört değişkenin etkileşimleri ve CQA üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Kontur grafikleri oluşturularak çalışma aralığı belirlenmiştir (Basalious ve diğerleri, 2013).

Kritik materyal ve işlem parametreleri ürünün kritik kalite özellikleri ile bağlantılıdır. Ürün ve işlem anlayışının olması ürünü etkileyen veya ürün ile ilgili değişkenliği azaltır, riski en

aza indirir ve üretimin verimliliğini arttırır. Ürün kalitesine etkin maddenin, yardımcı maddenin ve işlem parametrelerinin etkileri bulunmaktadır. QbD ile ürün kalitesini etkileyen tüm parametrelerin etkisi, etkileşimleri ve hedef ürün profili için tasarımlar yaparak çalışma aralığını belirlemek mümkündür (Charoo ve diğerleri, 2012).

Yapılan bir başka çalışmada ise indometazin katı dispersiyonu ile ADT'lerin QbD yaklaşımı yapılmıştır. 3<sup>2</sup> faktöriyel tasarım uygulanarak süper dağıtıcı miktarı ve tablet sertliğinin, tablet dağılma süresine, ikinci ve onuncu dakika sonrası dağılan ilaç yüzdesine etkisi istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve optimize edilmiştir. Kritik kalite özelliklerinin bağımlı değişkenlere (işlem değişkenlerine) olan etkisinin üç boyutlu grafikleri elde edilerek istenen QTPP'e uygun çalışma aralığı belirlenmiştir. Örneğin tablet sertliği 3 civarında ve süper dağıtıcı oranı %1,5 civarında iken tabletlerin dağılma süresi 30 saniye civarında bulunmuştur. Dağılma süresi ve çözünme özelliklerinde tablet sertliği ile değerlendirilen basım kuvvetlerinin çok önemli etkisi olduğu görülmüştür. Minimum sertlik ve maksimum süper dağıtıcı konsantrasyonunda maksimum ilaç salımı ve minimum dağılma süresi olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma ağızda dağılan tablet geliştirilmesinde QbD'nin potansiyelini göstermiştir (Sammour ve diğerleri, 2011).

El-Nabarawi ve arkadaşları doğrudan basım yöntemi ile aseklofenak ve ranitidin içeren ağızda dağılan tabletleri QbD yaklaşımı uygulayarak geliştirmişler. Polimer, sürfaktan ve pH modifiye edici bir madde ile aseklofenak katı dispersiyonu hazırlayarak hızlı dağılan bir matriks oluşturmuşlardır. Aseklofenak etkin maddesinin gastrointestinal yan etkilerini minimize etmek için ise ranitidin HCl formülasyona eklenmiştir. Seyreltici tipi, katı dispersiyonun tipi ve süper dağıtıcı miktarının seçiminde istatistiksel bir yaklaşım olarak deney tasarımı uygulanmış ve CQA olarak sertlik, friabilite ve dağılma süresine etkileri incelenmiştir. Dağılma süresi ve çözünme profilinde en anlamlı faktörün sertlik ve friabilite olduğu gözlenmiş olup QbD yaklaşımının ağızda dağılan tabletin kalitesi ve optimizasyonunu belirlemede etkili olduğu sonucuna varılmıştır (El-Nabarawi ve diğerleri, 2013).

Prasanthi ve arkadaşları ziprasidon hidroklorür içeren ağızda dağılan tabletlerin tasarımı ve değerlendirilmesini çalışmışlardır. Yaş granülasyon metodu ile süper dağıtıcıların kombinasyonu (sodyum nişasta glikolat, polivinilpirolidon ve prejelatinize nişasta) ile ağızda dağılan tablet formülasyonunun geliştirmesi amaçlanmıştır. İki düzeyli üç faktörlü

(3<sup>2</sup>) bir faktöriyel tasarım ilaç salım profilini optimize etmek için uygulanmıştır. Tabletler, sertlik, friabilite, ağırlık varyasyonu, içerik tek düzeliliği, ıslanma süresi, su absorpsiyon oran, dağılıma süresi ve çözünme çalışmaları ile değerlendirilmiştir. Süper dağıtıcıların farklı oranlarda kombinasyonu ile sekiz formülasyon çalışılmıştır. Tablet sertlik sonuçları 42-49 N arasında değişirken, friabilite %0.53-0.79, dağılıma süresi ise 30-76 saniye arasında bulunmuştur. Faktöriyel tasarım ile süper dağıtıcıların konsantrasyonu optimize edilmiştir. Sodyum nişasta glikolatın %4, krospovidonun %2 ve prejelatinize nişasta oranının %2 olduğu formülasyon en uygun sonuçları (CQA) vermiştir (Prasanthi ve diğerleri, 2010).

QbD yaklaşımı ile formülasyon geliştirilmesi ve optimizasyonunda ağızda dağılan tabletlerde QTPP için değişkenler arasında kritik işlem parametreleri de (basım kuvveti, karıştırma hızı vb) ele alınarak üretim işlemini etkileyen faktörlerinde değerlendirilmesi mümkündür. (Aksu ve diğerleri, 2014).

### **2.8.3. Nanokristallerin geliştirilmesinde QbD yaklaşımı**

Nanokristaller tez kapsamında öncelikli olarak geliştirilmiş ve elde edilen nanokristale göre ADT formülasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu açıdan nanokristal eldesinde QbD açısından deney tasarımı (DoE) yapılmıştır. DoE, kaliteli ürün elde etmek için yapılacak deneylerin planlanmasını ve elde edilen sonuçların istatistiksel olarak yorumlanmasını ve en uygun parametre ve/veya bileşenlere dayalı sonuca varılmasını içerir.

DoE, kısaca sonuç ürünün kalitesine etki eden bağımsız değişkenlerin bağımlı değişkenlere olan etkilerini inceler. DoE yaklaşımı bir matematiksel yöntemdir, faktörler arası etkileşimleri inceleyerek bilgi sunar, etkileşimlerin kaynağını araştırır ve işlem verimini iyileştirir (Montgomery, 2012). Tüm farmasötik formülasyonlara uygulanabilir. Bu sayede ürün gelişim sürecindeki deney sayısını, süresini ve maliyeti azaltır (Salazar, Heinzerling ve Müller, 2011). Nanokristallerin eldesinde kullanılan stabilizan tipi ve oranının ve/veya homojenizasyon geçiş sayısının nanokristallerin CQA'ları olan partikül büyüklüğü, zeta potansiyeli ve partikül büyüklüğü dağılımına etkisi deney tasarımı ile incelenir (Karakucuk ve diğerleri, 2016).



### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Kullanılan sarf malzemeler**

Ziprasidon Hidroklorür Monohidrat – Abdi İbrahim İlaç

Zeldox 20 mg sert kapsül – Pfizer, Parti no: 001 Üretim tarihi: 10.2013 Son kullanım tarihi: 10.2017

Polivinil Piroolidon K-30 (PVP K30) – Sigma

Hidroksipropil metil selüloz (HPMC) 5 cps – Colorcon Inc.

Poloksamer 188 – Sigma

Tween 80 (Polisorbat 80) – Sigma

D-alfa-tokoferol polietilen glikol 1000 süksinat (Vitamin E TPGS) – Sigma

D-Mannitol - Sigma

Metanol (HPLC Grade) – Sigma

Asetonitril (HPLC Grade) – Sigma

Glasiyel asetik asit– Sigma

Sodyum Klorür– Sigma

Sodyum lauril sülfat– Sigma

Sodyum hidroksit – Sigma

Potasyum fosfat monobazik– Sigma

SIF Powder – Biorelevant

HBSS (Hank's Balanced Salt Solution) – Sigma

DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) - Sigma

Caco-2 – American Type Culture Collection (ATCC)

### **3.1.2. Kullanılan cihazlar**

Microfluidics LV1 – Microfluidics® Inc.

HPLC – Agilent 1200

UV Spektroskopi - Shimadzu

Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) – Shimadzu DSC 60

Çalkalayıcı – Friabo V3000F

Bidistile su cihazı – SEM Basic Series

Çözünme hızı test cihazı – Varian VK-7000

İklimlendirme dolabı – Nüve

Ultrasonik homojenizatör – Heidolph

Partikül büyüklüğü ölçümü – Sympatec GmbH System

Partikül büyüklüğü ve zeta potansiyel ölçümü – Malvern ZetaSizer Nano ZS

Liyofilizatör – Christ Alpha

Ultrasonik Banyo - Bandelin

Hassas Terazi – Shimadzu AW-320

Taramalı Elektron Mikroskopu – Quanta 400F

Invert Mikroskop – Nikon Eclipse TS 100

Otomatik pipet 10-100  $\mu$ L, 100-1000  $\mu$ L, 1000-5000  $\mu$ L – Eppendorf

Enjektör 50  $\mu$ L, 100  $\mu$ L – Hamilton

HPLC ODS C18 (RP) Kolon (150 mm x 4.6 mm, 5 µm) – TSKgel

Membran filtre 0,22 µm, 0,45 µm – Millipore

Tablet makinesi- Erweka

Friyabilitör-Pharma Test

Dağılma test cihazı- Pharma Test

Sertlik cihazı- CGS High Speed Hardnesstester HDT 1.V.3

### **3.1.3. Kullanılan yazılımlar**

Design-expert ® Software Version 9

IBM ® SPSS Statistics ® V20.0

DD Solver (Zhang ve diğerleri, 2010)

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Ziprasidon hidroklorür monohidratın (ZHM) fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi**

#### Partikül büyüklüğü ölçümü

Partikül büyüklüğü ölçümünde Laser-X Diffraction Particle Sizer cihazı (Sympatec HELOS) kullanıldı. Sympatec HELOS, lazer difraksiyon yöntemi partiküllerin ışık saçılım davranışlarını öngörerek ölçüm yapar. Emülsiyon, süspansiyon, spray ve aerosol sistemlerin partikül büyüklüğü dağılımlarını ölçmek için kullanılır. Cihazın ölçme kısmına etkin maddenin çözünmediği ortam olarak distile su konulmuştur ve ardından toz halindeki madde distile su içerisine eklenmiştir. İşlem en az üç kez tekrar edildikten sonra ortalama ve standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

### ZHM'nin stabilizan nitelikteki maddelerle geçimlilik çalışması

ZHM'nin nanokristal formülasyonunda kullanılan Poloksamer 188, Vitamin E TPGS, PVP K30 ve HPMC olan stabilizanlarla geçimliliğini tespit etmek amacıyla Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)'den yararlanıldı. Bu yöntemde ZHM ve yardımcı maddeler 2 mg şeklinde tartılarak 1:1 oranda hazırlandı. Karışımların her biri alüminyum panlara konularak kapatıldı ve 10 °C/dakika hızında 25 °C ile 300 °C arasında ısıtılarak DSC termogramları elde edildi.

#### **3.2.2. Miktar tayini yöntemi ve validasyonu**

UV Spektroskopisi ve Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemleri ile ZHM miktar tayini çeşitli ortamlarda yapıldı.

#### UV spektroskopisi ile miktar tayini validasyonu

ZHM'nin çözündüğü ortam olan metanolde (314 nm), pH 7.4 fosfat tampon ortamında (317 nm), açıklık (318 nm) ve tokluk (318 nm) ortamlarında ve distile su ortamında (314 nm) UV spektroskopisi ile miktar tayini yapıldı. Miktar tayini yöntemlerinde ziprasidonun o ortamda maksimum absorbans verdiği dalga boyunda çalışılmıştır. Yöntemin tekrarlanabilir ve güvenilir olduğunun kanıtlanması için miktar tayini yöntemlerinin validasyon çalışmaları her bir ortam için gerçekleştirilmiştir.

pH 7.4 fosfat tamponundaki miktar tayin yöntemi için 50 µg/mL konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmış olup bu stok çözeltiden hareketle 5, 8, 10, 12, 16, 18, 20, 25, 30 ve 40 µg/mL konsantrasyonlarda ZHM çözeltileri hazırlanmıştır.

Metanol ortamındaki miktar tayini yöntemi için 10, 12, 15, 20, 25, 30, 40 ve 50 µg/mL ZHM konsantrasyonları hazırlanmıştır. Bu konsantrasyonların absorbans değerleri üzerinden validasyon işlemleri tamamlanmıştır.

Distile su ile yapılan validasyon da 10 mg ZHM 10 ml metanolde çözülerek bu çözeltiden 2,5 mL alınarak ve 50 mL'ye distile su ile tamamlanarak stok çözeltisi hazırlanmış, 5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 40 µg/mL konsantrasyonlar kullanılmıştır.

Açlık (FaSSIF) ve tokluk (FeSSIF) ortamının miktar tayini yönteminde ise 50 µg/mL konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Bu amaçla 31.25 mg ZHM 25 ml DMSO içerisinde çözülmüş ve bu çözeltilerden 1 mL alınarak ilgili ortam ile (açlık ve/veya tokluk ortamı) ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. Bu stok çözelti ile 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 20, 25 ve 30 µg/mL konsantrasyonlarını hazırlanmıştır.

#### *pH 7.4 fosfat tamponu, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarının hazırlanması*

pH 7.4 fosfat tamponunun hazırlanması: Amerikan Farmakopesi'ne göre hazırlanmıştır. 27,22 g monobazik potasyum fosfat tartılarak 1 L'ye distile su ile tamamlanmıştır. Başka bir beher içerisine ise 2 g sodyum hidroksit tartılarak 250 mL'ye distile su ile tamamlanmıştır. Daha sonra monobazik potasyum fosfat çözeltilerinden 250 mL ve sodyum hidroksit çözeltilerinden ise 195.5 mL alınarak birleştirilmiş ve bu çözelti 1 L'ye distile su ile tamamlanmıştır. 0.1 M hidroklorik asit ile pH 7.4'e ayarlanmıştır.

FaSSIF ortamın hazırlanması: 1 L FaSSIF hazırlamak için 6,186 g NaCl, 0,420 g NaOH pellet, 3,438 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> anhidrat, 900 mL distile suda çözüldükten sonra pH 6,5'e 1N NaOH veya 1N HCl ile ayarlanarak 1 L'ye distile su ile tamamlanmıştır. 2,240 g SIF toz, hazırlanan 500 ml tampon içerisinde çözülmüştür ve 1000 mL'ye tamamlandıktan 2 saat sonra çözelti kullanılabilir duruma gelmiştir.

FeSSIF ortamın hazırlanması: 1L FeSSIF hazırlamak için 4,040 g NaOH pellet, 8,650 g glasiyel asetik asit ve 11,874 g NaCl, 900 ml distile suda çözüldükten sonra 1N NaOH veya 1N HCl ile pH 5,0'a ayarlanmıştır ve 1L'ye distile su ile tamamlanmıştır. 11,200 g SIF tozu, 500 ml tampon içerisinde çözülmüştür ve 1000 mL'ye tamamlandıktan 2 saat sonra çözelti kullanılabilir duruma gelmiştir.

#### *Doğruluk ve geri elde etme*

Doğruluk parametresi miktar tayini yönteminin doğruluğunu gösterir yani bulunan değerlerin gerçeğe olan yakınlığıdır. Yöntemin doğruluğu geri alma yüzdesine bağlıdır. Bu amaçla etkin madde miktarının %80'ini, %100'ünü ve %120'sini içeren miktarlarda 3 ayrı konsantrasyonda geri elde çalışması yapılmıştır. Metanol ortamında 20 µg/mL, pH 7.4 fosfat tamponunda 25 µg/mL distile su ortamında 25 µg/mL, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında ise

12,5 µg/mL %100 kabul edilmiştir. Bu değere göre hesaplanan ZHM çözeltilerin de çözünme ortamı ile hazırlanmıştır ve spektrofotometrede belirtilen dalga boylarında absorpsanları okunmuştur. Çalışmalar 3 paralel olacak şekilde tekrarlandı ve değerlerin ortalamaları hesaplanmıştır. Her bir ortam için bulunan standart doğru denklemlerinde bulunan absorpsan değerleri yerine konularak konsantrasyonlar saptanmıştır. Geri elde yüzdesi (%Geri Elde) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{Geri Elde} = C \text{ pratik} / C \text{ teorik} \times 100$$

### *Kesinlik*

Aynı konsantrasyondaki örneklerin ardışık ölçüm sonuçlarının birbirlerine olan yakınlığını ifade eder. Kesinlik tekrar edilebilirliğin bir göstergesidir.

### *Deney içi kesinlik*

ZHM'nin standart doğru denklemlerini oluşturmak için metanol, pH 7.4 fosfat tampon, distile su ve açlık tokluk ortamlarında sırasıyla 20, 25, 20 ve 10 µg/mL alınan örneklerden her birinin spektrofotometrede ard arda 10 kez ölçülmesi ile absorpsanlar elde edildi. Ortalama standart sapma değerleri hesaplandı.

### *Deneyler arası kesinlik*

ZHM'nin metanol, distile su, pH 7.4 fosfat tampon ve açlık ve tokluk ortamlarında çalışılan tüm konsantrasyonlarının çözeltilerinin ardışık 3 gün içinde 3'er kez UV'de absorpsanları ölçüldü. Elde edilen absorpsan değerlerine karşılık gelen konsantrasyonların ortalama ( $X_{ort}$ ) ve standart sapma (SS)'leri hesaplandı.

### *Özgünlük ve seçicilik*

Spektrofotometrik miktar tayini yönteminin sadece ZHM'ye özgü analizi saptayabilmesi amacıyla etkin madde içermeyen çözeltilerin (kör) metanol, distile su ve pH 7.4 fosfat tampon ve açlık tokluk ortamlarının 200-900 nm arasındaki dalga boylarının spektrumları alındı.

### *Doğrusallık*

Örnekteki maddenin konsantrasyonu ile absorbansların belirli bir aralıkta orantılı olduğunun göstergesidir. Doğrusallık absorbans değerlerine karşılık gelen konsantrasyonlara doğrusal regresyon yöntemi (En Küçük Kareler Yöntemi, EKKAR) uygulanarak regresyon doğrusunun saptanmasıyla gösterildi. ZHM'nin distile su, metanol, pH 7.4 fosfat tampon ve açlık (FaSSIF) ve tokluk (FeSSIF) ortamlarında stok çözeltisinden hareketle seyreltme yapılarak metanol 10-50 µg/mL ve diğer ortamlar 5-50 µg/mL arasında çözeltiler hazırlandı. Her konsantrasyon ve bu konsantrasyona karşılık gelen absorbans değerleri EKKAR (en küçük kareler yöntemi) yöntemine göre değerlendirilerek her çözünme ortamı için standart doğru denklemleri bulundu.

### *Duyarlılık ve saptama sınırı*

ZHM'nin uygun hassasiyetle saptanabilen en alt düzeydeki konsantrasyonu duyarlılıktır. Tespit edilebildiği en düşük miktar ise saptama sınırı olup aşağıdaki formüller ile hesaplanır.

Duyarlılık sınırı (LOD):  $3,3 \times SS/S$

Saptama sınırı (LOQ):  $10 \times SS/S$

SS, kalibrasyon aralığındaki en düşük konsantrasyonun standart sapması

S, kalibrasyon eğrisinin eğimi.

### HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyonu

ZHM'nin HPLC yöntemi ile miktar tayini Caco-2 geçiş çalışmalarında kullanılan Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) ortamında yapılmıştır. Yöntemde mobil faz olarak metanol: potasyum dihidrojen fosfat çözeltisi (6.8 g/L ve pH 3.0 fosforik asit ile) 10:90 oranında kullanılmıştır. Yöntemin akış hızı 1 mL/dakika, enjeksiyon hacmi 20 µl, kolon sıcaklığı 25°, dalga boyu 229 nm, yürütme süresi 15 dakikadır. 0.1-20 µg/mL konsantrasyon aralığında çalışılmış olup ZHM pikinin alıkonma süresi 2.4 dakika olarak tespit edilmiştir. Stok çözelti 10 mg ZHM'nin 10 ml DMSO içerisinde çözünmesini takiben bu çözeltilerden 1 ml alınarak

HBSS ortamı ile 50 ml'ye tamamlanması ile hazırlanmıştır (20 µg/mL). 0.1, 0.5, 1, 5, 8, 10, 12 ve 20 µg/mL konsantrasyonlarında çalışma gerçekleştirilmiştir.

#### *Doğruluk ve geri elde etme*

Miktar tayini yönteminin doğruluğunu gösterir yani bulunan değer gerçeğe olan yakınlığıdır. Yöntemin doğruluğu geri alma yüzdesine bağlıdır. Bu amaçla etkin madde miktarının %80'ini, %100'ünü ve %120'sini içeren miktarlarda 3 ayrı konsantrasyonda geri elde çalışması yapıldı. Sırasıyla 8 (%80), 10 (%100) ve 12 (%120) µg/mL konsantrasyonlarda çalışmalar 3 paralel olacak şekilde tekrarlandı.

#### *Kesinlik*

Aynı konsantrasyondaki numunelerin ardışık ölçüm sonuçlarının birbirlerine olan yakınlığını ifade eder. Kesinlik tekrar edilebilirliğin bir göstergesidir.

#### *Deney içi kesinlik*

ZHM'nin HBSS içerisindeki 10 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan örneklerin ard arda 10 kez ölçülmesi ile elde edilen konsantrasyonların Xort ve SS hesaplandı.

#### *Deneyler arası kesinlik*

ZHM'nin HBSS içerisindeki 8, 10 ve 12 µg/mL konsantrasyonlarının takip eden 3 gün içerisinde 3'er kez HPLC'de analizi gerçekleştirildi. Elde edilen pik alanlarına göre konsantrasyonların Xort ve SS'leri hesaplandı.

#### *Özgünlük ve seçicilik*

HPLC miktar tayini yönteminin sadece analiz edilmesi istenen ZHM'yi saptayabilmesi amacıyla etkin madde içermeyen HBSS ortamda kör numunesinin analizi gerçekleştirildi.

### *Doğrusallık*

Numunedeki madenin konsantrasyonu ile elde edilen pik alanlarının belirlenen limit içerisinde orantılı olduğunun göstergesidir. Doğrusallık pik alanı değerlerine karşılık gelen konsantrasyonlara doğrusal regresyon yöntemi (En Küçük Kareler Yöntemi, EKKAR) uygulanarak regresyon doğrusunun saptanmasıyla gösterilmiştir. ZHM'nin HBSS içerisindeki 0.1, 0.5, 1.5, 8,10,12 ve 20 µg/mL konsantrasyonlarındaki çözeltileri hazırlanmıştır. Her konsantrasyon ve bu konsantrasyona karşılık gelen pik alanları EKKAR (en küçük kareler yöntemi) yöntemine göre değerlendirilerek her çözünme ortamı için standart doğru denklemleri bulunmuştur.

### *Duyarlılık ve saptama sınırı*

ZHM'nin uygun hassasiyetle saptanabilen en alt düzeydeki konsantrasyonu duyarlılıktır. Tespit edilebildiği en düşük miktar ise saptama sınırı olup aşağıdaki formüller ile hesaplanır.

Duyarlılık sınırı (LOD):  $3,3 \times SS/S$

Saptama sınırı (LOQ):  $10 \times SS/S$

SS, kalibrasyon aralığındaki en düşük konsantrasyonun standart sapması

S, kalibrasyon eğrisinin eğimi.

### *Stabilite*

ZHM'nin HBSS ortamındaki stabilitesi 72 saat boyunca 8, 10 ve 12 µg/mL konsantrasyonun HPLC'de ölçülerek kimyasal stabilite testi, miktarında kayıp olup olmadığını saptamak için yapıldı.

### **3.2.3. Nanokristal formülasyonlarının hazırlanması**

ZHM'nin farklı stabilizan tipi ve oranlarında fiziksel karışımları ile nanosüspansiyonları hazırlandı. Polimerik ve yüzey etkin madde özelliğindeki stabilizanlar seçilerek formülasyonda kullanıldı. Polimerik stabilizanlar olarak PVP K30 ve HPMC ve yüzey etkin

madde stabilizanları olarak ise Tween 80, Poloksamer 188 ve Vitamin E TPGS kullanıldı. Formülasyondaki ZHM miktarı %0.5 a/a ve ZHM stabilizan oranı 1:2, 1:1, 2:1, 4:1 ve 8:1 a/a olacak şekilde seçildi. Formülasyondaki ZHM miktarı, Microfluidics cihazının performansını dikkate alarak ve nanokristalin liyofilizasyonu sonrasında elde edilecek tozun içeriğindeki ZHM miktarının bir tablette olması gereken 20 mg ziprasidona karşılık 22,63 mg ZHM içeriğini karşılamasına engel olmadığı düşünülerek belirlenmiştir.

#### Fiziksel karışımların hazırlanması

ZHM kaba tozunun, nanokristal formülasyonlarında kullanılan stabilizanlar ile aynı oranlarda havanda homojen karıştırılması ile fiziksel karışımları elde edildi.

#### ZHM'nin partikül büyüklüğünün ultraturaks ile küçültülmesi

ZHM% 0.5 a/a konsantrasyonunda olacak şekilde distile su içerisinde disperse edildikten sonra ultraturaks ile farklı hızlarda (rpm) ve farklı zamanlarda ZHM'nin partikül boyutunun ön küçültme işlemi olarak küçültülmesi sağlandı. Bu işlem Microfluidics LV1 kazanında yer alan mikrometre boyutundaki kılcal boruların tıkanmaması için yapıldı.

#### Nanokristallerin hazırlanması

Nanokristaller top-down yöntemlerinden yüksek basınç homojenizasyon tekniği ile hazırlandı. Bu teknikte mikrofluidizasyon teknolojisi kullanıldı.

Mikrofluidizasyon teknolojisi için kullanılan cihaz Ar-Ge ölçeğinde yüksek basınçlı homojenizasyon sağlayan Microfluidics LV1'dir (Resim 3.1).

Nanokristallerin hazırlanması aşağıdaki verilen aşamalarda gerçekleşti:

- Tween 80, Poloksamer 188, Vitamin E TPGS (yüzey etkin madde stabilizanları), HPMC ve PVP K30 (polimer stabilizanları), 1:2, 1:1, 2:1, 4:1 ve 8:1 (ZHM: stabilizan) oranlarında distile su içerisinde çözüldü.

- %0.5 a/a oranında ZHM kaba tozu, stabilizan içeren çözelti içerisinde dağıtılarak 20 dakika mekanik karıştırıcıda karıştırılmasının ardından dispersiyonun partikül büyüklüğü ölçülerek başlangıç partikül büyüklüğü saptandı.
- Hazırlanan bu dispersiyon ultratıraks ile 15.000 rpm'de 10 dakikakarıştırılarak partikül boyutu küçültülmesi yapıldı. Böylelikle Microfluidics LV1'in kazanının tıkanma ihtimali ortadan kaldırıldı.
- Süspansiyon ultratırakstan geçirildikten sonra Microfluidics LV1 ile yüksek basınç homojenizasyon işlemi yapıldı. Cihazın işlem parametreleri:
  - 30.000 psi basınç
  - Her bir dispersiyon için 5, 10, 20 ve 30 geçiş sayısı (Mikrofluidizasyonda işlem sayısı yani homojenizasyon döngüsü)
- 84 µm Z-tipi öğütme kazanı kullanıldı. Sıcaklık işlem sırasında cihazın soğutulması ile kontrol altına alındı. Her bir geçiş sayısından sonra nanosüspansiyonlar toplanarak partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel değerleri açısından değerlendirildi.

Sürfaktan veya polimer nitelikteki stabilizan distile su içerisinde çözülür.

%0.5 a/a oranında ZHM stabilizan içeren çözelti içerisinde dağıtılarak 20 dakika mekanik karıştırıcıda karıştırılır.

15.000 rpm'de 10 dakika ultratırakstan geçirilir.

Elde edilen süspansiyon Microfluidics LV1 homojenizatöründe 30.000 psi basınçta 5 farklı geçiş sayısında uygulanarak nanokristaller elde edilir.

Şekil 3. 1 Nanokristallerin hazırlanması



Resim 3.1 Microfluidics LV1

### 3.2.4. Nanokristallerin formülasyonlarının hazırlanmasında deney tasarımı (DoE)

Deney Tasarımı ile en uygun formülasyona ulaşılmasında bağımlı ve bağımsız değişkenler tanımlanarak deneyler yapıldı. Bağımsız değişkenler olarak yüzey etkin madde tipi, polimer tipi (stabilizan tipi), ZHM stabilizan oranı (ZHM: stabilizan) ve Microfluidics LV1’de uygulanan geçiş sayısı, bağımlı değişkenler olarak partikül büyüklüğü (PB), partikül büyüklüğü dağılımı (PDI) ve zeta potansiyel (ZP) incelenmiştir.

Rastgele yapılan deneylerde bağımsız değişkenlerin bağımlı değişkenler üzerine olan etkisi incelendi. Bağımsız değişkenler arasındaki etkileşim çok etkenli ANOVA sayesinde belirlendi. Rastgele deney tasarımı Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Yüzey etkin maddelerden Tween 80, Poloksamer 188, Vitamin E TPGS ve polimerlerden HPMC ve PVP K30 kullanılarak ZHM: stabilizanın 1:2, 1:1, 2:1, 4:1 ve 8:1 oranlarında 5, 10, 20 ve 30 geçiş sayısı ile mikrofluidizasyon işlemi yapılarak en uygun nanosüspansiyonlar elde edildi. Hazırlanan bu nanosüspansiyonlar partikül büyüklüğü, zeta potansiyel ve partikül büyüklüğü dağılımı açısından karakterize edilip bu parametreler ele alınarak kısa süreli stabilite çalışmaları ile değerlendirildi. QbD temeli ve gerekliliği olan Deney tasarımı yaklaşımı ile sonuç nanokristallere ulaşıldı. Design Expert. 9.0 yazılım programı deney tasarımı ve SPSS Statistics 20.0 programı da istatistiksel analizler ve etkileşimlerin saptanması için kullanıldı. Tüm istatistiksel analizler 0,05 anlamlılık düzeyi

ile gerçekleştirildi.  $p < 0,05$  gruplar arası fark olduğunu,  $p > 0,05$  ise gruplar arası fark olmadığını ifade eder.

Yüzey etkin maddeler (YEM) ve polimerler ile hazırlanan nanosüspansiyonlarda tüm bağımsız değişkenlerin birbiriyle etkileşiminin incelenmesinin çok karmaşık olması nedeniyle geçiş sayıları arasındaki farklılık tek yönlü ANOVA ile analiz edildi. Geçiş sayısının farklı gruplar arasında partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyeli bakımından farklılığı göz önüne alınarak kıyaslanmasından sonra post-hoc testleri ile ulaşılan en uygun geçiş sayısı üzerinden diğer bağımsız değişkenlerin yani stabilizan tipi ve oranı arasındaki etkileşimler incelendi.

En uygun bağımlı değişken verilerini sağlayabilen yüzey etkin maddenin seçimi için üç farklı stabilizan için beş farklı stabilizan oranı kullanıldığından  $5 \times 3$  deney düzeninde 15 deney yapıldı ve her bir deney 3 kere tekrarlandı ( $n=3$ ). Tekrarlı deney sonunda partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyeli değerleri ölçüldü. Aynı şekilde polimer ile hazırlanan nanokristaller içinde iki farklı polimer ve 5 farklı stabilizan oranı kullanıldı. Formülasyonun seçilmesinde etkileşim grafikleri incelendi.

Çizelge 3.1. Nanokristallerin eldesinde deney tasarımı- rastgele deney düzeni

| Deney No | Yüzey etkin madde tipi | Etkin madde-stabilizan oranı |
|----------|------------------------|------------------------------|
| 1        | Tween 80               | 8:1                          |
| 2        | Vit E TPGS             | 4:1                          |
| 3        | Tween 80               | 4:1                          |
| 4        | Tween 80               | 8:1                          |
| 5        | Poloksamer 188         | 8:1                          |
| 6        | Vit E TPGS             | 8:1                          |
| 7        | Tween 80               | 2:1                          |
| 8        | Vit E TPGS             | 4:1                          |
| 9        | Vit E TPGS             | 4:1                          |
| 10       | Tween 80               | 2:1                          |
| 11       | Tween 80               | 1:2                          |
| 12       | Poloksamer 188         | 8:1                          |
| 13       | Tween 80               | 8:1                          |
| 14       | Tween 80               | 4:1                          |
| 15       | Poloksamer 188         | 2:1                          |
| 16       | Vit E TPGS             | 8:1                          |
| 17       | Tween 80               | 4:1                          |
| 18       | Tween 80               | 2:1                          |
| 19       | Vit E TPGS             | 1:1                          |
| 20       | Vit E TPGS             | 8:1                          |
| 21       | Tween 80               | 1:1                          |
| 22       | Tween 80               | 1:2                          |
| 23       | Poloksamer 188         | 8:1                          |
| 24       | Vit E TPGS             | 2:1                          |
| 25       | Poloksamer 188         | 2:1                          |
| 26       | Poloksamer 188         | 2:1                          |
| 27       | Vit E TPGS             | 2:1                          |
| 28       | Tween 80               | 1:2                          |
| 29       | Poloksamer 188         | 1:1                          |
| 30       | Poloksamer 188         | 4:1                          |
| 31       | Vit E TPGS             | 2:1                          |
| 32       | Tween 80               | 1:1                          |
| 33       | Poloksamer 188         | 1:1                          |
| 34       | Tween 80               | 1:1                          |
| 35       | Poloksamer 188         | 4:1                          |
| 36       | Vit E TPGS             | 1:1                          |
| 37       | Poloksamer 188         | 1:1                          |
| 38       | Poloksamer 188         | 1:2                          |
| 39       | Vit E TPGS             | 1:1                          |
| 40       | Vit E TPGS             | 1:2                          |
| 41       | Poloksamer 188         | 1:2                          |
| 42       | Poloksamer 188         | 1:2                          |
| 43       | Vit E TPGS             | 1:2                          |
| 44       | Vit E TPGS             | 1:2                          |
| 45       | Poloksamer 188         | 4:1                          |

Çizelge 3.1. (devam) Nanokristallerin eldesinde deney tasarımı- rastgele deney düzeni

| Deney No | Polimer tipi | Etkin madde-stabilizan oranı |
|----------|--------------|------------------------------|
| 46       | PVP K30      | 8:1                          |
| 47       | HPMC         | 8:1                          |
| 48       | PVP K30      | 4:1                          |
| 49       | HPMC         | 4:1                          |
| 50       | PVP K30      | 8:1                          |
| 51       | PVP K30      | 4:1                          |
| 52       | HPMC         | 8:1                          |
| 53       | HPMC         | 4:1                          |
| 54       | HPMC         | 8:1                          |
| 55       | PVP K30      | 8:1                          |
| 56       | HPMC         | 2:1                          |
| 57       | HPMC         | 1:1                          |
| 58       | PVP K30      | 2:1                          |
| 59       | PVP K30      | 4:1                          |
| 60       | HPMC         | 4:1                          |
| 61       | PVP K30      | 1:1                          |
| 62       | PVP K30      | 2:1                          |
| 63       | HPMC         | 1:1                          |
| 64       | HPMC         | 2:1                          |
| 65       | PVP K30      | 2:1                          |
| 66       | HPMC         | 2:1                          |
| 67       | HPMC         | 1:1                          |
| 68       | HPMC         | 1:2                          |
| 69       | PVP K30      | 1:1                          |
| 70       | PVP K30      | 1:1                          |
| 71       | HPMC         | 1:2                          |
| 72       | PVP K30      | 1:2                          |
| 73       | HPMC         | 1:2                          |
| 74       | PVP K30      | 1:2                          |
| 75       | PVP K30      | 1:2                          |

### 3.2.5. Nanokristallerin optimizasyonu ve kurutulması

#### Nanosüspansiyonların optimizasyonu

Nanosüspansiyonların deney tasarımına göre hazırlanması sonucu istatistiksel analize tabi tutulması ile polimer ve yüzey etkin madde içeren formülasyon gruplarından belirlenen geçiş sayılarındaki polidispersite indeksi, partikül boyutu ve zeta potansiyel değerlerine ve etkileşimlerine göre formülasyon optimizasyon işlemi yapıldı.

### Nanokristallerin kurutulması

Nanosüspansiyonların kurutulması, uzun süreli stabilite sağlanması ve katı ilaç şekillerinin geliştirilmesi açısından önem taşır. Bunun için liyofilizasyon (dondurarak kurutma) işlemi yapıldı. Liyofilizasyon için yaklaşık 2 mL nanokristaller örnekleri  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de 2 saat dondurulduktan sonra  $-50^{\circ}\text{C}$ 'de 0,021 mbar basınç altında 40 saat kurutuldu. Liyofilizasyon işleminde nanokristalleri partikül büyümesinden korumak için ortama kriyoprotektan olarak mannitol ilave edildi. Nanokristallerde mannitol oranı ZHM'ye göre %2.5, 5, 7.5 ve 10 seçildi. En uygun mannitol oranı liyofilizasyondan önce ve sonra partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyelde değişikliklerine göre belirlendi.

Liyofilizasyon işleminden sonra elde edilen toz halindeki ZHM nanokristallerinin metanol içerisinde miktar tayini yapılarak ve miktar tayini hesabına göre verim hesaplandı.

### **3.2.6. Nanosüspansiyonların kısa süreli stabilite testleri**

Nanokristallerdeki partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel değerlerindeki değişimlerini tespit etmek amacıyla, hazırlanmaları sonrası 1 gün, 1 hafta ve 1 ay aralıklarında bu değerlerin ölçümü yapıldı. Saklama sıcaklığının etkisini belirlemek amacıyla ise 30 geçiş sonunda elde edilen nanosüspansiyonlar stabilitesi  $4^{\circ}\text{C}$  ve  $25^{\circ}\text{C}$  olmak üzere iki farklı ortamda incelendi.

### **3.2.7. Nanosüspansiyonların karakterizasyon çalışmaları**

Optimum nanosüspansiyonlar partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel ölçümleri, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC), Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektroskopisi (FTIR), X-ışını Kırınımı (XRD) analizleri ile karakterize edilmiştir.

### Partikül büyüklüğü (PB) ölçümü

Malvern Zeta Sizer kullanılarak nanosüspansiyonların PB'si foton korelasyon spektroskopisi yöntemi (PCS) ile ölçüldü. Sympatec Helos cihazı kullanılarak lazer ışık saçılımı yöntemi ile kaba süspansiyonların ve fiziksel karışımların partikül büyüklüğü tayin edildi. Partikül büyüklüğü ölçümünde 10  $\mu\text{L}$  numune küvete damlatıldı ve distile su ile 5

mL'ye tamamlandı. Nanokristallerde partikül büyüklüklerinin 1000 nm'nin altında olması hedeflendi.

#### Partikül büyüklüğü dağılımı (PDI) ölçümü

Nanosüspansiyonlarda partikül büyüklüğü dağılımı da Malvern ZetaSizer ile tayin edildi. En uygun nanosüspansiyon formülasyonlarının 0.1-0.4 aralığında partikül büyüklüğü dağılımına sahip olması beklenmektedir. Bu aralık, nanosüspansiyonların dar partikül büyüklüğü dağılımında olduğunu gösterir.

#### Zeta potansiyel (ZP) ölçümü

Zeta potansiyel (ZP), kolloidal sistemde fiziksel stabiliteyi gösteren partiküller yüzeyindeki elektriksel yükün ölçümüdür. Zeta potansiyel değeri, partikül elektroforetik hareketliliğini değerlendirmek üzere Malvern Zeta Sizer ile ölçüldü. Zeta potansiyel değerinin 60 mV üzerinde olursa nanokristallerde stabilite çok iyi, ZP değeri 30 mV civarında olan nanosüspansiyonlarda stabilite iyi, 20 mV civarında olanlarda ise stabilite kabul edilebilirdir. 5 mV altında olanlarda ise hızlı partikül agregasyonu söz konusu olabileceğinden düşük stabilite olarak değerlendirilir.

#### Diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC)

Stabilizanların, fiziksel karışımların ve nanosüspansiyonları sistemin iç yapısına olan etkisini incelemek amacıyla DSC analizi yapıldı. Kristal yapıdaki ZHM, stabilizanlar, fiziksel karışımlar ve dondurarak kurutulmuş ZHM nanokristallerinin termal özellikleri DSC ile incelendi. DSC analizi için ZHM ve yardımcı maddeler 2 mg tartılarak 1:1 oranında karışımları hazırlandı. Karışımlar alüminyum panlara konuldu ve kapatıldı. 10 °C/dakika ısıtma hızı ile 25 °C ile 300 °C arasında sıcaklıkta ölçümler yapılarak termogramlar elde edildi.

#### Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR)

Nanosüspansiyon formülasyonları, formülasyon bileşenleri ve fiziksel karışımlar için FT-IR spektrumları elde edildi. KBr disk basım tekniği, kızılötesi ölçüm yapmak için kullanıldı. 750-4000  $\text{cm}^{-1}$  tarama aralığında ve 1  $\text{cm}^{-1}$  ayırım gücünde analiz yapıldı.

### X-ışını kırınımı (XRD)

ZHM nanokristallerinin iç yapısındaki olası değişiklikleri belirlemek için XRD kullanıldı. ODTÜ Merkez Laboratuvarında yapılan XRD analizi ile yüksek basınç homojenizasyon sırasında uygulanan yüksek enerji girişinin partiküller üzerinde ki etkisi ile nanopartiküllerin iç yapısındaki değişiklikler incelendi. XRD, nanopartiküllerin amorf ve kristal yapı durumları ile partiküllerin farklı polimorfik fazlarını ayırt etmede kullanılır. Nanosüspansiyon hazırlama sırasında ZHM'nin kristal özelliğini koruması veya kısmi amorf yapı oluşumu stabiliteyi artırır. XRD analizinde tarama hızı dakikada  $1^\circ$  ve tarama aralığı  $2\theta$  açıda  $5-60^\circ$  aralığındadır. XRD analizi, ZHM kaba tozu, fiziksel karışımlar her geçiş sayısında elde edilen liyofilize nanokristallerde yapıldı.

### Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Nanosüspansiyonların morfolojik özelliklerini değerlendirmek, fiziksel karışım ve kaba toz ile de nanokristallerin morfolojik özelliklerini karşılaştırmak üzere ODTÜ Merkez Laboratuvarında taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile görüntülenmesi sağlandı. Görüntülemelerde 5-20 kV akselerasyon voltajı kullanıldı. Ölçümden önce altın- paladyum ile numuneler kaplandı. SEM görüntüleme işlemi partiküllerin büyüklükleri ve görünüşleri açısından değerlendirme yapmaktadır. Nanosüspansiyonlardaki etkin madde partiküllerinin homojen, küçük ve düzgün şekilli olması beklenmektedir.

### **3.2.8. Çözünürlük çalışmaları**

ZHM'nin distile sudaki doygunluk çözünürlüğünün saptanması amacıyla çalkalama yöntemi ile çözünürlük deneyi yapıldı. 5 mL distile su cam flakona alınarak ZHM'nin aşırı miktarı (5 mg ZHM ve 5 mg ZHM'ye eşdeğer nanosüspansiyonlar ve fiziksel karışımlar) flakonlara konuldu. 5 dakika vorteks ile karıştırıldı.  $37^\circ\text{C}$ 'de 72 saat çalkalayıcı üzerinde karıştırılan örnekler 315 nm absorbansta valide edilmiş UV spektrofotometre analiz yöntemi ile tayin edildi. Örnekler analiz edilmeden önce 5.000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant ayrılarak  $0,45\ \mu\text{m}$  membran filtreden süzüldü. Çalışma üç paralel olarak yapıldı. Çözünürlük çalışması yapılan deney grupları aşağıdaki şekilde belirlenmiştir:

- 1- ZHM Kaba Tozu
- 2- ZHM: PVP K30 (1:1) Fiziksel Karışım
- 3- ZHM: PVP K30 (1:1) Liyofilize Nanokristal
- 4- ZHM: Vit E TPGS (2:1) Fiziksel Karışım
- 5- ZHM: Vit E TPGS (2:1) Liyofilize Nanokristal

### 3.2.9. In vitro çözünme çalışmaları

İn vitro çözünme tayini, ticari ziprasidon ürünü Zeldox® 20 mg kapsülleri, ziprasidon hidroklorür monohidrat kaba tozu, ZHM fiziksel karışımları ve ZHM nanokristal formülasyonları ile beş farklı ortamda (FaSSIF, FeSSIF, pH 7.4 fosfat tampon, pH 7.4 fosfat tamponu +%0.5 SLS ve pH 7.4 fosfat tamponu +%1 SLS) gerçekleştirildi. FaSSIF ortamı açlık durumunda intestinal ortamı; FeSSIF ortamı tokluk durumunda gastrointestinal ortamı taklit etmesi nedeniyle kullanıldı. Ziprasidonun çözünmesinin düşük olması dolayısıyla FDA monografında önerilen çözünme ortamının pH 7.4 fosfat tampon içerisinde SLS içermesinden dolayı iki farklı oranda SLS pH 7.4 fosfat tamponuna eklenerek çalışma yapılmıştır. ZHM nanokristalleri liyofilize edildikten sonra, ZHM kaba tozu ve fiziksel karışımlar "0" numara şeffaf kapsüllere dolduruldu ve kapsüller çözünme ortamına sinker kullanılarak konuldu (Resim 3.2). PVP K30 ve Vit E TPGS ile hazırlanan mannitol içeren nanokristallerde 10 mg ZHM'ye eşdeğer nanokristal tozu kapsüllere konuldu. ZHM kaba tozu ve fiziksel karışımlar 10 mg ZHM'ye eşdeğer toz ile kapsüllere konuldu. Zeldox kapsül ticari ürünü, 20 mg ZHM içermektedir. Ticari ürün ve hazırladığımız nanokristal formülasyonları hızlı salım olarak tasarlandığından çözünme test süresi 120 dakika olarak seçildi. İn vitro çözünme deneyi tamamlandıktan sonra sonuçları UV spektrofotometrisinde analiz edildi. % kümülatif çözünen ZHM miktarına karşı Zaman (dakika) grafiğe geçirildi ve %SS değerleri her bir nokta için tayin edildi. Gruplar arası çözünme benzerlikleri f<sub>2</sub> testi ile yorumlandı. İn vitro çözünme test koşulları Çizelge 3.2'de verilmektedir.

Çizelge 3.2. İn vitro çözünme çalışma koşulları

|                                | Çözünme Ortamları           |                                 |                               |                      |
|--------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------------|----------------------|
|                                | pH 7.4 fosfat tamponu       | pH 7.4 fosfat tamponu +%0.5 SLS | pH 7.4 fosfat tamponu +%1 SLS | FaSSIF               |
| Yöntem                         | Palet (USP II)              |                                 | Palet (USP II)                | Palet (USP II)       |
| Ortam Hacmi                    | 900 mL                      |                                 | 500 mL                        | 500 mL               |
| Sıcaklık                       | 37 °C ± 0.5 °C              |                                 | 37 °C ± 0.5 °C                | 37 °C ± 0.5 °C       |
| Palet Hızı                     | 75 devir/dakika ± %4        |                                 | 75 devir/dakika ± %4          | 75 devir/dakika ± %4 |
| Numune alma zamanları (dakika) | 10,20,30,45,60,75,90,120    |                                 |                               |                      |
| Kalibrasyon denklemi           | y=0.0132x-0.0003            |                                 | y=0,006x+0,0037               | y=0.0121x+0,0053     |
| Paralel sayısı                 | 6                           |                                 | 3                             | 3                    |
| Analiz yöntemi                 | UV Spektrofotometre         |                                 |                               |                      |
| Numune grupları                | Ticari Ürün (Zeldox®)       |                                 |                               |                      |
|                                | Vit E TPGS Nanokristali     |                                 |                               |                      |
|                                | PVP Nanokristali            |                                 |                               |                      |
|                                | Fiziksel Karışım PVP        |                                 |                               |                      |
|                                | Fiziksel Karışım Vit E TPGS |                                 |                               |                      |
|                                | ZHM Kaba Toz                |                                 |                               |                      |



Resim 3.2. Kapsül içerisindeki formülasyonların çözünme çalışmaları

### 3.2.10. Ağızda dağılan tabletlerin doğrudan basım yöntemi ile hazırlanması ve deney tasarımı (DoE) yapılması

Ağızda dağılan tabletlerin geliştirilmesinde öncelikle fiziksel karışım halinde hazırlanan nanokristal formülasyonunu taklit eden toz karışımı ile ağızda dağılan tablet formülasyonlarının deney tasarımı yapıldı. Süper dağıtıcı (%5 ve %15) ve kaydırıcı (%0,5-1,5) oranı değiştirilerek tabletlerin sertlik, dağılma süresi ve friabilitesine bakıldı. Bu nedenle  $3^2$  deney düzeneği oluşturuldu. Her bir deney 2 kez tekrarlandı. Deney düzeni Çizelge 3.3’de gösterilmektedir. Toplamda 18 adet deney yapılarak deney sonunda bağımlı parametreler olarak sertlik, dağılma süresi ve friabilite tespit edildi. Nanokristal içeren en uygun formülasyonun seçilmesinde cevap yüzey grafiklerinden ve sadece etkin madde içeren tabletlerin sertlik, dağılma süresi ve friabilite değerlerinden faydalanıldı.

Çizelge 3.3.Fiziksel karışım içeren ADT'lerin hazırlanmasında deney tasarımı

| Deney No | %Dağıtıcı oranı | % Kaydırıcı oranı |
|----------|-----------------|-------------------|
| 1        | 5               | 0,5               |
| 2        | 10              | 1,5               |
| 3        | 5               | 1,5               |
| 4        | 5               | 1                 |
| 5        | 15              | 1                 |
| 6        | 10              | 1,5               |
| 7        | 5               | 1,5               |
| 8        | 15              | 1,5               |
| 9        | 15              | 0,5               |
| 10       | 15              | 0,5               |
| 11       | 10              | 1                 |
| 12       | 10              | 0,5               |
| 13       | 10              | 1                 |
| 14       | 15              | 1,5               |
| 15       | 5               | 0,5               |
| 16       | 10              | 0,5               |
| 17       | 15              | 1                 |
| 18       | 5               | 1                 |

### 3.2.11. ZHM ile ADT formülasyonundaki yardımcı maddelerin geçimlilik çalışması

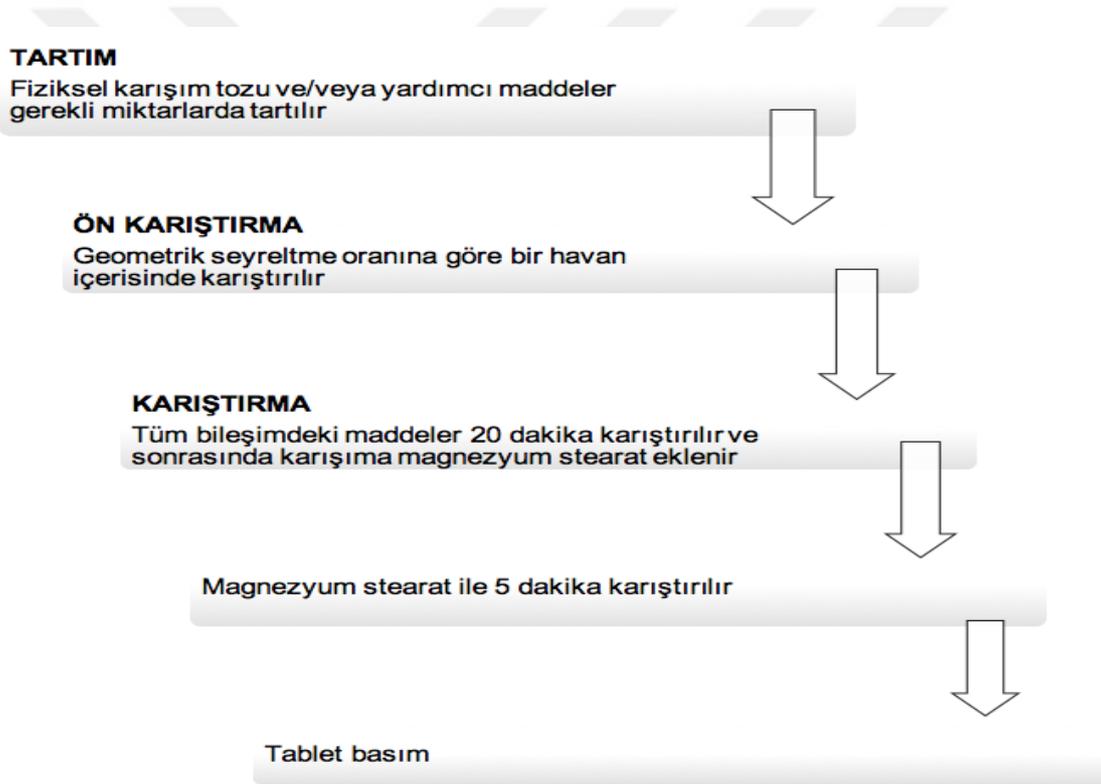
ADT'lerde kullanılan yardımcı maddelerin ZHM ile geçimliliğini tespit etmek amacıyla DSC analizi yapılmıştır. Bu amaçla ZHM ve Ac-Di-Sol, mannitol, PVP K30, Mg-stearat ve Avicel pH 102 2 mg tartılarak ZHM ile her bir madde 1:1 oranında hazırlandı. Karışımlar ve her bir madde 10°C/dakika hızında 25°C ile 300 °C arasında ısıtılarak DSC termogramları elde edildi.

### 3.2.12. Fiziksel karışım içeren ADT hazırlanması

Ağızda dağılan tabletler 750 mg ağırlıkta ve 15 mm çapta olacak şekilde tasarlandı. Mikrofluidizasyon tekniği ile hazırlanan nanokristallerin %0.5 a/a oranında etkin madde içermektedir. Liyofilizasyon işlemi sonrasında ise 20 mg ziprasidon etkin maddesine karşılık gelen toz miktarı %89.77 verimle 554.657 mg'a karşılık gelmektedir. Bu nedenle ADT'ler 750 mg olacak şekilde hazırlanmıştır. Fiziksel karışım bileşimi liyofilize nanokristal içerisinde bulunan etkin madde, mannitol ve PVP'den oluşmaktadır. ADT bileşiminde ise fiziksel karışım ile birlikte magnezyum stearat, Avicel pH 102 ve Ac-Di-Sol (kroskarmelloz sodyum) yer almaktadır. Deney tasarımı belirtildiği gibi Ac-Di-Sol ve magnezyum stearatın iki farklı yüzde oranında fiziksel karışım tozunu içeren ADT'ler hazırlanmıştır.

Formülasyon bileşiminde Ac-Di-Sol super dağıtıcı, Avicel pH 102 seyreltici ve doldurucu ve magnezyum stearat ise kaydırıcı olarak seçilmiştir. Çizelge 3.4’de 9 farklı formülasyon verilmektedir.

Tabletlerin hazırlanmasında öncelikle yardımcı maddeler ve fiziksel karışım tozu tartılmıştır. Magnezyum stearate dışındaki tüm bileşenler ile havan içinde geometrik seyreltme yöntemine göre ön karıştırma işlemi yapıldı. Daha sonra bu karışım bir şişenin içerisine alınarak 20 dakika karıştırıldı. Karıştırma işleminin ardından magnezyum stearat ilave edilerek 5 dakika daha karıştırıldı ve 15 mm’lik zımba kullanılarak tablet makinesinde tabletler basıldı. Tablet üretimi akış şeması Şekil 3.2’de gösterilmektedir.



Şekil 3.2 ADT'lerin üretim akış şeması

Çizelge 3.4. Fiziksel karışım toz ile hazırlanan ADT formülasyonları

| Bileşen ismi  | F1 mg/tb | F2 mg/tb | F3 mg/tb | F4 mg/tb | F5 mg/tb | F6 mg/tb | F7 mg/tb | F8 mg/tb | F9 mg/tb |
|---------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| ZHM           | 22,63    | 22,63    | 22,63    | 22,63    | 22,63    | 22,63    | 22,63    | 22,63    | 22,63    |
| Ac-Di-Sol     | 37,5     | 75       | 37,5     | 37,5     | 112,5    | 112,5    | 112,5    | 75       | 75       |
| PVP K30       | 22,63    | 22,63    | 22,63    | 22,63    | 22,63    | 22,63    | 22,63    | 22,63    | 22,63    |
| Mannitol      | 452,6    | 452,6    | 452,6    | 452,6    | 452,6    | 452,6    | 452,6    | 452,6    | 452,6    |
| Avicel pH 102 | 210,37   | 165,89   | 203,39   | 207,14   | 132,14   | 128,39   | 135,89   | 169,64   | 173,39   |
| Mg Stearat    | 3,75     | 11,25    | 11,25    | 7,5      | 7,5      | 11,25    | 3,75     | 7,5      | 3,75     |

### 3.2.13. Sadece etkin madde içeren ADT hazırlanması

Fiziksel karışım toz bileşenlerini içermeyen sadece etkin madde, Avicel pH 102 ve Mg stearate bileşenleri ile ADT'ler basıldı. Bölüm 3.2.12.'de anlatıldığı şekilde tabletler hazırlanmıştır. Bu tabletlerin formülasyonunun belirlenmesinde fiziksel karışım tozu içeren tabletlerin sertlik, dağılma süresi ve ufalanma aşınma sonuçlarının istatistiksel analizi sonucu optimum çıkan iki adet formülasyon dikkate alındı. Bu iki formülasyon oranları kullanılarak sadece etkin madde içeren ADT'ler hazırlanmıştır. Çizelge 3.5'de sadece etkin madde içeren ADT'ler verilmektedir.

Çizelge 3.5. Sadece etkin madde içeren ADT formülasyonları

| Bileşen ismi  | F1B mg/tb | F2B mg/tb |
|---------------|-----------|-----------|
| ZHM           | 22,63     | 22,63     |
| Ac-Di-Sol     | 37,5      | 112,5     |
| Avicel pH 102 | 682,37    | 607,37    |
| Mg Stearat    | 7,5       | 7,5       |

### 3.2.14. ADT'lerde yapılan fizikofarmasötik kontroller

#### Çap ve kalınlık kontrolü

Amerikan farmakopesi'nde belirtilen yöntemle göre duyarlılığı 0,01 mm olan mikrometre ile 10 tabletin çap ve kalınlığı ölçüldü. Elde edilen değerlerin ortalaması ve SS'sı hesaplandı.

### Ağırlık sapması kontrolü

Rastgele alınan 10 tablet tartılarak ortalama ağırlık hesaplandı. Daha sonra tabletler teker teker tartılarak elde edilen değerlerin güven sınırları ve ortalama ağırlıktan sapma olup olmadığı değerlendirildi.

### Sertlik kontrolü

Sertlik tayini ile rastgele alınan 10 tabletin sertlikleri Newton değeri olarak belirlendi. Elde edilen değerlerin ortalamaları ve SS'leri hesaplandı.

### Ufalanma-aşınma kontrolü

Hazırlanan tabletlerden 10 tablet tartılarak friabilitöre konuldu. Alet 25 devir/dakika hızda 4 dakika çalıştırıldı. Süre sonunda tabletler friabilitörden alınarak üstlerindeki tozlar temizlendi ve tekrar tartılarak ağırlık farkından % ufalanma aşınma miktarı hesaplandı. Bulunan % ufalanma aşınma miktarı %1'den büyük olmamalıdır.

### Dağılma süresi kontrolü

Amerikan Farmakopesi'nde belirtilen dağılma aleti kullanıldı. 37°C'deki distile suyun bulunduğu erlen içerisindeki aletin hücrelerine tabletler teker teker atılarak dağılma süreleri tespit edildi. Ortalama dağılma süresi ve SS değerleri hesaplandı.

### **3.2.15. QbD uygulaması ve fiziksel karışım ADT formülasyonunun optimizasyonu**

QbD optimizasyonu için ADT'in öncelikle QTPP'si belirlendi. Çizelge 3.6'da verilmektedir.

Çizelge 3.6. 20 mg ziprasidon içeren ADT'nin QTPP'si

| Kalite Özelliği     | Hedef  | Doğrulama   |
|---------------------|--|---|
| Dozaj formu         | Ağızda dağılan tablet                              | Farmasötik eşdeğerlik için eşdeğer doz olmalı                   |
| Dozaj               | 20 mg  |   |
| Uygulama Yolu       | Oral   |   |
| Stabilite           | 25°C'de 24 ay raf ömrü                             | Hedef raf ömrü sağlanmalı                                       |
| Kap kapak sistemi   | Bitmiş ürünün kalitesini koruyan kap kapak sistemi | Hedef raf ömrünü sağlamalı                                      |
| Görünüm             | Beyazımsı-uçuk pembe yuvarlak tabletler            | Uluslararası kabul edilebilir kalite standartlarını karşılamalı |
| İçerik tek düzeliği | 20 mg $\pm$ %5                                     |   |
| Dağılma testi       | Dağılma süresi (<3 dk)                             |   |
| Sertlik tayini      | > 30 N   |   |
| Ufalanma ve aşınma  | <% 1   |   |

Fiziksel karışım tozu içeren ADT formülasyonlarının optimizasyonu sırasında bağımlı değişkenler olan sertlik, dağılma süresi ve ufalanma ve aşınma değerlerinin ANOVA ile istatistiksel analizi yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistiksel veriler elde edilmiş ve formülasyondaki dağıtıcı ve kaydırıcının her bir bağımlı değişken üzerine etkisine bakılmıştır. Cevap yüzey grafikleri ve bağımlı değişkenlerin limit değerleri yani sertlik, dağılma süresi ve ufalanma aşınma değerleri dikkate alınarak optimizasyon işlemi DoE programı üzerinden yapılarak çalışma alanı belirlenmiştir.

### 3.2.16. Nanokristal içeren ADT hazırlanması

Fiziksel karışım içeren ve optimize edilen ADT formülasyonundaki dağıtıcı ve kaydırıcı oranı dikkate alınarak 20 mg ziprasidona eşdeğer liyofilize nanokristal tozu, bölüm 3.2.12.'de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır. Çizelge 3.7'de formülasyon ve Şekil 3.3'de hazırlanması akışı verilmektedir.

Çizelge 3.7. Liyofilize nanokristal içeren ADT formülasyonu

| Bileşen ismi  | Miktarı (mg/tb) |
|---|-----------------|
| Liyofilize toz (20 mg ziprasidone karşılık gelen)   | 554,657*        |
| Ac-Di-Sol (%15)   | 112,5           |
| Avicel pH 102   | 75,343          |
| Mg Stearat (%1)   | 7,5             |
| Toplam tablet ağırlığı: 750 mg<br>*Miktar tayini hesabına göre %89,77 verimle hesaplanmıştır. |                 |

**TARTIM**

Liyofilize toz ve yardımcı maddeler gerekli miktarda tartılır.

**ÖN KARIŞTIRMA**

Geometrik seyreltme oranına göre bir havan eli yardımıyla karıştırılır.

**KARIŞTIRMA**

Tüm bileşimindeki maddeler 20 dakika karıştırılır ve daha sonra karışıma magnezyum stearat eklenir.

Magnezyum stearat ile 5 dakika karıştırılır.

Tablet basımı gerçekleştirilir.

Şekil 3.3. Nanokristal içeren ADT'lerin Hazırlanması

**3.2.17. Nanokristal içeren ADT'lerde yapılan diğer fizikofarmasötik kontroller**

Bölüm 3.2.14'de anlatılan ADT'lerde yapılan fizikofarmasötik kontrollere ek olarak aşağıdaki kontroller nanokristal içeren ADT'lerde gerçekleştirilmiştir.

### Porozite tayini

Nanokristal içeren ADT'lerin porozitelerine ODTU Merkez Laboratuvarı'nda bakılmıştır. Düşük basınçta civalı porozimetre kullanılarak civa ile örnek arasındaki değme açısı, civa basıncı ve yüzey geriliminden hesaplanır tabletlerin % gözeneklilik ve gözenek hacmi hesaplanmıştır.

### Islanma süresi ve su absorpsiyon oranı kontrolü

Islanma süresi tayini için 6 mL distile su içeren 6 cm çapındaki petri kabı içerisine kağıt mendil iki kez katlanarak yerleştirildi. Daha sonra tablet tartıldı ve kağıt mendil üzerine yerleştirilerek distile suyun tablet yüzeyinde gözlendiği süre yani tablet yüzeyinin ıslanması için geçen süre tespit edildi. Su absorpsiyon oranı ise ıslanma süresi tayininden önce ve sonra tabletin tartılması ve tabletin absorbe ettiği % su miktarının hesaplanması ile belirlenmiştir. 6 adet tabletin ortalaması alınmıştır.

### Etkin madde miktar tayini

Altı adet tabletin etkin madde miktarları metanol ortamında UV spektrofotometrik yöntem ile hesaplanarak, ortalama ve SS değerleri hesaplandı. Bu amaçla her bir tablet ayrı ayrı 50 ml metanol içerisinde çözündürüldü. Bu çözülden 1 ml alınarak 10 ml'ye metanol ile balon joje içerisinde tamamlandı ve süzülerek UV spektrofotometrik ölçümleri 314 nm dalga boyunda gerçekleştirildi.

### **3.2.18. ADT'lerde in vitro çözünme çalışmaları**

ADT'lerin çözünme profillerini incelemek amacıyla Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nin yayınladığı ziprasidon çözünme metoduna göre %1 SLS içeren pH 7.4 fosfat tamponunda ve pH 7.4 fosfat tamponunda in vitro çözünme çalışmaları yapılmıştır. Nanokristal içeren ADT, sadece ZHM içeren ADT, fiziksel karışım ile hazırlanan ADT'ler ve ticari ürün Zeldox 20 mg sert jelatin kapsül, çözünme çalışmalarına tabi tutulmuştur. Çözünme deney koşulları Çizelge 3.8'de verilmektedir. Profillerin benzerlikleri ( $f_2$  benzerlik faktörü) hesapları DDSolver programı ile gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.8. ADT'ler yapılan in vitro çözünme çalışma koşulları

| <b>Çözünme Ortamları</b>              |                              |   |
|---------------------------------------|------------------------------|---|
|                                       | <b>pH 7.4 fosfat tamponu</b> | <b>pH 7.4 fosfat tamponu+%1 SLS</b>   |
| <b>Yöntem</b>                         |                              | Palet (USP II)<br>(USP II)  |
| <b>Ortam Hacmi</b>                    |                              | 900 mL<br>500 mL  |
| <b>Sıcaklık</b>                       |                              | 37 °C ± 0.5 °C  |
| <b>Palet Hızı</b>                     |                              | 75 devir/dakika ± %4  |
| <b>Numune alma zamanları (dakika)</b> |                              | 1,3,5,10,20,30,45,60,75,90,120  |
| <b>Kalibrasyon denklemi</b>           |                              | $y=0.0132x-0.0003$  |
| <b>Paralel sayısı</b>                 |                              | 6   |
| <b>Analiz yöntemi</b>                 |                              | UV Spektrofotometre   |
| <b>Numune grupları</b>                |                              | Ticari Ürün<br>Nanokristal içeren ADT<br>Fiziksel Karışım içeren ADT<br>Sadece ZHM içeren ADT |

### 3.2.19. Caco-2 hücre kültürü çalışmaları<sup>1</sup>

Caco-2 hücre kültürü çalışmaları, 79onfluent79e hidroklorür monohidrat kaba tozu, nanokristalin formülasyonu, nanokristal içeren ağızda dağılan tablet ve fiziksel karışım tozu içeren ADT'ler ile yapıldı. İnsan kolon adenokarsinom hücresi olan Caco-2 (ATCC) hücre hattı hücre kültürü çalışmalarında kullanıldı. Permeabilite deneyleri için Caco-2 hücreleri insertler üzerine aktararak elde edildi. Çalışılan grupların Caco-2 hücre canlılığı üzerine etkisini incelemek için MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromit) testi yapıldı.

<sup>1</sup> Caco-2 hücre kültürü çalışmaları Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. İmran VURAL kontrolünde yapıldı. Katkılarından dolayı Prof.Dr. İmran VURAL'a ve asistanı Arş. Gör. Ecz. Naile Öztürk'e teşekkür ediyoruz.

### Hücre kültür çalışmaları için hücrelerin hazırlanması

Caco-2 hücreleri için % 10 (h/h) fetal sığır serumu (fetal bovin serum, FBS), 2 mM L-glutamin ve 50 ünite/mL penisilin, 50 µg/mL streptomisin içerecek şekilde hazırlanan Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) ortamı (complete medium, tam kültür ortamı) kullanıldı ve Caco-2 hücreleri 37 °C'de % 5 karbondioksit içeren atmosferde inkübe edildi.

37°C su banyosunda, dondurulmuş Caco-2 hücreleri -180 °C azot tankından alınarak çözüldü. 15 mL'lik tüpteki kültür ortamına Caco-2 içeren vial laminar akış altında aktarıldı. 2000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilerek üstte kalan kısım atıldı. Çöken hücreler taze kültür ortamında tekrar süspand edilip 25 cm<sup>2</sup> hücre kültür kaplarına (flask) aktarıldı. Hücreler 37 °C'de % 5 karbondioksit içeren atmosferde inkübe edildi ve ortamları gün aşırı değiştirildi. 6-7 gün sonunda flasklardaki hücre sıklığı yaklaşık %80-90 (80onfluent) olunca, hücreler tripsinize edilerek başka flasklara aktarıldı (pasajlanlandı). Pasajlama işleminde tripsin-EDTA (% 0,25) çözeltisi kullanıldı. Sırasıyla flasklardaki hücrelerin ortamı atıldı ve pH 7.4 fosfat tamponu (Phosphate buffered saline-PBS) ile iki kez yıkandı. Tripsin-EDTA konularak inkübatörde bekletildi. Hücreler flask yüzeyinden ayrılınca bir santrifüj tüpüne ortam konuldu üzerine tripsin-hücre karışımı aktarıldı. Santrifüjleme işleminden sonra çöken hücreler ortam ile tekrar süspand edildi ve yeni flasklara alınarak inkübatörde çoğalmaya bırakıldı. Hücreler 24 pasaj sayısına ulaşıldığında geçiş çalışmaları için kullanıldı

### Geçiş çalışmaları için Caco-2 hücrelerinin insertlere aktarılması

24 pasaj sayısına ulaşan hücreler tripan mavisi kullanılarak sayıldı ve polikarbonat insertlere aktarmak üzere hücre sayılarının yeterli olduğu doğrulandı. Sayma işleminde hücre süspansiyonu steril ependorfa alınıp tripan mavisi ile 2 kat seyreltildi. Hemasitometreye alınarak mikroskopla sayım yapıldı ve mL'deki hücre sayısı hesaplandı. Bu hücre süspansiyonu, kültür ortamı ile seyreltilerek ekim için hazırlanan ve 6 kuyucuklu plakalarda yer alan insertlere (Snapswell<sup>TM</sup>, 6 well, 0.4 µm por çapı) 70.000 hücre/insert olacak şekilde aktarıldı. Bazolaterale 1.5 mL ve apikale 0.5 mL ortam konuldu. 37°C'de %5 karbondioksit içeren nemli havada plakalar inkübe edildi. Ortam gün aşırı değiştirdi. 21 gün sonra hücre tek tabakası 80onfluent olunca geçiş çalışmaları yapıldı. Kültür ortamındaki hücrelerin fotoğrafı inverted mikroskop kullanılarak çekildi (Resim 3.3-3.4).



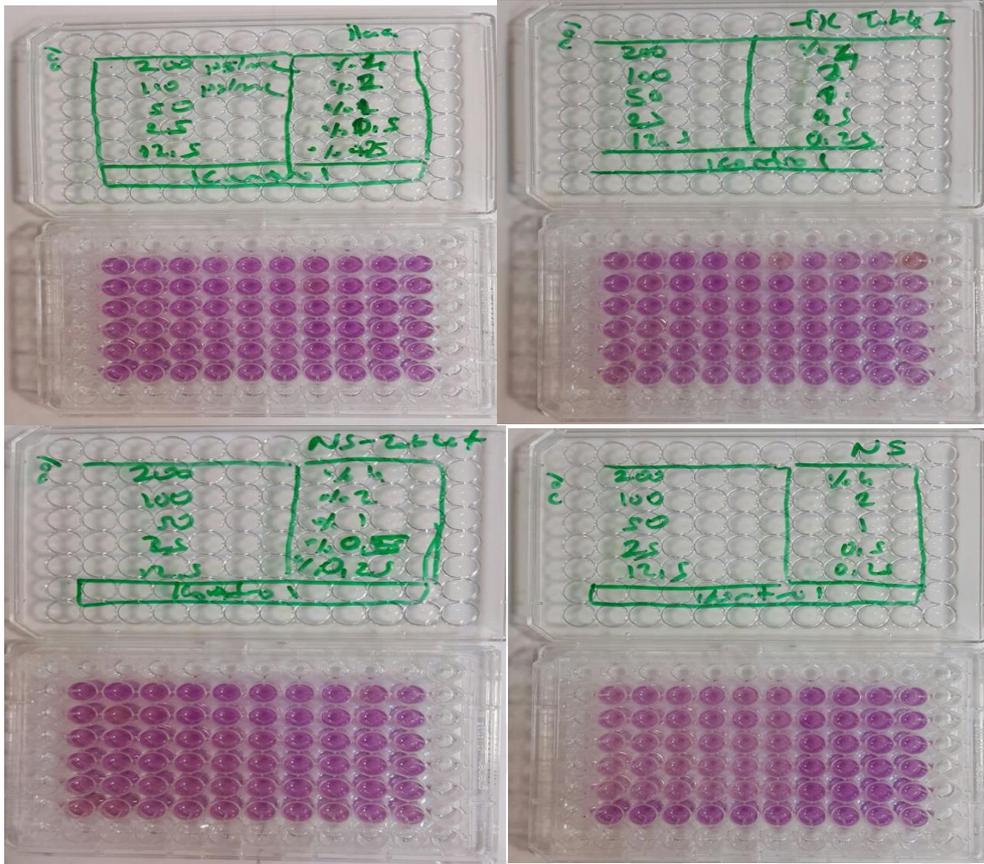
Resim 3.3. Boş insert görüntüsü



Resim 3.4. Caco-2 hücrelerini içeren insert görüntüsü

### 3.2.20. *In vitro* hücre canlılığının (sitotoksite) incelenmesi

MTT hücre canlılığı testi, geçiş çalışmalarında çalışılacak formülasyonların Caco-2 hücre canlılığına etkisini araştırmak ve geçiş çalışmalarında kullanılacak konsantrasyonları belirlemek amacıyla yapıldı. Caco-2 hücreleri kuyucuk başına 5000 hücre düşecek şekilde tripan mavisi ile sayılarak kuyucuklara eklendi. Tutunmaları için bir gece bekledikten sonra ortam atıldı. Hazırlanan formülasyonların DMSO ve kültür ortamı (DMEM) içindeki dilüsyonları 96 kuyucuklu plakalara eklendi. Kontrol grubu olarak kültür ortamı içindeki DMSO % 0,4 oranında kullanıldı. Plakalar geçiş çalışmalarında belirlenen süre olan 4 saat süresince, 37°C de % 5'lik CO<sub>2</sub>'li etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda 25 µL MTT (5 mg/mL) çözeltisi kuyucuklara ilave edildi ve 4 saat inkübatörde bekletildi. Süre sonunda kuyucuklardaki ortam atıldı ve her bir kuyucuğa 200 µL DMSO ilave edilerek 570 nm'de absorbanlar mikropilaka okuyucu ile okundu. Resim 3.5'de 96 kuyucuklu MTT deneyi gösterilmektedir.



Resim 3.5. 96 kuyucuklu plakada MTT deneyi

### 3.2.21. Caco-2 tek tabaka hücre bütünlüğünün değerlendirilmesi

Caco-2 hücre tek tabakalarının transepitel elektrik rezistansı (TEER) Millicell-ERS epitel voltmetre ile ölçüldü.

TEER değerleri aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplandı:

$$TEER_{\text{hücre tabakası}} = (R_{\text{örnek}} - R_{\text{boş}}) \times A$$

$R_{\text{örnek}}$  = hücre içeren insertlerin rezistansı

$R_{\text{boş}}$  = hücre içermeyen kontrol insertlerin rezistansı

A = hücre kültürü insertinin yüzey alanı (cm<sup>2</sup>)

### 3.2.22. Caco-2 hücrelerinden geçiş çalışmaları

Geçiş çalışmaları için 10 mM Heps içeren HBSS tampon (pH 7.4) kullanıldı. Çalışmada uygulanacak örnekler % 0,4 DMSO içeren HBSS kullanılarak hazırlandı. Etkin madde içeren formülasyonlarda ZHM konsantrasyonu 100 µg/mL olacak şekilde örnekler

seyreltildi. Aynı zamanda ilacın oral yol ile bir bardak su ile birlikte uygulandığında konsantrasyonu da 100 µg/mL olmaktadır.

Uygulanan formülasyonlar:

- Ziprasidon hidroklorür monohidrat çözeltisi
- Sonuç nanokristal formülasyonu
- Nanokristal içeren ADT
- Fiziksel karışım tozu içeren ADT

Çalışmaya başlamadan 6 kuyucuklu plakada önce apikal ve bazolateral kısımlardaki kültür ortamı atıldı ve bu bölgeler HBSS ile muamele edildi. 30 dakikalık inkübasyondan sonra ortamın tamamı atıldı. Hazırlanan örneklerden (n=6) 0.5 mL apikale, 1.5 mL HBSS bazolateral kısma konuldu. Plakalar 37°C'de 60 rpm'de 4 saat inkübe edildi. Belirli zaman aralıklarında (30-60-90-120-240. dakikalar) bazolateralden 0.5 mL örnek alındı ve yerine taze ortam (HBSS) eklendi (Resim 3.6). Örnekler HPLC'de analiz edildi.

Görünür permeabilite katsayısı (P<sub>app</sub>, cm/s) aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$P_{app} = dC/dt \cdot 1/(A \times C_0)$$

dC/dt = ilaç permeasyon oranı (µg/s)

A = insertlerin yüzey alanı (cell monolayer) (cm<sup>2</sup>)

C<sub>0</sub> = apikal bölgedeki başlangıç konsantrasyonu (µg/mL)



Resim 3.6. Kuyucuklu Plakada Geçiş Çalışmaları

### Caco-2 hücre kültürü verilerinin değerlendirilmesi

Caco-2 tek tabakalarından tamamen emilen ilaçlar yüksek permeabilite katsayısına sahip ( $P_{app} > 1 \times 10^{-6}$ ), emilimi tam olarak gerçekleşmeyen ilaçlar ise düşük permeabilite katsayısına sahip ( $P_{app} < 1 \times 10^{-7}$ ) olarak yorumlandı.

#### **3.2.23. Stabilite çalışmaları**

Nanokristal içeren ADT'ler ICH kılavuzunda belirtildiği şekilde hızlandırılmış ( $40 \pm 2^\circ\text{C}$ , %75±%5 bağıl nem) test koşullarında 6 ay ve uzun süreli ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , %60±%5 bağıl nem) test koşullarında 9 ay süreyle stabilite dolaplarına alındı. 0, 3, 6, 9 aylık zaman noktalarında etkin madde miktar tayini hesaplanarak raf ömrü hesaplandı. Stabilite çalışmalarında nanokristal içeren ADT'lerde sadece görünüm ve etkin madde miktar tayini parametreleri incelenmiştir. Microfluidics LV1 cihazı laboratvar ölçeğinde olduğu için bir günde cihaza enjekte edilen süspansiyon miktarı maksimum 30 mL/gün (3 enjektör = 10 g süspansiyon) olabilmektedir. Formülasyonda % 0.5 g/g ZHM yer aldığından %89,77 verimle çalışıldığını düşünürsek ortalama günde maksimum 4-6 ADT basılabilecek nanokristal formülasyonu elde edilebilmektedir. Aleti çok sık kullanmak ısı artışına ve kazan tıkanmasına bağlı olarak tedarikçi tarafından önerilmediği için stabilite çalışması yapılırken sadece etkin madde miktar tayini yapılmıştır, diğer parametreler incelenmemiştir.

## 4. BULGULAR

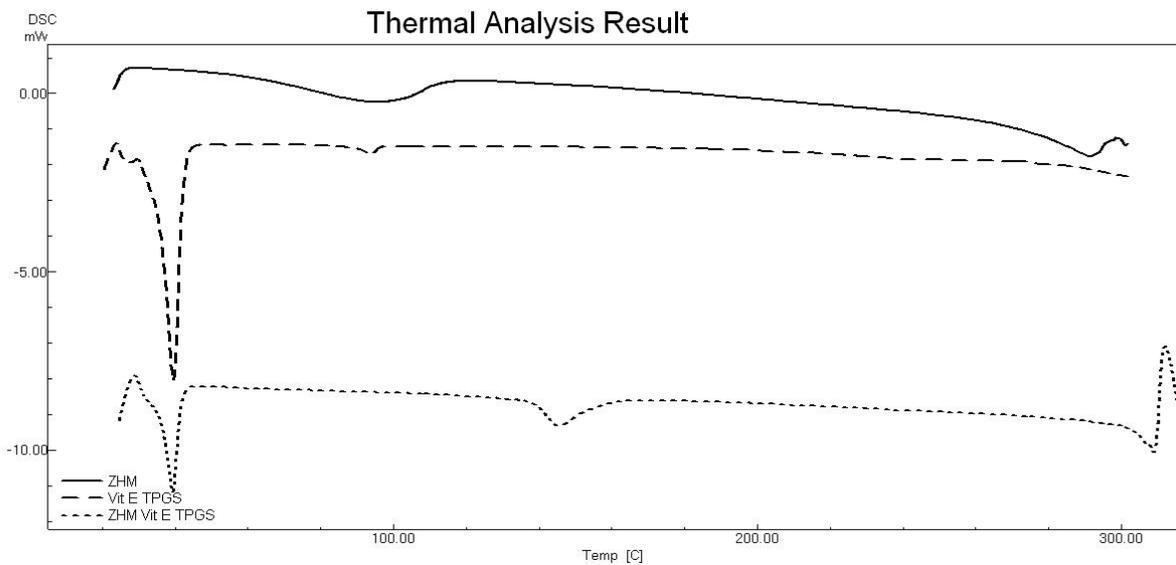
### 4.1. ZHM'nin Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesine Ait Bulgular

#### 4.1.1. Partikül büyüklüğü ölçümü

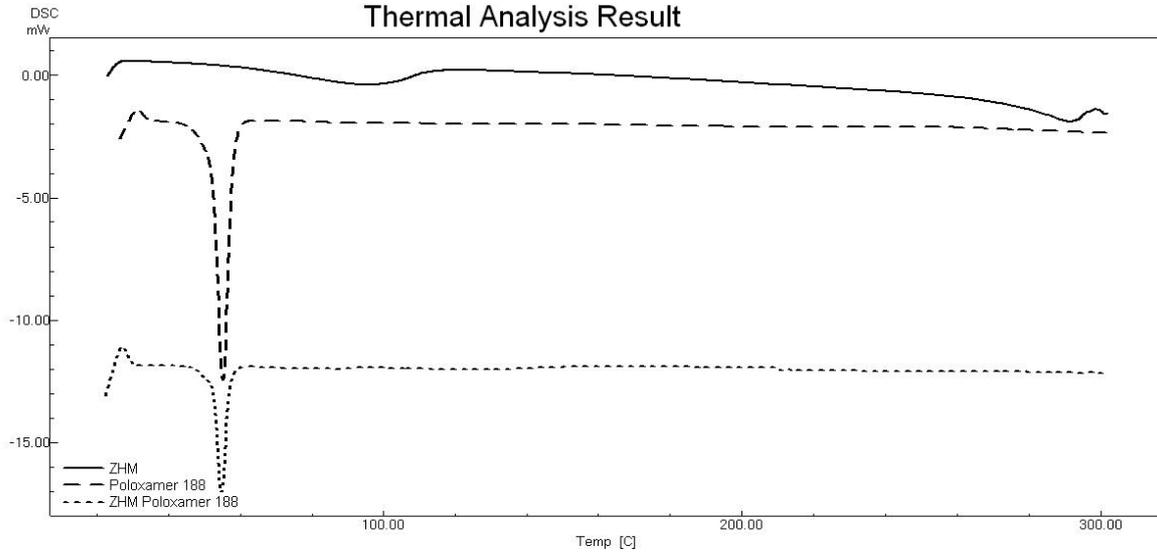
ZHM'nin nanokristal formülasyonlarından önce başlangıç partikül büyüklükleri ölçüm sonuçları ZHM'nin fiziksel karışım, nanokristal formülasyonlarının hazırlanması ile ilgili Bulgular başlığı altında verilmektedir.

#### 4.1.2. ZHM'nin stabilizan maddelerle (yardımcı maddelerle) geçimlilik çalışmaları

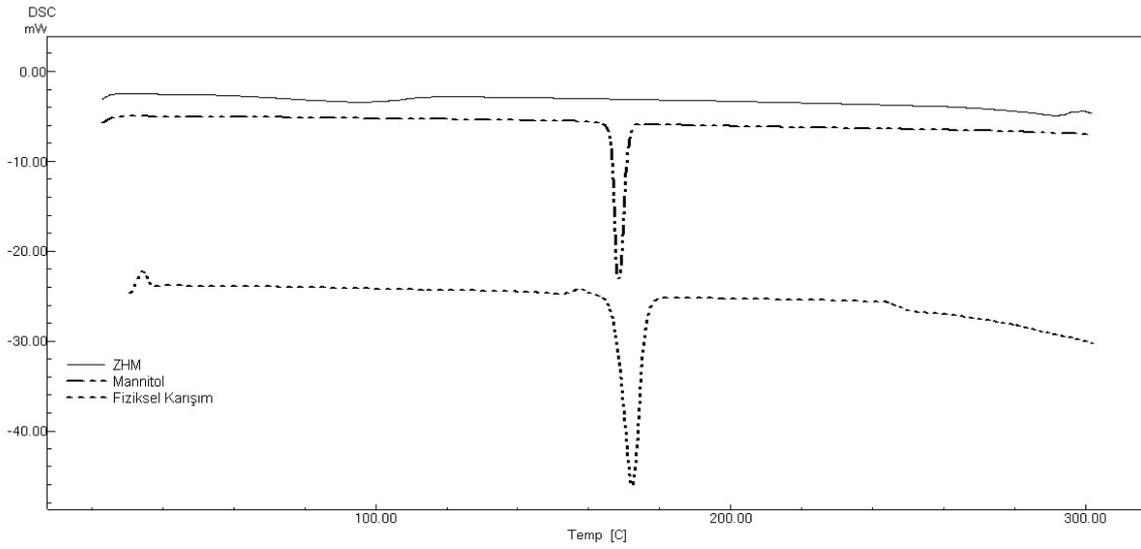
Bölüm 3.2.7'de açıklandığı gibi DSC termogramları elde edildi (Şekil 4.1-4.5) ZHM'nin stabilizan maddeler (Poloksamer 188, Tween 80, Vitamin E TPGS, HPMC ve PVP K30 ile geçimliliğini değerlendirmek üzere, ZHM'nin literatürden elde edilen erime derecesi  $>276^{\circ}\text{C}$ 'dir. DSC sonuçlarına göre ZHM'nin bu aralıkta erime derecesi saptanmıştır. Buradan elde edilen sonuçlar ZHM'nin erime noktasının literatürle uyumlu olduğunu göstermektedir. Fiziksel karışımlarda ZHM'nin erime derecesinde bir kayma olmadığı görüldü. Buradan kullanılan yardımcı maddeler ile ZHM etkileşim göstermediği sonucuna varıldı.



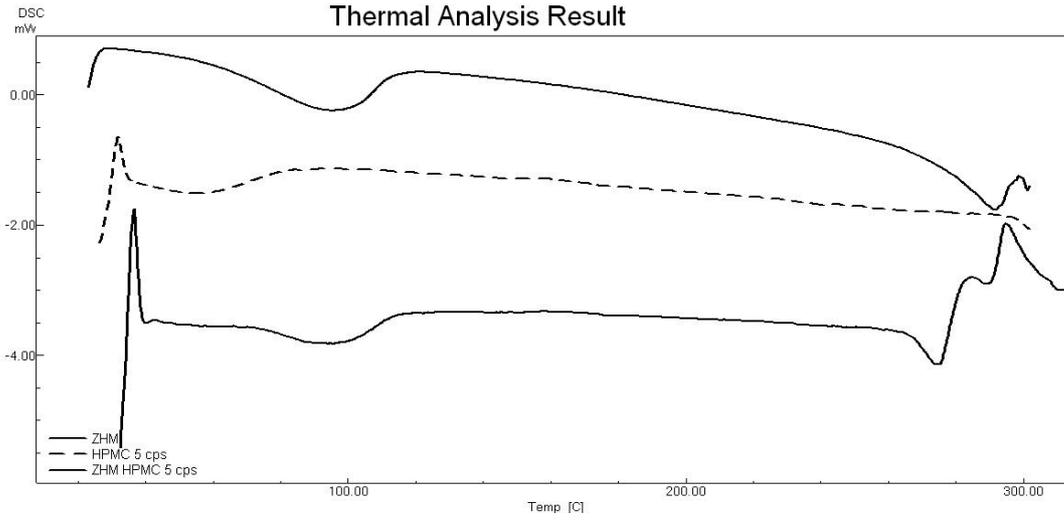
Şekil 4.1. ZHM, Vit E TPGS ve fiziksel karışımlarını gösteren DSC termogramı



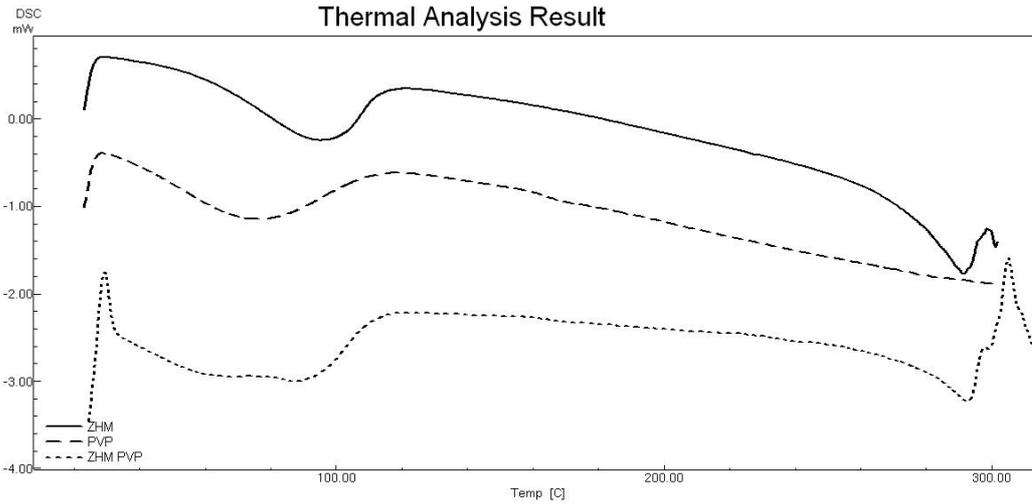
Şekil 4.2. ZHM ve Poloksamer 188 ve fiziksel karışımlarını gösteren DSC termogramı



Şekil 4.3. ZHM ve Mannitol ve fiziksel karışımlarını gösteren DSC termogramı



Şekil 4.4. ZHM ve HPMC ve fiziksel karışımlarını gösteren DSC termogramları

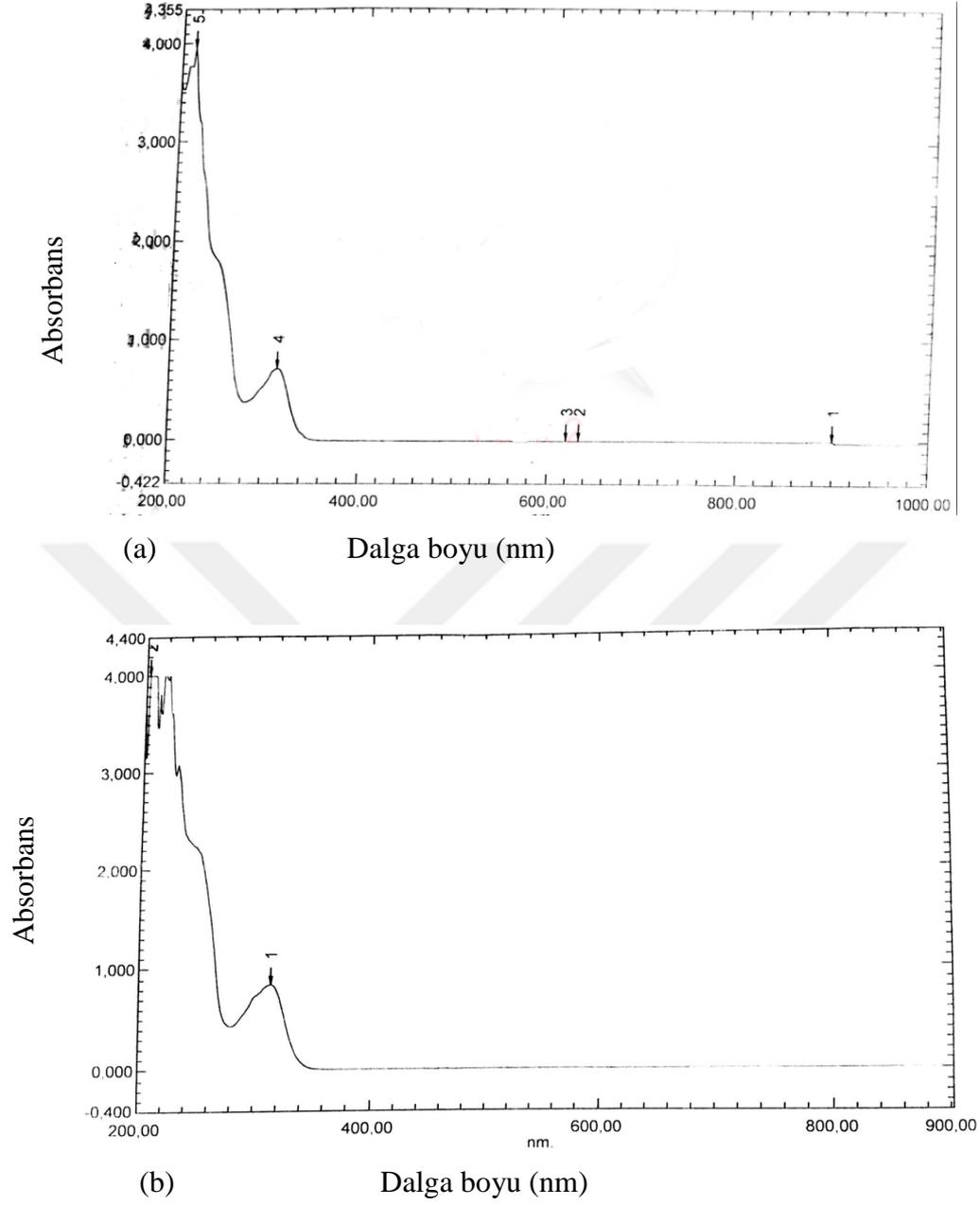


Şekil 4.5. ZHM ve PVP K30 ve fiziksel karışımlarını gösteren DSC termogramı

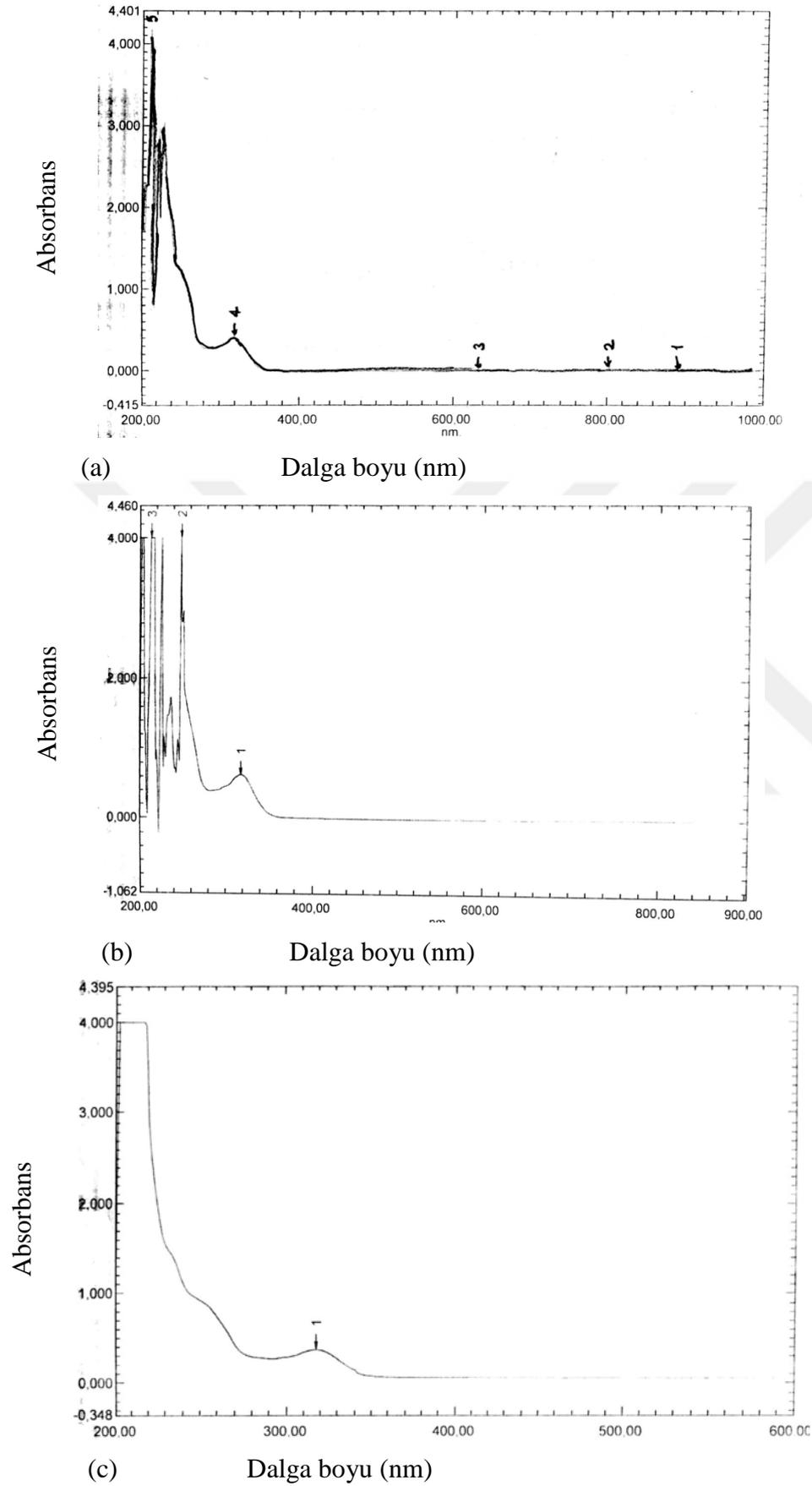
## 4.2. Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyon Bulguları

### 4.2.1. UV spektruma ait sonuçlar

ZHM'nin distile su, metanol, pH 7.4 fosfat tampon, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında miktar tayini Bölüm 3.2.2.1'de anlatıldığı şekilde yapıldı. 200-900 nm arasında 1 cm'lik kuvarz küvetler kullanılarak köre karşı spektrumları alındı ve  $\lambda$  maks değerleri su, metanol, pH 7.4 fosfat tamponu, FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında sırasıyla 314, 314, 317, 318 ve 318 nm olarak bulundu. (Şekil 4.6 ve 4.7)



Şekil 4.6. ZHM'nin (a) Distile su, (b) Metanol ortamlarında tespit edilen maksimum absorbans değerleri



Şekil 4.7. ZHM'nin FaSSIF (a), FeSSIF (b) ve pH 7.4 fosfat tamponu (c) ortamlarında tespit edilen maksimum absorbans değerleri

#### 4.2.2. ZHM'nin distile su içerisindeki miktar tayini validasyon bulgulari

##### Doğruluk ve geri elde

Bölüm 3.2.2.'de anlatılan ZHM'nin distile su içerisindeki doğruluk ve geri elde sonuçları Çizelge 4.1'de verilmektedir.

Çizelge 4.1. ZHM'nin distile su içerisindeki doğruluk ve geri elde sonuçları

| Çözeltideki ZHM Yüzdesi | Çözeltideki ZHM Konsantrasyonu (µg/mL) | Hesapla Bulunan ZHM Miktarı ± SS | %BS   | % Geri Elde |
|-------------------------|--|----------------------------------|-------|-------------|
| % 80                    | 20                                     | 20,7 ± 0,0                       | 2,03  | 103,5       |
| % 100                   | 25                                     | 25,66 ± 0,01                     | 2,05  | 102,64      |
| % 120                   | 30                                     | 29,63 ± 0,003                    | 0,921 | 98,76       |

##### Kesinlik

##### *Deney İçi Kesinlik*

Bölüm 3.2.2'de anlatılan ZHM'nin distile su içerisindeki deney içi kesinlik sonuçları Çizelge 4.2'de görülmektedir.

Çizelge 4.2. ZHM'nin distile su içerisindeki deney içi kesinlik sonuçları

| Örnek No        | ZHM çözeltisinin konsantrasyonu (µg/mL) | Bulunan ZHM konsantrasyonu(µg/mL) |
|-----------------|---|-----------------------------------|
| 1               | 20                                      | 20                                |
| 2               | 20                                      | 19,41                             |
| 3               | 20                                      | 20,83                             |
| 4               | 20                                      | 20,75                             |
| 5               | 20                                      | 20,81                             |
| 6               | 20                                      | 20,66                             |
| 7               | 20                                      | 20,66                             |
| 8               | 20                                      | 20,25                             |
| 9               | 20                                      | 20,75                             |
| 10              | 20                                      | 20,16                             |
| <b>Ortalama</b> | 20,55                                   |                                   |
| <b>SS</b>       |   | 0,46                              |
| <b>BS</b>       | 2,25                                    |                                   |

### Deneyler arası kesinlik

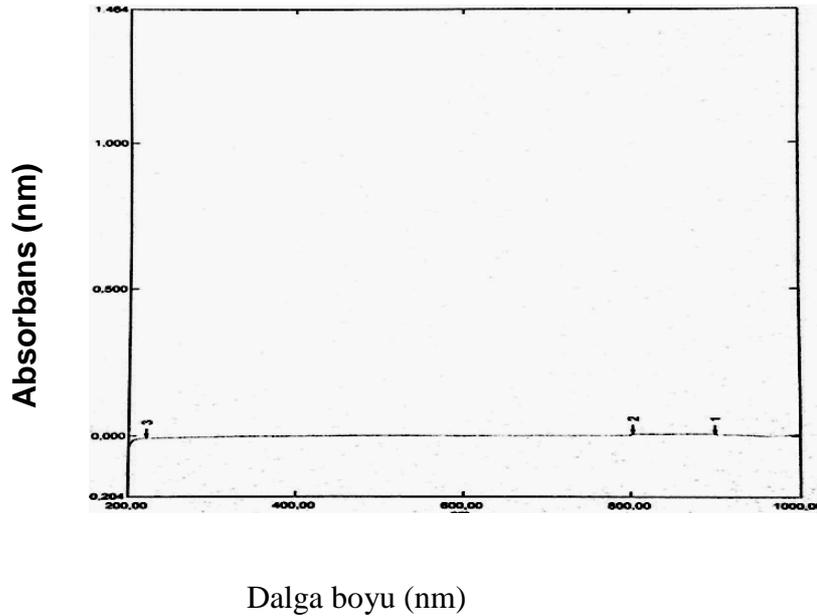
Bölüm 3.2.2.'de anlatıldığı gibi yapılan ZHM'nin distile su içerisindeki deneyler arası kesinlik sonuçları Çizelge 4.3'de verilmektedir.

Çizelge 4.3. ZHM'nin distile su içerisinde deneyler arası kesinlik sonuçları

| Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ ) | 1. gün | 2. gün | 3. gün | Ortalama | SS   | BS   |
|------------------------------------|--------|--------|--------|----------|------|------|
| 5                                  | 4,75   | 5,008  | 4,91   | 4,89     | 0,13 | 2,67 |
| 7,5                                | 8,33   | 8,16   | 8,08   | 8,19     | 0,12 | 1,55 |
| 10                                 | 10,41  | 10,33  | 10,5   | 10,41    | 0,08 | 0,80 |
| 15                                 | 14,66  | 14,08  | 14,5   | 14,41    | 0,30 | 2,08 |
| 20                                 | 20,75  | 20,66  | 20,83  | 20,75    | 0,08 | 0,40 |
| 25                                 | 25,75  | 25     | 26     | 25,58    | 0,52 | 2,03 |
| 30                                 | 31,33  | 29,83  | 30,33  | 30,5     | 0,8  | 2,5  |
| 40                                 | 41,66  | 40,66  | 41     | 41,11    | 0,50 | 1,23 |
| 50                                 | 50,25  | 50,08  | 50,83  | 50,38    | 0,39 | 0,78 |

### Özgünlük ve seçicilik

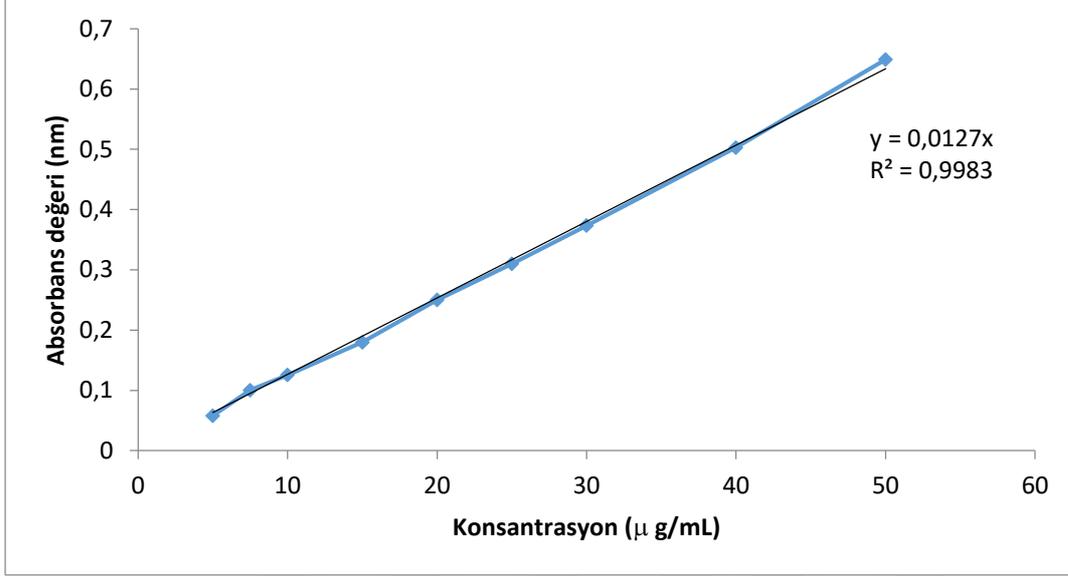
Bölüm 3.2.2.'de anlatılan yöntemin ZHM'ye özgü olduğunu ve seçici özellik gösterdiği Şekil 4.8'de görülmektedir.



Şekil 4.8. Distile su ortamının UV spektrumu

### Doğrusallık

Bölüm 3.2.2’de anlatılan ZHM’nin kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi Şekil 4.9’de görülmektedir.



Şekil 4.9. ZHM'nin distile su ortamında kalibrasyon doğrusu

### Duyarlılık ve saptama sınırı

Bölüm 3.2.2’de anlatılan ZHM’nin distile su içerisinde UV spektrofotometrik yöntem ile hesaplanan miktar tayini çalışmasında duyarlılık sınırı (Limit of Detection – LOD) ve saptama sınırı (Limit of Quantification – LOQ) hesaplama sonuçları sırasıyla 0,26 µg/mL ve 0,78 µg/mL olarak tespit edildi.

### **4.2.3. ZHM’nin metanol içerisinde miktar tayini validasyon bulguları**

#### Doğruluk ve Geri Elde

Bölüm 3.2.2.’de anlatılan ZHM’nin metanol içerisinde ki doğruluk ve geri elde sonuçları Çizelge 4.4’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.4. ZHM'nin metanol içerisinde doğruluk ve geri elde sonuçları

| Çözültideki ZHM yüzdesi | Çözültideki ZHM konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Hesapla bulunan ZHM miktarı $\pm$ SS | %BS  | % Geri elde |
|-------------------------|---|--------------------------------------|------|-------------|
| % 80                    | 20  | 20,7 $\pm$ 0,0                       | 1,79 | 102,0       |
| % 100                   | 25  | 25,2 $\pm$ 0,0                       | 1,71 | 100,8       |
| % 120                   | 30  | 29,46 $\pm$ 0,01                     | 0,92 | 98,2        |

Kesinlik*Deney İçi Kesinlik*

Bölüm 3.2.2'de açıklandığı gibi yapılan ZHM'nin metanol içerisindeki deney içi kesinlik sonuçları Çizelge 4.5'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.5. ZHM'nin metanol içerisinde deney içi kesinlik sonuçları

| Örnek No        | ZHM çözültisinin konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Bulunan ZHM konsantrasyonu |
|-----------------|--|----------------------------|
| 1               | 20   | 20,07                      |
| 2               | 20   | 20,35                      |
| 3               | 20   | 19,51                      |
| 4               | 20   | 20,26                      |
| 5               | 20   | 20,16                      |
| 6               | 20   | 20,63                      |
| 7               | 20   | 19,98                      |
| 8               | 20   | 19,23                      |
| 9               | 20   | 20,26                      |
| 10              | 20   | 19,32                      |
| <b>Ortalama</b> | 19,98  |                            |
| <b>SS</b>       | 0,47   |                            |
| <b>%BS</b>      | 2,34   |                            |

*Deneyler Arası Kesinlik*

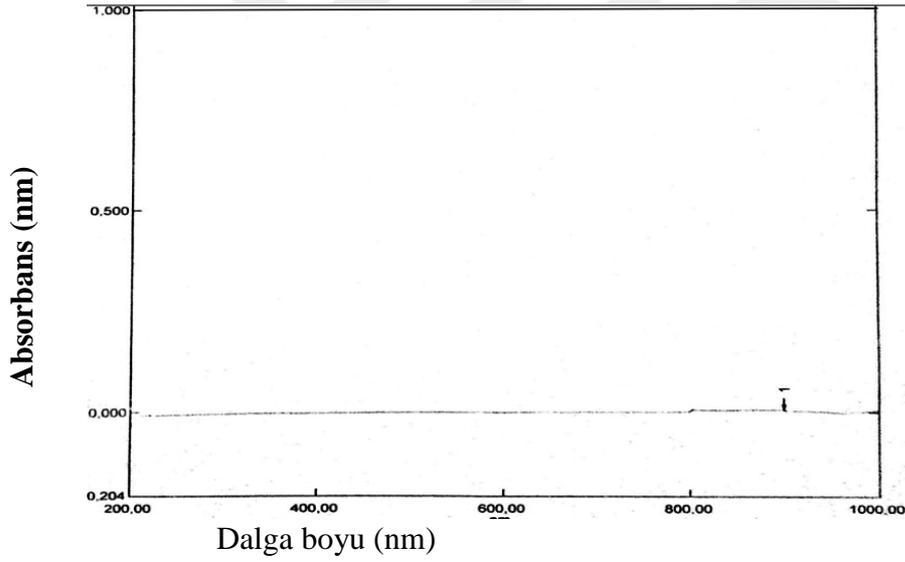
Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı gibiyapılan ZHM'nin metanol içerisindeki deneyler arası kesinlik sonuçları Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. ZHM'nin metanol ortamında deneyler arası kesinlik sonuçları

| Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ ) | 1. gün | 2. gün | 3. gün | Ortalama | SS   | BS   |
|------------------------------------|--------|--------|--------|----------|------|------|
| 10                                 | 9,70   | 9,51   | 9,88   | 9,70     | 0,19 | 1,93 |
| 12                                 | 11,10  | 11,28  | 11,19  | 11,19    | 0,09 | 0,83 |
| 15                                 | 15,02  | 14,65  | 15,58  | 15,09    | 0,47 | 3,12 |
| 20                                 | 19,79  | 20,16  | 20,63  | 20,19    | 0,42 | 2,09 |
| 25                                 | 24,84  | 24     | 24,74  | 24,52    | 0,46 | 1,88 |
| 30                                 | 29,04  | 28,67  | 29,79  | 29,17    | 0,57 | 1,96 |
| 40                                 | 37,55  | 38,76  | 38,39  | 38,23    | 0,62 | 1,63 |
| 50                                 | 49,60  | 48,39  | 47,73  | 73,0     | 5,1  | 7,0  |

### Özgünlük ve Seçicilik

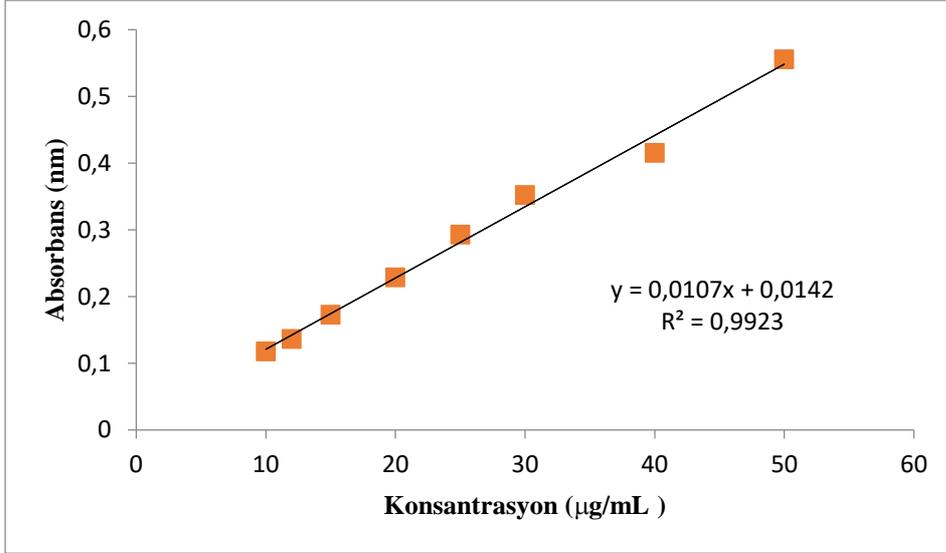
Bölüm 3.2.2.'de anlatılan yöntemin ZHM'ye özgü olduğunu ve seçici özellik gösterdiği Şekil 4.10'da görülmektedir.



Şekil 4.10. Metanol ortamının UV spektrumu

### Doğrusallık

Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı üzere ZHM'nin kalibrasyon eğrisi ve kalibrasyon parametreleri Şekil 4.11'de görülmektedir.



Şekil 4.11. ZHM'nin metanol ortamında kalibrasyon doğrusu

#### Duyarlılık ve saptama sınırı

Bölüm 3.2.2'de anlatılan ZHM'nin metanol içerisinde miktar tayini yönteminde duyarlılık sınırı (Limit of Detection – LOD) ve saptama sınırı (Limit of Quantification – LOQ) hesaplama sonuçları sırasıyla 2,775 µg/mL ve 8,41 µg/mL olarak tespit edildi.

#### **4.2.4. ZHM'nin pH 7.4 fosfat tamponu içerisinde miktar tayini validasyon bulguları**

##### Doğruluk ve geri elde etme

Bölüm 3.2.2.'de anlatılan ZHM'nin pH 7.4 fosfat tamponu içerisindeki doğruluk ve geri elde sonuçları Çizelge 4.7'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.7. ZHM'nin pH 7.4 fosfat tamponu içerisinde doğruluk ve geri elde sonuçları

| Çözeltildeki ZHM yüzdesi | Çözeltildeki ZHM konsantrasyonu (µg/mL) | Hesapla bulunan ZHM miktarı ± SS | %BS  | % Geri elde |
|--------------------------|---|----------------------------------|------|-------------|
| % 80                     | 20                                      | 19,64 ± 0,00                     | 1,68 | 98,22       |
| % 100                    | 25                                      | 24,6 ± 0,1                       | 1,3  | 98,4        |
| % 120                    | 30                                      | 29,44 ± 0,00                     | 0,54 | 98,14       |

Kesinlik*Deney İçi Kesinlik*

Bölüm 3.2.2’de anlatılan ZHM’nin pH 7.4 fosfat tamponu içerisindeki deney içi kesinlik sonuçları Çizelge 4.8’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.8. ZHM’nin pH 7.4 fosfat tamponu içerisinde deney içi kesinlik sonuçları

| Örnek No        | ZHM çözeltisinin konsantrasyonu (µg/mL) | Hesapla bulunan ZHM konsantrasyonu |
|-----------------|---|------------------------------------|
| 1               | 25                                      | 24,7                               |
| 2               | 25                                      | 24,9                               |
| 3               | 25                                      | 25,1                               |
| 4               | 25                                      | 25,2                               |
| 5               | 25                                      | 24,6                               |
| 6               | 25                                      | 24,2                               |
| 7               | 25                                      | 25,3                               |
| 8               | 25                                      | 25,6                               |
| 9               | 25                                      | 24,7                               |
| 10              | 25                                      | 25,2                               |
| <b>Ortalama</b> | 24,95                                   |                                    |
| <b>SS</b>       | 0,41                                    |                                    |
| <b>%BS</b>      | 1,64                                    |                                    |

*Deneyler Arası Kesinlik*

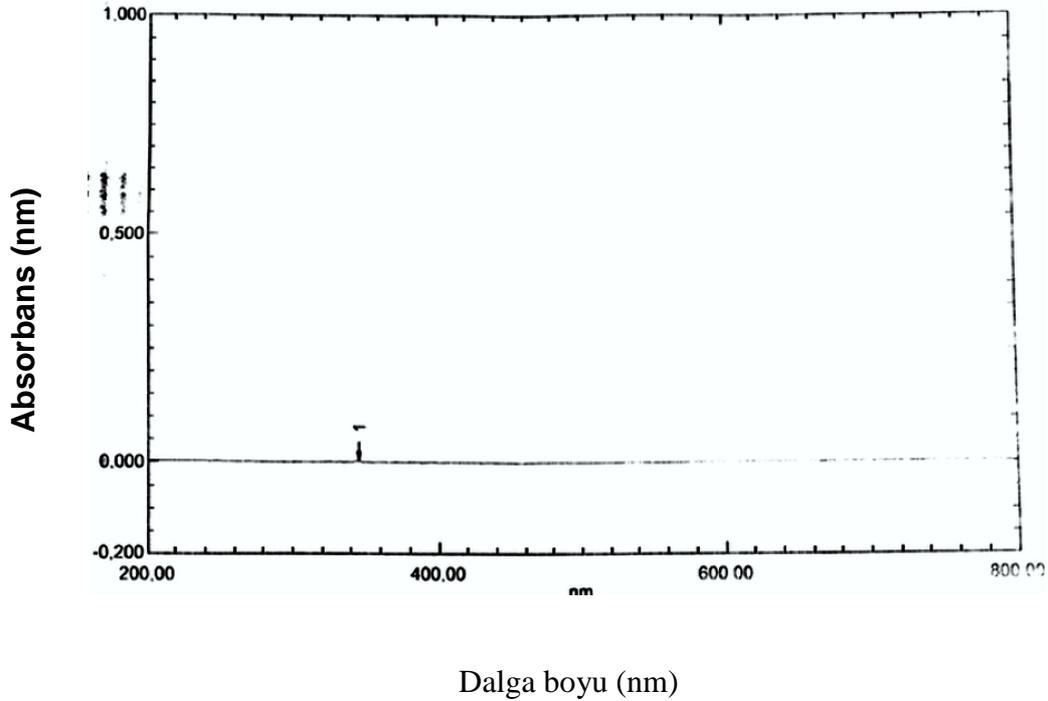
Bölüm 3.2.2’de anlatılan ZHM’nin pH 7.4 fosfat tamponu içerisinde deneyler arası kesinlik sonuçları Çizelge 4.9’da verilmektedir.

Çizelge 4.9. ZHM'nin pH 7.4 fosfat tamponu içerisinde deneyler arası kesinlik sonuçları

| Konsantrasyon (µg/mL) | 1. gün | 2. gün | 3. gün | Ortalama | SS   | BS   |
|-----------------------|--------|--------|--------|----------|------|------|
| 5                     | 4,91   | 4,82   | 4,78   | 4,83     | 0,07 | 1,4  |
| 8                     | 8,01   | 7,89   | 7,75   | 7,88     | 0,13 | 1,65 |
| 10                    | 9,63   | 9,76   | 9,82   | 9,74     | 0,10 | 0,10 |
| 12                    | 12,2   | 11,9   | 11,84  | 11,98    | 0,19 | 1,61 |
| 16                    | 15,94  | 15,85  | 15,72  | 15,83    | 0,11 | 0,70 |
| 18                    | 17,6   | 17,82  | 17,81  | 17,74    | 0,12 | 0,70 |
| 20                    | 19,53  | 19,95  | 19,71  | 19,73    | 0,21 | 1,07 |
| 25                    | 24,4   | 25,23  | 25,6   | 25,07    | 0,61 | 2,45 |
| 30                    | 29,7   | 30,84  | 29,64  | 30,06    | 0,68 | 2,25 |
| 40                    | 39,24  | 39,11  | 38,9   | 39,08    | 0,17 | 0,44 |
| 50                    | 49,82  | 49,79  | 49,23  | 49,61    | 0,33 | 0,67 |

### Özgünlük ve seçicilik

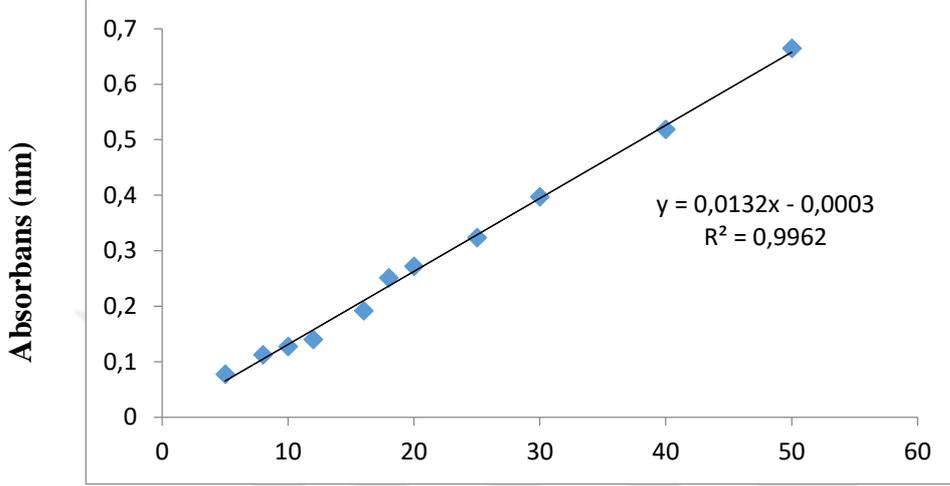
Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı üzere yöntemin ZHM'ye özgü olduğunu ve seçici özellik gösterdiği Şekil 4.12'de sunulmaktadır.



Şekil 4.12. pH 7.4 fosfat tamponu ortamının UV spektrumu

### Doğrusallık

Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı gibi ZHM'nin kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon parametreleri Şekil 4.13'de sunulmaktadır.



Şekil 4.13. ZHM'nin pH 7.4 fosfat tamponu ortamında kalibrasyon doğrusu

### Duyarlık ve saptama sınırı

Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı gibi ZHM'nin pH 7.4 fosfatm tamponu içerisinde miktar tayini yönteminde duyarlılık sınırı (Limit of Detection – LOD) ve saptama sınırı (Limit of Quantification – LOQ) hesaplama sonuçları sırasıyla 0,5 µg/mL ve 1,515 µg/mL olarak tespit edilmiştir.

### **4.2.5. ZHM'nin FaSSIF içerisinde miktar tayini validasyon bulguları**

#### Doğruluk ve geri elde etme etme

Bölüm 3.2.2.'de anlatılan ZHM'nin FaSSIF içerisindeki doğruluk ve geri elde sonuçları Çizelge 4.10'da verilmektedir.

Çizelge 4.10. ZHM'nin FaSSIF ortamında doğruluk ve geri elde sonuçları

| Çözeltideki ZHM Yüzdesi | Çözeltideki ZHM Konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Bulunan ZHM Miktarı $\pm$ SS | %BS  | % Geri Elde |
|-------------------------|---|------------------------------|------|-------------|
| %80                     | 10  | 9,94 $\pm$ 0,00              | 2,41 | 99,38       |
| %100                    | 12,5  | 12,71 $\pm$ 0,00             | 1,25 | 101,73      |
| %120                    | 15  | 14,93 $\pm$ 0,00             | 1,63 | 99,59       |

**Kesinlik***Deney İçi Kesinlik*

Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı gibi ZHM'nin FaSSIF içerisindeki deney içi kesinlik sonuçları Çizelge 4.11'de verilmektedir.

Çizelge 4.11. ZHM'nin FaSSIF ortamında deney içi kesinlik sonuçları

| Örnek No        | ZHM konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Bulunan ZHM konsantrasyonu( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|-----------------|---|--|
| 1               | 10                                      | 9,71   |
| 2               | 10                                      | 10,21  |
| 3               | 10                                      | 9,88   |
| 4               | 10                                      | 10,05  |
| 5               | 10                                      | 9,71   |
| 6               | 10                                      | 10,38  |
| 7               | 10                                      | 10,05  |
| 8               | 10                                      | 10,21  |
| 9               | 10                                      | 9,88   |
| 10              | 10                                      | 9,71   |
| <b>Ortalama</b> | 9,98                                    |  |
| <b>SS</b>       | 0,24                                    |  |
| <b>%BS</b>      | 2,39                                    |  |

*Deneyler arası kesinlik*

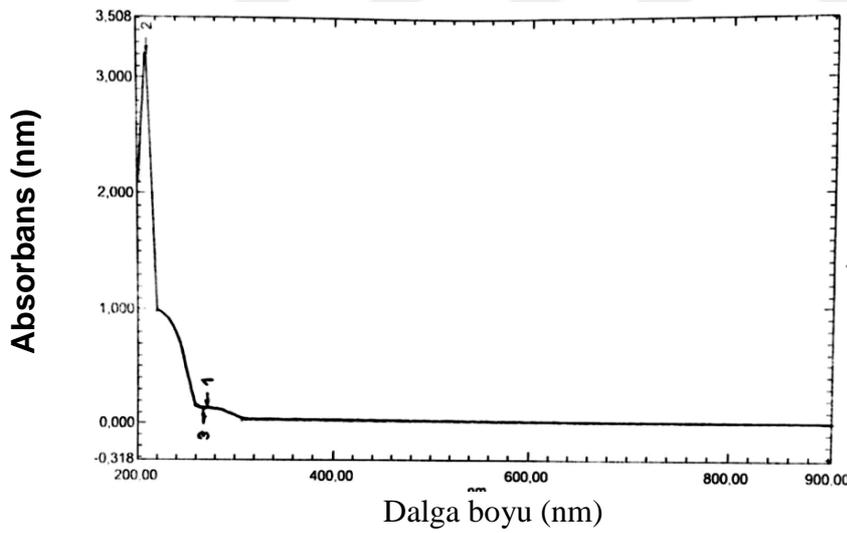
Bölüm 3.2.2'de açıklandığı gibi ZHM'nin FaSSIF ortamında deneyler arası kesinlik sonuçları Çizelge 4.12'de verilmektedir.

Çizelge 4.12. ZHM'nin FaSSIF ortamında deneyler arası kesinlik sonuçları

| Konsantrasyonun (µg/mL) | 1. gün | 2. gün | 3. gün | Ortalama | SS   | BS   |
|-------------------------|--------|--------|--------|----------|------|------|
| 5                       | 5,05   | 4,88   | 4,88   | 4,93     | 0,08 | 1,59 |
| 7,5                     | 7,05   | 7,05   | 7,21   | 7,10     | 0,08 | 1,11 |
| 10                      | 10,05  | 9,88   | 10,21  | 10,05    | 0,14 | 1,35 |
| 12,5                    | 13,05  | 12,88  | 13,05  | 12,99    | 0,08 | 0,60 |
| 15                      | 16,05  | 16,38  | 15,71  | 16,05    | 0,27 | 1,70 |
| 20                      | 20,21  | 19,21  | 19,88  | 19,77    | 0,42 | 2,10 |
| 25                      | 23,71  | 23,21  | 23,55  | 23,49    | 0,21 | 0,88 |
| 30                      | 28,05  | 27,55  | 28,21  | 27,93    | 0,28 | 1,01 |
| 50                      | 47,71  | 49,55  | 49,71  | 48,99    | 0,90 | 1,85 |

### Özgünlük ve seçicilik

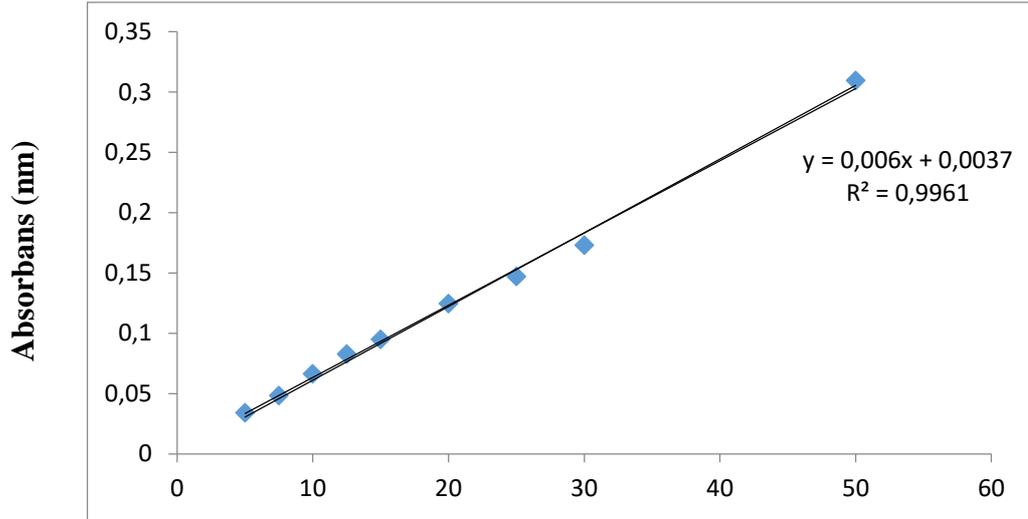
Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı üzere yöntemin ZHM'ye özgü olduğunu ve seçici özellik gösterdiği Şekil 4.14'de sunulmuştur.



Şekil 4.14. ZHM'nin FaSSIF ortamında deneyler arası kesinlik sonuçları

### Doğrusallık

Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı gibi ZHM'nin kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon parametreleri Şekil 4.15'de sunulmuştur.



Şekil 4.15. ZHM'nin FaSSIF ortamında kalibrasyon doğrusu

#### Duyarlık ve saptama sınırı

Bölüm 3.2.2'de açıklandığı gibi ZHM'nin FaSSIF ortamındaki miktar tayini yönteminde duyarlılık sınırı (Limit of Detection – LOD) ve saptama sınırı (Limit of Quantification – LOQ) hesaplama sonuçları sırasıyla 0,55 µg/mL ve 1,66 µg/mL olarak tespit edilmiştir.

#### **4.2.6. ZHM'nin FeSSIF ortamında miktar tayini validasyon bulguları**

##### Doğruluk ve geri elde etme

Bölüm 3.2.2'de açıklandığı gibi ZHM'nin FeSSIF ortamındaki doğruluk ve geri elde sonuçları Çizelge 4.13'de verilmektedir.

Çizelge 4.13. ZHM'nin FeSSIF ortamındaki doğruluk ve geri elde sonuçları

| Çözeltideki ZHM yüzdesi | Çözeltideki ZHM konsantrasyonu (µg/mL) | Bulunan ZHM miktarı ± SS | %BS  | % Geri elde |
|-------------------------|--|--------------------------|------|-------------|
| %80                     | 10                                     | 9,83 ± 0,0               | 1,5  | 98,3        |
| %100                    | 12,5                                   | 12,28 ± 0,01             | 0,95 | 98,24       |
| %120                    | 15                                     | 14,65 ± 0,01             | 0,53 | 97,66       |

Kesinlik*Deney İçi Kesinlik*

Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı gibi ZHM'nin FeSSIF ortamındaki deney içi kesinlik sonuçları Çizelge 4.14'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.14. ZHM'nin FeSSIF ortamındaki deney içi kesinlik sonuçları

| Örnek No        | ZHM çözeltilisinin konsantrasyonu (µg/mL) | Bulunan ZHM konsantrasyonu (µg/mL) |
|-----------------|---|------------------------------------|
| 1               | 10  | 9,48                               |
| 2               | 10  | 9,31                               |
| 3               | 10  | 9,48                               |
| 4               | 10  | 9,72                               |
| 5               | 10  | 9,72                               |
| 6               | 10  | 9,80                               |
| 7               | 10  | 9,97                               |
| 8               | 10  | 9,56                               |
| 9               | 10  | 9,39                               |
| 10              | 10  | 9,56                               |
| <b>Ortalama</b> | 9,603                                     |                                    |
| <b>SS</b>       | 0,203                                     |                                    |
| <b>%BS</b>      | 2,117                                     |                                    |

*Deneyler Arası Kesinlik*

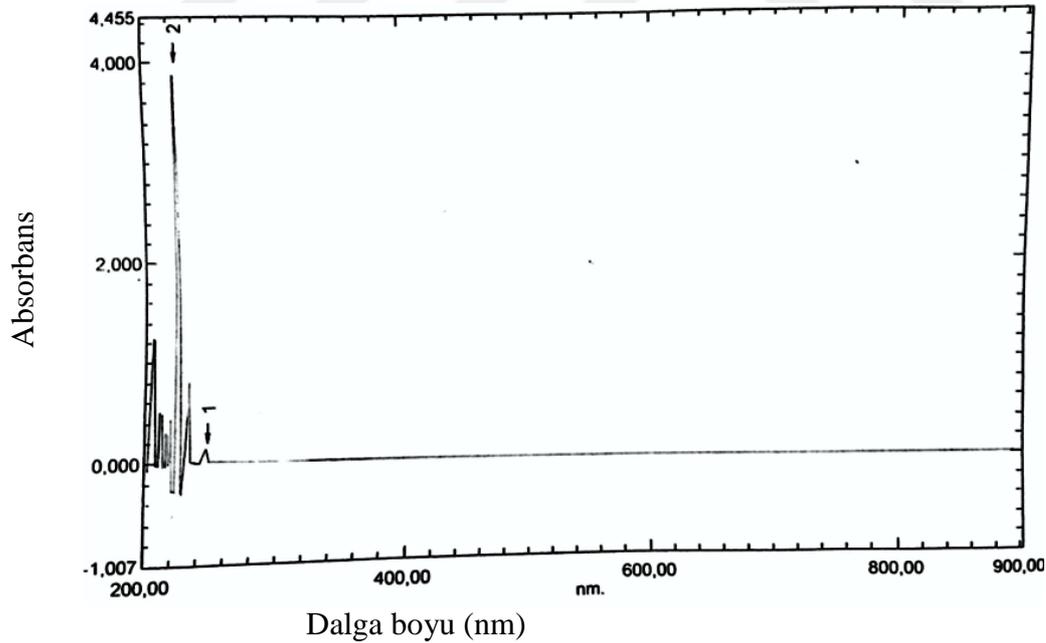
Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı gibi ZHM'nin FeSSIF ortamındaki deneyler arası kesinlik sonuçları Çizelge 4.15'de verilmektedir.

Çizelge 4.15. ZHM'nin FeSSIF ortamındaki deneyler arası kesinlik sonuçları

| Konsantrasyon (µg/mL) | 1. gün | 2. gün | 3. gün | Ortalama | SS   | BS   |
|-----------------------|--------|--------|--------|----------|------|------|
| 5                     | 5,05   | 4,88   | 4,88   | 4,93     | 0,08 | 1,59 |
| 7,5                   | 7,05   | 7,05   | 7,21   | 7,10     | 0,08 | 1,11 |
| 10                    | 10,05  | 9,88   | 10,21  | 10,05    | 0,14 | 1,35 |
| 12,5                  | 13,05  | 12,88  | 13,05  | 12,99    | 0,08 | 0,60 |
| 15                    | 16,05  | 16,38  | 15,71  | 16,05    | 0,27 | 1,69 |
| 20                    | 20,21  | 19,21  | 19,88  | 19,77    | 0,42 | 2,10 |
| 25                    | 23,71  | 23,21  | 23,55  | 23,49    | 0,21 | 0,88 |
| 30                    | 28,05  | 27,55  | 28,21  | 27,93    | 0,28 | 1,01 |
| 50                    | 49,82  | 49,55  | 49,71  | 49,69    | 0,90 | 1,85 |

### Özgünlük ve seçicilik

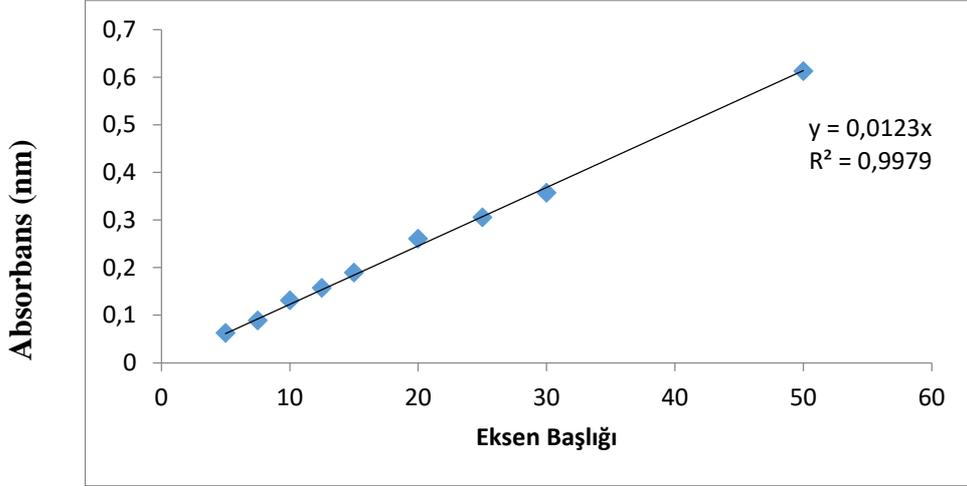
Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı gibi yöntemin ZHM'ye özgü olduğunu ve seçici özellik gösterdiği Şekil 4.16'de görülmektedir.



Şekil 4.16. Kör FeSSIF ortamının UV spektrumu

### Doğrusallık

Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı gibi ZHM'nin kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon parametreleri Şekil 4.17'de sunulmaktadır.



Şekil 4.17. ZHM'nin FeSSIF ortamında kalibrasyon doğrusu

#### Duyarlık ve saptama sınırı

Bölüm 3.2.2'de açıklandığı gibi ZHM'nin FeSSIF ortamında miktar tayini yönteminde duyarlılık sınırı (Limit of Detection – LOD) ve saptama sınırı (Limit of Quantification – LOQ) hesaplama sonuçları sırasıyla 0,545  $\mu\text{g/mL}$  ve 1,65  $\mu\text{g/mL}$  olarak tespit edilmiştir.

#### **4.2.7. ZHM'nin HBSS içerisinde miktar tayini validasyon bulguları**

##### Doğruluk ve geri elde

Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı üzere ZHM'nin HBSS ortam ortamındaki doğruluk ve geri elde sonuçları Çizelge 4.16'da verilmektedir.

Çizelge 4.16. ZHM'nin HBSS ortamındaki doğruluk ve geri elde sonuçları

| Konsantrasyon (µg/mL) | Yüzde (%) Değer | Ölçüm sonucu (µg/mL) | % Ölçüm | Ortalama | SS   | BS   |
|-----------------------|-----------------|----------------------|---------|----------|------|------|
| 8                     | 80              | 7,811                | 97,64   | 98,29    | 0,57 | 0,58 |
|                       |                 | 7,897                | 98,72   |          |      |      |
|                       |                 | 7,880                | 98,50   |          |      |      |
| 10                    | 100             | 10,159               | 101,59  | 102,33   | 0,82 | 0,80 |
|                       |                 | 10,22                | 102,2   |          |      |      |
|                       |                 | 10,322               | 103,22  |          |      |      |
| 12                    | 120             | 12,182               | 101,51  | 100,98   | 1,20 | 1,19 |
|                       |                 | 11,952               | 99,6    |          |      |      |
|                       |                 | 12,218               | 101,81  |          |      |      |

**Kesinlik***Deney İçi Kesinlik*

Bölüm 3.2.2'de açıklandığı gibi ZHM'nin HBSS ortamındaki deney içi kesinlik sonuçları Çizelge 4.17'de verilmektedir.

Çizelge 4.17. ZHM'nin HBSS ortamındaki deney içi kesinlik sonuçları

| Örnek No        | ZHM çözeltilisinin konsantrasyonu (µg/mL) | Bulunan ZHM konsantrasyonu (µg/mL) |
|-----------------|---|------------------------------------|
| 1               | 10  | 10,381                             |
| 2               | 10  | 10,398                             |
| 3               | 10  | 10,398                             |
| 4               | 10  | 10,402                             |
| 5               | 10  | 10,406                             |
| 6               | 10  | 10,404                             |
| 7               | 10  | 10,410                             |
| 8               | 10  | 10,361                             |
| 9               | 10  | 10,360                             |
| 10              | 10  | 10,374                             |
| <b>Ortalama</b> | 10,390                                    |                                    |
| <b>SS</b>       | 0,018                                     |                                    |
| <b>%BS</b>      | 0,180                                     |                                    |

Deneyler arası kesinlik

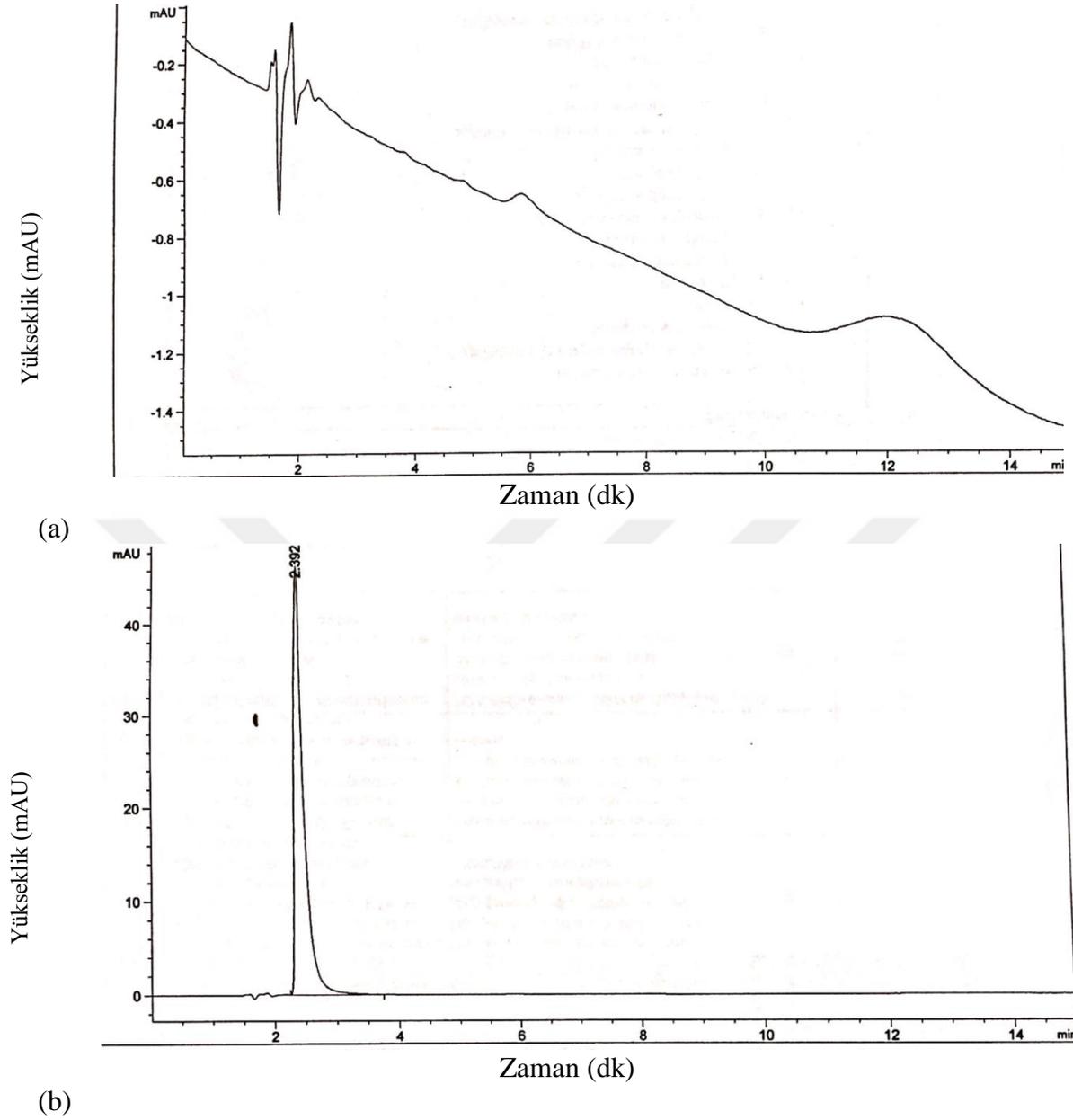
Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı gibi ZHM'nin HBSS ortamındaki deneyler arası kesinlik sonuçları Çizelge 4.18'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.18. ZHM'nin HBSS ortamındaki deneyler arası kesinlik sonuçları

| <b>Konsantrasyon (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b> | <b>Ölçüm No</b> | <b>1. Gün</b> | <b>2. Gün</b> | <b>3. Gün</b> |
|--|-----------------|---------------|---------------|---------------|
| <b>8</b>   | 1               | 7,793         | 7,811         | 8,545         |
|  | 2               | 8,002         | 7,880         | 8,439         |
|  | 3               | 8,01          | 7,659         | 7,247         |
|  | <b>Ortalama</b> | 7,935         | 7,783         | 8,077         |
|  | <b>SS</b>       | 0,123         | 0,113         | 0,720         |
|  | <b>BS</b>       | 1,550         | 1,454         | 8,925         |
| <b>10</b>  | 1               | 10,181        | 10,543        | 9,040         |
|  | 2               | 10,154        | 10,159        | 8,974         |
|  | 3               | 10,543        | 10,220        | 9,186         |
|  | <b>Ortalama</b> | 10,293        | 10,308        | 9,067         |
|  | <b>SS</b>       | 0,217         | 0,206         | 0,108         |
|  | <b>BS</b>       | 2,107         | 2,002         | 1,198         |
| <b>12</b>  | 1               | 12,253        | 12,182        | 12,464        |
|  | 2               | 11,955        | 11,952        | 11,798        |
|  | 3               | 12,464        | 12,218        | 11,894        |
|  | <b>Ortalama</b> | 12,224        | 12,117        | 12,052        |
|  | <b>SS</b>       | 0,255         | 0,144         | 0,360         |
|  | <b>BS</b>       | 2,090         | 1,192         | 2,986         |

Özgünlük ve seçicilik

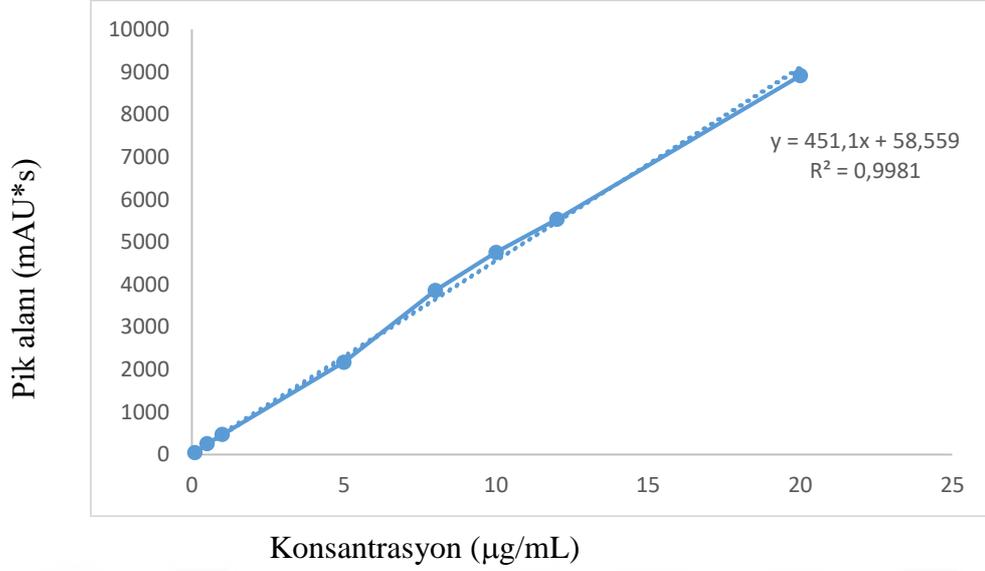
Bölüm 3.2.2.'de açıklandığı gibi yöntemin ZHM'ye özgü ve seçici özellik gösterdiği Şekil 4.18'de gösterilmiştir.



Şekil 4.18. a- HBSS ortamının kromatogramı, b- 1 µg/mL konsantrasyonda ZHM içeren HBSS ortamındaki HPLC kromatogramı

### Doğrusallık

Bölüm 3.2.2’de açıklandığı gibi ZHM’nin HBSS ortam içerisindeki kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon parametreleri Şekil 4.19’da sunulmaktadır.



Şekil 4.19. ZHM'nin HBSS ortamındaki kalibrasyon doğrusu

#### Stabilite

Bölüm 3.2.2.'de anlatıldığı gibi ZHM'nin HBSS ortam içerisinde kimyasal stabilitesi Çizelge 4.19'da verilmektedir.

Çizelge 4.19. ZHM'nin HBSS ortamındaki 72 saatlik stabilite test sonuçları

| Zaman (saat)                         | 0     | 6     | 12    | 24    | 36    | 72    |
|--------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>Konsantrasyon<br/>( 8 µg/mL)</b>  | 8,49  | 8,48  | 8,45  | 8,43  | 8,30  | 8,27  |
| <b>Konsantrasyon<br/>( 10 µg/mL)</b> | 10,54 | 10,34 | 10,25 | 10,14 | 10,13 | 10,06 |
| <b>Konsantrasyon<br/>( 12 µg/mL)</b> | 12,13 | 12,11 | 11,95 | 11,73 | 11,59 | 11,55 |

#### Duyarlık ve saptama sınırı

Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı gibi ZHM'nin HBSS ortamında miktar tayini yönteminde duyarlılık sınırı (Limit of Detection – LOD) ve saptama sınırı (Limit of Quantification – LOQ) hesaplama sonuçları sırasıyla 0,0076 µg/mL ve 0,023 µg/mL olarak tespit edildi.

### 4.3. Nanokristallerin Hazırlanması

#### 4.3.1. ZHM partikül büyüklüğünün ultraturaks ile küçültülmesi

ZHM kaba süspansiyonları %0.5 a/a konsantrasyonunda distile su içerisinde disperse edildi ve ultraturaks ile farklı hızlarda (rpm) ve farklı sürelerde ZHM'nin partikül boyutunun küçültülmesi hedeflendi. Elde edilen bulgularda ZHM partiküllerinin ortalama  $12\mu\text{m}$ 'ye kadar indiği görüldü. Çizelge 4.20'de farklı karıştırma hızlarında ve farklı karıştırma sürelerindeki partikül büyüklükleri görülmektedir. Karıştırma süresinin artırılması belirli bir değere kadar partiküllerin küçülmesini sağlamasına rağmen daha sonra yeniden topaklaşmaya yol açtığı tespit edildi.

Elde edilen sonuçlarda yüksek basınç homojenizasyon öncesinde homojenizatörün küçük çaplı deliğinin tıkanmaması için ön karıştırma ve partikül büyüklüğünün küçültme işleminin ultraturaks ile yapılabileceği ve 15.000 rpm de 10 dakikanın yeterli olduğu saptandı.

Çizelge 4.20. ZHM partiküllerinin ultraturaks ile farklı hız ve zamanlarda küçültülmesi

| Devir hızı (rpm) | Zaman (dk) | Başlangıç partikül büyüklüğü ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) | Ortalama partikül büyüklüğü (n $\geq$ 5) $\pm$ SS |
|------------------|------------|--|---|
| 5000             | 5          | $26,95 \pm 1,95$                                     | $22,6 \pm 1,9$                                    |
|                  | 10         |  | $18,9 \pm 1,8$                                    |
|                  | 15         |  | $18,1 \pm 0,2$                                    |
|                  | 20         |  | $14,0 \pm 0,7$                                    |
| 10000            | 5          | $28,95 \pm 1,47$                                     | $21,1 \pm 1,7$                                    |
|                  | 10         |  | $11,9 \pm 0,1$                                    |
|                  | 15         |  | $13,6 \pm 0,3$                                    |
|                  | 20         |  | $12,7 \pm 0,2$                                    |
| 15000            | 5          | $32,34 \pm 1,23$                                     | $17,4 \pm 0,8$                                    |
|                  | 10         |  | $12,23 \pm 0,47$                                  |
|                  | 15         |  | $12,52 \pm 0,52$                                  |
|                  | 20         |  | $11,65 \pm 0,76$                                  |

#### 4.3.2. Stabilizan kullanılmadan ZHM nanosüspansiyonlarının hazırlanması

İlk olarak kaba ZHM partikülleri distile suda disperse edildi ve ardından ultraturaks ile ön karıştırma işlemi yapıldı. Stabilizan içermeyen bu ZHM süspansiyonları Microfluidics LV1'e konuldu. Farklı geçiş sayılarında elde edilen sonuçlar Çizelge 4.21'de verilmektedir. ZHM partiküllerinin distile suda topaklaşmasından dolayı başlangıç partikül büyüklüğü

yüksek bulundu. Microfluidics LV1 ile 1 geçiş sonrasında dahi partikül boyutunun küçüldüğü gözlemlendi.

ZHM partikülleri stabilizan içermeyen ortamda 10 geçiş sonrasında 1000 nm'nin altında elde edildi. 5 geçiş ise, istenilen boyutlarda nanosüspansiyon elde edilmesinde yetersiz kaldı. Elde edilen nanosüspansiyonların partikül büyüklüğü dağılımı 0,4-0,9 arasında vezeta potansiyeli 20 mV'un üzerinde bulundu. Tüm geçiş sayılarında elde edilen nanosüspansiyonlarda 1 hafta içerisinde partikül büyümesi görüldü. Sıcaklığın da partiküllerin stabilitesini sağlamasında etkili bir parametre olmadığı görüldü.

Formülasyonlarda bir çok topağın oluşması ve partikül büyüklüğünün artması nedeniyle ölçüm sonuçları 1 haftadan sonra alınamadı.

Çizelge 4.21. Stabilizan içermeyen ortamda ZHM'nin partikül büyüklüğünün küçültülmesi ve kısa süreli fiziksel stabilitesi

| Başlangıç PB<br>( $\mu\text{m}$ )(n=6) $\pm$ SS   | Devir hızı<br>(rpm)           | Zaman<br>(dk)                 | Ort. PB<br>( $\mu\text{m}$ )(n=6) $\pm$ SS | 1 geçiş* sonrası<br>Ort.PB<br>( $\mu\text{m}$ )(n=6) $\pm$ SS |
|---|-------------------------------|-------------------------------|--|---|
| 26,93 $\pm$ 1,96  | 15000                         | 10                            | 13,44 $\pm$ 1,47                           | 5,818 $\pm$ 0,291   |
| 30000 PSI Basınç (Ortalama Partikül Büyüklüğü (nm), Partikül Büyüklüğü Dağılımı ve Zeta Potansiyel) (n $\geq$ 3) $\pm$ SS |                               |                               |  |   |
|   | <b>5 Geçiş</b>                | <b>10 Geçiş</b>               | <b>20 Geçiş</b>                            | <b>30 Geçiş</b>   |
| Partikül büyüklüğü (nm)   | 1289,666<br>$\pm$ 90,423      | 1125,133<br>$\pm$ 73,228      | 969,833<br>$\pm$ 25,731                    | 824,01<br>$\pm$ 9,48  |
| P. B dağılımı (PDI)   | 0,923<br>$\pm$ 0,085          | 0,432<br>$\pm$ 0,125          | 0,542<br>$\pm$ 0,102                       | 0,481<br>$\pm$ 0,076  |
| Zeta potansiyel (mV)  | 16,09<br>$\pm$ 1,10           | 19,8<br>$\pm$ 0,8             | 15,87<br>$\pm$ 1,04                        | 12,95<br>$\pm$ 0,52   |
|   | <b>1 gün sonra<br/>25°C</b>   | <b>1 gün sonra<br/>25°C</b>   | <b>1 gün sonra<br/>25°C</b>                | <b>1 gün sonra<br/>4°C</b>                                    |
| Partikül büyüklüğü (nm)   | 1701<br>$\pm$ 134,0           | 1323<br>$\pm$ 67              | 1082,666<br>$\pm$ 19,139                   | 918,633<br>$\pm$ 23,613                                       |
| P. B dağılımı (PDI)   | -                             | 0,735<br>$\pm$ 0,025          | 0,945<br>$\pm$ 0,086                       | 0,764<br>$\pm$ 0,032  |
| Zeta potansiyel (mV)  | -                             | 3,59<br>$\pm$ 1,87            | 0,327<br>$\pm$ 9,940                       | 0,428<br>$\pm$ 14,920   |
|   | <b>1 hafta sonra<br/>25°C</b> | <b>1 hafta sonra<br/>25°C</b> | <b>1 hafta sonra<br/>25°C</b>              | <b>1 hafta sonra<br/>4°C</b>                                  |
| Partikül büyüklüğü (nm)   | -                             | 5486<br>$\pm$ 86              | 7371<br>$\pm$ 128,0                        | 6198,33<br>$\pm$ 16,50  |
| P. B dağılımı (PDI)   | -                             | -                             | -  | -   |
| Zeta potansiyel (mV)  | -                             | -                             | -  | -   |
|   | <b>1 ay sonra<br/>25°C</b>    | <b>1 ay sonra<br/>25°C</b>    | <b>1 ay sonra<br/>25°C</b>                 | <b>1 ay sonra<br/>4°C</b>                                     |
| Partikül büyüklüğü (nm)   | -                             | -                             | -  | -   |
| P. B dağılımı (PDI)   | -                             | -                             | -  | -   |
| Zeta potansiyel (mV)  | -                             | -                             | -  | -   |

\*Geçiş sayısı, Microfluidics LV1'de süspansiyonun işlem görme sayısıdır yani homojenizasyon döngüsüdür.

### 4.3.3. Yüzey etkin maddelerin stabilizan olarak kullanıldığı nanokristaller

Yüzey etkin maddeler hidrofobik maddelerin yüzey alanlarını genişleterek ve yüzey gerilimini düşürerek ıslanabilirliğini artırır. Partiküllerin etrafındaki elektriksel çifte tabakanın gücünü artırarak elektriksel stabilizasyonu sağlamaktadırlar. Bu sayede ZHM nanokristallerinin eldesinde partiküllerin ıslanmasını arttırarak topaklanmalarını azalmak ve elektriksel stabilizasyonunu sağlamak için yüzey etkin maddeler kullanıldı. Bu amaçla seçilen yüzey etkin maddeler Tween 80, Poloksamer 188 ve Vitamin E TPGS'dir.

#### Tween 80 içeren ZHM nanokristallerin karakterizasyonu ve kısa süreli stabilite sonuçları

Çizelge 4.22-26'da, ZHM nanokristallerinin Tween 80 ile hazırlandığında elde edilen partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı, zeta potansiyel ve kısa süreli stabilite sonuçlarını göstermektedir.

Çizelge 4.22. ZHM: Tween 80 1:2 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa fiziksel süreli stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)      | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|-----------------------|-------------------|--|--|
| 22,37 $\pm$ 4,25                              | 15000                 | 10                | 9,24 $\pm$ 1,37                          | 3,193 $\pm$ 2,890  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 853,03 $\pm$ 6,90     | 0,5 $\pm$ 0,1     | 34,53 $\pm$ 0,35                         |  |
| 10  | 532,6 $\pm$ 22,1      | 0,443 $\pm$ 0,038 | 35,26 $\pm$ 0,99                         |  |
| 20  | 486,733 $\pm$ 16,016  | 0,205 $\pm$ 0,025 | 35,86 $\pm$ 0,35                         |  |
| 30  | 461,66 $\pm$ 8,91     | 0,32 $\pm$ 0,01   | 33,16 $\pm$ 0,38                         |  |
| <b>1 gün sonra (25 °C)</b>                    |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 855,166 $\pm$ 69,024  | 0,389 $\pm$ 1,290 | -8,266 $\pm$ 0,526                       |  |
| 10  | 715,6 $\pm$ 56,1      | 0,342 $\pm$ 0,021 | - 7,886 $\pm$ 0,342                      |  |
| 20  | 640,83 $\pm$ 38,27    | 0,404 $\pm$ 0,019 | -9,05 $\pm$ 0,137                        |  |
| 30  | 424,76 $\pm$ 14,36    | 0,193 $\pm$ 0,062 | -8,46 $\pm$ 0,241                        |  |
| <b>1 gün sonra (4 °C)</b>                     |                       |                   |  |  |
| 30  | 440,1 $\pm$ 22,4      | 0,273 $\pm$ 0,029 | -11,8 $\pm$ 0,7                          |  |
| <b>1 hafta sonra (25 °C)</b>                  |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1244,667 $\pm$ 51,694 | 0,293 $\pm$ 0,031 | -12,43 $\pm$ 1,56                        |  |
| 10  | 859,66 $\pm$ 0,06     | 0,267 $\pm$ 0,059 | -49,56 $\pm$ 66,19                       |  |
| 20  | 659,66 $\pm$ 41,54    | 0,210 $\pm$ 0,026 | -11,133 $\pm$ 0,503                      |  |
| 30  | 588,3 $\pm$ 27,04     | 0,252 $\pm$ 0,027 | -12,86 $\pm$ 0,67                        |  |
| <b>1 hafta sonra (4 °C)</b>                   |                       |                   |  |  |
| 30  | 449,5 $\pm$ 9,3       | 0,23 $\pm$ 0,03   | -12,433 $\pm$ 0,451                      |  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 2011,33 $\pm$ 84,10   | 0,332 $\pm$ 0,013 | 11,33 $\pm$ 1,55                         |  |
| 10  | 691,133 $\pm$ 9,763   | 0,374 $\pm$ 0,068 | 16,36 $\pm$ 0,68                         |  |
| 20  | 749,9 $\pm$ 60,0      | 0,471 $\pm$ 0,066 | 16,033 $\pm$ 0,0557                      |  |
| 30  | 657,7 $\pm$ 13,9      | 0,386 $\pm$ 0,042 | 17,033 $\pm$ 0,862                       |  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                       |                   |  |  |
| 30  | 734,4 $\pm$ 26,6      | 0,48 $\pm$ 0,03   | 25,633 $\pm$ 0,750                       |  |

Çizelge 4.23. ZHM: Tween 80 1:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)      | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|-----------------------|-------------------|--|--|
| 20,293 $\pm$ 2,856                            | 15000                 | 10                | 11,02 $\pm$ 3,11                         | 3,370 $\pm$ 0,458  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1057,67 $\pm$ 8,08    | 0,344 $\pm$ 0,010 | 31,066 $\pm$ 1,159                       |  |
| 10  | 753,83 $\pm$ 40,68    | 0,423 $\pm$ 0,038 | 32,1 $\pm$ 0,5                           |  |
| 20  | 587,1 $\pm$ 69,1      | 0,357 $\pm$ 0,031 | 31,93 $\pm$ 1,36                         |  |
| 30  | 525,76 $\pm$ 26,53    | 0,342 $\pm$ 0,045 | 31,23 $\pm$ 1,23                         |  |
| <b>1 gün sonra (25 °C)</b>                    |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 720,1 $\pm$ 29,1      | 0,392 $\pm$ 0,038 | 34,433 $\pm$ 1,345                       |  |
| 10  | 830,2 $\pm$ 68,8      | 0,431 $\pm$ 0,002 | 33,73 $\pm$ 1,32                         |  |
| 20  | 564,06 $\pm$ 15,69    | 0,364 $\pm$ 0,094 | 31,2 $\pm$ 0,6                           |  |
| 30  | 506,166 $\pm$ 130,184 | 0,367 $\pm$ 0,051 | 31,9 $\pm$ 1,1                           |  |
| <b>1 gün sonra (4 °C)</b>                     |                       |                   |  |  |
| 30  | 575,1 $\pm$ 47,5      | 0,526 $\pm$ 0,021 | 31,23 $\pm$ 0,49                         |  |
| <b>1 hafta sonra (25 °C)</b>                  |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 997,033 $\pm$ 30,730  | 0,532 $\pm$ 0,032 | 14,5 $\pm$ 1,34                          |  |
| 10  | 1004,56 $\pm$ 0,05    | 0,602 $\pm$ 0,651 | 24,26 $\pm$ 0,602                        |  |
| 20  | 812,86 $\pm$ 43,11    | 0,364 $\pm$ 0,094 | 22,1 $\pm$ 1,1                           |  |
| 30  | 492,133 $\pm$ 10,010  | 0,421 $\pm$ 0,030 | 18,4 $\pm$ 0,9                           |  |
| <b>1 hafta sonra (4 °C)</b>                   |                       |                   |  |  |
| 30  | 887,43 $\pm$ 6,1      | 0,361 $\pm$ 0,036 | 25,33 $\pm$ 0,472                        |  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1038,3 $\pm$ 42,7     | 0,591 $\pm$ 0,010 | 9,57 $\pm$ 0,63                          |  |
| 10  | 959,033 $\pm$ 225,170 | 0,653 $\pm$ 0,050 | 13,2 $\pm$ 0,5                           |  |
| 20  | 943,63 $\pm$ 77,52    | 0,629 $\pm$ 0,060 | 4,22 $\pm$ 0,26                          |  |
| 30  | 866,166 $\pm$ 96,644  | 0,570 $\pm$ 0,058 | 4,73 $\pm$ 0,51                          |  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                       |                   |  |  |
| 30  | 995,06 $\pm$ 26,70    | 0,611 $\pm$ 0,034 | 20,7 $\pm$ 0,916                         |  |

Çizelge 4.24. ZHM: Tween 80 2:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)      | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|-----------------------|-------------------|--|--|
| 20,293 $\pm$ 2,856                            | 15000                 | 10                | 11,02 $\pm$ 3,11                         | 3,370 $\pm$ 0,458  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1143 $\pm$ 90         | 0,303 $\pm$ 0,072 | 30,1 $\pm$ 0,7                           |  |
| 10  | 908,23 $\pm$ 25,90    | 0,406 $\pm$ 0,048 | 37,86 $\pm$ 0,50                         |  |
| 20  | 678,1 $\pm$ 18,1      | 0,256 $\pm$ 0,010 | 40,43 $\pm$ 1,01                         |  |
| 30  | 570,56 $\pm$ 7,67     | 0,266 $\pm$ 0,040 | 37,9 $\pm$ 0,6                           |  |
| <b>1 gün sonra (25 °C)</b>                    |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1181,33 $\pm$ 52,27   | 0,429 $\pm$ 0,075 | 27,43 $\pm$ 2,66                         |  |
| 10  | 1156 $\pm$ 100        | 0,361 $\pm$ 0,106 | 32,96 $\pm$ 2,41                         |  |
| 20  | 965,1 $\pm$ 103,8     | 0,212 $\pm$ 0,104 | 27,43 $\pm$ 1,50                         |  |
| 30  | 823,2 $\pm$ 71,5      | 0,195 $\pm$ 0,057 | 41,76 $\pm$ 0,05                         |  |
| <b>1 gün sonra (4 °C)</b>                     |                       |                   |  |  |
| 30  | 699,33 $\pm$ 58,80    | 0,353 $\pm$ 0,049 | 40,1 $\pm$ 0,4                           |  |
| <b>1 hafta sonra (25 °C)</b>                  |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 2033,33 $\pm$ 2223,19 | 0,647 $\pm$ 0,060 | 13,88 $\pm$ 0,25                         |  |
| 10  | 1382,6 $\pm$ 136,1    | 0,34 $\pm$ 0,04   | 21,33 $\pm$ 1,01                         |  |
| 20  | 1029,07 $\pm$ 105,43  | 0,332 $\pm$ 0,033 | 21,1 $\pm$ 0,3                           |  |
| 30  | 821,6 $\pm$ 15,3      | 0,345 $\pm$ 0,054 | 19,933 $\pm$ 0,152                       |  |
| <b>1 hafta sonra (4 °C)</b>                   |                       |                   |  |  |
| 30  | 687,73 $\pm$ 55,45    | 0,360 $\pm$ 0,062 | 25,37 $\pm$ 0,37                         |  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 2013 $\pm$ 308        | 0,59 $\pm$ 0,01   | 11,53 $\pm$ 1,16                         |  |
| 10  | 1268 $\pm$ 78         | 0,406 $\pm$ 0,027 | 9,32 $\pm$ 1,03                          |  |
| 20  | 1456,3 $\pm$ 58,6     | 0,428 $\pm$ 0,072 | 12,133 $\pm$ 0,750                       |  |
| 30  | 1198,33 $\pm$ 10,01   | 0,570 $\pm$ 0,058 | 17,1 $\pm$ 1,1                           |  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                       |                   |  |  |
| 30  | 818,7 $\pm$ 14,0      | 0,304 $\pm$ 0,046 | 20,1 $\pm$ 0,8                           |  |

Çizelge 4.25. ZHM: Tween 80 4:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 25,386 $\pm$ 3,585                            | 15000                | 10                | 11,753 $\pm$ 1,280                       | 3,763 $\pm$ 0,577  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 881,03 $\pm$ 122,12  | 0,42 $\pm$ 0,03   | 32,56 $\pm$ 1,95                         |  |
| 10  | 758,96 $\pm$ 23,28   | 0,44 $\pm$ 0,01   | 33,33 $\pm$ 0,71                         |  |
| 20  | 704,4 $\pm$ 8,3      | 0,601 $\pm$ 0,020 | 33,26 $\pm$ 0,87                         |  |
| 30  | 540,2 $\pm$ 26,8     | 0,369 $\pm$ 0,065 | 35,43 $\pm$ 1,66                         |  |
| <b>1 gün sonra (25 °C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 869,3 $\pm$ 138,4    | 0,56 $\pm$ 0,08   | 27,46 $\pm$ 1,22                         |  |
| 10  | 831,63 $\pm$ 42,58   | 0,524 $\pm$ 0,027 | 30,33 $\pm$ 0,21                         |  |
| 20  | 794,26 $\pm$ 58,32   | 0,596 $\pm$ 0,060 | 29,66 $\pm$ 0,46                         |  |
| 30  | 618,9 $\pm$ 43,5     | 0,377 $\pm$ 0,020 | 28,53 $\pm$ 0,15                         |  |
| <b>1 gün sonra (4 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| 30  | 458,133 $\pm$ 20,130 | 0,418 $\pm$ 0,037 | 28,66 $\pm$ 0,55                         |  |
| <b>1 hafta sonra (25 °C)</b>                  |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 895 $\pm$ 228        | 0,401 $\pm$ 0,163 | 8,98 $\pm$ 0,58                          |  |
| 10  | 1013,3 $\pm$ 21,4    | 0,445 $\pm$ 0,003 | 17,66 $\pm$ 0,35                         |  |
| 20  | 862,26 $\pm$ 52,94   | 0,639 $\pm$ 0,068 | 11,96 $\pm$ 0,31                         |  |
| 30  | 627,26 $\pm$ 69,06   | 0,293 $\pm$ 0,038 | 19,46 $\pm$ 0,67                         |  |
| <b>1 hafta sonra (4 °C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| 30  | 609,9 $\pm$ 26,0     | 0,496 $\pm$ 0,049 | 18,9 $\pm$ 0,257                         |  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1874 $\pm$ 163       | 0,715 $\pm$ 0,096 | -7,18 $\pm$ 1,14                         |  |
| 10  | 1127 $\pm$ 83        | 0,806 $\pm$ 0,058 | -3,74 $\pm$ 1,51                         |  |
| 20  | 1240,83 $\pm$ 140,06 | 0,559 $\pm$ 0,305 | 6,98 $\pm$ 0,46                          |  |
| 30  | 1531,6 $\pm$ 224,9   | 1 $\pm$ 0         | 15,73 $\pm$ 1,69                         |  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 818,7 $\pm$ 14,1     | 0,623 $\pm$ 0,048 | 16,53 $\pm$ 2,38                         |  |

Çizelge 4.26. ZHM: Tween 80 8:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 24,86 $\pm$ 9,32                              | 15000                | 10                | 11,923 $\pm$ 0,613                       | 3,750 $\pm$ 0,624  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 813,63 $\pm$ 34,61   | 0,631 $\pm$ 0,109 | 26,86 $\pm$ 0,95                         |  |
| 10  | 738,53 $\pm$ 72,63   | 0,286 $\pm$ 0,061 | 29,1 $\pm$ 0,92                          |  |
| 20  | 536,1 $\pm$ 25,4     | 0,434 $\pm$ 0,018 | 38,96 $\pm$ 2,20                         |  |
| 30  | 614,3 $\pm$ 29,3     | 0,386 $\pm$ 0,062 | 35,73 $\pm$ 2,83                         |  |
| <b>1 gün sonra (25 °C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 922,76 $\pm$ 29,92   | 0,887 $\pm$ 0,086 | 22,06 $\pm$ 1,25                         |  |
| 10  | 910,7 $\pm$ 55,3     | 0,487 $\pm$ 0,082 | 29,1 $\pm$ 0,9                           |  |
| 20  | 949,43 $\pm$ 57,53   | 0,497 $\pm$ 0,021 | 26,66 $\pm$ 1,36                         |  |
| 30  | 783,2 $\pm$ 28,5     | 0,664 $\pm$ 0,082 | 32,3 $\pm$ 0,8                           |  |
| <b>1 gün sonra (4 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| 30  | 789,26 $\pm$ 72,03   | 0,302 $\pm$ 0,143 | 25,86 $\pm$ 0,76                         |  |
| <b>1 hafta sonra (25 °C)</b>                  |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1829 $\pm$ 106       | 0,897 $\pm$ 0,056 | 17,16 $\pm$ 0,65                         |  |
| 10  | 1139,66 $\pm$ 66,03  | 0,761 $\pm$ 0,064 | 23,6 $\pm$ 2,7                           |  |
| 20  | 862,26 $\pm$ 52,94   | 0,669 $\pm$ 0,035 | 24,633 $\pm$ 1,069                       |  |
| 30  | 790,9 $\pm$ 78,5     | 0,562 $\pm$ 0,033 | 32,73 $\pm$ 3,04                         |  |
| <b>1 hafta sonra (4 °C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| 30  | 1012,7 $\pm$ 45,5    | 0,582 $\pm$ 0,105 | 34,83 $\pm$ 2,62                         |  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1760,66 $\pm$ 62,78  | 0,464 $\pm$ 0,278 | -4,17 $\pm$ 0,72                         |  |
| 10  | 1226,33 $\pm$ 133,09 | 0,678 $\pm$ 0,037 | -6,54 $\pm$ 0,31                         |  |
| 20  | 1192 $\pm$ 18        | 0,656 $\pm$ 0,020 | -2,52 $\pm$ 0,49                         |  |
| 30  | 941,43 $\pm$ 82,82   | 0,453 $\pm$ 0,118 | -4,33 $\pm$ 0,35                         |  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 1119,3 $\pm$ 56,4    | 0,479 $\pm$ 0,055 | 25,933 $\pm$ 0,763                       |  |

Poloksamer 188 içeren nanokristallerin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

Çizelge 4.27-31’de, ZHM nanokristallerinin Poloksamer 188 ile hazırlandığında elde edilen partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı, zeta potansiyel ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçlarını göstermektedir.

Çizelge 4.27. ZHM: Poloksamer 188 1:2 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 22,480 $\pm$ 2,826                            | 15000                | 10                | 11,553 $\pm$ 1,189                       | 4,156 $\pm$ 0,429  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 765,87 $\pm$ 31,08   | 0,513 $\pm$ 0,060 | 34,36 $\pm$ 0,67                         |  |
| 10  | 730,5 $\pm$ 55,6     | 0,508 $\pm$ 0,103 | 38,8 $\pm$ 1,6                           |  |
| 20  | 645,93 $\pm$ 46,88   | 0,254 $\pm$ 0,090 | 38,9 $\pm$ 0,8                           |  |
| 30  | 570,4 $\pm$ 42,0     | 0,432 $\pm$ 0,002 | 40,1 $\pm$ 0,6                           |  |
| <b>1 gün sonra (25 °C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 596,53 $\pm$ 47,40   | 0,434 $\pm$ 0,020 | 37,26 $\pm$ 1,70                         |  |
| 10  | 837,26 $\pm$ 79,01   | 0,518 $\pm$ 0,010 | 38,38 $\pm$ 1,56                         |  |
| 20  | 652,433 $\pm$ 33,980 | 0,472 $\pm$ 0,090 | 39,46 $\pm$ 0,81                         |  |
| 30  | 688,3 $\pm$ 93,0     | 0,266 $\pm$ 0,108 | 37,66 $\pm$ 0,31                         |  |
| <b>1 gün sonra (4 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| 30  | 609,233 $\pm$ 74,750 | 0,223 $\pm$ 0,050 | 25,86 $\pm$ 0,76                         |  |
| <b>1 hafta sonra (25 °C)</b>                  |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1607,67 $\pm$ 48,33  | 0,674 $\pm$ 0,140 | 36,23 $\pm$ 1,95                         |  |
| 10  | 840,66 $\pm$ 39,57   | 0,533 $\pm$ 0,028 | 35,06 $\pm$ 0,66                         |  |
| 20  | 691,66 $\pm$ 60,70   | 0,428 $\pm$ 0,038 | 37,96 $\pm$ 1,55                         |  |
| 30  | 760,033 $\pm$ 57,946 | 0,423 $\pm$ 0,096 | 37,1 $\pm$ 0,6                           |  |
| <b>1 hafta sonra (4 °C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| 30  | 621,63 $\pm$ 38,25   | 0,305 $\pm$ 0,227 | 37,66 $\pm$ 0,31                         |  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 2493,67 $\pm$ 51,59  | 0,608 $\pm$ 0,551 | 27 $\pm$ 1                               |  |
| 10  | 1651,67 $\pm$ 52,20  | 0,397 $\pm$ 0,040 | 28,56 $\pm$ 2,21                         |  |
| 20  | 1115 $\pm$ 26        | 0,672 $\pm$ 0,090 | 30,26 $\pm$ 2,49                         |  |
| 30  | 883,167 $\pm$ 6,320  | 0,54 $\pm$ 0,08   | 28,66 $\pm$ 2,37                         |  |
| <b>1 ay sonra (4°C)</b>                       |                      |                   |  |  |
| 30  | 746,1 $\pm$ 43,66    | 0,483 $\pm$ 0,06  | 33,23 $\pm$ 1,12                         |  |

Çizelge 4.28. ZHM: Poloksamer 188 1:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 22,093 $\pm$ 2,163                            | 15000                | 10                | 10,393 $\pm$ 0,670                       | 3,193 $\pm$ 0,838  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1882 $\pm$ 162       | 0,896 $\pm$ 0,220 | 34,53 $\pm$ 0,90                         |  |
| 10  | 1472 $\pm$ 100       | 0,546 $\pm$ 0,047 | 33,36 $\pm$ 2,05                         |  |
| 20  | 2093,6 $\pm$ 292,8   | 0,877 $\pm$ 0,056 | 32,133 $\pm$ 0,583                       |  |
| 30  | 1647 $\pm$ 419       | 0,807 $\pm$ 0,078 | 31,6 $\pm$ 0,3                           |  |
| <b>1 gün sonra (25 °C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1656 $\pm$ 466       | 0,934 $\pm$ 0,090 | 38,13 $\pm$ 1,91                         |  |
| 10  | 2510,33 $\pm$ 536,23 | 1 $\pm$ 0         | 29,2 $\pm$ 1,4                           |  |
| 20  | 2648 $\pm$ 284       | 0,413 $\pm$ 0,139 | 29,2 $\pm$ 1,4                           |  |
| 30  | 3863 $\pm$ 924       | 1 $\pm$ 0         | 28,7 $\pm$ 0,6                           |  |
| <b>1 gün sonra (4 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| 30  | 3033 $\pm$ 615       | 1 $\pm$ 0         | 32,4 $\pm$ 0,8                           |  |
| <b>1 hafta sonra (25 °C)</b>                  |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 7856 $\pm$ 584       | -                 | -  |  |
| 10  | 6146 $\pm$ 384       | -                 | -  |  |
| 20  | 8634 $\pm$ 835       | -                 | -  |  |
| 30  | 7754 $\pm$ 249       | -                 | -  |  |
| <b>1 hafta sonra (4 °C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| 30  | 7135 $\pm$ 325       | -                 | -  |  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 10683 $\pm$ 373      | -                 | -  |  |
| 10  | 9834 $\pm$ 634       | -                 | -  |  |
| 20  | 9967 $\pm$ 648       | -                 | -  |  |
| 30  | 9456 $\pm$ 232       | -                 | -  |  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 9196 $\pm$ 216       | -                 | -  |  |

Çizelge 4.29. ZHM: Poloksamer 188 2:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 25,703 $\pm$ 2,218                            | 15000                | 10                | 12,400 $\pm$ 1,153                       | 5,683 $\pm$ 0,80   |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1189,3 $\pm$ 9,5     | 0,850 $\pm$ 0,243 |  | 45,06 $\pm$ 0,85   |
| 10  | 867,4 $\pm$ 12,9     | 0,413 $\pm$ 0,044 |  | 46,36 $\pm$ 0,81   |
| 20  | 812,7 $\pm$ 20,1     | 0,373 $\pm$ 0,020 |  | 44,7 $\pm$ 0,8   |
| 30  | 696,6 $\pm$ 25,1     | 0,278 $\pm$ 0,011 |  | 34,06 $\pm$ 0,61   |
| <b>1 gün sonra (25 °C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1271,6 $\pm$ 89,9    | 0,55 $\pm$ 0,08   |  | 41,9 $\pm$ 0,9   |
| 10  | 862,6 $\pm$ 103,78   | 0,532 $\pm$ 0,099 |  | 41,33 $\pm$ 1,42   |
| 20  | 712,06 $\pm$ 8,18    | 0,324 $\pm$ 0,086 |  | 42,56 $\pm$ 0,21   |
| 30  | 727,83 $\pm$ 60,40   | 0,457 $\pm$ 0,240 |  | 35,23 $\pm$ 0,35   |
| <b>1 gün sonra (4 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| 30  | 644,96 $\pm$ 70,06   | 0,286 $\pm$ 0,086 |  | 35,17 $\pm$ 0,19   |
| <b>1 hafta sonra (25 °C)</b>                  |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1733 $\pm$ 146       | 0,378 $\pm$ 0,271 |  | 42,4 $\pm$ 0,9   |
| 10  | 1258,67 $\pm$ 141,62 | 0,418 $\pm$ 0,070 |  | 37,73 $\pm$ 1,28   |
| 20  | 1977 $\pm$ 121       | 0,43 $\pm$ 0,10   |  | 43,16 $\pm$ 1,19   |
| 30  | 1365,33 $\pm$ 34,01  | 0,438 $\pm$ 0,070 |  | 25 $\pm$ 1   |
| <b>1 hafta sonra (4 °C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| 30  | 1055,33 $\pm$ 52,27  | 0,407 $\pm$ 0,007 |  | 31,37 $\pm$ 1,45   |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 2569,3 $\pm$ 428,8   | 0,653 $\pm$ 0,08  |  | 33,96 $\pm$ 3,00   |
| 10  | 2262 $\pm$ 149       | 0,47 $\pm$ 0,12   |  | 28,46 $\pm$ 0,51   |
| 20  | 2645,67 $\pm$ 584,40 | 0,487 $\pm$ 0,060 |  | 35,23 $\pm$ 0,35   |
| 30  | 1439,67 $\pm$ 65,01  | 0,534 $\pm$ 0,058 |  | 21,46 $\pm$ 1,15   |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 1231 $\pm$ 73        | 0,511 $\pm$ 0,093 |  | 20,84 $\pm$ 1,65   |

Çizelge 4.30. ZHM: Poloksamer 188 4:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilitesi

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 25,703 $\pm$ 2,218                            | 15000                | 10                | 12,400 $\pm$ 1,153                       | 5,683 $\pm$ 0,80   |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1320 $\pm$ 152       | 0,908 $\pm$ 0,030 | 23,03 $\pm$ 1,34                         |  |
| 10  | 1068,66 $\pm$ 91,22  | 0,386 $\pm$ 0,130 | 30,53 $\pm$ 1,36                         |  |
| 20  | 769,03 $\pm$ 71,87   | 0,534 $\pm$ 0,022 | 32,4 $\pm$ 2,2                           |  |
| 30  | 698,233 $\pm$ 0,056  | 0,472 $\pm$ 0,042 | 35,76 $\pm$ 0,47                         |  |
| <b>1 gün sonra (25 °C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1159,63 $\pm$ 350,22 | 0,869 $\pm$ 0,109 | 37,03 $\pm$ 0,35                         |  |
| 10  | 1057,33 $\pm$ 26,50  | 0,91 $\pm$ 0,05   | 32,16 $\pm$ 1,09                         |  |
| 20  | 944,5 $\pm$ 95,2     | 0,838 $\pm$ 0,045 | 30,96 $\pm$ 0,84                         |  |
| 30  | 745,33 $\pm$ 11,75   | 0,411 $\pm$ 0,011 | 36,33 $\pm$ 0,83                         |  |
| <b>1 gün sonra (4 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| 30  | 656,16 $\pm$ 12,17   | 0,508 $\pm$ 0,083 | 31,53 $\pm$ 0,90                         |  |
| <b>1 hafta sonra (25 °C)</b>                  |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 2716 $\pm$ 377       | 1 $\pm$ 0         | 32,46 $\pm$ 1,30                         |  |
| 10  | 1004,13 $\pm$ 75,28  | 0,820 $\pm$ 0,095 | 34,96 $\pm$ 0,47                         |  |
| 20  | 1114 $\pm$ 87        | 0,811 $\pm$ 0,041 | 28,83 $\pm$ 1,17                         |  |
| 30  | 792,23 $\pm$ 115,37  | 0,524 $\pm$ 0,088 | 33 $\pm$ 0                               |  |
| <b>1 hafta sonra (4 °C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| 30  | 682,63 $\pm$ 33,48   | 0,418 $\pm$ 0,025 | 29,2 $\pm$ 0,6                           |  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 2606,6 $\pm$ 337,4   | 1 $\pm$ 0         | 29,43 $\pm$ 2,37                         |  |
| 10  | 2427,6 $\pm$ 268,4   | 0,961 $\pm$ 0,056 | 35,66 $\pm$ 2,38                         |  |
| 20  | 1684,3 $\pm$ 298,0   | 0,929 $\pm$ 0,046 | 14,6 $\pm$ 2,5                           |  |
| 30  | 1238 $\pm$ 151       | 0,91 $\pm$ 0,05   | 27,3 $\pm$ 1,4                           |  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 1219 $\pm$ 78        | 0,947 $\pm$ 0,051 | 24,2 $\pm$ 5,0                           |  |

Çizelge 4.31. ZHM: Poloksamer 8:1 nanosuspansiyonunun karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 21,836 $\pm$ 1,175                            | 15000                | 10                | 10,173 $\pm$ 0,542                       | 3,856 $\pm$ 1,55   |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 906,53 $\pm$ 58,81   | 0,847 $\pm$ 0,031 | 40,43 $\pm$ 1,30                         |  |
| 10  | 1401,66 $\pm$ 55,19  | 0,832 $\pm$ 0,023 | 36,26 $\pm$ 1,50                         |  |
| 20  | 1305,66 $\pm$ 57,29  | 0,512 $\pm$ 0,046 | 41,7 $\pm$ 0,9                           |  |
| 30  | 805,4 $\pm$ 65,6     | 0,214 $\pm$ 0,029 | 42,03 $\pm$ 2,85                         |  |
| <b>1 gün sonra (25 °C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 888,3 $\pm$ 39,8     | 0,936 $\pm$ 0,058 | 38,66 $\pm$ 0,86                         |  |
| 10  | 1344,66 $\pm$ 222,39 | 0,832 $\pm$ 0,023 | 38,03 $\pm$ 0,06                         |  |
| 20  | 1481,33 $\pm$ 160,25 | 0,421 $\pm$ 0,198 | 37,66 $\pm$ 1,60                         |  |
| 30  | 1521,33 $\pm$ 1,154  | 0,492 $\pm$ 0,026 | 39,16 $\pm$ 1,25                         |  |
| <b>1 gün sonra (4 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| 30  | 803,1 $\pm$ 68,2     | 0,305 $\pm$ 0,169 | 35,99 $\pm$ 3,50                         |  |
| <b>1 hafta sonra (25 °C)</b>                  |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1358 $\pm$ 107       | 0,924 $\pm$ 0,270 | 35,03 $\pm$ 0,66                         |  |
| 10  | 1382,66 $\pm$ 26,50  | 0,912 $\pm$ 0,006 | 38,93 $\pm$ 0,90                         |  |
| 20  | 1405,33 $\pm$ 199,90 | 0,528 $\pm$ 0,131 | 39,96 $\pm$ 1,20                         |  |
| 30  | 1541,33 $\pm$ 92,08  | 0,551 $\pm$ 0,167 | 40,3 $\pm$ 2,21                          |  |
| <b>1 hafta sonra (4 °C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| 30  | 1776 $\pm$ 185       | 0,627 $\pm$ 0,085 | 31,53 $\pm$ 1,46                         |  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 2618,66 $\pm$ 217,20 | 1 $\pm$ 0         | 36,23 $\pm$ 0,81                         |  |
| 10  | 1817,66 $\pm$ 62,06  | 0,944 $\pm$ 0,037 | 36,46 $\pm$ 1,46                         |  |
| 20  | 2003,66 $\pm$ 77,39  | 0,825 $\pm$ 0,196 | 41,3 $\pm$ 1,4                           |  |
| 30  | 1402 $\pm$ 232       | 0,477 $\pm$ 0,221 | 39,9 $\pm$ 0,9                           |  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 1681 $\pm$ 187       | 0,879 $\pm$ 0,062 | 33,46 $\pm$ 1,17                         |  |

Vitamin E TPGS içeren ZHM nanokristallerinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

Farklı yüzey etkin maddelerin, farklı oranlarının ZHM nanokristallerinin partikül büyüklüğü küçültülmesine ve kısa süreli fiziksel stabilitesine olan etkisinin incelenebilmesi için seçilen diğer yüzey etkin madde olan Vitamin E TPGS kullanılarak hazırlanan nanokristaller ile ilgili bulgular Çizelge 4.32-36'de verilmektedir.

Çizelge 4.32. ZHM: Vitamin E TPGS 1:2 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 27,040 $\pm$ 2,246                            | 15000                | 10                | 11,523 $\pm$ 0,933                       | 3,726 $\pm$ 0,66   |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1215 $\pm$ 67        | 0,499 $\pm$ 0,066 | 34,06 $\pm$ 1,10                         |  |
| 10  | 911,93 $\pm$ 39,35   | 0,410 $\pm$ 0,091 | 36,96 $\pm$ 0,40                         |  |
| 20  | 583,16 $\pm$ 11,84   | 0,360 $\pm$ 0,013 | 31,56 $\pm$ 0,29                         |  |
| 30  | 505,46 $\pm$ 12,29   | 0,323 $\pm$ 0,014 | 32,93 $\pm$ 0,87                         |  |
| <b>1 gün sonra (25 °C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1052,6 $\pm$ 26,0    | 0,59 $\pm$ 0,04   | 31,66 $\pm$ 0,72                         |  |
| 10  | 927,73 $\pm$ 43,27   | 0,473 $\pm$ 0,058 | 21,43 $\pm$ 0,42                         |  |
| 20  | 638,6 $\pm$ 28,8     | 0,260 $\pm$ 0,113 | 29,33 $\pm$ 0,68                         |  |
| 30  | 607,6 $\pm$ 38,1     | 0,411 $\pm$ 0,015 | 31,6 $\pm$ 1,2                           |  |
| <b>1 gün sonra (4 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| 30  | 803,1 $\pm$ 68,2     | 0,443 $\pm$ 0,010 | 32,2 $\pm$ 0,8                           |  |
| <b>1 hafta sonra (25 °C)</b>                  |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 954,43 $\pm$ 147,70  | 0,465 $\pm$ 0,154 | 25,56 $\pm$ 2,54                         |  |
| 10  | 861,933 $\pm$ 45,150 | 0,399 $\pm$ 0,050 | 21,43 $\pm$ 0,42                         |  |
| 20  | 960,33 $\pm$ 6,85    | 0,505 $\pm$ 0,031 | 26,76 $\pm$ 0,568                        |  |
| 30  | 680,76 $\pm$ 31,90   | 0,114 $\pm$ 0,042 | 25,4 $\pm$ 0,5                           |  |
| <b>1 hafta sonra (4 °C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| 30  | 664,9 $\pm$ 63,9     | 0,524 $\pm$ 0,069 | 28,73 $\pm$ 1,11                         |  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1546,3 $\pm$ 96,3    | 0,551 $\pm$ 0,069 | 8,51 $\pm$ 0,26                          |  |
| 10  | 958,76 $\pm$ 44,18   | 0,569 $\pm$ 0,051 | 9,16 $\pm$ 0,69                          |  |
| 20  | 858,4 $\pm$ 69,4     | 0,526 $\pm$ 0,016 | 14,96 $\pm$ 0,95                         |  |
| 30  | 927,5 $\pm$ 69,3     | 0,447 $\pm$ 0,047 | 17,66 $\pm$ 0,77                         |  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 1009,3 $\pm$ 34,2    | 0,608 $\pm$ 0,064 | 22,33 $\pm$ 0,45                         |  |

Çizelge 4.33. ZHM: Vitamin E TPGS 1:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)    | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|---------------------|-------------------|--|--|
| 23,446 $\pm$ 2,262                            | 15000               | 10                | 7,803 $\pm$ 0,164                        | 3,62 $\pm$ 0,73  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                     |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)        | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1128 $\pm$ 68       | 0,614 $\pm$ 0,048 | 18,03 $\pm$ 0,80                         |  |
| 10  | 897,93 $\pm$ 72,46  | 0,441 $\pm$ 0,054 | 28,56 $\pm$ 0,97                         |  |
| 20  | 662,8 $\pm$ 29,9    | 0,316 $\pm$ 0,047 | 28,56 $\pm$ 0,55                         |  |
| 30  | 612,1 $\pm$ 16,5    | 0,311 $\pm$ 0,040 | 31 $\pm$ 1                               |  |
| <b>1 gün sonra (25 °C)</b>                    |                     |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)        | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1062 $\pm$ 59       | 0,496 $\pm$ 0,156 | 22,26 $\pm$ 3,06                         |  |
| 10  | 964,7 $\pm$ 80,6    | 0,446 $\pm$ 0,043 | 31,7 $\pm$ 1,41                          |  |
| 20  | 659,6 $\pm$ 28,8    | 0,426 $\pm$ 0,029 | 28,93 $\pm$ 1,38                         |  |
| 30  | 618,36 $\pm$ 25,67  | 0,311 $\pm$ 0,040 | 31 $\pm$ 1                               |  |
| <b>1 gün sonra (4 °C)</b>                     |                     |                   |  |  |
| 30  | 612,33 $\pm$ 9,48   | 0,401 $\pm$ 0,010 | 30,3 $\pm$ 1,5                           |  |
| <b>1 hafta sonra (25 °C)</b>                  |                     |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)        | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1183,6 $\pm$ 30,7   | 0,657 $\pm$ 0,003 | 20,6 $\pm$ 4,9                           |  |
| 10  | 1025,6 $\pm$ 71,5   | 0,580 $\pm$ 0,197 | 32,26 $\pm$ 1,50                         |  |
| 20  | 765,13 $\pm$ 49,25  | 0,621 $\pm$ 0,027 | 27,1 $\pm$ 0,5                           |  |
| 30  | 582,7 $\pm$ 37,1    | 0,523 $\pm$ 0,015 | 30,23 $\pm$ 0,45                         |  |
| <b>1 hafta sonra (4 °C)</b>                   |                     |                   |  |  |
| 30  | 628,16 $\pm$ 72,61  | 0,49 $\pm$ 0,02   | 26,16 $\pm$ 1,04                         |  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                     |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)        | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1181,6 $\pm$ 85,0   | 0,814 $\pm$ 0,053 | 18,03 $\pm$ 2,33                         |  |
| 10  | 1135 $\pm$ 18       | 0,663 $\pm$ 0,043 | 33,8 $\pm$ 0,8                           |  |
| 20  | 714,73 $\pm$ 157,40 | 0,541 $\pm$ 0,068 | 30,2 $\pm$ 0,3                           |  |
| 30  | 631,3 $\pm$ 45,8    | 0,465 $\pm$ 0,010 | 30,66 $\pm$ 0,40                         |  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                     |                   |  |  |
| 30  | 610,06 $\pm$ 45,87  | 0,465 $\pm$ 0,177 | 28,63 $\pm$ 1,65                         |  |

Çizelge 4.34. ZHM: Vitamin E TPGS 2:1 nanokristalininkarakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)    | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|---------------------|-------------------|--|--|
| 25,883 $\pm$ 1,287                            | 15000               | 10                | 14,506 $\pm$ 0,899                       | 4,916 $\pm$ 0,257  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                     |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)        | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1326,33 $\pm$ 13,31 | 0,384 $\pm$ 0,145 | 43,16 $\pm$ 1,26                         |  |
| 10  | 974,5 $\pm$ 28,1    | 0,227 $\pm$ 0,029 | 44,3 $\pm$ 0,5                           |  |
| 20  | 716,1 $\pm$ 27,5    | 0,269 $\pm$ 0,044 | 41,5 $\pm$ 0,8                           |  |
| 30  | 602,16 $\pm$ 22,96  | 0,205 $\pm$ 0,020 | 41,23 $\pm$ 1,24                         |  |
| <b>1 gün sonra (25 °C)</b>                    |                     |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)        | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1479 $\pm$ 26       | 0,425 $\pm$ 0,075 | 43,23 $\pm$ 0,23                         |  |
| 10  | 853,56 $\pm$ 69,02  | 0,390 $\pm$ 0,080 | 48,96 $\pm$ 0,75                         |  |
| 20  | 842,16 $\pm$ 42,97  | 0,37 $\pm$ 0,01   | 41,1 $\pm$ 0,4                           |  |
| 30  | 626,9 $\pm$ 46,3    | 0,282 $\pm$ 0,020 | 51,03 $\pm$ 0,64                         |  |
| <b>1 gün sonra (4 °C)</b>                     |                     |                   |  |  |
| 30  | 628,91 $\pm$ 25,60  | 0,373 $\pm$ 0,021 | 31,03 $\pm$ 1,26                         |  |
| <b>1 hafta sonra (25 °C)</b>                  |                     |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)        | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1388,3 $\pm$ 109,4  | 0,365 $\pm$ 0,06  | 35,66 $\pm$ 0,66                         |  |
| 10  | 863,86 $\pm$ 44,67  | 0,263 $\pm$ 0,040 | 29,2 $\pm$ 0,5                           |  |
| 20  | 868,23 $\pm$ 21,07  | 0,36 $\pm$ 0,12   | 37,8 $\pm$ 0,9                           |  |
| 30  | 631,3 $\pm$ 26,6    | 0,359 $\pm$ 0,015 | 39 $\pm$ 1                               |  |
| <b>1 hafta sonra (4 °C)</b>                   |                     |                   |  |  |
| 30  | 615,73 $\pm$ 18,17  | 0,34 $\pm$ 0,062  | 32,93 $\pm$ 1,5                          |  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                     |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)        | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1369,6 $\pm$ 119,2  | 0,568 $\pm$ 0,042 | 7,26 $\pm$ 2,33                          |  |
| 10  | 909,8 $\pm$ 109,7   | 0,405 $\pm$ 0,11  | 9,31 $\pm$ 0,22                          |  |
| 20  | 853,1 $\pm$ 26,9    | 0,312 $\pm$ 0,05  | 37,2 $\pm$ 0,4                           |  |
| 30  | 653,03 $\pm$ 45,62  | 0,41 $\pm$ 0,02   | 32,43 $\pm$ 0,51                         |  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                     |                   |  |  |
| 30  | 624,26 $\pm$ 21,04  | 0,384 $\pm$ 0,034 | 31,92 $\pm$ 1,07                         |  |

Çizelge 4.35. ZHM: Vitamin E TPGS 4:1 nanokristalininkarakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)      | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|-----------------------|-------------------|--|--|
| 28,766 $\pm$ 3,392                            | 15000                 | 10                | 11,320 $\pm$ 0,383                       | 3,866 $\pm$ 0,135  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1089,5 $\pm$ 251,5    | 0,67 $\pm$ 0,07   | 28,8 $\pm$ 1,6                           |  |
| 10  | 775,36 $\pm$ 51,51    | 0,29 $\pm$ 0,05   | 34,56 $\pm$ 0,32                         |  |
| 20  | 653,9 $\pm$ 5,6       | 0,29 $\pm$ 0,07   | 36,93 $\pm$ 3,95                         |  |
| 30  | 601,66 $\pm$ 75,38    | 0,411 $\pm$ 0,071 | 32 $\pm$ 2                               |  |
| <b>1 gün sonra (25 °C)</b>                    |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1653,33 $\pm$ 25,53   | 0,551 $\pm$ 0,067 | 26,7 $\pm$ 2,6                           |  |
| 10  | 1034,2 $\pm$ 69,3     | 0,661 $\pm$ 0,029 | 28,53 $\pm$ 2,05                         |  |
| 20  | 536 $\pm$ 77          | 0,534 $\pm$ 0,070 | 30,7 $\pm$ 1,0                           |  |
| 30  | 669,46 $\pm$ 34,10    | 0,285 $\pm$ 0,168 | 26,53 $\pm$ 1,70                         |  |
| <b>1 gün sonra (4 °C)</b>                     |                       |                   |  |  |
| 30  | 611,33 $\pm$ 38,10    | 0,536 $\pm$ 0,021 | 26,4 $\pm$ 1,2                           |  |
| <b>1 hafta sonra (25 °C)</b>                  |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1705,6 $\pm$ 199,0    | 0,664 $\pm$ 0,015 | 31,43 $\pm$ 2,73                         |  |
| 10  | 1046,88 $\pm$ 90,75   | 0,495 $\pm$ 0,040 | 28,36 $\pm$ 1,16                         |  |
| 20  | 839,7 $\pm$ 75,3      | 0,639 $\pm$ 0,035 | 26,6 $\pm$ 2,0                           |  |
| 30  | 706,06 $\pm$ 68,81    | 0,59 $\pm$ 0,01   | 26,4 $\pm$ 1,2                           |  |
| <b>1 hafta sonra (4 °C)</b>                   |                       |                   |  |  |
| 30  | 732,36 $\pm$ 55,83    | 0,77 $\pm$ 0,05   | 25,3 $\pm$ 0,6                           |  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1870,6 $\pm$ 77,1     | 0,671 $\pm$ 0,072 | -7,57 $\pm$ 0,88                         |  |
| 10  | 1162,33 $\pm$ 51,36   | 0,821 $\pm$ 0,030 | -6,153 $\pm$ 0,680                       |  |
| 20  | 1031,867 $\pm$ 65,610 | 0,559 $\pm$ 0,056 | 11,96 $\pm$ 0,31                         |  |
| 30  | 1028,867 $\pm$ 37,630 | 0,853 $\pm$ 0,030 | 15,73 $\pm$ 1,69                         |  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                       |                   |  |  |
| 30  | 1137 $\pm$ 58         | 0,623 $\pm$ 0,050 | 23,36 $\pm$ 1,36                         |  |

Çizelge 4.36. ZHM: Vitamin E TPGS 8:1 nanokristalininkarakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk.)       | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 27,376 $\pm$ 2,754                            | 15000                | 10                | 10,843 $\pm$ 0,379                       | 3,93 $\pm$ 0,70  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1147 $\pm$ 81        | 0,686 $\pm$ 0,095 | 28,86 $\pm$ 3,10                         |  |
| 10  | 1000,8 $\pm$ 57,7    | 0,618 $\pm$ 0,035 | 31,23 $\pm$ 0,80                         |  |
| 20  | 754,46 $\pm$ 11,03   | 0,844 $\pm$ 0,108 | 30,43 $\pm$ 0,35                         |  |
| 30  | 675,7 $\pm$ 76,0     | 0,518 $\pm$ 0,086 | 13,63 $\pm$ 0,71                         |  |
| <b>1 gün sonra (25°C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 943,33 $\pm$ 65,54   | 0,753 $\pm$ 0,055 | 20,03 $\pm$ 0,51                         |  |
| 10  | 1046,63 $\pm$ 119,22 | 0,864 $\pm$ 0,121 | 31,66 $\pm$ 1,25                         |  |
| 20  | 903,06 $\pm$ 54,92   | 0,824 $\pm$ 0,052 | 28,43 $\pm$ 1,12                         |  |
| 30  | 718,46 $\pm$ 45,29   | 0,86 $\pm$ 0,06   | 13,16 $\pm$ 1,07                         |  |
| <b>1 gün sonra (4°C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 728,45 $\pm$ 68,28   | 0,81 $\pm$ 0,06   | 14,73 $\pm$ 0,42                         |  |
| <b>1 hafta sonra (25°C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 955,03 $\pm$ 30,75   | 0,842 $\pm$ 0,095 | 16,7 $\pm$ 2,6                           |  |
| 10  | 1072 $\pm$ 47        | 0,67 $\pm$ 0,03   | 31,66 $\pm$ 1,16                         |  |
| 20  | 722,4 $\pm$ 26,6     | 0,733 $\pm$ 0,058 | 23,16 $\pm$ 0,32                         |  |
| 30  | 752,1 $\pm$ 22,5     | 0,46 $\pm$ 0,05   | 11,73,63 $\pm$ 0,97                      |  |
| <b>1 hafta sonra (4°C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| 30  | 732,36 $\pm$ 55,83   | 0,774 $\pm$ 0,032 | 7,046 $\pm$ 0,532                        |  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               | ZP (mV)                                  |  |
| 5   | 1870,6 $\pm$ 77,1    | 0,774 $\pm$ 0,024 | 19,36 $\pm$ 0,91                         |  |
| 10  | 1024,37 $\pm$ 108,90 | 0,709 $\pm$ 0,037 | 27,63 $\pm$ 1,21                         |  |
| 20  | 954,4 $\pm$ 56,5     | 0,703 $\pm$ 0,022 | 23,2 $\pm$ 1,7                           |  |
| 30  | 724,36 $\pm$ 22,03   | 0,881 $\pm$ 0,156 | 9,63 $\pm$ 1,79                          |  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 874,36 $\pm$ 85,38   | 0,866 $\pm$ 0,090 | 7,12 $\pm$ 1,43                          |  |

#### **4.3.4. Polimerlerin stabilizan olarak kullanıldığı nanokristaller**

Polimerlerin nanokristallerin stabilitesini sterik stabilizasyon ile sağlayabileceği bilinmektedir. Bu amaçla nanokristal hazırlanmasında en çok kullanılan stabilizantlardan olan PVP K30 ile HPMC seçilerek formülasyonlar hazırlandı.

#### HPMC içeren ZHM nanokristallerinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

Stabilizan olarak HPMC kullanılarak hazırlanan nanokristallerin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları Çizelge 4.37-41’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.37. ZHM: HPMC 1: 2 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 24,806 $\pm$ 2,746                            | 15000                | 10                | 9,666 $\pm$ 0,126                        | 3,63 $\pm$ 0,86  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1056 $\pm$ 128       | 0,556 $\pm$ 0,083 |  | 12,4 $\pm$ 0,9   |
| 10  | 764,63 $\pm$ 61,90   | 0,531 $\pm$ 0,026 |  | 13,23 $\pm$ 0,74   |
| 20  | 650,33 $\pm$ 50,01   | 0,451 $\pm$ 0,067 |  | 14,4 $\pm$ 1,1   |
| 30  | 627,8 $\pm$ 27,7     | 0,320 $\pm$ 0,177 |  | 13,0 $\pm$ 0,6   |
| <b>1 gün sonra (25°C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 819 $\pm$ 39         | 0,489 $\pm$ 0,020 |  | 13,1 $\pm$ 0   |
| 10  | 903,23 $\pm$ 60,16   | 0,663 $\pm$ 0,108 |  | 13,93 $\pm$ 0,45   |
| 20  | 699,03 $\pm$ 60,18   | 0,169 $\pm$ 0,046 |  | 14,16 $\pm$ 1,49   |
| 30  | 714,166 $\pm$ 35,660 | 0,328 $\pm$ 0,210 |  | 4,43 $\pm$ 0,31  |
| <b>1 gün sonra (4°C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 537,8 $\pm$ 11,5     | 0,361 $\pm$ 0,126 |  | 12,93 $\pm$ 0,74   |
| <b>1 hafta sonra (25°C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 855,2 $\pm$ 42,5     | 0,443 $\pm$ 0,030 |  | 5,630 $\pm$ 0,933  |
| 10  | 875,3 $\pm$ 56,6     | 0,423 $\pm$ 0,050 |  | 1,136 $\pm$ 0,284  |
| 20  | 719,53 $\pm$ 17,76   | 0,403 $\pm$ 0,045 |  | 7,950 $\pm$ 0,533  |
| 30  | 715,36 $\pm$ 87,22   | 0,591 $\pm$ 0,060 |  | 1,006 $\pm$ 0,081  |
| <b>1 hafta sonra (4°C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| 30  | 675,16 $\pm$ 32,71   | 0,204 $\pm$ 0,037 |  | 12,44 $\pm$ 0,28   |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 917,4 $\pm$ 78,3     | 0,582 $\pm$ 0,010 |  | 2,47 $\pm$ 0,74  |
| 10  | 901,46 $\pm$ 50,97   | 0,673 $\pm$ 0,110 |  | -0,863 $\pm$ 0,056                                       |
| 20  | 770,73 $\pm$ 47,95   | 0,429 $\pm$ 0,005 |  | 7,41 $\pm$ 0,36  |
| 30  | 727,8 $\pm$ 27,7     | 0,545 $\pm$ 0,023 |  | -1,33 $\pm$ 0,16   |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 826,26 $\pm$ 130,81  | 0,202 $\pm$ 0,035 |  | 11,133 $\pm$ 0,208                                       |

Çizelge 4.38. ZHM: HPMC 1:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 21,06 $\pm$ 0,99                              | 15000                | 10                | 11,650 $\pm$ 0,797                       | 3,56 $\pm$ 0,25  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 757,3 $\pm$ 108,5    | 0,291 $\pm$ 0,150 |  | 6,33 $\pm$ 0,18  |
| 10  | 1165,66 $\pm$ 8,73   | 0,36 $\pm$ 0,33   |  | 5,26 $\pm$ 0,87  |
| 20  | 812,26 $\pm$ 33,69   | 0,214 $\pm$ 0,028 |  | 8,85 $\pm$ 0,28  |
| 30  | 539,9 $\pm$ 76,0     | 0,300 $\pm$ 0,109 |  | 8,28 $\pm$ 0,20  |
| <b>1 gün sonra (25°C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 744,36 $\pm$ 40,46   | 0,304 $\pm$ 0,076 |  | 5,42 $\pm$ 0,06  |
| 10  | 816,93 $\pm$ 74,34   | 0,332 $\pm$ 0,057 |  | 5,9 $\pm$ 0,5  |
| 20  | 717,83 $\pm$ 49,01   | 0,370 $\pm$ 0,106 |  | 6,08 $\pm$ 0,45  |
| 30  | 604,13 $\pm$ 39,52   | 0,201 $\pm$ 0,095 |  | 8,12 $\pm$ 0,13  |
| <b>1 gün sonra (4°C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 528,56 $\pm$ 21,33   | 0,17 $\pm$ 0,10   |  | 12,23 $\pm$ 1,15   |
| <b>1 hafta sonra (25°C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1103,33 $\pm$ 85,59  | 0,554 $\pm$ 0,110 |  | 5,86 $\pm$ 0,38  |
| 10  | 829,9 $\pm$ 18,6     | 0,533 $\pm$ 0,036 |  | 5,56 $\pm$ 1,27  |
| 20  | 855,56 $\pm$ 13,97   | 0,389 $\pm$ 0,085 |  | 2,393 $\pm$ 0,331  |
| 30  | 683,6 $\pm$ 32,5     | 0,296 $\pm$ 0,040 |  | 8,02 $\pm$ 0,30  |
| <b>1 hafta sonra (4°C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| 30  | 655,17 $\pm$ 32,91   | 0,212 $\pm$ 0,156 |  | 8,90 $\pm$ 0,32  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1063,33 $\pm$ 190,71 | 0,514 $\pm$ 0,217 |  | -1,94 $\pm$ 0,27   |
| 10  | 911,1 $\pm$ 110,0    | 0,326 $\pm$ 0,14  |  | 4,17 $\pm$ 0,71  |
| 20  | 1007,5 $\pm$ 93,2    | 0,415 $\pm$ 0,204 |  | 1,91 $\pm$ 0,33  |
| 30  | 749,13 $\pm$ 28,16   | 0,371 $\pm$ 0,009 |  | 5,16 $\pm$ 0,27  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 685,16 $\pm$ 30,35   | 0,296 $\pm$ 0,035 |  | 6,35 $\pm$ 0,15  |

Çizelge 4.39. ZHM: HPMC 2:1 formülasyonunun karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 21,653 $\pm$ 0,30                             | 15000                | 10                | 9,413 $\pm$ 0,607                        | 3,55 $\pm$ 0,602   |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 883,26 $\pm$ 75,41   | 0,57 $\pm$ 0,04   |  | 1,553 $\pm$ 0,305  |
| 10  | 1228,66 $\pm$ 90,12  | 0,495 $\pm$ 0,085 |  | 0,827 $\pm$ 0,170  |
| 20  | 723,0 $\pm$ 52,4     | 0,106 $\pm$ 0,050 |  | 1,043 $\pm$ 0,100  |
| 30  | 959,13 $\pm$ 38,05   | 0,300 $\pm$ 0,138 |  | 1,53 $\pm$ 0,27  |
| <b>1 gün sonra (25°C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1055,67 $\pm$ 169,26 | 0,26 $\pm$ 0,103  |  | 1,06 $\pm$ 0,05  |
| 10  | 1666,67 $\pm$ 84,58  | 0,595 $\pm$ 0,080 |  | 1,13 $\pm$ 0,11  |
| 20  | 907,1 $\pm$ 85,3     | 0,282 $\pm$ 0,141 |  | 1,76 $\pm$ 0,33  |
| 30  | 941,96 $\pm$ 72,51   | 0,307 $\pm$ 0,138 |  | 0,987 $\pm$ 0,242  |
| <b>1 gün sonra (4°C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 879,26 $\pm$ 9,84    | 0,259 $\pm$ 0,140 |  | 0,697 $\pm$ 0,260  |
| <b>1 hafta sonra (25°C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1068,66 $\pm$ 63,73  | 0,315 $\pm$ 0,120 |  | 1,41 $\pm$ 0,24  |
| 10  | 2135,3 $\pm$ 219,8   | 0,683 $\pm$ 0,097 |  | 1,38 $\pm$ 0,44  |
| 20  | 1112,33 $\pm$ 34,23  | 0,682 $\pm$ 0,060 |  | 0,94 $\pm$ 0,06  |
| 30  | 1572 $\pm$ 19        | 0,406 $\pm$ 0,181 |  | 0,889 $\pm$ 0,150  |
| <b>1 hafta sonra (4°C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| 30  | 1308,33 $\pm$ 44,45  | 0,776 $\pm$ 0,061 |  | 0,356 $\pm$ 0,070  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1160,66 $\pm$ 177,96 | 0,979 $\pm$ 0,028 |  | -2,04 $\pm$ 0,263  |
| 10  | 2803,33 $\pm$ 294,50 | 0,558 $\pm$ 0,262 |  | 4,87 $\pm$ 0,398   |
| 20  | 1288 $\pm$ 56        | 0,622 $\pm$ 0,040 |  | 0,615 $\pm$ 0,217  |
| 30  | 2803,33 $\pm$ 294,47 | 0,356 $\pm$ 0,230 |  | 2,223 $\pm$ 0,568  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 1170,33 $\pm$ 128,60 | 0,776 $\pm$ 0,061 |  | -1,84 $\pm$ 0,64   |

Çizelge 4.40. ZHM: HPMC 4:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)      | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|-----------------------|-------------------|--|--|
| 22,43 $\pm$ 1,28                              | 15000                 | 10                | 11,763 $\pm$ 0,213                       | 3,92 $\pm$ 0,08  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 926,26 $\pm$ 79,48    | 0,395 $\pm$ 0,135 |  | 10,5 $\pm$ 0,4   |
| 10  | 732,06 $\pm$ 89,94    | 0,363 $\pm$ 0,130 |  | 12,5 $\pm$ 1,4   |
| 20  | 592,03 $\pm$ 33,45    | 0,400 $\pm$ 0,008 |  | 14,66 $\pm$ 0,49   |
| 30  | 687,7 $\pm$ 11,94     | 0,442 $\pm$ 0,084 |  | 15,1 $\pm$ 0,7   |
| <b>1 gün sonra (25°C)</b>                     |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 997,5 $\pm$ 49,9      | 0,34 $\pm$ 0,05   |  | 10,5 $\pm$ 0,1   |
| 10  | 971,0 $\pm$ 19,6      | 0,388 $\pm$ 0,024 |  | 11,63 $\pm$ 1,27   |
| 20  | 590,23 $\pm$ 44,47    | 0,395 $\pm$ 0,090 |  | 14,46 $\pm$ 0,84   |
| 30  | 917,86 $\pm$ 58,38    | 0,531 $\pm$ 0,009 |  | 15,1 $\pm$ 0,7   |
| <b>1 gün sonra (4°C)</b>                      |                       |                   |  |  |
| 30  | 578,7 $\pm$ 38,4      | 0,151 $\pm$ 0,090 |  | 15,32 $\pm$ 0,46   |
| <b>1 hafta sonra (25°C)</b>                   |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1000,166 $\pm$ 88,060 | 0,372 $\pm$ 0,240 |  | 3,02 $\pm$ 0,12  |
| 10  | 979,0 $\pm$ 22,3      | 0,456 $\pm$ 0,088 |  | 8,69 $\pm$ 1,85  |
| 20  | 786,4 $\pm$ 169,6     | 0,419 $\pm$ 0,150 |  | 5,32 $\pm$ 1,07  |
| 30  | 1101,33 $\pm$ 44,37   | 0,517 $\pm$ 0,070 |  | 5,41 $\pm$ 1,02  |
| <b>1 hafta sonra (4°C)</b>                    |                       |                   |  |  |
| 30  | 634,86 $\pm$ 14,55    | 0,187 $\pm$ 0,028 |  | 5,1 $\pm$ 0,4  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                       |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)          | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1172,66 $\pm$ 299,52  | 0,897 $\pm$ 0,169 |  | 3,89 $\pm$ 0,41  |
| 10  | 1208 $\pm$ 201        | 0,916 $\pm$ 0,109 |  | 7,42 $\pm$ 0,95  |
| 20  | 819,73 $\pm$ 5,31     | 0,60 $\pm$ 0,06   |  | 6,37 $\pm$ 0,14  |
| 30  | 1331,33 $\pm$ 25,78   | 0,597 $\pm$ 0,262 |  | 2,17 $\pm$ 0,65  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                       |                   |  |  |
| 30  | 1034,3 $\pm$ 22,0     | 0,193 $\pm$ 0,230 |  | 1,85 $\pm$ 0,16  |

Çizelge 4.41. ZHM: HPMC 8:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)    | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|---------------------|-------------------|--|--|
| 21,98 $\pm$ 1,80                              | 15000               | 10                | 10,66 $\pm$ 0,12                         | 3,93 $\pm$ 0,04  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                     |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)        | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 752,63 $\pm$ 48,88  | 0,696 $\pm$ 0,071 |  | 6,18 $\pm$ 0,98  |
| 10  | 705,7 $\pm$ 86,5    | 0,284 $\pm$ 0,086 |  | 9,26 $\pm$ 1,06  |
| 20  | 648,86 $\pm$ 37,04  | 0,454 $\pm$ 0,075 |  | 9,47 $\pm$ 0,19  |
| 30  | 555,43 $\pm$ 21,04  | 0,186 $\pm$ 0,044 |  | 13 $\pm$ 1   |
| <b>1 gün sonra (25°C)</b>                     |                     |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)        | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 725,66 $\pm$ 15,23  | 0,310 $\pm$ 0,171 |  | 4,073 $\pm$ 0,050  |
| 10  | 612,26 $\pm$ 62,35  | 0,173 $\pm$ 0,027 |  | 11,16 $\pm$ 0,45   |
| 20  | 529,13 $\pm$ 19,61  | 0,225 $\pm$ 0,054 |  | 11,5 $\pm$ 0,5   |
| 30  | 426,73 $\pm$ 21,60  | 0,189 $\pm$ 0,055 |  | 6,46 $\pm$ 0,21  |
| <b>1 gün sonra (4°C)</b>                      |                     |                   |  |  |
| 30  | 379,4 $\pm$ 62,0    | 0,127 $\pm$ 0,090 |  | 1,69 $\pm$ 0,78  |
| <b>1 hafta sonra (25°C)</b>                   |                     |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)        | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 867,73 $\pm$ 69,14  | 0,348 $\pm$ 0,217 |  | 7,49 $\pm$ 0,36  |
| 10  | 833,56 $\pm$ 71,71  | 0,483 $\pm$ 0,104 |  | 7,23 $\pm$ 0,46  |
| 20  | 713,93 $\pm$ 39,29  | 0,214 $\pm$ 0,078 |  | 3,52 $\pm$ 0,52  |
| 30  | 669,33 $\pm$ 10,65  | 0,177 $\pm$ 0,032 |  | 10,9 $\pm$ 0,6   |
| <b>1 hafta sonra (4°C)</b>                    |                     |                   |  |  |
| 30  | 610,46 $\pm$ 20,46  | 0,114 $\pm$ 0,103 |  | 3,866 $\pm$ 0,447  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                     |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)        | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1884,33 $\pm$ 32,83 | 0,89 $\pm$ 0,03   |  | 0,913 $\pm$ 0,577  |
| 10  | 970,46 $\pm$ 41,15  | 0,614 $\pm$ 0,181 |  | 7,003 $\pm$ 0,235  |
| 20  | 962,96 $\pm$ 72,94  | 0,683 $\pm$ 0,057 |  | 4,13 $\pm$ 0,69  |
| 30  | 910,03 $\pm$ 10,82  | 0,690 $\pm$ 0,050 |  | 4,8 $\pm$ 0,49   |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                     |                   |  |  |
| 30  | 859,13 $\pm$ 33,00  | 0,881 $\pm$ 0,011 |  | -8,38 $\pm$ 1,62   |

PVP K30 içeren ZHM nanokristallerinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

ZHM nanokristallerini hazırlamak için kullanılan PVP K30 ile ilgili sonuçlar Çizelge 4.42-46'de verilmektedir.

Çizelge 4.42. ZHM: PVP K30 1:2 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 20,84 $\pm$ 0,45                              | 15000                | 10                | 10,446 $\pm$ 0,607                       | 3,706 $\pm$ 0,251  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 924 $\pm$ 166        | 0,582 $\pm$ 0,095 |  | 21,03 $\pm$ 1,94   |
| 10  | 817,1 $\pm$ 39,3     | 0,282 $\pm$ 0,135 |  | 20,76 $\pm$ 0,76   |
| 20  | 815,3 $\pm$ 152,2    | 0,708 $\pm$ 0,035 |  | 13,7 $\pm$ 0,35  |
| 30  | 451,93 $\pm$ 30,08   | 0,436 $\pm$ 0,067 |  | 22,03 $\pm$ 0,78   |
| <b>1 gün sonra (25°C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 922,06 $\pm$ 35,85   | 0,76 $\pm$ 0,02   |  | 28,33 $\pm$ 1,01   |
| 10  | 1305,36 $\pm$ 314,80 | 0,963 $\pm$ 0,027 |  | 22,2 $\pm$ 0,7   |
| 20  | 1014,56 $\pm$ 81,50  | 0,547 $\pm$ 0,162 |  | 22,06 $\pm$ 1,00   |
| 30  | 484,76 $\pm$ 34,89   | 0,413 $\pm$ 0,112 |  | 12,26 $\pm$ 0,91   |
| <b>1 gün sonra (4°C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 536,03 $\pm$ 8,51    | 0,324 $\pm$ 0,024 |  | 24,33 $\pm$ 1,50   |
| <b>1 hafta sonra (25°C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1866,3 $\pm$ 385,6   | 0,968 $\pm$ 0,055 |  | 21,56 $\pm$ 0,93   |
| 10  | 1777,3 $\pm$ 205,1   | 1,00 $\pm$ 0,00   |  | 18,8 $\pm$ 0,1   |
| 20  | 1011,4 $\pm$ 49,6    | 0,862 $\pm$ 0,234 |  | 19,16 $\pm$ 0,72   |
| 30  | 857,1 $\pm$ 333,8    | 0,627 $\pm$ 0,360 |  | 19,8 $\pm$ 0,8   |
| <b>1 hafta sonra (4°C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| 30  | 585,16 $\pm$ 36,89   | 0,419 $\pm$ 0,167 |  | 22,36 $\pm$ 0,929  |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 2438,33 $\pm$ 200,06 | 1,00 $\pm$ 0,00   |  | -0,833 $\pm$ 0,115                                       |
| 10  | 2673,54 $\pm$ 194,37 | 1,00 $\pm$ 0,00   |  | -0,513 $\pm$ 0,067                                       |
| 20  | 2596 $\pm$ 184       | 1,00 $\pm$ 0,00   |  | -1,02 $\pm$ 0,05   |
| 30  | 1513 $\pm$ 215       | 0,959 $\pm$ 0,070 |  | -1,19 $\pm$ 0,13   |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 821,4 $\pm$ 32,9     | 0,710 $\pm$ 0,163 |  | 3,38 $\pm$ 0,22  |

Çizelge 4.43. ZHM: PVP K30 1:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 21,84 $\pm$ 1,74                              | 15000                | 10                | 12,193 $\pm$ 2,242                       | 3,853 $\pm$ 0,550  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 649,8 $\pm$ 31,4     | 0,394 $\pm$ 0,035 |  | 23,4 $\pm$ 0,3   |
| 10  | 495,56 $\pm$ 21,08   | 0,257 $\pm$ 0,020 |  | 25,46 $\pm$ 0,40   |
| 20  | 417,96 $\pm$ 26,33   | 0,301 $\pm$ 0,012 |  | 29,33 $\pm$ 1,16   |
| 30  | 364,3 $\pm$ 17,9     | 0,232 $\pm$ 0,048 |  | 26,8 $\pm$ 0,5   |
| <b>1 gün sonra (25°C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 757,8 $\pm$ 58,0     | 0,190 $\pm$ 0,029 |  | 27,8 $\pm$ 1,1   |
| 10  | 611,93 $\pm$ 40,23   | 0,201 $\pm$ 0,136 |  | 27,9 $\pm$ 0,4   |
| 20  | 484,33 $\pm$ 5,50    | 0,331 $\pm$ 0,146 |  | 20,33 $\pm$ 0,50   |
| 30  | 588,16 $\pm$ 25,21   | 0,385 $\pm$ 0,167 |  | 18,0 $\pm$ 0,4   |
| <b>1 gün sonra (4°C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 457,7 $\pm$ 10,6     | 0,239 $\pm$ 0,023 |  | 15,06 $\pm$ 0,12   |
| <b>1 hafta sonra (25°C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 997,1 $\pm$ 25,0     | 0,536 $\pm$ 0,078 |  | 18,5 $\pm$ 0,2   |
| 10  | 767,1 $\pm$ 88,9     | 0,585 $\pm$ 0,066 |  | 21,1 $\pm$ 0,8   |
| 20  | 595,133 $\pm$ 20,200 | 0,438 $\pm$ 0,017 |  | 21,53 $\pm$ 1,00   |
| 30  | 720,23 $\pm$ 25,70   | 0,528 $\pm$ 0,013 |  | 21,83 $\pm$ 2,27   |
| <b>1 hafta sonra (4°C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| 30  | 534,26 $\pm$ 78,44   | 0,553 $\pm$ 0,126 |  | 25,3 $\pm$ 0,9   |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1105 $\pm$ 110       | 0,794 $\pm$ 0,084 |  | 13,96 $\pm$ 0,20   |
| 10  | 780,8 $\pm$ 83,6     | 0,576 $\pm$ 0,141 |  | 10,99 $\pm$ 0,19   |
| 20  | 666,16 $\pm$ 55,92   | 0,483 $\pm$ 0,122 |  | 17,6 $\pm$ 2,9   |
| 30  | 753,6 $\pm$ 48,5     | 0,543 $\pm$ 0,050 |  | 15,98 $\pm$ 0,47   |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 677,86 $\pm$ 13,03   | 0,326 $\pm$ 0,057 |  | 14,53 $\pm$ 0,26   |

Çizelge 4.44. ZHM: PVP K30 2:1 naosüspansiyonunun karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 20,063 $\pm$ 1,778                            | 15000                | 10                | 10,79 $\pm$ 1,13                         | 3,70 $\pm$ 0,70  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1040,33 $\pm$ 36,07  | 0,975 $\pm$ 0,043 |  | 27,933 $\pm$ 0,378                                       |
| 10  | 1173,7 $\pm$ 20,7    | 0,711 $\pm$ 0,067 |  | 26,4 $\pm$ 0,9   |
| 20  | 811,4 $\pm$ 86,4     | 0,632 $\pm$ 0,045 |  | 28,23 $\pm$ 1,04   |
| 30  | 680,83 $\pm$ 265,60  | 0,630 $\pm$ 0,029 |  | 29,43 $\pm$ 1,26   |
| <b>1 gün sonra (25°C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1460 $\pm$ 67        | 1 $\pm$ 0         |  | 29,1 $\pm$ 3,0   |
| 10  | 1080 $\pm$ 153       | 0,790 $\pm$ 0,042 |  | 26,03 $\pm$ 0,85   |
| 20  | 890,46 $\pm$ 145,97  | 0,517 $\pm$ 0,061 |  | 25,96 $\pm$ 0,45   |
| 30  | 711,23 $\pm$ 45,95   | 0,277 $\pm$ 0,060 |  | 32,46 $\pm$ 2,56   |
| <b>1 gün sonra (4°C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 858,16 $\pm$ 105,38  | 0,766 $\pm$ 0,136 |  | 27,7 $\pm$ 0,556   |
| <b>1 hafta sonra (25°C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 972,36 $\pm$ 106,69  | 0,863 $\pm$ 0,147 |  | 28,96 $\pm$ 0,59   |
| 10  | 1292,66 $\pm$ 36,22  | 0,786 $\pm$ 0,100 |  | 22,9 $\pm$ 0,9   |
| 20  | 849,6 $\pm$ 80,4     | 0,674 $\pm$ 0,092 |  | 25,066 $\pm$ 0,472                                       |
| 30  | 757,73 $\pm$ 21,01   | 0,439 $\pm$ 0,049 |  | 25,63 $\pm$ 0,68   |
| <b>1 hafta sonra (4°C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| 30  | 878,76 $\pm$ 43,98   | 0,640 $\pm$ 0,085 |  | 27,4 $\pm$ 0,9   |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1357,66 $\pm$ 135,00 | 1 $\pm$ 0         |  | 18,16 $\pm$ 0,45   |
| 10  | 1323,66 $\pm$ 211,85 | 1 $\pm$ 0         |  | 9,53 $\pm$ 1,180   |
| 20  | 908,7 $\pm$ 50,1     | 0,435 $\pm$ 0,094 |  | 7,633 $\pm$ 0,693  |
| 30  | 853,53 $\pm$ 87,47   | 0,611 $\pm$ 0,190 |  | 8,413 $\pm$ 0,335  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 978,5 $\pm$ 24,9     | 0,675 $\pm$ 0,086 |  | 9,76 $\pm$ 1,62  |

Çizelge 4.45. ZHM: PVP K30 4:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 21,876 $\pm$ 1,465                            | 15000                | 10                | 9,923 $\pm$ 1,006                        | 3,703 $\pm$ 0,305  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 852,1 $\pm$ 27,4     | 0,605 $\pm$ 0,164 |  | 20,36 $\pm$ 2,31   |
| 10  | 744,56 $\pm$ 13,54   | 0,239 $\pm$ 0,119 |  | 29,1 $\pm$ 0,5   |
| 20  | 623,23 $\pm$ 8,54    | 0,579 $\pm$ 0,085 |  | 28,03 $\pm$ 1,27   |
| 30  | 575,9 $\pm$ 29,9     | 0,413 $\pm$ 0,068 |  | 27,53 $\pm$ 0,71   |
| <b>1 gün sonra (25°C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 953,7 $\pm$ 118,7    | 0,613 $\pm$ 0,052 |  | 25,13 $\pm$ 4,12   |
| 10  | 839,06 $\pm$ 34,36   | 0,538 $\pm$ 0,025 |  | 26,03 $\pm$ 0,85   |
| 20  | 773,4 $\pm$ 95,1     | 0,496 $\pm$ 0,047 |  | 25,96 $\pm$ 0,45   |
| 30  | 607,76 $\pm$ 66,76   | 0,477 $\pm$ 0,056 |  | 25,46 $\pm$ 2,58   |
| <b>1 gün sonra (4°C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 523,13 $\pm$ 27,10   | 0,615 $\pm$ 0,094 |  | 29,9 $\pm$ 0,9   |
| <b>1 hafta sonra (25°C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1081,16 $\pm$ 137,13 | 0,47 $\pm$ 0,22   |  | 27,26 $\pm$ 0,84   |
| 10  | 1327 $\pm$ 107       | 0,968 $\pm$ 0,048 |  | 26,8 $\pm$ 1,3   |
| 20  | 724,73 $\pm$ 104,98  | 0,508 $\pm$ 0,135 |  | 22,0 $\pm$ 0,6   |
| 30  | 614,83 $\pm$ 62,48   | 0,405 $\pm$ 0,191 |  | 23,96 $\pm$ 0,31   |
| <b>1 hafta sonra (4°C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| 30  | 610,46 $\pm$ 39,09   | 0,854 $\pm$ 0,061 |  | 27,7 $\pm$ 0,6   |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1182,6 $\pm$ 64,1    | 0,673 $\pm$ 0,111 |  | 13,83 $\pm$ 0,15   |
| 10  | 1492,33 $\pm$ 264,22 | 0,941 $\pm$ 0,092 |  | 13,36 $\pm$ 0,25   |
| 20  | 782,46 $\pm$ 48,46   | 0,407 $\pm$ 0,072 |  | 11,33 $\pm$ 0,89   |
| 30  | 718,9 $\pm$ 45,3     | 0,391 $\pm$ 0,059 |  | 15,83 $\pm$ 0,35   |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 749,13 $\pm$ 9,92    | 0,538 $\pm$ 0,096 |  | 22,86 $\pm$ 0,71   |

Çizelge 4.46. ZHM: PVP K30 8:1 nanokristalinin karakterizasyonu ve kısa süreli fiziksel stabilite sonuçları

| Başlangıç PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | Devir hızı (rpm)     | Zaman (dk)        | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB ( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |
|---|----------------------|-------------------|--|--|
| 22,833 $\pm$ 1,950                            | 15000                | 10                | 9,902 $\pm$ 0,105                        | 3,606 $\pm$ 0,667  |
| <b>30000 PSI basınç altında 0. gün</b>        |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1021,8 $\pm$ 72,6    | 0,861 $\pm$ 0,240 |  | 31,83 $\pm$ 1,49   |
| 10  | 866,56 $\pm$ 136,42  | 0,529 $\pm$ 0,372 |  | 29,03 $\pm$ 1,12   |
| 20  | 640,33 $\pm$ 62,62   | 0,616 $\pm$ 0,030 |  | 27,66 $\pm$ 1,20   |
| 30  | 731,16 $\pm$ 38,60   | 0,646 $\pm$ 0,062 |  | 29,8 $\pm$ 1,3   |
| <b>1 gün sonra (25°C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1074,1 $\pm$ 76,4    | 0,937 $\pm$ 0,076 |  | 31,03 $\pm$ 1,55   |
| 10  | 904,33 $\pm$ 88,50   | 0,975 $\pm$ 0,004 |  | 32,7 $\pm$ 0,6   |
| 20  | 923,16 $\pm$ 17,73   | 0,749 $\pm$ 0,082 |  | 22,7 $\pm$ 0,6   |
| 30  | 752,93 $\pm$ 7,66    | 0,433 $\pm$ 0,041 |  | 27,7 $\pm$ 0,8   |
| <b>1 gün sonra (4°C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 745,7 $\pm$ 28,4     | 0,496 $\pm$ 0,290 |  | 29,1 $\pm$ 1,6   |
| <b>1 hafta sonra (25°C)</b>                   |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1318 $\pm$ 249       | 0,963 $\pm$ 0,141 |  | 9,41 $\pm$ 0,56  |
| 10  | 914,66 $\pm$ 119,90  | 0,942 $\pm$ 0,193 |  | 3,096 $\pm$ 0,546  |
| 20  | 1049,33 $\pm$ 35,36  | 0,721 $\pm$ 0,161 |  | 13,68 $\pm$ 1,94   |
| 30  | 760,2 $\pm$ 48,8     | 0,646 $\pm$ 0,062 |  | 9,30 $\pm$ 0,89  |
| <b>1 hafta sonra (4°C)</b>                    |                      |                   |  |  |
| 30  | 731,76 $\pm$ 7,23    | 0,301 $\pm$ 0,071 |  | 12,09 $\pm$ 1,36   |
| <b>1 ay sonra (25 °C)</b>                     |                      |                   |  |  |
| Geçiş sayısı                                  | Ort. PB (nm)         | PDI               |  | ZP (mV)  |
| 5   | 1708,3 $\pm$ 98,7    | 0,673 $\pm$ 0,111 |  | 3,95 $\pm$ 0,54  |
| 10  | 1073,03 $\pm$ 119,90 | 0,935 $\pm$ 0,355 |  | 3,29 $\pm$ 0,55  |
| 20  | 1200,33 $\pm$ 46,82  | 0,685 $\pm$ 0,112 |  | 7,176 $\pm$ 0,241  |
| 30  | 850,2 $\pm$ 34,7     | 0,609 $\pm$ 0,019 |  | 7,41 $\pm$ 0,35  |
| <b>1 ay sonra (4 °C)</b>                      |                      |                   |  |  |
| 30  | 927,9 $\pm$ 38,9     | 0,361 $\pm$ 0,051 |  | 22,86 $\pm$ 0,71   |

#### 4.3.5. Nanokristal formülasyonlarının genel değerlendirilmesi

Tween 80, Poloksamer 188, Vitamin E TPGS, PVP K30 ve HPMC stabilizanları ile 1:2, 2:1, 1:1, 4:1 8:1 oranlarında etkin madde stabilizan oranlarında ve 5,10,20 ve 30 geçiş sayılarında nanokristal formülasyonları hazırlanıp karakterize edilerek kısa süreli fiziksel stabilite çalışmaları yapılmıştır.

Formülasyonların karakterizasyonu PB, PDI ve ZP değerleri açısından değerlendirilmiş olup bu değerler bir gün, bir hafta ve bir ay aralıklarıyla takip edilmiştir. Nanokristaller öncelikle ultraturaks ile ön partikül küçültme işlemine tabi olmuş ve sonrasında mikrofluidizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Mikrofluidizasyon işlemi ile yapılan bir geçiş sonrasında <1000 nm boyutu elde edilemez iken 5 geçiş sonrası nanokristal elde edilmiştir. Genel olarak 5 ve 10 geçiş arasında partikül büyüklüklerinde çok fark olmaz iken en fazla partikül boyutu küçülmesi 30 geçiş sonrasında gerçekleşmiştir. Yüzey etkin madde içeren formülasyonlarda 20 ve 30 geçiş arasında PB açısından anlamlı fark bulunurken polimer içeren formülasyonların 20 ve 30 geçiş sonrası PB açısından sonuçları anlamlı görülmemiştir ( $p>0,05$ ).

#### 4.3.6. Nanosüspansiyon formülasyonlarında deney tasarımı (DoE) uygulaması

Nanokristal formülasyonlarında yüzey etkin maddeve polimer içerenler ile hazırlananlar değerlendirilmiştir. Deney tasarımı ile oluşturulan deney düzenine göre deneyler tamamlandıktan sonra istatistiksel çalışmalar yapılmıştır. Deney tasarımı yaklaşımında yüzey etkin madde/polimer tipi ve oranı bağımlı değişken olurken, partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağımı ve zeta potansiyel değerleri bağımsız değişkenler olarak seçilmiştir. Bölüm 3.2.3.'de verilen deney tasarımı yaklaşımına göre yapılan deneylerin sonuçları Çizelge 4.47'de verilmektedir.

Çizelge 4.47. Deney tasarımı ile yapılan deneylerin bağımlı değişken sonuçları

| Deney No | YEM Tipi       | ZHM:YEM oranı | PB (nm) | PDI   | ZP (mV) |
|----------|----------------|---------------|---------|-------|---------|
| 1        | Tween 80       | 8:1           | 598,2   | 0,427 | 34      |
| 2        | Vit E TPGS     | 4:1           | 559,6   | 0,478 | 33,2    |
| 3        | Tween 80       | 4:1           | 568,4   | 0,307 | 33,9    |
| 4        | Tween 80       | 8:1           | 648,1   | 0,417 | 39      |
| 5        | Poloksamer 188 | 8:1           | 815,8   | 0,221 | 43,1    |
| 6        | Vit E TPGS     | 8:1           | 618,6   | 0,435 | 13      |
| 7        | Tween 80       | 2:1           | 579     | 0,238 | 37,6    |
| 8        | Vit E TPGS     | 4:1           | 556,7   | 0,42  | 32,9    |
| 9        | Vit E TPGS     | 4:1           | 688,7   | 0,335 | 29,9    |
| 10       | Tween 80       | 2:1           | 568,7   | 0,316 | 38,6    |
| 11       | Tween 80       | 1:2           | 455,6   | 0,316 | 33,6    |
| 12       | Poloksamer 188 | 8:1           | 735,2   | 0,24  | 44,2    |
| 13       | Tween 80       | 8:1           | 596,6   | 0,314 | 34,2    |
| 14       | Tween 80       | 4:1           | 537,1   | 0,365 | 37,2    |
| 15       | Poloksamer 188 | 2:1           | 676,5   | 0,278 | 33,4    |
| 16       | Vit E TPGS     | 8:1           | 646,5   | 0,607 | 13,5    |
| 17       | Tween 80       | 4:1           | 515,1   | 0,437 | 35,2    |
| 18       | Tween 80       | 2:1           | 564     | 0,246 | 37,5    |
| 19       | Vit E TPGS     | 1:1           | 688,3   | 0,414 | 32,3    |
| 20       | Vit E TPGS     | 8:1           | 762     | 0,513 | 14,4    |
| 21       | Tween 80       | 1:1           | 510,7   | 0,357 | 30,2    |
| 22       | Tween 80       | 1:2           | 457,5   | 0,389 | 32,9    |
| 23       | Poloksamer 188 | 8:1           | 865,2   | 0,183 | 38,8    |
| 24       | Vit E TPGS     | 2:1           | 688,3   | 0,414 | 32,3    |
| 25       | Poloksamer 188 | 2:1           | 712,6   | 0,351 | 34,6    |
| 26       | Poloksamer 188 | 2:1           | 794,4   | 0,727 | 34,2    |
| 27       | Vit E TPGS     | 2:1           | 669,3   | 0,438 | 33      |
| 28       | Tween 80       | 1:2           | 471,9   | 0,351 | 33      |
| 29       | Poloksamer 188 | 1:1           | 1564    | 0,851 | 31,9    |
| 30       | Poloksamer 188 | 4:1           | 704,6   | 0,46  | 35,4    |
| 31       | Vit E TPGS     | 2:1           | 601,5   | 0,379 | 32      |
| 32       | Tween 80       | 1:1           | 510,2   | 0,379 | 32,6    |
| 33       | Poloksamer 188 | 1:1           | 2101    | 0,855 | 31,5    |
| 34       | Tween 80       | 1:1           | 540     | 0,397 | 30,7    |
| 35       | Poloksamer 188 | 4:1           | 691,4   | 0,36  | 36,3    |
| 36       | Vit E TPGS     | 1:1           | 669,3   | 0,438 | 33      |
| 37       | Poloksamer 188 | 1:1           | 1276    | 0,717 | 31,4    |
| 38       | Poloksamer 188 | 1:2           | 613,4   | 0,426 | 40,7    |
| 39       | Vit E TPGS     | 1:1           | 601,5   | 0,379 | 32      |
| 40       | Vit E TPGS     | 1:2           | 517,1   | 0,308 | 32,7    |
| 41       | Poloksamer 188 | 1:2           | 568,3   | 0,422 | 39,6    |
| 42       | Poloksamer 188 | 1:2           | 529,5   | 0,423 | 40      |
| 43       | Vit E TPGS     | 1:2           | 506,7   | 0,326 | 33,9    |
| 44       | Vit E TPGS     | 1:2           | 492,6   | 0,336 | 32,2    |
| 45       | Poloksamer 188 | 4:1           | 698,7   | 0,457 | 35,6    |

Çizelge 4.47. (devam) Deney tasarımı ile yapılan deneylerin bağımlı değişken sonuçları

| Deney No | Polimer Tipi | ZHM:Polimer oranı | PB (nm) | PDI   | ZP (mV) |
|----------|--------------|-------------------|---------|-------|---------|
| 46       | PVP K30      | 8:1               | 589,5   | 0,646 | 26,5    |
| 47       | HPMC         | 8:1               | 623,7   | 0,408 | 9,58    |
| 48       | PVP K30      | 4:1               | 627,4   | 0,49  | 27,3    |
| 49       | HPMC         | 4:1               | 629,8   | 0,399 | 15      |
| 50       | PVP K30      | 8:1               | 610,1   | 0,58  | 26,5    |
| 51       | PVP K30      | 4:1               | 628,9   | 0,66  | 27,3    |
| 52       | HPMC         | 8:1               | 691,4   | 0,541 | 9,26    |
| 53       | HPMC         | 4:1               | 566,1   | 0,393 | 14,9    |
| 54       | HPMC         | 8:1               | 631,5   | 0,414 | 9,59    |
| 55       | PVP K30      | 8:1               | 620,5   | 0,623 | 28,9    |
| 56       | HPMC         | 2:1               | 668,4   | 0,137 | 1,14    |
| 57       | HPMC         | 1:1               | 814,3   | 0,19  | 8,76    |
| 58       | PVP K30      | 2:1               | 723,7   | 0,469 | 27,9    |
| 59       | PVP K30      | 4:1               | 613,4   | 0,589 | 29,5    |
| 60       | HPMC         | 4:1               | 580,2   | 0,41  | 14,1    |
| 61       | PVP K30      | 1:1               | 447,2   | 0,313 | 28      |
| 62       | PVP K30      | 2:1               | 814     | 0,678 | 27,4    |
| 63       | HPMC         | 1:1               | 777,6   | 0,246 | 9,16    |
| 64       | HPMC         | 2:1               | 727,7   | 0,132 | 1,04    |
| 65       | PVP K30      | 2:1               | 896,5   | 0,749 | 29,4    |
| 66       | HPMC         | 2:1               | 772,9   | 0,049 | 0,939   |
| 67       | HPMC         | 1:1               | 844,9   | 0,207 | 8,63    |
| 68       | HPMC         | 1:2               | 707,9   | 0,411 | 13,9    |
| 69       | PVP K30      | 1:1               | 410,6   | 0,302 | 29,9    |
| 70       | PVP K30      | 1:1               | 396,1   | 0,289 | 30,1    |
| 71       | HPMC         | 1:2               | 625,6   | 0,53  | 15,7    |
| 72       | PVP K30      | 1:2               | 829,7   | 0,739 | 13,3    |
| 73       | HPMC         | 1:2               | 617,5   | 0,414 | 13,6    |
| 74       | PVP K30      | 1:2               | 959,8   | 0,826 | 13,9    |
| 75       | PVP K30      | 1:2               | 656,4   | 0,56  | 13,9    |

#### 4.3.7. Yüzey etkin madde içeren nanosüspansiyon formülasyonunun istatistiksel açıdan değerlendirilmesi

##### Geçiş sayıları açısından karşılaştırılma

Yüzey etkin madde içeren formülasyonlarda elde edilen bağımlı değişkenler olan PB, PDI ve ZP değerleri göz önüne alınarak geçiş sayıları arasında farkların değerlendirilmesinde tek yönlü ANOVA testi yapılmıştır. Farklı geçiş sayılarında tespit edilen PB, PDI ve zeta değerleri için tanımlayıcı istatistiksel değerlendirmeler Çizelge 4.48’de verilmektedir.

Çizelge 4.48. Yüzey etkin madde ile hazırlanan nanokristaller için tanımlayıcı istatistikler değerlendirmeler

|            |          | N  | Ort.   | SS    | SH    | %95 G.A   |           | En Düşük | En Yüksek |
|------------|----------|----|--------|-------|-------|-----------|-----------|----------|-----------|
|            |          |    |        |       |       | Alt Sınır | Üst Sınır |          |           |
| PB<br>(nm) | 5 Geçiş  | 45 | 1120,4 | 284,6 | 42,9  | 1033,88   | 1206,951  | 736,6    | 2067,0    |
|            | 10 Geçiş | 45 | 936,7  | 245,7 | 36,6  | 862,957   | 1010,611  | 507,9    | 1574,0    |
|            | 20 Geçiş | 45 | 799,3  | 400,9 | 59,7  | 678,876   | 919,772   | 468,7    | 2378,0    |
|            | 30 Geçiş | 45 | 677,2  | 292,3 | 43,5  | 589,411   | 765,050   | 455,6    | 2101,0    |
| PDI        | 5 Geçiş  | 45 | 0,515  | 0,222 | 0,033 | 0,448     | 0,583     | 0,104    | 0,939     |
|            | 10 Geçiş | 45 | 0,469  | 0,157 | 0,023 | 0,422     | 0,517     | 0,158    | 0,858     |
|            | 20 Geçiş | 45 | 0,439  | 0,200 | 0,029 | 0,379     | 0,500     | 0,182    | 0,962     |
|            | 30 Geçiş | 45 | 0,387  | 0,156 | 0,023 | 0,340     | 0,434     | 0,183    | 0,855     |
| ZP<br>(mV) | 5 Geçiş  | 45 | 32,4   | 7,1   | 1,070 | 30,324    | 34,643    | 17,20    | 45,90     |
|            | 10 Geçiş | 45 | 35,2   | 4,9   | 0,724 | 33,805    | 36,723    | 27,50    | 47,30     |
|            | 20 Geçiş | 45 | 35,9   | 4,9   | 0,734 | 34,4734   | 37,433    | 28,20    | 45,40     |
|            | 30 Geçiş | 45 | 33,8   | 6,6   | 0,984 | 31,871    | 35,839    | 13,00    | 44,20     |

Yüzey etkin maddelerin farklı tip ve oranlarında hazırlanan nanosüspansiyonların tamamı ele alındığında tüm geçiş sayılarında 1000 nm civarında ve altında partiküller elde edildiği Çizelge 4.48’de görülmektedir. PDI değerleri 5 geçişte diğer geçişlere kıyasla daha yüksek görülmüştür. Zeta potansiyel değerleri de 32-36 mV arasında değişmektedir. 20 ve 30 geçişleri en düşük partikül büyüklüğünün elde edildiği geçişlerdir. Ayrıca PDI değeri bu geçişlerde 0,1-0,4 arasında çıkmıştır. Geçiş sayıları açısından gruplar arasında farkın olup olmadığı tespit etmek için tek yönlü ANOVA testi yapılmıştır (Çizelge 4.49)

Çizelge 4.49. Yüzey etkin madde ile hazırlanan nanokristallerde geçiş sayıları arasındaki fark analizi - Tek Yönlü ANOVA sonuçları

|     |               | Kareler<br>Toplamı | Ortalama<br>Kare | F      | Anlamlılık |
|-----|---------------|--------------------|------------------|--------|------------|
| PB  | Gruplar arası | 4830561,672        | 1610187,224      | 16,602 | 0,000      |
|     | Grup içi      | 16972362,798       | 96984,930        |        |            |
|     | Toplam        | 21802924,469       |                  |        |            |
| PDI | Gruplar arası | 0,389              | 0,130            | 3,740  | 0,012      |
|     | Grup içi      | 6,062              | 0,035            |        |            |
|     | Toplam        | 6,451              |                  |        |            |
| ZP  | Gruplar arası | 317,055            | 105,685          | 2,986  | 0,033      |
|     | Grup içi      | 6193,525           | 35,392           |        |            |
|     | Toplam        | 6510,580           |                  |        |            |

ANOVA Analiz sonuçlarına göre partikül büyüklüğünün, partikül büyüklüğü dağılımının ve zeta potansiyel değerlerinin geçiş sayısına göre gruplar arasında anlamlı olarak değiştiği

görüldü. Bu nedenle Levene Testi yapılarak gruplar arasındaki varyansların homojen olarak dağılıp dağılmadığı kontrol edilmiştir (Çizelge 4.50).

Çizelge 4.50. Yüzey etkin madde içeren nanokristallerin geçiş sayıları açısından varyansların homojenliği test sonuçları – Levene testi

| Bağımlı Değişkenler | Levene İstatistiği | Anlamlılık |
|---------------------|--------------------|------------|
| <b>PB (nm)</b>      | 1,057              | 0,367      |
| <b>PDI</b>          | 4,116              | 0,008      |
| <b>ZP (mV)</b>      | 1,492              | 0,218      |

Levene testine göre PB ve ZP varyanslarının homojen, PDI değerlerinin heterojen dağıldığı görüldü ( $p < 0,05$ ). Homojen dağılan varyanslarda hangi gruplar arasında farklılık olduğunu tespit etmek için post hoc olarak Tukey ve heterojen dağılan varyanslarda hangi gruplar arasında farklılık olduğunu tespit etmek için post hoc olarak Tamhane testi yapıldı (Çizelge 4.51).

Çizelge 4.51. Yüzey etkin madde ile hazırlanan nanokristallerde geçiş sayıları çoklu karşılaştırmaları – Tamhane testi

| Bağımlı Değişken |           | Ortalama Fark | ±SH      | Anlamlılık |         |       |
|------------------|-----------|---------------|----------|------------|---------|-------|
| <b>PB</b>        | Tukey HSD | 10 Geçiş      | 183,6    | 66,026     | 0,030   |       |
|                  |           | 5 Geçiş       | 20 Geçiş | 321,0      | 66,026  | 0,000 |
|                  |           |               | 30 Geçiş | 443,2      | 66,026  | 0,000 |
|                  |           |               | 5 Geçiş  | -183,6     | 66,026  | 0,030 |
|                  |           | 10 Geçiş      | 20 Geçiş | 137,46     | 65,653  | 0,159 |
|                  |           |               | 30 Geçiş | 259,5      | 65,653  | 0,001 |
|                  | 5 Geçiş   |               | -321,0   | 66,026     | 0,000   |       |
|                  | 20 Geçiş  | 10 Geçiş      | -137,4   | 65,653     | 0,159   |       |
|                  |           | 30 Geçiş      | 122,0    | 65,653     | 0,249   |       |
|                  |           | 30 Geçiş      | 5 Geçiş  | -443,2     | 66,026  | 0,000 |
|                  |           |               | 10 Geçiş | -259,5     | 65,653  | 0,001 |
|                  |           |               | 20 Geçiş | -122,0     | 65,653  | 0,249 |
| <b>PDI</b>       |           | Tamhane       | 10 Geçiş | 0,046      | ,039460 | 0,647 |
|                  | 5 Geçiş   |               | 20 Geçiş | 0,076      | ,039460 | 0,221 |
|                  |           |               | 30 Geçiş | 0,128      | ,039460 | 0,007 |
|                  |           |               | 5 Geçiş  | -0,046     | ,039460 | 0,647 |
|                  | 10 Geçiş  |               | 20 Geçiş | 0,029      | ,039238 | 0,872 |
|                  |           |               | 30 Geçiş | 0,082      | ,039238 | 0,157 |
|                  |           | 5 Geçiş       | -0,0759  | ,039460    | 0,221   |       |
|                  | 20 Geçiş  | 10 Geçiş      | -0,029   | ,039238    | 0,872   |       |
|                  |           | 30 Geçiş      | 0,052    | ,039238    | 0,538   |       |
|                  |           | 30 Geçiş      | 5 Geçiş  | -0,128     | ,039460 | 0,007 |
|                  |           |               | 10 Geçiş | -0,082     | ,039238 | 0,157 |
|                  |           |               | 20 Geçiş | -0,052     | ,039238 | 0,538 |

Çizelge 4.51. (devam) Yüzey etkin madde ile hazırlanan nanokristallerde geçiş sayıları çoklu karşılaştırmaları – Tamhane testi

|           |           |          |          |        |         |       |
|-----------|-----------|----------|----------|--------|---------|-------|
| <b>ZP</b> | Tukey HSD | 5 Geçiş  | 10 Geçiş | -2,780 | 1,29264 | 0,191 |
|           |           |          | 20 Geçiş | -3,469 | 1,29843 | 0,054 |
|           |           |          | 30 Geçiş | -1,371 | 1,45450 | 0,923 |
|           |           | 10 Geçiş | 5 Geçiş  | 2,780  | 1,29264 | 0,191 |
|           |           |          | 20 Geçiş | -0,688 | 1,03123 | 0,985 |
|           |           |          | 30 Geçiş | 1,408  | 1,22192 | 0,825 |
|           |           | 20 Geçiş | 5 Geçiş  | 3,469  | 1,29843 | 0,054 |
|           |           |          | 10 Geçiş | 0,688  | 1,03123 | 0,985 |
|           |           |          | 30 Geçiş | 2,097  | 1,22804 | 0,437 |
|           |           | 30 Geçiş | 5 Geçiş  | 1,371  | 1,45450 | 0,923 |
|           |           |          | 10 Geçiş | -1,408 | 1,22192 | 0,825 |
|           |           |          | 20 Geçiş | -2,097 | 1,22804 | 0,437 |

Partikül büyüklükleri bakımından farklı geçiş sayıları karşılaştırıldığında 20 ve 30 geçiş sayısının birbiriyle istatistiksel açıdan anlamlı farka sahip olduğu görülmektedir. 10 geçiş sayısında da 5 geçiş sayısına göre anlamlı olarak daha küçük partikül büyüklüğü elde edildi. 10 geçiş ve 20 geçiş arasında partikül büyüklüğü açısından anlamlı fark olmamasına rağmen 20 ve 30 geçiş arasında anlamlı fark olması en çok 30 geçişte daha küçük partikül büyüklüğü elde edilmesi nedeniyle partikül büyüklüğü açısından optimum geçiş olarak 30 geçiş düşünüldü. Partikül büyüklüğü dağılımında ise, 5 ve 30 geçiş arasında anlamlı fark olurken diğer geçişler arasında anlamlı farkın olmaması aynı şekilde 30 geçişin uygun olduğunu gösterdi. Zeta potansiyel değeri ise tüm geçişler arasında anlamlı fark göstermedi yani geçiş sayısından zeta potansiyel değeri etkilenmedi.

#### Stabilizan tipi ve oranının seçilmesi

En uygun partikül büyüklüğü ve partikül büyüklüğü dağılımını sağlayan 30 geçiş değerlerinden stabilizan tip ve oranının seçilmesi için faktöriyel analiz yapılmıştır. Bu amaçla bağımlı ve bağımsız değişkenler ele alınmıştır.

Bağımsız değişkenler; stabilizan tipi (Tween 80, Poloksamer 188 ve Vitamin E TPGS) ve stabilizan oranı (1:2, 1:1, 2:1, 4:1, 8:1)'dir.

Bağımlı değişkenler; partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel değerleridir.

5x3 deney düzeninde (stabilizan oranıx stabilizan tipi) hazırlanan 15 formülasyon ile deneyler 3 defa tekrarlandı.

Çizelge 4.52. Yüzey etkin madde ve farklı oranları kullanılarak 30 geçiş sayısında hazırlanan nanokristallerde tanımlayıcı istatistiksel değerlendirmeleri

| Stabilizan Tipi | ZHM : Stabilizan | Ortalama PB (nm) | ±SS   | N |
|-----------------|------------------|------------------|-------|---|
| Tween 80        | 1:2              | 461,6            | 8,9   | 3 |
|                 | 2:1              | 570,5            | 7,7   | 3 |
|                 | 1:1              | 525,7            | 26,5  | 3 |
|                 | 4:1              | 540,2            | 26,8  | 3 |
|                 | 8:1              | 614,3            | 29,3  | 3 |
| Poloksamer 188  | 1:2              | 570,4            | 41,9  | 3 |
|                 | 2:1              | 727,8            | 60,4  | 3 |
|                 | 1:1              | 1647,0           | 418,7 | 3 |
|                 | 4:1              | 698,2            | 6,6   | 3 |
|                 | 8:1              | 805,4            | 65,6  | 3 |
| Vitamin E TPGS  | 1:2              | 505,4            | 12,3  | 3 |
|                 | 2:1              | 602,1            | 22,9  | 3 |
|                 | 1:1              | 612,1            | 16,5  | 3 |
|                 | 4:1              | 601,6            | 75,4  | 3 |
|                 | 8:1              | 675,7            | 76,0  | 3 |
| Stabilizan Tipi | ZHM: Stabilizan  | Ortalama PDI     | SS    | N |
| Tween 80        | 1:2              | 0,352            | 0,036 | 3 |
|                 | 2:1              | 0,266            | 0,043 | 3 |
|                 | 1:1              | 0,342            | 0,046 | 3 |
|                 | 4:1              | 0,369            | 0,065 | 3 |
|                 | 8:1              | 0,386            | 0,062 | 3 |
| Poloksamer 188  | 1:2              | 0,423            | 0,002 | 3 |
|                 | 2:1              | 0,452            | 0,240 | 3 |
|                 | 1:1              | 0,807            | 0,078 | 3 |
|                 | 4:1              | 0,425            | 0,056 | 3 |
|                 | 8:1              | 0,214            | 0,029 | 3 |
| Vitamin E TPGS  | 1:2              | 0,323            | 0,014 | 3 |
|                 | 2:1              | 0,205            | 0,019 | 3 |
|                 | 1:1              | 0,311            | 0,040 | 3 |
|                 | 4:1              | 0,411            | 0,071 | 3 |
|                 | 8:1              | 0,518            | 0,086 | 3 |

Çizelge 4.52. (devam) Yüzey etkin madde ve farklı oranları kullanılarak 30 geçiş sayısında hazırlanan nanokristallerde tanımlayıcı istatistiksel değerlendirmeler

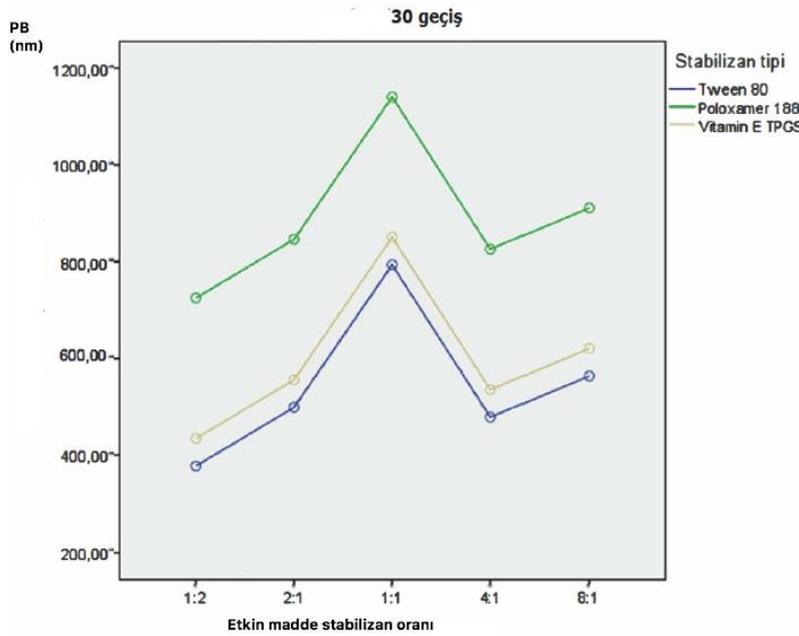
| Stabilizan Tipi | ZHM: Stabilizan | Ortalama ZP (mV) | SS   | N |
|-----------------|-----------------|------------------|------|---|
| Tween 80        | 1:2             | 33,16            | 0,38 | 3 |
|                 | 2:1             | 37,90            | 0,61 | 3 |
|                 | 1:1             | 31,23            | 1,23 | 3 |
|                 | 4:1             | 35,43            | 1,66 | 3 |
|                 | 8:1             | 35,73            | 2,83 | 3 |
| Poloksamer 188  | 1:2             | 40,10            | 0,56 | 3 |
|                 | 2:1             | 34,06            | 0,61 | 3 |
|                 | 1:1             | 31,60            | 0,26 | 3 |
|                 | 4:1             | 35,76            | 0,47 | 3 |
|                 | 8:1             | 42,03            | 2,85 | 3 |
| Vitamin E TPGS  | 1:2             | 32,93            | 0,87 | 3 |
|                 | 2:1             | 41,23            | 1,24 | 3 |
|                 | 1:1             | 31,00            | 0,90 | 3 |
|                 | 4:1             | 32,00            | 1,82 | 3 |
|                 | 8:1             | 13,63            | 0,71 | 3 |

Çizelge 4.52’de, PB, PDI ve ZP tanımlayıcı istatistiksel değerleri yer almaktadır. Vitamin E TPGS ile hazırlanan nanokristallerin partikül büyüklükleri değerlerinin Tween 80 ile hazırlananlar ile yakın olduğu ve Poloksamer 188 ile hazırlananlardan daha küçük olduğu görülmektedir. Poloksamer 188 ile hazırlanan nanosüspansiyonların partikül büyüklükleri arasındaki standart sapma değerlerinin yüksek olduğu ve ayrıca partikül büyüklüğü dağılımlarının diğerlerine göre yüksek olduğu da tespit edilmektedir. Zeta potansiyel değerleri tüm yüzey etkin madde içeren nanokristallerde 20 mV’un üzerinde görülmüştür. Tanımlayıcı istatistiksel verilerin değerlendirilmesine ilave olarak stabilizan tip ve oranının PB, PDI ve ZP değerleri ile etkileşimini gösteren etkileşim verilerinin istatistiksel açıdan doğru analiz edilmesini sağlayacaktır.

Çizelge 4.53. Partikül büyüklüğü açısından stabilizan tip ve oranı etkileşimi

| Kaynak                            | Kareler Toplamı | Ortalama Kare | F         | Anlamlılık |
|-----------------------------------|-----------------|---------------|-----------|------------|
| Düzeltilmiş Model                 | 20853597,256    | 353450,801    | 44,306    | 0,000      |
| Sabit                             | 139472582,596   | 139472582,596 | 17483,158 | 0,000      |
| Stabilizan Tipi                   | 20853597,256    | 353450,801    | 44,306    | 0,000      |
| ZHM: Stabilizan                   | 949327,213      | 7977,540      | 44,306    | 0,000      |
| Stabilizan Tipi * ZHM: Stabilizan | 161087661,240   | 353450,801    | 17483,158 | 0,000      |
| Hata                              | 21802924,469    | 139472582,596 |           |            |
| Toplam                            | 20853597,256    |               |           |            |
| Düzeltilmiş Toplam                | 139472582,596   |               |           |            |
|                                   | $R^2 = 0,935$   |               |           |            |

Stabilizan tipi ve stabilizan oranının partikül büyüklüğü açısından etkileşimi Çizelge 4.53'e göre anlamlıdır. Yani partikül büyüklüğünün değeri stabilizan tipi ve oranına bağlı olarak değişmektedir. Etkileşim tablosunda  $R^2$  değerinin (bağımlı değişkeni ölçme gücü – açıklayıcılık katsayısı) 0,935 olarak tespit edilmesi oluşturulan modelin, yani partikül büyüklüğüne olan stabilizan tipi, stabilizan oranı ve bu bağımsız değişkenlerin etkileşiminin, modeli yüksek oranda açıkladığı anlamına gelmektedir.



Şekil 4.20. Partikül büyüklüğü dağılımı açısından stabilizan tipi ve oranı etkileşim grafiği

Bağımsız değişkenler arası etkileşimler etkileşim grafikleri üzerinden yorumlanabilir. Şekil 4.20'de görüldüğü gibi, Vitamin E TPGS oranı 1:2 ve 2:1 ve 4:1, Poloksamer 188 1:2 ve 4:1 ve oranlarında olduğunda en düşük partikül büyüklüğü elde edilmiş olup diğer stabilizan tiplerine göre yüksek bulunmuştur. Tween 80 ve Vit E TPGS kullanılarak hazırlanan formülasyonların partikül büyüklüklerinde paralellik görülmekle beraber Poloksamer 188 kullanılması ile her oranda daha farklı ve büyük partikül boyutu elde edilmiştir. Tween 80 içeren formülasyonlarda PB düşüşünün diğerlerine göre daha fazla olduğu görülmektedir. 1:2 oranında tüm stabilizan tiplerinde en fazla PB'da küçülme olduğu ve poloxamer 188 ile 1:1 oranında en büyük PB olduğu yani yeterince küçülme sağlamadığı görülmektedir.

Etkileşim grafiğine göre 1:2, 2:1, 4:1, 8:1 oranlarının yüzey etkin madde stabilizan tipi açısından kullanılabilir olduğu görülmektedir. Poloxamer 188 kullanıldığında tüm oranlarda diğerlerine kıyasla en az partikül boyutunda küçülme gözlemlendiği de görülmektedir.

Yüzey etkin madde tipinin nominal kategorik veri olmasından dolayı model denklemi yüzey etkin madde tipleri ele alınarak ortaya çıkarılmıştır. Model denklemi aşağıda görülmektedir:

$$Y = 675,700 - 61,400t_1 + 129,7t_2 - 170,233r_1 - 73,533r_2 - 63,600r_3 - 74,033r_4 + 17,600t_1.r_1 + 29,8t_1r_2 - 24,933t_1r_3 - 0,067t_1r_4 - 64,767t_2r_1 - 4,033t_2r_2 + 905,2 t_2r_3 - 33,133t_2r_4$$

Burada: Y: PB (nm) r1: 1:2, r2: 2:1, r3: 1:1, r4: 4:1, r5: 8:1 oranlarını

t1: Tween 80 t2: Poloxamer 188 ve t3: Vit E TPGS

t3 ve r5 referans değerlerini ifade etmektedir.

İkili etkileşimler model denklemini %93,5 oranında açıklamıştır. Modelin yüksek oranda açıklamasından dolayı ikili etkileşim kullanılarak devam edilmesi uygun görülmüştür. Etkileşimin modele olan etkisi, ana etkiler ayrı ayrı ele alındığında daha net açıklanabilmektedir. Bu nedenle partikül büyüklüğü dağılımı üzerinden ana etkiler incelenmiştir. Çizelge 4.54'e bakıldığında ana etkiler model denklemini %73,5 oranında açıklamaktadır. Stabilizan tip ve oranının ana etkileri, partikül büyüklüğünde anlamlı değişimler meydana getirdiği görülmektedir. Modelde etkileşim düşünülmediğinde sadece ana etkilere bakılarak nanokristallerin partikül büyüklüğü küçültülmesine etki eden yaklaşık %26,5'lük faktörün (burada etkileşim) göz önüne alınmadığı anlamına gelmektedir.

Çizelge 4.54. Yüzey etkin madde ve oranlarının partikül büyüklüğü üzerine olan ana etkileri

| Kaynak                       | Kareler Toplamı | Ortalama Kare | F        | Anlamlılık |
|------------------------------|-----------------|---------------|----------|------------|
| <b>Düzeltilmiş Model</b>     | 0,877           | 0,063         | 9,737    | 0,000      |
| <b>Sabit</b>                 | 6,750           | 6,750         | 1048,995 | 0,000      |
| <b>Stabilizan Tipi</b>       | 0,136           | 0,068         | 10,544   | 0,000      |
| <b>ZHM: Stabilizan oranı</b> | 0,587           | 0,039         | 5,998    | 0,001      |
| <b>Hata</b>                  | 0,193           | 0,073         | 11,404   | 0,000      |
| <b>Toplam</b>                | 7,821           | 0,006         |          |            |
| <b>Düzeltilmiş Toplam</b>    | 1,070           |               |          |            |

$R^2 = 0,735$

Ana etkilere göre stabilizan tipi ve oranının hangi tip ve oranlar arasında farklılıklar gösterdiği Tukey post-hoc testi ile analiz edildi.

Çizelge 4.55. Yüzey etkin maddelerin partikül büyüklüğü üzerine etkisi – Yüzey etkin madde tipi çoklu karşılaştırmalar (Tukey HSD)

| Stabilizan Tipi       | Stabilizan Tipi | Ortalama Fark | Anlamlılık |
|-----------------------|-----------------|---------------|------------|
| <b>Tween 80</b>       | Poloksamer 188  | -347,273      | ,000       |
|                       | Vitamin E TPGS  | -56,920       | ,761       |
| <b>Poloksamer 188</b> | Tween 80        | 347,273       | ,000       |
|                       | Vitamin E TPGS  | 290,353       | ,003       |
| <b>Vitamin E TPGS</b> | Tween 80        | 56,920        | ,761       |
|                       | Poloksamer 188  | -290,353      | ,003       |

Etkileşim grafikleri ile doğru formülasyona ulaşmak mümkün olsa da etkileşimin anlamlı bulunması ana etkilerin tek yönlü ANOVA ile analiz edilmesinde ilave bir fikir elde edilmesinde yardımcı olmaktadır. Çizelge 4.55’de yüzey etkin maddelerin kendi arasındaki partikül büyüklüğünü küçültme kabileyetlerinin diğerlerine göre farklılığını gösterilmektedir. Tween 80 kullanılarak hazırlanan formülasyonlar ile, Poloksamer 188 ve Vitamin E TPGS kullanılarak hazırlanan formülasyonlara göre anlamlı şekilde daha küçük partikül büyüklüğü elde edilmiştir. Vitamin E TPGS ile Tween 80 arasında partikül büyüklüğü açısından bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). Etkileşim grafiğine paralel olarak en küçük partikül büyüklüğü Tween 80’de görülmektedir. Kullanılan oran hesaba katıldığında Tween 80 ve Vitamin E TPGS ile de en küçük partikül büyüklüğü elde edilebilecek bağımsız değişken kombinasyonu bulunmaktadır. Sadece ana etkilerden Tween 80 formülasyonunun seçilmesinin uygun görünüyor olmasına rağmen Vitamin E TPGS’nin düşük oranları kullanıldığında Tween 80 ile benzer partikül büyüklüğü sağladığı etkileşim grafiğinden görülmektedir. Dolayısıyla hem en fazla düşüş gösterdiklerinden hem de farklılık sergilemediklerinden Tween 80 veya Vit E TPGS içeren formülasyonlar seçimde dikkate alınmıştır.

Çizelge 4.56. Yüzey etkin maddelerin partikül büyüklüğü üzerine etkisi – ZHM: Stabilizan çoklu karşılaştırmaları (Tukey HSD)

| ZHM: Stabilizan | ZHM: Stabilizan | Ortalama Fark | Anlamlılık |
|-----------------|-----------------|---------------|------------|
| 1:2             | 2:1             | -121,011      | 0,772      |
|                 | 1:1             | -415,777      | 0,002      |
|                 | 4:1             | -100,855      | 0,867      |
|                 | 8:1             | -185,955      | 0,395      |
| 2:1             | 1:2             | 121,011       | 0,772      |
|                 | 1:1             | -294,767      | 0,053      |
|                 | 4:1             | 20,155        | 1,000      |
| 1:1             | 8:1             | -64,944       | 0,970      |
|                 | 1:2             | 415,777       | 0,002      |
|                 | 2:1             | 294,766       | 0,053      |
|                 | 4:1             | 314,922       | 0,034      |
| 4:1             | 8:1             | 229,822       | 0,198      |
|                 | 1:2             | 100,855       | 0,867      |
|                 | 2:1             | -20,155       | 1,000      |
|                 | 1:1             | -314,922      | 0,034      |
| 8:1             | 8:1             | -85,100       | 0,923      |
|                 | 1:2             | 185,955       | 0,395      |
|                 | 2:1             | 64,944        | 0,970      |
|                 | 1:1             | -229,822      | 0,198      |
|                 | 4:1             | 85,100        | 0,923      |

Yüzey etkin madde oranı açısından ana etkiler ele alınacak olursa, 1:2 oranında 1:1 oranına göre anlamlı şekilde daha küçük partikül büyüklüğü elde edilirken, 2:1 oranı ile diğer oranlar arasında anlamlı bir farklılık görülmemektedir (Çizelge 4.56). Bu yorumu yaparken etkileşim göz önüne alınmalıdır. Tween 80 veya Vit E TPGS kullanıldığında 2:1 oranında daha düşük partikül büyüklüğü elde edildiği etkileşim grafiğinde görülmektedir.

Yüzey etkin maddeler ile hazırlanan nanokristal formülasyonlarının seçiminde PB dışında PDI ve ZP değerleri de ele alınmıştır. PDI istatistiksel değerlendirmeleri ise Çizelge 4.57 itibarıyla sunulmaktadır.

Çizelge 4.57. Partikül büyüklüğü dağılımı açısından stabilizan tip ve oranı etkileşimi

| Kaynak                    | Kareler Toplamı | Ortalama Kareler | F        | Anlamlılık |
|---------------------------|-----------------|------------------|----------|------------|
| Düzeltilmiş Model         | 5,671           | 0,096            | 14,662   | 0,000      |
| Sabit                     | 36,810          | 36,810           | 5615,194 | 0,000      |
| <b>Stabilizan Tipi</b>    |                 |                  | 14,662   |            |
| ZHM: Stabilizan           | 5,671           | 0,096            |          | 0,000      |
| Hata                      | 0,780           |                  |          |            |
| <b>Toplam</b>             | 43,165          | 0,007            |          |            |
| <b>Düzeltilmiş Toplam</b> | 6,451           |                  |          |            |

$$R^2 = 0,819$$

Partikül büyüklüğü dağılımı açısından bakıldığında stabilizan tipi ve oranı arasındaki etkileşim de anlamlı bulunmuştur. PDI değerlerinin kullanılan stabilizanın tipiyle birlikte oranın her bir seviyesinden etkilendiğini göstermektedir. Yüzey etkin maddenin tipine göre PDI değişimlerinin de denklemi çıkarılmıştır. PDI, stabilizan tipi ve oranından etkilenmiştir. Etkileşim pozitifdir.

Model denklem aşağıda görülmektedir:

$$Y = 0,518 - 0,132t_1 - 0,304t_2 - 0,195r_1 - 0,313r_2 - 0,207r_3 - 0,107r_4 + 0,161t_1r_1 + 0,194t_1r_2 + 0,163t_1r_3 + 0,091t_1r_4 + 0,404t_2r_1 + 0,551t_2r_2 + 0,800t_2r_3 + 0,318t_2r_4$$

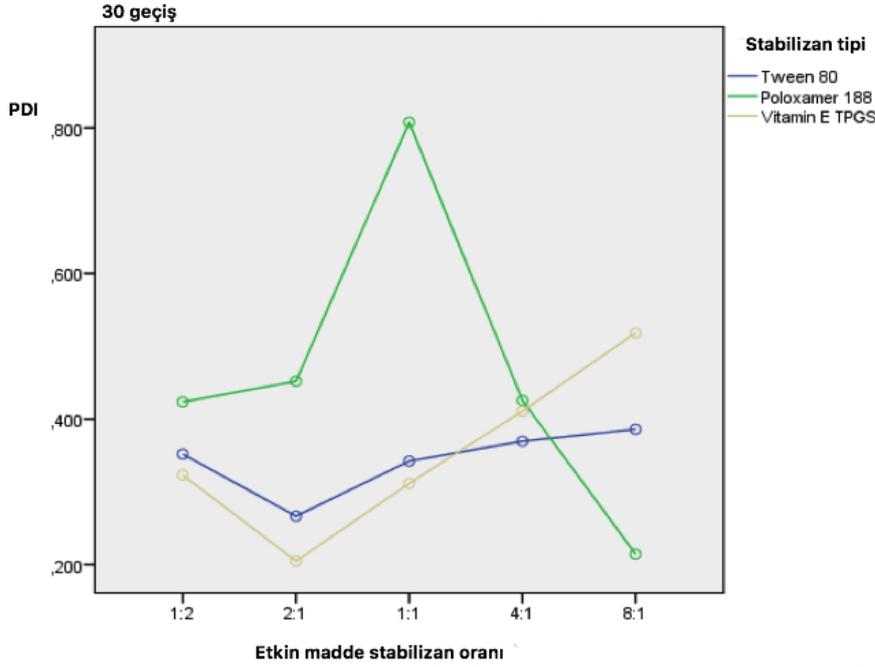
Burada: Y: PDI r1: 1:2, r2: 2:1, r3: 1:1, r4: 4:1, r5: 8:1 oranlarını

t1: Tween 80 t2: Poloxamer 188 ve t3: Vit E TPGS

t3 ve r5 referans değerlerini ifade etmektedir.

İkili etkileşimler model denklemini %82 oranında açıklamıştır. Modelin yüksek oranda açıklamasından dolayı ikili etkileşim kullanılarak devam edilmesi uygun görülmüştür. Açıklanamayan kısım ise alet tipi, operatör, ortam şartları gibi incelenemeyen parametreler olabilir.

Partikül büyüklüğü dağılımı açısından etkileşim grafiği Şekil 4.21’de gösterilmektedir.



Şekil 4.21. Partikül büyüklüğü dağılımı açısından stabilizan tipi ve oranı etkileşim grafiği

Şekil 4.21’de görüldüğü gibi, farklı tipteki stabilizanlar kullanıldığı her oranında değişik partikül büyüklüğü dağılımları elde edilmiştir. Poloksamer 188 kullanıldığı 1:1 oranında en yüksek PDI elde edildi. Tween 80 ve Vit E TPGS kullanılarak hazırlanan nanokristallerde daha dar partikül büyüklüğü dağılımı tespit edildi. Partikül büyüklüğü dağılımı 0,1-0,4 arasında dar olarak kabul edildiğinden Tween 80’nin tüm formülasyonlarında, Vit E TPGS’nin 1:2, 2:1, 1:1 ve 4:1 oranlarında ve Poloksamer 188’in 8:1 oranında PDI değeri 0,1-0,4 arasında görülmüştür. Partikül büyüklüğü dağılımı açısından ana etkiler incelendi (Çizelge 4.58). Çizelge 4.60’a bakıldığında ana etkiler model denklemini %73,5 oranında açıklamaktadır. Stabilizan tip ve oranının ana etkileri, partikül büyüklüğü dağılımında anlamlı değişimler meydana getirdiği görülmektedir.

Çizelge 4.58. Yüzey etkin madde ve oranlarının partikül büyüklüğü dağılımı üzerine olan ana etkileri

| Kaynak                       | Kareler Toplamı | Ortalama Kareler | F        | Anlamlılık |
|------------------------------|-----------------|------------------|----------|------------|
| <b>Düzeltilmiş Model</b>     | 0,877           | 0,063            | 9,737    | 0,000      |
| <b>Sabit</b>                 | 6,750           | 6,750            | 1048,995 | 0,000      |
| <b>Stabilizan Tipi</b>       | 0,136           | 0,068            | 10,544   | 0,000      |
| <b>ZHM: Stabilizan Oranı</b> | 0,154           | 0,039            | 5,998    | 0,001      |
| <b>Stabilizan Tipi</b>       |                 |                  |          |            |
| <b>ZHM: Stabilizan Oranı</b> | 0,587           | 0,073            | 11,404   | 0,000      |
| <b>Hata</b>                  | 0,193           | 0,006            |          |            |
| <b>Toplam</b>                | 7,821           |                  |          |            |
| <b>Düzeltilmiş Toplam</b>    | 1,070           |                  |          |            |

$$R^2 = 0,735$$

Çizelge 4.58 stabilizan tipinin ve stabilizan oranının partikül büyüklüğü dağılımına istatistiksel olarak anlamlı şekilde etkilediğini göstermektedir. Bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimin modelden çıkarılması model anlamlılığını %81,9'den %73,5'ye düşürmüştür. Varyanslar homojen olduğundan Tukey post hoc testi ile gruplar arası karşılaştırmalar yapılmıştır (Çizelge 4.59).

Çizelge 4.59. Yüzey etkin maddelerin partikül büyüklüğü dağılımı üzerine etkisi –Yüzey etkin madde tipi çoklu karşılaştırmalar (Tukey HSD)

| Stabilizan Tipi       | Stabilizan Tipi | Ort. Fark | Anlamlılık | 95% GA    |           |
|-----------------------|-----------------|-----------|------------|-----------|-----------|
|                       |                 |           |            | Alt Sınır | Üst Sınır |
| <b>Tween 80</b>       | Poloksamer 188  | -0,121    | 0,001      | -0,193    | -0,049    |
|                       | Vitamin E TPGS  | -0,010    | 0,931      | -0,082    | 0,061     |
| <b>Poloksamer 188</b> | Tween 80        | 0,121     | 0,001      | 0,049     | 0,193     |
|                       | Vitamin E TPGS  | 0,110     | 0,002      | 0,038     | 0,183     |
| <b>Vitamin E TPGS</b> | Tween 80        | 0,010     | 0,931      | -0,061    | 0,082     |
|                       | Poloksamer 188  | -0,110    | 0,002      | -0,183    | -0,038    |

PDI değerleri incelendiğinde Tween 80 ve poloxamer 188 arasında anlamlı ölçüde fark görülürken Tween 80 ve Vit E TPGS arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.59). Ayrıca poloksamer 188 ile Vit E TPGS arasında da anlamlı ölçüde farkın olması formülasyon seçiminde Poloksamer 188'in seçilmesinin uygun olmadığını göstermektedir. Stabilizan oranları açısından değerlendirmeler, çoklu karşılaştırmalar Çizelge 4.60'da verilmektedir.

Çizelge 4.60. Yüzey etkin maddelerin partikül büyüklüğü dağılımı üzerine etkisi –ZHM: Stabilizan çoklu karşılaştırmaları (Tukey HSD)

| ZHM:<br>Stabilizan | ZHM:<br>Stabilizan | Ortalama<br>Fark | Anlamlılık | %95 GA    |           |
|--------------------|--------------------|------------------|------------|-----------|-----------|
|                    |                    |                  |            | Alt Sınır | Üst Sınır |
| 1:2                | 2:1                | 0,058            | 0,542      | -0,051    | 0,168     |
|                    | 1:1                | -0,120           | 0,025      | -0,230    | -0,011    |
|                    | 4:1                | -0,035           | 0,876      | -0,145    | 0,073     |
|                    | 8:1                | -0,006           | 1,000      | -0,116    | 0,103     |
| 2:1                | 1:2                | -0,058           | 0,542      | -0,168    | 0,051     |
|                    | 1:1                | -0,179           | 0,000      | -0,289    | -0,069    |
|                    | 4:1                | -0,094           | 0,119      | -0,203    | 0,015     |
|                    | 8:1                | -0,065           | 0,436      | -0,174    | 0,044     |
| 1:1                | 1:2                | 0,120            | 0,025      | 0,011     | 0,230     |
|                    | 2:1                | 0,179            | 0,000      | 0,069     | 0,289     |
|                    | 4:1                | 0,085            | 0,189      | -0,024    | 0,194     |
|                    | 8:1                | 0,114            | 0,038      | 0,004     | 0,223     |
| 4:1                | 1:2                | 0,035            | 0,876      | -0,073    | 0,145     |
|                    | 2:1                | 0,094            | 0,119      | -0,015    | 0,203     |
|                    | 1:1                | -0,085           | 0,189      | -0,194    | 0,024     |
|                    | 8:1                | 0,029            | 0,937      | -0,080    | 0,138     |
| 8:1                | 1:2                | 0,006            | 1,000      | -0,103    | 0,116     |
|                    | 2:1                | 0,065            | 0,436      | -0,044    | 0,174     |
|                    | 1:1                | -0,114           | 0,038      | -0,223    | -0,004    |
|                    | 4:1                | -0,029           | 0,937      | -0,138    | 0,080     |

Partikül büyüklüğü dağılım değerinin 2:1 oranında 1:1 oranından 0,17933 kadar daha düşük olduğu ve diğer oranlar arasında anlamlı farklılık olmadığı, 1:1 oranının diğer oranlardan fazla PDI değerine sahip olduğu gözlemlendiğinden 2:1 oranı PDI açısından uygun olarak düşünüldü. Bağımlı değişkenlerden biri olan zeta potansiyel üzerinde de formülasyonların etkisi incelendi (Çizelge 4.61).

Çizelge 4.61. Yüzey etkin maddeler ile hazırlanan nanokristaller için tanımlayıcı istatistiksel değerlendirmeler - Zeta potansiyel

| Stabilizan Tipi | ZHM: Stabilizan | Ortalama | SS    | N |
|-----------------|-----------------|----------|-------|---|
| Tween 80        | 1:2             | 33,166   | 0,378 | 3 |
|                 | 2:1             | 37,900   | 0,608 | 3 |
|                 | 1:1             | 31,233   | 1,234 | 3 |
|                 | 4:1             | 35,433   | 1,662 | 3 |
|                 | 8:1             | 35,733   | 2,830 | 3 |
| Poloksamer 188  | 1:2             | 40,100   | 0,556 | 3 |
|                 | 2:1             | 34,066   | 0,611 | 3 |
|                 | 1:1             | 31,600   | 0,264 | 3 |
|                 | 4:1             | 35,766   | 0,472 | 3 |
|                 | 8:1             | 42,033   | 2,853 | 3 |
| Vitamin E TPGS  | 1:2             | 32,933   | 0,873 | 3 |
|                 | 2:1             | 41,233   | 1,242 | 3 |
|                 | 1:1             | 31,000   | 0,900 | 3 |
|                 | 4:1             | 32,000   | 1,824 | 3 |
|                 | 8:1             | 13,633   | 0,709 | 3 |

Tanımlayıcı istatistiklerden de görüldüğü üzere Tween 80 ve Poloksamer 188 ile hazırlanan formülasyonların tüm oranları 30 mV'un üzerinde görülmüştür. Vit E TPGS ile hazırlanan formülasyonlardan sadece 8:1 oranı 20 mV'un altında sonuçlanmıştır.

Zeta potansiyeli üzerine stabilizan tipi ve oranının etkileşimi incelenerek oran ve tip kombinasyonu hakkında da fikir sahibi olunabildiğinden ana etkileşim Çizelge 4.62'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.62. Yüzey etkin madde ve oranlarının zeta potansiyeli üzerine olan etkileşim tablosu

| Kaynak                            | Kareler Toplamı | Ortalama Kareler | F         | Anlamlılık |
|-----------------------------------|-----------------|------------------|-----------|------------|
| Düzeltilmiş Model                 | 1860,584        | 132,899          | 634,015   | 0,000      |
| Sabit                             | 51578,939       | 51578,939        | 30741,037 | 0,000      |
| Stabilizan Tipi                   | 337,888         | 168,944          | 3419,950  | 0,000      |
| ZHM: Stabilizan                   | 322,636         | 80,659           | 21,490    | 0,000      |
| Stabilizan Tipi<br>ZHM:Stabilizan | 1200,060        | 150,008          | 11,633    | 0,000      |
| Hata                              | 57,767          | 1,926            |           |            |
| Toplam                            | 53497,290       |                  |           |            |
| Düzeltilmiş Toplam                | 1918,351        |                  |           |            |

$$R^2 = 0,970$$

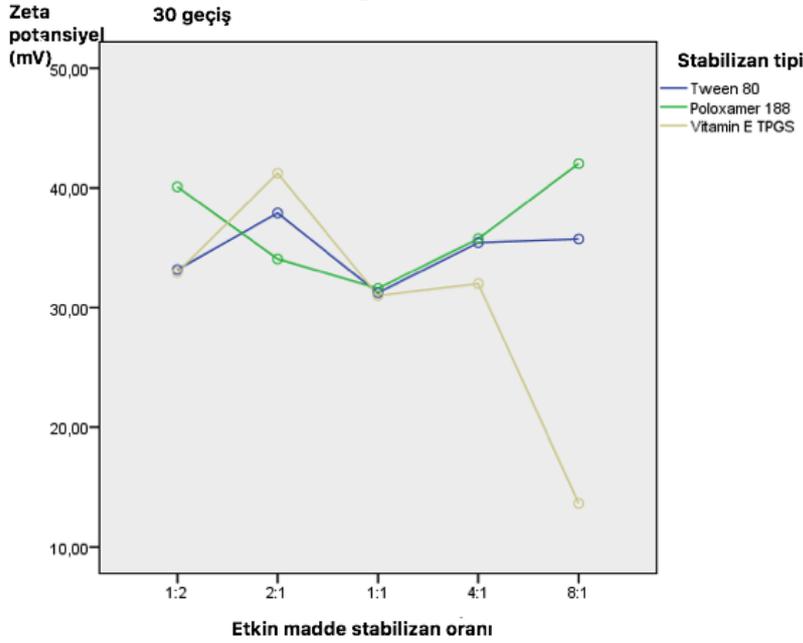
Zeta potansiyel sonuçlarını tüm bağımsız değişkenler % 97 oranında etkilemektedir.

Model denklemi aşağıdaki gibi görülmektedir:

$$Y = 13,633 + 22,100t_1 + 28,400t_2 + 19,300r_1 + 27,600r_2 + 17,367r_3 + 18,367r_4 - 21,867r_1t_1 - 25,433t_1r_2 - 21,867t_1r_3 - 18,667t_1r_4 - 21,233t_2r_1 - 35,567t_2r_2 - 27,800t_2r_3 - 24,633t_2r_4$$

Burada: Y: ZP (mV) r1: 1:2, r2: 2:1, r3: 1:1, r4: 4:1, r5: 8:1 oranlarını

t1: Tween 80 t2: Poloxamer 188 ve t3: Vit E TPGS t3 ve r5 referans değerlerini ifade etmektedir.



Şekil 4.22. Zeta potansiyel değerleri açısından stabilizan tipi ve oranı etkileşim grafiği

İkili etkileşimler model denklemini %97 oranında açıklamıştır. Modelin yüksek oranda açıklamasından dolayı ikili etkileşim kullanılarak devam edilmesi uygun görülmüştür. Etkileşim grafiği değerlendirildiğinde Tween 80 ve poloksamer 188 ile hazırlanan formülasyonların yüksek zeta potansiyel değeri gösterdiği görüldü (Şekil 4.22). Tween 80 ve Poloksamer 188 ile nanokristallerin hazırlanmasında herhangi bir oran kullanılması uygundur. Vitamin E TPGS ile nanokristalda ise 8:1 oranı haricinde uygun zeta potansiyel değerleri görülmektedir.

Çizelge 4.63.Yüzey etkin madde ve oranlarının zeta potansiyel üzerine olan ana etkileri

| Kaynak   | Kareler Toplamı | Ortalama Kareler | F          | Anlamlılık |
|--|-----------------|------------------|------------|------------|
| <b>Düzeltilmiş Model</b>                         | 6304,120        | 106,849          | 61,586     | ,000       |
| <b>Sabit</b>                                     | 210917,046      | 210917,046       | 121568,965 | ,000       |
| <b>Stabilizan tipi*ZHM:<br/>Stabilizan Oranı</b> | 6304,120        | 106,849          | 61,586     | ,000       |
| <b>Hata</b>                                      | 206,460         | 1,735            |            |            |
| <b>Toplam</b>                                    | 218332,020      |                  |            |            |
| <b>Düzeltilmiş Toplam</b>                        | 6510,580        |                  |            |            |

$R^2=0,953$

Çizelge 4.63 stabilizan tipinin ve stabilizan oranının zeta potansiyel üzerine istatistiksel olarak anlamlı şekilde etkilediği göstermektedir. Bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimin modelden çıkarılması model anlamlılığını değiştirmiştir. Bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimin modelden çıkarılması model anlamlılığını %97'den %95'e düşürmüştür.

Sonuç olarak, deney tasarımı yaklaşımı ile yapılan istatistiksel analizler sonucunda yüzey etkin maddelerin kullanıldığı formülasyonlar değerlendirilmiştir. 5, 10, 20 ve 30 geçiş sayılarından ZP'yi etkilemediği fakat PDI ve PB etkilediği görülmüştür. PB geçiş sayısının etkisine bakıldığında ise 5 ve 10 geçiş arasında ve 10 ve 20 geçiş arasında anlamlı fark bulunmaz iken 10 ve 30 geçiş arasındaki farkın anlamlı ve 30 geçişin daha küçük olması nedeniyle ve PDI değerinin ise 5 ile 30 geçiş arasında anlamlı farkın olmasından dolayı 30 geçişin yüzey etkin madde içeren formülasyonlarında optimum geçiş sayısı olarak seçilmiştir. En ideal geçiş sayısından sonra yüzey etkin madde tipi ve oranının belirlenmesi için 30 geçiş sayısında hazırlanan nanokristaller için bağımlı değişkenlere (partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel) bağımsız değişkenlerin (stabilizan tipi ve stabilizan oranı) etkisi incelenmiştir. Sonraki analizler 30 geçiş üzerinden değerlendirildiğinde en uygun olası nanokristal formülasyonları Vit E TPGS veya Tween 80'in 2:1 oranında kullanıldığı formülasyonlar olarak değerlendirilmiştir.

#### 4.3.8. Polimer içeren nanosüspansiyon formülasyonlarının istatistiksel değerlendirmesi

##### Geçiş sayıları açısından karşılaştırılması

Yüzey etkin madde içeren nanokristallerin değerlendirilmesinde olduğu gibi aynı şekilde polimer içeren nanokristallerde öncelikli olarak PB, PDI ve ZP değerleri açısından geçiş sayılarını kıyaslamak için tek yönlü ANOVA testi uygulanmıştır. Farklı geçiş sayılarında bulunan ortalama PB, PDI ve zeta değerleri için tanımlayıcı istatistikler Çizelge 4.64’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.64. Polimerler ile hazırlanan nanokristaller için tanımlayıcı istatistiksel değerlendirme

|                   | N               | Ort. | SS    | SH    | %95 G.A   |           | En Düşük | En Yüksek |         |
|-------------------|-----------------|------|-------|-------|-----------|-----------|----------|-----------|---------|
|                   |                 |      |       |       | Alt Sınır | Üst Sınır |          |           |         |
| <b>PB</b><br>(nm) | <b>5 Geçiş</b>  | 30   | 886,3 | 150,1 | 27,4      | 830,35    | 942,42   | 628,50    | 1183,00 |
|                   | <b>10 Geçiş</b> | 30   | 873,2 | 244,7 | 44,7      | 781,81    | 964,58   | 478,70    | 1327,00 |
|                   | <b>20 Geçiş</b> | 30   | 673,4 | 131,4 | 23,9      | 624,36    | 722,52   | 396,10    | 959,80  |
|                   | <b>30 Geçiş</b> | 30   | 666,0 | 225,9 | 41,2      | 581,66    | 750,42   | 350,20    | 1366,00 |
| <b>PDI</b>        | <b>5 Geçiş</b>  | 30   | 0,592 | 0,245 | 0,044     | 0,501     | 0,684    | 0,024     | 1,000   |
|                   | <b>10 Geçiş</b> | 30   | 0,449 | 0,254 | 0,046     | 0,355     | 0,544    | 0,113     | 0,980   |
|                   | <b>20 Geçiş</b> | 30   | 0,446 | 0,199 | 0,036     | 0,372     | 0,520    | 0,049     | 0,826   |
|                   | <b>30 Geçiş</b> | 30   | 0,391 | 0,184 | 0,033     | 0,322     | 0,460    | 0,148     | 0,936   |
| <b>ZP</b><br>(mV) | <b>5 Geçiş</b>  | 30   | 16,15 | 9,88  | 1,804     | 12,46     | 19,84    | 1,22      | 33,50   |
|                   | <b>10 Geçiş</b> | 30   | 17,22 | 9,93  | 1,814     | 13,51     | 20,93    | 0,67      | 30,00   |
|                   | <b>20 Geçiş</b> | 30   | 17,54 | 9,73  | 1,777     | 13,90     | 21,17    | 0,94      | 30,10   |
|                   | <b>30 Geçiş</b> | 30   | 18,65 | 9,53  | 1,740     | 15,09     | 22,21    | 1,27      | 30,60   |

Hazırlanan nanosüspansiyonların tamamı göz önüne alındığında, polimerin farklı tip ve oranlarında tüm geçiş sayılarında ortalama değerlerde 1000 nm’nin altında partiküller elde edilebildiği Çizelge 4.64’de görülmektedir. Zeta potansiyel değerleri 16-18 mV civarında ve PDI değeri ise 5 geçiş sayısı dışında diğer geçişler sayılarında birbirine yakın görülmüştür. En düşük partikül büyüklüğüne sahip formülasyonlar 20 ve 30 geçiş sayısında elde edilmiştir. Bu geçiş sayısında hazırlanan formülasyonların en yüksek değerleri dahi 1000 nm’nin altında bulunmuştur. 20 ve 30 geçiş sayıları da formülasyonların partikül büyüklüğü dağılımını yaklaşık olarak 0,1- 0,4 arasında tutmayı başarmış olup tek yönlü ANOVA testi yapılarak gruplar arasında fark olup olmadığına bakılmıştır (Çizelge 4.65).

Çizelge 4.65. Polimer ile hazırlanan nanokristallerin geçiş sayıları arasındaki fark analizi - Tek Yönlü ANOVA sonuçları

|            |                      | <b>Kareler Toplamı</b> | <b>Ortalama Kare</b> | <b>F</b> | <b>Anlamlılık</b> |
|------------|----------------------|------------------------|----------------------|----------|-------------------|
| <b>PB</b>  | <b>Gruplar arası</b> | 1327038,053            | 442346,018           | 11,737   | ,000              |
|            | <b>Grup içi</b>      | 4371986,503            | 37689,539            |          |                   |
|            | <b>Toplam</b>        | 5699024,556            |                      |          |                   |
| <b>PDI</b> | <b>Gruplar arası</b> | ,667                   | ,222                 | 4,467    | ,005              |
|            | <b>Grup içi</b>      | 5,772                  | ,050                 |          |                   |
|            | <b>Toplam</b>        | 6,439                  |                      |          |                   |
| <b>ZP</b>  | <b>Gruplar arası</b> | 95,162                 | 31,721               | ,332     | ,802              |
|            | <b>Grup içi</b>      | 11081,539              | 95,531               |          |                   |
|            | <b>Toplam</b>        | 11176,701              |                      |          |                   |

ANOVA testine göre PDI ve ZP değerleri bağımsız değişkenlerden (geçiş sayısı ve stabilizan tipi ve oranı) etkilenmez iken PB etkilenmiştir. Bu durumda formülasyon seçiminde PB değerleri etkili olacağı yorumuna varılmaktadır.

Levene Testi kullanılarak gruplarda varyansların homojen olarak dağılıp dağılmadığı kontrol edilmiştir.

Çizelge 4.66. Polimer ile hazırlanan nanosüspansiyonlarda geçiş sayıları açısından varyansların homojenliği test sonuçları-Levene testi

|                | <b>Levene istatistiği</b> | <b>Anlamlılık</b> |
|----------------|---------------------------|-------------------|
| <b>PB (nm)</b> | 4,463                     | 0,005             |
| <b>PDI</b>     | 1,281                     | 0,284             |
| <b>ZP (mV)</b> | 0,068                     | 0,977             |

Levene testine göre PB varyanslarının heterojen PDI ve ZP varyanslarının ise homojen dağıldığı görülmüştür (Çizelge 4.66). Bu nedenle PB değerleri açısından post hoc testlerden tam hane testi yapılarak hangi gruplar arasında farklılık olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.67)

Çizelge 4.67. Polimer ile hazırlanan nanokristallerde geçiş sayıları çoklu karşılaştırmaları – Tamhane testi

| Bağımlı Değişken |          | Ortalama Fark | ±SH      | Anlamlılık |       |
|------------------|----------|---------------|----------|------------|-------|
| PB               | 5 Geçiş  | 10 Geçiş      | 13,186   | 52,413     | 1,000 |
|                  |          | 20 Geçiş      | 212,943  | 36,421     | ,000  |
|                  |          | 30 Geçiş      | 220,340  | 49,525     | ,000  |
|                  | 10 Geçiş | 5 Geçiş       | -13,186  | 52,413     | 1,000 |
|                  |          | 20 Geçiş      | 199,756  | 50,719     | ,002  |
|                  |          | 30 Geçiş      | 207,153  | 60,817     | ,007  |
|                  | 20 Geçiş | 5 Geçiş       | -212,943 | 36,421     | ,000  |
|                  |          | 10 Geçiş      | -199,756 | 50,719     | ,002  |
|                  |          | 30 Geçiş      | 7,396    | 47,729     | 1,000 |
|                  | 30 Geçiş | 5 Geçiş       | -220,340 | 49,525     | ,000  |
|                  |          | 10 Geçiş      | -207,153 | 60,817     | ,007  |
|                  |          | 20 Geçiş      | -7,396   | 47,729     | 1,000 |

Çizelge 4.67'ye göre partikül büyüklükleri bakımından farklı geçiş sayılarının karşılaştırılmasında 20 ile 30 geçiş sayısı arasında ve 5 ile 10 geçiş sayısı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir ( $p>0,05$ ). 5 ile 20 geçiş ve 10 ile 20 ve 10 ile 30 geçiş arasında anlamlı farklılık olduğu görüldüğünden 20 geçiş sayısı polimer içeren nanokristallerde en uygun geçiş sayısı olarak bulunmuştur.

#### Stabilizan tipi ve oranının seçilmesi

Tek yönlü ANOVA testi ile belirlenen 20 geçiş sayısından sonra en uygun PB, PDI ve ZP değerini sağlayan formülasyonun belirlenmesinde rol oynayan stabilizan tip ve oranının değerlendirilmesinde faktöriyel analizden faydalanıldı. Bağımsız değişkenler; stabilizan tipi (PVP K30 ve HPMC) ve stabilizan oranı (1:2, 1:1, 2:1, 4:1, 8:1) olup bağımlı değişkenler; partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel değeridir.

5x2 (stabilizan oranı x stabilizan tipi) deney düzeninde hazırlanan 10 formülasyonda deney 3 defa tekrarlandı. Tanımlayıcı istatistikler Çizelge 4.68'de verilmektedir.

Çizelge 4.68. Farklı polimer ve farklı oranları kullanılarak 20 geçiş sayısında hazırlanan nanokristallerde tanımlayıcı istatistikler

| Stabilizan Tipi | ZHM : Stabilizan | Ortalama PB (nm) | SS      | N |
|-----------------|------------------|------------------|---------|---|
| PVP K30         | 1:2              | 815,300          | 152,211 | 3 |
|                 | 2:1              | 811,40           | 86,43   | 3 |
|                 | 1:1              | 417,966          | 26,334  | 3 |
|                 | 4:1              | 623,233          | 8,548   | 3 |
|                 | 8:1              | 640,033          | 62,627  | 3 |
| HPMC            | 1:2              | 650,333          | 50,018  | 3 |
|                 | 2:1              | 723,000          | 52,408  | 3 |
|                 | 1:1              | 812,266          | 33,696  | 3 |
|                 | 4:1              | 592,033          | 33,458  | 3 |
|                 | 8:1              | 648,866          | 37,040  | 3 |
| Stabilizan Tipi | ZHM: Stabilizan  | Ortalama PDI     | SS      | N |
| PVP K30         | 1:2              | 0,502            | 0,191   | 3 |
|                 | 2:1              | 0,737            | 0,205   | 3 |
|                 | 1:1              | 0,296            | 0,166   | 3 |
|                 | 4:1              | 0,459            | 0,182   | 3 |
|                 | 8:1              | 0,774            | 0,189   | 3 |
| HPMC            | 1:2              | 0,464            | 0,131   | 3 |
|                 | 2:1              | 0,369            | 0,202   | 3 |
|                 | 1:1              | 0,291            | 0,170   | 3 |
|                 | 4:1              | 0,400            | 0,092   | 3 |
|                 | 8:1              | 0,405            | 0,211   | 3 |
| Stabilizan Tipi | ZHM: Stabilizan  | Ortalama ZP(mV)  | SS      | N |
| PVP K30         | 1:2              | 19,383           | 3,593   | 3 |
|                 | 2:1              | 28,00            | 1,39    | 3 |
|                 | 1:1              | 26,250           | 2,323   | 3 |
|                 | 4:1              | 26,258           | 3,791   | 3 |
|                 | 8:1              | 29,583           | 1,919   | 3 |
| HPMC            | 1:2              | 13,258           | 1,035   | 3 |
|                 | 2:1              | 1,240            | 0,380   | 3 |
|                 | 1:1              | 7,272            | 1,450   | 3 |
|                 | 4:1              | 13,191           | 2,052   | 3 |
|                 | 8:1              | 9,481            | 2,678   | 3 |

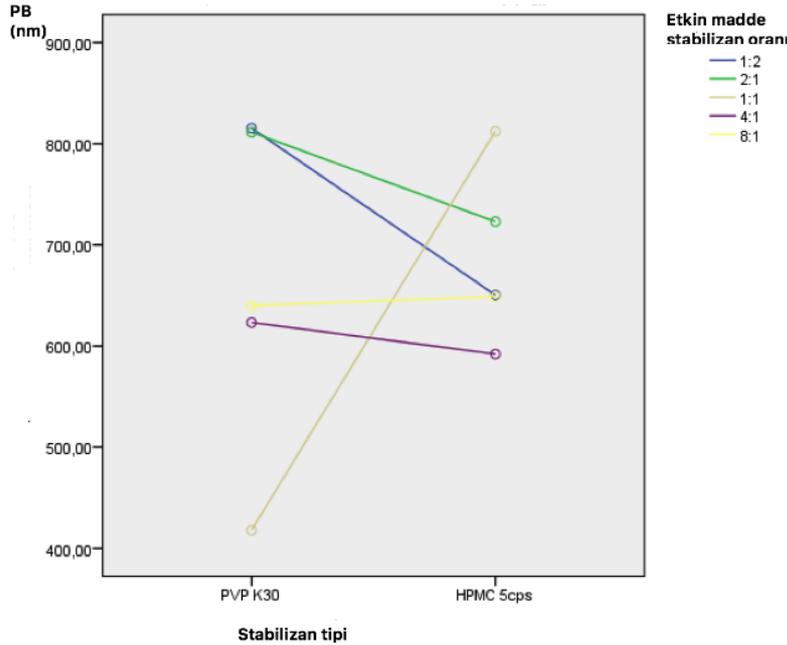
Çizelge 4.68 incelendiğinde PVP K30 ile en düşük partikül büyüklüğü ve partikül büyüklüğü dağılımı 1:1 oranında elde edilmiştir. HPMC ile hazırlanan nanokristallerde ise en düşük partikül boyutu 4:1 oranında elde edilmiştir. HPMC ile 1:1 oranında en düşük partikül büyüklüğü dağılımı görülürken en büyük zeta potansiyel değeri 1:2 oranında görülmüştür. PVP K 30 ile hazırlanan nanokristallerin tüm oranlarında HPMC'den daha yüksek ZP değeri elde edilmiştir. Genel olarak tüm oranlarda zeta potansiyel değerleri HPMC kullanıldığında daha düşük çıkmış olup bu değer 15 mV'un altındadır.

Partikül büyüklüğüne stabilizan tipinin etkisinin anlamlı olmadığını fakat stabilizan oranının anlamlı etkisi olduğunu ve bu değişkenin PB değerini % 74.4 oranında açıkladığını Çizelge 4.69 göstermektedir ( $p>0,05$ ).

Çizelge 4.69. Partikül büyüklüğü açısından stabilizan tip ve oranı etkileşimi

| Kaynak                                     | Kareler Toplamı | Ortalama Kare | F        | Anlamlılık |
|--|-----------------|---------------|----------|------------|
| <b>Düzeltilmiş Model</b>                   | 412663,227      | 45851,470     | 10,373   | 0,000      |
| <b>Sabit</b>                               | 13605777,696    | 13605777,696  | 3078,046 | 0,000      |
| <b>Stabilizan Tipi</b>                     | 283111,362      | 70777,840     | 16,012   | 0,000      |
| <b>ZHM: Stabilizan</b>                     | 4217,416        | 4217,416      | ,954     | 0,340      |
| <b>Stabilizan Tipi<br/>ZHM: Stabilizan</b> | 125334,449      | 31333,612     | 7,089    | 0,001      |
| <b>Hata</b>                                | 88405,287       | 4420,264      |          |            |
| <b>Toplam</b>                              | 14106846,210    |               |          |            |
| <b>Düzeltilmiş Toplam</b>                  | 501068,514      |               |          |            |

$$R^2 = 0,744$$



Şekil 4.23. Partikül büyüklüğü açısından stabilizan tipi ve oranı etkileşim grafiği

Etkileşim grafikleri bağımsız değişkenlerin her bir bağımlı değişken ile olan etkileşimlerini göstermektedir. Şekil 4.23’de görüldüğü gibi 1:2, 2:1 ve 4:1 oranlarında HPMC ile PVP K30’a kıyasla daha düşük partikül büyüklüğü elde edilmiştir. Tüm oranlar arasında ve polimerler arasında en düşük partikül büyüklüğü PVP K30 ile 1:1 oranında görülmüştür. PVP K30 ile 1:1 oranında gözlenen en düşük PB düşüşü HPMC’de en büyük PB olarak

karşımıza çıkmaktadır. 4:1 oranında her iki polimer sonuçları birbirine yakın çıkmıştır. Genel olarak PVP K30 1:1 ve HPMC 4:1 oranında en düşük PB görüldüğü ve en fazla küçülmenin ise PVP K30'da gerçekleştiği görülmektedir. İkili etkileşimler model denklemini %74,4 oranında açıklamıştır. Modelde ikili etkileşim kullanılarak devam edilmesi uygun görülmüştür.

Model denklemini aşağıda görülmektedir:

$$Y = 648,867 + 166,433t_{4r_1} + 162,533 t_{4r_2} - 230,900t_{4r_3} - 25,633t_{4r_4} - 8,833t_{4r_5} + 1,467t_{4r_1} + 74,133t_{5r_2} + 163,4 t_{5r_2} - 56,833t_{5r_4} + 0t_4 + 0t_5 + 0r_1 + 0r_2 + 0r_3 + 0r_4 + 0r_5$$

Burada: Y: PB (nm) r1: 1:2, r2: 2:1, r3: 1:1, r4: 4:1, r5: 8:1 oranlarını

t4: PVP K30 t5: HPMC referans değerlerini ifade etmektedir.

Kullanılan polimer oranları arasında farklılığı görmek için Tukey post-hoc testi ile çoklu karşılaştırma yapılmıştır (Çizelge 4.70).

Çizelge 4.70. Polimerlerin partikül büyüklüğü üzerine etkisi –ZHM: Stabilizan çoklu karşılaştırmaları (Tukey HSD)

| ZHM: Stabilizan | ZHM: Stabilizan | Ortalama Fark | Anlamlılık |
|-----------------|-----------------|---------------|------------|
| 1:2             | 2:1             | -34,38        | 0,895      |
|                 | 1:1             | 117,70        | 0,043      |
|                 | 4:1             | 125,18        | 0,029      |
|                 | 8:1             | 88,36         | 0,185      |
| 2:1             | 1:2             | 34,38         | 0,895      |
|                 | 1:1             | 152,08        | 0,006      |
|                 | 4:1             | 159,56        | 0,004      |
| 1:1             | 8:1             | 122,75*       | 0,033      |
|                 | 1:2             | -117,70       | 0,043      |
|                 | 2:1             | -152,08       | 0,006      |
| 4:1             | 4:1             | 7,48          | 1,000      |
|                 | 8:1             | -29,33        | 0,938      |
|                 | 1:2             | -125,18       | 0,029      |
|                 | 2:1             | -159,56       | 0,004      |
| 8:1             | 1:1             | -7,48         | 1,000      |
|                 | 8:1             | -36,81        | 0,870      |
|                 | 1:2             | -88,36        | 0,185      |
|                 | 2:1             | -122,750      | 0,033      |
|                 | 1:1             | 29,33         | 0,938      |
|                 | 4:1             | 36,81         | 0,870      |

PB değerlerine bakıldığında 1:2 oranı ile 1:1 ve 4:1 oranları arasında anlamlı farklılık olduğu görülürken 2:1 ve 8:1 oranlarında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. 1:1 ve 4:1 oranında 1:2 ve 2:1 oranlarına göre daha fazla PB küçülmesi tespit edilmiştir. 8:1 oranı ile diğer oranlar karşılaştırıldığında ise sadece 2:1 oranı arasında anlamlı farklılık olduğu ve 8:1 oranının daha düşük PB değerine sahip olduğu görüldü. Etkin madde miktarının artması orantılı şekilde PB değerinde küçülme sağlamamış olup korelasyon bulunmamıştır.

Polimerler ile hazırlanan sonuç nanokristal seçiminde ele alınan bir diğer bağımsız değişken ise partikül büyüklüğü dağılımıdır (Çizelge 4.71).

Çizelge 4.71. Partikül büyüklüğü dağılımı açısından stabilizan tip ve oranı ana etkileri

| <b>Kaynak</b>             | <b>Kareler Toplamı</b> | <b>Ortalama Kareler</b> | <b>F</b> | <b>Anlamlılık</b> |
|---------------------------|------------------------|-------------------------|----------|-------------------|
| <b>Düzeltilmiş Model</b>  | 5,057                  | 0,130                   | 7,504    | 0,000             |
| <b>Sabit</b>              | 26,528                 | 26,528                  | 1535,280 | 0,000             |
| <b>Stabilizan Tipi</b>    | 0,843                  | 0,843                   | 48,800   | 0,000             |
| <b>ZHM: Stabilizan</b>    | 1,300                  | 0,325                   | 18,804   | 0,000             |
| <b>Stabilizan Tipi</b>    | 0,815                  | 0,204                   | 11,787   | 0,000             |
| <b>ZHM: Stabilizan</b>    | 2,099                  | 0,070                   | 4,050    | 0,000             |
| <b>Hata</b>               | 1,382                  | 0,017                   |          |                   |
| <b>Toplam</b>             | 32,967                 |                         |          |                   |
| <b>Düzeltilmiş Toplam</b> | 6,439                  |                         |          |                   |

$$R^2 = 0,681$$

Partikül büyüklüğü dağılımı açısından bakıldığında stabilizan tipi ve oranı arasındaki etkileşim anlamlı bulunmuştur. PDI değerleri kullanılan stabilizanın tipiyle birlikte oranın her bir seviyesinden etkilenmektedir. Polimer tipine göre PDI'de ki değişimler formüle geçirilmiştir. PDI partikül büyüklüğü, geçiş sayısı ve stabilizan oranından etkilenmiştir. Etkileşim pozitifdir.

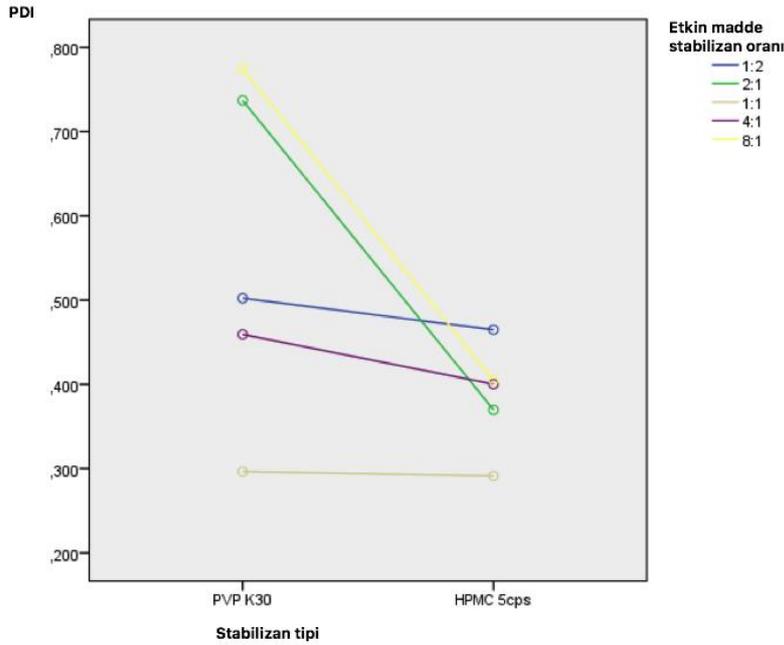
Model denklemini aşağıda görülmektedir:

$$Y=0,405 + 0,369t_4 + 0,606r_1 - 0,35r_2 - 0,114r_3 - 0,005r_4 - 0,332t_4r_1 - 0,002t_4r_2 - 0,364t_4r_3 - 0,310t_4r_4 + 0t_4r_5 + 0t_5r_1 + 0t_5r_2 + 0t_5r_4 + 0t_5r_1 + 0t_5r_2 + 0t_5r_3 + 0t_5r_4 + 0t_5r_5$$

Burada: Y: PDI r1: 1:2, r2: 2:1, r3: 1:1, r4: 4:1, r5: 8:1 oranlarını

t4: PVP K30 t5: HPMC referans değerlerini ifade etmektedir.

Etkileşimin model denkleminde yer aldığı düzende stabilizan tipi, oranı ve etkileşimleri %68,1 oranında denklemini açıklamaktadır. Geri kalan kısım alet tipi, operatör, ortam şartları vb. bağımsız değişkenlerde incelenmeyen parametreler olabilir. Partikül büyüklüğü dağılımı açısından etkileşim grafiği Şekil 4.24'de gösterilmektedir.



Şekil 4.24. Partikül büyüklüğü dağılımı açısından stabilizan tipi ve oranı etkileşim grafiği

Şekil 4.24'de görüldüğü üzere, farklı tipteki stabilizanlar kullanıldığı her oranında değişik partikül büyüklüğü dağılımları elde edildi. Her iki polimerin kullanıldığı 1:1 oranında en düşük PDI elde edildi. Partikül büyüklüğü dağılımı 0,1-0,4 arasında dar olarak kabul edildiğinden PVP K30'un 1:1 ve HPMC'nin 1:1, 2:1 ve 4:1 oranlarında PDI açısından uygun formülasyon elde edildiği görüldü.

Stabilizan oranları açısından bakıldığında ise çoklu karşılaştırmalar Çizelge 4.72’de sunulmaktadır.

Çizelge 4.72. Polimerlerin partikül büyüklüğü dağılımı üzerine etkisi –ZHM: Stabilizan çoklu karşılaştırmaları (20 geçiş) (Tukey HSD)

| ZHM:<br>Stabilizan | ZHM:<br>Stabilizan | Ortalama<br>Fark | Anlamlılık | %95 GA    |           |
|--------------------|--------------------|------------------|------------|-----------|-----------|
|                    |                    |                  |            | Alt Sınır | Üst Sınır |
| 1:2                | 2:1                | -0,069           | 0,357      | -0,175    | 0,036     |
|                    | 1:1                | 0,189            | 0,000      | 0,083     | 0,295     |
|                    | 4:1                | 0,053            | 0,618      | -0,052    | 0,159     |
|                    | 8:1                | -0,106           | 0,049      | -0,212    | -0,000    |
| 2:1                | 1:2                | 0,069            | 0,357      | -0,036    | 0,175     |
|                    | 1:1                | 0,259            | 0,000      | 0,153     | 0,365     |
|                    | 4:1                | 0,123            | 0,014      | 0,017     | 0,229     |
|                    | 8:1                | -0,036           | 0,872      | -0,142    | 0,069     |
| 1:1                | 1:2                | -0,189           | 0,000      | -0,295    | -0,083    |
|                    | 2:1                | -0,259           | 0,000      | -0,365    | -0,153    |
|                    | 4:1                | -0,135           | 0,005      | -0,241    | -0,029    |
|                    | 8:1                | -0,296           | 0,000      | -0,401    | -0,190    |
| 4:1                | 1:2                | -0,053           | 0,618      | -0,159    | 0,052     |
|                    | 2:1                | -0,123           | 0,014      | -0,229    | -0,017    |
|                    | 1:1                | 0,135            | 0,005      | 0,029     | 0,241     |
|                    | 8:1                | -0,160           | 0,001      | -0,266    | -0,054    |
| 8:1                | 1:2                | 0,106            | 0,049      | 0,000     | 0,212     |
|                    | 2:1                | 0,036            | 0,872      | -0,069    | 0,142     |
|                    | 1:1                | 0,296            | 0,000      | 0,190     | 0,401     |
|                    | 4:1                | 0,160            | 0,001      | 0,054     | 0,266     |

PDI değerlerine bakıldığında 1:1 oranı diğer tüm oranlardan daha düşük değer göstermekle birlikte anlamlı olarak hepsinden farklı çıkmıştır. 4:1 oranı ile 1:2 ve 8:1 oranı ile 2:1 oranı, 2:1 ile 1:2 oranları arasında PDI değerleri anlamlı şekilde farklı değildir ( $p>0,05$ ).

Bağımlı değişkenlerden biri olan zeta potansiyel üzerinde de formülasyonların etkisi incelendi (Çizelge 4.73).

Çizelge 4.73. Polimerler ile hazırlanan nanokristaller için tanımlayıcı istatistikler - Zeta potansiyel

| Stabilizan Tipi | ZHM: Stabilizan | Ortalama | SS   | N  |
|-----------------|-----------------|----------|------|----|
| <b>PVP K30</b>  | 1:2             | 19,38    | 3,59 | 12 |
|                 | 2:1             | 28,00    | 1,39 | 12 |
|                 | 1:1             | 26,25    | 2,32 | 12 |
|                 | 4:1             | 26,25    | 3,79 | 12 |
|                 | 8:1             | 29,58    | 1,91 | 12 |
| <b>HPMC</b>     | 1:2             | 13,25    | 1,03 | 12 |
|                 | 2:1             | 1,24     | 0,38 | 12 |
|                 | 1:1             | 7,27     | 1,45 | 12 |
|                 | 4:1             | 13,19    | 2,05 | 12 |
|                 | 8:1             | 9,48     | 2,67 | 12 |

Tanımlayıcı istatistiklerden de görüldüğü üzere HPMC ile düşük zeta potansiyel değerleri elde edilmiştir, buradan HPMC'nin partikülleri stabilize etmekte yetersiz kaldığı yorumu yapılabilir. PVP K30 ile genel olarak tüm oranlarda sonuç uygun (>20 mV) çıkmakla birlikte en yüksek zeta potansiyel değeri 4:1 ve 1:1 oranının kullanıldığı formülasyonlarda elde edilmiştir. Zeta potansiyeli üzerine stabilizan tipi ve oranının etkileşimi incelenerek de değerlendirmelere devam edilmiştir (Çizelge 4.74)

Çizelge 4.74. Polimer tipi ve oranlarının zeta potansiyeli üzerine olan etkileşim tablosu

| Kaynak                                    | Kareler Toplamı | Ortalama Kareler | F        | Anlamlılık |
|---|-----------------|------------------|----------|------------|
| <b>Düzeltilmiş Model</b>                  | 10593,534       | 1177,059         | 222,023  | 0,000      |
| <b>Sabit</b>                              | 36297,452       | 36297,452        | 6846,606 | 0,000      |
| <b>Stabilizan Tipi</b>                    | 8676,291        | 8676,291         | 1636,565 | 0,000      |
| <b>ZHM: Stabilizan</b>                    | 462,093         | 115,523          | 21,791   | 0,000      |
| <b>Stabilizan Tipi<br/>ZHM:Stabilizan</b> | 1455,150        | 363,787          | 68,619   | 0,000      |
| <b>Hata</b>                               | 583,168         | 5,302            |          |            |
| <b>Toplam</b>                             | 47474,153       |                  |          |            |
| <b>Düzeltilmiş Toplam</b>                 | 11176,701       |                  |          |            |

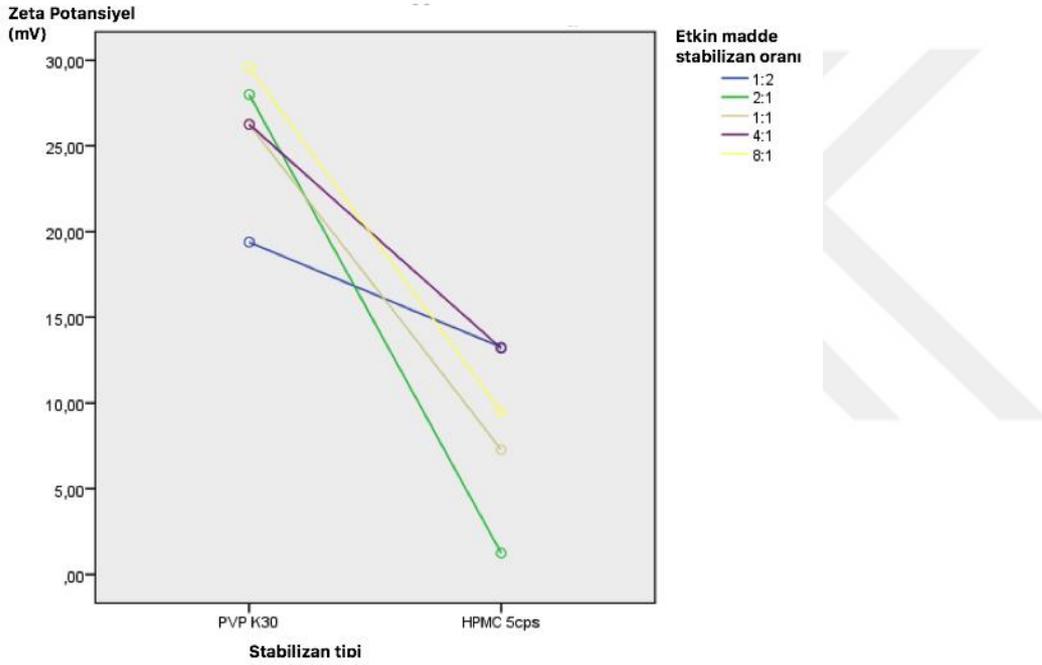
$$R^2 = 0,944$$

İkili etkileşimler model denklemini %94,4 oranında açıklamıştır. Modelin yüksek oranda açıklamasından dolayı ikili etkileşim kullanılarak devam edilmesi uygun görülmüştür. Zeta potansiyel sonuçlarını tüm bağımsız değişkenler % 94.4 oranında etkilemektedir.

Model denklemini aşağıda görülmektedir:

$$Y = 9,482 + 20,104t_4 + 3,777r_1 - 8,242r_2 - 2,209r_3 + 3,710r_4 - 13,977t_4r_1 + 6,658t_4r_2 - 1,124t_4r_3 - 7,035t_4r_4 + 0t_4r_5 + 0t_5r_1 + 0t_5r_2 + 0t_5r_3 + 0t_5r_4 + 0t_5r_5$$

Burada: Y: ZP (mV) r1: 1:2, r2: 2:1, r3: 1:1, r4: 4:1, r5: 8:1 oranlarını t4: PVP K30 t5: HPMC referans değerlerini ifade etmektedir.



Şekil 4.25. Zeta potansiyel değeri açısından stabilizan tipi ve oranı etkileşim grafiği

Zeta potansiyel değerlerinin PVP K30 kullanılan tüm oranlarda yüksek olduğu ve HPMC'nin 2:1 oranında ZP değerinde çok aşırı bir düşüş gösterdiği görülmektedir.

Çizelge 4.75. Polimer ve oranlarının zeta potansiyel üzerine olan ana etkileri

| Kaynak                       | Kareler Toplamı | Ortalama Kareler | F        | Anlamlılık |
|------------------------------|-----------------|------------------|----------|------------|
| <b>Düzeltilmiş Model</b>     | 9138,384        | 1827,677         | 102,219  | ,000       |
| <b>Sabit</b>                 | 36297,452       | 36297,452        | 2030,061 | ,000       |
| <b>Stabilizan tipi</b>       | 8676,291        | 8676,291         | 485,252  | ,000       |
| <b>ZHM: Stabilizan Oranı</b> | 462,093         | 115,523          | 6,461    |            |
| <b>Hata</b>                  | 2038,318        | 17,880           |          |            |
| <b>Toplam</b>                | 47474,153       |                  |          |            |
| <b>Düzeltilmiş Toplam</b>    | 11176,701       |                  |          |            |

$R^2=0,810$

Çizelge 4.75 stabilizan tipinin ve stabilizan oranının zeta potansiyel üzerine istatistiksel olarak anlamlı şekilde etkilediği göstermektedir. Bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimin modelden çıkarılması model anlamlılığını değiştirmiştir. Bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimin modelden çıkarılması model anlamlılığını %94,4'den %81'e düşürmüştür.

Sonuç olarak yapılan istatistiksel analizler sonucunda polimerlerin kullanıldığı formülasyonlar değerlendirilmiştir. 5, 10, 20 ve 30 geçiş sayılarından zeta potansiyelin ve PDI'nin etkilenmediği fakat PB'nin etkilendiği görülmüştür. PB'nin geçiş sayısının etkisi bakıldığında ise 5 ile 20 arasında anlamlı fark bulunmakla birlikte 10 ile 5 geçiş arasında ve 20 ile 30 geçiş arasında anlamlı fark bulunmadığından en ideal geçiş sayısı 20 olarak seçilmiştir. Daha sonra polimer tipi ve oranının belirlenmesi için 20 geçiş sayısında hazırlanan nanokristaller için bağımlı değişkenlere (partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel) bağımsız değişkenlerin (stabilizan tipi ve stabilizan oranı) etkisi incelenmiştir. Tüm analizler 20 geçiş üzerinden değerlendirilmiş ve en uygun polimer içeren formülasyon olarak PVP K30 1:1 oranındaki formülasyon seçilmiştir.

#### 4.3.9. Nanokristal formülasyonlarının kurutulması

Partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel değerlerine göre elde edilen optimum nanokristallerin çözünme çalışmalarını ve karakterizasyon çalışmalarını yapmak ve ADT'leri geliştirmek için kurutulması gerekmektedir. Bu amaçla 2:1 oranında Tween 80 ve Vit E TPGS ile 30 geçişte hazırlanan nanokristaller ve 1:1 oranında PVP K30 içeren 20 geçişte hazırlanan nanokristallerin katı hale getirilmesinde liyofilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Liyofilizasyon işlemi nanokristallerin PB değerinin büyümesine neden olabileceğinden partiküllerin yeniden büyümesini engellemek amacıyla kriyoprotektan

olarak mannitol ilave edilmiştir. Liyofilizasyon işlemi için gereken mannitol oranı farklı oranlarda çalışılarak optimize edilmiştir.

Kurutulma işleminden sonra nanokristallerin içerisinde ZHM miktar tayini yapılarak verim hesaplanmıştır. Bu amaçla belirli bir miktarda tartılan nanokristal tozları metanol içerisinde çözülerek 0,45 µm membran filtreden süzildükten sonra valide edilmiş UV Spektrofotometrik yöntem ile analiz edilmiştir. Başlangıçta %0.5 a/a konsantrasyonda hazırlanan süspansiyonların, nanokristal elde etme basamakları ve liyofilizasyondan sonra %0.45 a/a konsantrasyonda elde edildiği görülmüştür. Yapılan çalışmalarda ortalama %89.8 verimlilik ile nanokristal elde edildiğinden tüm çalışmalarda bu orana göre tartım işlemleri yapılmıştır.

#### Tween 80 içeren nanokristalinin kurutulması ile ilgili bulgular

İstatistiksel analizlere göre YEM içeren formülasyonlar arasında uygun görülen formülasyonlardan biri olan 2:1 oranının kullanıldığı Tween 80 içeren nanokristallerin bağımlı değişken yanıtları ve kurutma işleminde çalışılan mannitol oranları Çizelge 4.76 ve 4.77’de verilmektedir.

Çizelge 4.76. Liyofilizasyon öncesi 30 geçiş sayısında hazırlanan ZHM: Tween 80 (2:1) nanokristali karakterizasyonu

| <b>PB (nm) ±SS</b> | <b>PDI ±SS</b> | <b>ZP (mV) ±SS</b> |
|--------------------|----------------|--------------------|
| 666,23 ± 12,001    | 0,501 ± 0,044  | 21,66 ± 0,251      |

Çizelge 4.77. Liyofilizasyonda kullanılan mannitol oranları

| <b>Formülasyon</b> | <b>ZHM (%a/a)</b> | <b>Tween 80 (%a/a)</b> | <b>Mannitol (%a/a)</b> |
|--------------------|-------------------|------------------------|------------------------|
| <b>F1</b>          | 0,5               | 0,25                   | 0                      |
| <b>F2</b>          | 0,5               | 0,25                   | 2,5                    |
| <b>F3</b>          | 0,5               | 0,25                   | 5                      |
| <b>F4</b>          | 0,5               | 0,25                   | 7,5                    |
| <b>F5</b>          | 0,5               | 0,25                   | 10                     |

Çizelge 4.78’de belirtilen formülasyonların liyofilizasyon işlemi sonrası yeniden partikül büyüklükleri, partikül büyüklüğü dağılımları ve zeta potansiyelleri ölçülmüştür (Çizelge 4.78).

Çizelge 4.78. Tween 80 ile hazırlanan nanokristal formülasyonlarında liyofilizasyon sonrası karakterizasyon çalışmaları

| Formülasyon | PB (nm) ±SS      | PDI ±SS       | ZP (mV) ±SS  |
|-------------|------------------|---------------|--------------|
| F1          | 1203,53 ± 230,73 | 0,779 ± 0,137 | 9,55 ± 0,52  |
| F2          | 2353,66 ± 200,44 | 0,504 ± 0,137 | 3,53 ± 1,25  |
| F3          | 2403,67 ± 11,59  | 0,637 ± 0,016 | 5,34 ± 0,53  |
| F4          | 987,86 ± 137,58  | 0,501 ± 0,164 | 14,2 ± 0,2   |
| F5          | 883,933 ± 34,69  | 0,557 ± 0,207 | -6,22 ± 0,09 |

Liyofilizasyon işlemi sırasında mannitol kullanılmadığında 2 kata kadar partikül büyüklüğünde büyüme gözlenmiştir. Mannitol miktarının ZHM miktarının 15 katına kadar çıkarılması partikül büyüklüğündeki artışı bir miktar düşürmüştür. Buna rağmen her mannitol oranında partiküller yine de büyümüştür. Tween 80 ile 2:1 oranında 30 geçiş ile hazırlanmış olan ZHM nanokristali liyofilizasyon sonrası partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel değerlerini tüm mannitol oranlarında korumamıştır. Bu nedenle uygun bir formülasyon olarak değerlendirilememiştir.

#### Vitamin E TPGS içeren nanokristallerin kurutulması ile ilgili bulgular

İstatistiksel analizlere göre YEM içeren formülasyonlar arasında uygun görülen formülasyonlardan biri olan 2:1 oranının kullanıldığı Vitamin E TPGS içeren nanokristallerin bağımlı değişken yanıtları ve kurutma işleminde çalışılan mannitol oranları Çizelge 4.79 ve 4.80’de verilmektedir.

Çizelge 4.79. Liyofilizasyon öncesi 30 geçiş sayısında hazırlanan ZHM: Vit E TPGS 2:1 nanokristalinin karakterizasyonu

| PB (nm) ±SS      | PDI ±SS       | ZP (mV) ±SS   |
|------------------|---------------|---------------|
| 485,066 ± 17,616 | 0,302 ± 0,009 | 24,16 ± 0,723 |

Çizelge 4.80. Liyofilizasyonda kullanılan mannitol oranları

| Formülasyon | ZHM (%a/a) | Vit E TPGS (%a/a) | Mannitol (%a/a) |
|-------------|------------|-------------------|-----------------|
| F1          | 0,5        | 0,25              | 0               |
| F2          | 0,5        | 0,25              | 2,5             |
| F3          | 0,5        | 0,25              | 5               |
| F4          | 0,5        | 0,25              | 7,5             |
| F5          | 0,5        | 0,25              | 10              |

Çizelge 4.81’de verilen formülasyonların liyofilizasyon işlemi sonrası yeniden partikül büyüklükleri, partikül büyüklüğü dağılımları ve zeta potansiyelleri ölçülmüştür.

Çizelge 4.81. Vit E TPGS ile hazırlanan nanokristal formülasyonlarında liyofilizasyon sonrası karakterizasyon çalışmaları

| <b>Formülasyon</b> | <b>PB (nm) ±SS</b> | <b>PDI ±SS</b> | <b>ZP (mV) ±SS</b> |
|--------------------|--------------------|----------------|--------------------|
| <b>F1</b>          | 882,5 ± 124,78     | 0,612 ± 0,167  | 11,36 ± 0,32       |
| <b>F2</b>          | 754,13 ± 36,62     | 0,437 ± 0,095  | 12,03 ± 0,665      |
| <b>F3</b>          | 678,33 ± 24,02     | 0,241 ± 0,056  | 6,37 ± 0,05        |
| <b>F4</b>          | 642,73 ± 18,77     | 0,400± 0,006   | 12,63 ± 0,585      |
| <b>F5</b>          | 532,36 ± 16,75     | 0,304 ± 0,017  | 20,46 ± 0,351      |

Mannitol içermeyen formülasyonların PB ve PDI değerlerinde artış ve ZP değerinde düşüş görülmüştür. Manntiol oranının %10 olduğu formülasyonda elde edilen cevap değişkenleri çok daha az değişim gösterdiğinden bu oranın kullanıldığı Vit E TPGS nanokristali ideal formülasyon olarak uygun görülmüştür.

#### PVP K30 içeren nanokristalinin kurutulması ile ilgili bulgular

İstatistiksel analizlere göre polimer fomulasyonlar arasında uygun görülen formülasyonlardan biri olan 1:1 oranının kullanıldığı PVP K30 içeren nanokristallerin bağımlı değişken yanıtları ve kurutma işleminde çalışılan mannitol oranları Çizelge 4.82 ve 4.83’de verilmektedir.

Çizelge 4.82. Liyofilizasyon öncesi 20 geçiş sayısında hazırlanan ZHM: PVP K30 1:1 oranındaki nanokristali karakterizasyonu

| <b>PB (nm) ±SS</b> | <b>PDI ±SS</b> | <b>ZP (mV) ±SS</b> |
|--------------------|----------------|--------------------|
| 545,166 ± 13,53    | 0,378 ± 0,044  | 24,16 ± 0,590      |

Çizelge 4.83.Liyofilizasyonda kullanılan mannitol oranları

| <b>Formülasyon</b> | <b>ZHM (%a/a)</b> | <b>PVP K30 (%a/a)</b> | <b>Mannitol (%a/a)</b> |
|--------------------|-------------------|-----------------------|------------------------|
| <b>F1</b>          | 0,5               | 0,5                   | 0                      |
| <b>F2</b>          | 0,5               | 0,5                   | 2,5                    |
| <b>F3</b>          | 0,5               | 0,5                   | 5                      |
| <b>F4</b>          | 0,5               | 0,5                   | 7,5                    |
| <b>F5</b>          | 0,5               | 0,5                   | 10                     |

Sonuç nanokristal formülasyonlarına liyofilizasyonun nasıl etkilediğini görmek için, mannitol içermeyen formülasyonlar ile, partikül büyüklüğüne karşı mannitolün farklı oranları kullanılarak formülasyonlar hazırlandı (Çizelge 4.83). Formülasyonların liyofilizasyon sonrası yeniden partikül büyüklükleri, partikül büyüklüğü dağılımları ve zeta potansiyelleri ölçüldü (Çizelge 4.84).

Çizelge 4.84. PVP K30 içeren nanokristalinin liyofilizasyon sonrası karakterizasyonu

| <b>Formülasyon</b> | <b>PB (nm) ±SS</b> | <b>PDI ±SS</b> | <b>ZP (mV) ±SS</b> |
|--------------------|--------------------|----------------|--------------------|
| <b>F1</b>          | 1055,66 ± 32,29    | 0,602 ± 0,017  | 1,52 ± 0,01        |
| <b>F2</b>          | 709,633 ± 52,550   | 0,473 ± 0,028  | 1,41 ± 0,03        |
| <b>F3</b>          | 678,33 ± 24,02     | 0,241 ± 0,056  | 6,37 ± 0,05        |
| <b>F4</b>          | 642,73 ± 15,32     | 0,360± 0,052   | 12,63 ± 0,48       |
| <b>F5</b>          | 532,36 ±13,67      | 0,304±0,014    | 20,46±0,29         |

Mannitol içermeyen formülasyonların PB ve PDI değerlerinde artış ve ZP değerinde düşüş görülmüştür. Mannitol oranının %10 olduğu formülasyonda elde edilen cevap değişkenleri çok daha az değişim gösterdiğinden bu oranın kullanıldığı PVP K30 nanokristali ideal formülasyon olarak uygun görülmüştür.

#### **4.4. Vitamin E TPGS içeren nanokristallerin karakterizasyonu**

ZHM: Vitamin E TPGS: 1:2 olan ve %10 mannitol içeren 30 geçiş sayısında elde edilen sonuç nanokristalinin karakterizasyonu yapılmıştır.

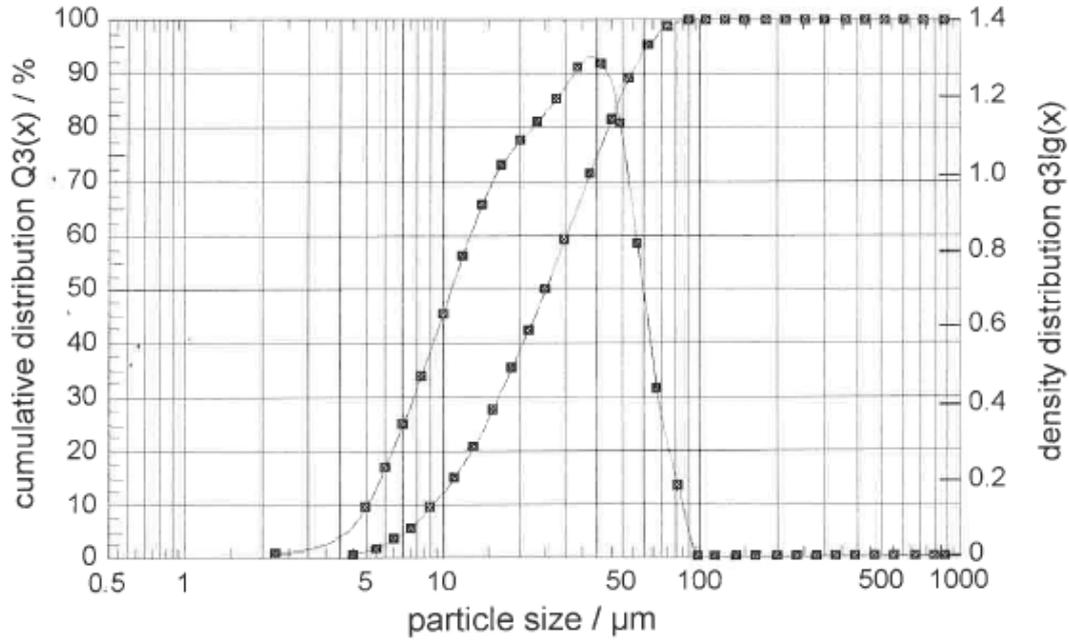
##### **4.4.1. Partikül büyüklüğü (PB), partikül büyüklüğü dağılımı (PDI) ve zeta potansiyel (ZP) bulguları**

Vitamin E TPGS- mannitol kombinasyonu ile stabilize edilerek kurutulmuş nanokristallerin PB, PDI ve ZP değerlerini Çizelge 4.85’de sunulmaktadır.

Çizelge 4.85. Vit E TPGS– Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonun liyofilizasyondan önce ve sonra PB, PDI ve ZP değerleri

| Başlangıç PB (µm) (n=6) ± SS  |               | Devir hızı (rpm)    | Zaman (dk) | Ort. PB (µm) (n=6) ± SS |               | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB (µm) (n=6) ± SS |               |
|-------------------------------|---------------|---------------------|------------|-------------------------|---------------|---|---------------|
| Liyo. öncesi                  | Liyo. sonrası |                     |            | Liyo. öncesi            | Liyo. sonrası | Liyo. öncesi                            | Liyo. sonrası |
| 25135 ± 2501                  | 24986 ± 150   | 15000               | 10         | 13286 ± 113             | 12945 ± 185   | 4384 ± 126                              | 4421 ± 53     |
| <b>Liyofilizasyon öncesi</b>  |               |                     |            |                         |               |   |               |
| <b>Geçiş sayısı</b>           |               | <b>Ort. PB (nm)</b> |            | <b>PDI</b>              |               | <b>ZP (mV)</b>                          |               |
| <b>5</b>                      |               | 1028,1 ± 73,5       |            | 0,399 ± 0,199           |               | 14,56 ± 0,81                            |               |
| <b>10</b>                     |               | 580,4 ± 96,5        |            | 0,517 ± 0,156           |               | 30,3 ± 0,2                              |               |
| <b>20</b>                     |               | 545,36 ± 16,72      |            | 0,411 ± 0,025           |               | 24,16 ± 0,72                            |               |
| <b>30</b>                     |               | 485,066 ± 17,616    |            | 0,302 ± 0,009           |               | 24,16 ± 0,75                            |               |
| <b>Liyofilizasyon sonrası</b> |               |                     |            |                         |               |   |               |
| <b>Geçiş sayısı</b>           |               | <b>Ort. PB (nm)</b> |            | <b>PDI</b>              |               | <b>ZP (mV)</b>                          |               |
| <b>5</b>                      |               | 1203,33 ± 179,60    |            | 0,632 ± 0,107           |               | 0,52 ± 0,34                             |               |
| <b>10</b>                     |               | 621,5 ± 175,5       |            | 0,591 ± 0,029           |               | 4,61 ± 0,79                             |               |
| <b>20</b>                     |               | 658,9 ± 38,3        |            | 0,436 ± 0,004           |               | 14,5 ± 1,4                              |               |
| <b>30</b>                     |               | 532,36 ± 16,75      |            | 0,304 ± 0,017           |               | 20,46 ± 0,35                            |               |

Vit E TPGS ve mannitol kombinasyonu ile 30 geçişte hazırlanan nanokristal formülasyonlarında PB değeri 1000 nm'nin altında kalmayı başarmıştır. Nanokristalinin liyofilizasyonu sonrasında PB, PDI ve ZP değerleri tekrar edilebilir çıkmıştır. Vitamin E TPGS ile hazırlanan formülasyonların başlangıç durumundaki ölçüm sonucunun bir görüntüsü Şekil 4.26'da verilmektedir. Şekil 4.27 ve 4.28 ise 30 geçiş sonrası PB, PDI ve ZP değerlerinin ölçüm sonuçlarının bir görüntüsü olarak sunulmaktadır.



Volume Size Distribution

| x0/μm | Q3/%  | x0/μm | Q3/%  | x0/μm  | Q3/%   | x0/μm  | Q3/%   |
|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|
| 4.50  | 0.37  | 18.50 | 34.98 | 75.00  | 98.56  | 305.00 | 100.00 |
| 5.50  | 1.47  | 21.50 | 42.05 | 90.00  | 100.00 | 365.00 | 100.00 |
| 6.50  | 3.14  | 25.00 | 49.46 | 105.00 | 100.00 | 435.00 | 100.00 |
| 7.50  | 5.26  | 30.00 | 58.89 | 125.00 | 100.00 | 515.00 | 100.00 |
| 9.00  | 8.98  | 37.50 | 71.23 | 150.00 | 100.00 | 615.00 | 100.00 |
| 11.00 | 14.47 | 45.00 | 81.41 | 180.00 | 100.00 | 735.00 | 100.00 |
| 13.00 | 20.15 | 52.50 | 88.97 | 215.00 | 100.00 | 875.00 | 100.00 |
| 15.50 | 27.15 | 62.50 | 95.11 | 255.00 | 100.00 |        |        |

x10 = 9.37 μm  
 v16 = 11.54 μm

x50 = 25.29 μm  
 v84 = 47.57 μm

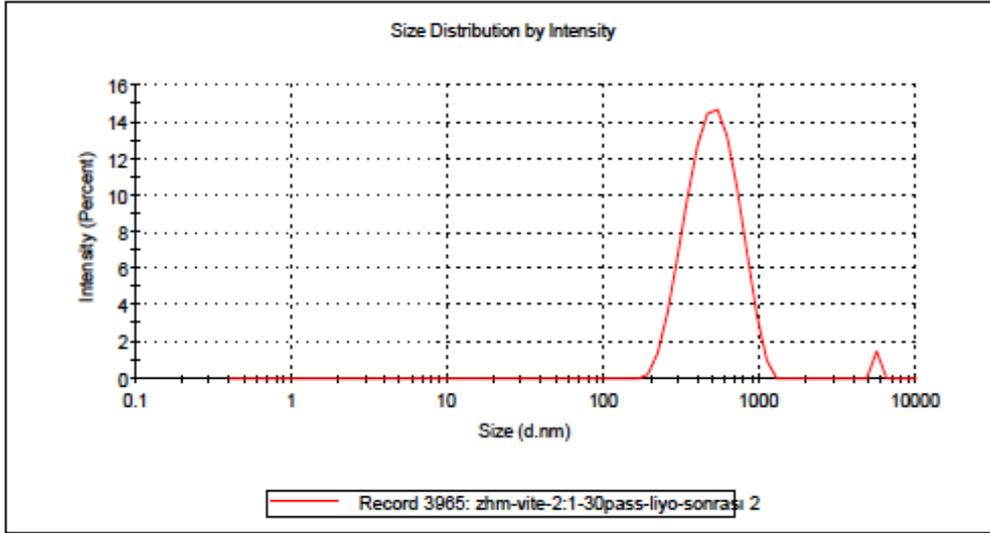
x90 = 54.18 μm  
 v99 = 79.59 μm

Şekil 4.26. Vit E TPGS hazırlanan formülasyonun fiziksel karışım başlangıç partikül büyüklüğü

## Results

|                                | Size (d.n...         | % Intensity: | St Dev (d.n... |
|--------------------------------|----------------------|--------------|----------------|
| <b>Z-Average (d.nm):</b> 578,0 | <b>Peak 1:</b> 525,0 | 98,5         | 187,0          |
| <b>Pdl:</b> 0,408              | <b>Peak 2:</b> 5560  | 1,5          | 0,000          |
| <b>Intercept:</b> 0,842        | <b>Peak 3:</b> 0,000 | 0,0          | 0,000          |

**Result quality** Good

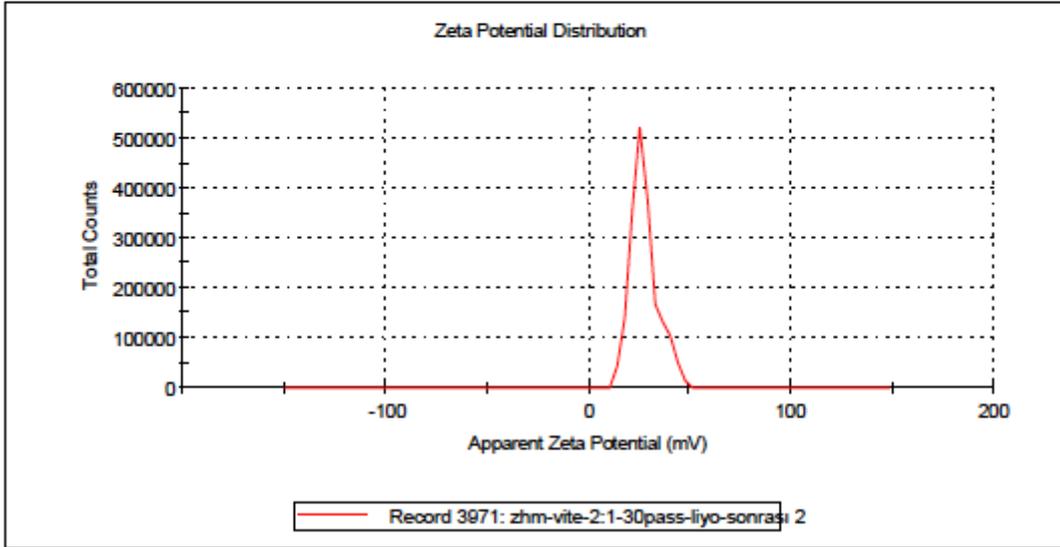


Şekil 4.27. ZHM: Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu İle hazırlanan liyofilizasyon sonrası sonuç formülasyon PB ve PDI değerleri

## Results

|                              | Mean (mV)    | Area (%) | St Dev (mV) |
|------------------------------|--------------|----------|-------------|
| Zeta Potential (mV): 27,5    | Peak 1: 27,5 | 100,0    | 6,81        |
| Zeta Deviation (mV): 6,81    | Peak 2: 0,00 | 0,0      | 0,00        |
| Conductivity (mS/cm): 0,0328 | Peak 3: 0,00 | 0,0      | 0,00        |

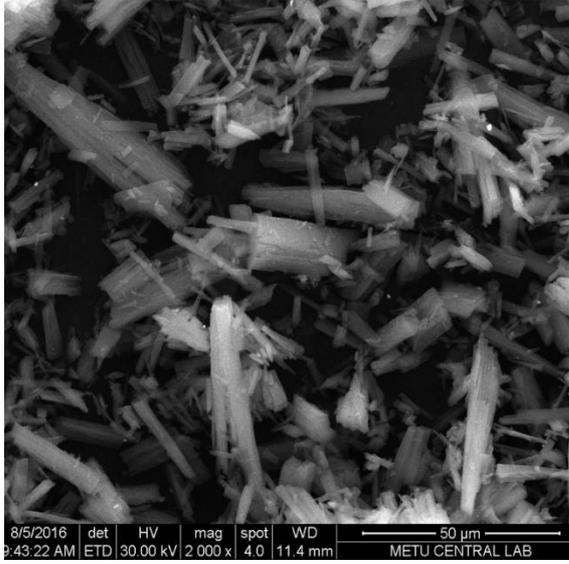
Result quality **Good**



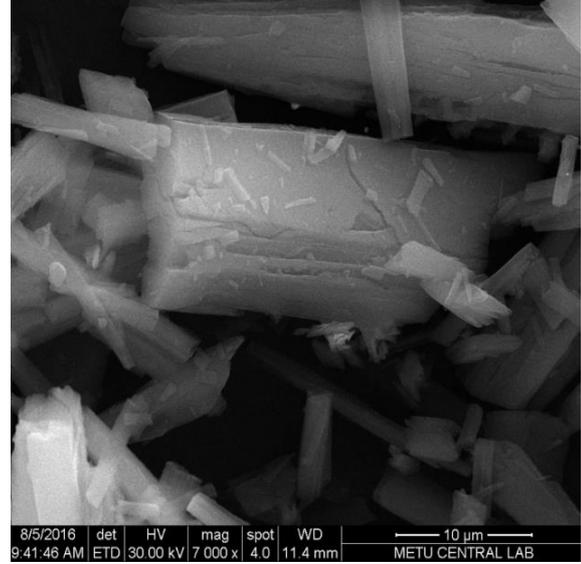
Şekil 4.28. ZHM: Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu İle hazırlanan liyofilizasyon sonrası sonuç formülasyon Zeta potansiyel değeri

### 4.4.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) bulguları

Bölüm 3.2.3’de açıklanan ZHM Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan, ultratıraks ve her geçiş sayısında elde edilen nanokristallerin, ZHM kaba tozun ve fiziksel karışımın SEM görüntüleri Resim 4.1-4.7’de görülmektedir.

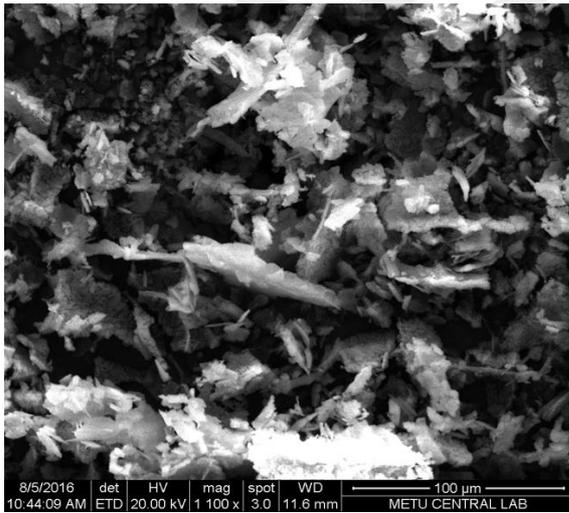


(a)

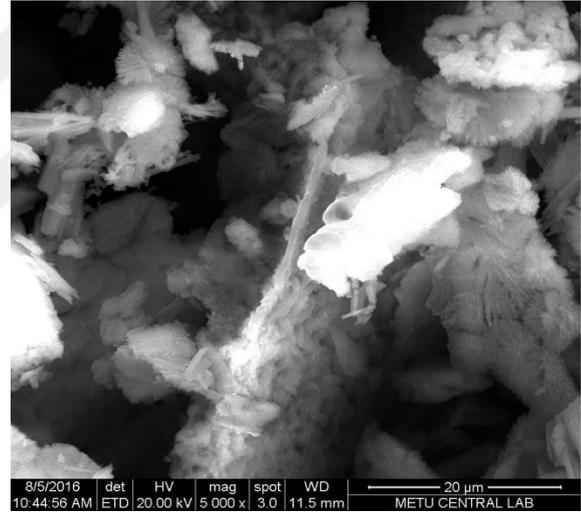


(b)

Resim 4.1. ZHM kaba tozu SEM görüntüleri: (a) mag. 2000x, (b) mag. 7.000x

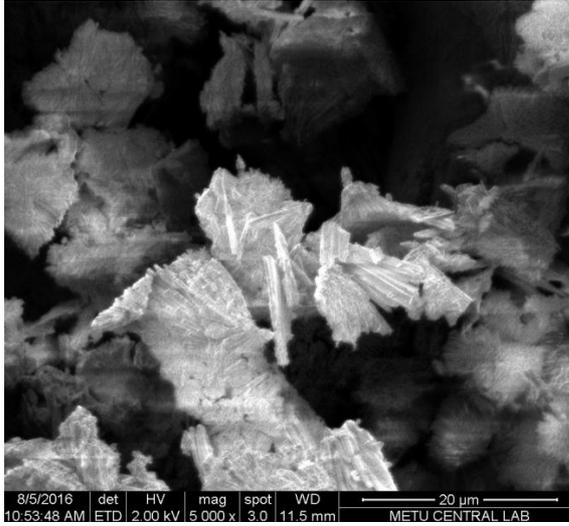


(a)

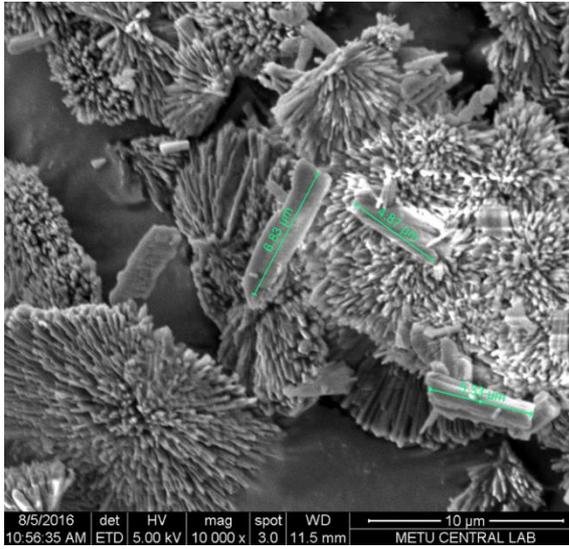


(b)

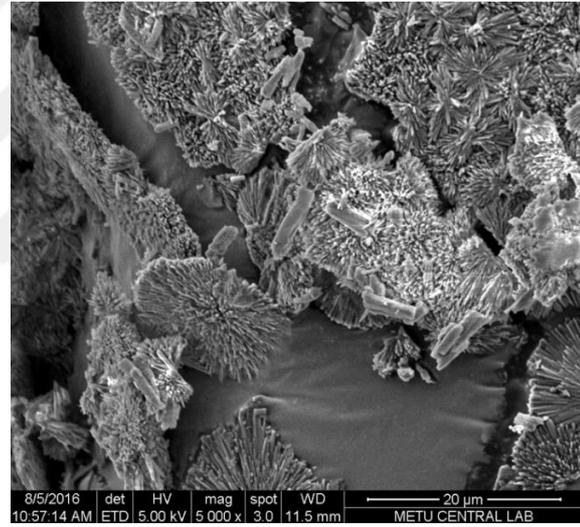
Resim 4.2. Vit E TPGS–Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonun liyofilize fiziksel karışım SEM görüntüleri: (a) mag.1100x, (b) mag.5000x



Resim 4.3. Vit E TPGS–Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonun ultratıraks sonrası liyofilize fiziksel karışım SEM görüntüsü, mag. 5000x

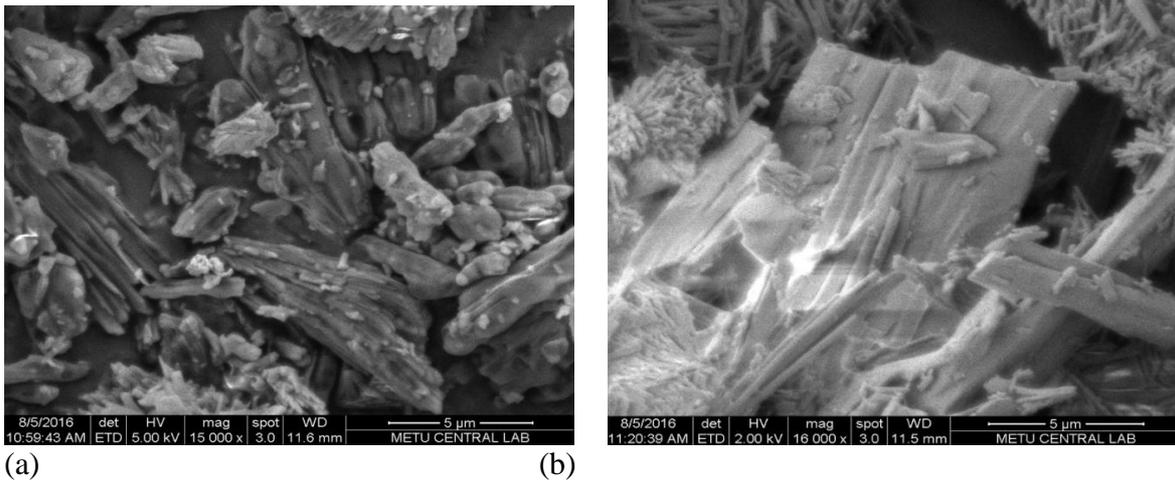


(a)

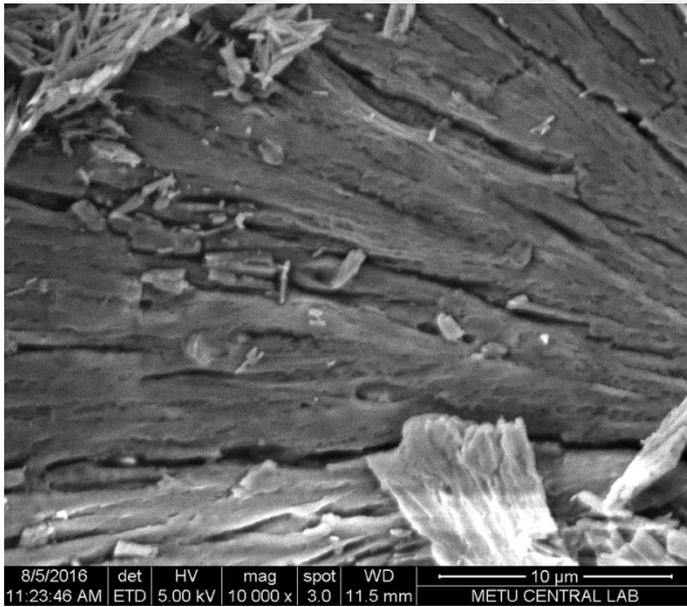


(b)

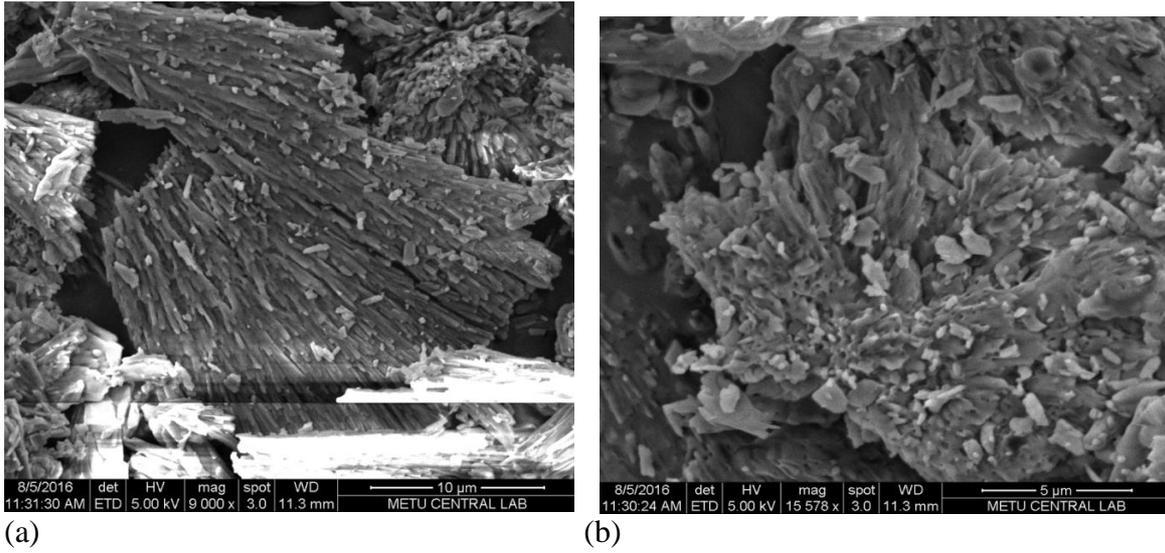
Resim 4.4. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonun 1 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüsü (a) mag. 10000x (b) mag. 5000x



Resim 4.5. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan liyofilize toz formülasyonunun SEM görüntüsü (a) 5 geçiş, mag. 15.000x (b) 10 geçiş, mag. 10.000x



Resim 4.6. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonun 20 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüsü, mag. 10000x

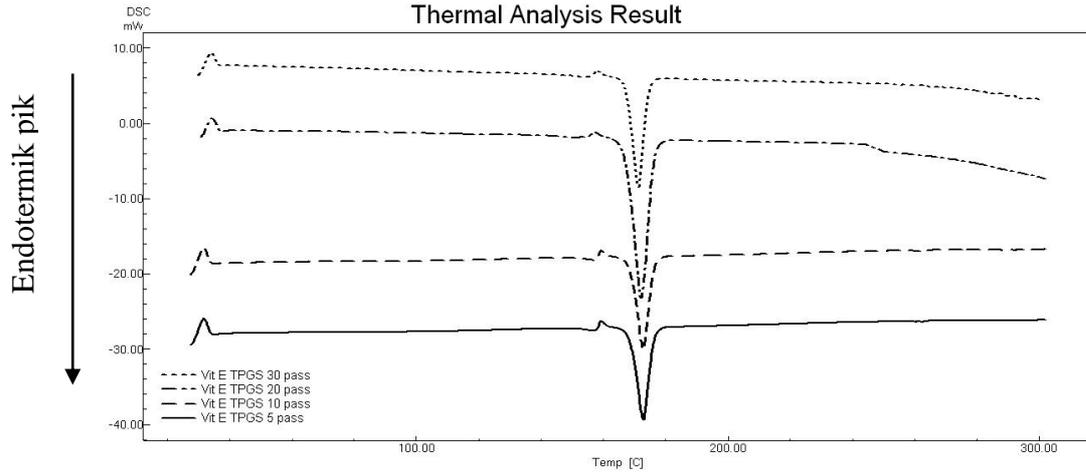


Resim 4.7. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonun 30 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüleri: (a) mag. 9000x, (b) mag. 15578x

SEM görüntüleri, ZHM partiküllerinin çubuk şeklinde olduğunu göstermektedir. Nanokristali elde edildiğinde çubuk şeklinin daha yuvarlak şekile dönüştüğü görülmektedir. SEM morfolojik analizinde, nanokristallerin 1000 nm altında elde edilebildiği görülmektedir. Bu sonuç Malvern ZetaSizer’da elde edilen sonuçları doğrulamaktadır. Yüksek oranda mannitol varlığı nanokristallerin içerisinde görülmektedir. Ultraturaks ile partikül boyutunun küçültülmesinden sonra Vit E TPGS’nin ZHM üzerine fiziksel adsorpsiyon gösterdiği görüldü. Yüksek basınç homojenizasyon işleminin de partiküllerin küçülmesini sağladığı SEM görüntülerinde de görülmüştür.

#### 4.4.3. Diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) bulguları

ZHM kaba tozu, fiziksel karışım ve her geçiş sayısında hazırlanan nanokristallerin diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) sonuçları Şekil 4.29 ve 4.30’da görülmektedir.

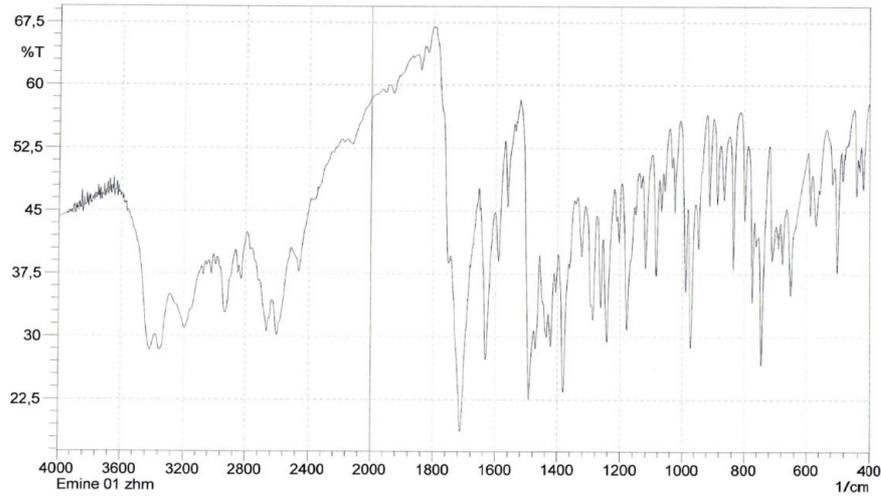


Şekil 4.29. Vit E TPGS içeren nanokristalininher geçişteki DSC termogramı

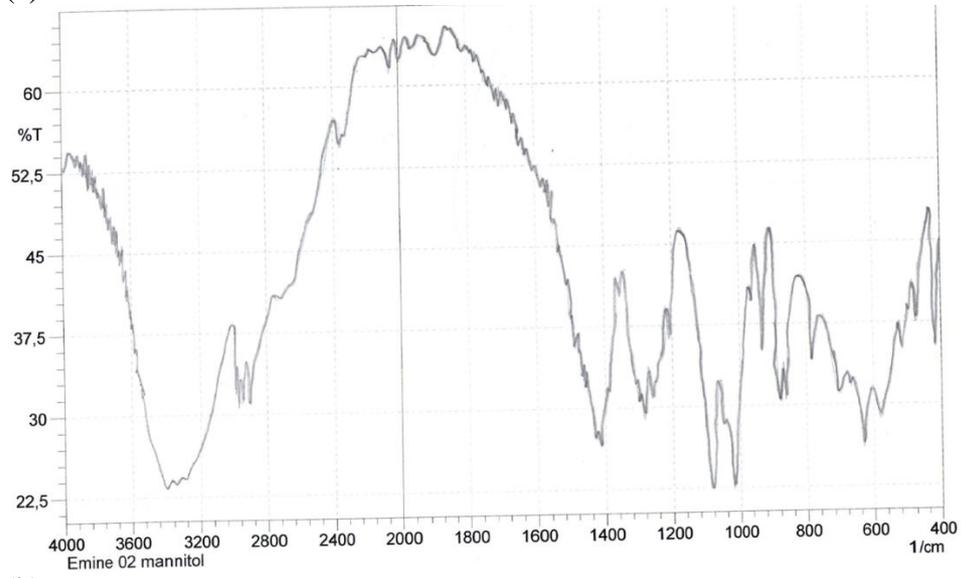
Şekil 4.29’da görüldüğü gibi nanokristal ile erime sıcaklığında herhangi bir değişim olmadığı ve geçimsizlik olmadığı görülmektedir.

#### 4.4.4. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Bulguları

Sonuç formülasyon olan ZHM Vit E TPGS 2:1 oranında hazırlanan nanokristallerin FTIR sonuçları Şekil 4.30-4.32’de görülmektedir.

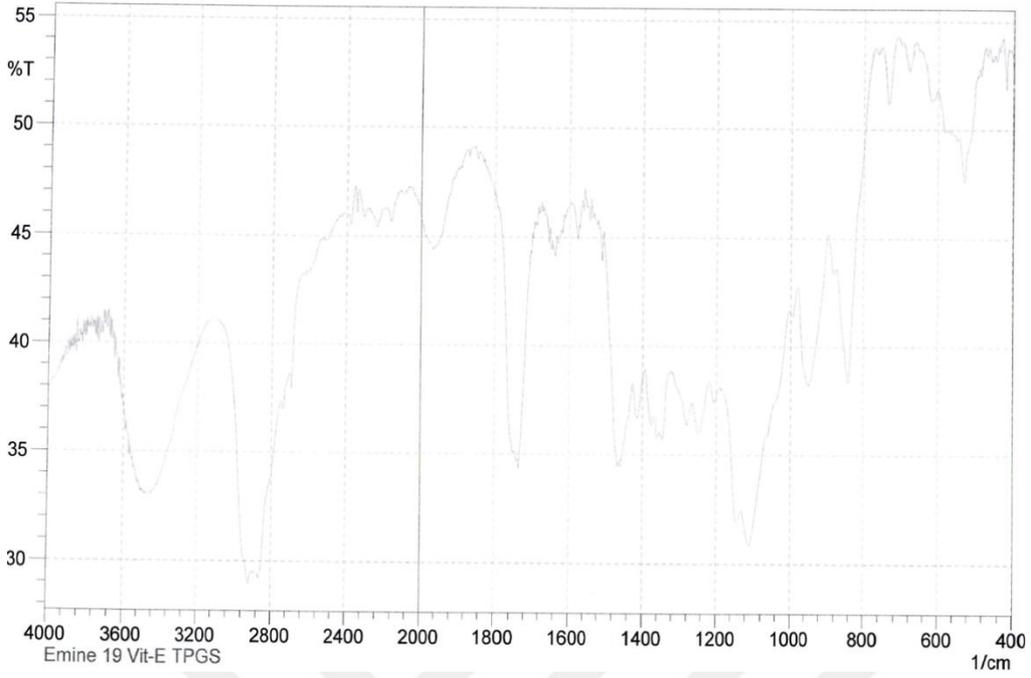


(a)

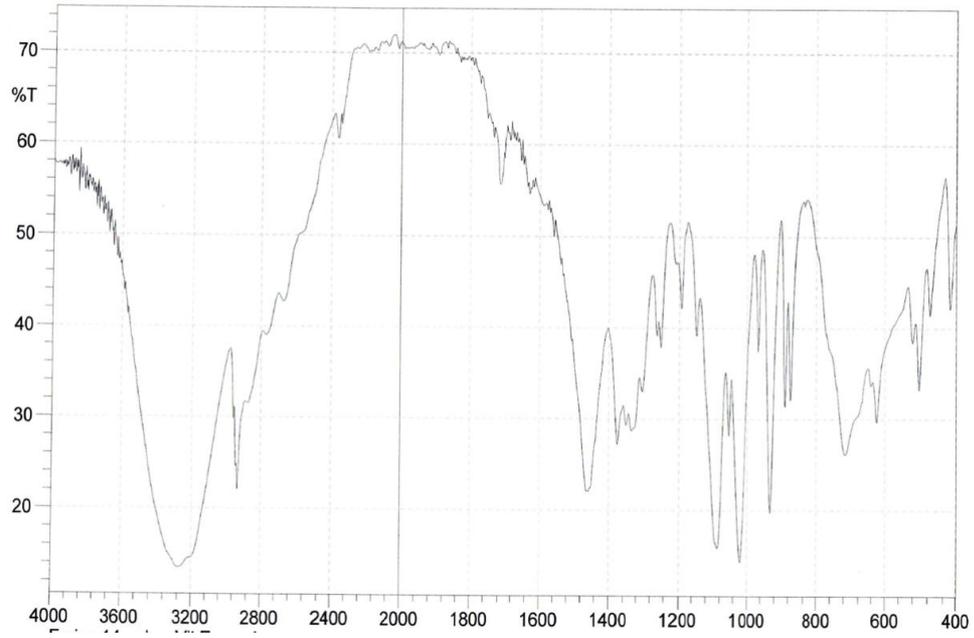


(b)

Şekil 4.30. Vit E TPGS–Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonların FTIR spektrumları; a- ZHM kaba tozu, b- Mannitol

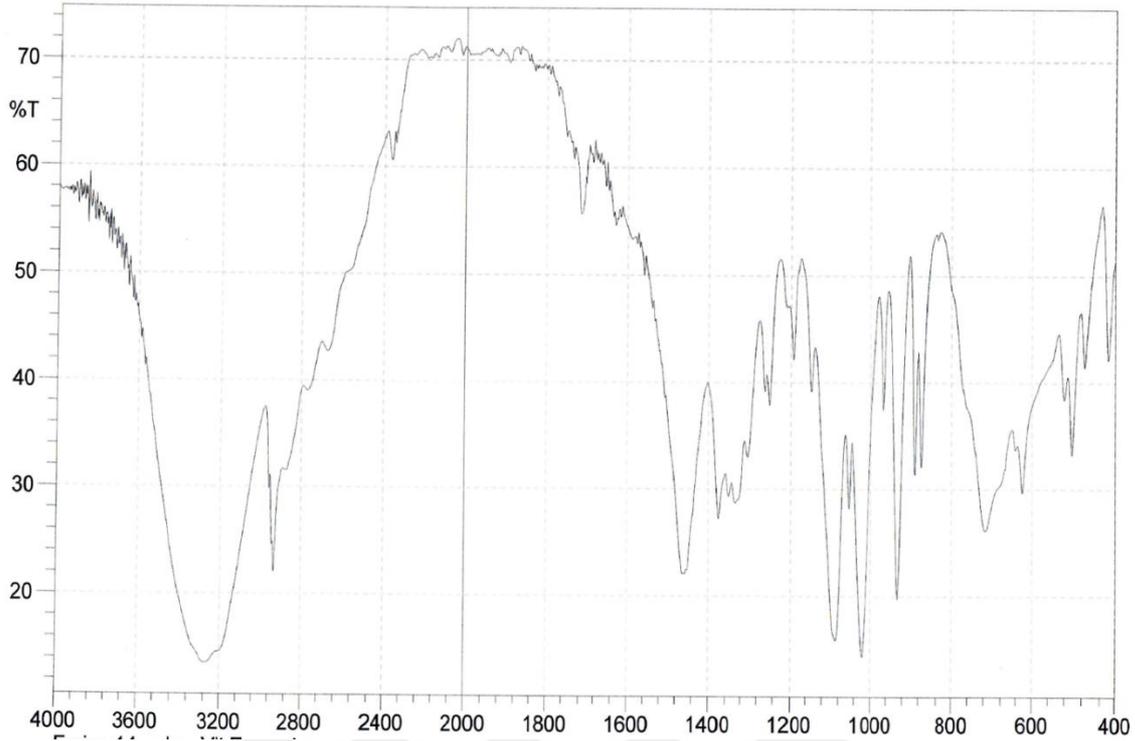


(a)



(b)

Şekil 4.31. Vit E TPGS–Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonların FTIR spektrumları; a- Vit E TPGS, b- Fiziksel karışım

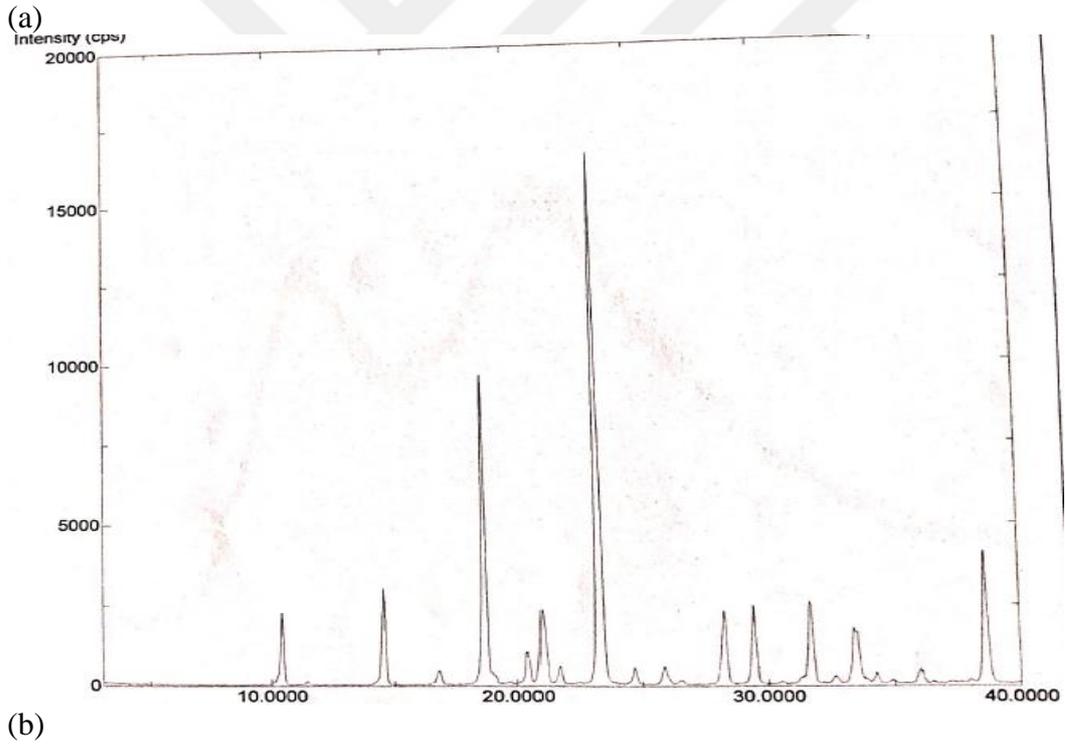
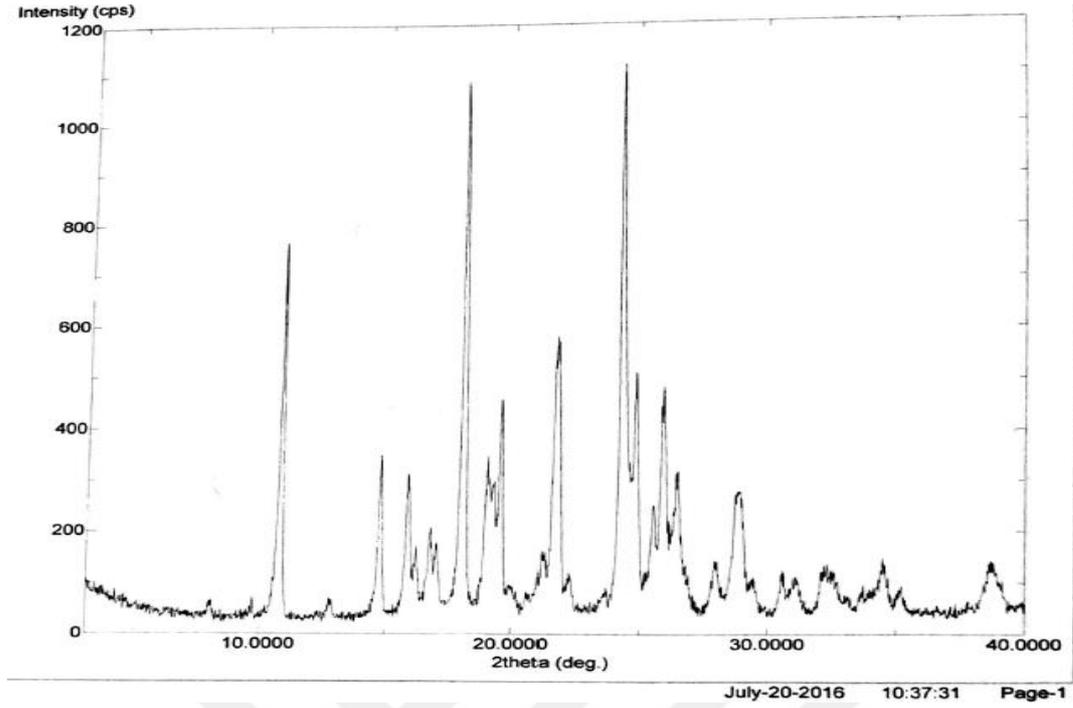


Şekil 4.32. Vit E TPGS–Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonların FTIR spektrumları; Liyofilize 30 geçiş

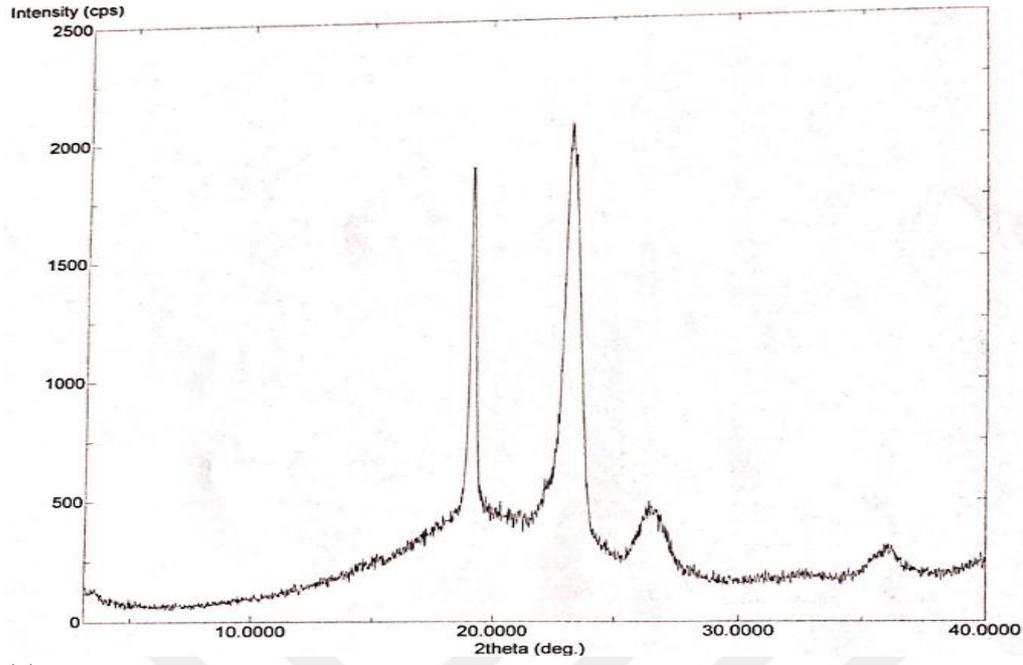
FTIR sonuçlarına göre, ZHM'nin karakteristik  $3400\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen geniş N-H amin grubu,  $3200\text{ cm}^{-1}$  civarında amit bağına ait pik,  $3000\text{ cm}^{-1}$  absorpsiyon bandında  $\text{CH}_2$  bağlarından kaynaklı görülen yüksek şiddetli yayvan yoğun pik ve alken bağlarından dolayı  $1600\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$  civarında pikler, liyofilizasyon ve 30 geçiş yüksek basınç homojenizasyonundan sonra sonuç nanokristalda ve fiziksel karışımda görülmektedir. Uygulanan liyofilizasyon ve yüksek basınç homojenizasyon işlemleri geçimsizlik oluşturmamıştır. FTIR sonuçlarından ZHM'nin polimorfik değişime uğramadığı görülmektedir.

#### 4.4.5. X-ışını toz kırınımı (XRD) bulguları

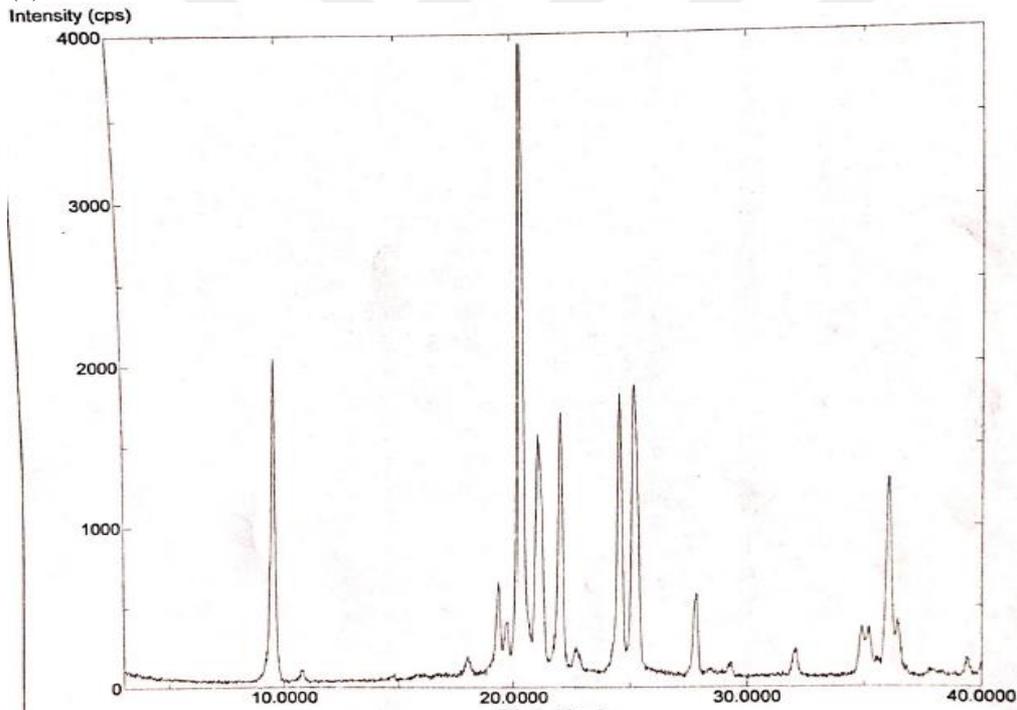
Sonuç formülasyon olan ZHM Vit E TPGS 2:1 oranında hazırlanan nanokristallerin X-ışını kırınımı bulguları Şekil 4.33-4.37'de gösterilmektedir.



Şekil 4.33. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonların X-Işini Kirinimi Deseni; a-ZHM Kaba Tozu, b- Mannitol

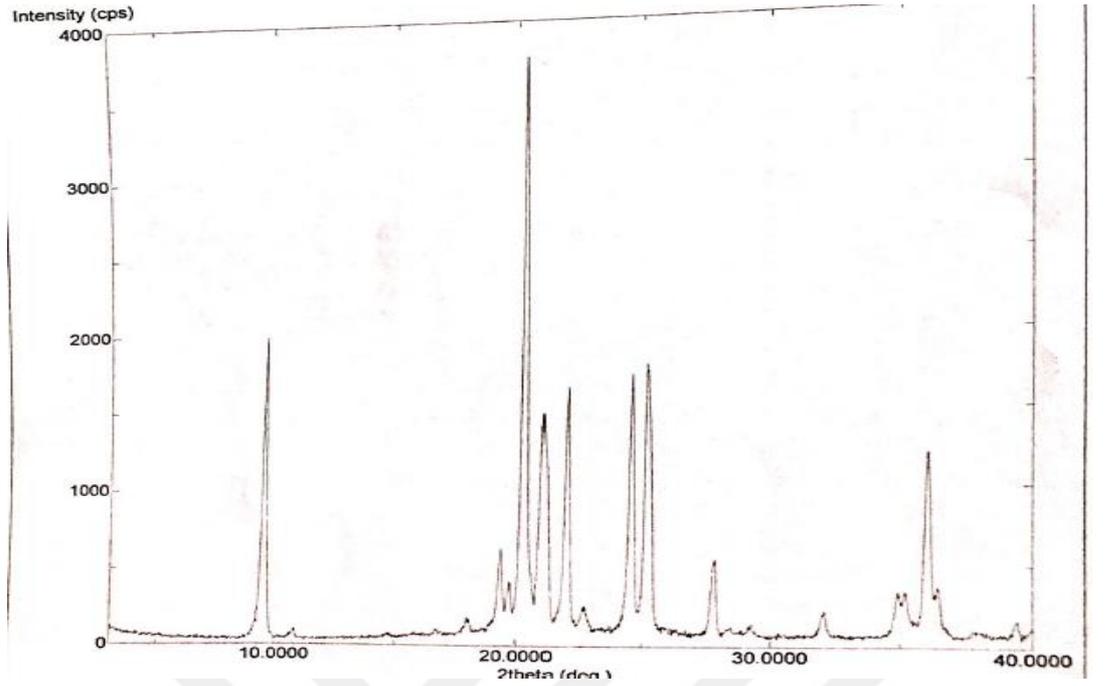


(a)

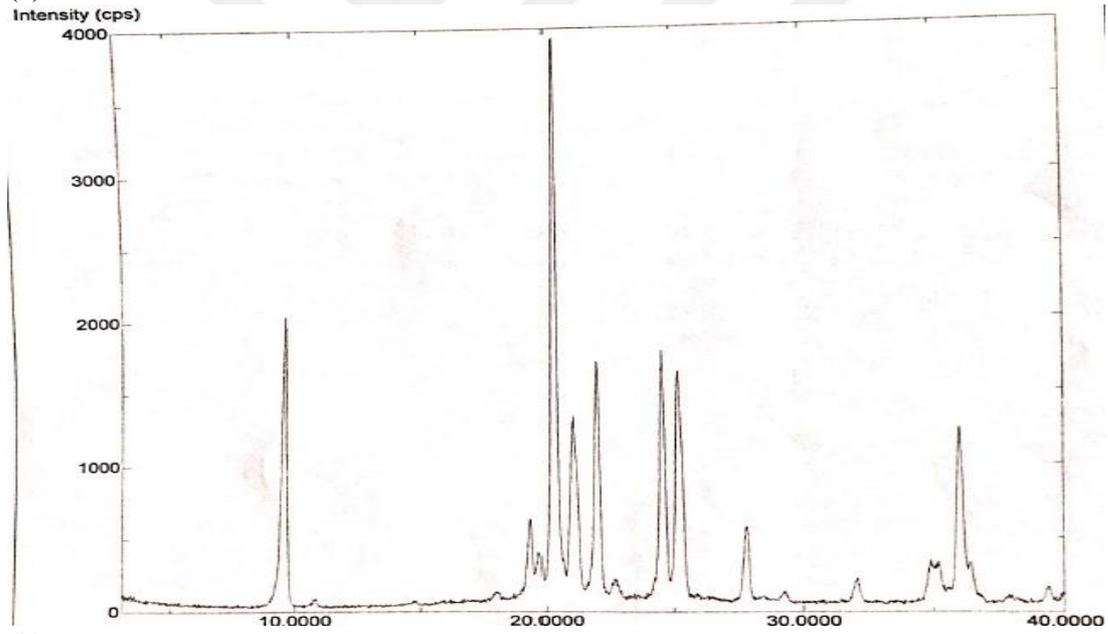


(b)

Şekil 4.34. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile 2:1 oranında hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı deseni; a- Vit E TPGS, b- Vit E TPGS, mannitol ve ZHM fiziksel karışımı

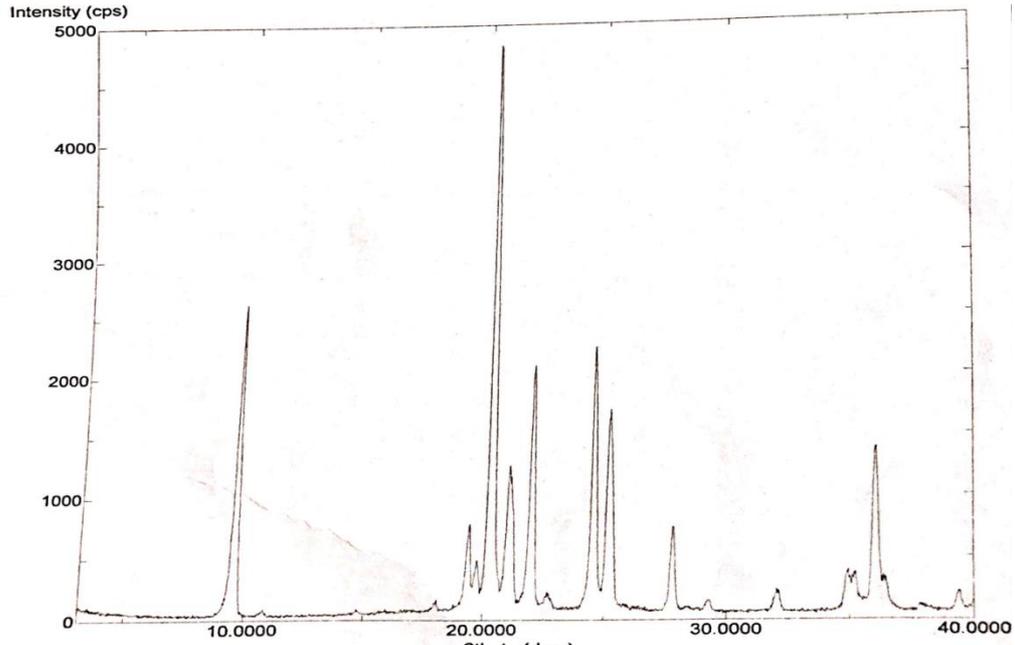


(a)

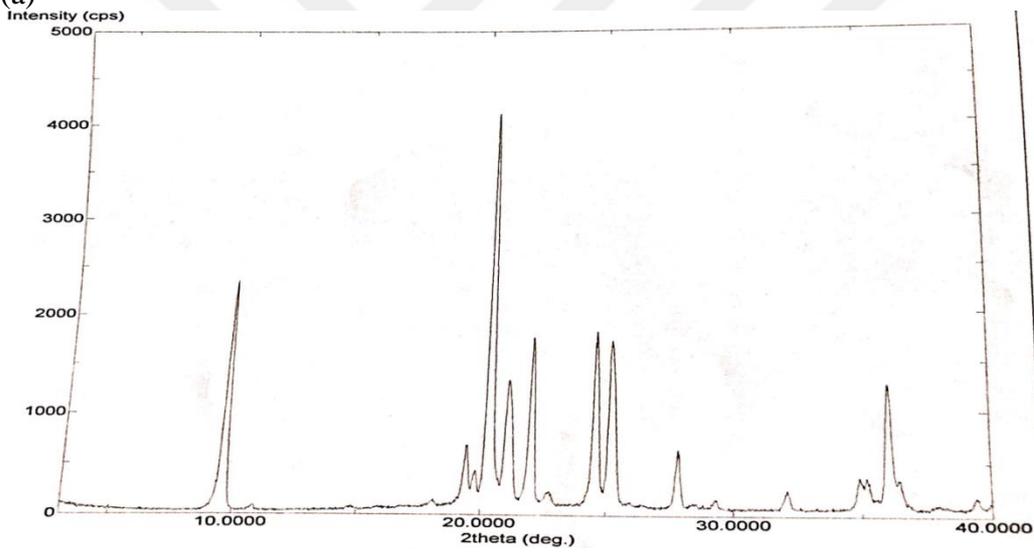


(b)

Şekil 4.35. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile 2:1 oranında hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı deseni; a-Ultratıraks sonrası liyofilize edilen toz, b- 1 geçiş sonrası liyofilize edilen toz

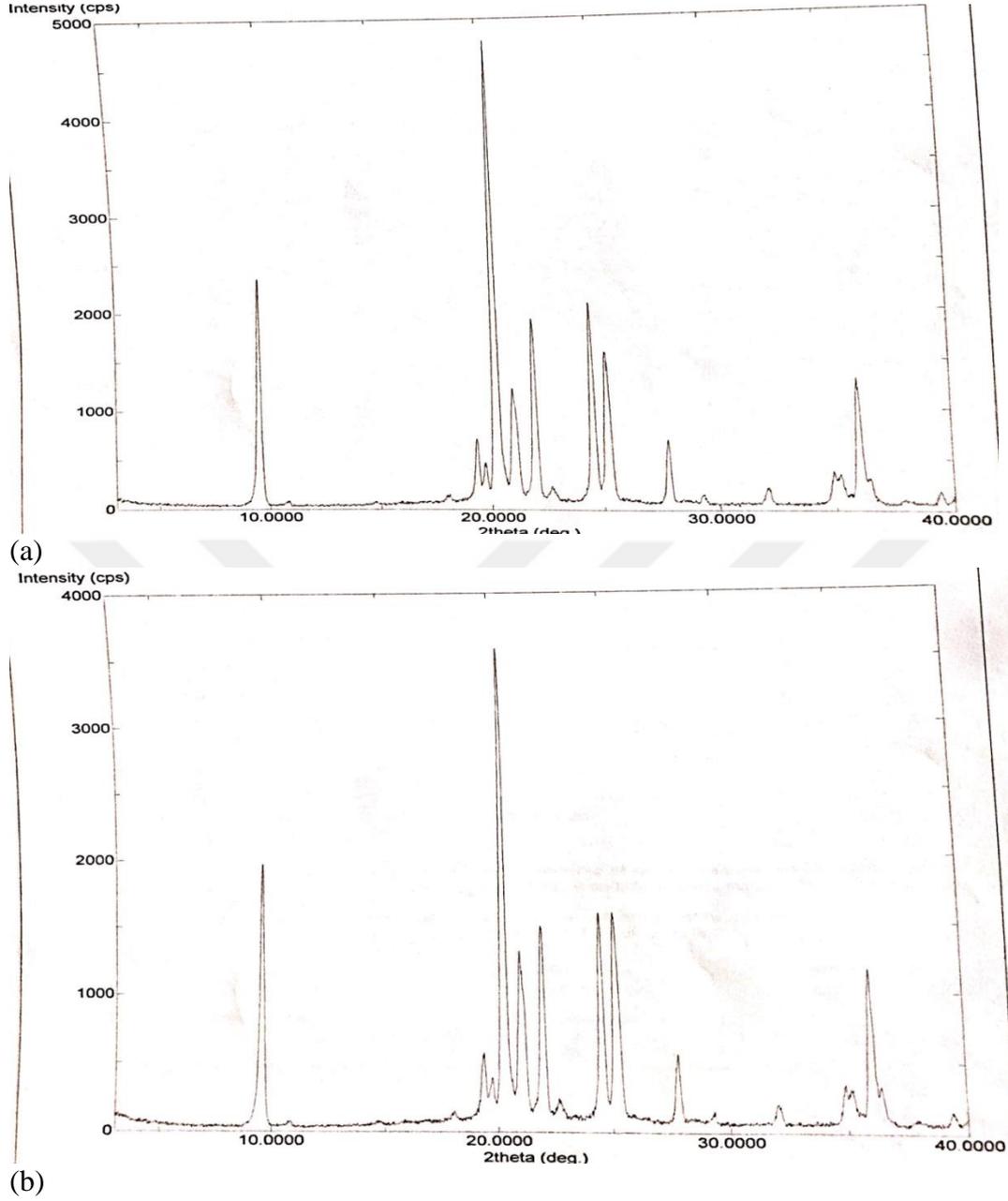


(a)



(b)

Şekil 4.36. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile 2:1 oranında hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı deseni; a- 5 geçiş sonrası liyofilize edilen toz, b- 10 geçiş sonrası liyofilize edilen toz



Şekil 4.37. Vit E TPGS – Mannitol kombinasyonu ile 2:1 oranında hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı deseni; a- 20 geçiş sonrası liyofilize edilen toz, b- 30 geçiş sonrası liyofilize edilen toz

XRD sonuçlarından görüldüğü üzere yüksek basınç homojenizasyondan sonra ve liyofilizasyon işlemi sonrasında meydana gelen nanokristallerde kristal yapı kısmi amorf yapıya dönüşmektedir. Nanokristal hale gelmesiyle oluşan kristal yapıdaki bu hal değişikliği ile çözünürlük ve çözünmesinde artış beklenmektedir. Tamamen amorf yapı meydana gelmemiş olup bu durum nanokristalin stabilitesinin daha uzun süre sağlayabileceği düşünülmektedir. Geçiş sayısının artması kristal yapıyı değiştirmiştir. ZHM'nin karakteristik kırınım piklerinin bazıları nanokristallerde de görülmektedir. XRD sonuçları

ZHM'nin liyofilizasyon ve yüksek basınç homojenizasyon işlemlerinden sonra polimorfik değişime uğradığını göstermektedir.

#### 4.5. PVP K30 içeren Nanokristalinin Karakterizasyonu

Polimer içeren formülasyonlar arasında en uygun partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel değeri gösterdiği için seçilen ZHM: PVP K30: 1:1 olan ve %10 mannitol içeren 20 geçiş sayısında elde edilen nanokristalinin karakterizasyonu yapılmıştır.

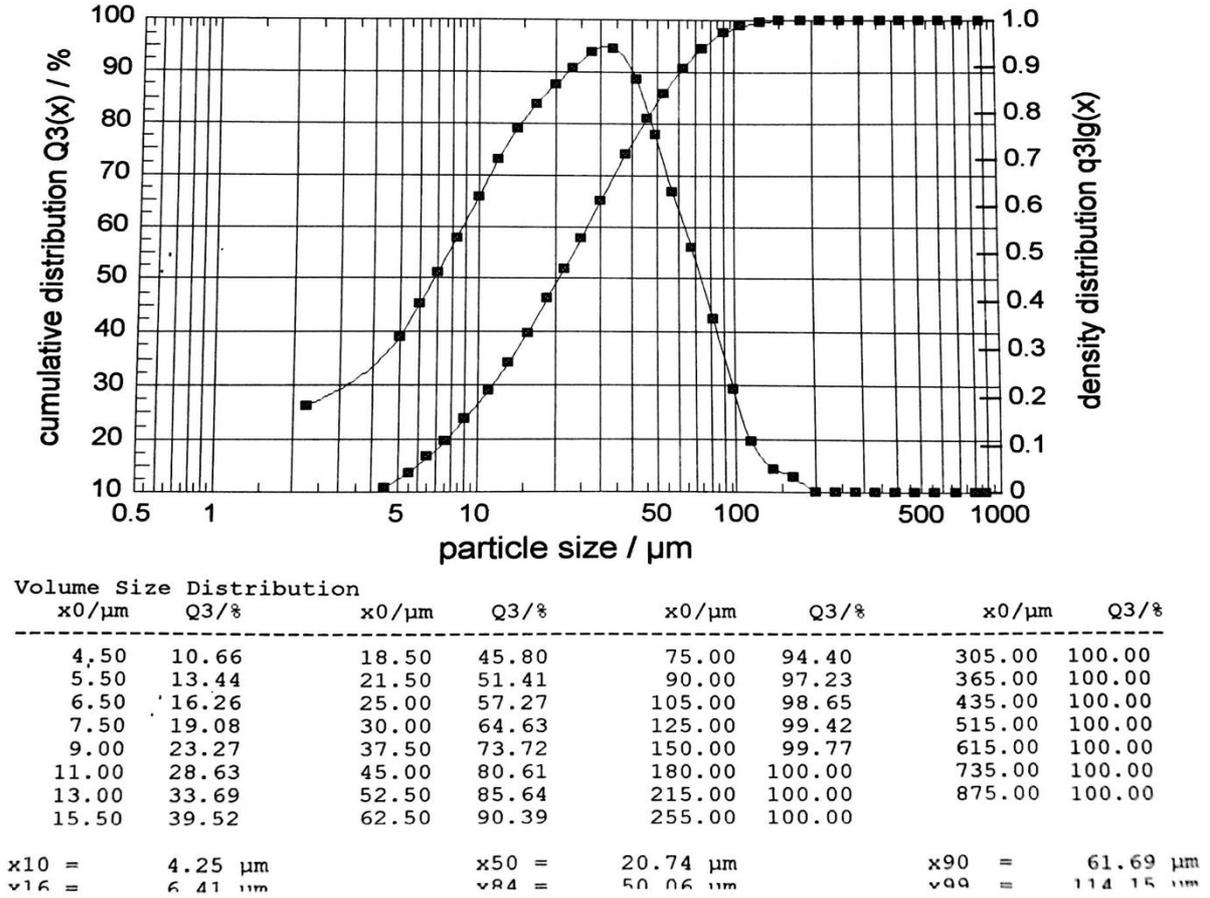
##### 4.5.1. Partikül büyüklüğü (PB), partikül büyüklüğü dağılımı (PDI) ve zeta potansiyel (ZP) bulguları

Çizelge 4.86 PVP K30-mannitol kombinasyonu ile stabilize edilerek kurutulmuş nanokristallerin PB, PDI ve ZP değerlerini göstermektedir.

Çizelge 4.86. PVP K30 – Mannitol kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonun liyofilizasyondan önce ve sonra PB, PDI ve ZP değerleri

| Başlangıç PB<br>( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |                    | Devir hızı<br>(rpm)  | Zaman<br>(dk)     | Ort. PB ( $\mu\text{m}$ )<br>(n=6) $\pm$ SS |                    | 1 Geçiş Sonrası Ort. PB<br>( $\mu\text{m}$ ) (n=6) $\pm$ SS |                  |
|--|--------------------|----------------------|-------------------|---|--------------------|---|------------------|
| Liyo.<br>Öncesi                                  | Liyo.<br>Sonrası   |                      |                   | Liyo.<br>Öncesi                             | Liyo.<br>Sonrası   | Liyo.<br>Öncesi   | Liyo.<br>Sonrası |
| 22550 $\pm$<br>339                               | 21455 $\pm$<br>533 | 15000                | 10                | 10173 $\pm$<br>32                           | 8240 $\pm$ 18      | 3945 $\pm$<br>232   | 4019 $\pm$ 28    |
| <b>Liyofilizasyon öncesi</b>                     |                    |                      |                   |   |                    |   |                  |
| Geçiş sayısı                                     |                    | Ort. PB (nm)         | PDI               |   | ZP (mV)            |   |                  |
| 5  |                    | 1025,1 $\pm$ 71,4    | 0,469 $\pm$ 0,192 |   | 22,03 $\pm$ 2,85   |   |                  |
| 10   |                    | 647,26 $\pm$ 91,60   | 0,428 $\pm$ 0,003 |   | 30,33 $\pm$ 0,12   |   |                  |
| 20   |                    | 545,16 $\pm$ 13,53   | 0,378 $\pm$ 0,044 |   | 24,16 $\pm$ 0,59   |   |                  |
| 30   |                    | 485,26 $\pm$ 14,37   | 0,302 $\pm$ 0,078 |   | 22,433 $\pm$ 1,835 |   |                  |
| <b>Liyofilizasyon sonrası</b>                    |                    |                      |                   |   |                    |   |                  |
| Geçiş sayısı                                     |                    | Ort. PB (nm)         | PDI               |   | ZP (mV)            |   |                  |
| 5  |                    | 1210,37 $\pm$ 146,64 | 0,638 $\pm$ 0,078 |   | 17,39 $\pm$ 0,24   |   |                  |
| 10   |                    | 756,16 $\pm$ 138,58  | 0,639 $\pm$ 0,061 |   | 14,62 $\pm$ 0,64   |   |                  |
| 20   |                    | 532,36 $\pm$ 13,67   | 0,304 $\pm$ 0,014 |   | 20,46 $\pm$ 0,29   |   |                  |
| 30   |                    | 502,66 $\pm$ 12,89   | 0,329 $\pm$ 0,056 |   | 10,46 $\pm$ 0,73   |   |                  |

PVP K30 ve mannitol kombinasyonu ile 20 geçişte hazırlanan nanokristal formülasyonlarında partikül büyüklüğü ve dağılımı değişim göstermedi. Zeta potansiyel değeri ise çok az düşüş gösterdi. Nanokristallerin elde edilmesi ve liyofilizasyonu sonucunda partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel değerleri tekrar edilebilir sonuçlar vermiştir. PVP K30 ile hazırlanan formülasyonların başlangıç durumundaki ölçüm sonucunun bir görüntüsü Şekil 4.37’de verilmektedir. Şekil 4.38 ve 4.39 ise 20 geçiş sonrası PB, PDI ve ZP değerlerinin ölçüm sonuçlarının bir görüntüsü olarak sunulmaktadır.

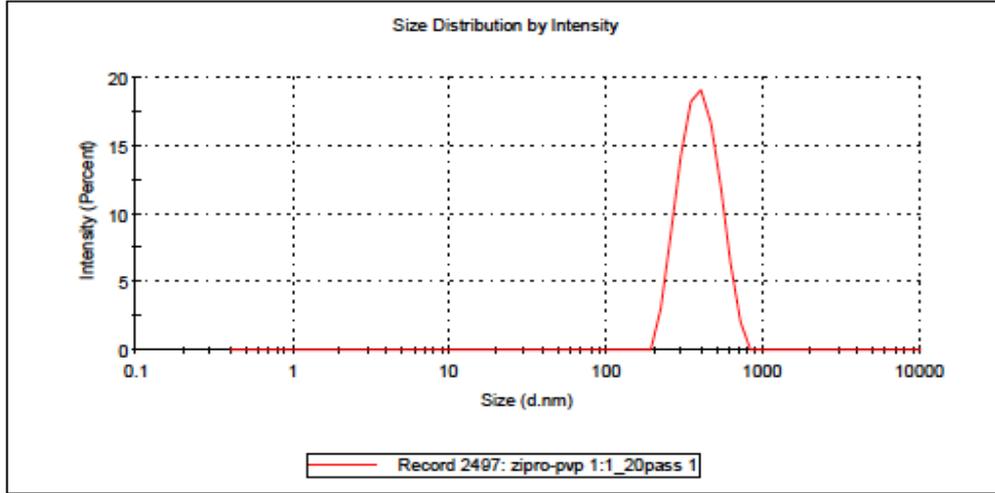


Şekil 4.38. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonun fiziksel karışım başlangıç partikül büyüklüğü

### Results

|                                | Size (d.n...         | % Intensity: | St Dev (d.n... |
|--------------------------------|----------------------|--------------|----------------|
| <b>Z-Average (d.nm):</b> 547,2 | <b>Peak 1:</b> 401,6 | 100,0        | 111,9          |
| <b>Pdl:</b> 0,313              | <b>Peak 2:</b> 0,000 | 0,0          | 0,000          |
| <b>Intercept:</b> 0,832        | <b>Peak 3:</b> 0,000 | 0,0          | 0,000          |

**Result quality** Good

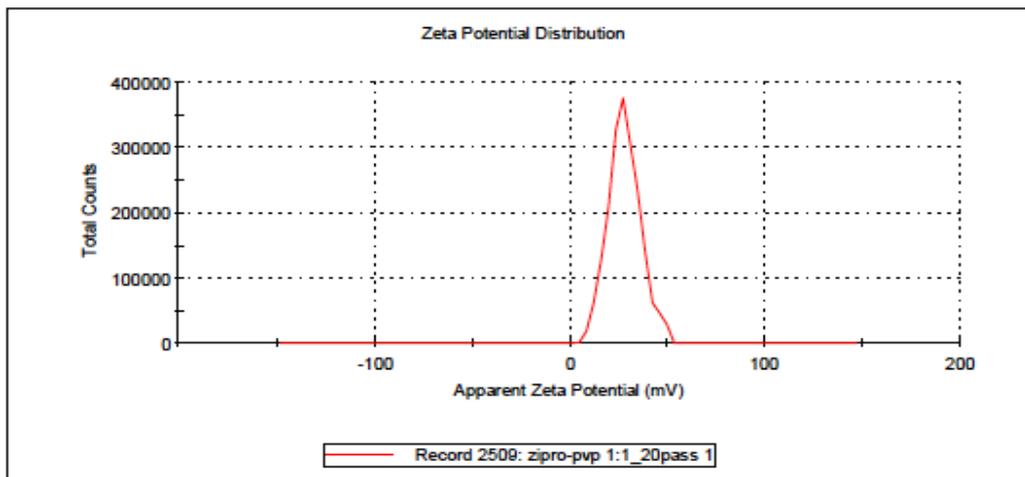


Şekil 4.39. PVP K30-Mannitol İle hazırlanan liyofilizasyon sonrası sonuç formülasyon PB ve PDI değerleri

### Results

|                                     | Mean (mV)           | Area (%) | St Dev (mV) |
|-------------------------------------|---------------------|----------|-------------|
| <b>Zeta Potential (mV):</b> 22,0    | <b>Peak 1:</b> 28,0 | 100,0    | 8,21        |
| <b>Zeta Deviation (mV):</b> 8,21    | <b>Peak 2:</b> 0,00 | 0,0      | 0,00        |
| <b>Conductivity (mS/cm):</b> 0,0322 | <b>Peak 3:</b> 0,00 | 0,0      | 0,00        |

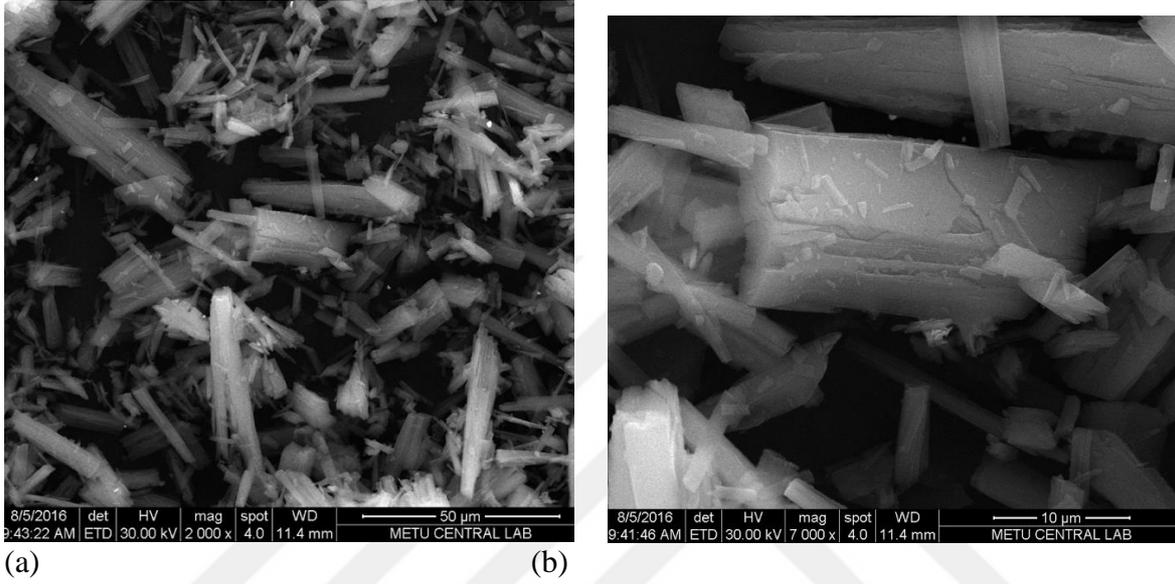
**Result quality** Good



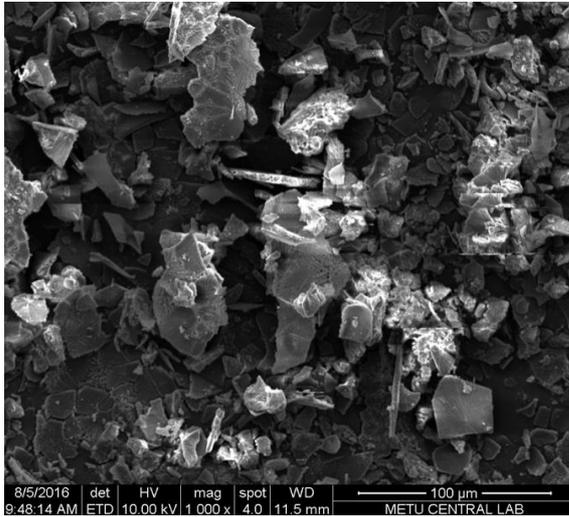
Şekil 4.40. PVP K30-Mannitol İle hazırlanan liyofilizasyon sonrası sonuç formülasyon ZP değeri

#### 4.5.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) bulguları

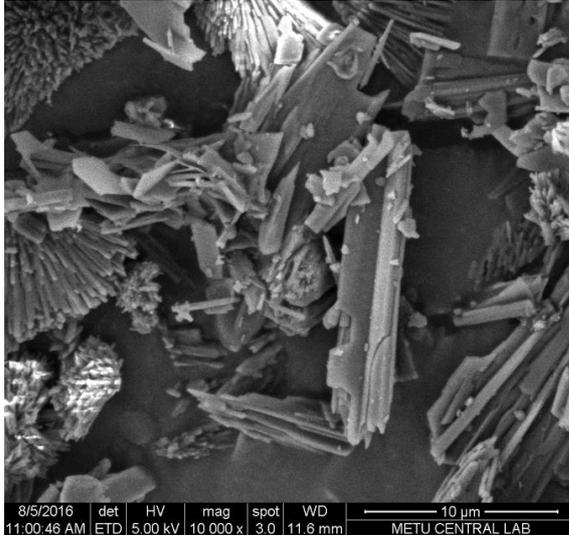
PVP K30-Mannitol ile hazırlanan ultratürüks ve her geçiş sayısında hazırlanan nanokristal formülasyonların, ZHM kaba tozu, fiziksel karışımın SEM sonuçları Resim 4.8-4.14'de görülmektedir.



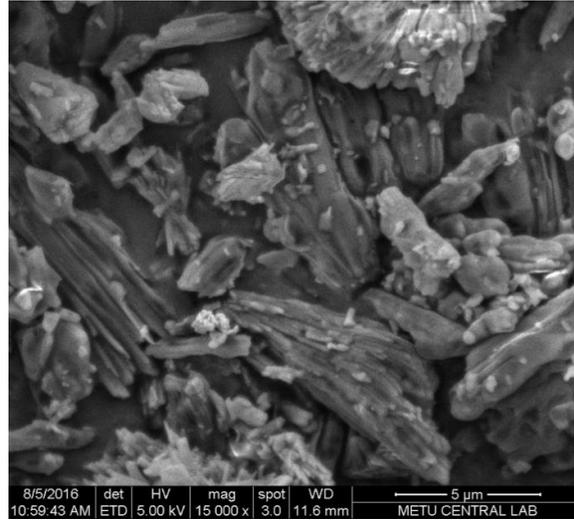
Resim 4.8. ZHM kaba tozu SEM görüntüleri: (a) mag. 2000x, (b) mag. 7000x



Resim 4.9. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan liyofilize fiziksel karışım SEM görüntüleri: mag. 1000x

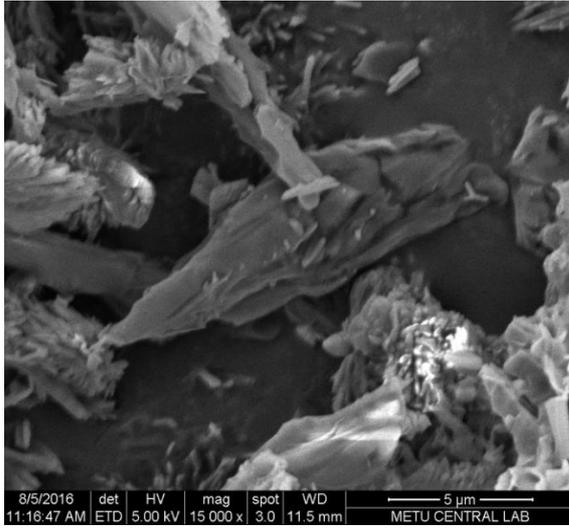


(a)

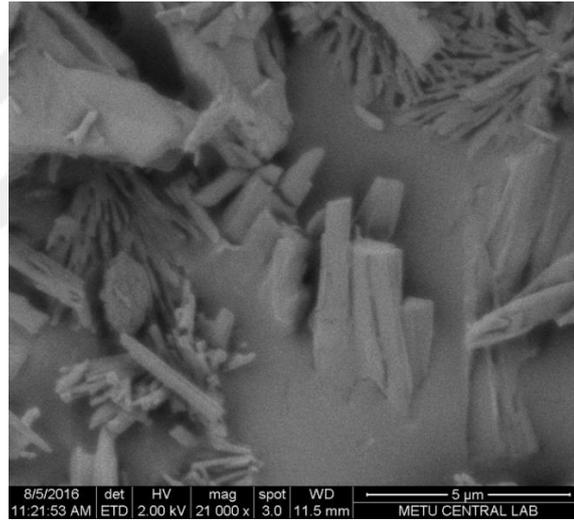


(b)

Resim 4.10. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların 5 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüleri: (a) mag. 10000x, (b) mag. 15.000x

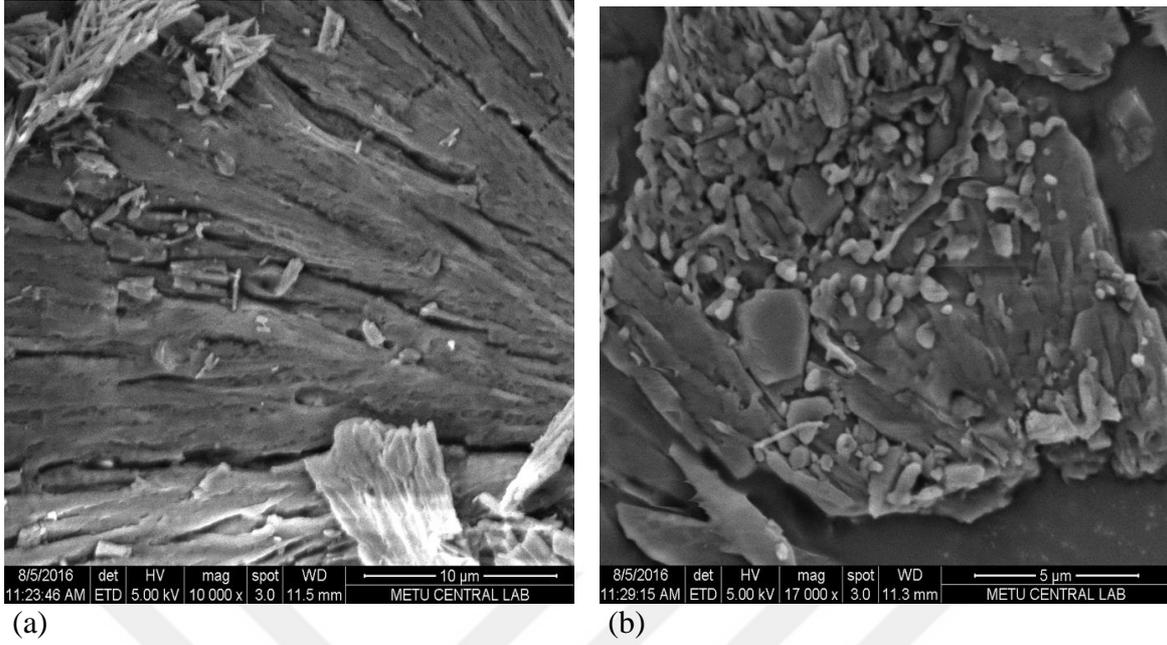


(a)

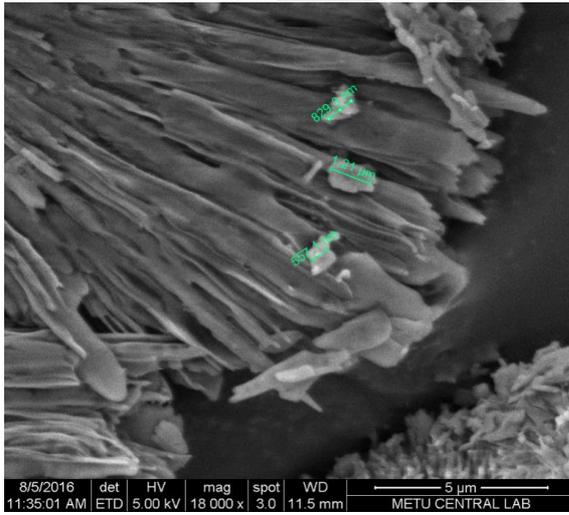


(b)

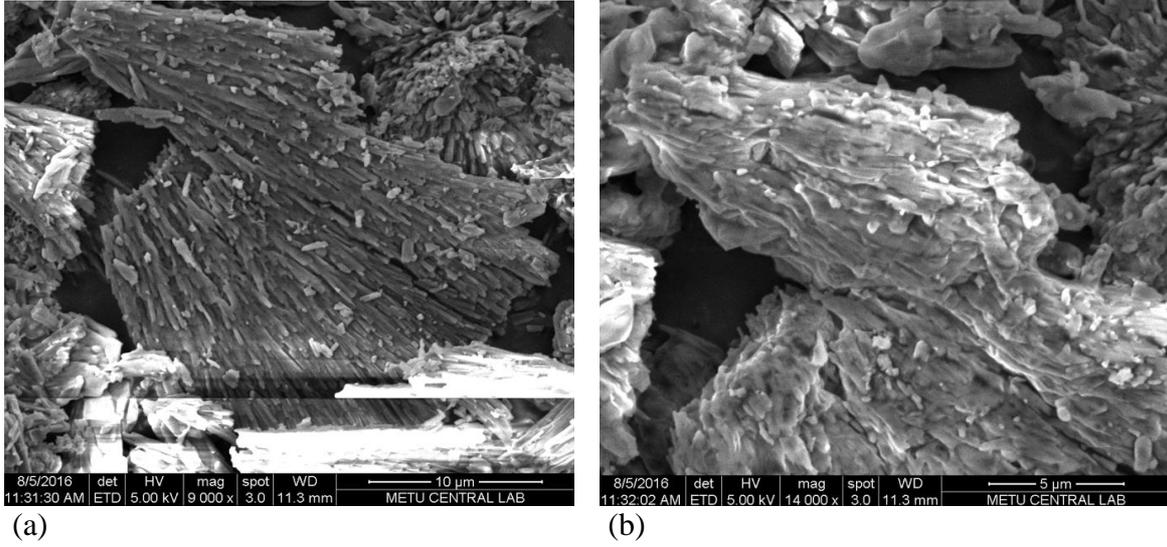
Resim 4.11. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların 10 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüleri: (a) mag. 15.000x, (b) mag. 21.000x



Resim 4.12. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların 20 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüleri: (a) mag. 10.000x, (b) mag. 17.000x



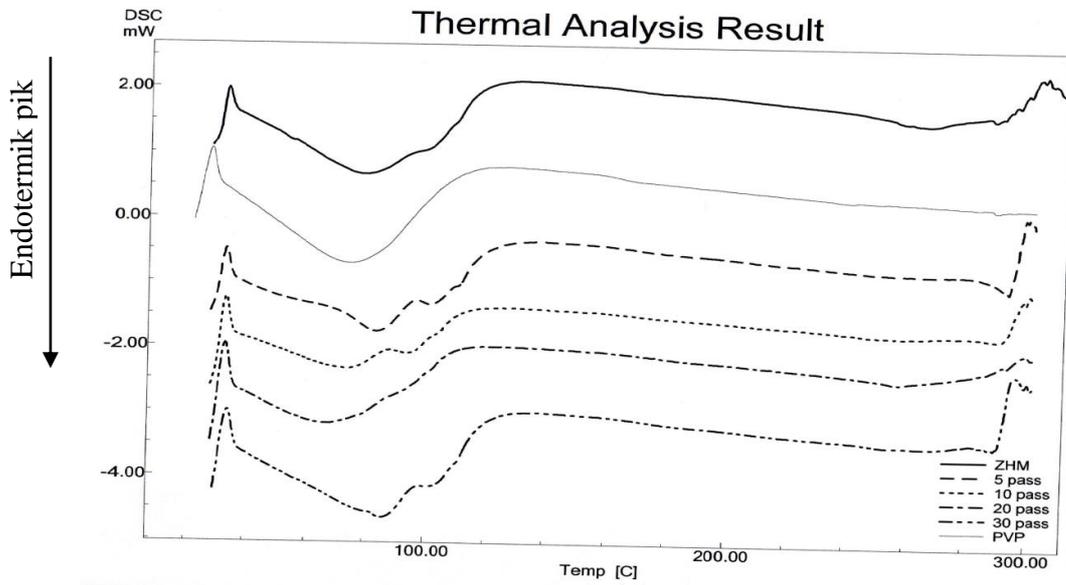
Resim 4.13. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların 20 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüleri: (c) mag. 18.000x



Resim 4.14. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların 30 geçiş sonrası liyofilize toz SEM görüntüleri: (a) mag. 9000x, (b) mag. 14000x

#### 4.5.3. Diferansiyel kalorimetri (DSC) bulguları

ZHM kaba tozu ve her geçiş sayısında hazırlanan nanokristallerin DSC sonuçları Şekil 4.41’de yer almaktadır.

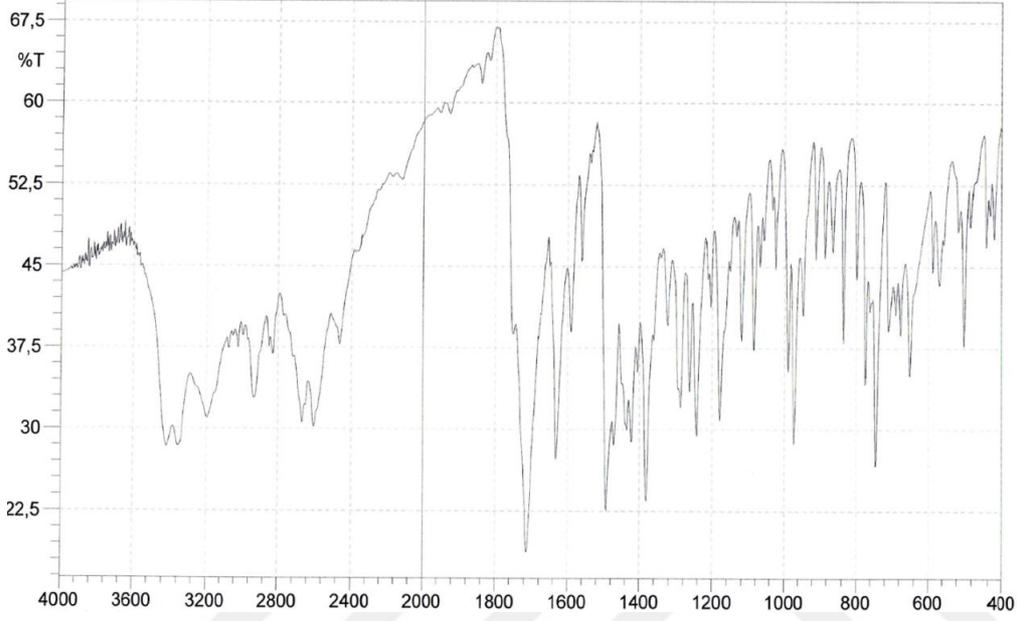


Şekil 4.41. PVP K30 ile hazırlanan ZHM nanokristalinin her geçişteki DSC kromatogramları

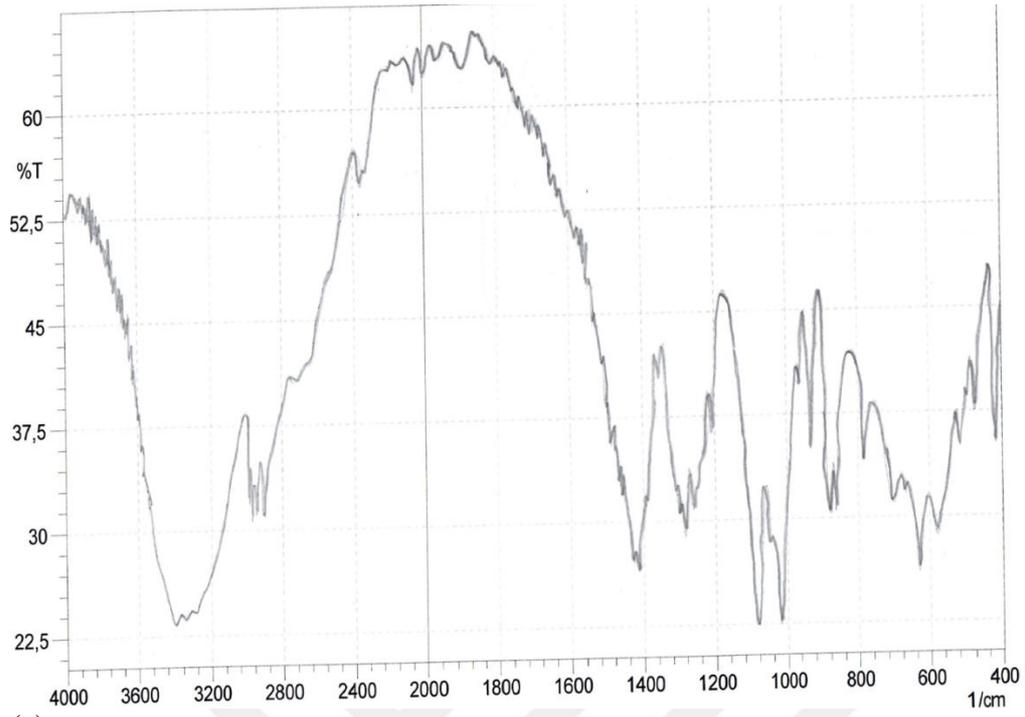
DSC piklerinden ZHM’nin liyofilizasyon ve yüksek basınç homojenizasyon işlemlerinden sonra polimorfik dönüşümünün olmadığı görülmektedir.

#### 4.5.4. Fourier dönüümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) bulguları

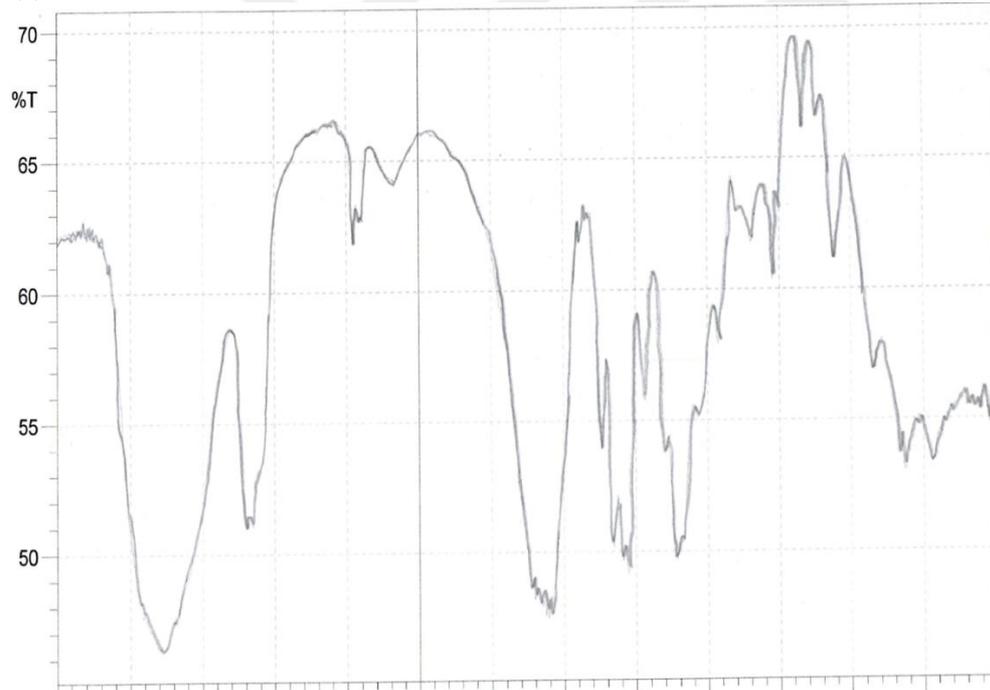
PVP K30 ile hazırlanan ZHM nanokristalleri, fiziksel karışımlar ve yardımcı maddelerin FTIR sonuçları Şekil 4.42-4.44'de gösterilmektedir.



Şekil 4.42. PVP K30-Mannitol hazırlanan formülasyonların FTIR spektrumları; ZHM kaba tozu

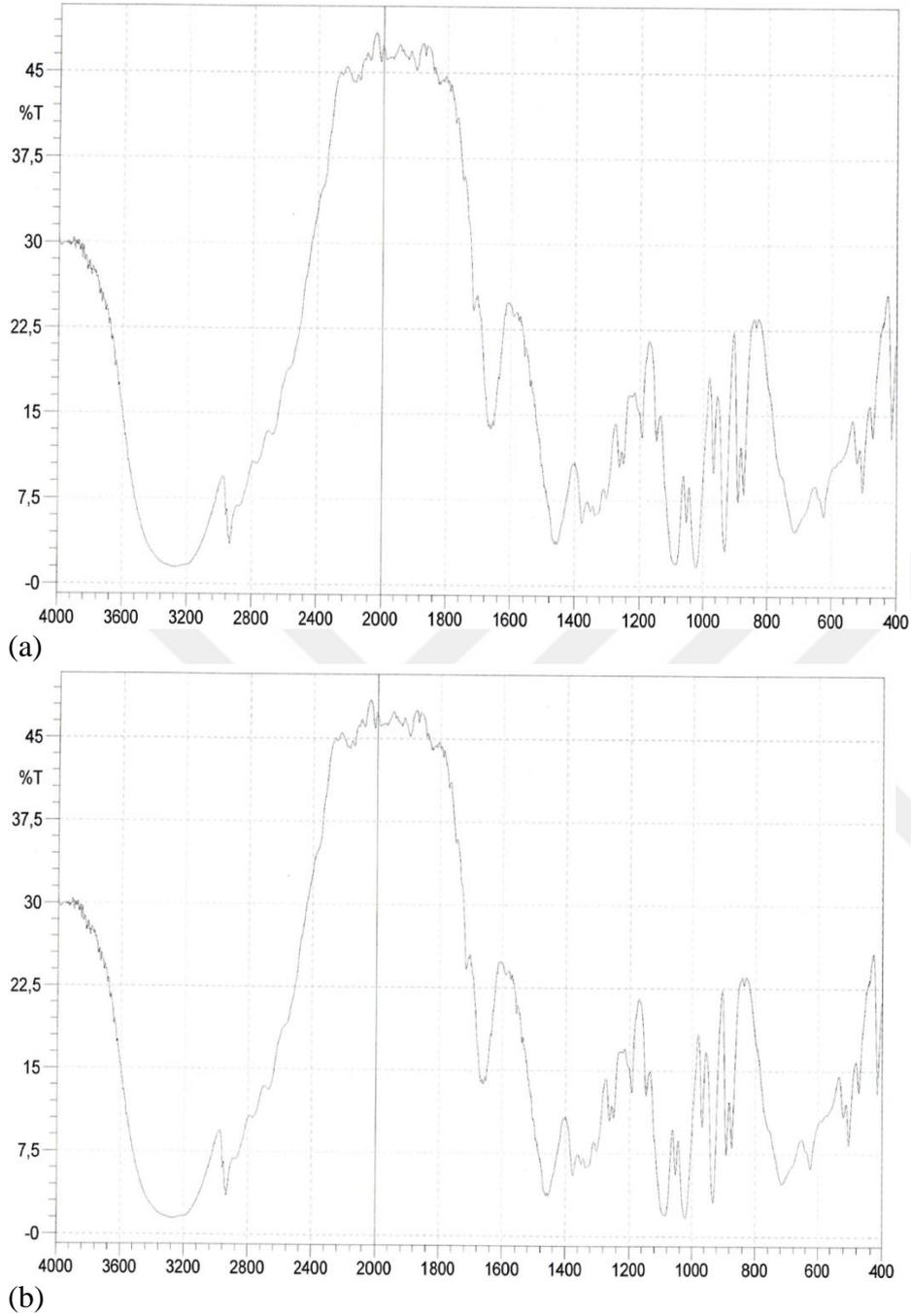


(a)



(b)

Şekil 4.43. PVP K30-Mannitol hazırlanan formülasyonların FTIR spektrumları; (a) Mannitol, (b) PVP K30

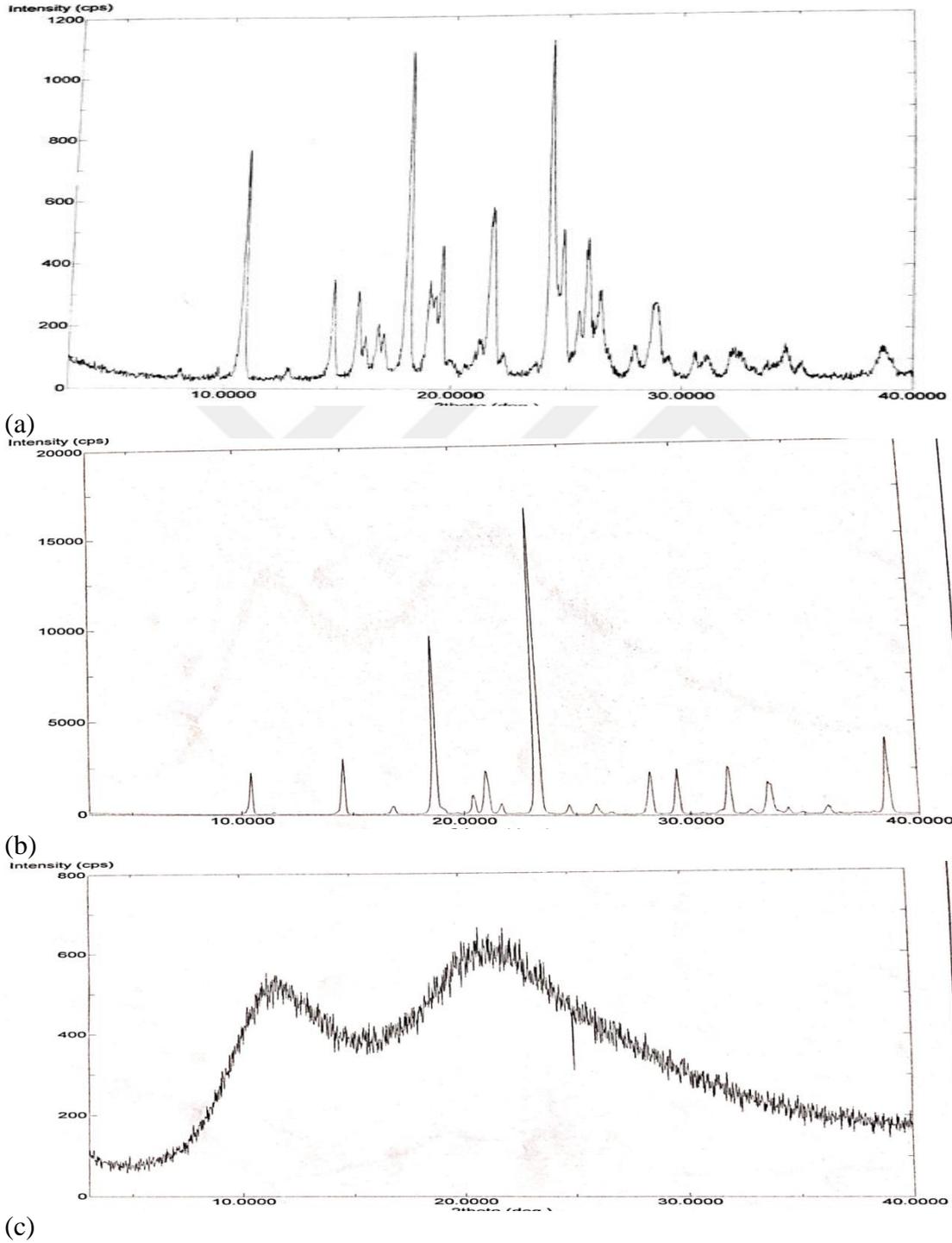


Şekil 4.44. PVP K30-Mannitol hazırlanan formülasyonların FTIR spektrumları; a- Fiziksel karışım, b-20 geçiş sonrası liyofilize toz

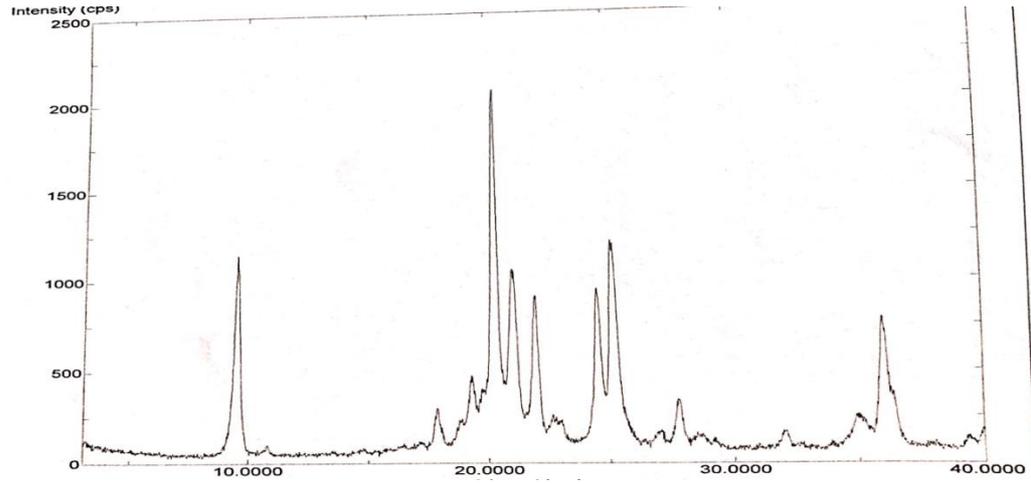
ZHM'nin karakteristik FTIR spektrumları nanokristal formülasyonunda da görülmektedir. ZHM'nin yüksek basınç homojenizasyondan sonra kimyasal yapısında bir değişim gözlenmemiştir.

#### 4.5.5. X-ışını kırınımı (XRD) bulguları

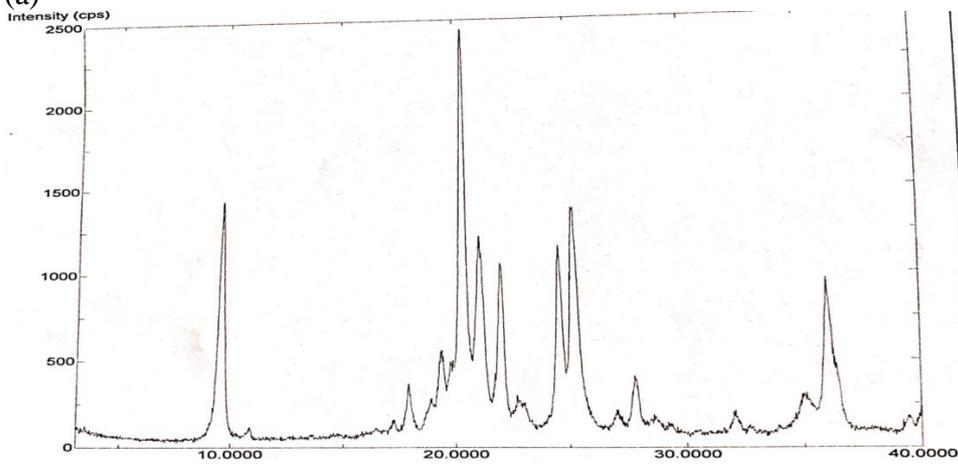
PVP K30 ile hazırlanan ZHMnanokristallerinin X-ışını kırınımı bulguları Şekil 4.45-4.48'de gösterilmektedir.



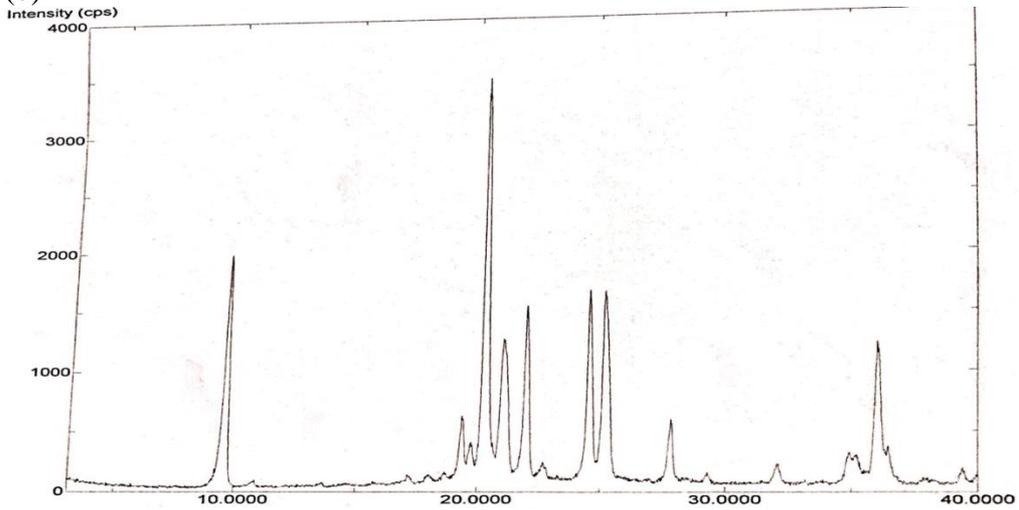
Şekil 4.45. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı desenleri; a- ZHM kaba tozu, b- Mannitol, c-PVP K30



(a)

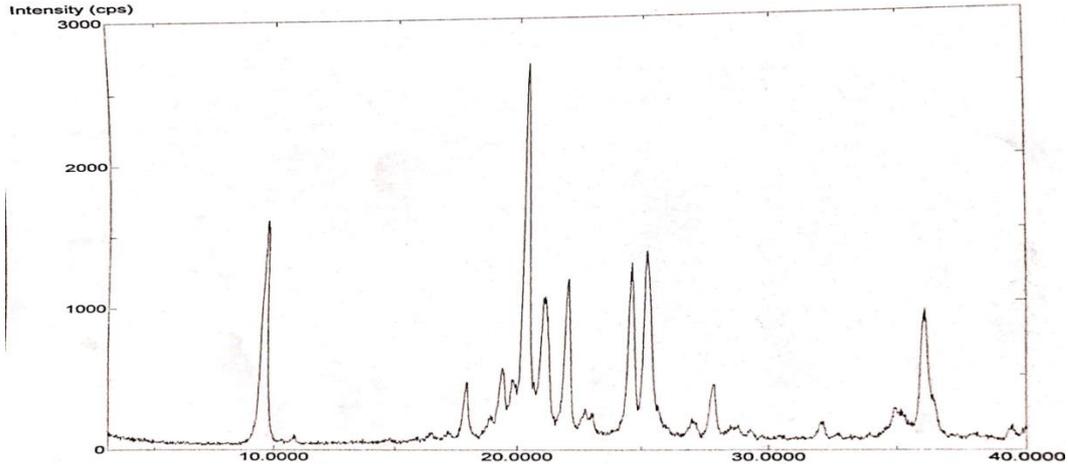


(b)

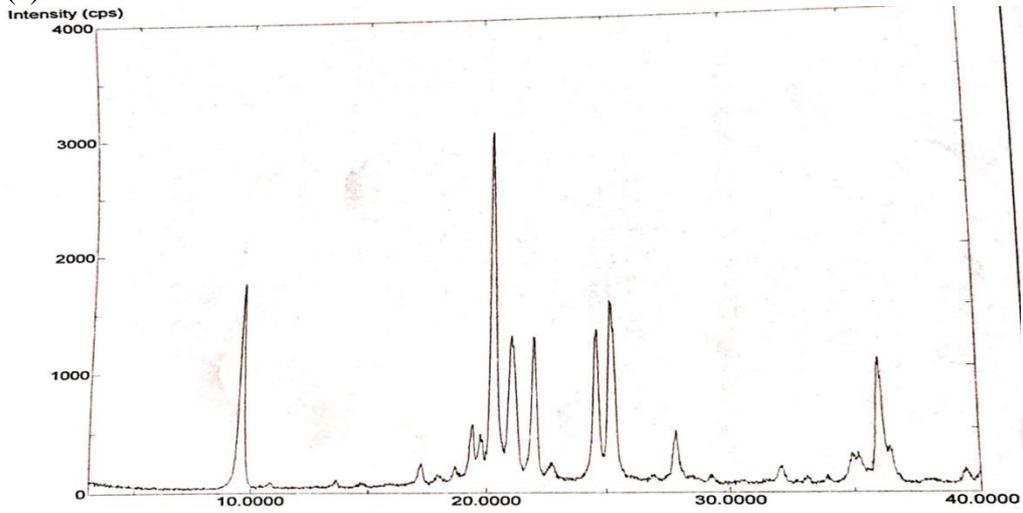


(c)

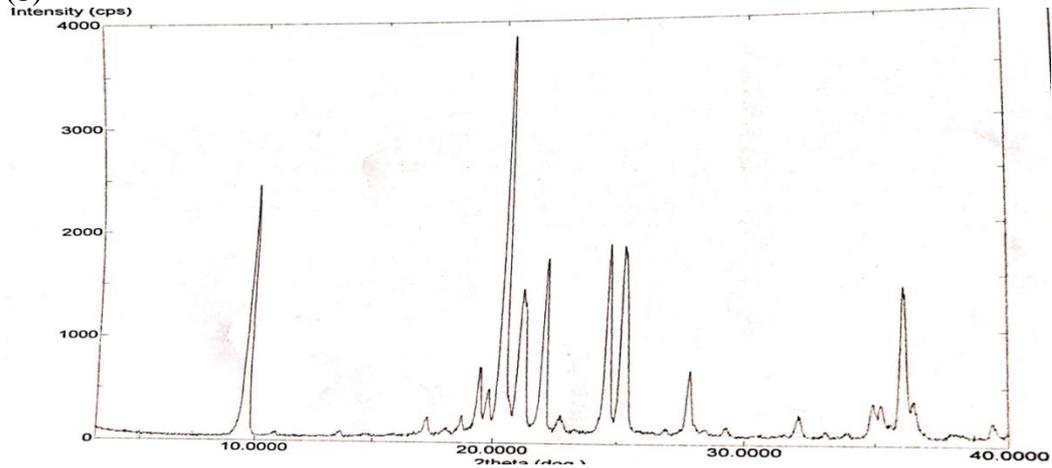
Şekil 4.46. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı desenleri; a-Fiziksel karışımı, b-Ultratraks sonrası liyofilize edilen toz, c-1 geçiş sonrası liyofilize edilen toz



(a)

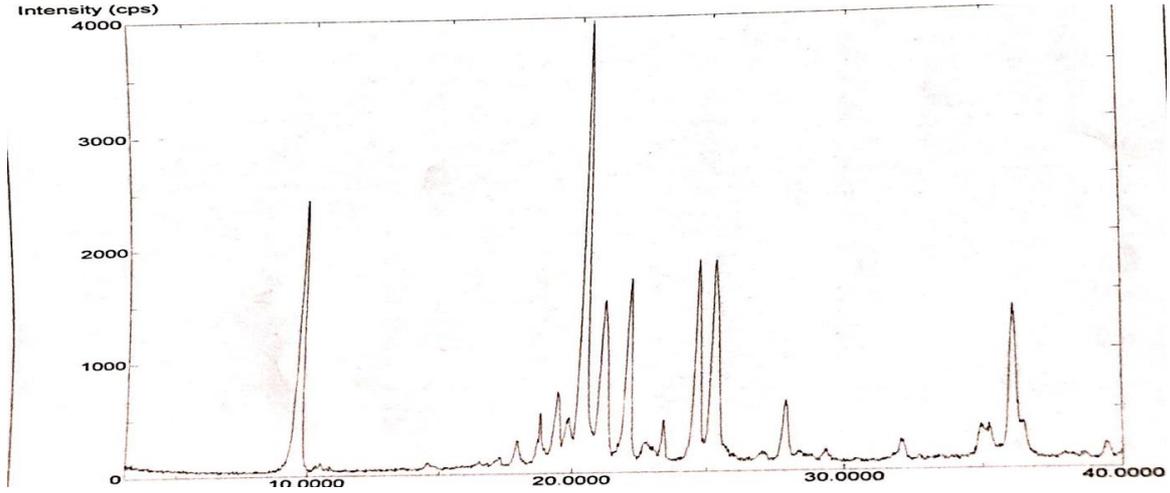


(b)



(c)

Şekil 4.47. PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı desenleri; a-5 geçiş sonrası liyofilize edilen toz, b-10 geçiş sonrası liyofilize edilen toz, c-20 geçiş sonrası liyofilize edilen toz



Şekil 4.48. PVP K30-Mannitol İle hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınımı desenleri; 30 geçiş sonrası liyofilize edilen toz

XRD sonuçları PVP K30-Mannitol ile hazırlanan formülasyonlarda ZHM'nin kristal yapısının ZHM belirli oranda değiştiğini göstermiştir. Geçiş sayısının artması Kristal yapıda değişiklik yapmamıştır. Kısmi amorf yapının oluşması ile ZHM'nin çözünme özelliklerini artırabileceğini göstermektedir.

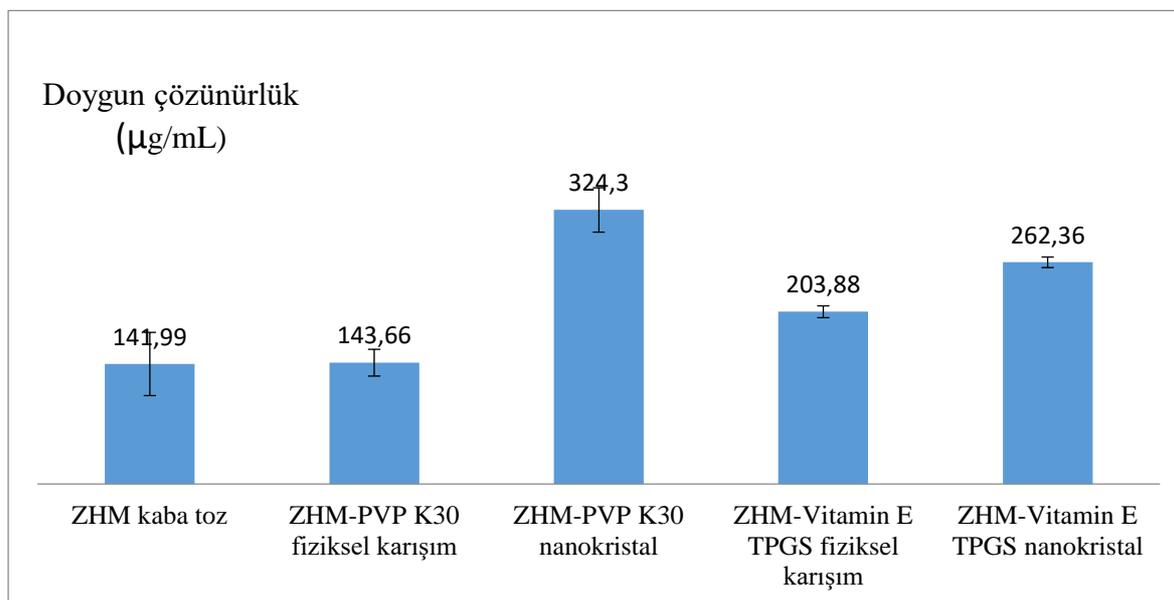
#### 4.6. Çözünürlük Çalışmaları

Bölüm 3.2.8'de anlatıldığı gibi suda çözünürlük çalışmaları ZHM kaba tozu, sonuç nanokristaller ve fiziksel karışımlar ile yapılarak sonuçlar UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

ZHM'nin sudaki çözünürlüğü ortalama 141,99 µg/mL olarak bulundu. ZHM'nin nanokristal hale getirilmesi ile çözünürlük değeri, Vit E TPGS ile stabilize edilen nanokristallerde 262,36 µg/mL (1.84 katlık artış); PVP K30 ile stabilize edilen nanokristallerde ise 324,3 µg/mL (2.3 katlık artış) olarak saptandı. (Şekil 4.49, Çizelge 4.87).

Çizelge 4.87. ZHM ‘nin distile sudaki çözünürlük sonuçları

|                 | ZHM<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | ZHM: PVP<br>K30:<br>Mannitol<br>Fiziksel<br>karışım<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | ZHM:PVP<br>K30:<br>Mannitol<br>Liyofilize<br>Nanokristal<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | ZHM-VitE<br>TPGS:<br>Mannitol<br>Fiziksel<br>karışım<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | ZHM-VitE<br>TPGS:<br>Mannitol<br>Liyofilize<br>Nanokristal<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|-----------------|-----------------------------|---|--|--|--|
| <b>Ortalama</b> | 141,99                      | 143,66  | 324,3  | 203,88   | 262,36   |
| <b>SS</b>       | 37,37                       | 15,93   | 26,30  | 7,07   | 6,19   |
| <b>Bağıl SS</b> | 0,26                        | 0,11  | 0,08   | 0,03   | 0,02   |



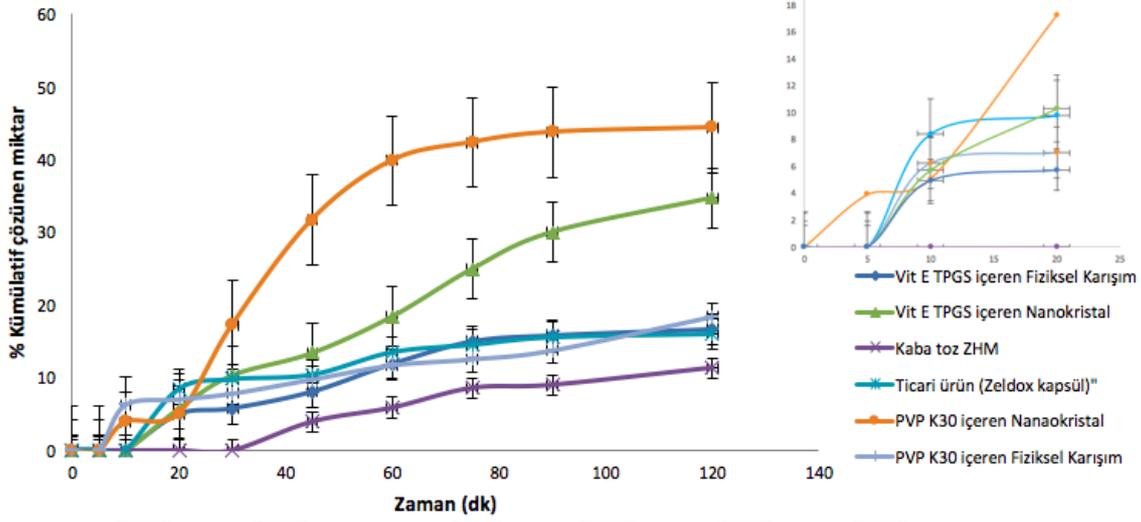
Şekil 4.49. ZHM kaba toz, fiziksel karışım ve nanokristallerin sudaki doymun çözünürlük değerleri

#### 4.7. İn Vitro Çözünme Çalışmaları

İn vitro çözünme çalışmaları Bölüm 3.2.9’da anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

##### 4.7.1. pH 7.4 fosfat tamponu ortamı kullanılarak yapılan çözünme çalışma sonuçları

ZHM farklı formülasyonlarının, fiziksel karışımların, ticari ürünün ve kaba tozun pH 7.4 fosfat tamponu ortamındaki çözünme profilleri Şekil 4.50’de gösterilmektedir.



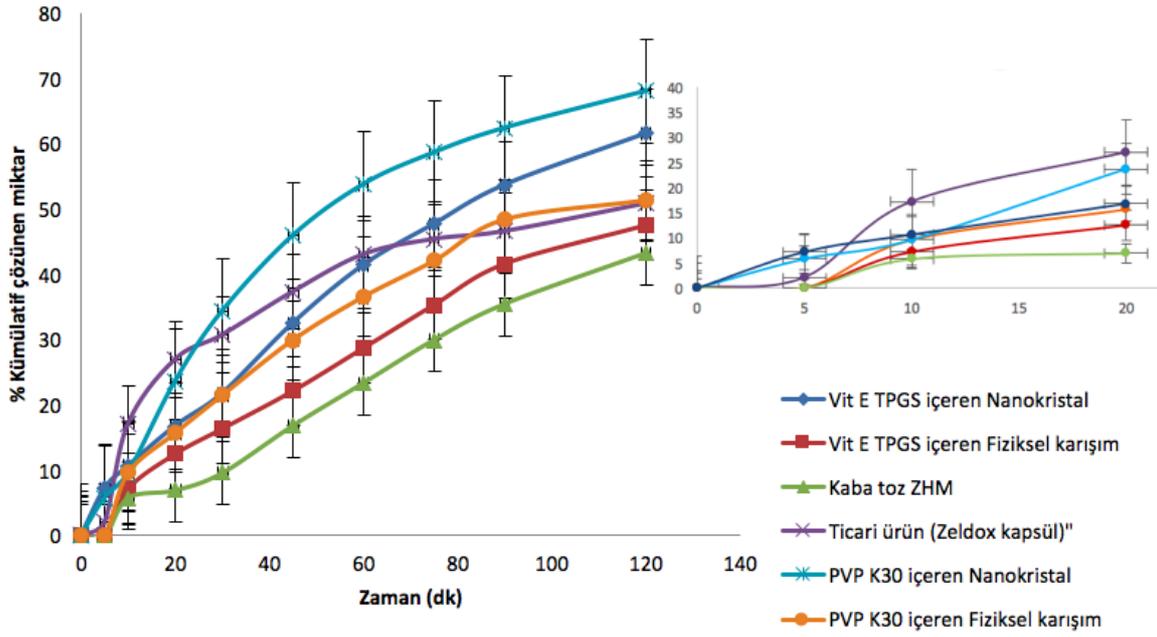
Şekil 4.50. ZHM kaba tozu, fiziksel karışımları ve nanokristal formülasyonlarının pH 7.4 fosfat tamponu ortamındaki çözünme profilleri

FDA'nın çözünme yöntemi olarak önerdiği ve ticari ürün için kullanılan in vitro çözünme ortamı pH 7.4 fosfat tamponu içerisinde %2 SLS içeren ortamdır. Bu ortamda iyi çözünme gösterdiğinden nanokristallerin çözünmesindeki artışı tespit etmek, farklılıkları görmek için pH 7.4 fosfat tamponu ortamında çözünme testi yapılmıştır. Bu ortamda ZHM kaba toz 30. dakikaya kadar çözünme göstermemiştir ve 2 saatin sonunda %10'lu bir çözünme sergilemiştir. Diğer formülasyonlar kaba toza kıyasla daha yüksek miktarda çözünme göstermiştir. En yüksek çözünme ise PVP K30 içeren nanokristal formülasyonunda görülmüştür. Bu formülasyon 120 dakika sonunda %44,38 oranında çözünme göstermiştir.

#### 4.7.2. pH 7.4 fosfat tamponu + %0.5 SLS ortamı kullanılarak yapılan çözünme çalışma sonuçları

ZHM içeren nanokristallerin, fiziksel karışımların, ticari ürünün ve kaba tozun çözümlerindeki farklılığı ve nanokristallerin etkisini daha detaylı görebilmek için pH 7.4 fosfat tamponuna %0.5 ve %1 oranlarında SLS ilave edilerek çözünme çalışmaları yapılmıştır.

ZHM nanokristallerinin, fiziksel karışımların, ticari ürünün ve kaba tozun pH 7.4 fosfat tamponu +%0.5 SLS ortamındaki çözünme profilleri Şekil 4.51'de gösterilmektedir.

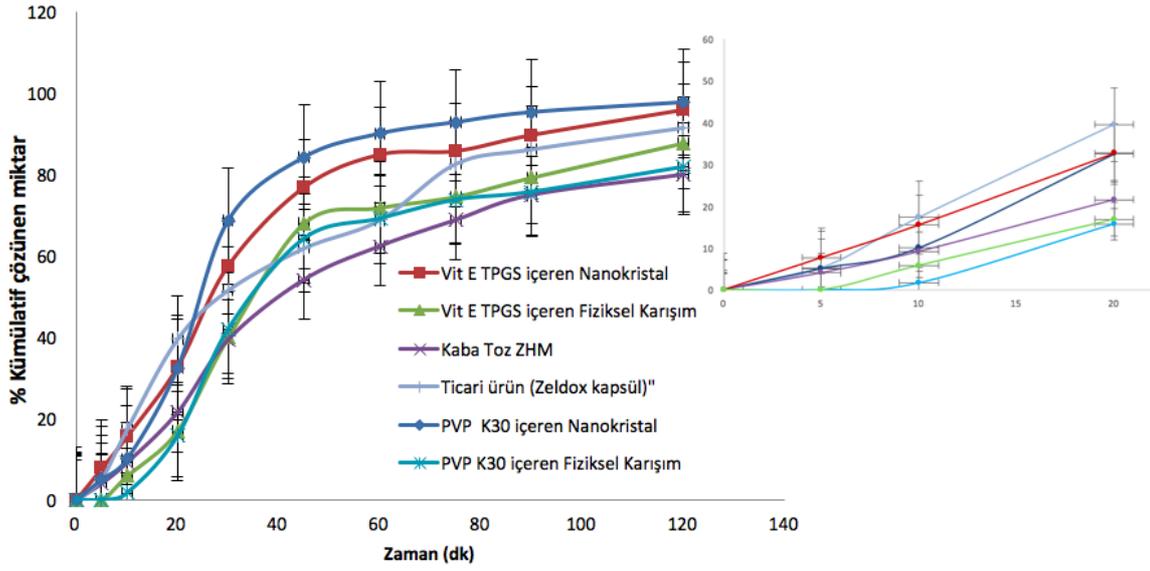


Şekil 4.51. ZHM kaba tozu, fiziksel karışımlar ve nanokristal formülasyonlarının pH 7.4 fosfat tamponu + %0.5 SLS ortamındaki çözünme profilleri

% 0.5 SLS içeren pH 7.4 fosfat tamponu ortamında ZHM kaba toz 120 dakika sonunda %40'a varan çözünme göstermiş olup nanokristal formülasyonları %70'e varan çözünme göstermiştir. pH 7.4 fosfat tamponu ortamındaki çözünmeye kıyasla ortamına%0.5 oranında SLS ilave edilmesi tüm formülasyonların çözünmelerini arttırmıştır.

#### 4.7.3. pH 7.4 fosfat tamponu + % 1 SLS ortamı kullanılarak yapılan çözünme çalışma sonuçları

ZHM farklı formülasyonlarının, fiziksel karışımların, ticari ürünün ve kaba tozunun pH 7.4 fosfat tampon +%1 SLS ortamındaki çözünme profilleri Şekil 4.52'de gösterilmektedir.

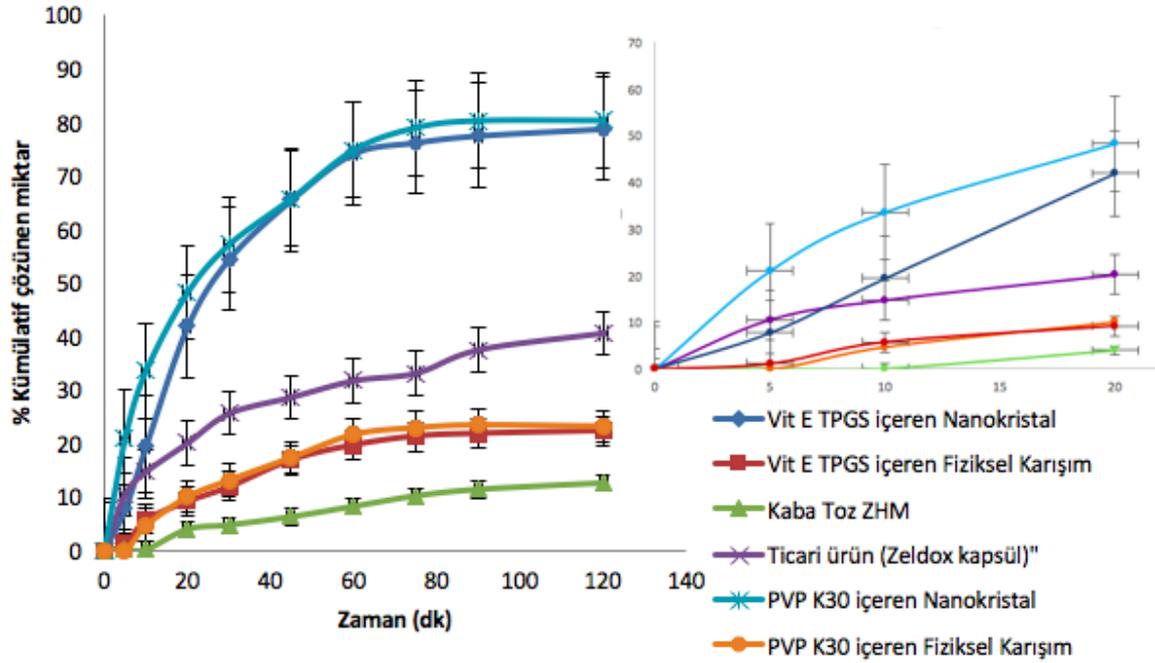


Şekil 4.52. ZHM kaba tozu, fiziksel karışımlar ve nanokristal formülasyonlarının pH 7.4 fosfat tamponu + %1 SLS ortamındaki çözünme profilleri

% 1 SLS içeren pH 7.4 fosfat tamponu ortamında, ZHM kaba toz 120 dakika sonunda %70'a varan çözünme göstermiş olup nanokristal formülasyonları ve ticari ürün %100'e yakın çözünme göstermişlerdir. Ortamda SLS miktarının artması formülasyonlarının çözünme profillerindeki eğilimi iyileştirmekle birlikte zamanla çözünen ZHM miktarını da arttırmıştır. Vit E TPGS veya PVP içeren nanokristallerin her ikisi de %95'in üzerinde çözünme göstermiştir.

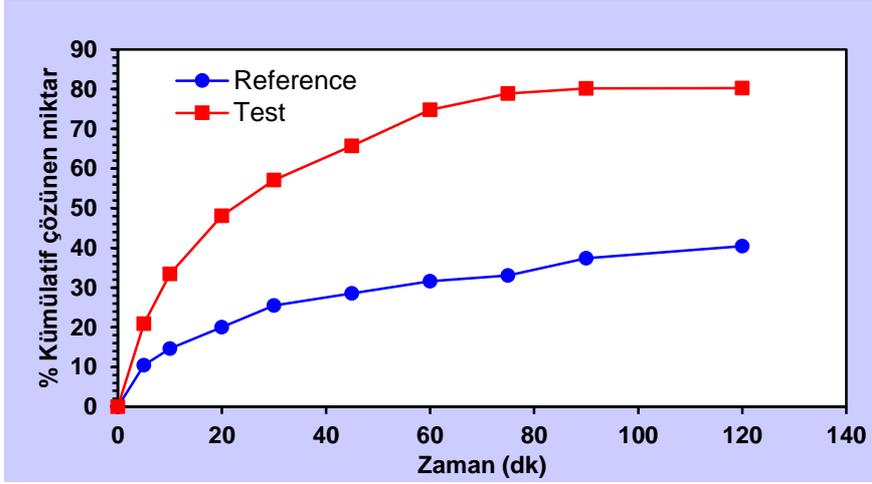
#### 4.7.4. FaSSIF ortamında yapılan çözünme çalışma sonuçları

ZHM içeren nanokristallerin, fiziksel karışımların, ticari ürünün ve kaba tozunun FaSSIF ortamındaki çözünme profilleri Şekil 4.53'de gösterilmektedir.

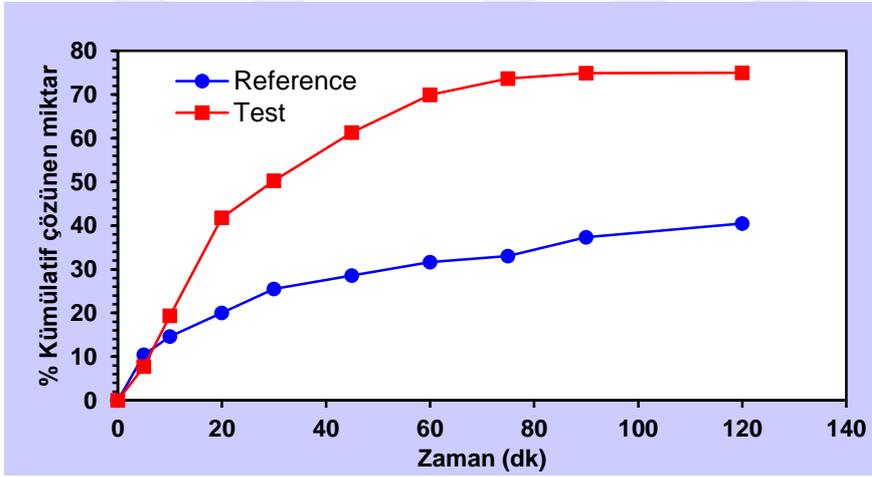


Şekil 4.53. ZHM kaba tozu, fiziksel karışımları ve nanokristal formülasyonlarının FaSSIF ortamındaki çözünme profilleri

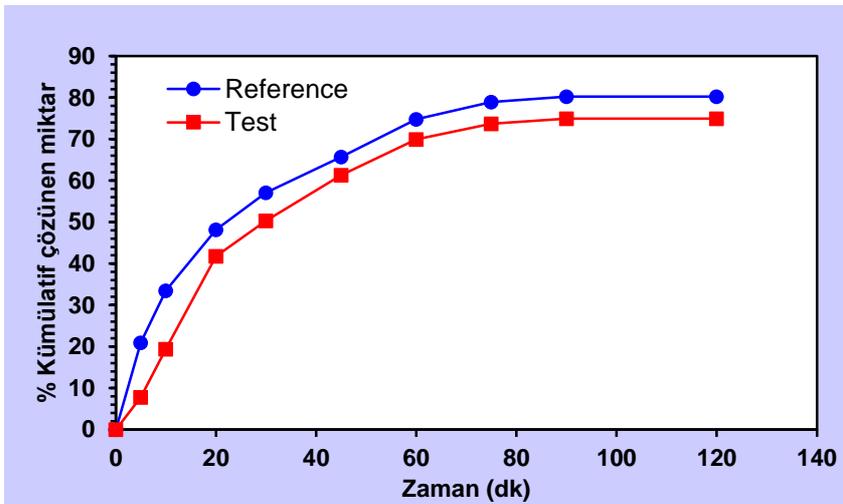
FaSSIF ortamında sadece nanokristal içeren formülasyonlar deney sonunda %80 civarında çözünme göstererek açlık ortamında çok düşük biyoyararlanım gösterdiği bilinen ZHM'nin nanokristal hale geldiğinde açlık-tokluk varyasyonunun azalacağı bu çalışma ile görülmektedir. Kaba tozun çözünmesi sadece pH 7.4 fosfat tamponu içeren ortamdaki çözünmesine benzer çıkmış fakat nanokristal içeren formülasyonlarda çözünmede artış görülmüştür. Şekil 4.54 ve 4.55'de Vitamin E TPGS ve PVP K30 içeren nanokristal formülasyonları ile ticari preparatın benzerlikleri istatistiksel açıdan gösterilmektedir. DDSolver 1.0 yazılım programı kullanılarak hesaplanan f2 benzerlik faktörü test ürün PVP K30 ile hazırlanan nanokristalde 24, Vitamin E TPGS ile hazırlanan nanokristalde ise 28 bulunmuş olup her ikisi de ticari ürün ile açlık ortamında benzerlik göstermemiştir. Şekil 4.56'da verilen her iki nanokristal formülasyonun karşılaştırılmasında ise f2 benzerlik faktörü 56 bulunduğundan profiller benzer olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.54. FaSSIF ortamında çözünme profilleri; Referans ürün: Ticari preparat, Test ürünü: PVP K30 içeren nanokristal (f2:24)



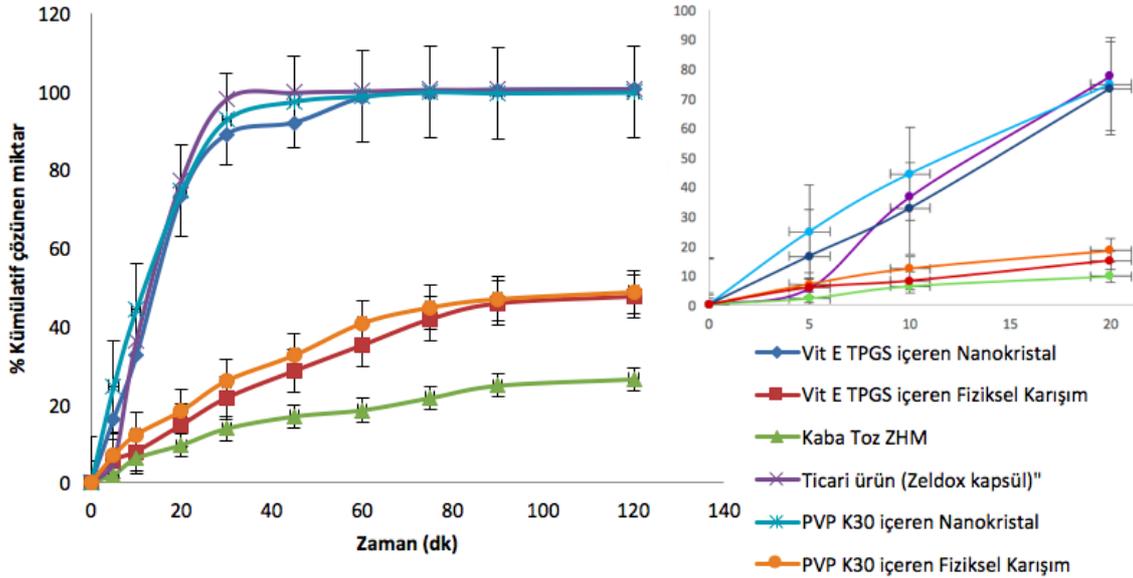
Şekil 4.55. FaSSIF ortamında çözünme profilleri; Referans ürün: Ticari preparat, Test ürünü: Vitamin E TPGS içeren nanokristal (f2:28)



Şekil 4.56. FaSSIF ortamında çözünme profilleri; Referans ürün: PVP K30 içeren nanokristal, Test ürünü: Vitamin E TPGS içeren nanokristal (f2:56)

#### 4.7.5. FeSSIF ortamında yapılan çözünme çalışma sonuçları

ZHM nanokristal formülasyonlarının, fiziksel karışımların, ticari ürünün ve kaba tozunun FeSSIF ortamındaki çözünme profilleri Şekil 4.57’de gösterilmektedir.

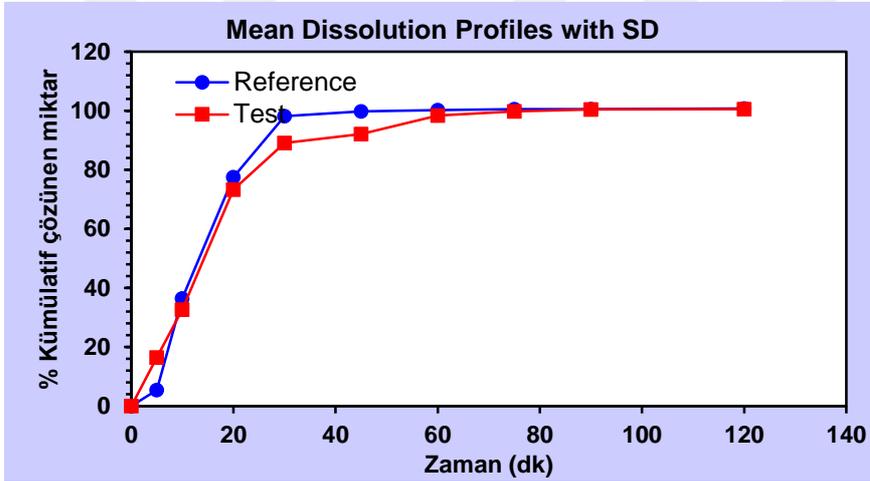


Şekil 4.57. ZHM kaba tozu, fiziksel karışımlar ve nanokristal formülasyonlarının FeSSIF ortamındaki çözünme profilleri

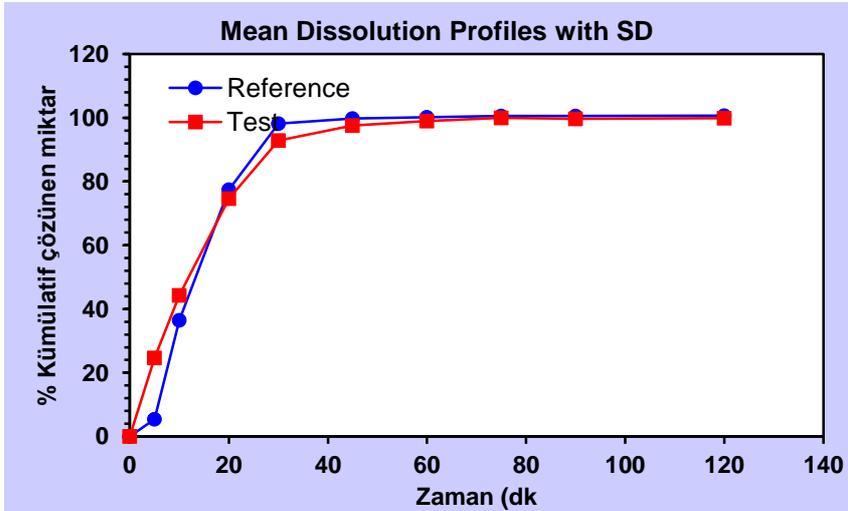
FESSIF ortamındaki çözünme profilleri nanokristal içeren ortamda ve ticari üründe %90 üzerinde ve benzer çıkmıştır. Açlık ortamına kıyasla daha düşük çözünme gösteren ticari ürünün tokluk ortamında çözünmesine karşılık nanokristal formülasyonlarının açlık ortamında da çözünmesinin pH 7.4. tampon içeren ortama kıyaslandığında yüksek olması ZHM etkin maddesinin nanokristal hale gelerek partikül boyutunun küçültülmesi ile açlık-tokluk ortamına bağlı çözünme farklılıklarını azaldığı görülmektedir. Fiziksel karışım içeren formülasyonlar kaba tozdan daha yüksek çözünme göstermiş olup açlık ortamında daha düşük çözünme gösterirken tokluk ortamında çözümleri %50’ye yakın olmuştur. Şekil 4.58-4.60’da tokluk ortamındaki nanokristal içeren formülasyonların kendi aralarında ve ticari ürün ile karşılaştırmaları verilmiştir. Buna göre tokluk ortamında ticari ürün ile nanokristaller benzer bulunmuştur ( $f_2 > 50$ ). FeSSIF ortamında çalışılan tüm gruplar 15 dk içerisinde %85 oranında çözünme göstermemiştir. 15. dk içerisinde ZHM kaba toz %9, Vitamin E TPGS içeren fiziksel karışım %14, PVP K30 içeren fiziksel karışım %18 oranında çözünme gösterirken ticari ürün Zeldox %45, PVP K30 içeren nanokristal % 55 ve Vitamin E TPGS içeren nanokristal %45 oranında çözünme göstermişlerdir.

Çözünme deneylerinden görüldüğü üzere nanokristal hale getirilen ZHM maddesinin çözünme profili tüm ortamlarda daha yüksek çıkmış ve açlık ortamında da sadece nanokristal içeren formülasyonların diğerlerine kıyasla yüksek çıkması ile nanokristal formülasyonunun şizofreni tedavisinde tercih edilmesi ve/veya ticarileştirilmesi ile ilacın yiyeceklerle birlikte alınma gereğini ortadan kaldıracağını öngörmektedir.

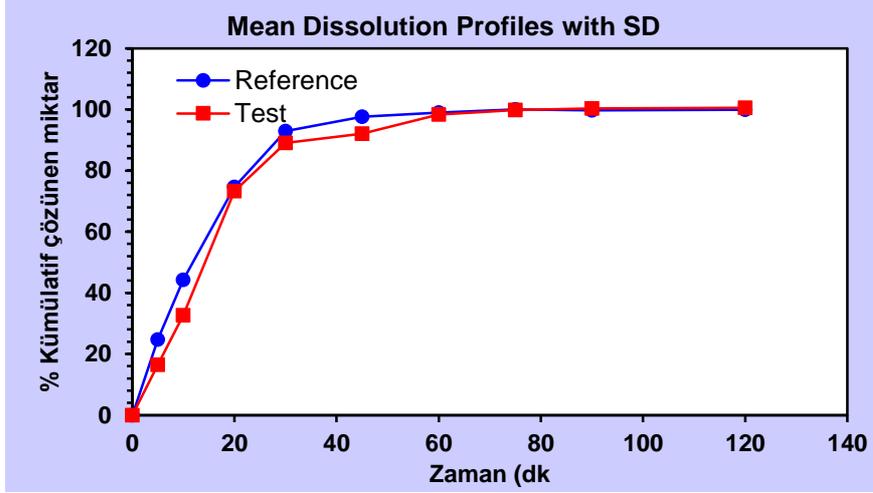
Çözünme deney sonuçlarının benzer çıkması, nanokristal parametrelerinin uygun çıkması ve suda çözünürlük değerlerinin PVP K30 içeren nanokristal formülasyonunda daha yüksek olması sebebiyle PVP K30 içeren nanokristal formülasyonu ile ağızda dağılan tablet formülasyon çalışmalarına devam edilmeye karar verilmiştir.



Şekil 4.58. FeSSIF ortamında çözünme profilleri; Referans ürün: Ticari ürün, Test ürünü: Vitamin E TPGS içeren nanokristal (f2:63)



Şekil 4.59. FeSSIF ortamında çözünme profilleri; Referans ürün: Ticari ürün, Test ürünü: PVP K30 içeren nanokristal (f2:58)

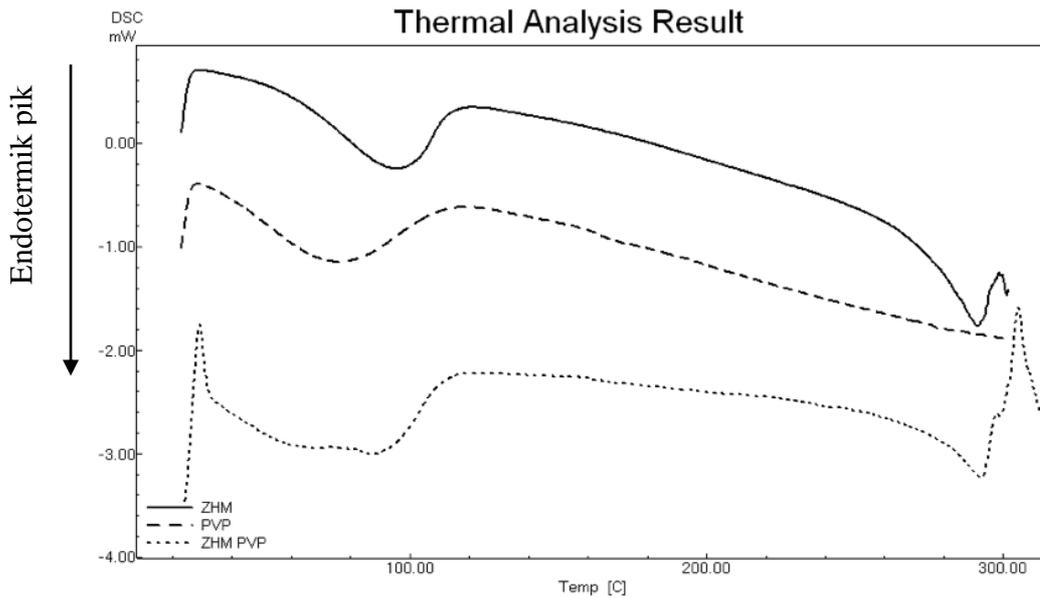


Şekil 4.60. FeSSIF ortamında çözünme profilleri; Referans ürün: PVP K30 içeren nanokristal, Test ürünü: Vitamin E TPGS içeren nanokristal (f2: 65)

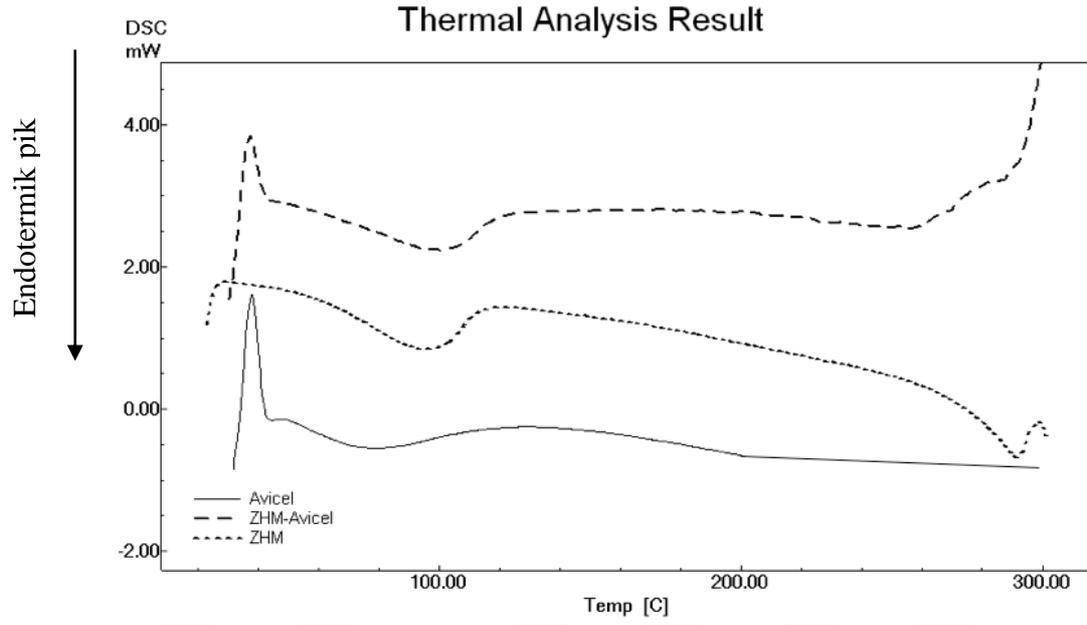
#### 4.8. ADT'lerin Doğrudan Basım Yöntemi ile Hazırlanması

##### 4.8.1. ADT'lerde kullanılan yardımcı maddeler ile geçimlilik Çalışması

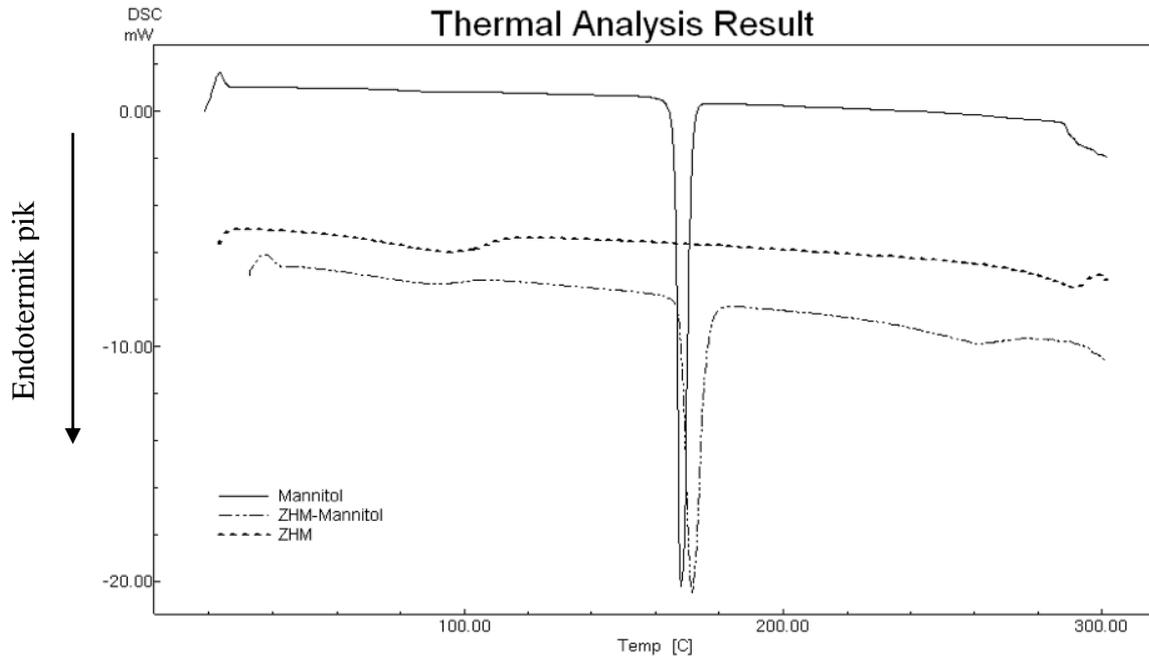
ADT'lerin basılmasından önce kullanılan yardımcı maddelerin ZHM ile geçimliliğini tespit etmek amacıyla bölüm 3.2.11'de açıklanan DSC analizi yapılmıştır. DSC termogramları Şekil 4.60-4.64'de görülmektedir. DSC termogramlarına göre yardımcı maddeler ile ZHM arasında herhangi bir geçimsizlik bulunmamaktadır.



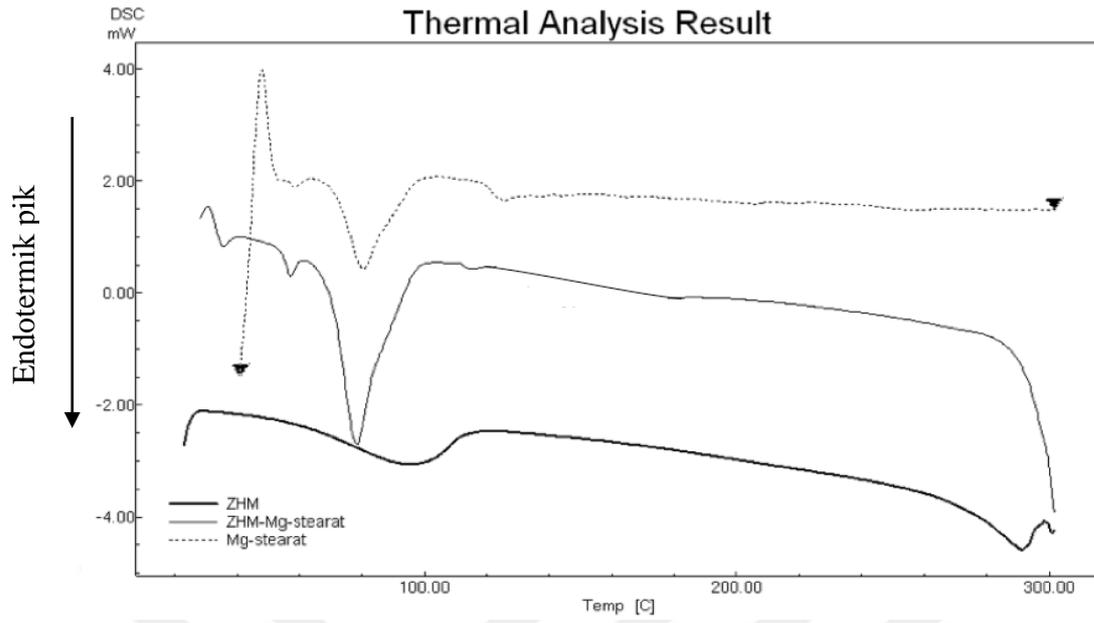
Şekil 4.61. ZHM, PVP K30 ve fiziksel karışımın DSC termogramı



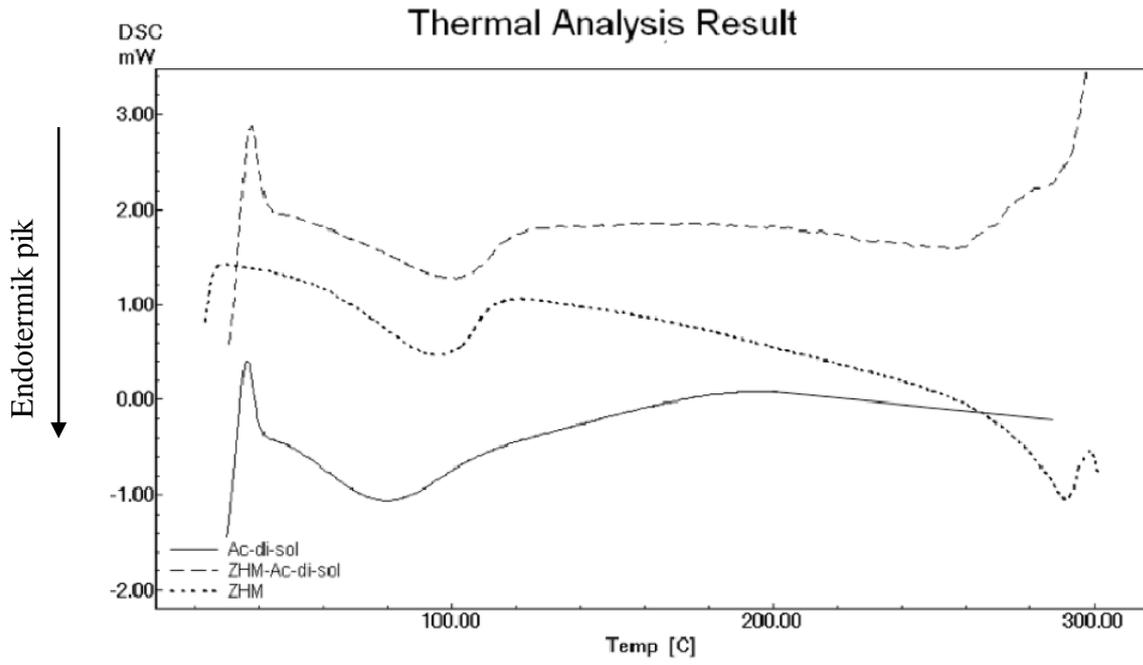
Şekil 4.62. ZHM, Avicel ve fiziksel karışımın DSC termogramı



Şekil 4.63. ZHM, Mannitol ve fiziksel karışımın DSC termogramı



Şekil 4.64. ZHM, Mg Stearat ve fiziksel karışımın DSC termogramı



Şekil 4.65. ZHM, Ac-Di-Sol ve fiziksel karışımın DSC termogramı

#### 4.8.2. Deney tasarımı ile hazırlanan fiziksel karışım ADT formülasyonlarda yapılan fizikofarmasötik kontrollerin sonuçları

Bölüm 3.2.12’ de açıklandığı gibi  $3^2$  faktoriyel deney tasarımı ile 2 kez tekrar edilerek fiziksel karışım içeren ADT’ler hazırlanmıştır. DoE ile incelenen bağımsız parametrelerin yani fizikofarmasötik kontrollerinin sonuçları Çizelge 4.88’de verilmektedir.

Çizelge 4.88. DoE uygulaması ile tasarlanan fiziksel karışım ADT’lerin fizikofarmasötik kontrollerinin sonuçları

|     | % Dağıtıcı oranı | % Kaydırıcı oranı | Sertlik (N) | Friabilite (%) | Dağılma süresi (sn) | Ağırlık (mg) | Çap (mm)   | Kalınlık (mm) |
|-----|------------------|-------------------|-------------|----------------|---------------------|--------------|------------|---------------|
| F1  | 5                | 0,5               | 43,93±2,56  | 2,079          | 25,83±2,04          | 751,8±1,0    | 15,14±0,02 | 3,58±0,04     |
| F2  | 10               | 1,5               | 43,16±1,34  | 2,045          | 56,67±5,16          | 749,4±1,0    | 15,15±0,01 | 3,65±0,05     |
| F3  | 5                | 1,5               | 44,74±1,64  | 2,355          | 34,16±2,04          | 751,3±1,0    | 15,16±0,04 | 3,69±0,05     |
| F4  | 5                | 1                 | 48,34±2,01  | 0,64           | 20,16±0,02          | 751,6±1,1    | 15,16±0,05 | 3,67±0,03     |
| F5  | 15               | 1                 | 44,51±1,04  | 0,83           | 26±0                | 753,5±1,4    | 15,09±0,14 | 3,3±0,1       |
| F6  | 10               | 1,5               | 41,84±2,32  | 2,475          | 49±0                | 747,9±1,2    | 15,10±0,18 | 3,51±0,11     |
| F7  | 5                | 1,5               | 44,22±1,03  | 1,885          | 38±0                | 747±1        | 15,06±0,12 | 3,36±0,06     |
| F8  | 15               | 1,5               | 43,86±1,62  | 0,9            | 62,5±0,3            | 753,9±1,8    | 15,07±0,15 | 3,36±0,07     |
| F9  | 15               | 0,5               | 48,48±1,42  | 0,82           | 45±1                | 749,9±0,9    | 15,08±0,01 | 3,36±0,07     |
| F10 | 15               | 0,5               | 44,56±0,21  | 1,04           | 50±0                | 749,9±0,7    | 15,11±0,52 | 3,33±0,07     |
| F11 | 10               | 1                 | 42,39±0,92  | 1,59           | 52±1                | 750,6±0,7    | 15,12±0,03 | 3,32±0,1      |
| F12 | 10               | 0,5               | 30,79±1,31  | 1,595          | 33,3±0,1            | 748,8±0,7    | 15,14±0,09 | 3,21±0,35     |
| F13 | 10               | 1                 | 31,95±1,03  | 1,68           | 36,66±0,09          | 751,8±1,7    | 15,14±0,32 | 3,3±0,1       |
| F14 | 15               | 1,5               | 34,35±1,09  | 1,06           | 40,5±0,1            | 750,4±1,9    | 15,12±0,21 | 3,2±0,1       |
| F15 | 5                | 0,5               | 32,32±1,51  | 1,15           | 15±0                | 750,1±2,7    | 15,14±0,25 | 3,4±0,1       |
| F16 | 10               | 0,5               | 36,41±1,01  | 1,74           | 38,33±0,03          | 750,7±2,7    | 15,13±0,01 | 3,28±0,07     |
| F17 | 15               | 1                 | 38,82±1,02  | 1,165          | 34,66±0,07          | 751±1        | 15,11±0,02 | 3,26±0,07     |
| F18 | 5                | 1                 | 45,49±1,20  | 1,175          | 21,66±0,02          | 750,9±1,9    | 15,16±0,01 | 3,63±0,07     |

Çizelge 4.88’e göre sertlik değerleri tüm formülasyonlarda > 30 N olarak uygun çıkmıştır. Ağırlık sapması değerleri ve çap-kalınlık değerleri de aynı şekilde istenilen sınırlar arasındadır. Friabilite değerleri sadece F4, F5, F8 ve F9 formülasyonlarında <% 1 olarak bulunmuştur. Dağılma süresi ise en düşük F15 formülasyonunda görülmüştür. Bu 18 adet deneyin sertlik, dağılma ve friabilite verileri DoE 9.0.6 programı kullanılarak istatistiksel analize tabi tutulmuş ve formülasyonun optimizasyonu uygulanmıştır.

### 4.8.3. Tasarımla kalite uygulaması (QbD) ve fiziksel karışım ADT formülasyonunun optimizasyonu ile ilgili sonuçlar

Fiziksel karışım ADT formülasyonunun optimizasyonunda tek yönlü ANOVA testi uygulandı. Friabilite, sertlik ve dağılma sürelerine ilişkin tanımlayıcı istatistikler Çizelge 4.89'da gösterilmektedir.

Çizelge 4.89. ADT'lerde friabilite, sertlik ve dağılma süresine ilişkin tanımlayıcı istatistikler

| Faktör | İsim            | Unite | Minimum | Maksimum | Ortalama | ±SS   |
|--------|-----------------|-------|---------|----------|----------|-------|
| A      | Dağıtıcı oranı  | %     | 5       | 15       | 10       | 4     |
| B      | Kaydırıcı oranı | %     | 0,5     | 1,5      | 1        | 0     |
| R1     | Sertlik         | N     | 30,79   | 48,48    | 41,12    | 5,61  |
| R2     | Dağılma Süresi  | sn    | 15      | 62,5     | 37,74    | 13,10 |
| R3     | Friabilite      | %     | 0,64    | 2,475    | 1,46     | 0,56  |

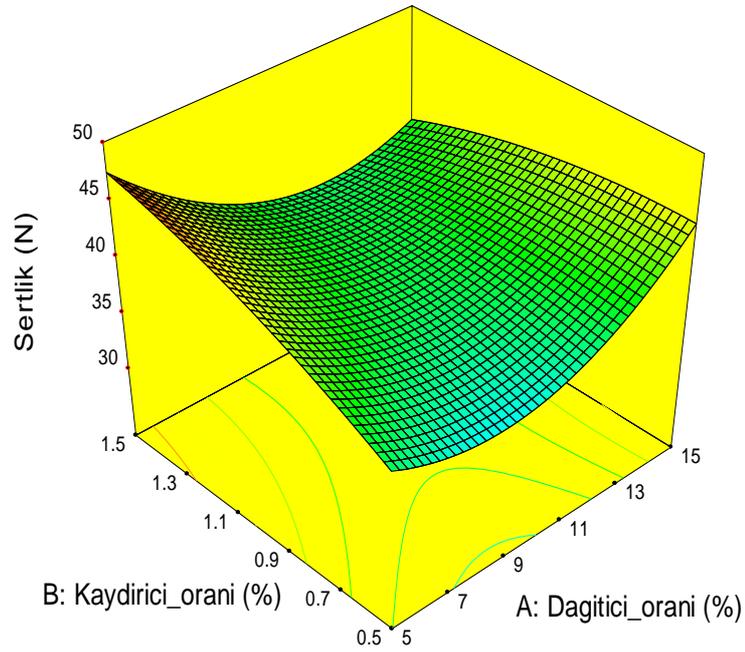
Çizelge 4.89'a göre çalışılan formülasyonlar arasındaki sertlik, dağılma süresi ve friabilite değerleri sırasıyla minimum 30,79 N, 15 sn ve 0,64 çıkarken, maksimum değerler sırasıyla 48.48 N 62,5 sn ve 2,475 bulunmuştur. Çizelge 4.90'da ise her bir bağımsız değişkenin ANOVA analiz sonuçları gösterilmektedir.

Çizelge 4.90. Bağımsız değişkenlerin ANOVA analiz sonuçları

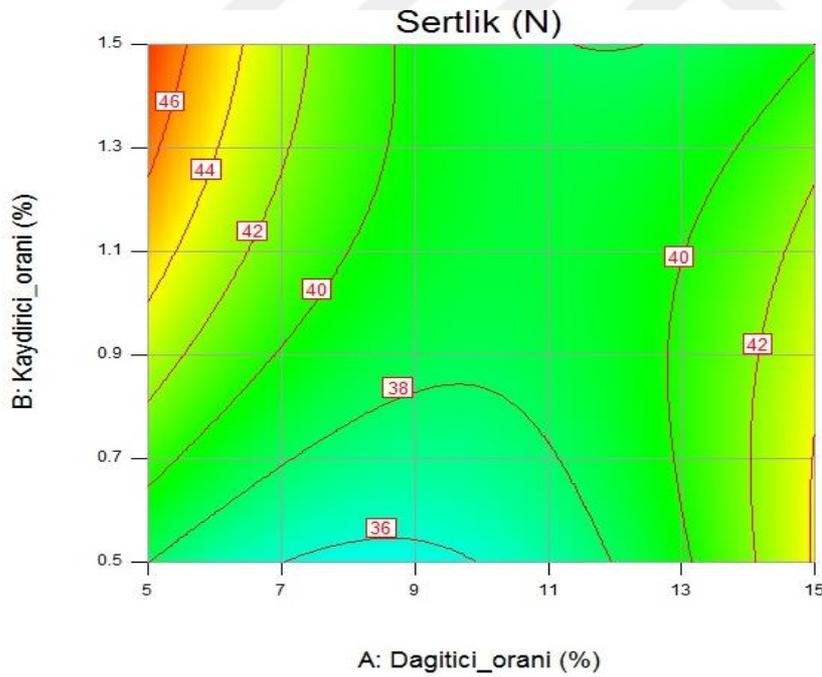
| <b>Dağılma süresi-Yanıt Yüzey Kuadratik Model için ANOVA</b>      |                          |                     |                 |                           |
|---|--------------------------|---------------------|-----------------|---------------------------|
| <b>Varyans tablosunun analizi [Karelerin kısmi toplamı-Tip 3]</b> |                          |                     |                 |                           |
| <b>Kaynak</b>   | <b>Karelerin toplamı</b> | <b>Ortalam kare</b> | <b>F değeri</b> | <b>p-değeri Prob&gt;F</b> |
| Model   | 2117,17                  | 423,43              | 6,33            | 0,0042                    |
| A-Dağıtıcı oranı %  | 898,53                   | 898,53              | 13,44           | 0,0032                    |
| B-Kaydırıcı oranı %   | 448,27                   | 448,27              | 6,70            | 0,0237                    |
| <b>Sertlik-Yanıt Yüzey Kuadratik Model için ANOVA</b>             |                          |                     |                 |                           |
| <b>Varyans tablosunun analizi [Karelerin kısmi toplamı-Tip 3]</b> |                          |                     |                 |                           |
| <b>Kaynak</b>   | <b>Karelerin toplamı</b> | <b>Ortalam kare</b> | <b>F değeri</b> | <b>p-değeri Prob&gt;F</b> |
| Model   | 224,47                   | 44,89               | 1,74            | 0,2008                    |
| A-Dağıtıcı oranı %  | 1,66                     | 1,66                | 0,064           | 0,8044                    |
| B-Kaydırıcı oranı %   | 20,49                    | 20,49               | 0,79            | 0,3908                    |
| <b>Friabilite-Yanıt Yüzey Kuadratik Model için ANOVA</b>          |                          |                     |                 |                           |
| <b>Varyans tablosunun analizi [Karelerin kısmi toplamı-Tip 3]</b> |                          |                     |                 |                           |
| <b>Kaynak</b>   | <b>Karelerin toplamı</b> | <b>Ortalam kare</b> | <b>F değeri</b> | <b>p-değeri Prob&gt;F</b> |
| Model   | 3,66                     | 0,73                | 5,36            | 0,0081                    |
| A-Dağıtıcı oranı %  | 1,00                     | 1,00                | 7,36            | 0,0189                    |
| B-Kaydırıcı oranı %   | 0,44                     | 0,44                | 3,22            | 0,0978                    |

Çizelge 4.90'a göre optimum nanokristal içeren ADT hazırlamak için fiziksel karışım içeren ADT'lerin DoE programı kullanılarak yapılan ANOVA analizine göre sertlik değerlerinin dağıtıcı oranı ve kaydırıcı oranından anlamlı olarak etkilenmediği görülürken friabilite ve dağılma süresi değerleri dağıtıcı oranı ve kaydırıcı oranının değişmesinden anlamlı olarak etkilenmiştir. Bu verilerden hareketle üç boyutlu yüzey ve kontur grafikleri her bir bağımsız değişken için çıkarılmıştır ve formülasyonun optimizasyonu yapılarak bağımsız değişkenler için istenilen limit değerlerine göre belirlenmiştir. Şekil 4.66-4.72'de yüzey ve kontur grafikleri görülmektedir.

Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 Sertlik (N)  
 48.48  
 30.79  
 X1 = A: Dagitici\_orani  
 X2 = B: Kaydirici\_orani



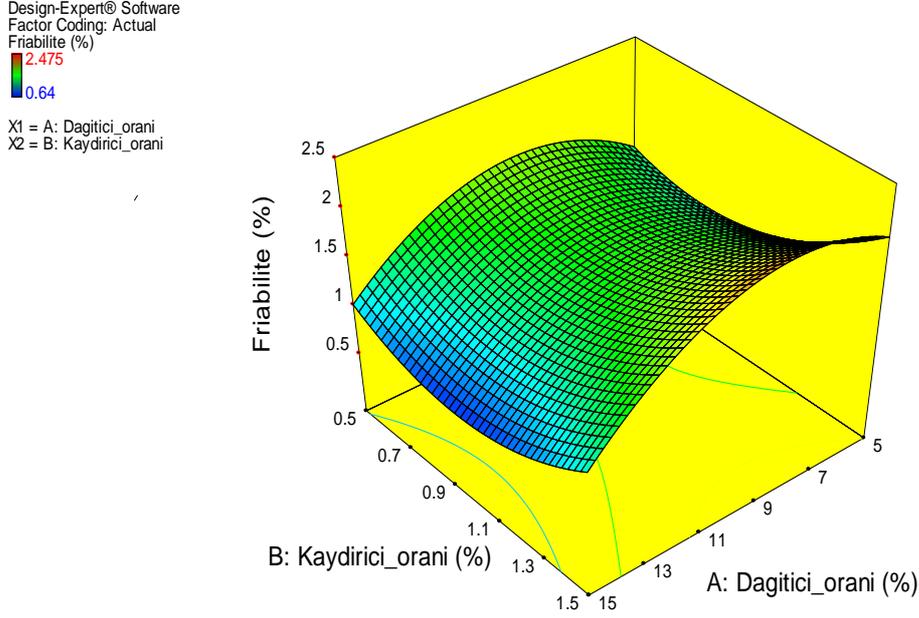
Şekil 4.66. Dağıtıcı ve kaydırıcı oranına göre sertlik değerlerini gösteren cevap yüzey grafiği



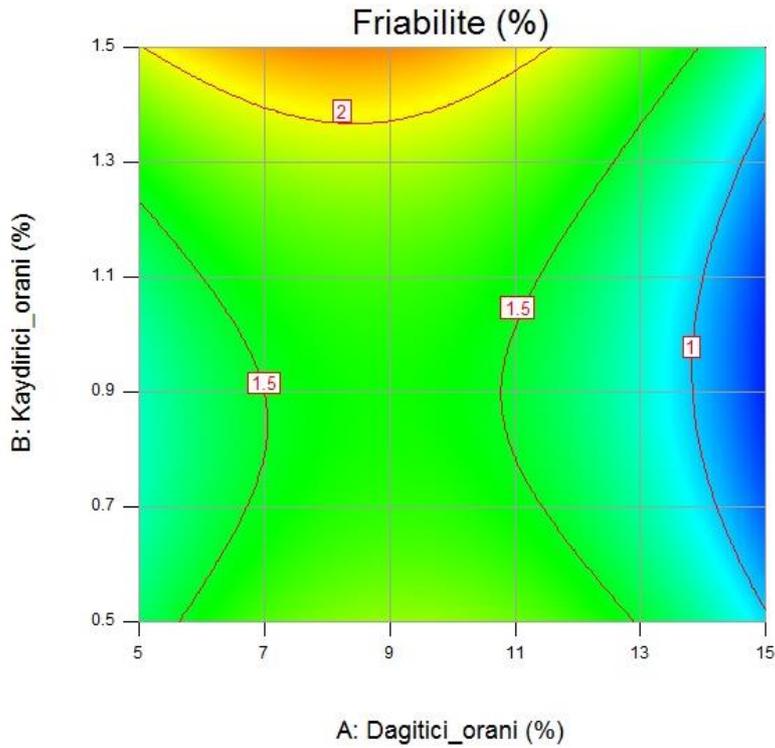
Şekil 4.67. Dağıtıcı ve kaydırıcı oranına göre sertlik değerlerini gösteren kontur grafiği

Cevap yüzey ve kontur grafiklerine göre sertlik değerleri %0.5-1.5 aralığındaki kaydırıcı miktarı ve %5-15 aralığındaki dağıtıcı miktarına göre 30.79 N ile 48.48 N arasında değişmektedir.

En yüksek sertlik değerleri dağıtıcı oranının %5 civarında olduğu ve kaydırıcı oranının ise %1-1.5 arasında olduğu aralıkta çıkmıştır.



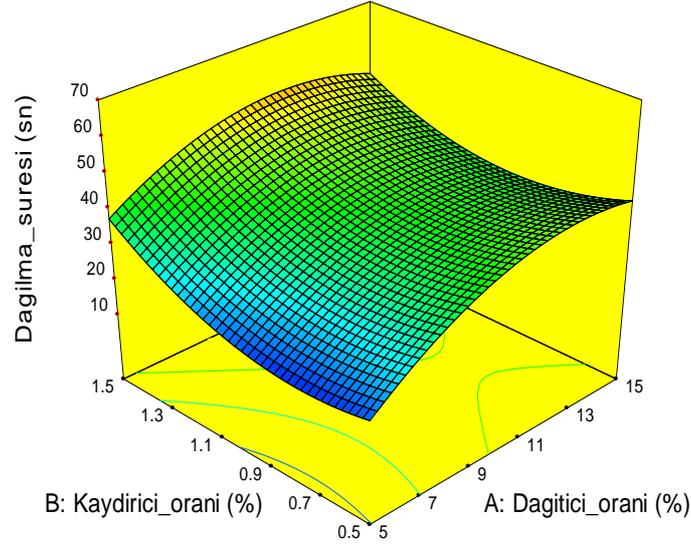
Şekil 4.68. Dağıtıcı ve kaydırıcı oranına göre friabilite değerlerini gösteren cevap yüzey grafiği



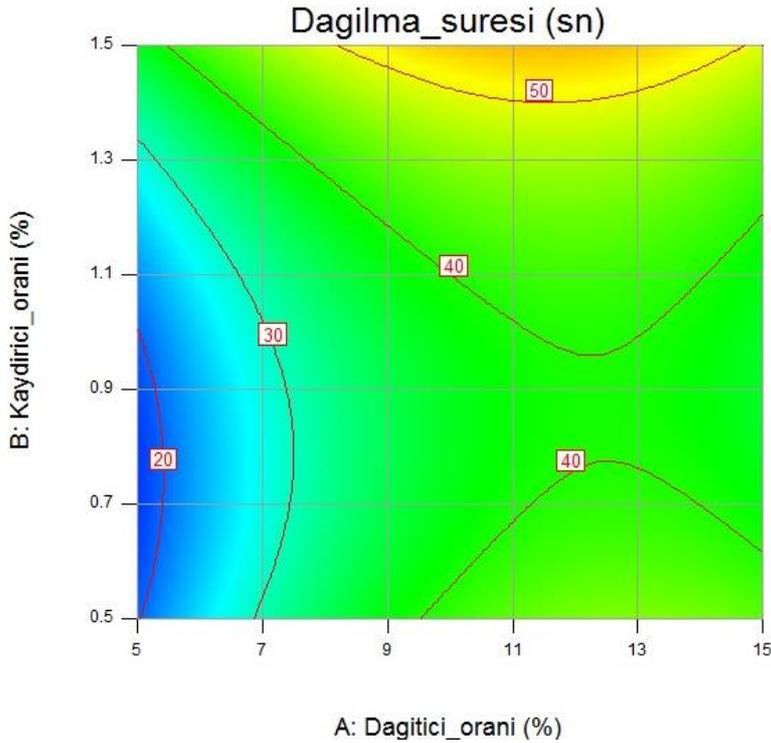
Şekil 4.69. Dağıtıcı ve kaydırıcı oranına göre friabilite değerlerini gösteren kontur grafiği

Cevap yüzey ve kontur grafiklerine göre tabletlerin taşınmaya karşı dayanıklı olması için farmakopeye göre friabilite değeri %1'den büyük olmamalıdır. Buna bağlı olarak kullanılan kaydırıcı aralığında dağıtıcı değeri %15 civarında olduğunda <math><1\%</math> friabilite değeri görülmektedir.

Design-Expert® Software  
Factor Coding: Actual  
Dağılma\_suresi (sn)  
62.5  
15  
X1 = A: Dağıtıcı\_orani  
X2 = B: Kaydırıcı\_orani



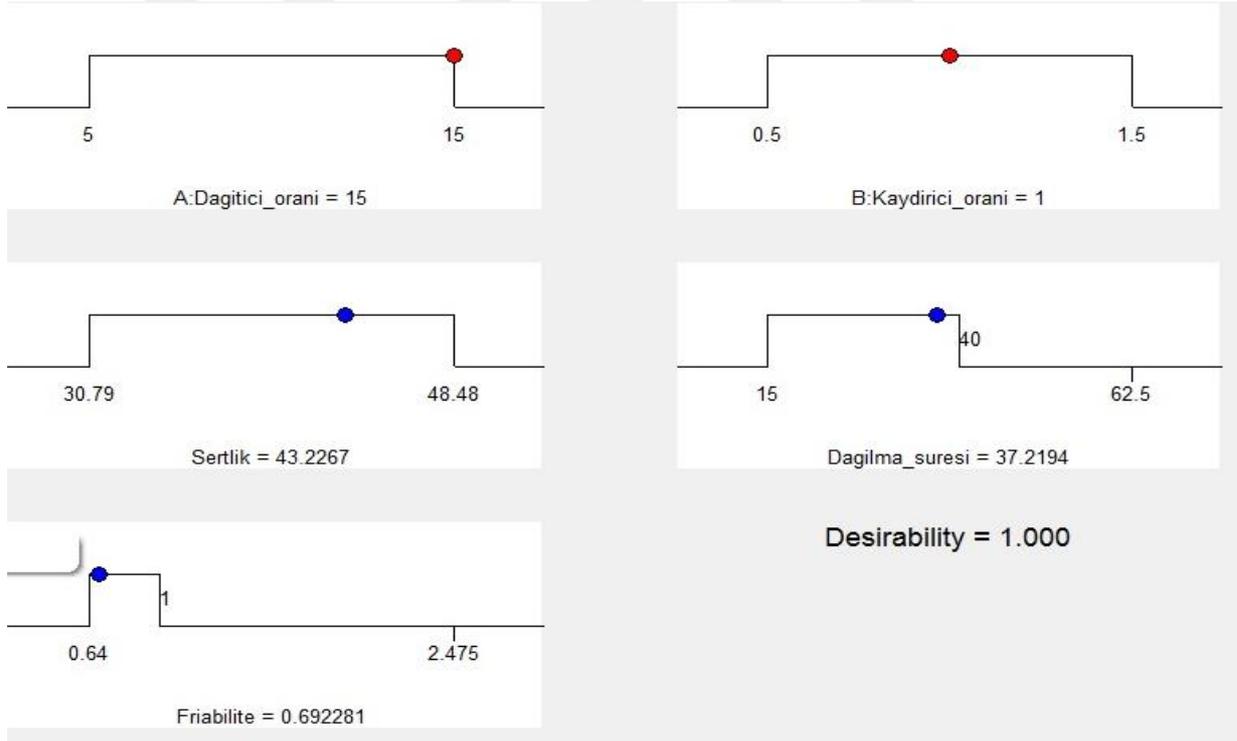
Şekil 4.70. Dağıtıcı ve kaydırıcı oranına göre dağılma süresini gösteren cevap yüzey grafiği



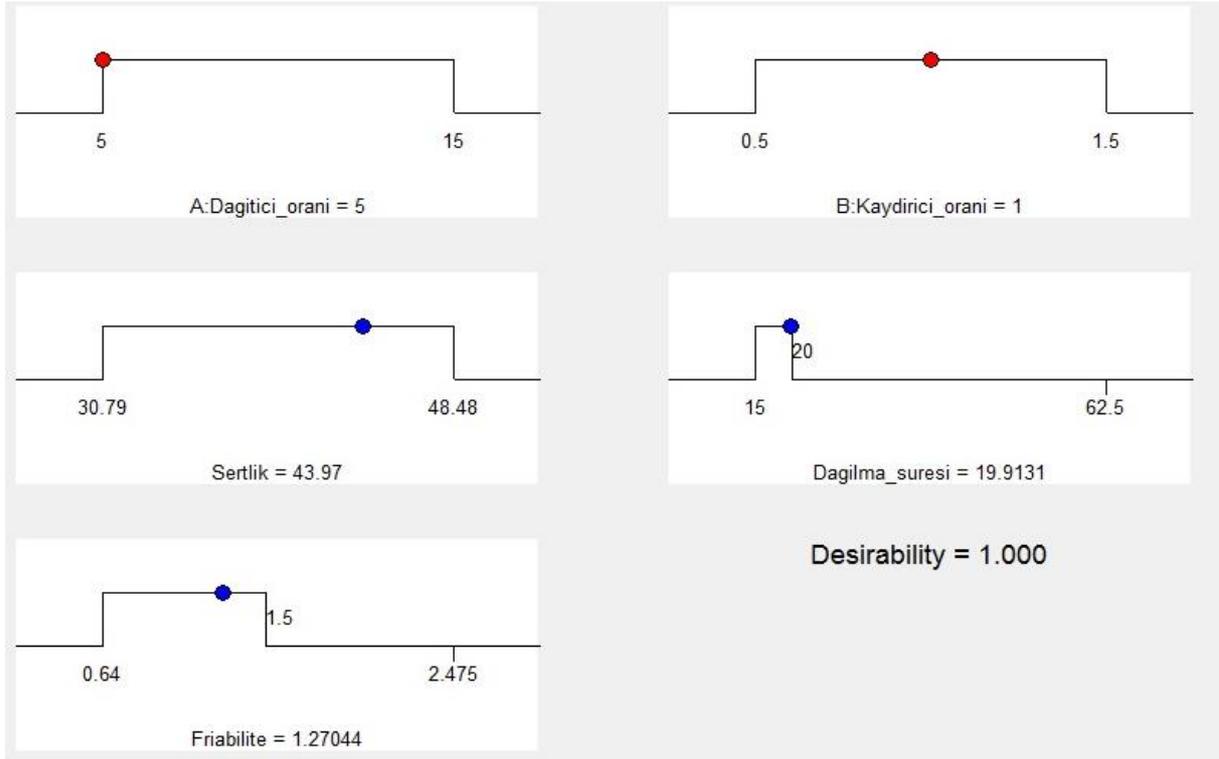
Şekil 4.71. Dağıtıcı ve kaydırıcı oranına göre dağılma süresini gösteren kontur grafiği

Cevap yüzey ve kontur grafiklerine göre tabletlerin dağılma süresinin en az olduğu aralık mavi bölgeler olup kaydırıcı oranının %0,5-1 ve dağıtıcı oranının ise %5-7 olduğu aralık en düşük dağılma süresi elde edilebileceğini göstermektedir. Buna karşılık friabilite değerleri dağıtıcı oranının %13-15 arasında olduğunda en düşük çıkmıştır.

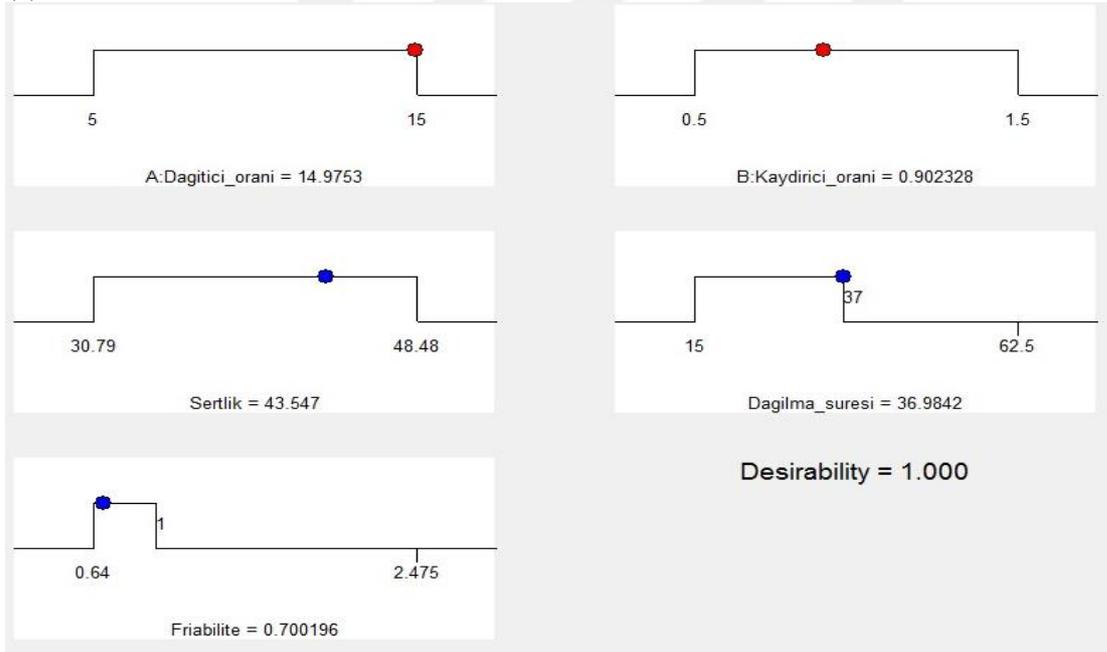
DoE programı ile tasarımı yapılarak istenilen friabilite, sertlik ve dağıtıcı oranlarına göre 3 farklı optimizasyon yapılmıştır. Resim 4.15 ve 4.16'da optimize edilen formülasyonlar verilmektedir. Dağıtıcı oranı %15 ve kaydırıcı oranı %1 iken sertlik değerinin 43.22 N, dağılma süresinin 37.21 saniye ve friabilite değerinin 0,6922 olması beklenirken, dağıtıcı oranı %5 ve kaydırıcı oranı %1 olduğunda dağılma süresinin 19.91 saniye, sertlik değerinin 43.97 N ve friabilite değerinin 1,27 olması beklenmektedir.



Resim 4.15. Optimize edilen ADT formülasyonları: %5 dağıtıcı, %1 kaydırıcı



(a)



(b)

Resim 4.16. Optimize edilen ADT formülasyonları: (a) %15 dağıtıcı, %1 kaydırıcı, (b) %14,97 dağıtıcı, %0,902 kaydırıcı

Deney tasarımı ile yapılan optimizasyon çalışmalarının sonuçlarına göre nanokristal içeren tablet basımı için iki formülasyon belirlenmiş olup bu formülasyonların seçimi konusunda friabilite değeri dikkate alınmıştır. DoE ile karar verilen iki formülasyon arasındaki seçim çalışması için sadece ZHM içeren yani mannitol ve PVP K30 içermeyen ADT'ler söz

konusu bu iki formülasyonun dağıtıcı ve kaydırıcı oranlarındahazırlandı. Bu tabletlerin sertlik, dağılma süresi ve friabilite değerleri de ADT formülasyonunun belirlenmesinde dikkate alınmıştır.

#### 4.8.4. Sadece etkin madde (ZHM) içeren ADT formülasyonlarında yapılan fizikofarmasötik kontrollerin sonuçları

Çizelge 4.91’de sadece ZHM içeren ADT’lerin sertlik, friabilite ve dağılma süresi sonuçları verilmektedir.

Çizelge 4.91. Sadece ZHM içeren ADT’lerin sertlik, friabilite ve dağılma süreleri sonuçları

|                 | Sertlik (N) | Dağılma süresi (sn) | Friabilite (%) |
|-----------------|-------------|---------------------|----------------|
| F1-ZHM (%5-%1)  | 41,21±3,25  | 15±1,56             | 1,9736         |
| F2-ZHM (%15-%1) | 44,58±1,05  | 22,5±2,43           | 0,9157         |

%5 dağıtıcı %1 kaydırıcı içeren formülasyonun dağılma süresi çok kısa olmasına rağmen dayanıklılığı oldukça düşük çıkmıştır. Dağıtıcı oranı %15 oranında kullanıldığında ise dağılma süresinin uzadığı fakat friabilite değerinin düştüğü görülmüştür. Friabilite değeri ADT’lerin stabilitesi için önemli bir parametre olduğundan ve dağılma süresinin nanokristal içeren ADT hazırlandığında düşeceği öngörüldüğünden friabilite değeri daha düşük çıkan formülasyon dikkate alınmış olup %15 dağıtıcı oranı ve %1 kaydırıcı oranı ile nanokristal içeren ADT’ler basılmıştır.

#### 4.8.5. Nanokristal içeren ADT formülasyonlarında yapılan fizikofarmasötik kontrollerin sonuçları

Bölüm 3.2.11’de anlatıldığı gibi %15 dağıtıcı ve %1 kaydırıcı içerecek şekilde liyofilize PVP K30 içeren ZHM nanokristalinden ADT’ler basılmıştır. Liyofilize toz ile miktar tayini yapılarak 20 mg ziprasidona eşdeğer olacak şekilde 22.63 mg ZHM içeren liyofilize nanokristal tozu (554.657 mg) kullanılmıştır. Basılan tabletlerin sertlik, friabilite, ağırlık, çap-kalınlık ve dağılma süresi sonuçları Çizelge 4.92’de verilmektedir. Resim 4.17’de ise ADT’lerin görünümü verilmektedir.

Çizelge 4.92. Nanokristal içeren ADT'lerin sertlik, friabilite, ağırlık, çap-kalınlık ve dağılma sürelerinin sonuçları

|                             | Sertlik (N) | Ağırlık (mg) | Çap (mm) | Kalınlık (mm) | Dağılma süresi (sn) |
|-----------------------------|-------------|--------------|----------|---------------|---------------------|
| 1                           | 26,1        | 750          | 15,11    | 5,01          | 5                   |
| 2                           | 25          | 751          | 15,12    | 5,02          | 5                   |
| 3                           | 24,3        | 750          | 14,99    | 5,06          | 6                   |
| 4                           | 25,6        | 752          | 15,03    | 5,01          | 6                   |
| 5                           | 32,2        | 748          | 15,11    | 5,01          | 7                   |
| 6                           | 30          | 744          | 15,12    | 4,99          | 8                   |
| 7                           | 28          | 749          | 15,13    | 5,04          | -                   |
| 8                           | 28,5        | 752          | 15,15    | 5,03          | -                   |
| 9                           | 24,1        | 751          | 15,14    | 5,02          | -                   |
| 10                          | 29,2        | 752          | 15,11    | 5,04          | -                   |
| <b>Ortalama</b>             | 31,2        | 749,9        | 15,101   | 5,023         | 6,166               |
| <b>SS</b>                   | 2,7         | 2,5          | 0,050    | 0,020         | 1,169               |
| <b>Friabilite (%): 1,05</b> |             |              |          |               |                     |

Çizelge 4.92'ye göre nanokristal ADT'lerin sertlik değerleri 31,2 N ve friabilite değerleri 1.05 değerinde olup tabletlerin kırılma ve aşınmaya karşı yeterli dayanıklılıkta olduğunu göstermekle birlikte liyofilize nanokristal içermesine bağlı olarak ise dağılma süresi <10 sn çıkmıştır. Fiziksel karışım ADT'lere kıyasla oldukça düşük dağılma süresi göstermişlerdir.



Resim 4.17. Nanokristal içeren ADT'lerin görünümü

#### Porozite tayini sonuçları

Bölüm 3.2.17'de açıklandığı gibi porozite çalışması ODTU merkez laboratuvarında yapılmıştır. 6 adet tabletin civalı porozimetre kullanarak düşük basınçta gözeneklilik analizi

yapılmıştır. Çizelge 4.93’de tabletlerin gözeneklilik yüzdesi ve hacmi verilmektedir. Buna göre tabletler oldukça poröz bir yapıya sahiptir.

Çizelge 4.93. Nanokristal ADT’lerin gözeneklilik sonuçları

| % Gözeneklilik | Gözeneklilik hacmi (cc) |
|----------------|-------------------------|
| 56,350±7,569   | 0,928 ± 0,325           |

#### Islanma süresi ve su absorpsiyon oranı sonuçları

Bölüm 3.2.17’de açıklandığı gibi Nanokristal içeren ADT’lerin ıslanma süresi ve su absorpsiyon oranı sonuçları Çizelge 4.94’de verilmekte ve tabletlerin distile su içerisinde ortalama 3.9 sn’de %63 oranında ıslandıkları görülmektedir. ADT’lerin kısa sürede ıslanma ve absorpsiyon oranı göstermeleri de poröz yapılarını destekleyici nitelikte olmuştur.

Çizelge 4.94. Nanokristal ADT’lerin ıslanma süresi ve su absorpsiyon oranı sonuçları

| n=6             | Islanma Süresi (sn) | Su Absorpsiyon Oranı (%) |
|-----------------|---------------------|--------------------------|
|                 | 4,1                 | 61,290                   |
|                 | 3,5                 | 59,973                   |
|                 | 4                   | 66,799                   |
|                 | 3,8                 | 56,224                   |
|                 | 4                   | 65,379                   |
|                 | 4                   | 73,450                   |
| <b>Ortalama</b> | 3,9                 | 63,852                   |
| <b>SS</b>       | 0,2                 | 5,521                    |

#### Etkin madde miktar tayini sonuçları

Çizelge 4.95’de 6 adet nanokristal ADT’lerin metanol ortamında miktar tayini sonuçları verilmektedir.

Çizelge 4.95. Nanokristal ADT'lerin miktar tayini sonuçları

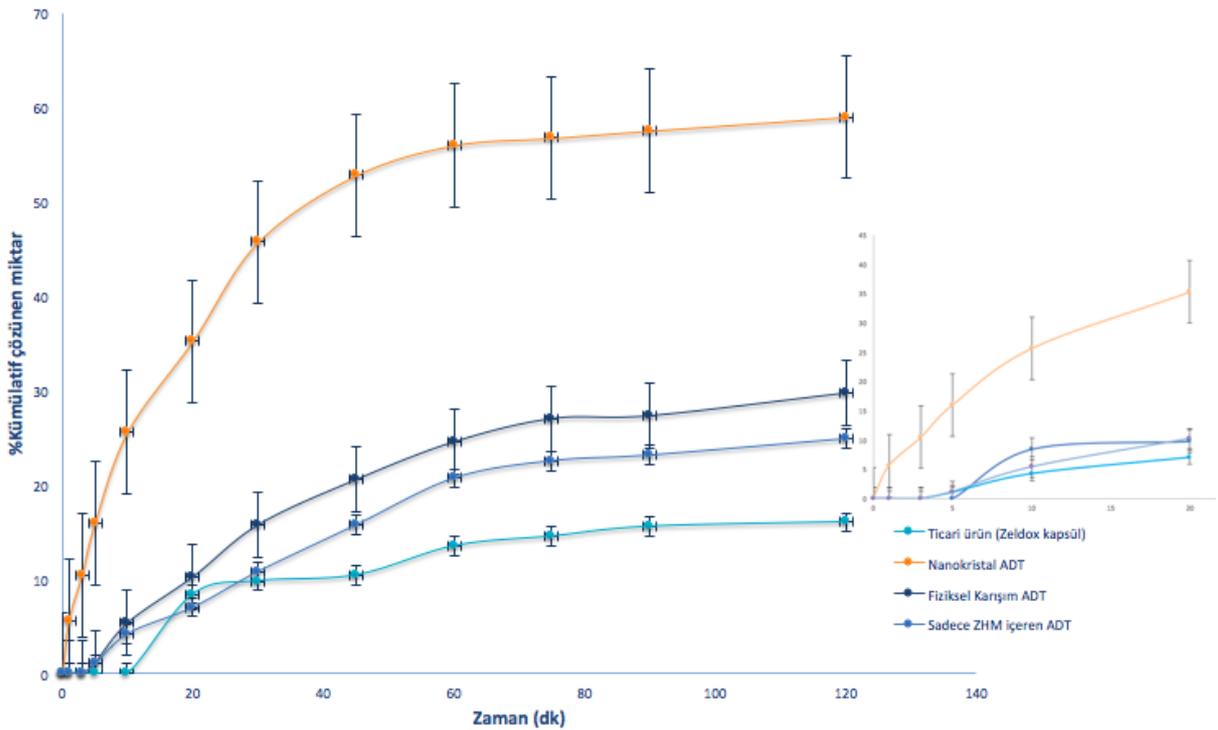
|                 | ZHM miktarı (mg/tb) | %      |
|-----------------|---------------------|--------|
|                 |                     | 22,1   |
|                 | 21,6                | 95,448 |
|                 | 22,3                | 98,541 |
|                 | 20,5                | 90,587 |
|                 | 21,7                | 95,890 |
|                 | 21,9                | 96,774 |
| <b>Ortalama</b> | 21,683              | 95,816 |
| <b>SS</b>       | 0,633               | 2,800  |

ZHM miktarı %95,8 değerinde bulunmuş olup farmakopede yer alan %5 serbest bırakma limitini karşılamaktadır.

#### 4.8.6. ADT'ler yapılan çözünme çalışmalarının sonuçları

Bölüm 3.2.18'de anlatıldığı gibi çözünme çalışmaları ADT'ler ile gerçekleştirilmiş ve ticari ürün ile f2 benzerik faktörü açısından karşılaştırılmıştır.

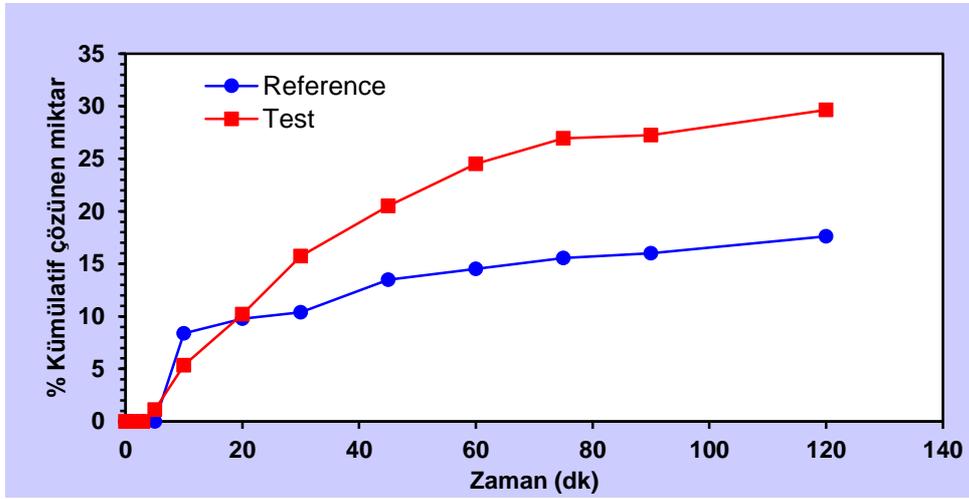
#### pH 7.4 fosfat tamponu ortamındaki ADT'lerin çözünme profilleri



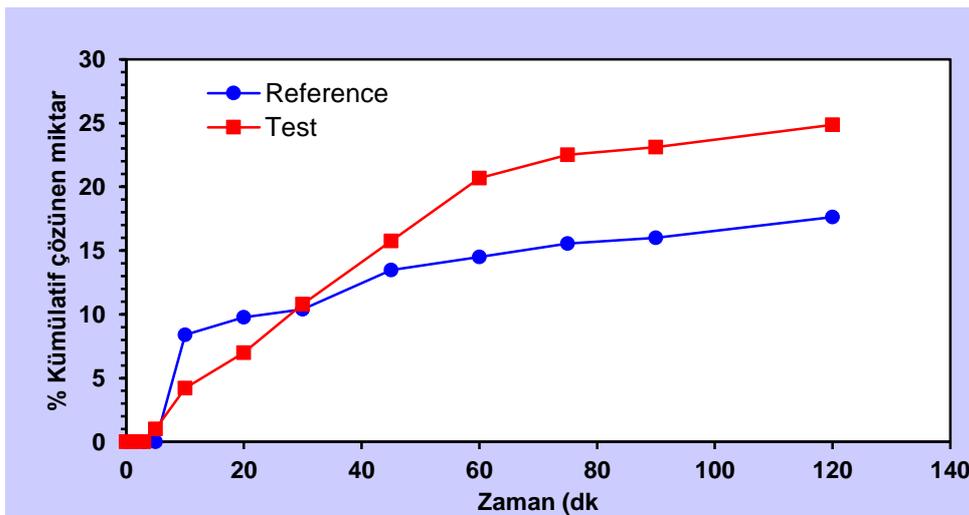
Şekil 4.72. ADT'ler ve ticari ürünün pH 7.4 fosfat ortamındaki çözünme profilleri

*pH 7.4 fosfat tamponunda ADT'lerin ve ticari ürünün çözünme profillerinin karşılaştırılması*

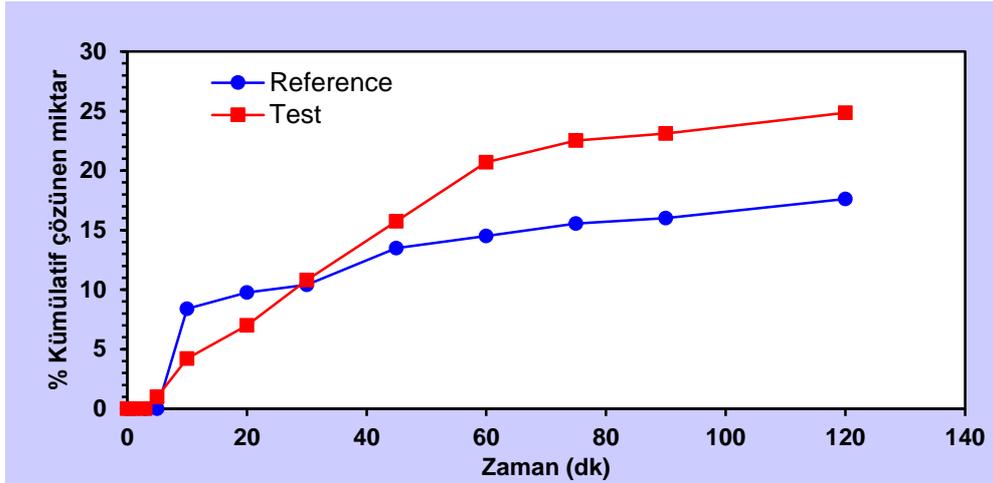
Şekil 4.72'de fiziksel karışım ADT ile ticari ürün profilleri verilmektedir. Bu formülasyonlar arasındaki f2 benzerlik faktörü 57 olarak bulunmuştur (Şekil 4.73). Şekil 4.74'de verilen sadece ZHM içeren yani konvansiyonel ADT'ler ile ticari ürünün çözümlerine göre f2 benzerlik faktörü 68 bulunmuştur. Nanokristal içeren ADT ile ticari ürün karşılaştırıldığında ise f2 benzerlik faktörü <50 (26) bulunduğundan söz konusu iki profil birbirleri ile benzer bulunmamıştır (Şekil 4.75). En yüksek çözünme profilini nanokristal içeren ADT göstermiş olmakla birlikte 15 dakika içerisinde %30 çözünme göstermiştir.



Şekil 4.73. Fiziksel karışım ADT (test) ile ticari ürün (referans) çözünme profilleri

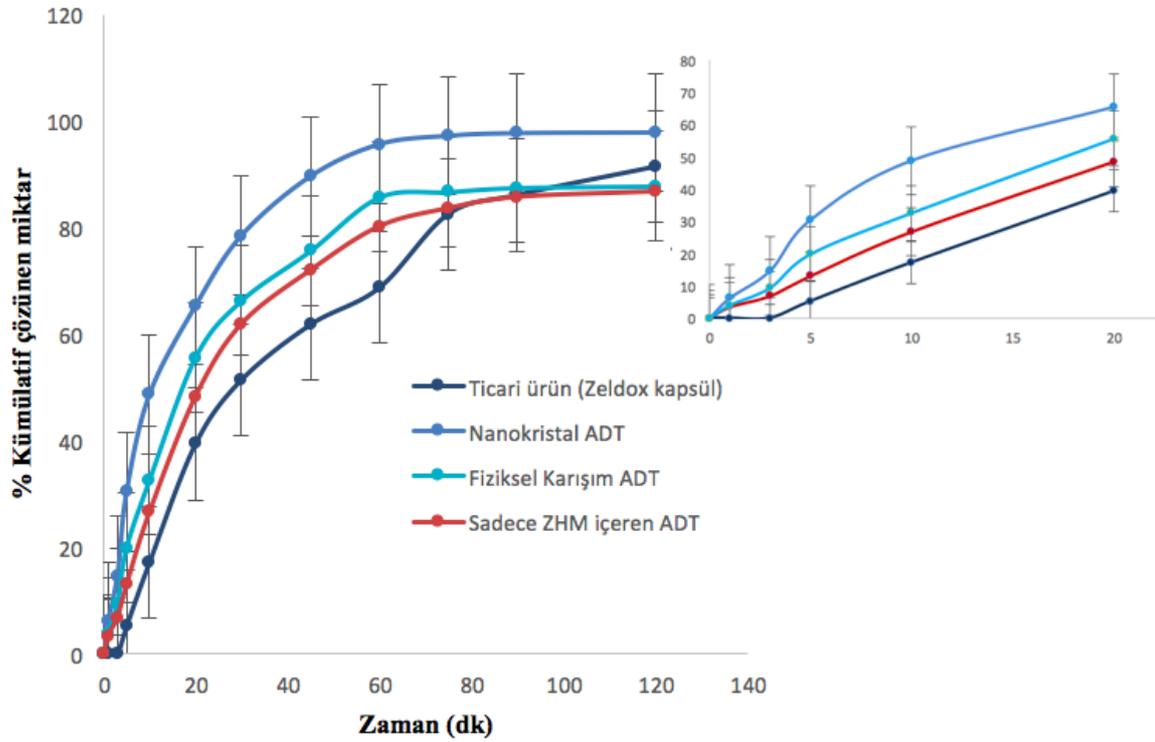


Şekil 4.74. Sadece ZHM içeren ADT (test) ile ticari ürün (referans) çözünme profilleri



Şekil 4.75. Nanokristal ZHM içeren ADT (test) ile ticari ürün (referans) çözünme profilleri

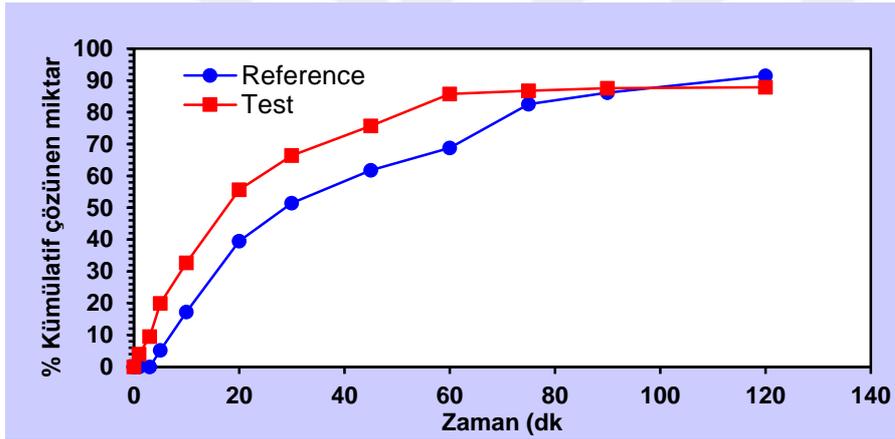
pH 7.4 fosfat tamponu +%1 SLS ortamındaki ADT'lerin çözünme profilleri



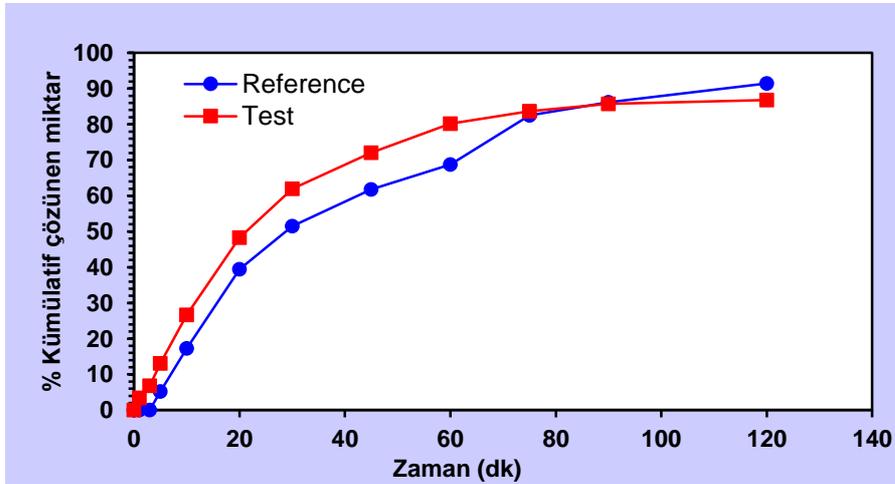
Şekil 4.76. ADT'ler ve ticari ürünü içeren pH 7.4 fosfat ortamı +%1 SLS ortamındaki çözünme profilleri

*pH 7.4 fosfat tamponu +%1 SLS ortamında ADT'lerin ve ticari ürünün çözünme profillerinin karşılaştırılması*

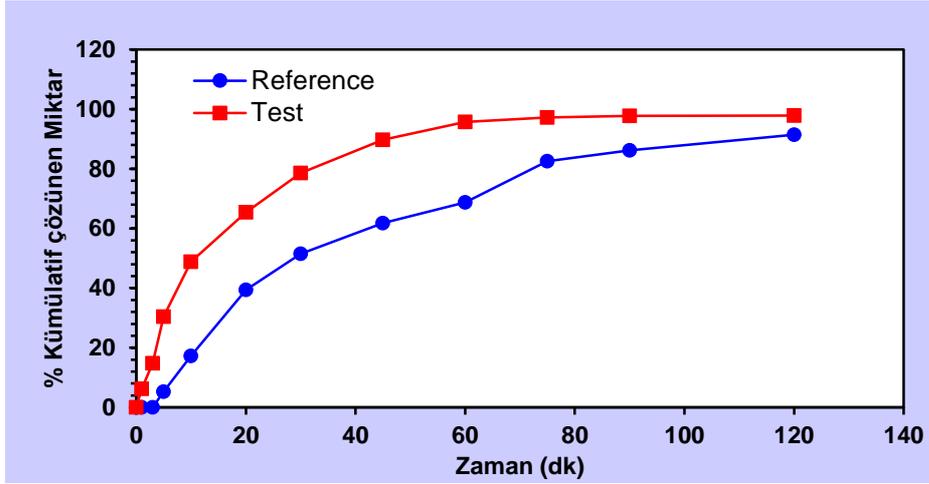
Şekil 4.76'da fiziksel karışım ADT ile ticari ürün profillerinin %1 SLS içeren pH 7.4 fosfat tamponu ortamındaki çözümleri verilmektedir. Bu formülasyonlar arasındaki f2 benzerlik faktörü 47 olarak bulunmuştur (Şekil 4.77). Şekil 4.78'de verilen sadece ZHM içeren yani konvansiyonel ADT'ler ile ticari ürünün çözümlerine göre f2 benzerlik faktörü 56 bulunmuştur. Nanokristal içeren ADT ile ticari ürün karşılaştırıldığında ise f2 benzerlik faktörü <50 (34) bulunduğundan söz konusu iki profil birbirleri ile benzer bulunmamıştır (Şekil 4.79). Hiçbir formülasyon 15 dakika içerisinde %85 oranında çözünme göstermemiş olup 2 saatin sonunda nanokristal içeren ADT %97 oranında, ticari ürün %91, fiziksel karışım ADT %87 ve kaba toz ZHM içeren ADT %86 oranında çözünme göstermiştir.



Şekil 4.77. Fiziksel karışım ZHM içeren ADT (test) ile ticari ürün (referans) çözünme profilleri



Şekil 4.78. Sadece ZHM içeren ADT (test) ile ticari ürün (referans) çözünme profilleri



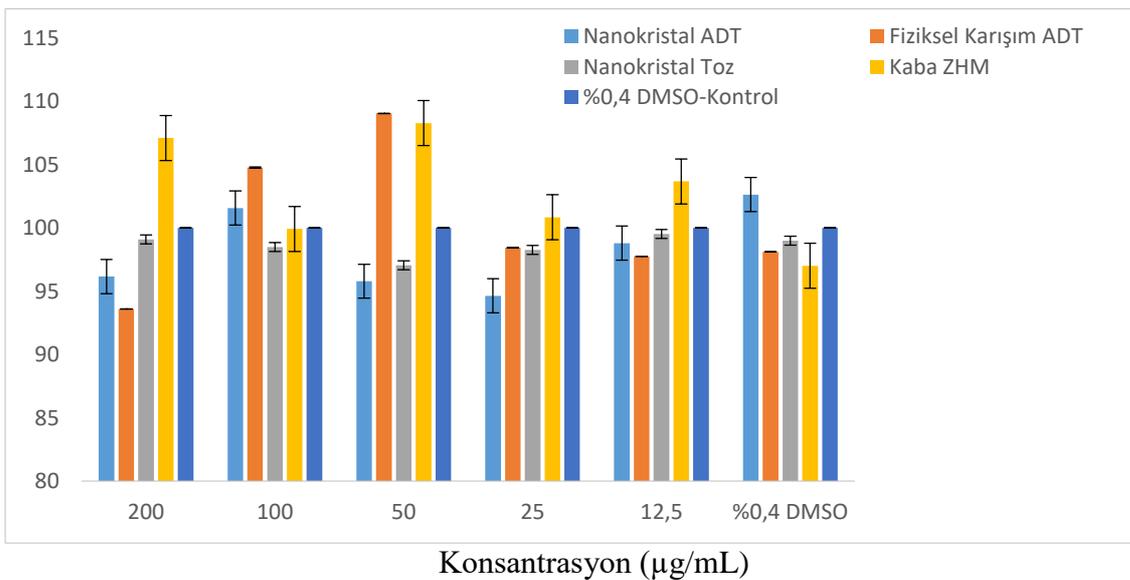
Şekil 4.79. Nanokristal ZHM içeren ADT (test) ile ticari ürün (referans) çözünme profilleri

#### 4.9. Hücre Kültürü Çalışmaları ile İlgili Bulgular

Caco-2 geçiş çalışmaları Bölüm 3.2.19.'da anlatıldığı gibi gerçekleştirilmiştir.

##### 4.9.1. Sitotoksosite sonuçları

ZHM kaba tozu, nanokristal toz, nanokristal içeren ADT ve fiziksel karışım içeren ADT formülasyonlarının Caco-2 hücreleri üzerine sitotoksosite yani hücre canlılığı değerlendirme bulguları Şekil 4.80'de görülmektedir.



Şekil 4.80. Sitotoksosite sonuçları

Hücre canlılığının değerlendirilmesi için MTT testi yapıldı. Formülasyonların ve kaba tozun farklı konsantrasyonlarının uygulanmasından sonra 4 saatlik inkübasyon süresi beklendi. Bu süre geçiş çalışmalarının yapılacağı süreye göre belirlendi.

ZHM kaba tozunun uygulanması her konsantrasyonda yüksek hücre canlılığı sağlandı. Nanokristal içeren ADT formülasyonu başta olmak üzere tüm formülasyonlar tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığını etkilememiştir. En düşük hücre canlılığı fiziksel karışım içeren ADT formülasyonunda 200 µg/mL konsantrasyonunda görülmüş olup %93 oranındadır. 100 µg/mL konsantrasyonu tüm formülasyonlarda %98 üzerinde hücre canlılığı gösterdiğinden ve 20 mg tedavi dozunda bir bardak su (200 mL) ile ilacın alınması sonrası yaklaşık 100 µg/mL konsantrasyona karşılık gelmesi nedeniyle hücre kültürü çalışmaları bu konsantrasyon ile yürütüldü.

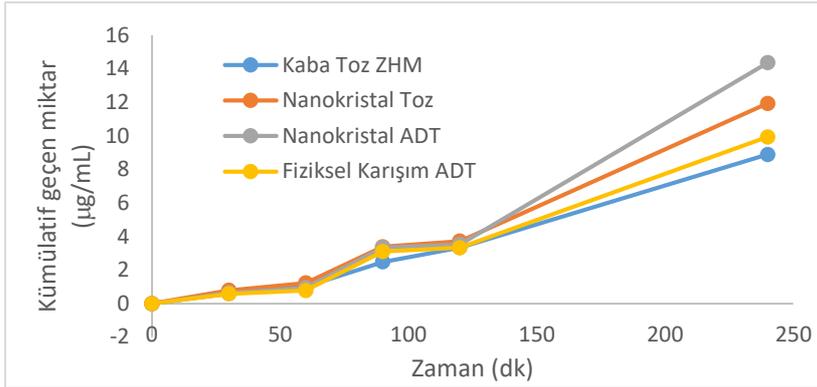
#### 4.9.2. Geçiş çalışmaları sonuçları

Caco-2 tek tabaka bütünlüğünü değerlendirmek üzere yapılan TEER testi sonuçlarında, hücrelerin TEER değerleri 500-1000 ohm/cm<sup>2</sup> olarak tespit edildi.

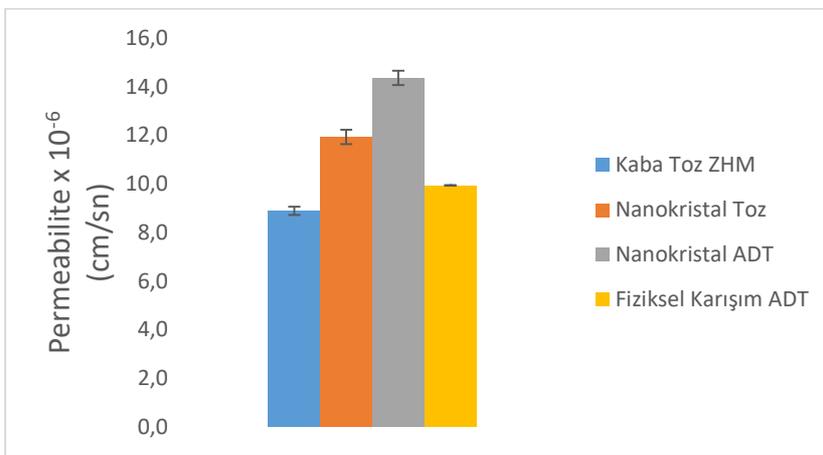
ZHM ve formülasyonların permeabilite değerleri ve kümülatif geçen miktarı sırasıyla Çizelge 4.96, Şekil 4.81 ve 4.82’de verilmektedir.

Çizelge 4.96. Caco-2 hücrelerinden geçiş çalışma sonuçları

| Zaman (dk) | Permeabilite Değerleri (x 10 <sup>-6</sup> cm/sn) |                 |                 |                      |
|------------|---|-----------------|-----------------|----------------------|
|            | Kaba ZHM Toz                                      | Nanokristal Toz | Nanokristal ADT | Fiziksel Karışım ADT |
| 30         | 0,6 ± 0,117                                       | 0,79 ± 0,044    | 0,64± 0,052     | 0,58 ± 0,018         |
| 60         | 1,003±0,175                                       | 1,23± 0,163     | 0,94± 0,065     | 0,78 ± 0,119         |
| 90         | 2,48± 0,081                                       | 3,39± 0,005     | 3,34± 0,074     | 3,098± 0,062         |
| 120        | 3,34± 0,090                                       | 3,72± 0,133     | 3,53± 0,065     | 3,33 ± 0,002         |
| 240        | 8,887± 0,173                                      | 11,93± 0,026    | 14,36±0,297     | 9,936± 0,004         |



Şekil 4.81. Caco-2 hücrelerinden ZHM miktarının kümülatif geçiş grafiği



Şekil 4.82. ZHM kaba toz, nanokristal toz, nanokristal ADT ve fiziksel karışım ADT formülasyonlarının permeabilite değerleri

#### 4.9.3. Caco-2 geçiş çalışmaları değerlendirilmesi

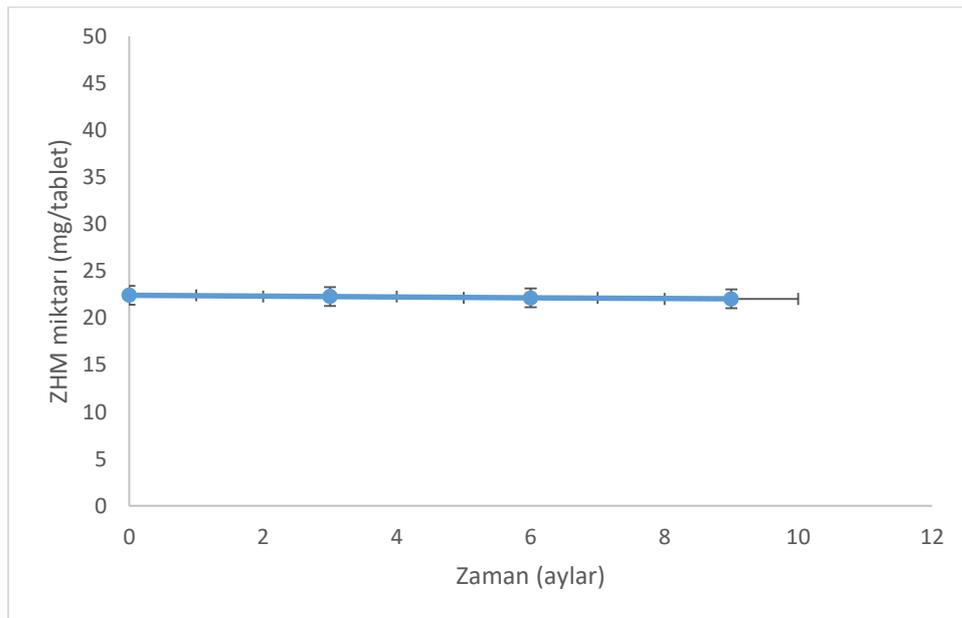
ZHM kaba tozunun Caco-2 hücrelerinden geçiş değeri 4. saatin sonunda  $8,887 \times 10^{-6}$  cm/sn olarak tespit edildi. Nanokristal içeren toz formülasyonu permeabiliteyi  $11,931 \times 10^{-6}$  cm/sn değerine kadar yükseltti. Nanokristal içeren ADT formülasyonunda da permeabilite değeri ZHM'nin HPMC ve SDS ile fiziksel karışımı permeabilite değeri daha yüksek çıkmış olup  $14,366 \times 10^{-6}$  cm/sn değerindedir. Kaba tozun permeabilite değerinin nanokristal toz haline getirilmesi ile yaklaşık 1,34 kat arttığı, nanokristal ADT formülasyonu ile de yaklaşık 1.62 kat arttığı görülmektedir. Bu artışın ZHM'nin nanokristal formülasyonu ile mikron altı boyutuna ulaşmasıyla çözünürlük artışına bağlı olarak intestinal permeabiliteyi arttırdığı da görülmektedir. Caco-2 tek tabakalarından tamamen emilen ilaçlar yüksek permeabilite katsayısına sahip olup  $P_{app} > 1 \times 10^{-6}$  olarak değerlendirilmektedir. Yapılan çalışmalarda da nanokristal formülasyonu ile ZHM permeabilite değerlendirmelerine göre yüksek permeabilite katsayısına sahip olduğu bulunmuştur.

#### 4.10. Nanokristal içeren ADT'lerin Stabilite Çalışmaları ile ilgili Bulgular

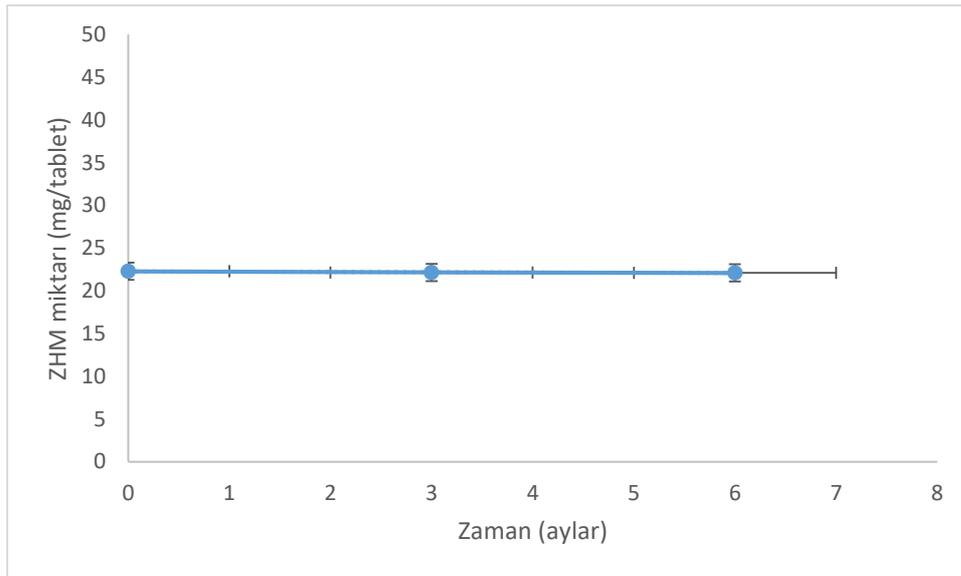
Bölüm 3.2.23'de bahsedildiği gibi ZHM nanokristalleri içeren ADT'ler etkin madde miktarının tayini ve tabletlerin görünümü açısından hızlandırılmış ( $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\%75\text{ RN} \pm \%5$ ) ve uzun süreli saklama ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\%60\text{ RN} \pm \%5$ ) koşulunda değerlendirilmiştir. Çizelge 4.97'de aylara göre stabilite sonuçları verilirken Şekil 4.83-4.84'de uzun süreli ve hızlandırılmış stabilite çalışma koşullarında ZHM miktarının değişimi gösterilmektedir.

Çizelge 4.97. Stabilite sonuçları

| Parametre                        | $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\%60\text{ RN} \pm \%5$ |  |  |  | $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\%75\text{ RN} \pm \%5$ |  |  |
|----------------------------------|---|--|--|--|---|--|--|
|                                  | 0.ay  | 3.ay                                     | 6. ay                                    | 9. ay                                    | 0.ay  | 3.ay                                     | 6. ay                                    |
| <b>Görünüm</b>                   | Açık pembe-beyaz görümlü yuvarlak tablet  | Açık pembe-beyaz görümlü yuvarlak tablet | Açık pembe-beyaz görümlü yuvarlak tablet | Açık pembe-beyaz görümlü yuvarlak tablet | Açık pembe-beyaz görümlü yuvarlak tablet  | Açık pembe-beyaz görümlü yuvarlak tablet | Açık pembe-beyaz görümlü yuvarlak tablet |
| <b>Miktar tayini (mg/tb ZHM)</b> | 22,42 $\pm$ 0,41  | 22,28 $\pm$ 0,70                         | 22,14 $\pm$ 0,45                         | 22,03 $\pm$ 0,34                         | 22,29 $\pm$ 0,32  | 22,15 $\pm$ 0,71                         | 22,10 $\pm$ 0,86                         |



Şekil 4.83. Nanokristal ADT'nin kimyasal stabilite çalışmaları ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\%60\text{ RN} \pm \%5$ )



Şekil 4.84. Nanokristal ADT'nin kimyasal stabilite çalışmaları (40 °C ± 2 °C, %75 RN ± %5)

Uzun süreli stabilite çalışma koşullarında (25 °C ± 2 °C, %60 RN ± %5), nanokristal içeren ADT'lerdeki ZHM miktarı 9. ay sonunda %97,34 oranında ZHM içerdiği bulunmuştur. Bozunma kinetiği ile ilgili hesaplamalar Çizelge 4.98'de verilmektedir. Regresyon hesabı yapılarak sıfırıncı derece ve birinci derece kinetiklerine göre bozunma denklemi elde edilmiştir.  $R^2$  değeri en yüksek olan kinetiğe göre bozunması ve raf ömrü hesaplanmıştır. ZHM'nin  $R^2$  değerlendirmesine 1. derece kinetiğe göre bozunduğu saptandı ve hesaplamalar oda sıcaklığında 4,6 yıl raf ömrü olabileceği tespit edildi.

Çizelge 4.98. ADT'lerin bozunma kinetiği ve raf ömrü hesaplamaları

| Zaman (ay)                              | 0   | 3               | 6               | 9               |
|---|---|-----------------|-----------------|-----------------|
| Miktar tayini (mg/tb ZHM)               | 22,42<br>± 0,41                                 | 22,28<br>± 0,70 | 22,14<br>± 0,45 | 22,03<br>± 0,34 |
| Sıfırıncı bozunma kinetik denklemi      | $R^2 = 0,9968$ $y=22,414-0,0437x$               |                 |                 |                 |
| Birinci derece bozunma kinetik denklemi | $R^2=0,9981$ $y=3,108-0,0019x$                  |                 |                 |                 |
| Raf ömrü hesaplanması                   | $t_{90} = (0,105/k) = (0,105/0,0019) = 4,6$ yıl |                 |                 |                 |



## 5. TARTIŞMA

Bu tez kapsamında şizofreni tedavisinde kullanılan antipsikotik etkin madde olan ZHM'nin piyasadaki konvansiyonel sert jelatin kapsül formuna alternatif kullanım kolaylığı üstünlüğüne sahip ADT formülasyonu nanoteknolojiye dayalı olarak geliştirilmiştir. ADT'lerin yutma kolaylığı sağlaması, suya veya çiğnemeye ihtiyaç duyulmaması, tabletlerin ağızda hızla dağılarak daha çabuk etki göstermeye başlaması, şizofreni tedavisinde kullanımının hasta uyuncunu arttırmasının oldukça yararlı olacağı düşünülmektedir. Yapılan deneysel çalışmaların sonuçları değerlendirilmiş ve tartışılmıştır. Öncelikle, BCS Sınıf II etkin madde olan ZHM'nin çeşitli stabilizan maddeler ile nanokristal formülasyonları yüksek basınçlı homojenizasyon tekniğine göre deney tasarımı (DoE) yaklaşımı ile geliştirilmiş ve istatistiksel analizler ile optimum nanokristal formülasyonları belirlenmiştir. Optimum nanokristal formülasyonlar daha sonra liyofilize edilerek ADT geliştirilmesi için toz haline getirilmiş olup, çözünme, suda çözünürlük ve karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. ADT'lerin geliştirilmesinde ise formülasyonda kullanılan dağıtıcı ve kaydırıcı oranının optimizasyonunu sağlamak için ZHM'nin optimum nanokristal formülasyonunun bileşenlerini içeren fiziksel karışım halinde ADT'ler tasarımı kalite (QbD) yaklaşımı uygulanarak geliştirilmiş ve ADT'lerin QTPP açısından tasarım alanı belirlenmiştir. Tasarım alanı içerisinde %15 dağıtıcı (Ac-Di-Sol) ve %1 kaydırıcı (Mg-stearat) oranı kullanılarak nanokristal içeren ADT'ler direkt basım metodu ile basılarak çözünme çalışmaları yapılmış ve karakterize edilerek ZHM içeriği açısından 9 aylık stabilitesine bakılmıştır. Bu tezi kapsamında ilk defa yüksek basınçlı homojenizasyon tekniği ile ZHM nanokristalleri elde edilerek açlık ve tokluk ortamlarında çözünmesi değerlendirilmiş ve ADT formunda dozaj şekilleri elde edilmiştir. Tasarımla kalite yaklaşımı ile ZHM nanokristalini içeren ADT'lerin geliştirilmesi, ZHM nanokristallerinin ticari ürün ve fiziksel karışım formülasyonlarından farklı olarak açlık ve tokluk çözünme ortamlarında çözünmelerinin %80 üzerinde bulunması ile tez çalışmasının literatüre katkı sağlayacağı beklenmektedir.

Aşağıdaki bölümlerde, yapılan deneysel çalışmalar ile elde edilen sonuçların tartışmalarına yer verilmektedir.

## 5.1. ZHM'nin Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

ZHM'nin fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla partikül büyüklüğü ölçümü ölçülmüş, DSC, FTIR termogramları elde edilmiş ve stabilizanlar ile geçimlilik çalışmaları yapılmıştır.

### 5.1.1. Partikül büyüklüğü ölçümü

Şizofreni tedavisinde ikinci jenerasyon antipsikotik ilaç olarak kullanılan ziprasidon etkin maddesi Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi'ne (BCS) göre BCS Sınıf II'de yer almaktadır (Poluri ve diğerleri, 2013; Thombre ve diğerleri, 2012). Bu açıdan oldukça hidrofobik ve suda düşük çözünürlüğe sahiptir. Suda çözünürlüğünü arttırmaya yönelik nanokristallerinin hazırlanma işleminde ZHM kaba tozunun başlangıç partikül büyüklüğü değerleri formülasyon geliştirme ve mikrofluidizasyon işlemi öncesi partikül büyüklüğünü küçültmek için oldukça önemlidir. ZHM'nin lazer difraksiyon metodu ile ölçülen başlangıç partikül büyüklüğü yaklaşık 27 µm ve ultratüraks ile muamale sonrasında ise 13 µm bulunmuştur (Çizelge 4.21). BCS Sınıf II ilaçları suda düşük çözünürlük özelliklerine sahiptir. ZHM hidrofobik özelliğinden dolayı distile su içerisinde topaklar halinde bulunmakta ve tam olarak ıslanma sağlayamamaktadır. ZHM'nin yüzey etkin madde veya polimer çözeltisi içerisinde dağıtılması bu topakların dağılmasını ve ZHM partiküllerinin tamamının ıslanmasını sağlamıştır. Ayrıca mikrofluidizer aletinde küçük porları tıkamamak için  $d_{90}$  partikül büyüklüğü değeri de önemlidir ve bu değer de ultratüraks ile muameleden sonra yaklaşık 54 µm bulunmuştur (Şekil 4.26). Bu değer Microfluidics LV1'de kullanılan 84 µm Z-tipi kazan için uygun olarak değerlendirilmiştir.

### 5.1.2. ZHM'nin Stabilizan Maddeler ile Geçimlilik Çalışmaları

ZHM'nin DSC termogramına göre  $>276$  °C'de erime göstermiştir. Nanokristallerde kullanılan stabilizanlarla geçimliliği göstermek amacıyla DSC termogramları elde edilmiştir. Vit E TPGS yaklaşık 160-180°C'de, Poloksamer 188 35-40 °C, PVP K30 13-15°C, HPMC 20-30 °C'de erime göstermiş olup endotermik piklerde herhangi bir kayma olmadığından geçimsizlik gözlenmemiştir (Şekil 4.1-4.5). Çalışmamızda elde edilen ZHM'nin DSC termogramı literatür ile uyumlu görülmüştür (Jadhav ve Erande, 2016).

## 5.2. ZHM Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyonu

ZHM etkin maddesinin distile su, metanol, pH 7.4 fosfat tampon, FaSSIF, FeSSIF ve HBSS ortamlarında miktar tayin yöntem geliştirilmiş ve valide edilmiştir. ZHM'nin HBSS haricindeki tüm ortamlardaki miktar tayinleri UV spektrofotometri yöntemi ile geliştirilmiş olup  $\lambda_{maks}$  değeri 314-318 nm aralığında bulunmuştur (Şekil 4.6-4.7). ZHM'nin UV spektrofotometri yöntemi ile tayini ve maksimum dalga boyu çeşitli çalışmalar ile de doğrulanmıştır (Chauhan ve diğerleri, 2011; Walash, Belal, El-Enany, Eid ve El-Shaheny, 2011; Kumar, Anitha, Hemanth ve Srinivas, 2010; Vijayalakshmi, Chandra, Sravya, Jahnvi ve Dhanaraju, 2009; Chudasama, Channabasavaraj, Modiya ve Mani, 2011). İn vitro çözünme çalışmalarında çözünme ortamı olarak kullanılan FaSSIF ve FeSSIF ortamlar literatürde belirtildiği şekilde SIF liyofilize toz kullanılarak hazırlanmıştır (Fatima, Gauhar, Yusuf ve Muhammad, 2013). FaSSIF ve FeSSIF ortamların özellikle BCS Sınıf II etkin maddeler için in vivo çözünme ortamını taklit edebilecek çözünme ortamı olarak kullanılabilmesi gösterilmiştir. Bunun yanı sıra biyoyumlu ortamların kullanılması BCS Sınıf II ilaçların formülasyon ve doz koşullarından oluşan farklılıklar için biyoyararlanım farklılıklarının tahmin edilmesini sağlar (Galia ve diğerleri, 1998; Dressman ve Reppas, 2000). HBSS ortamında ise miktar tayini yöntemi ve validasyonu HPLC yöntemi ile yapılmıştır. Caco-2 çalışmalarında kullanılan HBSS'de ZHM'nin yapılmış olduğu HPLC miktar tayini yönteminde çalışma koşulları ise literatürle ve Avrupa Farmakopesi ile uyumlu olarak gerçekleştirilmiştir (Priya ve diğerleri, 2011; Bansal ve diğerleri, 2012; Avr. Farm. 8.0). Yöntemler, doğruluk ve geri elde etme, kesinlik, özgünlük ve seçicilik, duyarlılık ve saptama sınırı parametreleri ile valide edilmiştir.

## 5.3. ZHM Nanokristal Formülasyonlarının Hazırlanması

### 5.3.1. ZHM partikül büyüklüğünün ultraturaks ile küçültülmesi

Nanokristallerin Microfluidics homojenizatör cihazı ile elde edilmesi amacıyla ultraturaks ile ön karıştırma işlemi ve ön partikül büyüklüğü küçültme işlemi gerçekleştirilmiştir. En uygun ultraturaks parametreleri 15.000 rpm'de 10 dakika bulunduğundan formülasyonlar bu süreye göre ön karıştırma işleminden geçirilmiştir (Çizelge 4.20). Ultraturaksın homojenizasyondan önce kullanıldığına ilişkin çalışmalar literatürde mevcuttur (Karakucuk

ve diğeri, 2016; Chaubal ve Popescu, 2008; Guo ve diğeri., 2013; Teeranachaideekul ve diğeri., 2008).

### **5.3.2. Nanokristallerin hazırlanmasında stabilizanların önemi**

Nanosüspansiyonların hazırlanmasında fiziksel stabilitelerini sağlamak için stabilizanlar oldukça önemlidir. Fiziksel stabilite, nanokristal sisteminin serbest yüzey enerjisini azaltmak ve elektrostatik veya sterik stabilizasyon ile partiküllerin agregasyonunu önleyerek sağlanır (Wang, Zheng, Zhang, Wang ve Zhang, 2013). Stabilizanlar nanosüspansiyon sisteminde etkin maddelerin yüzeyine adsorbe olarak nanosüspansiyonun sterik/elektrostatik engelleme ile sistemin kararlılığını artırır bu durum da partiküllerin agregasyonu önlemektedir. Nanosüspansiyon sistemine uygun olan stabilizan maddeler kullanılmadığında yüksek serbest enerjiden dolayı partiküllerin büyüklüğü artmaktadır (Verma, S., Kumar, S., Gokhale, R. ve Burgess, 2011). Nanosüspansiyon sistemine veya etkin maddeye uygun stabilizanın seçimi etkin maddenin yüzey alanına bağlı çözünürlüğünü ve in vivo performansını doğrudan etkilediğinden teorik olarak karar vermek mümkün değildir. Bu nedenle çeşitli stabilizanlar ile çalışmaların yapılmasında yarar vardır (George ve Gosh, 2013; Verma ve diğeri, 2013).

Tez çalışması kapsamında stabilizan olarak elektrostatik engel sağlama amacıyla iyonik olmayan yüzey etkin madde niteliğinde Tween 80, Poloksamer 188 ve Vitamin E TPGS kullanılırken sterik engel oluşturan polimer stabilizanlarda da hidroksipropilselüloz (HPC) ve polivinilpirolidon (PVP K30) kullanılmıştır. Bu maddelerin nanosüspansiyonlarda stabilizan olarak kullanımı literatür ile desteklenmektedir (Quan ve diğeri; Verma ve diğeri, 2011; Verma, Huey ve Burgess, 2009).

### **5.3.3. Nanosüspansiyonların hazırlanmasında deney tasarımı, formülasyon optimizasyonu ve nanosüspansiyonların kurutulması**

Nanokristal içeren ADT'lerin hazırlanması için öncelikle ZHM nanokristalleri tasarımıyla kalite yaklaşımı ele alınarak deney tasarımı uygulanmıştır. ZHM nanokristalleri mikrofluidizasyon teknolojisi ile elde edilmiştir. İşlem parametreleri mikrofluidizasyon aletinin basıncı ve homojenizasyon döngüsü (geçiş sayısı) olarak seçilmiştir. Bu yöntemde partiküller iki sıvı akış yatağının birbirine çarpıtılması ile indüklenen yüksek basınçlı hava

jetleri içerisinde parçalanarak küçülmektedir (Krause ve Müller, 2000). Homojenizasyon işleminde yüzey etkin madde veya polimer kullanılarak hazırlanan nanokristaller için yapılan ön çalışmalarla 30.000 psi basınç altında çalışılması uygun bulunmuştur.

Tween 80, Poloksamer 188 Vit E TPGS, HPMC ve PVP K30 stabilizanlarının kullanımında 100-1000 nanometre aralığına 5 geçiş sonrası ulaşılabilmektedir (Çizelge 4.22-4.46). Nanokristalleri agregasyon ve Ostwald olgunlaşmasından korumak ve stabilitelerini sağlamak amacıyla ZHM partikülleri, yüzey etkin madde veya polimer içeren çözelti içerisinde dağıtılmıştır. Yüzey etkin madde olarak Tween 80, Poloksamer 188 ve Vitamin E TPGS; polimer olarak HPMC ve PVP K30 seçilmiştir.

ZHM miktarı formülasyonlarda %0,5 a/a ve kullanılan stabilizanların oranları etkin madde stabilizan oranı sırasıyla 2:1, 1:1, 1:2, 4:1 ve 8:1 olacak şekilde kullanılmıştır. ZHM kullanılarak yüksek basınç homojenizasyon tekniği ile hazırlanan herhangi bir çalışma mevcut olmadığı ve microfluidics cihazını yüksek verimle, kazan kapillerlerinde tıkanma riskini minimize etmek ve ayrıca ZHM kullanıldığında nano öğütme ile hazırlanan bir çalışmaya dayanarak ZHM oranı %0,5 olarak belirlenmiştir (Thombre ve diğerleri, 2012). Stabilizan maddeler nanokristal çalışmalarında en çok tercih edilen yüzey etkin madde ve polimerlerden seçilmiştir (Ahuja, Jena, Paidi, Bagri ve sureh, 2015).

Uygun nanokristal seçilmesi için öncelikli olarak partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı, zeta potansiyeli ve kısa süreli stabilite testleri değerlendirilmiştir. Nanokristallerin 100-1000 nm arasında partikül büyüklüğü, 0,1-0,4 aralığında partikül büyüklüğü dağılımı ve 20 mV'dan yüksek zeta potansiyel değerine sahip olması istenmektedir. Buna rağmen sadece poloksamer 188'in 1:1 oranında kullanıldığı formülasyonda hiç bir geçişte partikül büyüklüğü 1000 nm'nin altına düşmemiştir (Çizelge 4.28). Bu durum poloksamerin ZHM partiküllerine iyi adsorbe olmayıp küçük parçacıklara ayrılmasını engellemesi ile yorumlanabilir. 1000-2000 nm arasında küçülen partiküllerin 1 hafta sonrasında topaklanmalarının artmasından dolayı zeta potansiyel ve partikül büyüklüğü dağılımı açısından ölçülememiştir.

Sonuç nanokristaller yüzey etkin madde veya polimer ile hazırlanan formülasyonlar olarak iki farklı şekilde seçilmiştir. Her iki grup nanokristallerin seçilmesinde de deney tasarımı ve istatistiksel analizler kullanılmıştır. İstatistiksel analizde bağımlı değişkenler; partikül

büyükülüğü, partikül büyükülüğü dağılımı ve zeta potansiyel olarak seçilmiştir. Bağımsız değişkenler ise stabilizan tipi ve oranı olmaktadır. Bağımsız değişkenler sonuç ürün kalitesine doğrudan etki eden değişkenlerdir. Bağımlı parametrelerde istenilen karakterizasyona göre en uygun formülasyonlar seçilebilir. Bunun yanı sıra bağımsız değişkenlerin aralarındaki etkileşimler incelenmiş ve bağımlı değişkenler üzerinde etkilerine göre nihai formülasyonlara karar verilmiştir.

Yüzey etkin madde ve polimer içeren nanokristaller ile sonuç nanokristal belirlenmesinde geçiş sayıları (5,10,20 ve 30) arasında fark olup olmadığı Tek Yönlü ANOVA ile analiz edilmiş en uygun geçiş sayısı tespit edildikten sonra bağımsız değişkenler olarak stabilizan tipi ve oranı olarak seçilmiştir. Bağımsız değişkenlerden yüzey etkin madde tipi, üç seviyeden (Tween 80, Poloksamer 188, Vitamin E TPGS) ve polimer tipi (HPMC, PVP K30) iki seviyeden oluşmakta olup yüzey etkin madde ve polimer madde kullanım oranı (2:1, 1:2, 1:1, 4:1 ve 8:1) beş seviyeden oluşmaktadır. Bu nedenle 3x5 ve 2x5 deney düzeneğinde çalışmalar yapılmıştır.

Tüm deneyler rastgele düzende yapılmış ve deneyler üç kere tekrar edilmiştir.

Yüzey etkin madde ve polimer içeren nanokristal formülasyonlarının ZP, PB ve PDI değerleri ile yapılan istatistiksel analizlerde sonuç formülasyon seçimi için tek yönlü ANOVA testi yapılarak gruplar arasında geçiş sayısı açısından farkın olup olmadığı tespit edilmiştir. Gruplar arasında yani partikül büyükülüğü, zeta potansiyel ve polidispersite indeksinin geçiş sayıları açısından anlamlı farkın olması nedeniyle gruplar arasındaki varyansın normal dağılım dağılmadığına ilişkin Levene testi yapılmıştır.

Yüzey etkin madde içeren nanokristal formülasyonlarının Levene testine göre PB ve ZP varyanslarının homojen, PDI değerlerinin ise heterojen dağıldığı görülmüştür (Çizelge 4.50). PB ve ZP değerlerinin geçiş sayılarından hangi gruplar arasında farklılığın olduğunu tespit etmek için Post-hoc Tukey testi PDI açısından ise Tamhane testi yapılmıştır (Çizelge 4.51 ve 4.52). Partikül büyükülüğü açısından 20 ve 30 geçiş arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmaması ve 10 ve 20 geçiş arasında anlamlı fark olması, 5 ile 10 geçiş arasında anlamlı farkın olması nedeniyle geçiş sayısı olarak en küçük partikül büyükülüğünün elde edildiği 30 geçiş seçilmiştir ( $p < 0,05$ ). Geçiş sayısı belirlenirken PDI değeri dikkate alındığında ise 5 ve 30 geçiş arasında anlamlı fark tespit edilmiş olup diğer geçişler arasında

anamlı bir fark bulunamaması nedeniyle PDI açısından da 30 geçiş uygun görülmüştür. ZP değeri ise tüm geçişlerde anlamlı bir fark göstermemiştir ( $p>0,05$ ). 30 geçiş sayısı üzerinden PB, ZP ve PDI değerleri üzerine stabilizan tip ve oranının etkileşimlerine bakılmıştır. (Şekil 4.20-22).

Polimer içeren nanokristal formülasyonlarında geçiş sayısını tespit etmek için öncelikle tek yönlü ANOVA testi yapılmıştır. Tesk yönlü ANOVA sonuçlarına göre PB açısından gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir (Çizelge 4.65). Hangi gruplar arasında farklılık olduğunu tespit etmek için ise Levene testi yapılmıştır. Levene testine göre PDI ve ZP varyanslarının homojen, PB varyanslarının ise heterojen dağıldığı görülmüştür (Çizelge 4.66). Bu nedenle pos hoc test olarak tamhane testi yapılarak PB değerlerinin hangi gruplar arasında fark olup olmadığına bakılmıştır. (Çizelge 4.67). ANOVA testine göre PDI ve ZP değerleri bağımsız değişkenlerden (geçiş sayısı ve stabilizan tipi ve oranı) etkilenmezken PB etkilenmiştir. Bu durumda formülasyon seçiminde PB değerleri etkili olmuştur. Partikül büyüklükleri bakımından farklı geçiş sayılarının karşılaştırılmasında 20 ile 30 geçiş sayısı arasında ve 5 ile 10 geçiş sayısı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir ( $p>0,05$ ). 5 ile 20 geçiş, 10 ile 20 ve 10 ile 30 geçiş arasında anlamlı farklılık olduğu görüldüğünden 20 geçiş sayısı polimer içeren nanokristallerde en uygun geçiş sayısı olarak bulunmuştur. 20 geçiş sayısı üzerinden PB, ZP ve PDI değerleri üzerine stabilizan tip ve oranının etkileşimlerine bakılmıştır. (Şekil 4.23-25).

Nanokristallerin istatistiksel analizine tüm formülasyonlar dahil edilmiştir. İstatistiksel analiz sonucunda yüzey etkin madde içerenlerden Tween 80 ve Vit E TPGS'yi 2:1 oranında ve polimer içerenlerden PVP K30 1:1 oranındaki formülasyonlar çeşitli mannitol oranı kullanılarak liyofilize edilmesi sonrası Tween 80 içeren formülasyonda lyofilizasyon sonrası partikül büyüklüğü, zeta potansiyel ve polidispersite indeksi değerlerinin oldukça değişmesi nedeniyle çalışmalara Vit E TPGS ve PVP K30 formülasyonu ile devam edilmiştir.

#### **5.3.4. Nanokristallerin karakterizasyon çalışmaları**

##### Partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel

Tween 80 'in farklı oranlarında (1:2, 1:1, 2:1, 4:1,8:1) hazırlanan tüm formülasyonlarında (5, 10, 20 ve 30 geçiş sayılarında) zeta potansiyelleri başlangıçta 20 mV'un üzerinde bulunmasına rağmen nanokristalleri elektriksel olarak stabilize edememiştir. Tween 80

içeren formülasyonlarda istenilen partikül büyüklüğü dağılımı (0,1-0,7) genellikle formülasyonlarda 30 geçişte tespit edildi. Formülasyonlarda, 20 ile 30 geçiş arasında anlamlı küçülme olduğu görüldü ( $p>0,05$ ). Başlangıç partikül büyüklüklerinin 20-25  $\mu\text{m}$  civarında çıkması ZHM'nin stabilizan kullanılmadan tespit edilen başlangıç partikül büyüklüğüne benzer çıktığını göstermektedir. Ultraturaks'ın 15.000 rpm'de 10 dakika kullanılması partikül boyutunda anlamlı bir küçültme sağladı. Bu sayede Microfluidics LV1'in tıkanmasının da önüne geçilebildi. Microfluidics LV1 kullanılarak 100-1000 nm aralığında partikül büyüklüğüne sahip nanosüspansiyon elde edebilmek için en az 5 geçiş işlem uygulanması gerektiği anlaşılmaktadır. Tek bir geçiş sonrasında partiküller 3  $\mu\text{m}$ 'ye kadar düşürülebildi (Çizelge 4.22-26). Tüm Tween 80 kullanılan nanokristallerde başlangıç zeta potansiyel değeri 20 mV'un üzerinde elde edildi ve partikül büyüklüğü değerleri 5 geçiş sonrasında 2:1 ve 1:1 oranları haricinde 1000 nm'nin altına düştü. Partikül büyüklüğü dağılımları ise 0,1-0,5 arasında bulundu. Tween 80'nin 8:1 ve 1:1 oranlarının 20 ve 30 geçiş sonuçları haricinde tüm formülasyonları bir ay sonrasında partikül büyüklüğü ve partikül büyüklüğü dağılımı açısından stabil kalmadığı tespit edilmiş olup partiküller 1000 nm'nin üzerine çıkmıştır. Diğer tüm oranlarda ise zeta potansiyel değerleri korunmamış olup düşüş görülmüştür.

Poloksamer 188 içeren formülasyonlarda, başlangıç partikül büyüklüğü Tween 80 ile hazırlanan formülasyonlara göre biraz daha büyük olarak tespit edildi. Burada Tween 80'in ZHM partiküllerini daha iyi küçülttüğü ve stabil tuttuğu sonucuna varıldı. Buna rağmen Microfluidics LV1 ile 1 geçiş sonrasında elde edilen partikül büyüklükleri benzer sonuç gösterdi. Poloksamer 188 kullanılarak her geçiş sayısında 1000 nm'nin altında nanokristaller elde edilemedi. En düşük partikül büyüklüğü 1:2 oranında 30 geçiş sonrası 570 nm olarak tespit edilmiştir. 1:1 oranında ise partikül büyüklüğü değerleri tüm geçişlerde 1000 nm'nin üzerinde bulunmuş olup partikül büyüklüğü dağılım değerleri de 0,5-0,8 arasında çıkmıştır (Çizelge 4.27-31). Poloksamer 188 içeren tüm nanokristal oranlarında 1:1 oranı haricinde zeta potansiyel değerleri başlangıçta ve bir ay sonrasında 20 mV'un üzerinde bulunmuştur. 1:1 oranında partikül büyüklüğü 1000 nm'nin altına düşürülememiştir. Bir hafta sonrasında tüm geçişlerdeki partikül büyüklüğü değerlerinin oldukça büyümesi sonrasında zeta potansiyel ve partikül büyüklüğü dağılımı ise ölçülememiştir.

Vitamin E TPGS içeren formülasyonlarda tüm oranlarda 30 geçiş sonrasında 500-650 nm arasında partikül büyüklüğü sonucu elde edilmiştir. Partikül büyüklüğü dağılım değeri ise

tüm oranlarda 0,2-0,5 arasında olup zeta potansiyel değerleri  $>25$  mV olduğundan Vitamin E TPGS'nin ZHM nanokristalleri için uygun olabileceği düşünülmüştür (Çizelge 4.32-36). Vitamin E TPGS içeren formülasyonlarda da 10 geçiş sonrası partiküller 1000 nm'nin altına düşmüştür. Zeta potansiyel değerleri 1:2, 4:1 ve 8:1 oranlarında bir ay sonrasında oldukça düşmüştür. Vitamin E TPGS içeren nanokristallerden 2:1 oranı, partikül büyüklüğü dağılımı, zeta potansiyel ve partikül büyüklükleri bir ay sonrasında değişmeden kaldığından bu formülasyonların yüzey etkin madde içerenler uygun olarak değerlendirilmiştir.

HPMC ile hazırlanan formülasyonların başlangıç partikül büyüklükleri yüzey etkin maddeler ile hazırlanan formülasyonlara benzerlik gösterdi. Bir polimer olarak HPMC'nin ZHM partiküllerini ıslatmasının oldukça iyi olduğu gözlemlendi. Microfluidics LV1 ile yapılan 1 geçişte partiküller yüzey etkin maddelerde olduğu gibi 4  $\mu\text{m}$ 'ye kadar indiği görüldü. HPMC'nin ZHM nanokristalleri üzerine elektriksel stabilizasyonunun zeta potansiyelinin tüm formülasyonlarda 20 mV'un oldukça altında olduğundan yetersiz olduğu görüldü. Partikül büyüklüğündeki en fazla küçülme 8:1 oranının kullanıldığı formülasyondaki 30 geçişte olmuştur (Çizelge 4.37-41). HPMC içeren nanokristallerde zeta potansiyel değerleri diğerlerine göre düşük çıkmıştır ve bir ay sonrasında da düşme eğilimi gösterdiğinden partikülleri sterik olarak HPMC'nin stabilize etmediği kanısına varılmıştır. PVP K30 ise nanokristallerin HPMC'ye göre daha stabil kalmasını sağlamıştır.

PVP K30 içeren formülasyonlarda ZHM partikülleri PVP K30'un çözünmüş olduğu distile sulu ortamda kolaylıkla ıslandı. Microfluidics LV1 ile bir geçiş sonrasında 3500-4000 nm arasında küçük partiküller elde edilebilmiştir. 1:1 oranında ve 5 geçişte partikül büyüklüğünde küçülme diğer oranlara göre daha fazla görülmüştür. 20 geçiş tüm oranlarda partikül büyüklüğü değerleri 400-800 nm arasında değişmekte olup 1:1 oranında 20 geçişte 417 nm elde edilmiştir. Partikül büyüklüğü dağılımı değerleri ise 1:1 oranında 0,2-0,4 arasında olup diğer oranlara kıyasla daha dar aralıkta kalmayı başarmıştır. PVP K30 1:1 oranında kullanıldığında tüm geçişler sayılarında incelenen parametreler daha az değişime uğramıştır. 1:1 ve 4:1 oranlarında 20 ve 30 geçişteki partikül büyüklüğü ve partikül büyüklüğü dağılımı başlangıç değerlerine yakın olup istenilen aralıkta kalmıştır. PVK K30'un 1:2, 2:1 ve 8:1 oranlarında ise partikül büyüklüğünde istenilen küçülme sağlanırken bir aylık stabilizasyon sağlanamamıştır.

Genel olarak stabilizan tiplerine bakıldığında Tween 80, Vitamin E TPGS ve PVP K30'un stabilizasyonu daha iyi sağladığı görülmüştür.

Sonuç olarak nanokristallerin optimizasyonu ve kurutulmasından sonra her iki sonuç nanokristal formülasyonunda (ZHM: PVP K30: Mannitol 1:1:20 ve ZHM: Vit E TPGS: Mannitol 2:1:20) zeta potansiyel değerleri 20 mV üzeri ve PDI değerleri 0,1-0,4 aralığında bulunmuştur. PVP K30 ve Vit E TPGS ile hazırlanan nanokristallerde partikül büyüklüğü 400-600 nm bulunmuştur. ZHM'nin Nanomill cihazı kullanılarak öğütme metodu ile nanokristalinin elde edildiği bir başka çalışmada 200-300 nm'nin arasında partikül büyüklüğü elde edilmiştir (Thombre ve diğerleri, 2012).

#### Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

ZHM partiküllerinin morfolojik incelemesinde kristal şeklinde olan ZHM partiküllerinin yüksek basınç homojenizasyon ve liyofilizasyon sonrasında çarpışma ve kayma kuvvetlerinden dolayı kristal kenarlı şekilden daha küresel şekillere dönüştüğü görülmüştür (Resim 4.1-4.7 ve Resim 4.8-4.14). ZHM'nin SEM görüntüleri literatür ile desteklenmektedir (Dewalkar, Hariprasana ve Kulkami, 2012). Tez kapsamında hazırlanmış olan sonuç nanokristal formülasyonlarında SEM morfolojik analizinde elde edilen görüntüler nanokristallerin 400-600 nm aralığında olduğunu doğrulamaktadır. SEM görüntülerinde nanokristallerin yüksek oranda mannitol içerisinde yer aldığını göstermektedir. Mikrofluidizasyon işlemi sırasında bir geçiş sonrasında partiküllerin 4-6 µm arasında küçüldüğü ve ultraturaks işlemi ve sonrasındaki homojenizasyon döngülerinde ZHM partiküllerinin stabilizan maddeye adsorbe olduğu da SEM görüntüleri ile desteklenmektedir.

#### Diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC)

ZHM'nin erime noktası DSC analizi ile  $>276^{\circ}\text{C}$  bulunmuştur. ZHM kaba tozunun erimesi endotermiktir (Bera ve diğerleri, 2015). DSC termogramları meydana gelebilecek potansiyel polimorfik değişimleri göstermektedir. ZHM'nin sonuç nanokristal formülasyonu ile DSC kromatogramlarında erime noktasında bir değişim gözlenmemiştir. Erime derecesi oldukça yüksek olduğundan yardımcı maddeler ile de geçimsizlik bulunmamıştır. DSC termogramları liyofilize nanokristallerin kristal halini koruduğunu göstermektedir.

### Fourier dönüşümlü kızıl ötesi spektroskopisi (FT-IR)

FTIR sonuçlarına göre, ZHM karakteristik  $3400\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen geniş N-H amin grubu,  $3200\text{ cm}^{-1}$  civarında amit bağına ait pik,  $3000\text{ cm}^{-1}$  absorpsiyon bandında  $\text{CH}_2$  bağlarından kaynaklı görülen yüksek şiddetli yayvan yoğun pik ve alken bağlarından dolayı  $1600\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$  civarında pikler, liyofilizasyon ve yüksek basınç homojenizasyonundan sonra nanokristallerde ve fiziksel karışımda görülmektedir. FTIR sonuçları XRD sonuçlarını doğrulamaktadır ve uygulanan liyofilizasyon ve yüksek basınç homojenizasyon işlemleri geçimsizlik oluşturmamıştır. ZHM'nin polimorfik değişime uğramadığı FTIR sonuçlarından da çıkarılabilir. ZHM'nin FT-IR spektrumları literatürler ile uyumlu görünmektedir. (Bera ve diğerleri, 2015; Prasanthi ve diğerleri., 2011; Prasanthi ve Rao, 2010; Patil ve diğerleri., 2012). PVP veya Vit E TPGS ile hazırlanan nanokristallerde aynı spektrumlar gözlenmiştir (Şekil 4.30-4.32 ve Şekil 4.42-4.44).

### X-ışını Kırınımı (XRD)

Kaba toz ZHM partiküllerinin kristal durumda olduğu XRD çalışmalarında gözlenmiştir. ZHM kristalinin X-ışını davranışı literatür ile uyumlu bulunmuştur (Poluri ve diğerleri., 2013). Mikrofluidizasyon işleminin ardından liyofilizasyon uygulanması PVP K30 ve Vitamin E TPGS ile hazırlanan nanokristallerde kristal yapının değişmesine yol açmıştır (Şekil 4.33-4.37 ve Şekil 4.45-4.48). Buradaki kristal değişim kısmi amorf yapının olması şeklinde gözlenmiştir. Nanokristallerinin elde edilmesi ile kısmi amorf yapı haline dönüşen ZHM'nin suda çözünürlük ve çözünme özelliklerini arttırmıştır. Kristal yapıdaki etkin maddelerin amorf hale gelmesiyle çözünürlüklerinde artış olduğu bilinmektedir (Zakowiecki ve diğerleri, 2015). Thombre ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise ZHM'nin püskürterek kurutma metodu ile elde edilen katı nanokristal dispersiyonlarının X-ışını toz kırınımları elde edilmiş ve nanokristal formun kaba toza göre kristal yapının değişerek amorf yapı kazandığı görülmüştür (Thombre ve diğerleri, 2012).

### **5.4. Nanokristallerin Kısa Süreli Stabilite Testleri**

Hazırlanan nanokristallerde mikrofluidizasyon işleminde herhangi bir geçiş sayısında tüm stabilizanlar ile  $100\text{-}1000\text{ nm}$  partikül boyutları elde edilebilmiş fakat hepsi kısa süreli stabilite göstermemiştir (Çizelge 4.22-4.46).

Tween 80 içeren ZHM nanokristallerinin zeta potansiyel, partikül büyüklüğü ve partikül büyüklüğü dağılım değerleri 1. gün, 7. gün ve 30. gün sonra ölçülmüştür. Uzun dönem stabilite için zeta potansiyel değerleri düşük bulunmuştur. Sıcaklığın nanosüspansiyonlar üzerine etkisini anlayabilmek için 30 geçiş formülasyonlarının 25°C ve 4 °C'deki ZP, PB ve PDI değerlerine bakılmıştır. Tüm formülasyonlar birlikte ele alındığında sıcaklığın nanosüspansiyonların stabilitesi üzerine etkisinin olmadığı sadece 8:1 oranının kullanıldığı formülasyonda zeta potansiyel değerleri açısından anlamlı fark olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). Tüm oranlarında ZHM nanokristallerinin partikül büyüklüğü, zeta potansiyel ve partikül büyüklüğü dağılım parametreleri açısından incelenen stabilite periyodu boyunca stabil kalmadığı görülmüştür (Çizelge 4.22-4.26). Sonuç olarak Tween 80 tüm oranlarda nanokristallerin elektrostatik stabilizasyonunu sağlayamamıştır. Tween 80 ve PVP K30'un ayrı ayrı kullanıldığı bir nanosüspansiyon çalışmasında Tween 80'in daha düşük nanoboyutlarda nanokristal elde ettiği fakat liyofilizasyon işlemi sonrasında nanokristallerin birbirine yapışmış yani agregasyona uğramış olduğu görülmüştür. Bu nedenle stabilizan olarak PVP K30'un Tween 80'e göre üstünlük gösterdiği tespit edilmiştir (Dolenc ve diğerleri, 2009).

Poloksamer 188 kullanılarak elde edilen nanokristallerin zeta potansiyelleri 30 mV'un üzerinde bulunmasına rağmen zaman içerisinde özellikle partikül büyüklüğü değerlerinde çok büyüme gözlemlendi. Sıcaklığın nanokristallerin stabilitesi üzerine etkisi ise bulunmadı. Nanokristallerin hazırlanmasında 20 geçiş ile 30 geçiş arasında partikül büyüklüklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlemlenmiştir ( $p > 0,05$ ). Buna rağmen Poloksamer 188 ile hazırlanan nanokristaller stabil kalmamıştır. Özellikle 1:1 oranı ile hazırlanan nanokristalda 1 haftadan itibaren partikül boyutundaki aşırı büyümeyle ilgili olarak polidispersite indeksi ve zeta potansiyel değerleri ölçülemediği (Çizelge 4.27-4.31).

Vitamin E TPGS ile hazırlanan formülasyonların zeta potansiyelleri 20 mV'un üzerinde tespit edilirken 1 ay sonunda 2:1 oranı haricinde düşüş göstermiştir. Partiküller beşinci geçişten sonra 1000 nm'nin altına düşmüştür. Genel olarak tüm oranlarda poloksamer 188 ve Tween 80 ile hazırlanan nanokristallere göre daha stabil kalmasına rağmen partikül büyüklükleri, zeta potansiyelleri ve partikül büyüklüğü dağılımı 2:1 oranının kullanıldığı nanokristal dışında artmıştır. 2:1 oranında kullanılan formülasyon diğer yüzey etkin madde içeren formülasyonlar ve Vit E TPGS içeren diğer nanokristaller ile karşılaştırıldığından her üç incelenen parametre açısından en stabil formülasyon olarak görülmektedir. 20 ve 30

geçişlerdeki partikül büyüklüğü açısından anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Başlangıç ve bir geçişin partikül büyüklüğü açısından bakıldığında Vitamin E TPGS'nin diğer yüzey etkin madde içeren nanokristaller ile benzer sonuç verdiği görülmüştür (Çizelge 4.32-36).

HPMC ile hazırlanan nanokristallerin 1, 7 ve 30 gün sonunda incelenen partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel değerleri tüm oranlarda stabil kalmamıştır. 2:1 oranında zaman içerisindeki partikül büyüklüğündeki değişim diğer oranlara göre daha fazla olmuştur. Sadece 1:2 oranının kullanıldığı formülasyonda 5 geçiş sonrası 1000 nm altına düşülemedi fakat 20 geçiş sonrasında 30 gün sonunda  $PB < 1000$  nm kalmayı başarmış olmakla birlikte ZP değeri oldukça düşmüştür (Çizelge 4.37-41). İbuprofen içeren HPMC ile hazırlanan nanosüspansiyonlarda polimerin hidrofobik yapısından dolayı etkin madde yüzeyine yoğun ve güçlü adsorbe olduğu görüldüğüne dair çalışmalar mevcut olmasına rağmen ZHM ile aynı sonucu göstermemiştir (Verna ve diğerleri, 2009).

PVP K30 ile hazırlanan nanokristallerde 1:1 oranında kısa süreli stabilite sonuçları partikül büyüklüğü açısından  $< 1000$  nm altında bulunmuş ve fazla değişim gözlenmemiştir. PVP K30 sterik stabilizasyon ile ZHM nanopartiküllerini stabilize etmeyi başarmıştır. Zeta potansiyel değerleri 1:1 oranı dışında başlangıca göre zaman içerisinde oldukça fazla düşüş sağlamıştır. Partikül büyüklüğü dağılımları ise 1:1 oranında 20 ve 30 geçişlerde 0,1-0,5 arasında kalırken diğer oranlarda daha yüksek çıkmış olup büyüme göstermiştir. PVP K30'un 1:1 oranının kullanıldığı formülasyon sonuçları ile uygun nanokristal sonuçları elde edilebileği sonucuna varılmıştır (Çizelge 4.42-46).

Kısa süreli stabilite testleri tüm nanokristal formülasyonları hazırlandıktan hemen sonra ölçülen partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyel değerlerinin 1., 7. ve 30. günlerden sonra yeniden ölçülmesiyle değerlendirilmiştir (Çizelge 4.22-4.46). Kullanılan tüm stabilizanların farklı oranları veya farklı geçişlerinde ZHM partiküllerinin yüksek basınç homojenizasyon yöntemiyle istenilen partikül boyutuna küçülmesini sağlamış fakat bir aylık kısa süreli stabilitelelerini bütün formülasyonlar koruyamamıştır. Vit E TPGS 2:1 oranının kullanıldığı ve PVP K30 1:1 oranının kullanıldığı formülasyonların zeta potansiyel, partikül büyüklüğü ve partikül büyüklüğü dağılımı değerleri bir ay sonunda başlangıç değerlerini korumuştur. PVP K30 formülasyonu sterik olarak stabil kalmasını sağlarken Vit E TPGS ise partikül etrafında elektriksel çifte tabakanın gücünü artırarak

stabilizasyonu sağlamaktadır (Wang ve diğeri, 2013; Hong ve diğeri, 2014; Karakucuk ve diğeri, 2016).

### 5.5. Çözünürlük Çalışmaları

Nanokristallerde beklenen çözünürlük artışı partikül boyutu küçültülmesi bağlı olmakla birlikte kullanılan stabilizanın da sinerjik etkisinin olduğu bilinmektedir (Hong ve ark., 2014). Ostwald- Freundlich eşitliğine göre nanometre boyutlar ham materyalin yüzeyindeki eğrilikte artış sağlar ve bu artış doygun çözünürlüğü ve çözünme hızını artırır. Islak öğütme tekniği ile HPMC ve PVP K30'un stabilizan olarak kullanıldığı febuxostat nanokristallerinin hazırlandığı bir çalışmada pratik olarak suda çözünmeyen etkin maddenin doygunluk çözünürlüğünün ve pH 1.2, pH.4.5 ve pH 6.8 tampon ortamlarında çözünmesinin oldukça arttığı tespit edilmiştir (Ahuja vd., 2015; Romero vd., 2015). Vit E TPGS ve PVP K30 ile hazırlanan liyofilize nanokristaller kaba toz ve fiziksel karışımlara göre suda çözünürlüğü artırmıştır. Vit E TPGS ile hazırlanan nanokristaller ZHM kaba toza göre çözünürlüğü 1,84 kat artırmıştır. PVP K30 ile hazırlanan nanokristaller ise fiziksel karışıma göre çözünürlüğü sırasıyla 2,3 kat artırmıştır (Çizelge 4.87). Nanokristallerdeki çözünürlük artışını literatürde desteklemektedir (Usha, Angel ve Udupa, 2010; Junghanns ve Mueller, 2008; Tang ve diğeri, 2013; Niaz, Traini, Young, Ghadiri ve Rohanzadeh, 2014).

### 5.6. İn Vitro Çözünme Çalışmaları

İn vitro çözünme çalışmaları SLS içermeyen, %0.5 SLS içeren ve %1 SLS içeren pH 7.4 fosfat tampon ortamlarında ve FaSSIF (açlık), FeSSIF (tokluk) ortamlarında yapılmıştır. FaSSIF ortam proksimal bağırsağın açlık durumunu taklit etmektedir. FeSSIF tokluk durumunu taklit eden ortam olup daha düşük pH ve daha yüksek tamponlama kapasitesine sahiptir. FeSSIF ortam aynı zamanda ilaç ile yiyecek etkileşimlerini anlamak için de kullanılmaktadır. Nanokristal ZHM'nin açlık ve tokluk durumundaki çözünmesini kıyaslamak için FaSSIF ve FeSSIF ortamları kullanılmıştır (Sinha, Müller ve Möschwitzer, 2013; Karakucuk ve diğeri, 2016; Klein, 2010). FDA'nın çözünme olarak önerdiği ve ticari ürün için kullanılan in vitro çözünme ortamı pH 7.4 fosfat tamponu içerisinde %2 SLS içeren ortamdır. Bu ortamda iyi çözünme gösterdiğinden nanokristallerin çözünmesindeki artışı tespit etmek, farklılıkları görmek için pH 7.4 fosfat tamponu ortamında ve %0,5 ve %1 SLS içeren pH 7.4 fosfat tamponu ortamlarında çözünme testleri yapılmıştır. pH 7.4 fosfat

tamponu ortamda ZHM kaba toz 30. dakikaya kadar çözünme göstermemiştir ve 2 saatin sonunda %10'lu bir çözünme gösterdiği gözlenmiştir. En yüksek çözünme PVP K30 içeren nanokristal formülasyonunda %44,38 oranında görülmüştür. Bu formülasyon 2 saatin sonunda %50 çözünme göstermiştir. Vit E TPGS içeren nanokristal formülasyonu ise 2 saatin sonunda %34,7 çözünme göstermiştir. ZHM kaba tozu pH 7.4 fosfat tamponunda %11,26 çözünme ile en düşük çözünme gösterdiği bu ortamda nanokristal hale gelmesiyle çözünmesi artmıştır (Müller ve diğerleri, 2011) (Şekil 4.50).

% 0.5 SLS içeren pH 7.4 fosfat tamponu ortamında, ZHM kaba toz 120 dakika sonunda %40'a varan çözünme göstermiş olup nanokristal formülasyonları %70'e varan çözünme göstermiştir. pH 7.4 fosfat tamponu ortamındaki çözünmeye kıyasla ortalama SLS ilave edilmesi kaba toz ZHM ile birlikte diğer formülasyonlarında çözünmelerini belirli miktarda arttırmış olup fiziksel karışım formülasyonları ile ticari ürün 2 saat sonunda %50 oranında çözünme göstermiştir (Şekil 4.50).

% 1 SLS içeren pH 7.4 fosfat tamponu ortamında, ZHM kaba toz 2 saat sonunda %79,77 çözünme göstermiş olup PVP K30 ve Vit E TPGS nanokristal formülasyonu %97 ticari preparat %91,44 çözünme göstermiştir. Nanokristal formülasyonlarının çözünmesi 2 saat sonunda %97 oranında bulunmuş iken ticari preparat %91 oranında bulunmuştur. Ortamdaki SLS miktarının artması formülasyonlarının çözünme profillerini iyileştirmekle birlikte zamanla çözünen ZHM miktarını da arttırmıştır (Şekil 4.51)

ZHM kaba tozunun FaSSIF ortamında çözünen miktarı iki saat sonunda %12,49, FeSSIF ortamındaki miktarı ise iki saat sonunda % 26,54 olarak bulunmuştur. ZHM'nin biyoyumlu ortamlarda çözünme hızının yapıldığı çalışmalar ile açlık ve tokluk ortamlarında in vivo biyoyaralanıma bakıldığı çalışmalar mevcuttur. Simüle edilmiş açlık ve tokluk ortamlarında ise ZHM kaba tozunun tokluk ortamında çözünmesinin 2.4 kat arttığı literatürde yer alan bir çalışmada bulunmuştur (Dening ve diğerleri, 2016). In vivo çalışmalarda ise ZHM'nin açlık ortamındaki kan plazma konsantrasyonu tokluk ortamdaki plazma konsantrasyonunun yaklaşık yarısı olarak tespit edilmiştir (Thombre ve diğerleri, 2012a; Thombre vd, 2012b; Miceli ve diğerleri, 2007; Thombre ve diğerleri, 2015). FaSSIF ortamında ticari ürün 2 saat sonunda %40,49, PVP K30 içeren fiziksel karışım %23,13, Vit E TPGS içeren fiziksel karışım %22,22 ve kaba toz ZHM %12,49 kümülatif çözünme miktarı gösterirken PVP K30 nanokristal formülasyonu %80,27, Vit E TPGS içeren nanokristal formülasyonu %78,78

oranında çözünme göstermiştir. FeSSIF ortamında ise ticari ürün iki saat sonunda %100,71, PVP K30 içeren fiziksel karışım %48,81, Vit E TPGS içeren fiziksel karışım %47,78 ve kaba toz ZHM %26,54 kümülatif çözünme gösterirken nanokristal içeren formülasyonlar ticari ürün ile yaklaşık aynı değerlerde olup >%99 oranında çözünme göstermişlerdir (Şekil 4.53-4.60). Açlık ve tokluk ortamlarındaki çözünme profillerindeki en belirgin fark nanokristal içeren formülasyonların her iki ortamda da benzer çözünme göstermeleridir. Ticari ürün, kaba toz ve fiziksel karışım formülasyonları açlık ortamında daha düşük oranda çözünme göstermelerine rağmen özellikle kapsül formunda olan ticari ürünün açlık ortamındaki düşük çözünmesi geliştirilen formülasyonun yiyecek içecek etkisine bağlı biyoyararlanım değişkenliğini azaltması beklenmektedir. Bu durum partikül büyüklüğündeki küçülmenin bir fonksiyonu olarak açıklanmaktadır (Möschwitzer, 2013; Karakucuk ve diğerleri, 2016) Nanokristallerdeki, nanometre ölçüsündeki boyutlar çözünme hızını artıracak şekilde, yüksek miktarda yüzey alanında artışa neden olmuştur (Lai vd, 2014; Quan vd, 2012). Nanokristallerin partikül büyüklüğü aynı zamanda difüzyon uzaklığını çözünme hızı profilini değiştirecek şekilde etkilemiştir (Sharma ve diğerleri., 2015).

Yüksek basınçlı homojenizasyon tekniği kullanılarak hazırlanan bir çalışmada kurkumin nanokristalleri elde edilmiş ve çözünürlük ve oral biyoyararlanım açısından değerlendirilmiştir. Çalışmada nanokristallerin çözünürlükteki artışa bağlı olarak oral absorpsiyonu arttırdığı bulunmuştur (Gao ve diğerleri, 2012).

PVP K30 ve Vitamin E TPGS içeren her iki nanokristal formülasyonların çözünme profillerinin f2 benzerlik katsayıları tüm ortamlarda >50 bulunmuştur yani benzer çıkmıştır. Ticari ürün ise sadece tokluk ortamında nanokristal içeren formülasyonlar ile benzer çözünme göstermiştir. Tüm ortamlarda en yüksek çözünmeyi sayısal değer olarak PVP K30 içeren nanokristal formülasyonu göstermiş olup aynı şekilde sudaki çözünürlüğü artırma oranı PVP K30 içeren nanokristalde 2,3 kat, Vit E TPGS içeren nanokristal ise 1,84 kat olarak bulunmuştur. FaSSIF ortamında nanokristal içeren formülasyonlar ile ticari ürünün çözünme profili benzer çıkmaz iken FeSSIF ortamında ticari ürünle benzer çözünme profili göstermeleri de nanokristal yapının açlık ortamında da yeterli çözünmeyi sağladığını fakat ticari ürünün açlık ortamında çözünmesinin %40 oranında kaldığını göstermektedir.

## 5.7. ADT'lerin Doğrudan Basım Yöntemi ile Hazırlanması

### 5.7.1. ZHM ile ADT yardımcı maddelerinin geçimlilik çalışması

ZHM etkin maddesinden ADT hazırlanması için kullanılan yardımcı maddeler ile DSC kullanılarak geçimlilik çalışması yapılmıştır. DSC etkin madde ve yardımcı maddelerin etkileşimlerinde kullanılan termal analiz yöntemidir. Bir madde örneğinin fiziksel ve kimyasal değişimi sonucunda sıcaklığın fonksiyonu olarak yapının kaybettiği veya kazandığı ısıyı gösterir. Özellikle ön formülasyon çalışmalarında saflık, polimorfizm, bozulma ve yardımcı maddelerle yapılan geçimlilik çalışmalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Tez kapsamında Mannitol, PVP K30, Avicel, Ac-Di-Sol ve Mg stearate ile ZHM'nin 1:1 oranında karışımlarının DSC termogramları elde edilmiştir. ZHM'nin > 276°C'de yayvan bir pik gösterdiği, Avicel, Ac-Di-Sol hiç bir keskin pik göstermediği tespit edilmiştir. Mannitol 160-180°C'de keskin bir endotermik pik göstermiştir. Mg-stearat ise yaklaşık 80°C' endotermik pik göstermiştir. Sonuç olarak fiziksel karışım halinde ve ayrı ayrı olarak elde edilen endotermik DSC termogramları arasında herhangi bir geçimsizlik olmadığı tespit edilmiştir.

### 5.7.2. Deney tasarımı ile hazırlanan fiziksel karışım ADT formülasyonlarda yapılan fizikofarmasötik kontrol çalışmaları

Nanokristal içeren ADT'lerin formülasyonun belirlenmesinde öncelikle fiziksel karışım halinde formüle edilen ADT'ler tasarımla kalite yaklaşımı (QbD) uygulanarak geliştirilmiştir. Fiziksel karışım içeren ADT'lerin formülasyonun belirlenmesinde optimum nanokristal bileşenleri ile birlikte dağıtıcı, seyreltici ve kaydırıcı içeren ADT'ler direkt basım metoduna göre 15 mm boyutunda zımba kullanılarak hazırlanmışlardır. Deney tasarımına göre tablet formülasyonlarını iki tekrarlı olmak üzere toplamda 18 adet formülasyon ile çalışılmıştır. Dağıtıcı ve kaydırıcı bağımsız değişkenler olarak sertlik friabilite ve dağılma süresi ise bağımlı değişkenler olarak ele alınmıştır. %15, %10 ve %5 olmak üzere üç farklı dağıtıcı oranında ve %1,5, %1 ve %0,5 olmak üzere üç farklı kaydırıcı oranında olmak üzere hazırlanan tabletlerin sertlik, dağılma süresi ve friabilite değerleri açısından fizikofarmasötik kontrolleri yapılmıştır. Ayrıca ADT'lerde çap kalınlık ve ağırlık ölçümleri de yapılmıştır. ADT'lerde yapılan fizikofarmasötik kontroller literatür çalışmaları ile desteklenmektedir (Sammour ve diğerleri, 2011; Basalious ve diğerleri, 2013).

Sertlik, friabilite ve dağılma süresi deney tasarımında ele alınan literatür çalışmaları ile desteklenen fizikofarmasötik kontrollerdir (Prasanthi ve diğerleri, 2010). Sertlik değerleri tüm formülasyonlarda 30-50 N arasında çıkmıştır. Bu değer ADT'lerin dayanıklı olması için kabul edilen değer aralığıdır (Abdelbary ve diğerleri, 2009). Friabilite değeri ise 0,6-2,4 % arasında çıkmıştır, taşınma şartlarında dayanıklı olması için friabilite değerinin <%1 olması gerekmektedir (Elkhodairy, Hassan ve Afifi, 2014). Dağılma süresi ise tüm fiziksel karışım içeren formülasyonlarda 20-62,5 sn arasında çıkmıştır. ZHM içeren ADT'lerin geliştirildiği bir çalışmada da benzer sonuçlar görülmüştür (Sivannarayana ve diğerleri, 2013). Bu çalışma nanokristal içeren ADT için dağıtıcı ve kaydırıcı oranını belirlemek açısından olduğundan ve yüksek dağılma süresinin nanokristal içeren ADT'lerde düşmesi beklenildiğinden dağılma süresinin geniş aralıkta ve nispeten uzun olması kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir ve nitekim nanokristal içeren ADT'ler dağılma süresi 6 sn bulunmuştur.

### **5.7.3. Tasarımla kalite uygulaması (QbD) ve sonuç fiziksel karışım ADT formülasyonunun optimizasyon çalışmaları**

Ağızda dağılan tabletlerin formülasyon gelişiminde öncelikle nanokristal formülasyonların hazırlanmasında kullanılan fiziksel karışım bileşenleri kullanılarak tasarımla kalite yaklaşımı açısından deney tasarımı yapılmış ve tabletler sertlik friabilite ve dağılma süresi açısından incelenmiştir. Tasarımla kalite yaklaşımının temelini deney tasarımları oluşturmaktadır. Farmasötik ürün gelişimi, geniş alandaki materyal ve işlem özellikleri boyunca maksimum ürün performansı sağlamak için tasarlanır. Bu amaçla yaygın olarak kullanılacak deney tasarımları faktöriyel tasarımdır. Faktöriyel tasarım kullanımının majör yararı tüm tahmin edilen etki ve etkileşimlerin diğer faktörlerin etkisi ile bağımlı olduğunu göstermesidir (Basalious ve diğerleri, 2013).

Tabletlerdeki dağıtıcı ve kaydırıcı oranlarının değişmesine bağlı sertlik, friabilite ve dağılma süresi DoE 9.0.6 yazılım programı kullanılarak deney tasarımı, 3<sup>2</sup> faktöriyel tasarım olarak yapılmıştır. 9 deney 2 kez tekrar edilmiş ve sonuçlar değerlendirilmiş, yüzey ve kontur grafikleri çıkarılarak formülasyon optimizasyonu yapılmış tasarım alanları tespit edilmiştir. Ağızda dağılan tablet formülasyonu geliştirmede tasarımla kalite yaklaşımının uygulanması formülasyon geliştirme aşamasında zaman ve maliyet avantajı sağlayabilir. İşlemin ve formülasyon parametrelerinin ürün özelliklerini nasıl etkilediğini anlamak ve sonrasında ise

ürünün final spesifikasyon parametreleri ile ilgili olarak bu parametreleri optimize etmek QbD göstergesidir (Sammour ve diğerleri, 2011). ADT'lerde kısa dağılma zamanı (<3 dk), düşük sertlik ve ambalajlama ve taşıma koşullarına dayanıklı formülasyon geliştirmek ve işlem parametrelerini optimize etmek gereklidir. Bu açıdan sertlik, dağılma süresi ve friabilite değerleri bağımsız değişkenler olarak formülasyon optimizasyonunda incelenen parametrelerdir (Charoo ve diğerleri, 2012; El-Nabarawi ve diğerleri, 2013).

ANOVA testi ile bağımsız değişkenlerin tanımlayıcı istatistik değerleri sertlik, dağılma süresi ve friabilite açısından sırasıyla 30.79-48.48 N, 15-62,5 sn ve 0,64-2.475 olarak bulunmuştur. ANOVA analizine göre sertlik değerleri dağıtıcı ve kaydırıcı oranından etkilenmemiş fakat friabilite ve dağılma süresi dağıtıcı ve kaydırıcı oranından anlamlı oranda etkilenmiştir ( $p < 0,05$ ). Bu verilerden hareketle çıkarılan yüzey ve kontur grafikleri ile istenilen limit değerlerinde çalışabilmek için tasarım alanı elde edilmiştir. Fiziksel karışım halinde hazırlanan ADT'lerin sertlik, dağılma süresi ve friabilite açısından tasarım alanlarının belirlenmesi için yüzey ve kontur grafikleri ile bakıldığında en yüksek sertlik değerleri dağıtıcı oranının yaklaşık %5 ve kaydırıcı oranının ise %1-1.5 arasında olduğu aralık olarak belirlenmiştir. Buna rağmen >30 N sertlik değeri için %0.5-1.5 aralığında kaydırıcı ve %5-15 dağıtıcının kullanımı mümkündür yani çalışılan aralıkların tamamı içerisinde istenilen sertlik değeri elde edilebilir. Friabilite değerinin <%1 olduğu çalışma alanı ise kaydırıcının %0,5-1 ve dağıtıcının yaklaşık %15 olduğu bölge olmaktadır. Dağılma süresi açısından bakıldığında kaydırıcı oranının %0,5-1 ve dağıtıcı oranının %5-7 aralığı daha kısa dağılma süresi elde edilebilir aralıktır ve buna karşılık friabilite değeri dağıtıcı oranının %13-15 arasında olduğunda en düşük çıkmıştır (Şekil 4.65-70). Fiziksel karışım bileşenleri ile hazırlanan ADT'lerin formülasyonu nanokristal içeren ADT hazırlanmasında kullanılacağından optimum dağıtıcı ve kaydırıcı oranı belirlenmesinde dağılma süresinden ziyade sertlik ve friabilite değerleri daha etkili olmuştur.

DoE 9.0.6 yazılım programı ile istenilen değer aralıkları girilerek yapılan optimizasyon işleminde ise dağıtıcı oranı %15 ve kaydırıcı oranı %1 iken sertlik değerinin 43.22 N, dağılma süresinin 37.21 N ve friabilite değerinin 0,69 olması beklenirken, dağıtıcı oranı %5 ve kaydırıcı oranı %1 olduğunda dağılma süresinin 19.91 saniye, sertlik değerinin 43.97 N ve friabilite değerinin 1,27 olması beklenmektedir. Bu sonuçlara bağlı olarak ilave mannitol ve PVP K 30 içermeyen sadece ZHM, Ac-Di-Sol, Mg-stearat ve Avicel pH 102 içeren yani mannitol ve PVP K30 içermeyen ADT'ler optimize edilen iki formülasyon oranlarında

dağıtıcı ve kaydırıcı kullanılarak hazırlandı. Bu tabletlerin sertlik, dağılma süresi ve friabilite değerleri de ADT formülasyonunun belirlenmesinde dikkate alınmıştır. Bu tabletlerde %15 oranında dağıtıcı ve %1 oranında kaydırıcı kullanıldığında friabilite değeri %0,916 çıktığından nanokristal içeren tabletler için bu oranlar dikkate alınmıştır.

ZHM içeren ADT'lerin geliştirildiği faktöriyel tasarımı ile formülasyonun optimize edildiği bir çalışmada  $2^3$  faktöriyel tasarım yapılarak 3 farklı süperdağıtıcının etkisi incelenmiş ve değerlendirilmiştir (Prasanthi vd, 2010). Rizatriptan içeren ADT'lerin geliştirildiği bir başka çalışmada da faktöriyel tasarım yapılarak üç farklı formülasyon değişkeni ile dağılma sürelerine bakılmış ve yüzey grafiği elde edilmiş ve dağılma süresine ilişkin formülasyon optimizasyonu yapılmıştır (Que, Wu, Cheng ve Hu,2006).

#### **5.7.4. Nanokristal içeren ADT formülasyonlarında yapılan fizikofarmasötik kontrol çalışmaları**

Fiziksel karışım ADT'lerin ve nanokristal formülasyonunda yer almayan bileşenler ile hazırlanan ADT'lerden hareketle %15 dağıtıcı (Ac-Di-Sol) ve % 1 kaydırıcı (Mg-sterat) içerecek şekilde PVP K30 içeren liyofilize nanokristallerden ADT'ler hazırlanmıştır. Basılan ADT'lerin sertlik değerleri ortalama 31,2 N, friabilite değerleri %1,05 ve dağılma süreleri 6,16 sn çıkmıştır. Tabletleri ortalama ağırlıkları 749,9 mg olup ortalama çap değerleri 15,1 mm ve ortalama kalınlıkları 5,0 mm çıkmıştır. Tabletler kırılma ve aşınmaya karşı direnci uygun ve nanokristal içermesinden dolayı <10 sn dağılma süresi göstermesi nanokristal içeren ADT'lerin ticari açıdan geliştirilebilirliğinin uygun olduğunu göstermektedir. (Aksu ve diğerleri, 2013; Prasanthi ve diğerleri, 2010). Ayrıca kısa dağılma süresi tabletlerin ağızda çok kısa sürede dağılarak hızlı salım yapmasına, etkin madde maksimum plazma konsantrasyonuna daha kısa sürede ulaşabileceğini ifade etmektedir. Basalious ve arkadaşları tarafından 2013 yılında yapılan bir çalışma sınıf II etkin madde olan felodipinin QbD yaklaşımı ile ADT'leri geliştirilerek in vitro ve in vivo çalışmaları yapılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre en uygun formülasyonun in vivo ve in vitro dağılma sürelerinin sırasıyla 6 ve 7 saniye oldukları ve yumuşak jelatin kapsüle göre ADT'nin plazma maksimum konsantrasyonuna ulaşma süresinin daha kısa olduğu tespit edilmiştir (Basalious ve diğerleri, 2013).

UV metoduna göre metanol içerisinde tabletlerdeki ZHM miktarı  $20 \text{ mg} \pm \%5$  olarak bulunmuştur. Nanokristal içeren ADT'ler oldukça poröz yapıda olup  $\%56$  gözeneklilik oranı tespit edilmiştir. Tabletlerin ortalama gözeneklilik hacmi ise  $0,928 \text{ cc}$  olarak ölçülmüştür. Tabletlerin ıslanma süresi ise ortalama  $3,9$  saniye olup su absorpsiyon kapasiteleri  $\%63,85$  olarak gözlenmiştir. Literatürde ADT'ler üzerinde yapılan ıslanma ve su absorpsiyon kapasite çalışmaları ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. (Yu ve diğerleri, 2009; Brniak, Jachowicz ve Pelka, 2015; Elkhodairy ve diğerleri, 2014). Porozite ve ıslanabilirlik sonuçlarının yüksek çıkması liyofilize nanokristal toz içermesine bağlıdır. Bu sonuçlar literatür verileri ile desteklenmektedir (Lai ve diğerleri, 2011; Dolenc ve diğerleri, 2009; Shoukri, Ahmen ve Shamma, 2009; Segale ve diğerleri, 2007).

### 5.7.5. ADT'ler ile yapılan çözünme çalışmaları

ADT'lerin çözünme çalışmaları pH 7.4 fosfat tamponu ve  $\%1$  SLS içeren pH 7.4 fosfat tamponunda gerçekleştirilerek ticari ürün olan Zeldox kapsül ile çözünme profilleri karşılaştırılmıştır. Nanokristal içeren ADT, nanokristal formülasyonunun fiziksel karışım halinde hazırlanarak basılan fiziksel karışım ADT ve sadece kaba toz ZHM içeren ADT'lerin 120 dakikaya kadar çözümlerine bakılmıştır.

pH 7.4 fosfat tamponunda nanokristal ADT 120 dakikanın sonunda  $\%58,98$  oranında çözünme göstermiş olup 10 dakika içerisinde  $\%25$ , 20 dakika sonra ise  $\%35$  çözünme göstermiştir. Ticari ürün ise 120 dakika sonunda  $\%16$  oranında çözülmüştür ve aynı ortamda fiziksel karışım ADT ve sadece ZHM içeren ADT'ler 10 dakika  $<\%5$  oranında çözünürken ticari ürün  $\%8$  oranında çözülmüştür. DDSolver programı kullanılarak  $f_2$  benzerlik faktörü açısından profil karşılaştırması yapıldığında ticari ürün, fiziksel karışım ADT ve sadece ZHM içeren ADT pH 7.4 ortamında benzer çözünme profiline sahip olduğu görülmüştür ( $f_2 > 50$ ). Nanokristal içeren ADT ile ticari ürün ise benzer bulunmamıştır ( $f_2 < 50$ ).

pH 7.4 fosfat tamponu  $\%1$  SLS içerdiğinde ise benzerlik değerlendirmeleri pH 7.4 fosfat tamponundaki sonuç ile aynı çıkmış olup çözünen miktarlar tüm çalışma gruplarında artmıştır. Nanokristal içeren ADT 10 dakika sonrası  $\%48,78$  20 dakika sonrasında ise  $\%65$  oranında çözülmüştür. Buna karşın fiziksel karışım ADT, sadece ZHM içeren ADT'ler ve ticari ürün 10 dakika sonrası çözümleri sırasıyla  $\%32$ ,  $\%26$  ve  $\%17$  olarak ve 20 dakika sonrasında ise çözümleri  $\%55$ ,  $\%48$  ve  $\%39$  oranında bulunmuştur.  $\%1$  SLS içeren pH 7.4

fosfat tamponunda 120 dakika sonunda tüm formülasyonlar %85 üzerinde çözünme göstermekle birlikte hiçbiri 15 dk'da %85 oranında çözünmemiştir (Şekil 4.67-4.74).

Tabletlerdeki çözünme profilleri değerlendirildiğinde nanokristal ADT'nin partikül boyutunun küçülmesine bağlı olarak her iki ortamda da ticari ürüne kıyasla hızla çözünme gösterdiği ve çözünen ZHM miktarının daha yüksek olduğu görülmekle beraber ticari ürün ile çözünme profili benzer bulunmamıştır ( $f_2 < 50$ ). Partikül boyutunun küçülmesi ile yüzey alanına bağlı olarak çözünürlük ve çözünmede artış görülmüştür (Dolenc ve diğerleri, 2009). ZHM içeren ADT'lerin geliştirildiği çalışmalar literatürde mevcuttur. pH 7.4 fosfat tamponu ve %1 SLS içeren ortam kullanılarak yapılan bir çalışmada ZHM içeren ADT'ler yaş granülasyon metodu ile hazırlanmış ve süper dağıtıcı ajanlar bir arada çeşitli oranlarda kullanılmış ve en hızlı çözünen tablet olarak %4 sodyum nişasta glikolat, %2 krospovidon ve % 2 prejelatinize nişasta içeren tablet olarak değerlendirilmiştir. Tabletler 10 dakika içerisinde %89 oranında çözünmüşlerdir (Prasanthi ve diğerleri, 2010). Direkt basım metodu ile süper dağıtıcı ajanlar kullanılarak hazırlanan ZHM içeren ADT'lerde sodyum nişasta glikolat ve kroskarmeloz sodyumun kullanılmasının çözünmeyi arttırdığı gözlenmiştir (Sivannarayana ve diğerleri, 2013). ZHM nanokristalleri ile ADT geliştirilmesi ise bu tez kapsamında diğer ZHM ADT çalışmalarına katkı sağlaması açısından ve nanoboyutlara ulaşılması ile ilacın oral biyoyararlanımındaki açlık tokluk varyasyonunun azaltması beklenildiğinden önem taşımaktadır.

#### **5.7.6. Nanokristal içeren ADT'lerde stabilite çalışmaları**

Nanokristal içeren ADT'ler ICH kılavuzunda belirtildiği şekilde hızlandırılmış ( $40 \pm 2^\circ\text{C}$ , %75±%5 bağıl nem) koşullarda 6 ay ve uzun süreli ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , %60±%5 bağıl nem) test koşullarında 9 ay süreyle stabilite çalışmasına tabi olmuştur. Bölüm 3.2.23'de anlatıldığı üzere Microfluidics LV1 cihazının laboratuvar ölçeğinde olması ve günlük maksimum 10 mL'lik 3 enjektör ile çalışma imkanı sağlaması ve buna bağlı olarak günde sadece 4-6 ADT hazırlanabilmesi nedeniyle nanokristal içeren ADT'lerin stabilite çalışmalarında sadece görünüm ve etkin madde miktar tayini parametreleri incelenmiştir. Uzun süreli saklama koşullarında saklandığında 9 ay boyunca tabletlerin görünümünde herhangi bir değişiklik olmamış olup pembemsi beyaz görünümlü yuvarlak tabletler halinde kalmıştır (Çizelge 4.97). ZHM miktarı ise %97,34 oranında kalmıştır. Hızlandırılmış çalışma koşullarındaki stabilite çalışmaları tamamlanarak ZHM miktarının 6 ay sonunda %97,7 oranında kaldığı

hesaplanmıştır. ZHM'nin bozunma kinetiği  $R^2$  değerine göre birinci derece kinetik ve etkin maddenin %90'ının kalması için gereken süre ise 4,6 yıl olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.98). Gerçek zamanlı stabilite çalışmaları ile önerilen raf ömrünün belirlenmesi için uzun süreli çalışma koşullarında minimum 24 ay süre ile tayin edilmesi sonraki çalışmalar için önerilmektedir. Ziprasidonun ağızda çözünen filmlerinin geliştirildiği ve stabilitesine bakıldığı bir çalışmada ise etkin madde miktarının 90 gün sonunda,  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ , %75 bağıl nem ve  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ , %60 bağıl nem koşullarında %98 oranında stabil kaldığı tespit edilmiştir (Poluri ve diğerleri, 2013).

### 5.8. Caco-2 Permeabilite ve Hücre Kültürü Çalışmaları

ZHM BCS Sınıf II bir etkin madde olduğu bilinmektedir. ZHM'nin belirtildiği üzere düşük çözünürlük özelliğinin yanı sıra yüksek permeabilite göstermesi söz konusudur. Bu kapsamda değerlendirildiğinde Papp  $< 1 \times 10^{-6}$  cm/sn olan etkin maddeler düşük permeabilite özellikli,  $1-10 \times 10^{-6}$  cm/sn aralığında olanlar orta düzey ve  $> 10 \times 10^{-6}$  olan etkin maddeler yüksek permeabilite özellikli etkin maddeler olarak sınıflandırılabilir (Yee, 1997). Bu amaçla öncelikle hücre canlılığı (sitotoksosite) ve sonra da permeabilite değerini saptamak amacıyla Caco-2 hücrelerinden geçiş çalışmaları yapılmıştır. Caco-2 hücreleri üzerine farklı konsantrasyonlarda uygulanan formülasyonlardan elde edilen bulgularda  $200 \mu\text{g/mL}$  uygulama dozunda dahi toksisiteye neden olmamıştır (Şekil 4.80). Hücrelere toksik olmayan yapılan deneylerde ZHM'nin permeabilite değeri 4. saatin sonunda  $8,887 \times 10^{-6}$  cm/sn olarak bulunmuştur. Nanokristallerin permeabilite de artış sağlayabileceği bilinmektedir. PVP K30 ile hazırlanan sonuç nanokristal formülasyonun permeabilite değeri  $11,93 \times 10^{-6}$  cm/sn olarak bulunmuştur (Çizelge 4.95). Bulunan kaba toz ZHM permeabilitesi literatür ile uyumludur (Yee, 1997). Fiziksel karışım içeren ADT'lerin permeabilite değeri  $9,936 \times 10^{-6}$  cm/sn iken nanokristal içeren ADT'lerin permeabilite değeri  $14,36 \times 10^{-6}$  cm/sn olarak bulunmuştur. Liyofilize nanokristal ve nanokristal içeren ADT'ler kümülatif geçiş kaba toza ve fiziksel karışımlara göre artış göstermiştir (Şekil 4.81 ve 4.82). Nanokristal haline gelmesi permeabilitede artışı sağlamıştır ayrıca yapılan diğer çalışmalarda da tabletlerde kullanılan yardımcı maddelerinde permeabiliteye katkısı olduğu nanokristal liyofilize toz ve tabletin permeabilite değerleri ile görülmektedir. (Attari ve diğerleri, 2016; Langguth ve diğerleri, 2005; Gao ve diğerleri, 2012).



## 6. SONUÇ

Şizofreni tedavisinde ikinci jenerasyon antipsikotik olarak kullanılan BCS Sınıf II etkin maddesi olan ziprasidonun (hidroklorür monohidrat tuzu olarak) tasarımıyla kalite yaklaşımı ile nanokristal formülasyonlarının geliştirilmesi ve nanokristal formülasyonundan ağızda dağılan tabletlerinin geliştirilmesini amaçlayan bu doktora tezi kapsamında yürütülen çalışmalardan aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- ZHM nanokristalleri, yüksek basınç homojenizasyon (mikrofluidizasyon) işlemi ile başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Vitamin E TPGS ve PVP K30 kullanılarak en uygun nanokristal formülasyonlarına ulaşılmıştır.
- Nanokristallerin partikül büyüklüğü <1000 nm, polidispersite indeksi 0,1-0,4 aralığında ve zeta potansiyel değerleri >20 mV olarak tespit edilmiştir.
- Nanokristallerin açıklık (FaSSIF) ve tokluk (FeSSIF) ortamlarında kaba toza göre daha yüksek oranda çözündüğü görülmüştür. Kaba toz FeSSIF ortamında iki saatte %26,54 çözünme gösterirken nanokristaller %97 oranında çözünmüştür. FaSSIF ortamında da iki saatte kaba toz %12,49 oranında, ticari preparat (Zeldox®) %40,5 nanokristaller ise %80 oranında çözünme göstermiştir. Nanokristaller FeSSIF ortamında ticari preparat ile benzer çözünme profili göstermiştir. FaSSIF ve FeSSIF ortamlarında yapılan in vitro çözünme çalışma sonuçlarına göre, nanokristaller açıklık durumunda ticari ürün ile benzer çözünme profile gösterirken tokluk durumunda, nanokristaller ticari ürüne göre daha yüksek çözünme profili göstermiştir. Nanokristal içeren formülasyonların açıklık ve tokluk ortamlarındaki çözünmeleri arasındaki fark azalmıştır.
- PVP K30 içeren nanokristalinin kaba toza göre sudaki çözünürlüğü 2,3 kat ve Vit E TPGS içeren nanokristalinin kaba toza göre sudaki çözünürlüğü 1,84 kat artmıştır.
- Nanokristal içeren ADT'lerin geliştirilmesinde tasarımıyla kalite yaklaşımı ile formülasyon bileşenlerinden dağıtıcı ve kaydırıcı oranı optimize edilerek belirlenen oranlar nanokristal içeren ADT'lerde kullanılmıştır. Nanokristal içeren ADT'ler 6 saniyede dağılma göstermiş olup ve sertlik değeri 26,1 N ve friabilite değeri 1,05 olarak bulunmuştur. Tabletler poröz ve kolay ıslanabilir yapıda elde edilmiştir.
- Nanokristal içeren ADT'ler, fiziksel karışım ADT'ler, sadece ZHM içeren ADT'ler ve ticari ürün ile yapılan in vitro çözünme çalışmalarında nanokristal içeren ADT'ler ile ticari ürün benzer bir çözünme profili sergilememiş olup nanokristal içeren

ADT'ler iki saat sonunda daha fazla oranda çözünmüştür ve hiçbir formülasyon 15 dakikada %85 oranında çözünme göstermemiştir.

- Caco-2 geçiş çalışmalarında nanokristal içeren tabletlerin ve nanokristal içeren liyofilize tozun permeabilite değerinde ve kümülatif ilaç geçişinde artış tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, tez kapsamında planlanan hedeflere ulaşılmıştır. ZHM'nin yeni, ekonomik açlık ve tokluk ortamında çözünme varyasyonu azalmış nanokristal içeren ağızda dağılan tableti başarıyla geliştirilmiş ve in vitro değerlendirmeleri tamamlanmıştır. ZHM nanokristallerinin hızlı çözünmesine bağlı artan biyoyararlanımının beklenildiği ve beraberinde açlık ve tokluk ortamından etkilenmeyen ağızda dağılan tabletlerinin hazırlanması şizofreni tedavi etkinliğini artırması açısından ümit vadetmektedir. In vivo çalışmalar ile desteklenmesi önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abdelbary, A., Elshafeey, A. H., and Zidan, G. (2009). Comparative effects of different cellulosic-based directly compressed orodispersible tablets on oral bioavailability of famotidine. *Carbohydrate polymers*, 77(4), 799-806.
- Abdelbary, G., Prinderre, P., Eouani, C., Joachim, J., Reynier, J. P., and Piccerelle, P. H. (2004). The preparation of orally disintegrating tablets using a hydrophilic waxy binder. *International journal of pharmaceutics*, 278(2), 423-433.
- Abrahamsson, B., and Lennernäs, H. (2009). Application of the biopharmaceutics classification system now and in the future. *Drug Bioavailability: Estimation of Solubility, Permeability, Absorption and Bioavailability, Volume 40, Second Edition*, 521-558.
- Acosta-Cuello, T. R., and Ouali, A. (1998). Fast-melt tablet and method of making same. *U.S. Patent No. 5,807,578*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- AG, A. (1998). Şizofreni epidemiyolojisi. *Şizofreni Dizisi*, 2, 64-74.
- Ahuja, B. K., Jena, S. K., Paidi, S. K., Bagri, S., and Suresh, S. (2015). Formulation, optimization and in vitro-in vivo evaluation of febuxostat nanosuspension. *International journal of pharmaceutics*, 478(2), 540-552.
- Ahuja, B. K., Jena, S. K., Paidi, S. K., Bagri, S., and Suresh, S. (2015). Formulation, optimization and in vitro-in vivo evaluation of febuxostat nanosuspension. *International journal of pharmaceutics*, 478(2), 540-552.
- Aksu, B. (2015). Tasarımla Kalite (Quality by design: QbD) ve Kalite Risk Yönetimi. *Marmara pharmaceutical Journal*, 19, 12-18.
- Aksu, B., Yegen, G., Purisa, S., Cevher, E., and Ozsoy, Y. (2014). Optimisation of ondansetron orally disintegrating tablets using artificial neural networks. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(9), 1374-1383.
- Alacam, H., Akgun, S., Akca, H., Ozturk, O., Kabukcu, B. B., and Herken, H. (2016). miR-181b-5p, miR-195-5p and miR-301a-3p are related with treatment resistance in schizophrenia. *Psychiatry Research*, 245, 200-206.
- Al-Habet, S. (1998). Clinic Pharmacology and Biopharmaceutics Review. *ZELDOX IM*.
- Allen, L. V., Wang, B., and Davis, J. D. (1998). Rapidly dissolving tablet. *US patent*, US005807576.
- Amasya, G., Badilli, U., Aksu, B., and Tarimci, N. (2016). Quality by design case study 1: Design of 5-fluorouracil loaded lipid nanoparticles by the W/O/W double emulsion—Solvent evaporation method. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 84, 92-102.
- American Psychiatric Association. (2004). Treating schizophrenia: a quick reference guide. *Arlington (VA): American Psychiatric Association*.

- Atasoy, N., Erdogan, A., Yalug, I., Ozturk, U., Konuk, N., Atik, L., and Ustundag, Y. (2007). A review of liver function tests during treatment with atypical antipsychotic drugs: a chart review study. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 31(6), 1255-1260.
- Attari, Z., Bhandari, A., Jagadish, P.C. and Lewis, S. (2016). Enhanced ex vivo intestinal absorption of olmesartan medoxomil nanosuspension: Preparation by combinative technology. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24, 57-63.
- Avrupa Farmakopesi, 8.0, Ziprasidone Hydrochloride Monohydrate, 3596-3598.
- Amerikan Farmakopesi, USP.
- Badgujar, B. P., and Mundada, A. S. (2011). The technologies used for developing orally disintegrating tablets: a review. *Acta pharmaceutica*, 61(2), 117-139.
- Bansal, R., Chandrabose, K., Moorthy, N. H. N., Singh, D. P., Singh, D., and Trivedi, P. (2016). A new simple and rapid validated RP-HPLC method for determination of ziprasidone in ziprasidone capsules. *Journal of Saudi Chemical Society*, 20, S161-S167.
- Basalious, E. B., El-Sebaie, W., and El-Gazayerly, O. (2013). Rapidly absorbed orodispersible tablet containing molecularly dispersed felodipine for management of hypertensive crisis: development, optimization and in vitro/in vivo studies. *Pharmaceutical development and technology*, 18(2), 407-416.
- Bera, H., Boddupalli, S., and Nayak, A. K. (2015). Mucoadhesive-floating zinc-pectinate-sterculia gum interpenetrating polymer network beads encapsulating ziprasidone HCl. *Carbohydrate polymers*, 131, 108-118.
- Bhowmik, D., Chiranjib, B., Krishnakanth, P., and Chandira, R. M. (2009). Fast dissolving tablet: an overview. *Journal of chemical and pharmaceutical research*, 1(1), 163-177.
- Bi, Y., Sunada, H., Yonezawa, Y., Danjo, K., Otsuka, A., Iida, K. (1996). Preparation and evaluation of a compressed tablet rapidly disintegrating in the oral cavity, *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 44, 2121-7
- Bobes, J., Cañas, F., Rejas, J., and Mackell, J. (2004). Economic consequences of the adverse reactions related with antipsychotics: an economic model comparing tolerability of ziprasidone, olanzapine, risperidone, and haloperidol in Spain. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 28(8), 1287-1297.
- Bonadeo, D., Ciccarello, F., and Pagano, A. (2000). Process for the preparation of a granulate suitable to the preparation of rapidly disintegrable mouth-soluble tablets and compositions obtained thereby. *U.S. Patent No. 6,149,938*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Brinholi, F. F., de Farias, C. C., Bonifácio, K. L., Higachi, L., Casagrande, R., Moreira, E. G., and Barbosa, D. S. (2016). Clozapine and olanzapine are better antioxidants than haloperidol, quetiapine, risperidone and ziprasidone in in vitro models. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 81, 411-415.

- Brniak, W., Jachowicz, R., and Pelka, P. (2015). The practical approach to the evaluation of methods used to determine the disintegration time of orally disintegrating tablets (ODTs). *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(4), 437-443.
- Brook, S., Swift, R., Harrigan, E. P., and Tensfeldt, T. (1997). The tolerability and efficacy of intramuscular ziprasidone. *European Neuropsychopharmacology*, 7, 215.
- Burns, M. J. (2001). The pharmacology and toxicology of atypical antipsychotic agents. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 39(1), 1-14.
- Caley, C. F., and Cooper, C. K. (2002). Ziprasidone: the fifth atypical antipsychotic. *Annals of Pharmacotherapy*, 36(5), 839-851.
- Canadian Psychiatric Association. (2005). Clinical practice guidelines: treatment of schizophrenia. *Canadian Journal of Psychiatry*, 50(13), 7S.
- Canadian Psychiatric Association. (2005). Clinical practice guidelines: treatment of schizophrenia. *Canadian Journal of Psychiatry*, 50(13), 7S.
- Chan, H. K., and Kwok, P. C. L. (2011). Production methods for nanodrug particles using the bottom-up approach. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63(6), 406-416.
- Charoo, N. A., Shamsher, A. A., Zidan, A. S., and Rahman, Z. (2012). Quality by design approach for formulation development: a case study of dispersible tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 423(2), 167-178.
- Chaubal, M. V., and Popescu, C. (2008). Conversion of nanosuspensions into dry powders by spray drying: a case study. *Pharmaceutical Research*, 25(10), 2302-2308.
- Chauhan, C., Naruka, P., and Kamble, R. K. (2011). Osmatic Delivery of Ziprasidone Hydrochloride. *Pelagia Research Library*, 2(5), 154-162.
- Chou, P. H., Chu, C. S., Lin, C. H., Cheng, C., Chen, Y. H., Lan, T. H., and Huang, M. W. (2016). Use of atypical antipsychotics and risks of cataract development in patients with schizophrenia: A population-based, nested case-control study. *Schizophrenia Research*, 174(1), 137-143.
- Chudasama, J. D., Channabasavaraj, K. P., Modiya, J. S., and Mani, T. T. (2011). Development And Validation of Three New Assay Methods For Ziprasidone Hcl Monohydrate Using UV-spectrophotometry. *International Journal of Pharmaceutical Research & Development*, 3(3), 57-63.
- Cirri, M., Rangoni, C., Maestrelli, F., Corti, G., and Mura, P. (2005). Development of fast-dissolving tablets of flurbiprofen-cyclodextrin complexes. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 31(7), 697-707.
- Clarke, A., Brewer, F., Johnson, E. S., Mallard, N., Hartig, F., Taylor, S., and Corn, T. H. (2003). A new formulation of selegiline: improved bioavailability and selectivity for MAO-B inhibition. *Journal of Neural Transmission*, 110(11), 1241-1255.

- Comoglu T., Dogan A., Comoglu S., Basci N. (2011) "Formulation and evaluation of diclofenac potassium fast disintegrating tablets and their clinical application in migraine patients" *Drug Development&Industrial Pharmacy*, 37(3) : 260-267.
- Cooper, E. R. (2010). Nanoparticles: a personal experience for formulating poorly water soluble drugs. *Journal of Controlled Release*, 141(3), 300-302.
- Coplan, J., Gugger, J. J., and Tasleem, H. (2013). Tardive dyskinesia from atypical antipsychotic agents in patients with mood disorders in a clinical setting. *Journal of Affective Disorders*, 150(3), 868-871.
- Dang, R., Jiang, P., Cai, H., Li, H., Guo, R., Wu, Y., Zhang, L., Zhu, W., He, X., Liu, Y., and Xu, P. (2015). Vitamin D deficiency exacerbates atypical antipsychotic-induced metabolic side effects in rats: Involvement of the INSIG/SREBP pathway. *European Neuropsychopharmacology*, 25(8), 1239-1247.
- Dear, J. W., and Bateman, D. N. (2016). Antipsychotic drugs. *Medicine*, 44(3), 143-144..
- Dening, T. J., Rao, S., Thomas, N., and Prestidge, C. A. (2016). Silica encapsulated lipid-based drug delivery systems for reducing the fed/fasted variations of ziprasidone in vitro. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 101, 33-42.
- Desai, S., Poddar, A., and Sawant, K. (2016). Formulation of cyclodextrin inclusion complex-based orally disintegrating tablet of eslicarbazepine acetate for improved oral bioavailability. *Materials Science and Engineering: C*, 58, 826-834.
- Deveci, A., and Danacı, A. E. (2001). Ziprasidon: Yeni bir atipik antipsikotik ilaç. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 11, 276-282.
- Dewalkar, H., Hariprasanna, R. C., and Kulkarni, U. (2012). Development of fast dissolving tablets containing ziprasidone by solid dispersion method. *Journal of Pharmaceutical Science and Bioscientific Research*, 2(1), 18-24.
- Dobetti, L. (2001). Fast-melting tablets: Developments and technologies. *Pharmaceutical Technology*, 25(9; SUPP), 44-50.
- Dolenc, A., Kristl, J., Baumgartner, S., and Planinšek, O. (2009). Advantages of celecoxib nanosuspension formulation and transformation into tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 376(1), 204-212.
- Dong, Y., Ng, W. K., Hu, J., Shen, S., and Tan, R. B. (2014). Clay as a matrix former for spray drying of drug nanosuspensions. *International journal of pharmaceutics*, 465(1), 83-89.
- Dressman, J. B., and Reppas, C. (2000). In vitro–in vivo correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11, 73-80.
- Durgam, S., Earley, W., Li, R., Li, D., Lu, K., Laszlovszky, I., Fleischhacker, W. W., and Nasrallah, H. A. (2016). Long-term cariprazine treatment for the prevention of relapse in patients with schizophrenia: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Schizophrenia Research*, 176, 264-271.

- Elkhodairy, K. A., Hassan, M. A., and Afifi, S. A. (2014). Formulation and optimization of orodispersible tablets of flutamide. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 22(1), 53-61.
- El-Nabarawi, M. A., El-Miligi, M. F., Khalil, I. A., and El-Nabarawy, N. A. (2013). Applying QBD approach to develop ODTs containing aceclofenac solid dispersion with ranitidine HCl using direct compression technique, then pharmaceutically evaluating and pharmacologically confirming the therapeutic actions. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 5, 577-593.
- Eoga, A. B., and Valia, K. H. (1999). Method for making fast-melt tablets. *U.S. Patent No. 5,939,091*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Farina, C., Kremser, L., Raggi, M. A., and Kenndler, E. (2008). Determination of Ziprasidone in pharmaceutical formulations by capillary zone electrophoresis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 46(3), 471-476.
- Farshi, F., Avcı, R. vd., Abdi İbrahim İlaç. San. ve Tic. A.Ş. (2011). Enhanced Solubility of Ziprasidone. *European Patent, EP 2340834A1*.
- Fatima, S., Gauhar, S., Yousuf, R. I., and Muhammad, I. N. (2013). Biorelevant dissolution media: a predictive means for in vivo performance of simvastatin tablets. *International Journal of Biopharmaceutics*, 4(3), 214-218.
- Fell, M. J., Gibson, R., McDermott, E., Sisodia, G., Marshall, K. M., and Neill, J. C. (2005). Investigation into the effects of the novel antipsychotic ziprasidone on weight gain and reproductive function in female rats. *Behavioural Brain Research*, 160(2), 338-343.
- Fini, A., Bergamante, V., Ceschel, G. C., Ronchi, C., and de Moraes, C. A. F. (2008). Fast dispersible/slow releasing ibuprofen tablets. *European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics*, 69(1), 335-341.
- Fu, Y., Yang, S., Jeong, S. H., Kimura, S., and Park, K. (2004). Orally fast disintegrating tablets: developments, technologies, taste-masking and clinical studies. *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 21(6), 433- 476.
- Gabilondo, A., Alonso-Moran, E., Nuño-Solinis, R., Orueta, J. F., and Iruin, A. (2017). Comorbidities with chronic physical conditions and gender profiles of illness in schizophrenia. Results from PREST, a new health dataset. *Journal of Psychosomatic Research*, 93, 102-109.
- Galia, E., Nicolaides, E., Hörter, D., Löbenberg, R., Reppas, C., and Dressman, J. B. (1998). Evaluation of various dissolution media for predicting in vivo performance of class I and II drugs. *Pharmaceutical Research*, 15(5), 698-705.
- Gao, L., Liu, G., Ma, J., Wang, X., Zhou, L., and Li, X. (2012). Drug nanocrystals: in vivo performances. *Journal of Controlled Release*, 160(3), 418-430.
- Gao, Y., Wang, C., Sun, M., Wang, X., Yu, A., Li, A., and Zhai, G. (2012). In vivo evaluation of curcumin loaded nanosuspensions by oral administration. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 8(4), 659-668.

- Garud, S. S., Derle, D. V., Valavi, A. B., Shaikh, S. J., and Derle, N. D. A Review on: Orodispersible Tablet (ODT) Technology-A Novel Approach to Develop the Supergenerics. *Internatinal Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 26(2): 231-236.
- George, M., and Ghosh, I. (2013). Identifying the correlation between drug/stabilizer properties and critical quality attributes (CQAs) of nanosuspension formulation prepared by wet media milling technology. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48(1), 142-152.
- Golden, G., Honigfeld, G. 2008. 'Bioequivalence of clozapine orally disintegrating 100-mg tablets compared with clozapine solid oral 100-mg tablets after multiple doses in patients with schizophrenia', *Clinical Drug Investigation*, 28 (4), 231-239.
- Gulsun, T., Gursoy, R. N., and Levent, O. (2009). Nanocrystal technology for oral delivery of poorly water-soluble drugs. *FABAD J Pharm Sci*, 34(5).
- Gulsun, T., Gursoy, R. N., and Oner, L. (2011). Design and characterization of nanocrystal formulations containing ezetimibe. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 59(1), 41-45.
- Guo, J. J., Yue, P. F., Lv, J. L., Han, J., Fu, S. S., Jin, S. X., Jin, S. Y., and Yuan, H. L. (2013). Development and in vivo/in vitro evaluation of novel herpentrione nanosuspension, *International Journal of Pharmaceutics*, 441(1), 227– 233.
- Habib, W., Khankari, R., Hontz, J. 2000. 'Fast dissolve drug delivery systems. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*', 17 (1): 61-72.
- Hafner, H., and Heiden, W. (1997). Epidemiology of Schizopherina. *Canadian Journal of Psychiatry*, 42(2), 139-151.
- Harvey, P.D., Pappadopulos, E., Lombardo, I. and Kremer, C.M. (2009). ReductioN of functional disability with atypical antipsychotic treatment: Arandomized long term comparison of ziprasidone and haloperidol. *Schizophrenia Research*, 115, 24-29.
- Harvey, P. D., and Rosenthal, J. B. (2016). Treatment resistant schizophrenia: Course of brain structure and function. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 70, 111-116.
- Harvey, P. D., Meltzer, H., Simpson, G. M., Potkin, S. G., Loebel, A., Siu, C., and Romano, S. J. (2004). Improvement in cognitive function following a switch to ziprasidone from conventional antipsychotics, olanzapine, or risperidone in outpatients with schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 66(2), 101-113.
- Hirani, J., Rathod, D., Vadalia, K. (2009). Orally Disintegrating Tablets: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 8(2), 161-172
- Hong, C., Dang, Y., Lin, G., Yao, Y., Li, G., Ji, G., Shen, H., and Xie, Y., (2014). Effects of stabilizing agents on the development of myricetin nanosuspension and its characterization: an in vitro and in vivo evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, 477(1), 251–260

- Hovey D, Pruiit J, and Ryde T. (2006). Nanoparticulate megestrol formulations. *U.S. Patent No. 7,101,576*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- ICH Q8, International Conference on Harmonisation of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. (2009). *Pharmaceutical Development Q8(R2)*, step 4 version.
- ICH Q9, International Conference on Harmonisation of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. (2005). *Quality Risk Management Q9(R2)*, step 4 version.
- Ishikawa, T., Watanabe, Y., Utoguchi, N., and Matsumoto, M. (1999). Preparation and Evaluation of Tablets Rapidly Disintegrating in Salive Containing Bitter-Taste-Masked Granules by the Compression Method. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 47(10), 1451-1454.
- Jablensky, A. (1997). The 100-year epidemiology of schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 28(2), 111-125.
- Jacobs, C., and Müller, R. H. (2002). Production and characterization of a budesonide nanosuspension for pulmonary administration. *Pharmaceutical Research*, 19(2), 189-194.
- Jadhav, K. S., and Erande, K. B. (2016). Solubility enhancement and formulation of fast dissolving tablet of ziprasidone hydrochloride. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 6(4), 675-683.
- Jain, C. P., and Naruka, P. S. (2009). Formulation and evaluation of fast dissolving tablets of valsartan. *Int J Pharm Pharm Sci*, 1(1), 219-226.
- Jayagopal, B. and Shivashankar, M. (2017). Analytical Quality by Design –A Legitimate Paradigm for Pharmaceutical Analytical Method Development and Validation. *Mechanics, Materials Science & Engineering Journal, Magnolithe*, 2017, 9
- Jeong, S. H., and Park, K. (2008). Development of sustained release fast-disintegrating tablets using various polymer-coated ion-exchange resin complexes. *International Journal of Pharmaceutics*, 353(1), 195-204.
- Jeong, S. H., Takaishi, Y., Fu, Y., and Park, K. (2008). Material properties for making fast dissolving tablets by a compression method. *Journal of Materials Chemistry*, 18(30), 3527-3535.
- Jones, P., and Cannon, M. (1998). The new epidemiology of schizophrenia. *Psychiatric Clinics of North America*, 21(1), 1-25.
- Junghanns, J. U., and Müller, R. H. (2008). Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. *Int J Nanomedicine*, 3(3), 295-309.
- Junyaprasert, V. B., and Morakul, B. (2015). Nanocrystals for enhancement of oral bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(1), 13-23.

- Karakucuk, A., Celebi, N., and Teksin, Z. S. (2016). Preparation of ritonavir nanosuspensions by microfluidization using polymeric stabilizers: I. A Design of Experiment approach. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 95, 111-121.
- Katteboinaa, S., Chandrasekhar, V. S. R. P., and Balaji, S. (2009). Drug nanocrystals: a novel formulation approach for poorly soluble drugs. *International Journal Of Pharmtech Research*, 1(3), 682-694.
- Kaushik, D., Dureja, H., and Saini, T. R. (2004). Orally disintegrating tablets: An overview of melt-in mouth tablet technologies and techniques. *Tablets Capsules*, 2(4), 30-36.
- Keck, C. M., and Müller, R. H. (2006). Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 62(1), 3-16.
- Khatri, S., Saini, S., Gangawat, K., and Gurubalaji, S. (2014). Pharmaceutical QbD: Concepts for drug product development. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 26(1), 84-91.
- Klein, S. (2010). The use of biorelevant dissolution media to forecast the in vivo performance of a drug. *The AAPS journal*, 12(3), 397-406.
- Koch, W. M. (1993). Swallowing disorders: Diagnosis and therapy. *Medical Clinics of North America*, 77(3), 571-582.
- Kozlowski-Gibson, M. (2016). The struggle for schizophrenia treatment: A case study. *International Journal of Law and Psychiatry*, 49, 124-129.
- Krause, K. P., and Müller, R. H. (2001). Production and characterisation of highly concentrated nanosuspensions by high pressure homogenisation. *International journal of pharmaceutics*, 214(1), 21-24.
- Kudla, D., Lambert, M., Domin, S., Kasper, S., and Naber, D. (2007). Effectiveness, tolerability, and safety of ziprasidone in patients with schizophrenia or schizoaffective disorder: results of a multi-centre observational trial. *European Psychiatry*, 22(3), 195-202.
- Kul, D., Gumustas, M., Uslu, B., and Ozkan, S. A. (2010). Electroanalytical characteristics of antipsychotic drug ziprasidone and its determination in pharmaceuticals and serum samples on solid electrodes. *Talanta*, 82(1), 286-295.
- Kumar, S., Gokhale, R., and Burgess, D. J. (2014). Quality by design approach to spray drying processing of crystalline nanosuspensions. *International journal of pharmaceutics*, 464(1), 234-242.
- Kumar, S., Gupta, S. K., and Sharma, P. K. (2012). A review on recent trends in oral drug delivery-fast dissolving formulation technology. *Advances in Biological Research*, 6(1), 06-13.
- Kumar, S., Xu, X., Gokhale, R., and Burgess, D. J. (2014). Formulation parameters of crystalline nanosuspensions on spray drying processing: a DoE approach. *International journal of pharmaceutics*, 464(1), 34-45.

- Kumar, Y. A., Anitha, M., Hemanth, A., and Srinivas, S. (2010). Development of rapid UV Spectrophotometric method for the estimation of Ziprasidone hydrochloride in bulk and formulations. *Dig J Nanomater Bios*, 5(1), 279-283.
- Kumaresan, C. 2008. 'Orally Disintegrating Tablet - Rapid Disintegration, Sweet Taste, and Target Release Profile', *Pharmaceutical Reviews*. 6(5), 25-36.
- Kusumi, I., Honda, M., Uemura, K., Sugawara, Y., Kohsaka, M., Tochigi, A., and Koyama, T. (2012). Effect of olanzapine orally disintegrating tablet versus oral standard tablet on body weight in patients with schizophrenia: a randomized open-label trial. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 36(2), 313-317.
- Lai, F., Pini, E., Angioni, G., Manca, M. L., Perricci, J., Sinico, C., and Fadda, A. M. (2011). Nanocrystals as tool to improve piroxicam dissolution rate in novel orally disintegrating tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 79(3), 552-558.
- Lai, F., Pini, E., Corrias, F., Perricci, J., Manconi, M., Fadda, A. M., and Sinico, C. (2014). Formulation strategy and evaluation of nanocrystal piroxicam orally disintegrating tablets manufacturing by freeze-drying. *International Journal of Pharmaceutics*, 467(1), 27-33.
- Langguth, P., Hanafy, A., Frenzel, D., Grenier, P., Nhamias, A., Ohlig, T., Vergnault, G., and Spahn-Langguth, H. (2005). Nanosuspension formulations for low-soluble drugs: pharmacokinetic evaluation using spironolactone as model compound. *Drug Development And Industrial Pharmacy*, 31(3), 319-329.
- Late, S., Yu, Y., Banga, A. (2009). Effects of disintegration-promoting agent, lubricants and moisture treatment on optimized fast disintegration tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 365, 4-11.
- Lee, J., Lee, S. J., Choi, J. Y., Yoo, J. Y., and Ahn, C. H. (2005). Amphiphilic amino acid copolymers as stabilizers for the preparation of nanocrystal dispersion. *European JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES*, 24(5), 441-449.
- Lew, M.F. 2005. 'Selegiline orally disintegrating tablets for the treatment of Parkinson's disease', *Expert Review Neurotherapeutics*, 5(6): 705-712.
- Lipscombe, L. L., Austin, P. C., Alessi-Severini, S., Blackburn, D. F., Blais, L., Bresee, L., Fillion, K. B., Kawasumi, Y., Kurdyak, P., Platt, R. W., Tamim, H., and Paterson J. M. (2014). Atypical antipsychotics and hyperglycemic emergencies: Multicentre, retrospective cohort study of administrative data. *Schizophrenia Research*, 154(1), 54-60.
- Liversidge, G., and Jenkins, S. inventors; Elan Pharma International Limited, assignee. (2006). *Nanoparticulate candesartan formulations*. WO 074218.
- Makino, T, Yamada, M., Kikuta, J. 1993. Fast dissolving tablet and its production. *European Patent*. 0553777A2.

- Malakar, J., Basu, A., and Ghosh, A. (2012). Nanosuspension: A nano-heterogeneous carrier for drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives*, 3(1), 4-13.
- Mauludin, R., Müller, R. H., and Keck, C. M. (2009). Kinetic solubility and dissolution velocity of rutin nanocrystals. *European Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 36(4), 502-510.
- Merisko-Liversidge, E. M., and Liversidge, G. G. (2008). Drug nanoparticles: formulating poorly water-soluble compounds. *Toxicologic Pathology*, 36(1), 43-48.
- Miceli, J. J., Glue, P., Alderman, J., and Wilner, K. (2007). The effect of food on the absorption of oral ziprasidone. *Psychopharmacol Bull*, 40(3), 58-68.
- Miceli, J. J., Wilner, K. D., Hansen, R. A., Johnson, A. C., Apseloff, G., and Gerber, N. (2000). Single-and multiple-dose pharmacokinetics of ziprasidone under non-fasting conditions in healthy male volunteers. *British Journal Of Clinical Pharmacology*, 49(S1), 5-13.
- Montgomery, D. C. (2012). *Design and analysis of Experiments (8. Basim)*. New York: John Wiley and Sons.
- Möschwitzer, J. (2010). PARTICLE SIZING: Nanotechnology: Particle Size Reduction Technologies in the Pharmaceutical Development Process. *American Pharmaceutical Review*, 13(3), 54.
- Möschwitzer, J. P. (2013). Drug nanocrystals in the commercial pharmaceutical development process. *International Journal Of Pharmaceutics*, 453(1), 142-156.
- Möschwitzer, J., Nadiem Bushrab, F., and Müller, R. H. (2006). Manufacturing of nanoparticles by milling and homogenization techniques. In *Nanoparticle Technology For Drug Delivery*. CRC Press.
- Müller, R. H., and Keck, C. M. (2012). Twenty years of drug nanocrystals: where are we, and where do we go?. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 80(1), 1-3.
- Müller, R. H., Becker, R., Kruss, B., and Peters, K. (1999). Pharmaceutical nanosuspensions for medicament administration as systems with increased saturation solubility and rate of solution. *U.S. Patent No. 5,858,410*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Muller, R. H., Bohm, B. H. L., and Grau, J. (2000). Nanosuspensions: a formulation approach for poorly soluble and poorly bioavailable drugs. *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*, 345-357.
- Müller, R. H., Gohla, S., and Keck, C. M. (2011). State of the art of nanocrystals—special features, production, nanotoxicology aspects and intracellular delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 78(1), 1-9.

- Müller, R. H., Jacobs, C., and Kayser, O. (2001). Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy: rationale for development and what we can expect for the future. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47(1), 3-19.
- Mullins, C. D., Shaya, F. T., Zito, J. M., Obeidat, N., Naradzay, J., and Harrison, D. J. (2006). Effect of initial ziprasidone dose on treatment persistence in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 83(2), 277-284.
- Narazaki, R., Harada, T., Takami, N., Kato, Y., Ohwaki, T.: A new method for disintegration studies of rapid disintegrating tablet, *Chem Pharm Bull*, 52, 704-707 (2004)
- Nishiyama, T., Ogata, T., and Ozeki, T. (2016). Preparation of bitter taste-masking granules of lafutidine for orally disintegrating tablets using water-insoluble/soluble polymer combinations. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 32, 38-42.
- Ölmez, S. S., Vural, İ., Şahin, S., Ertuğrul, A., and Çapan, Y. (2010). Ağızda dağılan tabletler 1: Hazırlama teknolojileri. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 30, 205-30.
- Ölmez, S. S., Vural, İ., Şahin, S., Ertuğrul, A., and Çapan, Y. (2011). Ağızda dağılan tabletler II: In vitro ve in vivo değerlendirilmeleri. *Hacettepe Üniv Ecz Fak Der*, 31(1), 59-70.
- Ölmez, S.S., Vural, İ. 2009. 'Advantages and quality control of orally disintegrating tablets', *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 34: 167-172.
- Öztürk, M. O. (1994). Ruh Sağlığı ve Bozuklukları. *Hekimler Yayın Birliği*, 175-221.
- Pahwa, R., Piplani, M., Sharma, P. C., Kaushik, D., and Nanda, S. (2010). Orally disintegrating tablets-Friendly to pediatrics and geriatrics. *Archives Of Applied Science Research*, 2(2), 35-48.
- Paixão, P., Gouveia, L. F., and Morais, J. A. (2010). Prediction of the in vitro permeability determined in Caco-2 cells by using artificial neural networks. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41(1), 107-117.
- Patil, J. S., Korachagaon, A., Shiralashetti, S., and Marapur, S. (2012). Enhancing dissolution rate of ziprasidone via co-grinding technique with highly hydrophilic carriers. *J Pharm Sci*, 2, 26-32.
- Patravale, V. B., and Kulkarni, R. M. (2004). Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. *Journal Of Pharmacy And Pharmacology*, 56(7), 827-840.
- Pérez-Iglesias, R., de la Foz, V. O. G., García, O. M., Amado, J. A., Garcia-Unzueta, M. T., Ayesa-Arriola, R., Suarez-Pinilla, P., Tabares-Seisdedos, R., and Crespo-Facorro, B. (2014). Comparison of metabolic effects of aripiprazole, quetiapine and ziprasidone after 12 weeks of treatment in first treated episode of psychosis. *Schizophrenia Research*, 159(1), 90-94.
- Pfizer U.S. Pharmaceuticals, Attachment 1 Ziprasidone, NDA 20-825 Approval Letter and Labeling, 4-28.

- Poluri, K., Mulpur, E., Puttugunta, S. B., and Govada, K. B. (2013). Formulation development and evaluation of novel oral soluble films of ziprasidone hydrochloride in the treatment of schizophrenia. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(2), 600-608.
- Prajapati, B. G., and Ratnakar, N. (2009). A review on recent patents on fast dissolving drug delivery system. *International Journal of PharmTech Research*, 1(3), 790-798.
- Prakash, C., Kamel, A., Anderson, W., and Howard, H. (1997). Metabolism and Excretion of the Novel Antipsychotic Drug Ziprasidone in Rats after Oral Administration of a Mixture of <sup>14</sup>C- and <sup>3</sup>H-Labeled Ziprasidone. *Drug Metabolism And Disposition*, 25(2), 206-218.
- Prasanthi, N. L., and Rama, R. N. (2010). Starch Phosphate: A Novel Pharmaceutical Excipient for Tablet Formulation. *Journal of Pharmacy Research*, 3(12), 2919-23.
- Prasanthi, N. L., Manikiran, S. S., and Rao, N. R. (2010). Design and evaluation of orodispersible tablets of ziprasidone hydrochloride. *The Indian Pharmacist*, 9(5), 92-96.
- Prasanthi, N. L., Manikiran, S. S., and Rao, N. R. (2011). In vitro drug release studies of ziprasidone from tablets using natural gums from biosphere. *Scholars Research Library*, 3(2), 513-519.
- Priya, M. G. R., Karikalan, M., Asadulla, S., Rajesh, S., Krishna, J. S. R., and Sridhar, S. V. (2011). Development and Method Validation Using HPLC for Assay of Ziprasidone Capsule. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(9), 2325.
- Quan, P., Shi, K., Piao, H., Piao, H., Liang, N., Xia, D., and Cui, F. (2012). A novel surface modified nitrendipine nanocrystals with enhancement of bioavailability and stability. *International Journal Of Pharmaceutics*, 430(1), 366-371.
- Que, L., Wu, W., Cheng, X., and Hu, T. (2006). Evaluation of disintegrating time of rapidly disintegrating tablets by a paddle method. *Pharmaceutical development and technology*, 11(3), 295-301.
- Rabinow, B. (2009). Pharmacokinetics of drugs administered in nanosuspension. *Discovery Medicine*, 5(25), 74-79.
- Rabinow, B., Kipp, J., Papadopoulos, P., Wong, J., Glosson, J., Gass, J., Sun, C.S., Wielgos, T., White, R., Cook, C., Barker, K., and Wood, K., (2007). Itraconazole IV nanosuspension enhances efficacy through altered pharmacokinetics in the rat. *International Journal Of Pharmaceutics*, 339(1), 251-260.
- Rahman, Z., Siddiqui, A., Khan, M.A. 2013. 'Orally disintegrating tablet of novel salt of antiepileptic drug: Formulaiton strategy and evaluation', *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 85 (3): 1300-1309.
- Rajput, A.P., Prakash, P.V., Motilal, C., and Prakash, C. S. (2013). Nose to brain delivery of ziprasidone microemulsion: Design amd characterisation. *International Research Journal of Pharmacy*, 4(7), 170-177.

- Rani, S., Saroha, K., and Nanda, S. (2012). Transdermal drug delivery of ziprasidone hydrochloride monohydrate by physical penetration enhancer. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 12(2), 72-74.
- Rathore, A.(2016). Quality by Design (QbD)-Based Process Development for Purification of a Biotherapeutic. *Trend Biotechnology*. 34(5), 358-370.
- Reddy, A. M., Babu, P. S., Harshita, B., and Sravya, R. (2013). Conventional and patented technologies in oral dispersible tablets: a review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 6(4), 286-292.
- Reddy, L.H., Ghosh, B., 2002. 'Fast dissolving drug delivery systems: a review of the literature' *Indian Journal of Pharmaceutical Science*, 64 (4): 331- 336.
- Rege, B. D., Yu, L. X., Hussain, A. S., and Polli, J. E. (2001). Effect of common excipients on Caco-2 transport of low-permeability drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90(11), 1776-1786.
- Romero, G. B., Chen, R., Keck, C. M., and Müller, R. H. (2015). Industrial concentrates of dermal hesperidin smartCrystals®—production, characterization & long-term stability. *International Journal Of Pharmaceutics*, 482(1), 54-60.
- Sacchetti, E., Galluzzo, A., Valsecchi, P., Romeo, F., Gorini, B., Warrington, L., and MOZART Study Group. (2009). Ziprasidone vs clozapine in schizophrenia patients refractory to multiple antipsychotic treatments: the MOZART study. *Schizophrenia Research*, 113(1), 112-121.
- Salazar, J., Heinzerling, O., Müller, R. H., and Möschwitzer, J. P. (2011). Process optimization of a novel production method for nanosuspensions using design of experiments (DoE). *International Journal of Pharmaceutics*, 420(2), 395-403.
- Sammour, O. A., Hammad, M. A., Megrab, N. A., and Zidan, A. S. (2006). Formulation and optimization of mouth dissolve tablets containing rofecoxib solid dispersion. *AAPS PharmSciTech*, 7(2), E167-E175.
- Sammour, O. A., Hammad, M. A., Zidan, A. S., and Mowafy, A. G. (2011). QbD approach of rapid disintegrating tablets incorporating indomethacin solid dispersion. *Pharmaceutical Development And Technology*, 16(3), 219-227.
- Sastry, S.V., Nyshadham, J.R. Fix, J.A. (2000). Recent technological advances in oral drugdelivery - a review, *Pharm Sci Technolo Today*, 3, 138-145.
- Schiermeier, S., and Schmidt, P. C. (2002). Fast dispersible ibuprofen tablets. *European Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 15(3), 295-305.
- Scholz, P., and Keck, C. M. (2015). Flavonoid nanocrystals produced by ARTcrystal®-technology. *International Journal Of Pharmaceutics*, 482(1), 27-37.
- Scholz, P., Arntjen, A., Müller, R. H., and Keck, C. M. (2014). ARTcrystal® process for industrial nanocrystal production—optimization of the ART MICCRA pre-milling step. *International Journal Of Pharmaceutics*, 465(1), 388-395.

- Seager, H. (1998). Drug-delivery products and the Zydis fast-dissolving dosage form. *Journal of Pharmacy And Pharmacology*, 50(4), 375-382.
- Segale, L., Maggi, L., Machiste, E. O., Conti, S., Conte, U., Grenier, A., and Besse, C. (2007). Formulation design and development to produce orodispersible tablets by direct compression. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 17(3), 199-203.
- Shahbazi Niaz, M., Traini, D., Young, P. M., Ghadiri, M., and Rohanzadeh, R. (2014). Investigation into physical–chemical variables affecting the manufacture and dissolution of wet-milled clarithromycin nanoparticles. *Pharmaceutical Development and Technology*, 19(8), 911-921.
- Sharma, S., Verma, A., Teja, B. V., Shukla, P., and Mishra, P. R. (2015). Development of stabilized Paclitaxel nanocrystals: In-vitro and in-vivo efficacy studies. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 69, 51-60.
- Sharma, V., Philip, A. K., and Pathak, K. (2008). Modified polysaccharides as fast disintegrating excipients for orodispersible tablets of roxithromycin. *AAPS PharmSciTech*, 9(1), 87.
- Shegokar, R., and Müller, R. H. (2010). Nanocrystals: industrially feasible multifunctional formulation technology for poorly soluble actives. *International Journal of Pharmaceutics*, 399(1), 129-139.
- Shimizu, T., Nakano, Y., Morimoto, S., Tabata, T., Hamaguchi, N., and Igari, Y. (2003). Formulation study for lansoprazole fast-disintegrating tablet. I. Effect of compression on dissolution behavior. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 51(8), 942-947.
- Shoukri, R. A., Ahmed, I. S., and Shamma, R. N. (2009). In vitro and in vivo evaluation of nimesulide lyophilized orally disintegrating tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 73(1), 162-171.
- Siddiqui, M. N., Garg, G., and Sharma, P. K. (2010). Fast dissolving tablets: preparation, characterization and evaluation: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 4(2), 87-96.
- Sinha, B., Müller, R. H., and Möschwitzer, J. P. (2013). Bottom-up approaches for preparing drug nanocrystals: formulations and factors affecting particle size. *International Journal of Pharmaceutics*, 453(1), 126-141.
- Sinha, S., Ali, M., Baboota, S., Ahuja, A., Kumar, A., and Ali, J. (2010). Solid dispersion as an approach for bioavailability enhancement of poorly water-soluble drug ritonavir. *Aaps Pharmscitech*, 11(2), 518-527.
- Sivannarayana, P., Prameela Ranni, A., Saikishore, V. 2013. 'Formulaiton and in-vitro characterisation of fast disintegrating tablets of ziprosidone', *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 4 (3): 1424-1431.
- Slavkova, M., and Breitkreutz, J. (2015). Orodispersible drug formulations for children and elderly. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 75, 2-9.

- Source. Adapted from Tandon, R. 1998. 'Antipsychotic Agents' in *Current Psychotherapeutic Drugs, Second Edition*. Edited by Quitkin FM, Adams DC, Bowden CL, et al. Philadelphia, PA, *Current Medicine*, 120–154.
- Srivastava, S. K., Verma, R., Chandra, V., and Srivastava, S. P. (2014). Orally disintegrating tablets: A dosage form that extends the market exclusivity and patient protection. *World J. Pharmacy Pharm. Sci*, 3, 526-546.
- Stange, U., Führling, C., and Gieseler, H. (2013). 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*, 102(6), 1786-1799.
- Stimmel, G. L., Gutierrez, M. A., and Lee, V. (2002). Ziprasidone: an atypical antipsychotic drug for the treatment of schizophrenia. *Clinical Therapeutics*, 24(1), 21-37.
- Stip, E., Zhornitsky, S., Motesafi, H., Létourneau, G., Stikarovska, I., Potvin, S., and Tourjman, V. (2011). Ziprasidone for psychotic disorders: a meta-analysis and systematic review of the relationship between pharmacokinetics, pharmacodynamics, and clinical profile. *Clinical Therapeutics*, 33(12), 1853-1867.
- Stip, E., Zhornitsky, S., Potvin, S., and Tourjman, V. (2010). Switching from conventional antipsychotics to ziprasidone: a randomized, open-label comparison of regimen strategies. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 34(6), 997-1000.
- Tang, X. J., Fu, Y. H., Meng, Q. H., Li, L. M., Ying, X. Y., Han, M., He, Q. J., Yang, B., Zeng, S., Hu, Y. Z., Sheng, X. X., and Gao, J. Q. (2013). Evaluation of pluronic nanosuspensions loading a novel insoluble anticancer drug both in vitro and in vivo. *International Journal Of Pharmaceutics*, 456(1), 243-250.
- Tanimura, S., Tahara, K., and Takeuchi, H. (2015). Spray-dried composite particles of erythritol and porous silica for orally disintegrating tablets prepared by direct tableting. *Powder Technology*, 286, 444-450.
- Tashan, E., Karakucuk, A., Celebi, N., (2017). Ağızda Dağılan Tabletler: Genel Bakış ve Tasarımla Kalite Yaklaşımı. *Türkiye Klinikleri J Pharm Sci*, 6(1), 43-58.
- Teeranachaideekul, V., Junyaprasert, V. B., Souto, E. B., and Müller, R. H. (2008). Development of ascorbyl palmitate nanocrystals applying the nanosuspension technology. *International Journal of Pharmaceutics*, 354(1), 227-234.
- Thakur, R.R, Narwal, S.2012. 'Orally disintegrating preparations: recent advancement in formulation and technology', *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 2 (3): 87-96.
- Thombre, A. G., Herbig, S. M., and Alderman, J. A. (2011). Improved ziprasidone formulations with enhanced bioavailability in the fasted state and a reduced food effect. *Pharmaceutical Research*, 28(12), 3159–3170.

- Thombre, A. G., Shah, J. C., Sagawa, K., and Caldwell, W. B. (2012). In vitro and in vivo characterization of amorphous, nanocrystalline, and crystalline ziprasidone formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 428(1), 8-17.
- Thombre, A. G., Shamblin, S. L., Malhotra, B. K., Connor, A. L., Wilding, I. R., and Caldwell, W. B. (2015). Pharmacoscintigraphy studies to assess the feasibility of a controlled release formulation of ziprasidone. *Journal of Controlled Release*, 213, 10-17.
- Emine Tuncay, (2010), 'Oral Dağılabilen Tablet Formülasyonlarının Geliştirilmesi ve Değerlendirilmesi' *Yüksek Lisans Tezi*, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Usha, Y. N., Angel, T. T., and Udupa, N. (2010). Nanotechnology: perspectives on solubility/bioavailability enhancement. *The Pharma Review*, 8, 59-66.
- Van Eerdenbrugh, B., Van den Mooter, G., and Augustijns, P. (2008). Top-down production of drug nanocrystals: nanosuspension stabilization, miniaturization and transformation into solid products. *International Journal of Pharmaceutics*, 364(1), 64-75.
- Van Maanen, R., and Bentley, D. (2009). Bioequivalence of zonisamide orally dispersible tablet and immediate-release capsule formulations: results from two open-label, randomized-sequence, single-dose, two-period, two-treatment crossover studies in healthy male volunteers. *Clinical Therapeutics*, 31(6), 1244-1255.
- Velmurugan, S., and Vinushitha, S. (2010). Oral disintegrating tablets: An overview. *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 1(2), 1-12.
- Ventura, C. A, Giannone, I, Musumeci, T., Pignatello, R., Puglisi, G. 2007. 'Technological evaluation and equivalence assessment of lorazepam tablets in rabbits', *Pharmazie*, 62 (7), 515-518.
- Verma, S., Huey, BD., Burgess, DJ. 2009. 'A scanning probe microscopy method for nanosuspension stabilizer selection'. *Langmuir*, 25(21): 12481-12487.
- Verma, S., Kumar, S., Gokhale, R. and Burgess, DJ. 2011. 'Physical stability of nanosuspensions: investigation of the role of stabilizers on Oswald ripening. *International Journal of Pharmaceutics*, 406(1-2), 145-152.
- Vijayalakshmi, R., Satish Chandra, B., Sravya, K., Jahnavi, N., and Dhanaraju, M. D. (2009). Spectrophotometric determination of ziprasidone hydrochloride in pharmaceutical formulations. *Oriental Journal of Chemistry*, 25(4), 1097.
- Vogel, F., Gansmüller, R., Leiblein, T., Dietmaier, O., Wassmuth, H., Gründer, G., and Hiemke, C. (2009). The use of ziprasidone in clinical practice: analysis of pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects from data of a drug monitoring survey. *European Psychiatry*, 24(3), 143-148.
- Vogel, F., Gansmüller, R., Leiblein, T., Dietmaier, O., Wassmuth, H., Gründer, G., and Hiemke, C. (2009). The use of ziprasidone in clinical practice: analysis of

- pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects from data of a drug monitoring survey. *European Psychiatry*, 24(3), 143-148.
- Walash, M. I., Belal, F., El-Enany, N., Eid, M., and El-Shaheny, R. N. (2011). Stability-indicating spectrofluorimetric method for the assay of ziprasidone in capsules. *Journal of Fluorescence*, 21(4), 1659-1667.
- Wang, Y., Zheng, Y., Zhang, L., Wang, Q., and Zhang, D. (2013). Stability of nanosuspensions in drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 172(3), 1126-1141.
- Wehling, F., Scheuhle, S., Madamala, N. (1993). Effervescent dosage form with microparticles, ABD Patent No: 5,178,878.
- Wu, C. S., Cheng, I. C., Feng, J., and Chen, C. L. (2016). Comparison of treatment effectiveness and medical costs for different long-acting injectable antipsychotics in patients with schizophrenia in Taiwan: A nationwide population-based cohort study. *Schizophrenia Research*, 173(1), 37-44.
- Wu, C. S., Lin, Y. J., and Feng, J. (2012). Trends in treatment of newly treated schizophreniaspectrum disorder patients in Taiwan from 1999 to 2006. *Pharmacoepidemiol and Drug Safety*, 21(9), 989-996.
- Wu, L., Zhang, J., and Watanabe, W. (2011). Physical and chemical stability of drug nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63(6), 456-469.
- Xu, J., Bovet, L. L., and Zhao, K. (2008). Taste masking microspheres for orally disintegrating tablets. *International Journal Of Pharmaceutics*, 359(1), 63-69.
- Yapar, E. A. (2014). Orally disintegrating tablets: an overview. *J App Pharm Sci*, 4(2), 118-25.
- Yee, S. (1997). In vitro permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict in vivo (small intestinal) absorption in man—fact or myth. *Pharmaceutical Research*, 14(6), 763-766.
- Yoon, S., Noh, J. S., Choi, S. Y., and Baik, J. H. (2010). Effects of atypical antipsychotic drugs on body weight and food intake in dopamine D2 receptor knockout mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 393(2), 235-241.
- Yu, D. G., Branford-White, C., Yang, Y. C., Zhu, L. M., Welbeck, E. W., and Yang, X. L. (2009). A novel fast disintegrating tablet fabricated by three-dimensional printing. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 35(12), 1530-1536.
- Yu, L. X., Raw, A., Lionberger, R., Rajagopalan, R., Lee, L. M., Holcombe, F., Patel, R., Fang, F., Sayeed, V., Schwartz, P., Adams, R., and Buehler, G. (2007). US FDA question-based review for generic drugs: A new pharmaceutical quality assessment system. *Journal of Generic Medicines*, 4(4), 239-246.
- Zakowiecki, D., Cal, K., Kaminski, K., Adrjanowicz, K., Swinder, L., Kaminska, E., and Garbacz, G. (2015). The improvement of the dissolution rate of ziprasidone free base from solid oral formulations. *AAPS PharmSciTech*, 16(4), 922-933.

- Zhai, D., Cui, T., Xu, Y., Feng, Y., Wang, X., Yang, Y., Li, S., Zhou, D., Dong, G., Zhao, Y., Yang, Y., and Zhang, R. (2017). Cardiometabolic risk in first-episode schizophrenia (FES) patients with the earliest stages of both illness and antipsychotic treatment. *Schizophrenia Research*, 179, 41-49.
- Zhai, X., Lademann, J., Keck, C. M., and Müller, R. H. (2014). Nanocrystals of medium soluble actives—Novel concept for improved dermal delivery and production strategy. *International Journal Of Pharmaceutics*, 470(1), 141-150.
- Zhang, Y., Huo, M., Zhou, J., Zou, A., Li, W., Yao, C., Xie, S.(2010). DDSolver: An Add-In Program for Modeling and Comparison of Drug Dissolution Profiles. *The AAPS Journal*, 12(3), 263-271.
- Zhao, N., and Augsburger, L. L. (2005). The influence of swelling capacity of superdisintegrants in different pH media on the dissolution of hydrochlorothiazide from directly compressed tablets. *AAPS Pharmscitech*, 6(1), 120-126.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : TAŞHAN, Emine  
Uyruğu : T.C.  
Doğumtarhiveyeri : 20.08.1988/ ANKARA  
Medenihali : Bekar  
Telefon : 0 532 784 13 11  
e-mail : etashan088@gmail.com



### Eğitim

| Derece  | Eğitim Birimi   | Mezuniyet tarihi |
|---------|---|------------------|
| Doktora | Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi<br>Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı | Devam ediyor     |
| Lisans  | Hacettepe Üni. Ecz. Fakültesi   | 2011             |
| Lise    | Doktor Şerafettin Tombuloğlu Lisesi-<br>Yabancı Dil Ağırlıklı Lise          | 2006             |

### İş Deneyimi

| Yıl                | Yer                                 | Görev                       |
|--------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
| 2016- Devam ediyor | Zoleant İlaç A.Ş.                   | Ruhsatlandırma Müdürü       |
| 2015-2016          | Vilsan Vet. İlaçları Tic. San. A.Ş. | Ruhsatlandırma<br>Sorumlusu |
| 2010-2015          | Farma Team Ltd. Şti.                | Ruhsatlandırma<br>Sorumlusu |

### Yabancı Dil

İngilizce

## Yayın

Taşhan E., Karakucuk A., Celebi N., 2017. ‘Ağızda Dağılan Tabletler: Genel Bakış ve Tasarımla Kalite Yaklaşımı (QbD)’, Türkiye Klinikleri J Pharm Sci, 6(1): 43-58

## Bildiriler

1. Taşhan E., Karakucuk A., Celebi N., ‘Preparation of orally dispersible tablets of ziprasidone hydrochloride monohydrate nanocrystals: The Quality by Design (QbD) approach, 7th BBBB International Conference on Pharmaceutical Sciences - 5-7 October 2017, Macaristan
2. Taşhan E., Karakucuk A., Celebi N., ‘Evaluation of Solubility and Dissolution Profiles of Ziprasidone Hydrochloride Monohydrate Nanosuspensions, International Pharmaceutical Technology Symposium, 18-21 Eylül, 2016, Antalya, Türkiye
3. Taşhan E., Karakucuk A., Celebi N., ‘Preparation of Ziprasidone Hydrochloride Monohydrate Nanosuspensions Through Design of Experiment (DoE), AAPS 2015, 26-29 Ekim, Orlando, USA.
4. Taşhan E., Karakucuk A., Celebi N., ‘Preparation of Ziprasidone Nanosuspensions by Microfluidisation Technique using Different Stabilizers’, International Pharmaceutical Technology Symposium, 8-10 Eylül, 2014, Antalya, Türkiye.

## Proje

*Nanokristal teknolojisi ile ağızda dağılan tabletlerin tasarımıyla kalite uygulamaları ile geliştirilmesi ve değerlendirilmesi*, 2016-2017, proje kodu: 215S920, TÜBİTAK 1002-Hızlı Destek Programı, Bursiyer

## Patent

Emine Taşhan, Alptuğ Eren Karaküçük, Nevin Çelebi, “Ziprasidon Hidroklorür Monohidrat (ZHM) Liyofilize Nanokristal Formülasyonu”, TR2017/03057, 28.02.2017 tarihinde başvuru yapıldı.

2211-A Yurt İçi Genel Doktora Burs Programı Bursiyeri 2013-2015

## Hobiler

Kitap okumak, yürüyüş yapmak, seyahat etmek, spor yapmak.



*GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..*

